

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Krim Wajah**

##### **2.1.1 Kosmetik**

Kosmetik atau kosmetika berasal dari kata Yunani “kosmetikos” yang berarti keterampilan menghias atau mengatur (Tranggono & Latifah, 2014). Kosmetik adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan digunakan pada bagian luar badan untuk membersihkan, memberi daya Tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik (Agoes, 2015). Definisi kosmetik dalam peraturan BPOM No. 23 Tahun 2019 adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia seperti epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ genital bagian luar atau gigi dan membrane mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan, atau memperbaiki bau badan, melindungi, dan memelihara tubuh pada kondisi baik (BPOM, 2019).

Secara umum baik teori maupun praktik tujuan kosmetik yaitu untuk memelihara dan merawat kecantikan kulit dengan teratur. Hal ini berkaitan dengan peraturan dan cara-cara produksi, penyimpanan dan penggunaan kosmetik. Mempelajari sifat-sifat bahan kosmetik yang dipergunakan untuk memelihara dan merawat kesehatan serta kecantikan tubuh, wajah maupun bagian-bagian tubuh yang lain. Salah satu tujuan dari penggunaan kosmetik ini yaitu pada krim wajah, yang dapat melindungi kulit dari pengaruh-pengaruh luar yang merusak misalnya sinar matahari, perubahan cuaca, mencerahkan kulit, serta dapat mencegah kulit agar tidak cepat kering dan keriput (Tranggono & Latifah, 2014).

Selain itu terdapat juga bahan kosmetik yang berbahaya untuk digunakan. Menurut Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 2 Tahun 2014 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika, adanya bahan berbahaya yang dilarang dimasukkan ke dalam kandungan produk kosmetik yaitu berupa BKO (Bahan Kimia Obat). Bahan-bahan kimia obat tersebut diantaranya. Merkuri, dimana merkuri pernah direkomendasikan sebagai salah satu bahan pemutih kulit karena merkuri diketahui berpotensi sebagai bahan pereduksi (pemucat) warna kulit. Hidrokuinon juga sering

digunakan pada kosmetik pemutih kulit. Bahan pewarna K3, K10 pada dasarnya adalah zat pewarna sintesis yang lazim digunakan pada perusahaan kertas, tekstil, dan tinta. Selanjutnya yaitu Asam Retinoat yang seringkali banyak ditemukan pada produk kosmetik terutama produk anti acne dan produk pemutih wajah (Indriaty dkk, 2018).

### **2.1.2 Krim**

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Menurut Farmakope Indonesia edisi VI krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Saat ini batas tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau disperse mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

Terdapat beberapa macam krim kosmetik. Diantaranya yaitu krim pemutih yang merupakan campuran bahan kimia dan bahan lainnya dengan khasiat dapat memutihkan kulit atau memucatkan noda hitam pada kulit. Selain itu dapat digunakan untuk memutihkan daerah yang terkena sinar matahari. Menurut definisi medis, krim pemutih dapat menghambat pembentukan melanin. Pembentukan melanin ini dapat membuat kulit tampak lebih cerah, bersih, dan segar (Parengkuan dkk, 2013).

Krim dibagi menjadi dua macam yaitu krim minyak dalam air (M/A) dan krim air dalam minyak (A/M). Krim pemutih merupakan suatu bahan yang digunakan untuk mencerahkan atau mengubah warna kulit yang tidak diinginkan. Krim pemutih biasanya mengandung bahan-bahan yang dapat mencerahkan kulit (Mulyasuryani & Savitri, 2015). Asam retinoat sering dimasukkan ke dalam komposisi krim pemutih karena dipercaya memiliki efek pemutih. Asam retinoat

ini yaitu turunan vitamin A dalam bentuk asam yang dibentuk dari *all-trans retinol* (retinoid dalam bentuk alkohol) (Suhartini & Citraningtyas, 2013).

### **2.1.3 Penggolongan krim**

Menurut Syamsuni(Syamsuni, 2007) krim dapat digolongkan menjadi dua jenis. Penggolongan tersebut berdasarkan tipe dari emulsinya, yaitu:

#### **1. Tipe A/M**

Tipe A/M yaitu air terdispersi dalam minyak. Fase air terdispersi dalam fase minyak dengan bantuan suatu emulgator. Basis krim ini lebih mudah terdispersi, dapat memberikan efek oklusif dan hangat pada kulit meskipun sedikit, karena setelah fase air menguap pada kulit tertinggal suatu lapisan film dari lemak dapat memberikan efek kerja obat yang lebih lama. Karena dapat lebih lama tinggal di kulit dan tidak cepat mengering. Contohnya, *cold cream*. *Cold cream* adalah sediaan kosmetik yang digunakan untuk memberikan rasa dingin dan nyaman pada kulit, sebagai krim pembersih, berwarna putih, dan bebas dari butiran. *Cold cream* ini mengandung mineral oil dalam jumlah besar.

