

**PENGEMBANGAN METODE *FLOW INJECTION ANALYSIS* (FIA) –  
SPEKTROFOTOMETRI TAK LANGSUNG UNTUK PENENTUAN  
HIDROKUINON BERBASIS PEMBENTUKAN WARNA BIRU DARI  
KOMPLEKS I<sub>2</sub>-AMILUM**

**TESIS**

**Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh  
Gelar Magister Bidang Kimia**



**FAHRANA SALAS TRENGGAMAYUNELGI**

**166090200111001**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
2019**

**PENGEMBANGAN METODE *FLOW INJECTION ANALYSIS* (FIA) -  
SPEKTROFOTOMETRI TAK LANGSUNG UNTUK PENENTUAN  
HIDROKUINON BERBASIS PEMBENTUKAN WARNA BIRU-DARI  
KOMPLEKS I<sub>2</sub>-AMILUM**

**TESIS**

**Oleh:**

**FAHRANA SALAS TRENGGAMAYUNELGI  
166090200111001**


Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 1 Juli 2019  
dan dinyatakan Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Magister Sains dalam Bidang Kimia

**Menyetujui**

**Komisi Pembimbing,**

**Ketua**

**Anggota**

  
**Dra. Hermin Sulistyarti, Ph.D**  
NIP.196405291988022001

  
**Dr. Rurini Retnowati, M.Si.**  
NIP. 196012091988022001

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi S2 Kimia  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

  
**Dr. Arie Srihadyastutie, S.Si., M.Kes.**  
NIP.19702032622002122001

**PENGEMBANGAN METODE *FLOW INJECTION ANALYSIS* (FIA) –  
SPEKTROFOTOMETRI TAK LANGSUNG UNTUK PENENTUAN  
HIDROKUINON BERBASIS PEMBENTUKAN WARNA BIRU DARI  
KOMPLEKS I<sub>2</sub>-AMILUM**

Nama : Fahrana Salas Trenggamayunelgi  
NIM : 166090200111001  
Program Studi : S2 Ilmu Kimia  
Bidang Minat : Kimia Analitik

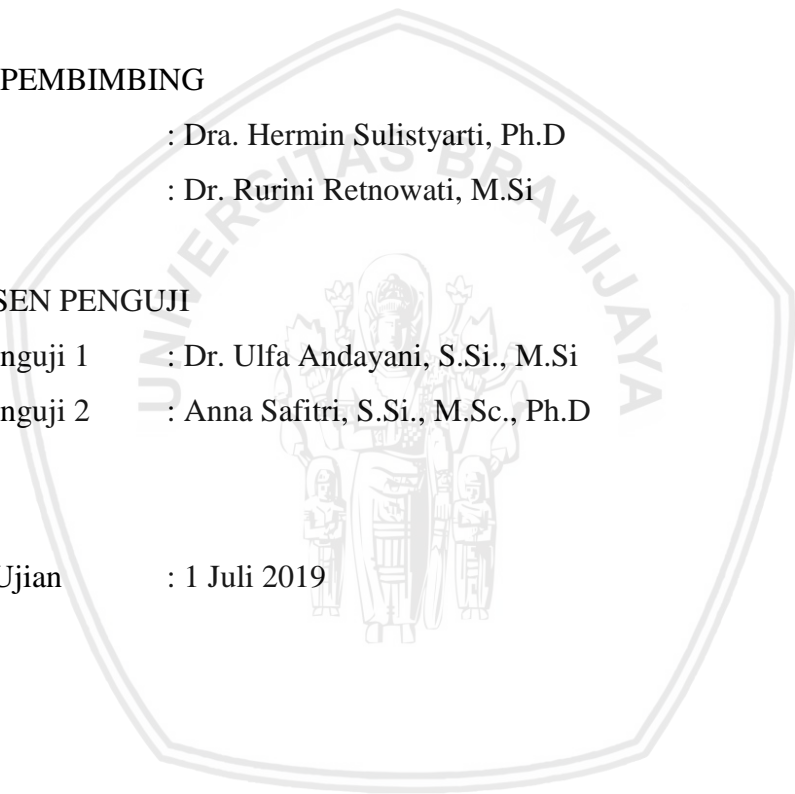
**KOMISI PEMBIMBING**

Ketua : Dra. Hermin Sulistyarti, Ph.D  
Anggota : Dr. Rurini Retnowati, M.Si

**TIM DOSEN PENGUJI**

Dosen Penguji 1 : Dr. Ulfa Andayani, S.Si., M.Si  
Dosen Penguji 2 : Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ph.D

Tanggal Ujian : 1 Juli 2019



**LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS**

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Fahrana Salas Trenggamayunelgi  
NIM : 166090200111001  
Jurusan : Kimia

Penulis Tesis yang berjudul :

**“PENGEMBANGAN METODE *FLOW INJECTION ANALYSIS* (FIA) –  
SPEKTROFOTOMETRI TAK LANGSUNG UNTUK PENENTUAN  
HIDROKUINON BERBASIS PEMBENTUKAN WARNA BIRU DARI  
KOMPLEKS I<sub>2</sub>-AMILUM”**

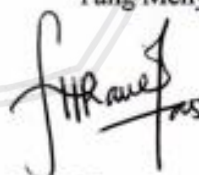
Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya di dalam Naskah Tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.
2. Apabila pernyataan di dalam Naskah Tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia Tesis ini digugurkan dan gelar akademik saya telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU.No 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 1 Juli 2019

Yang Menyatakan,



Fahrana Salas Trenggamayunelgi  
166090200111001

## DAFTAR RIWAYAT HIDUP

### DATA PRIBADI

Nama Lengkap : Fahrana Salas Trenggamayunelgi

NIM : 166090200111001

Tempat dan Tanggal lahir : Malang, 16 Juni 1992

Alamat : Jl. Papa Kuning III no.17 Malang

Email : [fahrana.salas@gmail.com](mailto:fahrana.salas@gmail.com)

### RIWAYAT PENDIDIKAN

- SDN PURWANTORO 1 MALANG (1998-2004)
- SMPN 5 MALANG (2004-2007)
- SMAN 7 MALANG (2007-2010)
- S1 Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang (2010-2014)
- S2 Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang (2016-2019)

### PENGALAMAN PEKERJAAN DAN AKADEMIK

- Tenaga Kependidikan di Bina Bangsa School Malang (2015-2016)
- Anggota Penelitian dalam Tim Penelitian LCAMIA (Low Cost and Automated Method and Instrumentation Analysis)
- Anggota Penelitian dengan judul Komparasi Profil Komponen Senyawa Sidik Jari Genus *Curcuma* dan *Zingiber* dalam Famili *Zingiberaceae* Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan Variasi Eluen dalam Tim Penelitian Dosen (Dr. Rurini Retnowati, M.Si) DPP/SPP FMIPA Universitas Brawijaya (2018)
- Pengalaman sebagai Penyaji makalah dengan judul "Development of Flow Injection-Spectrophotometry Method for Hydroquinone Determination"

Based on The Formation of Blue Starch-Iodine Complex” dalam 9<sup>th</sup> Basic Science International Conference (Basic 2019) (2019).



## UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Tuhan yang Maha Esa atas limpahan rahmat penulis dapat menyajikan tulisan tesis yang berjudul **PENGEMBANGAN METODE *FLOW INJECTION ANALYSIS* (FIA) – SPEKTROFOTOMETRI TAK LANGSUNG UNTUK PENENTUAN HIDROKUIKON BERBASIS PEMBENTUKAN WARNA BIRU DARI KOMPLEKS I<sub>2</sub>-AMILUM**. Naskah Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Magister Sains dalam bidang Kimia.

Dalam penyusunan tesis ini penulis mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dra. Hermin Sulistyarti, Ph.D dan Dr. Rurini Retnowati, M.Si., selaku pembimbing tesis yang telah memberikan ilmu, bimbingan, fasilitas, saran serta nasihat kepada penulis hingga tesis ini selesai.
2. Dr. Ulfa Andayani, S.Si., M.Si., dan Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ph.D selaku penguji tesis, atas nasihat, ilmu dan motivasinya untuk menjadi lebih baik.
3. Dr. Arie Srihadyastutie, S.Si., M.Kes. sebagai Ketua Pascasarjana Jurusan Kimia, Masruri, S.Si.,M.Si.,Ph.D., sebagai Ketua Jurusan Kimia, serta dosen-dosen beserta staf Jurusan Kimia.
4. Bapak Dino Sudara, Ibu Titik Purwati, serta Afdlala Fikry dan Isnainoora T., sebagai keluarga yang selalu memberikan support materi dan non-materi untuk menyelesaikan studi ini
5. Suami (Fadhli Eko Prastyo) dan Anakku (Fillio Farhan Ramadhan) sebagai keluarga yang selalu memberikan semangat dalam menempuh studi ini.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan naskah tesis ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 1 Juli 2019

Penulis



## RINGKASAN

Fahrana Salas Trenggamayunelgi. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya. Juli 2019. **Pengembangan Metode Flow Injection Analysis (FIA)-Spektrofotometri Tak Langsung untuk Penentuan Hidrokuinon Berbasis Pembentukan Kompleks I<sub>2</sub>-Amilum**. Komisi Pembimbing. Ketua: Dra. Hermin Sulistyarti, Ph.D. Anggota: Dr. Rurini Retnowati, M.Si.

Hidrokuinon ditemukan dalam produk kosmetika pemutih yang dapat memutihkan kulit karena mampu mengubah warna kulit akibat hiperpigmentasi. Penggunaan hidrokuinon yang berlebihan dan tanpa pengawasan dokter dapat menyebabkan ookronosis, yaitu kulit terasa terbakar, permukaan kulit akan berbintil-bintil, kulit menjadi gatal dan berwarna kebiruan.

Beberapa teknik penentuan hidrokuinon yang telah dilakukan seperti voltametri, kromatografi cair kinerja tinggi, titrimetri, fluorometri, dan kromatografi gas, namun metode tersebut kurang efisien. Pada penelitian ini, dikembangkan metode FIA-spektrofotometri yang efisien karena memiliki keunggulan yaitu konsumsi waktu analisis sedikit, waktu respon cepat dengan reproduksibilitas yang baik, konsumsi sampel serta reagen yang sedikit sehingga mampu meningkatkan presisi dan akurasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengoptimasi metode *flow injection analysis* (FIA)-spektrofotometri untuk penentuan hidrokuinon dalam kosmetik menggunakan pereaksi iodium dan amilum.

Prinsip metode penelitian ini didasarkan pada pembentukan kompleks iodium-amilum yang berwarna biru pada suasana asam. Hidrokuinon yang dilarutkan dalam iodium akan mereduksi iodium menjadi iodida. Sisa iodium yang tidak bereaksi dengan hidrokuinon berikatan dengan amilum dalam *mixing coil* membentuk kompleks I<sub>2</sub>-amilum berwarna biru kemudian dideteksi oleh spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 628 nm. Metode analisis penentuan hidrokuinon didasarkan pada perbedaan nilai absorbansi kompleks amilum-iodium yang berwarna biru dengan penambahan hidrokuinon dengan nilai absorbansi larutan kompleks amilum-iodium tanpa penambahan hidrokuinon (sebagai larutan blanko).

Pada penelitian ini, manifold *flow injection analysis* (FIA) harus melewati tahap pencucian untuk membersihkan seluruh line dari sisa pengotor. Kemudian tahap pengisian loop sampel yang dilakukan pada posisi load dengan menyuntikkan sampel hidrokuinon dan tahap penentuan hidrokuinon dengan merubah posisi load menjadi posisi injek. Optimasi metode dengan flow injection analysis (FIA)-spektrofotometri terdiri dari parameter operasional, parameter kimia, penentuan linieritas konsentrasi hidrokuinon, uji selektivitas terhadap senyawa asing, dan validasi metode pada sampel kosmetik. Optimasi parameter operasional meliputi variasi panjang mixing coil (25, 50, 75, dan 100 cm), sample loop (50, 75, 100, dan 125  $\mu$ L) , dan laju alir (0,4, 0,8, 1,9, dan 2,9 mL/menit). Sedangkan, optimasi



parameter kimia meliputi variasi konsentrasi amilum (0,01, 0,02, 0,05, 0,07, dan 0,1 %) dan iodium (30 mg/L hingga 100 mg/L). Pada uji selektivitas, ditambahkan senyawa pengganggu asam askorbat dan resorsinol pada variasi 0,1, 0,5, 1, dan 5 mg/L. Serta dilakukan uji validasi FIA-spektrofotometri pada sampel kosmetik.

Hasil optimasi kondisi operasional metode *flow injection analysis* (FIA)-spektrofotometri variasi volume sampel diketahui bahwa peningkatan volume sampel dari 50  $\mu$ L hingga 100  $\mu$ L mampu meningkatkan nilai absorbansi karena semakin meningkat volume sampel maka semakin banyak sampel yang ditambahkan untuk mencapai kesetimbangan mol reaksi. Namun, pada volume sampel 125  $\mu$ L mengalami penurunan nilai absorbansi, hal ini karena pencampuran dengan reagen tidak sempurna. Untuk variasi laju alir, dihasilkan peningkatan nilai absorbansi dari 0,4 mL/menit hingga 2,9 mL/menit dengan diperoleh laju alir yang optimum pada 2,9 mL/menit dengan waktu analisis 23 detik/sampel. Peningkatan laju alir mampu meningkatkan waktu analisis dengan sensitivitas yang baik. Untuk variasi panjang *mixing coil*, terjadi peningkatan absorbansi dari 25 cm hingga 50 cm. Namun, pada panjang *mixing coil* 75 cm hingga 100 cm menghasilkan penurunan sinyal nilai absorbansi. Penurunan nilai absorbansi disebabkan oleh *mixing coil* yang semakin panjang sehingga proses pengocokan antara amilum dan hidrokuinon- $I_2$  semakin sempurna dalam *mixing coil* namun, peningkatan derajat dispersi semakin tinggi.

Hasil optimasi kondisi kimiawi metode *flow injection analysis* (FIA)-spektrofotometri pada pengaruh variasi konsentrasi iodium adalah semakin tinggi konsentrasi iodium maka warna biru dari kompleks iodium-amilum yang terbentuk meningkat. Peningkatan absorbansi terjadi pada konsentrasi 30 mg/L hingga 100 mg/L. Konsentrasi optimum yang dipilih adalah 40 mg/L karena menghasilkan puncak dengan sensitivitas yang baik. Pada pengaruh variasi konsentrasi amilum, terjadi peningkatan absorbansi dari konsentrasi amilum 0,01% hingga 0,05% dan konstan hingga 0,1%. Hal ini sesuai dengan konsep kesetimbangan, dengan penambahan konsentrasi reagen (amilum), kesetimbangan reaksi akan bergeser ke arah produk (kompleks iodium-amilum). Sehingga 0,05% dipilih sebagai kondisi optimum.

Hasil keseluruhan optimasi menunjukkan kondisi optimum penentuan hidrokuinon adalah volume sampel 100  $\mu$ L, laju alir 2,9 mL/menit, panjang *mixing coil* 50 cm, konsentrasi optimum iodium 40 mg/L dan konsentrasi amilum 0,05%. Kisaran konsentrasi untuk analisis hidrokuinon dengan metode FIA-Spektrofotometri adalah dari 1 mg/L hingga 15 mg/L dengan nilai koefisien regresi ( $R^2$ ) mencapai 0,9936 serta nilai LOD dan LOQ masing-masing adalah 0,16 mg/L dan 0,53 mg/L. Keberadaan asam askorbat dan resorsinol hingga konsentrasi 0,1 mg/L tidak mengganggu selektivitas hasil pengukuran hidrokuinon dengan nilai persen *recovery* masing - masing 106 % dan 109 %. Namun, pada konsentrasi  $\geq 0,5$  mg/L, mengganggu selektivitas hasil pengukuran. Uji validasi analisis hidrokuinon secara FIA-Spektrofotometri pada sampel kosmetik menghasilkan nilai persen

*recovery* adalah 94,16% yang memungkinkan metode ini digunakan sebagai metode alternatif untuk penentuan hidrokuinon. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa metode FIA-Spektrofotometri tak langsung berbasis pembentukan kompleks warna biru I<sub>2</sub>-amilum dapat digunakan untuk penentuan hidrokuinon dalam kosmetik. Namun, masih perlu adanya pengembangan lebih lanjut agar metode ini memiliki selektivitas yang lebih baik dan dapat diaplikasikan untuk sampel lain, seperti sampel limbah.



## SUMMARY

Fahrana Salas Trenggamayunelgi. Magister Program of Brawijaya University. July 2019. **Development of the Flow Injection Analysis (FIA) - Spectrophotometry Indirect Method for the Determination of Hydroquinone Based on the Blue Color Formation of I<sub>2</sub>-Amylum Complex.** Supervisor: Dra. Hermin Sulistyarti, Ph.D, Co. Supervisor: Dr. Rurini Retnowati, M.Si..

Hydroquinone is still found in whitening cosmetic which can change the color of the skin due to hyperpigmentation. The excess uses of hydroquinone without doctor supervision can cause oocronosis, in which the skin feels burnt, and becomes pimples, itchy, and bluish in color.

Several hydroquinone determination techniques have been reported such as voltammetry, HPLC, titrimetry, fluorometry, and gas chromatography; however, these technique are not efficient. In this study, an efficient FIA-spectrophotometry method was developed which offers the advantages of efficient in time of analysis, fast response with good reproducibility, low consumption of samples and reagents, so it can increase precision and accuracy. The purpose of this study was to optimize the flow injection analysis (FIA)-spectrophotometry method for determining hydroquinone in cosmetics using iodine and amyllum reagents.

The principle of this research method is based on the formation of blue colour iodine-amyllum complex in an acidic condition. Hydroquinone which is dissolved in iodine solution, reduced iodine to iodide. The remaining of iodine which did not react with hydroquinone, was bound to starch at mixing coil to form a blue iodine-amyllum complex then detected by a UV-Vis spectrophotometer at a maximum wavelength of 628 nm. The determination of hydroquinone was based on the difference of the absorbance value of the blue amyllum-iodine complex with the addition of hydroquinone compared to the absorbance value of the solution of iodine-amyllum complex without the addition of hydroquinone (as a blank solution).

In this research, the manifold of *flow injection analysis* (FIA) must be washed the entire line from residual impurities. Then inject the hydroquinone sample to the sample loop on the load position until fulfilled and change from the load position to the injection position. Optimization of *flow injection analysis* (FIA)-spectrophotometry consists of operational parameters, chemical parameters, determination of the linearity of hydroquinone concentration, selectivity test from the interfere compounds, and applied the validation in cosmetic samples. Optimization of operational parameters includes of variations of mixing coils (25, 50, 75 and 100 cm), sample loops (50, 75, 100, and 125  $\mu$ L), and flow rates (0.4, 0.8, 1.9 and 2.9 mL/minute). Meanwhile, for optimization of chemical parameters include of starch concentration variations (0.01, 0.02, 0.05, 0.07 and 0.1%) and iodine concentration (30 mg / L to 100 mg / L). In the selectivity test, ascorbic acid and resorcinol were added from variants of 0.1, 0.5, 1, and 5 mg / L. And FIA spectrophotometric validation tests were applied on cosmetic samples.

The results of the operational conditions optimization of flow injection analysis (FIA)-spectrophotometry showed that an increase on sample volume from 50  $\mu\text{L}$  to 100  $\mu\text{L}$  increased the absorbance values because the higher of sample volume, more samples were added to reach the equilibrium of the reaction mole. However, higher sample volume of 125  $\mu\text{L}$  decreased the absorbance value because higher sample volume resulting dispersion in the sample solution. For variations in the flow rate, the absorbance values increased from flow rate of 0.4 mL/minute to 2.9 mL/minute. The flow rate of 2.9 mL/minute with a 23 second analysis time/sample was selected as optimum. Increasing the flow rate increased the analysis time with good sensitivity. For variations in the mixing coil length, it was known that the absorbance increased in the mixing coil length from 25 cm to 100 cm. Decreasing the absorbance values were caused by a longer mixing coil which increases the dispersion degree.

The results of the optimization of the chemical conditions of the flow injection analysis (FIA)-spectrophotometry on the effect of iodine concentration variations showed that the higher the iodine concentration, increase the blue color from the iodine-starch complex formed. There was an increase in absorbance from concentration of 30 mg/L to 100 mg/L. The optimum concentration of 40 mg/L was chosen because it produce peaks with good sensitivity. On the effect of variations in starch concentration, there was an increase in absorbance from starch concentrations at the range 0.01% to 0.05% and constant to 0.1%. This is in accordance with the concept of equilibrium, in which the addition of the concentration of reagent (amylum), the equilibrium of the reaction shift towards the product (iodine-starch complex). So that 0.05% was chosen as the optimum condition.

The overall optimum conditions of FIA-spectrophotometry method for determination of hydroquinone were sample volume of 100  $\mu\text{L}$ , flow rate of 2.9 mL/minute, mixing coil length of 50 cm, optimum concentration of iodine 40 mg/L, and starch concentration of 0.05%. The concentration range for hydroquinone analysis by the FIA-Spectrophotometry method was from 1 mg/L to 15 mg/L with a regression coefficient ( $R^2$ ) of 0.9949 and the LOD and LOQ values were 0.16 mg/L and 0.53 mg/L, respectively. The presence of ascorbic acid and resorcinol to 0.1 mg/L did not interfere the selectivity of hydroquinone measurement, with the percent recovery values of 106% and 109%, respectively. However at concentration  $\geq 0.5$  mg/L, the selectivity measurement results was interfere showed by decreasing of absorbance value. The validation of FIA-Spectrophotometry method was carried out using cosmetic samples with percent recovery of 94.16% which this method is feasible to be used as an alternative method for hydroquinone determination.