#### **2. TIPE M/A**

Tipe M/A yaitu minyak terdispersi dalam air. Basis krim tipe ini fase luarnya adalah air dan fase minyak sebagai fase dalam yang terdispersi dalam fase air dengan bantuan suatu emulgator. Contohnya, *Vanishing cream*. *Vanishing cream* adalah sediaan kosmetik yang digunakan untuk membersihkan, melembabkan, dan sebagai alas bedak. *Vanishing cream* ini digunakan sebagai pelembab seperti *moisturizing* yang akan meninggalkan lapisan berminyak film pada kulit.

### **2.1.4 Syarat-syarat krim yang baik**

Menurut (Widodo, 2013) krim memiliki beberapa persyaratan. Syarat-syarat krim yang baik diantaranya yaitu:

1. Stabil, selama masih dipakai untuk pengobatan. Oleh karena itu krim harus bebas dari inkompatibilitas, stabil pada suhu kamar, dan kelembaban yang ada di dalam kamar.
2. Lunak, semua zat dalam keadaan halus dan seluruh produk menjadi lunak secara homogen.

3. Mudah dipakai, umumnya krim tipe emulsi adalah yang paling mudah dipakai dan dihilangkan dari kulit.
4. Terdistribusi secara merata, obat harus terdistribusi merata melalui dasar krim padat atau cair pada penggunaan.

### **2.1.5 Efek Samping Bahan-bahan Berbahaya pada Krim**

Menurut Tranggono & Latifah (Tranggono & Latifah, 2014) Berbagai efek samping bahan berbahaya ini biasanya disebabkan oleh krim yang tidak aman baik pada kulit maupun pada sistem tubuh. Efek samping bahan-bahan berbahaya pada krim diantaranya yaitu:

1. Iritasi

Reaksi langsung pada pemakaian pertama krim, dikarenakan terdapat bahan krim yang bersifat iritan. Misalnya krim yang mengandung asam retinoat.

2. Alergi

Reaksi ini muncul pada kulit setelah krim dipakai beberapa kali.

3. Jerawat

Pada kosmetik pelembab pada kulit yang sangat berminyak dan lengket, yang seharusnya diperuntukkan bagi kulit kering di iklim dingin, maka dapat menimbulkan jerawat bila digunakan pada kulit yang berminyak.

4. Foto sensitisasi

Reaksi negatif muncul setelah kulit menggunakan krim lalu terkena sinar matahari.

5. Intoksikasi

Keracunan dapat terjadi secara lokal atau sistematis melalui penghirupan atau penyerapan melalui kulit. Terutama jika bahan krimnya bersifat toksik.

### **2.1.6 Krim malam**

Krim malam adalah produk yang fungsi utamanya untuk melembabkan dan mencerahkan kulit pada malam hari atau selama tidur di malam hari. Pada malam hari kulit waktunya untuk melakukan regenerasi. Sel-sel kulit yang rusak akibat radiasi sinar matahari, polusi dan stres akan digantikan dengan sel-sel kulit yang baru. Seringkali terdapat beberapa bahan berbahaya yang terkandung pada krim

malam salah satunya yaitu asam retinoat. Asam retinoat biasanya sering digunakan sebagai preparat dalam pengobatan jerawat pada sediaan krim dan lainnya. mekanisme dari asam retinoat sebagai obat jerawat belum banyak diketahui sepenuhnya (Azizah dkk., 2022).

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Diane Thiboutot dari Pennsylvania State University College of Medicine mengungkapkan, Asam retinoat meregulasi gen untuk pembentukan protein NGAL. Protein NGAL akan berperan dalam proses kematian (apoptosis) kelenjar sebacea. Yaitu kelenjar penghasil minyak di kulit, yang umumnya terlibat pada terjadinya jerawat. Kematian sel kelenjar sebacea berakibat pada penurunan produksi minyak kulit dan akan mengurangi jerawat. Konsentrasi asam retinoat boleh digunakan untuk pengobatan jerawat dan photoaging adalah sebesar 0,05% dan 0,1%. Serta diharuskan menggunakan resep dokter (Pratama, 2017).

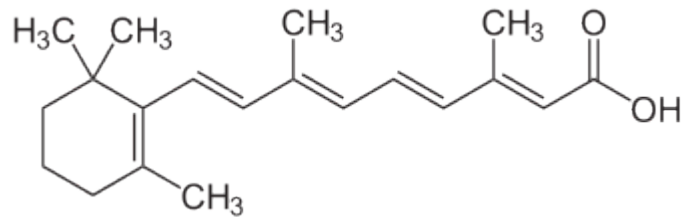
Selain itu pada umumnya krim malam memiliki kandungan yang sama dengan krim wajah. Tetapi krim malam saat ini telah diformulasikan secara khusus untuk lebih mudah menyerap ke dalam kulit. Oleh karena itu krim malam dipercaya mampu menutrisi kulit lebih dalam, sehingga proses regenerasi sel kulit pada wajah pun dapat berjalan lebih optimal. Terdapat beberapa kandungan pada krim malam diantaranya yaitu bahan-bahan kimia yang aman digunakan seperti niacinamide, dan minyak zaitun. selain itu krim malam juga mengandung asam lemak esensial yang biasa ditemukan pada bunga matahari, sari kelapa, dan minyak zaitun (Azizah dkk, 2022).

## **2.2 Asam Retinoat**

### **2.2.1 Definisi asam retinoat**

Asam retinoat adalah bentuk asam dan bentuk aktif dari vitamin A (retinol). Atau disebut juga tretinoin. Asam retinoat ini sering dipakai sebagai bentuk sediaan vitamin A topical. Asam retinoat merupakan jenis obat keras yang dapat dibeli hanya dengan menyertakan resep dokter. Asam retinoat yaitu turunan vitamin A dalam bentuk asam yang dibentuk dari *all-trans retinol* (retinoid dalam bentuk alkohol) (Suhartini & Citraningtyas, 2013).

Menurut Farmakope Indonesia Edisi VI Asam retinoat mengandung tidak kurang dari 97,0% dan tidak lebih dari 103,0%  $C_{20}H_{28}O_2$  dihitung terhadap zat kering. Pada krim asam retinoat mengandung tidak kurang dari 90,0% dan tidak lebih dari 120,0% dari jumlah yang tertera pada etiket. Sifat fisika dan kimia asam retinoat yaitu (Kementerian Kesehatan RI, 2020):



**Gambar 2. 1** Struktur Asam Retinoat

1. Rumus Molekul:  $C_{20}H_{28}O_2$
2. Berat Molekul: 300,44 g/mol
3. Pemerian: Serbuk hablur, kuning sampai jingga muda
4. Kelarutan: Tidak larut dalam air, sukar larut dalam etanol dan dalam kloroform.

Menurut Farmakope Indonesia edisi VI asam retinoat BPFI disimpan pada suhu di bawah  $0^{\circ}C$ , biarkan mencapai suhu ruang sebelum dibuka dan gunakan segera setelah ampul asam retinoat BPFI di buka. Selain itu hindari kontak dengan cahaya kuat (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

Asam retinoat mempunyai beberapa macam struktur dengan kemampuan teratogenik yang berbeda-beda. Berupa asam retinoat alami maupun sintetis. Asam retinoat alami ini terdiri dari retinol, retinyl palmitate, retinal dehyde, dan tretinoin. Sedangkan untuk asam retinoat sintetis terdiri dari adapalene, tazarotene, dan isotretinoin. Perbedaan keduanya yaitu pada asam retinoat alami terbentuk secara alami yang berasal dari vitamin A, serta dapat mengaktifkan semua RAR kulit. Sedangkan pada asam retinoat sintetis merupakan hasil penelitian para ilmuwan, serta lebih mengaktifkan pilihan yang ditargetkan. Keduanya memiliki persamaan yaitu dapat mengaktifkan RAR (*retinoic acid receptors*) atau reseptor asam retinoat di kulit. Dikarenakan asam retinoat alami dan sintetis mengaktifkan RAR berbeda di kulit, efeknya juga berbeda walaupun keduanya adalah asam retinoat (Dewi, 2021).