The conclusion of this research is the FIA-Spectrophotometry indirectly based on the formation of the blue  $\text{I}_2$ -amylum complex can be used for the determination of hydroquinone in cosmetics. However further development is still

needed, so that this method has better selectivity and can be applied to other samples, such as waste samples.



## KATA PENGANTAR

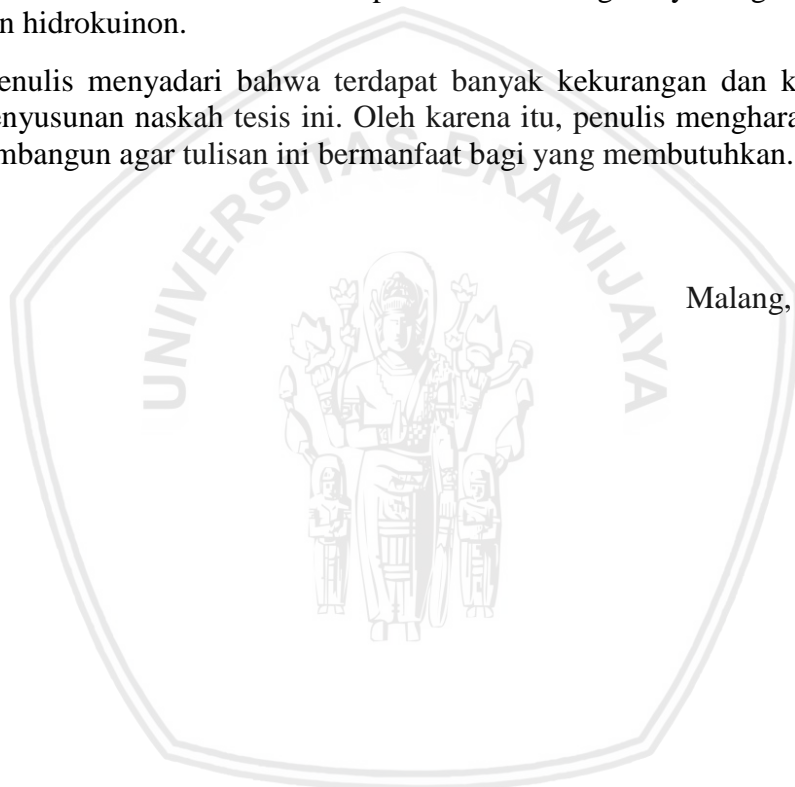
Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Tuhan yang Maha Esa atas limpahan rahmat penulis dapat menyajikan tulisan tesis yang berjudul **Pengembangan Metode *Flow Injection Analysis* (FIA) -Spektrofotometri Tak Langsung untuk Penentuan Hidrokuinon Berbasis Pembentukan Warna Biru dari Kompleks I<sub>2</sub>-Amilum** Naskah Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains dalam bidang Kimia.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum metode FIA-spektrofotometri untuk penentuan hidrokuinon yang diaplikasikan dalam sampel kosmetik. Memvalidasi metode FIA-spektrofotometri agar layak digunakan untuk penentuan hidrokuinon.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan naskah tesis ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 1 Juli 2019

Penulis





## DAFTAR ISI

|   | <b>Halaman</b> |
|---|----------------|
| <b>RINGKASAN .....</b>                                    | <b>i</b>       |
| <b>SUMARRY .....</b>                                      | <b>iv</b>      |
| <b>KATA PENGANTAR.....</b>                                | <b>vii</b>     |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>                                    | <b>viii</b>    |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>                                 | <b>xi</b>      |
| <b>DAFTAR GAMBAR.....</b>                                 | <b>xii</b>     |
| <b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>                              | <b>xiv</b>     |
| <br>  |                |
| <b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>                            | <b>1</b>       |
| 1.1 Latar Belakang.....                                   | 1              |
| 1.2 Rumusan Masalah.....                                  | 6              |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                               | 7              |
| 1.4 Batasan Masalah .....                                 | 7              |
| 1.5 Manfaat Penelitian .....                              | 7              |
| <br>  |                |
| <b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>                       | <b>8</b>       |
| 2.1 Tinjauan Umum Hidrokuinon .....                       | 8              |
| 2.1.1 Sifat Hidrokuinon .....                             | 8              |
| 2.1.2 Keberadaan Hidrokuinon.....                         | 10             |
| 2.1.3 Toksisitas Hidrokuinon dan Efek Bagi Kesehatan..... | 11             |
| 2.1.4 Metode Analisis.....                                | 12             |
| 2.1.5 Reaksi Hidrokuinon dengan Iodium.....               | 13             |
| 2.2 Iodium.....   | 14             |
| 2.3 Amilum.....   | 15             |
| 2.4 Reaksi Iodium dan Amilum.....                         | 16             |
| 2.4 <i>Flow Injection Analysis</i> (FIA) .....            | 16             |
| 2.6 Spektrofotometri UV-Vis .....                         | 18             |
| <br>  |                |
| <b>BAB III KERANGKA KONSEP PENELITIAN.....</b>            | <b>20</b>      |
| 3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....                       | 20             |

|   |    |
|---|----|
| 3.2 Kerangka Operasional Penelitian ..... | 23 |
| 3.3 Hipotesis Penelitian .....            | 24 |

## **BAB IV METODE PENELITIAN ..... 25**

|  |    |
|--|----|
| 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....   | 25 |
| 4.2 Alat dan Bahan Penelitian .....  | 25 |
| 4.3 Tahapan Penelitian.....  | 25 |
| 4.4 Metode Kerja .....   | 26 |
| 4.4.1 Pembuatan Larutan .....  | 26 |
| 4.4.1.1 Pembuatan Larutan Stok Hidrokuinon 100 mg/L .....                      | 26 |
| 4.4.1.2 Pembuatan Larutan Hidrokuinon 6 mg/L dalam 40<br>mg/L iodium.....      | 26 |
| 4.4.1.3 Pembuatan Larutan Asam Sulfat 1 M .....                                | 26 |
| 4.4.1.4 Pembuatan Larutan Amilum 0,05% .....                                   | 27 |
| 4.4.1.5 Pembuatan Larutan Stok Resorsinol dan Asam<br>Askorbat 100 mg/L.....   | 27 |
| 4.4.1.6 Pembuatan Larutan Senyawa Asing (Resorsinol dan<br>Asam Askorbat ..... | 27 |
| 4.4.2 Optimasi Metode .....  | 27 |
| 4.4.2.1 Susunan Manifold FIA .....   | 27 |
| 4.4.2.2 Parameter Operasional .....  | 28 |
| a. Penentuan <i>Loop</i> Sampel Optimum.....                                   | 29 |
| b. Penentuan laju Alir Optimum .....   | 30 |
| c. Penentuan Panjang <i>Mixing Coil</i> Optimum.....                           | 30 |
| 4.4.2.3 Parameter Kimia.....   | 30 |
| a. Penentuan Konsentrasi Iodium Optimum .....                                  | 30 |
| b. Penentuan Konsentrasi Amilum Optimum .....                                  | 31 |
| 4.4.3 Penentuan Linieritas Hidrokuinon.....                                    | 31 |
| 4.4.4 Uji Selektivitas .....   | 31 |
| 4.4.5 Validasi Metode FIA .....  | 32 |
| 4.4.5.1 Preparasi Sampel.....  | 32 |
| 4.4.5.2 Uji Validasi Menggunakan Metode FIA-Spektro pada                       |    |

|  |           |
|--|-----------|
| Sampel Kosmetik .....  | 32        |
| a. Pembuatan Kurva Standar Hidrokuinon .....                               | 32        |
| b. Penentuan Konsentrasi Hidrokuinon dalam Sampel Kosmetik .....           | 32        |
| 4.4.5.3 Analisis Data .....  | 33        |
| a. Perhitungan Persamaan Regresi Linier dan Koefisien Korelasi .....       | 33        |
| b. Perhitungan Standar Deviasi .....                                       | 33        |
| c. Uji t .....   | 34        |
| d. Limit Deteksi (LOD) dan Limit Kuantisasi (LOQ) .....                    | 35        |
| <b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                                    | <b>36</b> |
| 5.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum .....                              | 37        |
| 5.2 Pengaruh Parameter Operasional .....                                   | 40        |
| 5.2.1 Pengaruh Volume Sampel .....   | 40        |
| 5.2.2 Pengaruh Laju Alir .....   | 41        |
| 5.2.3 Pengaruh Panjang <i>Mixing Coil</i> .....                            | 43        |
| 5.3 Pengaruh Parameter Kimia .....   | 45        |
| 5.3.1 Pengaruh Konsentrasi Iodium .....                                    | 45        |
| 5.3.2 Pengaruh Konsentrasi Amilum .....                                    | 48        |
| 5.4 Penentuan Kisaran Konsentrasi Pengukuran Hidrokuinon .....             | 49        |
| 5.5 Uji Selektivitas .....   | 51        |
| 5.6 Validasi Metode <i>Flow Injection Analysis-Spectrophotometry</i> ..... | 56        |
| <b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>                                   | <b>58</b> |
| 6.1 Kesimpulan .....   | 58        |
| 6.2 Saran .....  | 58        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>  | <b>59</b> |
| <b>LAMPIRAN .....</b>  | <b>64</b> |

## DAFTAR TABEL

|           | <b>Halaman</b>   |
|-----------|--|
| Tabel 2.1 | Perkiraan Panjang Gelombang Warna-Warna Dalam Daerah Sinar Tampak..... 19                                  |
| Tabel 5.1 | Panjang Gelombang Maksimum dan Absorbansi Panjang Gelombang Maksimum Pada Kompleks Iodium-Amilum..... 38   |
| Tabel 5.2 | Pengaruh Senyawa Pengganggu Terhadap Absorbansi Kompleks I <sub>2</sub> -Amilum..... 53                    |
| Tabel 5.3 | Hasil Pengukuran Sampel Kosmetik dengan Adisi Standar..... 57  |
| Tabel L.1 | Pengenceran Larutan Hidrokuinon 1-15 Mg/L..... 67  |
| Tabel L.2 | Pengaruh Senyawa Pengganggu Asam Askorbat (AA) Terhadap Absorbansi Kompleks I <sub>2</sub> -Amilum..... 68 |
| Tabel L.3 | Pengaruh Senyawa Pengganggu Resorsinol (RS) Terhadap Absorbansi Kompleks I <sub>2</sub> -Amilum..... 69    |
| Tabel L.4 | Hasil Pengukuran Sampel dengan Metode FIA..... 70  |