### **2.2.2 Mekanisme kerja asam retinoat terhadap kulit**

Menurut Bandem & Widhyasti (2013) asam retinoat memiliki mekanisme kerja pada kulit yang terdiri dari 3 tahap. Mekanisme kerja asam retinoat terhadap kulit diantaranya yaitu:

1. Pengaktifan reseptor asam retinoat (RAR). Reseptor ini mampu merangsang proses perkembangan sel kulit terluar (epidermis) sehingga asam retinoat secara topikal mampu memperbaiki struktur atau penuaan pada kulit.
2. Dengan pembentukan dan peningkatan jumlah protein NGAL (*Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin*). Protein tersebut berfungsi untuk mematikan sel kelenjar sebacea (sel penghasil sebum/minyak), yang dapat mengurangi produksi minyak sehingga mampu mengurangi timbulnya jerawat.
3. Asam retinoat dimasukkan dalam komposisi krim pemutih dikarenakan dipercaya dapat memberikan efek pemutih. Efek pemutih ini didapatkan secara tidak langsung melalui penghambatan pigmen melanin seperti beberapa senyawa pemutih lainnya, diduga karena terjadinya peningkatan proliferasi sel-sel keratin dan percepatan turnover epidermis (lapisan kulit paling luar), sehingga dapat memberikan efek mencerahkan kulit.
4. Pada lapisan epitel folikel, asam retinoat dapat berperan sebagai iritan ultraviolet yang memicu peradangan dan mencegah bergabungnya sel tanduk menjadi massa padat sehingga tidak menyumbat folikel yang dapat menyebabkan terbentuknya komedo.

### **2.2.3 Efek samping asam retinoat**

Menurut Agustina S, dkk (2019) asam retinoat memiliki beberapa efek samping. Efek samping akibat penggunaan asam retinoat diantaranya yaitu:

1. Akan timbul peradangan pada kulit dengan sensasi rasa panas seperti terbakar, menyengat, dan kemerahan.
2. Dapat menurunkan produksi minyak yang akibatnya kulit akan menjadi kering.
3. Bagi kulit yang sensitif maka kulit akan terasa gatal, memerah, dan terasa panas.
4. Jika pemakaian berlebihan khususnya pada wanita yang sedang hamil dapat menyebabkan cacat pada janin yang dikandungnya.

Pada Tahun 2009 Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) mengeluarkan *public warning* terkait penarikan krim wajah yang mengandung

asam retinoat yang beredar di pasar-pasar tradisional Kota Yogyakarta. Pada tahun 2021 BPOM kembali mengeluarkan *public warning* terkait 41 merek kosmetik perawatan berupa krim malam, siang dan pemutih wajah yang mengandung bahan berbahaya berupa asam retinoat. 12 merek diantaranya yaitu krim malam.

## **2.3 Kromatografi Lapis Tipis**

### **2.3.1 Kromatografi**

Kromatografi merupakan teknik dalam penelitian yang berfungsi sebagai pemisahan komponen campuran menjadi bagian-bagian partikel penyusun komponen tersebut. Kromatografi berasal dari kata *Kromatous* yang artinya warna dan *Graphos* yang artinya menulis. Maka dapat diartikan menulis dengan warna fase diam. Dimana lapisan atau salut diatas media pendukung yang kontak langsung dengan analit.

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada perbedaan antara komponen fase diam dengan fase gerak. Dimana pelarut akan bergerak melalui media pendukung yang cocok. Fase gerak adalah pelarut yang bergerak melalui media pendukung. Sedangkan fase diam adalah lapisan atau salut di atas media pendukung yang kontak langsung dengan analit. Media pendukung disini disebut permukaan padat tempat fase diam terikat (Marzoni, 2016).

Terdapat 4 jenis kromatografi yang pertama yaitu kromatografi lapis tipis (KLT) yang merupakan metode pemisahan komponen kimia berdasarkan adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen), kromatografi Kolom yang merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan dan memurnikan sampel yang berbentuk padat dan cairan dengan jumlah kurang dari 10 gram, kromatografi kertas merupakan metode pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kelarutan zat-zat dalam pelarut dan daya adsorpsi kertas terhadap zat-zat yang akan dipisahkan, dan kromatografi gas, dimana fase gerak berupa gas pembawa, biasanya gas inert seperti helium atau gas yang tidak reaktif seperti nitrogen, sedangkan fase diam berupa cairan (Marzoni, 2016).

### **2.3.2 Kromatografi lapis tipis**

Prinsip dari metode KLT ini adalah suatu analit bergerak naik atau melintasi fase diam (paling umum digunakan gel silica), dibawah pengaruh fase gerak (biasanya campuran pelarut organik), yang bergerak melalui fase diam oleh kerja



kapiler. Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode pemisahan komponen kimia berdasarkan adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia akan naik mengikuti fase gerak akibat daya adsorpsi dari fase diam (adsorben). Kemampuan menyerap dari fase diam terhadap masing-masing komponen kimia berbeda-beda tergantung tingkat kepolarannya, sehingga dengan adanya perbedaan daya serap ini, akan terjadi pemisahan dari masing masing komponen.

Kromatografi lapis tipis ini mudah dilakukan dan proses pemisahannya hanya membutuhkan setengah jam. Media pemisahan dari TLC (thin layer chromatography) ini adalah lapisan dengan ketebalan berkisar 0,1 sampai 0,3 mm zat padat adsorben pada lempeng kaca, plastic, dan aluminium. Zat padat yang umum digunakan adalah silika gel, alumina, dan selulosa. Analisis asam retinoat dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis ini menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia pada Tahun 2011 tentang metode analisis kosmetika, memiliki beberapa larutan pengembang campuran n-heksan dan asam asetat glasial 0,33% dalam etanol mutlak (9:1) v/v. Sistem B campuran n-heksan dan aseton (6:4) v/v. Dan sistem C campuran sikloheksan-eteraseton-asam asetat glasial (54-40-4-2) v/v/v/v (BPOM, 2011).

Nilai Rf dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi senyawa. Bila identifikasi harga Rf memiliki nilai yang sama maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki karakteristik yang sama atau mirip. Sedangkan bila nilai Rf nya berbeda, maka senyawa tersebut dapat dikatakan tidak memiliki karakteristik yang sama atau senyawa tersebut berbeda (Marzoni, 2016).

Rumus nilai Rf:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh substansi}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

Pada identifikasi kromatografi lapis tipis terdapat perbandingan bercak yang diperoleh dari larutan uji dengan larutan baku berdasarkan nilai Rf, warna bercak di bawah sinar lampu UV 254 nm (BPOM, 2011).

**Tabel 2. 1** Identifikasi nilai Rf menurut BPOM

<b>Sistem pengembang</b>	<b>Perkiraan nilai Rf</b>	<b>Batas deteksi (<math>\mu\text{g}</math>)</b>
Sistem A: n-heksan-asam asetat glasial 0,33% dalam etanol mutlak (9:1) v/v.	0.1 – 0.3	0.125
Sistem B: n-heksan-aseton (6:4) v/v	0.5	
Sistem C: sikloheksan-eter-aseton-asam asetat glasial (54:40:4:2) v/v/v/v	0.4	

### 2.3.3 Tahapan KLT

Tahapan metode analisis kromatografi lapis tipis (KLT) ini yaitu dilakukan dengan beberapa persiapan yang harus dipenuhi untuk mendapatkan hasil pemisahan sampel yang baik meliputi (Wulandari, 2011):

#### 1. Preparasi sampel

Sebelum dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu ditentukan jenis sampel dan sifat fisika kimia analit yang akan dianalisis. Jenis sampel terbagi menjadi sampel larutan jernih, sampel larutan keruh, sampel semi solid (setengah padat), sampel padat. Sifat fisika kimia analit yang harus diketahui sebelum melakukan preparasi sampel adalah kelarutan analit dan stabilitas analit. Dari kelarutan analit dapat dipilih pelarut untuk preparasi sampel. Stabilitas analit menentukan cara preparasi sampel. Misalnya untuk analit yang tidak stabil pada suhu tinggi, dihindari adanya pemanasan pada preparasi sampel. Pada ekstraksi sampel dengan ultrasonic degasser sebaiknya alat diatur pada suhu normal tanpa pemanasan.

Penyaringan larutan sampel juga merupakan tahapan penting pada preparasi sampel. Penyaringan dapat memperbaiki kromatogram yang dihasilkan dan mempermudah penotolan sampel karena dapat memisahkan analit dari partikel-partikel yang ada dalam larutan sampel. Adanya partikel dalam larutan sampel dapat menyebabkan munculnya pengotor pada kromatogram yang dihasilkan terutama bila partikel tersebut larut dalam fase gerak dan terdeteksi oleh detektor yang digunakan. Selain itu adanya partikel dalam larutan sampel dapat mengganggu penetrasi analit dalam lempeng KLT ketika penotolan larutan

sampel. Berbagai penyaring yang tersedia di pasaran dapat digunakan, seperti penyaring berbahan selulosa asetat, selulosa dan nitrat, alumina atau polipropilen.