## DAFTAR GAMBAR

|             | <b>Halaman</b>  |
|-------------|---|
| Gambar 2.1  | Rumus Struktur Hidrokuinon..... 8   |
| Gambar 2.2  | Jalur Oksidasi Hidrokuinon Menjadi Benzokuinon..... 9   |
| Gambar 2.3  | Spesi Hidrokuinon Dalam Berbagai pH di Dalam Air..... 10  |
| Gambar 2.4  | Spesi Iodium Dalam Berbagai pH..... 15  |
| Gambar 2.5  | Struktur Amilosa..... 15  |
| Gambar 2.6  | Struktur Amilopektin..... 15  |
| Gambar 2.7  | Struktur 3D Kompleks Iodium-Amilum. .... 16   |
| Gambar 2.8  | Rangkaian Sederhana Analisis Injeksi Alir..... 17   |
| Gambar 4.1  | <i>Flow Injection Analysis (FIA)</i> Manifold..... 28   |
| Gambar 5.1  | Panjang Gelombang Maksimum Kompleks Amilum-Iodium..... 37                                       |
| Gambar 5.2  | Pengaruh Variasi pH Terhadap Panjang Gelombang Maksimum Kompleks I <sub>2</sub> -Amilum..... 39 |
| Gambar 5.3  | Pengaruh Variasi Volume Sampel Pada Absorbansi Hidrokuinon..... 40                              |
| Gambar 5.4  | Profil FIAGram Pengaruh Optimasi Volume Sampel..... 40  |
| Gambar 5.5  | Pengaruh Variasi Laju Alir Pada Absorbansi Hidrokuinon..... 42                                  |
| Gambar 5.6  | Profil FIAGram Pengaruh Optimasi Laju Alir..... 43  |
| Gambar 5.7  | Pengaruh Variasi <i>Mixing Coil</i> Pada Absorbansi Hidrokuinon.... 44                          |
| Gambar 5.8  | Profil FIAGram Pengaruh Optimasi <i>Mixing Coil</i> ..... 44                                    |
| Gambar 5.9  | Pengaruh Variasi Konsentrasi Iodium Pada Absorbansi kompleks I <sub>2</sub> -amilum..... 46     |
| Gambar 5.10 | Profil FIAGram Pengaruh Optimasi Konsentrasi Iodium..... 47                                     |
| Gambar 5.11 | Pengaruh Variasi Konsentrasi Amilum Pada Absorbansi kompleks I <sub>2</sub> -amilum..... 48     |
| Gambar 5.12 | Profil FIAGram Pengaruh Optimasi Konsentrasi Amilum..... 49                                     |
| Gambar 5.13 | Kurva Linieritas Hubungan Absorbansi dengan Konsentrasi Hidrokuinon..... 50                     |
| Gambar 5.14 | Kurva Linieritas Hubungan $\Delta$ Absorbansi Dengan Konsentrasi Hidrokuinon..... 50            |
| Gambar 5.15 | Struktur Kimia Senyawa Asam Askorbat dan Resorsinol..... 52                                     |

|             |  |    |
|-------------|--|----|
| Gambar 5.16 | Reaksi antara iodium dan asam askorbat.....                      | 55 |
| Gambar 5.17 | Profil FIAGram Selektivitas Dengan Penambahan Asam Askorbat..... | 55 |
| Gambar 5.18 | Profil FIAGram Selektivitas Dengan Penambahan Resorsinol .....   | 56 |





## DAFTAR LAMPIRAN

|   | <b>Halaman</b> |
|---|----------------|
| L.1 Pembuatan larutan stok hidrokuinon 100 mg/L.....                  | <b>64</b>      |
| L.2 Pembuatan larutan hidrokuinon 6 mg/L dalam 40 mg/L.....           | 64             |
| L.3 Pembuatan larutan asam sulfat 1 M.....                            | 64             |
| L.4 Pembuatan larutan amilum 0,05%.....                               | 65             |
| L.5 Pembuatan larutan stok resorsinol dan asam askorbat 100 mg/L..... | 65             |
| L.6 Pembuatan larutan senyawa asing dalam 40 mg/L iodium.....         | 65             |
| L.7 Pembuatan larutan hidrokuinon.....                                | 66             |
| L.7.1 Pembuatan larutan induk hidrokuinon 100 mg/L.....               | 66             |
| L.7.2 Pembuatan larutan standart hidrokuinon 10 mg/L .....            | 66             |
| L.8 Pembuatan larutan asam sulfat.....                                | 67             |
| L.8.1 Pembuatan Larutan asam sulfat 1 M.....                          | 67             |
| L.8.2 Pembuatan Larutan asam sulfat 0,01 M.....                       | 68             |
| L.9 Perhitungan persen <i>recovery</i> uji validasi.....              | 70             |
| L.10 Perhitungan standart deviasi.....                                | 70             |
| L.11 Perhitungan nilai <i>Limit of Detection</i> .....                | 71             |
| L.12 Perhitungan nilai <i>Limit of Quantification</i> .....           | 71             |



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
PASCASARJANA

19 0674 T



**SERTIFIKAT BEBAS PLAGIASI**

Nomor: 1120/UN10.F40/PN/2019

Sertifikat ini diberikan kepada:

Nama : Fahrana Salas Trenggamayunelgi  
 NIM : 166090200111001  
 Program Studi : Program Magister Ilmu Kimia  
 Fakultas : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
 Universitas : Universitas Brawijaya

Dengan Judul Tesis

**Pengembangan Metode Flow Injection Analysis (FIA) – Spektrofotometri Tak Langsung  
 untuk Penentuan Hidrokuinon Berbasis Pembentukan Warna Biru Dari Kompleks I2-  
 Amilum**

Telah dideteksi tingkat plagiasinya secara online pada tanggal **23 Mei 2019**  
 dan dinyatakan **bebas plagiasi** dengan kriteria toleransi  $\leq 5\%$ .

Direktur

Dr. Marjono, M.Phil  
 NIP. 195211141989031004

Malang, 24 Mei 2019  
 Ketua Badan Penerbitan Jurnal

Indah Yanti, S.Si, M.Si.  
 NIP. 197911292006013002



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hidrokuinon (1,4-dihidroksibenzena) merupakan senyawa organik aromatis turunan keton jenis fenol yang telah banyak digunakan sebagai reduktor, sebagai antioksidan untuk bahan-bahan berpolimerisasi, industri cuci film (fotografi hitam dan putih), industri kimia, dan produk kedokteran (Osman *et al.*, 2015). Hidrokuinon ditemukan dalam penggunaannya pada produk kosmetik dan medis yang dapat memutihkan kulit karena mampu mengubah warna kulit akibat hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi merupakan kelainan kulit dan salah satu caranya dapat disembuhkan dengan hidrokuinon sesuai pengawasan dokter dengan takaran tertentu. Hidrokuinon mampu menghambat sintesis enzim tirosinase yang berperan utama dalam proses pembentukan melanin sehingga mengakibatkan produksi melanin berkurang dan kulit menjadi didepigmentasi (Elferjani *et al.*, 2017).

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia, penggolongan kosmetik digolongkan menurut sifat dan manfaatnya bagi kulit. Penggolongannya menurut kegunaannya pada kulit terdiri dari kosmetik perawatan kulit (*cleanser, moisturizer, pelindung kulit, peeling*), kosmetik wangi-wangian dan kosmetik riasan (*make-up*) (Latifah dkk., 2013). Kandungan kosmetik terdiri atas 95% bahan dasar dan hanya 5% bahan aktif. Bahan dasar yang digunakan dalam komposisi kosmetik adalah lemak, air, dan alkohol. Sedangkan untuk bahan aktif terdiri dari, vitamin A, vitamin C, vitamin D, vitamin E, hormon, protein, enzim, serta bahan aktif kompleks seperti ginseng (Kabau dan Riyanto, 2012). Salah satu contoh kosmetik jenis krim wajah yang bermanfaat untuk memutihkan wajah dan menghilangkan bekas jerawat serta flek memiliki kandungan bahan aktif yang terdiri dari hidrokuinon, oxybenzone, dan octyldimethyl-PABA.

Penggunaan kosmetik sebagai pencerah kulit merupakan hal umum di berbagai negara, salah satu negara dengan penggunaan pencerah kulit tertinggi adalah di benua Nigeria dengan presentasi pengguna wanita sekitar 72 %. Kawasan Asia dan Afrika menjadi pasar populer untuk komersial pencerah kulit (Davids *et al.*, 2016). Menurut penelitian yang dilakukan Osman (2015) mengungkapkan bahwa, penggunaan hidrokuinon pada wanita di Sudan sebagai pencerah kulit mencapai 65,2 % dengan persentase 94,2 % penggunaan tanpa resep dokter (Osman *et al.*, 2015).

Penggunaan hidrokuinon di Indonesia pun sudah sangat luas, beberapa penelitian yang mengangkat tema tentang hidrokuinon sudah sangat banyak. Salah satunya yang dilakukan oleh Astuti (2016) yang mengidentifikasi hidrokuinon pada krim pemutih wajah yang dijual di wilayah Minomartani, Yogyakarta. Dari hasil identifikasi yang dilakukan, diketahui 9 dari 14 merek dagang pada krim pemutih mengandung senyawa hidrokuinon dan 8 merek diantaranya mengandung hidrokuinon lebih dari 2 %. Penggunaan hidrokuinon yang berlebihan dan tanpa pengawasan dokter dapat menyebabkan ookronosis, yaitu kulit terasa terbakar, permukaan kulit akan berbintil-bintil, kulit menjadi gatal dan berwarna kebiruan (Astuti dkk., 2016).

Selain memiliki manfaat, hidrokuinon memiliki banyak efek samping untuk pemakaian jangka panjang dan tidak dalam pengawasan adalah penghancuran melanosit dermatitis iritasi, dermatitis kontak dan ookronosis, kerusakan hati, kanker bahkan koma. Di sumsum tulang, senyawa hidrokuinon dioksidasi menjadi p-benzokuinon karena adanya aktivitas mieloperoksidase yang tinggi (Elferjani *et al.*, 2017). Selain itu, hidrokuinon menghambat DNA dan sintesis RNA dalam melanosit epidermal dan menjadi bersifat toksik untuk melanosom (Davids *et al.*, 2016).

Hidrokuinon merupakan komponen yang sangat berbahaya walaupun pada konsentrasi yang sangat rendah, sehingga oleh *United States Environment Protection Agency* (US EPA) dan *European Union* telah melarang dan menggolongkan hidrokuinon sebagai polutan bagi lingkungan (H. El-Ads, 2018). Tetapi, *Food and Drugs Administration* (FDA) menyatakan bahwa penggunaan hidrokuinon dalam kosmetik diperbolehkan dengan kadar maksimum 2% disertai pengawasan dokter, akan tetapi tidak diizinkan untuk pemakaian dalam jangka waktu yang lama. Sementara itu, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI) tahun 2006 dan 2007 menemukan bahan-bahan berbahaya seperti merkuri, hidrokuinon, dan rhodamin b digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan kosmetik. Menurut peraturan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia No.445/MENKES/PER/V/1998 tentang bahan, zat warna, substrat, zat pengawet dan tabir surya pada kosmetik dan BPOM No.HK.00.05.4.1745 tentang kosmetik, telah melarang penggunaan hidrokuinon pada konsentrasi rendah sekalipun dalam kosmetik (Astuti dkk., 2016). Sehingga, perlu dikembangkan metode yang selektif dan akurat untuk penentuan hidrokuinon agar terhindar dari efek samping senyawa hidrokuinon.