## 2. Penanganan lempeng KLT

Sebelum menggunakan lempeng KLT, dipastikan terlebih dahulu jenis lempeng yang digunakan agar tidak terjadi kesalahan penanganan lempeng. Lempeng KLT bersifat rapuh dan harus ditangani dengan benar mulai dari pembukaan kemasan sampai ke tahap dokumentasi. Pendukung sorben yang paling umum digunakan pada lempeng KLT adalah aluminium foil, film plastik dan piring kaca. Lempeng tersebut digunakan untuk berbagai tujuan dan penanganan masing-masing jenis pendukung sorben berbeda-beda. Film plastik jarang digunakan karena tidak tahan pemanasan. Pendukung sorben yang banyak digunakan adalah aluminium foil. Pemotongan lempeng KLT dengan aluminium foil dapat menggunakan gunting, dimana saat pemotongan sudut gunting harus diperhatikan tidak boleh cenderung ke kiri, dikarenakan menyebabkan lepasnya sorben dari pendukungnya. Kemudian dilakukan juga pencucian lempeng, teknik ini diperlukan untuk menghilangkan pengotor lempeng baik itu pengotor yang berasal dari bahan pengikat lempeng maupun dari atmosfer yang teradsorpsi ke dalam lempeng.

Selanjutnya yaitu aktivasi lempeng, dimana aktivasi lempeng ini ditujukan untuk menghilangkan kelembaban air atmosfer yang teradsorpsi dalam lempeng. Contohnya seperti pengeringan lempeng silika gel selama 30 menit dengan suhu 120°C. Jika suhu yang digunakan terlalu tinggi maka akan menyebabkan pelepasan senyawa kimia dalam lempeng yang dapat merubah sifat silika gel secara *irreversible* (tak terpulihkan). Selanjutnya terdapat pengkondisian lempeng yang dilakukan untuk mempengaruhi proses kromatografi. Pengkondisian ini ditujukan untuk mengontrol kelembaban lempeng dalam *chamber*. Terdapat juga impregnasi lempeng dimana masalah yang muncul dalam pemisahan ini dapat diatasi dengan merubah sorben fase diam yang digunakan dengan cara impregnasi sorben lempeng KLT dengan senyawa anorganik maupun senyawa organik.

### 3. Penanganan eluen

Pemilihan eluen sangat berpengaruh pada sistem KLT. Eluen ini dapat terdiri dari satu pelarut atau campuran dua sampai enam pelarut. Campuran pelarut ini harus saling tercampur dan tidak ada tanda-tanda kekeruhan. Fungsi dari eluen pada KLT ini yaitu untuk melarutkan campuran zat, untuk mengangkat atau membawa komponen yang akan dipisahkan melewati sorben fase diam sehingga noda memiliki  $R_f$  dalam rentang yang dipersyaratkan, untuk memberikan selektivitas yang memadai untuk campuran senyawa yang akan dipisahkan. Eluen harus memenuhi persyaratan seperti memiliki kemurnian yang cukup, stabil, memiliki viskositas rendah, memiliki partisi isothermal yang linier, tekanan uap yang tidak terlalu rendah atau tidak terlalu tinggi, dan toksisitas serendah mungkin.

### 4. Penanganan *chamber* tempat elusi

Penanganan *chamber* yang perlu diperhatikan adalah kondisi *chamber* dan jenis *chamber*. *Chamber* harus dipastikan dalam kondisi bersih (bebas dari kotoran) dan kering (bebas dari adanya air). Adanya kotoran dan air dalam *chamber* akan mengganggu kromatogram yang dihasilkan dan mempengaruhi reproduisibilitas pemisahan KLT. Jenis *chamber* yang digunakan juga harus diperhatikan, dimana terdapat masing-masing jenis yang dirancang dengan fitur khusus untuk mengontrol reproduisibilitas pengembangan KLT. Dalam *chamber* terjadi beberapa hal yaitu kejenuhan uap pelarut, adsorpsi uap pelarut oleh sorben lempeng KLT, munculnya efek tepi yang disebabkan oleh ketidakseimbangan gaya kapilaritas pada sisi tengah dengan sisi tepi lempeng KLT. Terdapat beberapa jenis *chamber* KLT diantaranya yaitu:

- a. Chamber Nu (*chamber* normal, alas datar, tak jenuh)
- b. Chamber Ns (*chamber* normal, alas datar, jenuh)
- c. Chamber Twin-trough (*chamber* dengan dua kompartemen tempat eluen)
- d. Chamber Su (*chamber* sandwich, tak jenuh)
- e. Chamber Ss (*chamber* sandwich, jenuh)
- f. Chamber horizontal (jenuh dan tak jenuh)
- g. Chamber elusi otomatis

## 5. Elusi (pengembangan) KLT

Elusi atau pengembangan KLT dipengaruhi oleh chamber yang digunakan dan kejenuhan dalam chamber. Metode pengembangan yang dipilih tergantung tujuan analisis yang ingin dicapai dari ketersediaan alat di laboratorium. Terdapat beberapa jenis metode pengembangan KLT diantaranya yaitu metode pengembangan satu dimensi dimana pengembangan ini sebagian besar kromatogram yang dihasilkan dari analisis KLT. Selanjutnya terdapat pengembangan dua dimensi, pengembangan ini ditujukan untuk identifikasi senyawa dalam sampel multikomponen. Pengembangan dua dimensi ini bertujuan untuk meningkatkan resolusi (pemisahan) sampel ketika komponen-komponen solute mempunyai karakteristik kimia yang hampir sama.

## 6. Aplikasi sampel

Pemisahan pada kromatografi lapis tipis yang optimal akan diperoleh hanya jika menotolkan sampel dengan ukuran bercak sekecil dan sesempit mungkin. Sebagaimana dalam prosedur kromatografi yang lain, jika sampel yang digunakan terlalu banyak maka akan menurunkan resolusi. Aplikasi sampel pada sorben lempeng KLT dapat dilakukan secara manual dengan peralatan sederhana dan dapat juga dengan peralatan otomatis. Semakin tepat posisi penotolan dan kecepatan penotolan semakin baik kromatogram yang dihasilkan. Aplikasi sampel secara otomatis dapat memperbaiki kualitas penotolan sampel. Pada aplikasi manual posisi awal penotolan diberi tanda berupa titik dengan pensil dan akhir elusi ditandai berupa garis, diharapkan penandaan tidak merusak sorben KLT.

Selanjutnya terdapat aplikasi sampel semi otomatis dimana aplikasi ini merupakan metode terbaik untuk aplikasi sampel pada KLT. Dalam hal ini sampel dapat ditotolkan pada lapisan permukaan lempeng tepat sesuai dengan yang diinginkan, menggunakan dosis kecil dan tidak merusak lapisan lempeng. Kemudian aplikasi sampel otomatis, aplikasi ini mempunyai program yang dapat menyimpan kondisi elusi dalam komputer. Aplikasi noda dan pita dapat deprogram, dengan nomor aplikasi dan posisi ukuran yang detail. Kemudian terdapat aplikasi volume sampel besar dimana aplikasi ini dilakukan dengan

volume penotolan yang besar dilakukan dengan teknik kontak spotting atau dengan penggunaan zona konsentrasi.

#### 7. Evaluasi noda

Evaluasi lempeng KLT dapat dilakukan secara langsung maupun dengan instrument. Untuk noda yang berwarna evaluasi noda dapat dilakukan dengan visualisasi langsung pada lempeng KLT dengan menggunakan cahaya matahari atau dengan bantuan menggunakan lampu UV dapat memberikan pencahayaan pada panjang gelombang tertentu. Untuk noda yang tidak berwarna beberapa jenis visualisasi dari zona kromatografi diperlukan untuk mengevaluasi noda hasil kromatografi. Sebagian besar senyawa akan menyerap sinar UV atau sinar tampak atau fluoresensi tetapi beberapa senyawa membutuhkan visualisasi yang sesuai untuk mengamati noda hasil kromatografi. Visualisasi dapat dilakukan dengan cara penyemprotan atau pencelupan ke dalam pereaksi penampak noda. Karena sorben yang digunakan pada lempeng KLT umumnya bersifat inert maka reaksi kimia dapat dilakukan di atas lempeng tanpa terpengaruh lapisan sorben.