Metode penentuan hidrokuinon dapat dilakukan dengan menggunakan UV-Vis, salah satunya dilakukan oleh Elferjani (2017) yang melakukan penentuan pada panjang gelombang maksimum 290 nm. Dari hasil penelitian, diketahui bahwa linieritas yang memenuhi hukum Beer

adalah konsentrasi 10-40  $\mu\text{g/ml}$  dengan koefisien regresi mencapai 0,9994. Konsentrasi hidrokuinon yang teridentifikasi untuk seluruh sampel rata-rata berkisar antara 0,008% sampai dengan 0,210 % (Elferjani *et al.*, 2017). Adapun metode ini memiliki kelemahan, yaitu waktu analisis yang lama karena proses pengukuran menggunakan kuvet secara bergantian untuk analisis sampel.

Beberapa teknik penentuan hidrokuinon yang telah dilakukan seperti voltametri, kromatografi cair kinerja tinggi, titrimetri, fluorometri, dan kromatografi gas (Qassim dan Omaish 2014). Salah satunya dilakukan oleh Astuti (2016), melakukan analisis hidrokuinon pada kosmetik yang ada di kota Yogyakarta secara kualitatif dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fasa gerak toluene : asam asetat glasial perbandingan (8:2). Sedangkan untuk analisis secara kuantitatif dengan titrasi serimetri, sampel yang telah dipreparasi ditambahkan asam sulfat dan ditetesi indikator difenilamin, lalu dititrasi dengan serum (IV) sulfat hingga berwarna keunguan. Dari hasil uji, diperoleh bahwa 8 sampel positif mengandung hidrokuinon di atas 2% dan 1 sampel di bawah 2 % (Astuti dkk., 2016). Metode kromatografi lapis tipis memiliki kelemahan yaitu harus memiliki ketepatan dan ketelitian saat melakukan penotolan sampel agar hasil pemisahan yang diharapkan bagus dan tidak *tailing*.

Penentuan hidrokuinon juga dapat dilakukan dengan spektrofotometri dilakukan berdasarkan reaksi redoks menggunakan  $\text{KMnO}_4$  sebagai agen pengoksidasi. Hidrokuinon teroksidasi menjadi p-benzokuinon pada kondisi basa. Pengukuran konsentrasi hidrokuinon dilakukan dengan menggunakan analisis sistem alir (FIA) pada kondisi optimum konsentrasi  $\text{KMnO}_4$   $2,5 \times 10^{-2}$  M, konsentrasi NaOH 0,1 M yang dilakukan pada laju alir 2,12 mL/menit, panjang *mixing coil* 100 cm dan volume sampel 227,65  $\mu\text{L}$  pada panjang gelombang 610 nm. Dari metode tersebut, dihasilkan nilai performa yaitu perolehan kembali mencapai 99 %, RSD < 15 %, dan limit deteksi 0,012 mg/L dan 0,25 mg/L (Qassim dan Omaish, 2014). Nilai RSD yang diperoleh pada metode ini masih bernilai < 15 %, dimana nilai RSD pada suatu metode dikatakan baik bila memiliki nilai < 10%.

Analisis hidrokuinon dengan metode FIA-spektrofotometri juga dilakukan oleh Fahmi (2019) dengan mengembangkan FIA yang didasarkan pada pembentukan kompleks berwarna oranye antara hidrokuinon dengan floroglusinol pada kondisi basa yang dideteksi pada panjang gelombang 493 nm. Metode ini dilakukan pada kondisi optimum yaitu volume sampel 100  $\mu\text{L}$ , panjang *mixing coil 1* 100 cm, panjang *mixing coil 2* 50 cm, laju alir 2,8 mL/menit dengan



konsentrasi NaOH 0,005 mol/L dan konsentrasi floroglusinol 0,001 mol/L. Metode ini menunjukkan kisaran linieritas yang dapat diukur pada 2 hingga 80 mg/L dengan nilai  $R^2$  mencapai 0,9981. Limit deteksi yang mampu diukur adalah 0,04 mg/L dihitung dengan rumus  $S/N=3$  (Fahmi dkk., 2019).

Penentuan dengan basis kompleks iodium-amilum berwarna biru dikembangkan oleh Febrianti (2013) untuk penentuan iodida. Penelitian terdahulu yang telah dikembangkan yaitu, untuk penentuan iodida dalam sampel urin dengan pembentukan kompleks iodium-amilum yang telah dilakukan oleh Febrianti (2013), dimana iodida dioksidasi oleh iodat menjadi iodium dalam suasana asam. Iodium bereaksi dengan amilum membentuk kompleks berwarna biru yang di analisis menggunakan metode kolorimetri pada panjang gelombang 615 nm (Febrianti dkk., 2013).

Dalam penelitian lain yang dilakukan oleh Sulistyarti (2015) penentuan merkuri dengan prinsip pembentukan kompleks iodium-amilum, iodida bertindak sebagai ligan yang mampu berikatan dengan merkuri (II) sebagai metal untuk berikatan membentuk tetraiodomerkurat (II)  $[\text{HgI}_4]^{2-}$ . Merkuri bereaksi dengan iodida berlebih, lalu sisa dari iodida dioksidasi oleh iodat dalam suasana asam menjadi iodium ( $\text{I}_2$ ). Iodium yang terbentuk bereaksi dengan amilum membentuk kompleks amilum-iodium. Intensitas kompleks warna biru menurun dengan adanya penambahan merkuri pada larutan kompleks. Identifikasi merkuri menggunakan injeksi sistem alir (FIA) pada kondisi operasional optimum yaitu volume sampel 250  $\mu\text{L}$  dan panjang *mixing coil* 100 cm. Sedangkan kondisi kimiawi optimum adalah konsentrasi  $\text{KIO}_3$  0,01 M, konsentrasi  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,01 M dan indikator amilum 0,1% pada panjang gelombang 618 nm (Sulistyarti, H., 2015). Berdasarkan penelitian tersebut, selanjutnya dilakukan uji selektivitas untuk mengetahui efek penambahan ion  $\text{CN}^-$  dan  $\text{S}^{2-}$  sebagai ion pengganggu dan uji validitas yang diaplikasikan pada limbah tambang emas. Dari metode ini, diketahui bahwa anion  $\text{CN}^-$  tidak mengganggu sampai konsentrasi  $\text{CN}^-$  sebesar 50 mg/L, tetapi anion  $\text{S}^{2-}$  mulai mengganggu pada konsentrasi  $\text{S}^{2-}$  sebesar 5 mg/L. Ketika diaplikasikan pada sampel sintetis dan limbah tambang emas dihasilkan nilai perolehan kembali masing-masing sebesar 93,8% dan 107,5% (Permata, L.M., 2017).

Metode *flow injection analysis* (FIA) menjadi teknik yang memiliki keunggulan dibandingkan metode *batch* yang memerlukan reagen yang banyak dan waktu yang panjang untuk analisis (Peris-Tortajada, 2018). Pada sistem injeksi alir, sampel dialirkan bersama cairan pembawa menuju *mixing coil* sebagai zona reaksi. Sampel kemudian menuju detektor untuk dianalisis (Zagatto *et al.* 2012). Menurut Kulkarni (2015) beberapa keunggulan dari metode FIA



antara lain konsumsi waktu analisis berkisar 100-300 sampel/jam, waktu respon cepat dengan reproduksibilitas yang baik, konsumsi sampel serta reagen yang sedikit. Metode FIA juga mampu meningkatkan presisi dibandingkan metode *batch* karena metode FIA merupakan sistem otomatis dalam analisis hingga deteksi sampel (Kulkarni, A. A. dan Vaidya, I. S. 2015). Detektor yang digunakan pada penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis pada daerah sinar tampak karena kompleks yang diukur merupakan kompleks warna biru I<sub>2</sub>-amilum. Metode spektrofotometri UV-Vis memiliki keunggulan yaitu ketepatan, sensitivitas, dapat dioperasikan secara mudah dan efektivitas dalam biaya (Shah, R.S. et al., 2015).

Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini mengembangkan metode injeksi sistem alir (FIA) dengan detektor spektrofotometer UV-Vis. Prinsip dari penelitian ini adalah penentuan hidrokuinon berbasis pembentukan kompleks iodium-amilum. Hidrokuinon bereaksi dengan iodium berlebih, dimana iodium direduksi menjadi iodida dan hidrokuinon dioksidasi menjadi kuinon. Sisa iodium yang tidak bereaksi dengan hidrokuinon, membentuk kompleks warna biru dengan bereaksi secara spesifik dengan amilum dalam kondisi asam (pH = 1). Hidrokuinon dapat ditentukan berdasarkan penurunan intensitas warna biru ketika hidrokuinon ditambahkan ke dalam larutan.

Nilai absorbansi yang dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis sangat dipengaruhi oleh pelarut, pH, serta konsentrasi larutan. Sedangkan, kinerja FIA dalam metode ini sangat dipengaruhi oleh faktor operasional yang terdiri atas panjang *mixing coil*, volume sampel, dan laju alir. Sedangkan untuk faktor kimiawi dipengaruhi oleh konsentrasi amilum dan konsentrasi iodium. Selektivitas atau adanya zat pengganggu sangat mempengaruhi nilai absorbansi yang diperoleh. Validitas juga diuji dalam metode ini dengan menentukan hidrokuinon dalam sampel kosmetik. Keunggulan dari metode FIA yang dikembangkan adalah susunan manifold secara *single-channel*, dimana merupakan susunan yang mudah dengan larutan pereaksi berfungsi sebagai larutan pembawa dan juga sebagai larutan yang bereaksi dengan sampel. Dari latar belakang tersebut, sehingga dikembangkan suatu metode yang aman, efektif, sensitif, mudah dan akurat.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dikaji dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana kondisi optimum operasional dan kimiawi terhadap analisis hidrokuinon dalam metode FIA?
2. Bagaimana linieritas dan kisaran konsentrasi hidrokuinon yang dapat diukur menggunakan metode FIA?
3. Bagaimana pengaruh penambahan senyawa asing (selektivitas) terhadap hasil pengukuran?
4. Bagaimana hasil validasi penentuan hidrokuinon dengan metode FIA?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mempelajari kondisi operasional dan kimiawi optimum terhadap analisis hidrokuinon menggunakan metode FIA.
2. Mempelajari linieritas dan kisaran konsentrasi hidrokuinon yang dapat diukur dengan menggunakan metode FIA.
3. Mempelajari pengaruh penambahan senyawa asing (selektivitas) terhadap hasil pengukuran hidrokuinon menggunakan FIA.
4. Mempelajari validitas dalam penentuan hidrokuinon pada sampel kosmetik krim pemutih menggunakan metode FIA.

### 1.4 Batasan Masalah

1. Penentuan hidrokuinon berbasis penurunan intensitas absorbansi kompleks  $I_2$ -amilum setelah penambahan hidrokuinon, yang dideteksi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 628 nm.
2. Kondisi operasional meliputi panjang *mixing coil*, volume sampel, dan laju alir, sedangkan kondisi kimiawi meliputi konsentrasi iodium dan amilum.
3. Senyawa pengganggu yang digunakan adalah asam askorbat dan resorsinol.
4. Sampel kosmetik digunakan untuk validasi.
5. Metode FIA dengan detektor spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk validasi.

### 1.5 Manfaat Penelitian

1. Memahami dasar ilmu dan teknik dalam pengembangan metode analisis menggunakan metode sistem alir FIA.

2. Menghasilkan metode penentuan hidrokuinon menggunakan reagen yang aman, mudah diperoleh, efektif, sensitif, dan akurat.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Hidrokuinon

##### 2.1.1 Sifat Hidrokuinon

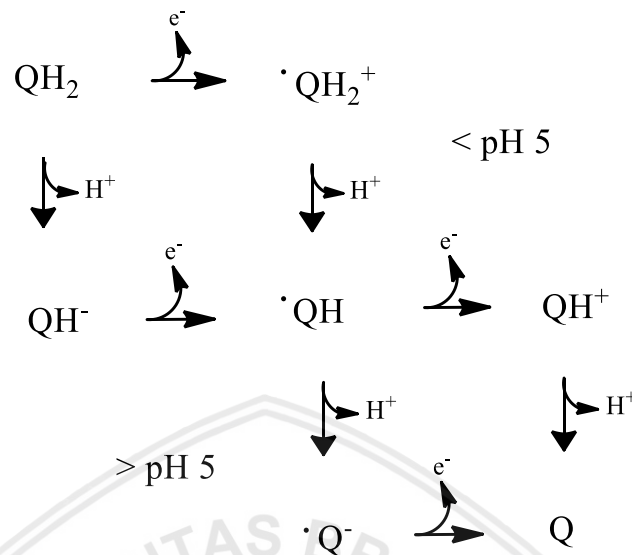
Hidrokuinon (1,4-dihydroxybenzene) merupakan senyawa organik aromatis turunan keton jenis fenol yang tersusun atas cincin benzena dan dua gugus hidroksil (-OH) pada posisi para dengan rumus kimia  $C_6H_4(OH)_2$ . Hidrokuinon berbentuk padatan jarum halus putih pada suhu kamar, mudah berubah warna menjadi gelap karena teroksidasi jika terpapar cahaya dan udara. Senyawa ini memiliki berat molekul sebesar 110,11 g/mol, serta mempunyai titik leleh sebesar  $169\text{ }^\circ\text{C}$  dan titik didih sebesar  $286\text{ }^\circ\text{C}$ . Kelarutan senyawa hidrokuinon dalam air sebesar 73 g/L pada temperatur  $25\text{ }^\circ\text{C}$ . Hidrokuinon juga larut dalam metanol maupun dietil eter (Enguita, 2013). Hidrokuinon (1,4-dihydroxybenzene) dapat teroksidasi menjadi kuinon dan kuinon terdiri dari dua gugus karbonil yang berkonjugasi dengan dua ikatan karbon. Berikut merupakan struktur senyawa hidrokuinon dapat dilihat pada Gambar 2.1 (Qassim dan Omaish, 2014).



Gambar 2.1. Rumus struktur hidrokuinon

Sifat dari gugus O-H pada hidrokuinon adalah bersifat asam lemah, dimana hasil dari basa konjugat mengalami alkilasi O menghasilkan monoeter dan dieter. Nilai pKa dari hidrokuinon berbeda-beda tergantung keasamannya, nilai pKa hidrokuinon dalam asam kuat sebesar 9,68 sedangkan pKa hidrokuinon dalam basa kuat sebesar -5,9 (Hudnall, P.M., 2002). Oksidasi hidrokuinon melibatkan hilangnya dua elektron dan dua proton, sehingga dimungkinkan terdapat

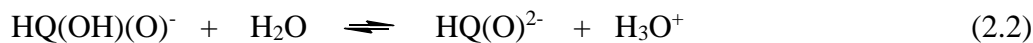
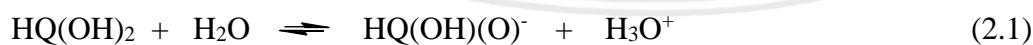
empat jalur mengoksidasi menjadi benzokuinon. Jalur reaksi tersebut terlihat pada Gambar 2.2 (Stack *et al.*, 2004).



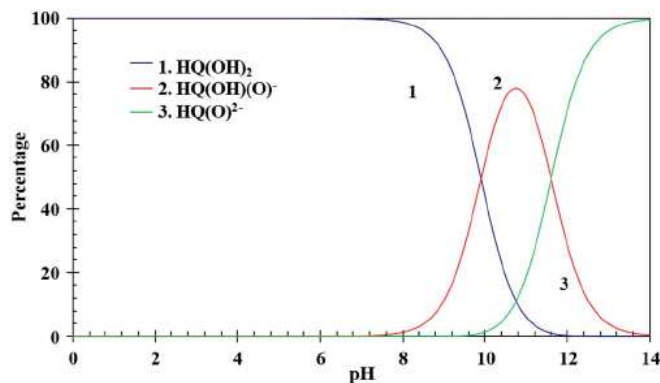
Gambar 2.2. Jalur oksidasi hidrokuinon menjadi benzokuinon.

Dari Gambar 2.2 diketahui pada pH rendah terjadi reaksi kehilangan satu elektron diikuti dengan hilangnya satu proton untuk membentuk semikuinon dan kehilangan elektron lagi diikuti oleh kehilangan proton untuk membentuk benzokuinon. Pada pH lebih tinggi, kehilangan proton diikuti dengan kehilangan elektron untuk membentuk semikuinon dan kehilangan proton lagi diikuti kehilangan elektron untuk membentuk benzokuinon (Stack *et al.*, 2004). < pH 5

Ketika hidrokuinon dilarutkan didalam air, akan membentuk  $\text{HQ}(\text{OH})_2$ . Ketika dilarutkan dalam air deionisasi, produk hidrokuinon hidrolitik terbentuk dan produk ini sangat bergantung pada konsentrasi hidrokuinon dan pH. Reaksi dapat dituliskan seperti persamaan 2.1 dan 2.2 (Sundaramurthy *et al.*, 2011).



Dimana  $\text{HQ}(\text{OH})_2$  bersifat netral,  $\text{HQ}(\text{OH})(\text{O})^-$  adalah hidrokuinat dan  $\text{HQ}(\text{O})^{2-}$  adalah dianion hidrokuinat dengan nilai pKa masing-masing adalah 9,9 dan 11,6 (Sundaramurthy *et al.*, 2011).



Gambar 2.3. Spesi hidrokuinon dalam berbagai pH di dalam air

### 2.1.2 Keberadaan Hidrokuinon

Hidrokuinon secara alami terdapat pada tanaman sebagai konjugat 4-hydroxyphenyl-D-glucopyranoside (arbutin) contohnya pada tanaman herbal pipsissewa yang banyak digunakan untuk pengobatan penduduk asli Amerika. Beberapa jenis tanaman lain seperti, cranberry, blueberry, dan pear banyak terdapat dalam daun dan kulit tanaman tersebut dengan konsentrasi mencapai 1%. Arbutin mudah terhidrolisis dalam asam lemah menghasilkan D-glukosa dan hidrokuinon (Deisinger *et al.*, 1996).

Hidrokuinon dapat disintesis dari bahan kimia dalam jumlah besar sebagai pengembang dalam industri cuci film (fotografi hitam dan putih), stabilizer dalam cat, produksi antioksidan untuk karet, sebagai penghambat polimerisasi untuk vinil asetat dan monomer akrilik, serta bahan pemutih kulit (Deisinger *et al.*, 1996). Hidrokuinon merupakan polutan yang banyak terdapat di lingkungan dan tergolong polutan yang sulit untuk didegradasi. Hidrokuinon didistribusikan ke dalam lingkungan air ketika dilepaskan ke lingkungan. Oleh karena itu, analisis polutan hidrokuinon dalam perairan menjadi hal yang penting (International Programme on Chemical Safety, 1996). Pada aplikasinya, hidrokuinon banyak digunakan untuk kosmetik sebagai pencerah warna kulit. Hidrokuinon dalam kosmetik berinteraksi dengan tirosinase untuk menghambat sintesis enzim tirosinase dengan mengikat histidin pada sisi aktif enzim sehingga menyebabkan didepigmentasi pada kulit (Davids *et al.*, 2016).

Hidrokuinon digunakan sebagai bahan baku pembuatan pewarna rambut dan pewarna kuku. Dalam pewarna rambut, hidrokuinon digunakan sebagai antioksidan, bahan pengharum dan agen pengoksidasi. Penggunaan hidrokuinon digunakan sebagai stabilisator penghambat polimerisasi perekat pada kuku artifisial yang umumnya terbuat dari akrilat (O'Donoghue, 2006). Penggunaan



hidrokuinon untuk bahan pewarna rambut dan pewarna kuku harus atas pengawasan dan batas aman yang telah ditetapkan oleh BPOM yaitu tidak boleh melebihi kadar 0,3 % dan 0,02 % (Astuti dkk., 2016).

### 2.1.3 Toksisitas Hidrokuinon dan Efek Bagi Kesehatan

Hidrokuinon merupakan senyawa golongan fenol, dimana senyawa fenolik sangat bersifat racun bagi organisme perairan dan dapat memberikan pengaruh bagi sifat organolektik kerang dan ikan pada tingkat ppm (part per million). Pada hewan percobaan, hidrokuinon telah terbukti berpotensi sebagai agen toksik yang mempengaruhi sel imun (Enguita, 2013). Hidrokuinon mampu menghambat sintesis enzim tirosinase yang berperan utama dalam proses pembentukan melanin sehingga mengakibatkan produksi melanin berkurang dan kulit menjadi didepigmentasi. Toksisitas hidrokuinon untuk pemakaian jangka panjang dan tidak dalam pengawasan adalah penghancuran melanosit dermatitis iritasi, dermatitis kontak dan ookronosis, kerusakan hati, kanker bahkan mengakibatkan koma. Di sumsum tulang, senyawa hidrokuinon mengalami oksidasi menjadi p-benzokuinon karena adanya aktivitas mieloperoksidase yang tinggi (Elferjani *et al.*, 2017). Selain itu, hidrokuinon menghambat sintesis DNA dan RNA dalam melanosit epidermal dan menjadi bersifat toksik untuk melanosom (Davids *et al.*, 2016).