#### 2.3.4 Prinsip kerja dari KLT

Prinsip kerja dari kromatografi lapis tipis (KLT) ini yaitu adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi ini terjadi ketika larutan sampel ditotolkan ke fase diam (plat KLT) menggunakan pipa kapiler. Maka komponen-komponen dalam sampel akan teradsorpsi di dalam fase diam. Desorpsi adalah peristiwa ketika komponen yang teradsorpsi di fase diam didesak oleh fase gerak (eluen), maka akan terjadi persaingan antara eluen dan komponen untuk berikatan dengan fase diam. Elusi adalah peristiwa ketika komponen ikut terbawa oleh eluen. Selain itu prinsip kerja memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan.

Selain itu teknik ini biasanya menggunakan fase diam dari bentuk plat silika dan fase geraknya disesuaikan dengan jenis sampel yang ingin dipisahkan. Larutan atau campuran larutan yang digunakan dinamakan eluen. Dimana semakin dekat kepolaran antara sampel dengan eluen maka sampel akan semakin terbawa oleh fase gerak tersebut. Prinsip dari KLT ini dapat diartikan juga untuk memisahkan sampel

berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan (Husna & Mita, 2020).

### **2.3.5 Kelebihan dan Kekurangan Metode KLT**

Menurut Marzoni (2016) metode kromatografi lapis tipis memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan. Kelebihan dan kekurangan pada metode kromatografi lapis tipis diantaranya yaitu:

Kelebihan metode KLT:

1. Dapat dilakukan deteksi melalui reaksi kimia dengan menggunakan reagen penampak, dimana setiap jenis senyawa dapat dideteksi bila menggunakan reagen deteksi yang sesuai
2. Dapat dikombinasikan dengan deteksi densitometri
3. Dapat dilakukan untuk menganalisis sampel yang banyak sekaligus
4. Meningkatkan kecepatan analisis
5. Dapat dilaksanakan dengan lebih cepat
6. Prosedurnya lebih sederhana

Kekurangan metode KLT:

1. Kepekaan seringkali terbatas
2. Tidak cocok untuk senyawa atsiri
3. Membutuhkan operator yang terampil untuk penggunaan yang optimal dibandingkan dengan KCKT (Marzoni, 2016).

### **2.3.6 Hasil Penelitian Terdahulu**

Terdapat beberapa publikasi hasil penelitian asam retinoat yang terdiri dari analisis kuantitatif asam retinoat menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Mustafa, 2017) dan juga metode Spektrofotometri UV-Vis (Styawan dkk, 2020). Selain itu juga terdapat publikasi penelitian tentang analisis kualitatif asam retinoat dilakukan dengan menggunakan metode KLT. Beberapa publikasi penelitian yang mengidentifikasi adanya asam retinoat dengan sampel krim dengan menggunakan metode KLT dapat dilihat pada Tabel 2.1.

**Tabel 2. 1** Publikasi Penelitian Analisis Asam Retinoat Dengan Metode KLT

<b>Sampel</b>	<b>Pengambilan Sampel</b>	<b>Fase Gerak</b>	<b>Hasil</b>
Krim pemutih (Afifah dkk., 2015).	15 sampel dengan merek berbeda yang berasal dari pasar tradisional, pasar swalayan, dan klinik kecantikan	n-heksan:aseton (6:4)	Sampel positif = 4 Rf baku = 0,41 Rf sampel positif = 0,41; ; 0,39; 0,39 dan 0,39.
Krim malam (Styawan dkk., 2020).	5 sampel dengan merek berbeda yang tidak teregistrasi BPOM yang beredar di toko X.	n-heksan:aseton (6:4)	Sampel positif = 5 Rf baku = 0,97 Rf sampel positif = 0,94; 0,90; 0,92; 0,94 dan 0,89.
Krim malam (Wardana dkk., 2022)	5 produk krim pemutih malam yang dipasarkan di Kota Malang	n-heksan:aseton (6:4)	Sampel positif = 3 Rf baku = 0,5 Rf sampel positif = 0,487; 0,487; dan 0,487.
Krim Malam (Agustina S dkk., 2019).	Pengambilan sampel secara purposive sampling yaitu sebanyak 5 merek yang berbeda di Pasar Klaten berdasarkan krim yang berwarna kuning, berbau asam yang menyengat, dan tidak teregistrasi di BPOM	n-heksan:aseton (6:4)	Sampel positif = 5 Rf baku = 0,97 Rf sampel positif = 0,94; 0,90; 0,92; 0,94 dan 0,89