Penggunaan hidrokuinon walaupun pada konsentrasi yang sangat rendah telah dilarang pada berbagai negara, sehingga oleh *United States Environment Protection Agency* (US EPA) dan *European Union* menggolongkan hidrokuinon sebagai polutan bagi lingkungan (H. El-Ads, 2018). Tetapi, *Food and Drugs Administration* (FDA) menyatakan bahwa penggunaan hidrokuinon dalam kosmetik diperbolehkan dengan kadar maksimum 2 % disertai pengawasan dokter dan tidak diperbolehkan untuk pemakaian dalam jangka waktu yang panjang. Penggunaan hidrokuinon ditemukan dalam bahan baku kosmetik, sehingga menurut peraturan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia No.445/MENKES/PER/V/1998 tentang bahan, zat warna, substrat, zat pengawet dan tabir surya pada kosmetik dan BPOM No.HK.00.05.4.1745 tentang kosmetik, telah melarang penggunaan hidrokuinon pada konsentrasi rendah sekalipun dalam kosmetik. Sedangkan pada peraturan BPOM RI No. HK.00.05.42.1018 tahun 2008 menyatakan bahwa pemakaian hidrokuinon masih diperbolehkan hanya sebagai bahan baku pembuatan pewarna rambut dan pewarna kuku dengan syarat tidak boleh melebihi kadar 0,3 % dan 0,02 % (Astuti dkk., 2016).

#### 2.1.4 Metode Analisis

Metode analisis penentuan hidrokuinon telah banyak dilakukan dengan berbagai metode seperti voltametri, kromatografi, titrimetri, fluorometri, dan spektrofotometri mereaksikannya menggunakan beberapa reagen dan metode baik melalui colorimetri, elektrokimia, ataupun spektrofotometri. Penentuan hidrokuinon dilakukan oleh Qassim dan Omaish (2014) dengan menggunakan  $\text{KMnO}_4$  sebagai agen pengoksidasi.  $\text{KMnO}_4$  akan mengoksidasi hidrokuinon menjadi benzokuinon pada kondisi basa. Kompleks warna hijau yang terbentuk akan di analisis pada panjang gelombang 610 nm dengan menggunakan analisis sistem alir (FIA) dengan detektor spektrofotometer UV-Vis (Qassim dan Omaish, 2014).

Penentuan hidrokuinon dengan reagen dan tembaga (II), dimana hidrokuinon dioksidasi oleh hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) menjadi kuinon pada kondisi basa. Sementara, fungsi penambahan tembaga (II) pada larutan hidrokuinon-hidrogen peroksida berfungsi sebagai katalis pada reaksi oksidasi hidrokuinon. Analisis hidrokuinon dengan metode FIA dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm (Cao *et al.*, 1996).

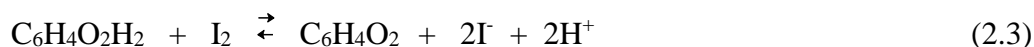
Pengembangan penentuan hidrokuinon lain pada kosmetik dilakukan dengan menambahkan reagen ammonium molibdat dalam keadaan asam sebagai agen pengoksidasi untuk mengkonversi hidrokuinon menjadi p-benzokuinon. Sedangkan ammonium molibdat sebagai agen pereduksi yang mereduksi Mo (VI) menjadi Mo (V). Penentuan hidrokuinon menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 580 nm menggunakan pelarut metanol (Seliem dan Khalil, 2013).

Dasar dari pengembangan metode analisis pembentukan kompleks iodium-amilum dilakukan oleh Sulistyarti (2015) yang mengembangkan metode analisis merkuri (II) berbasis kompleks biru iodium-amilum. Iodida bertindak sebagai ligan yang berikatan dengan merkuri (II) yang bertindak sebagai metal untuk berikatan membentuk tetraiodomerkurat (II)  $[\text{HgI}_4]^{2-}$ . Merkuri bereaksi dengan iodida berlebih, lalu sisa dari iodida dioksidasi oleh iodat dalam suasana asam menjadi iodium ( $\text{I}_2$ ). Iodium yang terbentuk bereaksi dengan amilum membentuk kompleks amilum-iodium. Intensitas kompleks warna biru menurun dengan adanya penambahan merkuri pada larutan kompleks. Identifikasi merkuri menggunakan injeksi sistem alir (FIA) pada kondisi operasional dan kimiawi optimum panjang gelombang 618 (Sulistyarti H., 2015). Berdasarkan penelitian tersebut, selanjutnya dilakukan uji selektivitas dengan penambahan ion  $\text{CN}^-$  dan  $\text{S}^{2-}$  sebagai ion pengganggu dan uji validitas yang diaplikasikan pada limbah tambang emas. Dari

metode ini, diketahui bahwa anion  $\text{CN}^-$  tidak mengganggu sampai konsentrasi  $\text{CN}^-$  sebesar 50 mg/L, tetapi anion  $\text{S}^{2-}$  mulai mengganggu pada konsentrasi  $\text{S}^{2-}$  sebesar 5 mg/L. Ketika diaplikasikan pada sampel sintesis dan limbah tambang emas dihasilkan nilai perolehan kembali masing-masing sebesar 93,8% dan 107,5% (Permata, L.M., 2017).

### 2.1.5 Reaksi Hidrokuinon dengan Iodium

Hidrokuinon dioksidasi oleh iodium menjadi kuinon dengan persamaan reaksi sebagai berikut (Kolthoff, 1926) :



Reaksi bersifat *reversible*, dan jika reaksi dipisah menjadi :



Konstanta kesetimbangan pada reaksi (2.1) diberikan sesuai persamaan 2.6.

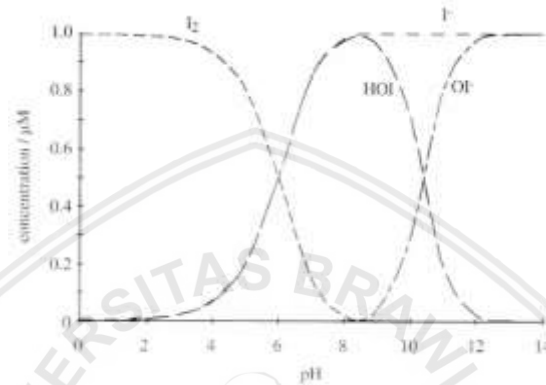
$$\frac{[\text{Hidrokuinon}] [\text{I}_2]}{[\text{Kuinon}] [\text{I}^-]^2 [\text{H}^+]^2} = K \quad (2.6)$$

Bila ditambahkan hidrokuinon pada larutan iodium dan kesetimbangan tercapai, maka potensial hidrokuinon-kuinon setara dengan larutan iodium iodida. Penelitian yang dilakukan oleh Kolthoff (1926) melakukan titrasi hidrokuinon dengan iodium dengan metode potensiometri. Dalam penelitian yang dikembangkan, elektroda yang digunakan adalah elektroda pendukung berupa platinum yang telah dipanaskan hingga kemerahan, sedangkan untuk elektroda referensi menggunakan elektroda kalomel. Hidrokuinon ditambahkan dengan beberapa tetes asam klorida dan natrium bikarbonat, selanjutnya dititrasi dengan iodium. Hasil terbaik yang didapatkan, ketika keasamaan dalam larutan memungkinkan untuk serendah mungkin. Selama proses titrasi, larutan diaduk dan didapatkan warna kompleks biru dengan nilai potensial yang konstan setelah 2 menit (Kolthoff, 1926).

## 2.2 Iodium

Iodium merupakan unsur nonlogam yang memiliki ciri-ciri fisik yaitu padatan mengkilap berwarna hitam kebiruan. Keberadaan iodium di alam ditemukan dalam air laut, maupun dalam

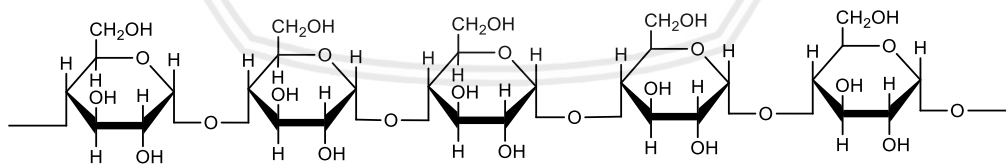
persenyawaannya sebagai kalium iodide dan kalium iodat Dapat menguap dalam suhu ruang dengan membentuk gas berwarna ungu-kebiruan (Hollo dan Szejtli, 1957). Pada Gambar 2.4 diketahui bahwa pada pH rendah, iodium merupakan spesi yang mendominasi, sedangkan pada pH netral dan sedikit basa, HOI dan  $I^-$  menjadi dominan serta pada pH lebih dari 10 spesi  $OI^-$  mulai terbentuk. Pada pH rendah,  $IO_3^-$  dapat terprotonasi menjadi asam iodik  $HIO_3$  yang memiliki pKa 0,8. Periodate ( $IO_4^-$ ) dapat dibentuk dari oksidasi elektrokimia dari  $IO_3^-$  pada anoda  $PbO_3$  (Bichsel, 2000).



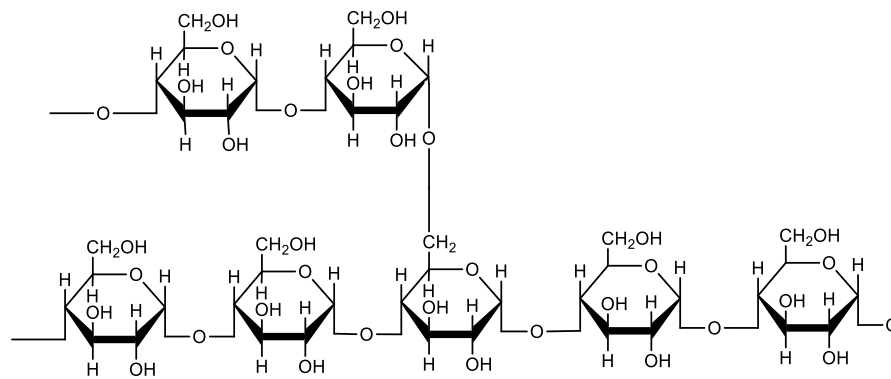
Gambar 2.4. Spesi iodium dalam berbagai pH (Bichsel, 2000).

### 2.3 Amilum

Amilum terdiri dari dua polisakarida, amilosa, sebuah polimer linear unit D-glukosa dan amilopektin yang bercabang. Amilum biasa mengandung 75% amilopektin dan 25% amilosa, dimana amilosa dan amilopektin dihubungkan oleh ikatan hydrogen. Berikut merupakan struktur dari amilosa dan amilopektin, ditunjukkan pada Gambar 2.5 dan Gambar 2.6 (Hee, Y. A., 2005).



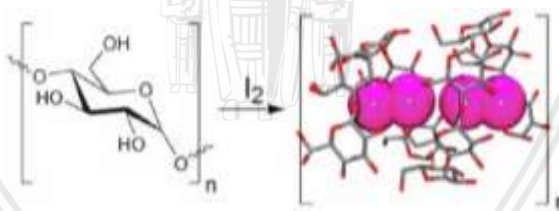
Gambar 2.5. Struktur amilosa



Gambar 2.6. Struktur amilopektin

## 2.4 Reaksi Iodium dan Amilum

Indikator amilum terdiri dari senyawa amilosa dan amilopektin, dimana amilosa merupakan bagian yang dapat larut dengan air pada suhu panas, Sementara itu, senyawa amilopektin adalah polisakarida bercabang yang terdiri dari molekul glukosa yang terikat satu sama lain melalui ikatan 1,6-glikosida setiap 20-25 unit molekul glukosa dan tidak dapat dilarutkan dalam air (Hee, Y.A., 2005). Warna biru dari amilum-iodium berasal dari molekul iodium yang terikat pada permukaan amilosa, karena afinitas iodium terhadap amilosa sekitar 20%, sementara itu terhadap amilopektin hanya kurang dari 1%. Iodium akan terjebak ke dalam struktur heliks amilosa dan memberikan warna larutan menjadi biru/ungu tergantung pada panjang molekul amilosa (Hopkins, 1995). Gambar 2.7 merupakan gambar struktur kompleks iodium-amilum.



Gambar 2.7. Struktur 3D kompleks iodium-amilum (Raymond dan Pluth, 2006)

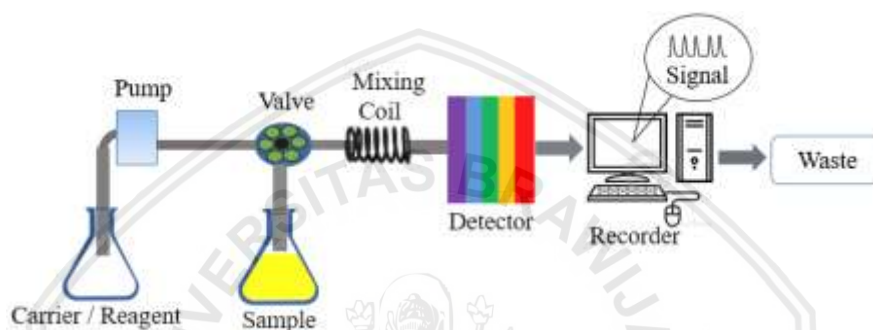
## 2.5 Flow Injection Analysis (FIA)

Teknik *flow injection analysis* (FIA) dikembangkan sekitar tahun 1970 sebagai salah satu teknik analisis yang didasarkan pada analisis sampel berbentuk cair yang di injeksikan ke dalam sistem dan mengalir bersama larutan pembawa yang tidak tersegmentasi dengan efisiensi tinggi. Sampel yang diinjeksikan bereaksi secara bersama-sama dengan reagen dalam sistem alir untuk menuju ke detektor. Dalam sistem alir, kondisi dispersi sangat berpengaruh dan dikontrol karena mempengaruhi hasil pembacaan sampel. Sistem alir sebagai sistem yang berjalan otomatis



merupakan metode yang mudah, hemat, waktu analisis yang singkat, dan tingkat akurasi yang baik (Kikas). Pada metode sistem injeksi alir, sampel yang diinjeksikan bersama dengan larutan pembawa yang merupakan reagen melewati suatu tubing sebagai zona reaksi dan membentuk suatu komponen senyawa. Senyawa yang terbentuk kemudian terdeteksi secara kontinu oleh detektor dan menghasilkan nilai intensitas (Karlberg dan Pacey, 1989).

Rangkaian injeksi alir sederhana terdiri atas pompa yang digunakan mendorong larutan pembawa melalui tubing, injektor merupakan alat untuk menginjeksikan sampel dengan volume tertentu ke dalam larutan pembawa. Serta, mikroreaktor sebagai zona sampel dan reagen bereaksi dan mengalami dispersi menuju detektor kemudian direkam *recorder* (Karlberg dan Pacey, 1989).



Gambar 2.8. Rangkaian sederhana *Flow Injection Analysis* (FIA)

Pada sistem alir, proses pengoperasian loop sampel terdiri dari dua posisi yaitu posisi *load* dan posisi *inject*. Pada posisi *load*, sampel yang dianalisis diinjeksikan ke *loop* sampel sehingga mengalir dan mengisi tubing sampel hingga penuh pada volume tertentu, sedangkan volume lebih dari sampel langsung mengalir menuju limbah tanpa melewati detektor. Pada posisi ini ketika sampel diinjeksikan ke dalam loop sampel, tidak ada sampel yang terdeteksi oleh detektor. Sedangkan pada posisi *inject*, aliran disusun ulang sehingga sampel mengalir bersama reagen dan bereaksi dalam zona reaksi berupa *mixing coil* hingga menghasilkan produk yang akan dideteksi oleh detektor (Aldstadt *et al.*, 2006).

Optimasi dalam sistem alir bertujuan untuk membatasi adanya dispersi dalam sampel serta menghasilkan reaksi pencampuran antara reagen dan sampel yang sempurna dalam *mixing coil*. Dispersi sampel pada aliran dalam sistem mempengaruhi puncak spektra yang terbentuk. Efek dari dispersi tersebut antara lain, menghasilkan puncak yang cenderung datar bila aliran dispersi terlalu kecil. Sedangkan, apabila dispersi terlalu besar, maka puncak yang dihasilkan cenderung berbentuk besar yang memanjang. Dispersi dapat dikendalikan dengan mengatur volume sampel



yang diinjeksikan ke dalam sistem. Tinggi puncak yang dihasilkan naik secara linier bersamaan dengan naiknya kuantitas sampel yang diinjeksikan. Apabila sampel yang diinjeksikan terlalu banyak volumenya maka memungkinkan munculnya puncak ganda (*double peak*) (Ruzicka *et al.*, 1988). Besarnya dispersi yang terjadi bergantung pada beberapa parameter seperti volume sampel, ukuran tubing, panjang tubing, laju alir, dan diameter kumparan *mixing coil*. Produk reaksi dialirkan melalui sel flowthrough dari detektor untuk menghasilkan sinyal yang diarahkan ke perekam. Keunggulan dari metode *flow injection analysis* (FIA) adalah waktu analisis singkat, hemat biaya operasional, penggunaan sampel serta reagen dalam jumlah kecil (Ranger, 1981).

## 2.6 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-visibel merupakan metode spektroskopi optik yang mengukur energi secara relatif apabila energi tersebut ditransmisikan sebagai fungsi panjang gelombang dengan panjang gelombang 200-400 nm pada daerah sinar tampak dan 400-750 nm pada sinar ultra lembayung digunakan untuk penentuan zat organik maupun anorganik secara kuantitatif dan kualitatif (Skoog *et al.*, 2013). Prinsip operasional spektrofotometer meliputi cahaya pada panjang gelombang interval tertentu melewati sel berisi pelarut dan masuk ke sel fotoelektrik yang mengubah energi radiasi menjadi energi listrik. Prinsip dari Spektrofotometri UV-Visibel berdasarkan hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa absorbansi larutan berbanding lurus dengan konsentrasi analit. Wilayah energi UV-visibel mencakup spectrum elektromagnetik 1,5 – 6,2 eV dengan rentang panjang gelombang 800 – 200 nm. Berikut merupakan persamaan hukum Lambert-Beer (Lia M. P., 2017) :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ atau } A = a \cdot b \cdot c \quad (2.7)$$

Dimana:

A = Absorbansi

$\epsilon$  = Absorptivitas / koefisien ekstingsi molar ( $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ ) ; a = Absorptivitas

b = Tebal kuvet (cm)

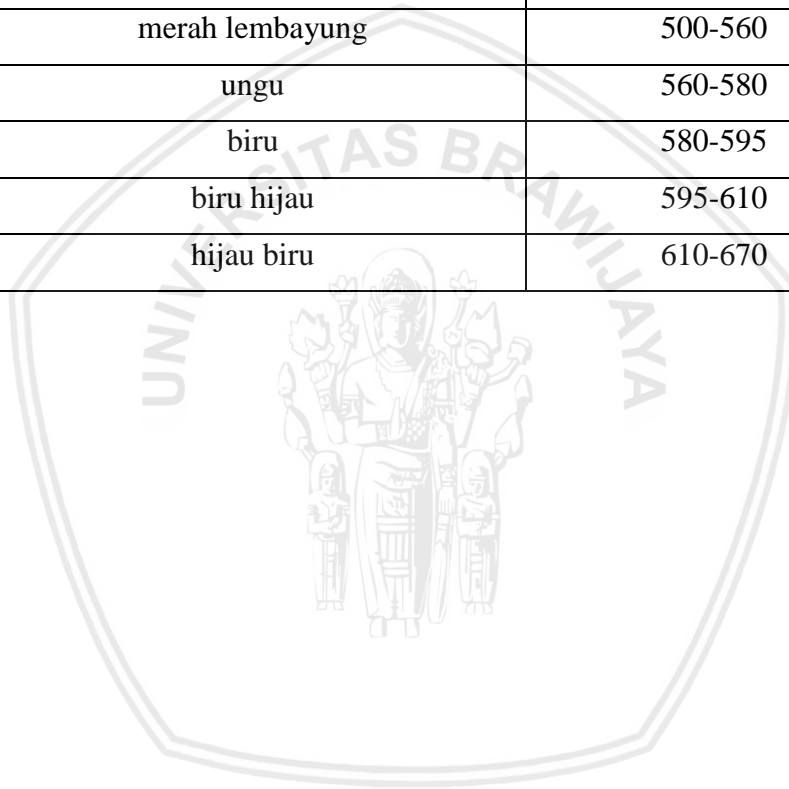
c = Konsentrasi ( $mol \cdot L^{-1}$ )

Penentuan hidrokuinon berdasarkan penurunan absorbansi kompleks iodum-amilum diukur pada panjang gelombang 628 nm yang menyerap warna hijau-biru menggunakan spektrofotometer. Panjang gelombang pada cahaya tampak yang dapat ditangkap oleh mata manusia merupakan warna komplementer yang didasarkan pada penyerapan cahaya atau energi

radiasi oleh larutan. Perkiraan panjang gelombang warna-warna dalam daerah sinar tampak dapat dilihat pada Tabel 2.1 (Triyati, 1985).

Tabel 2.1. Perkiraan panjang gelombang warna-warna dalam daerah sinar tampak (Triyati, 1985).

| Warna        | Warna pelengkap | Panjang gelombang (nm) |
|--------------|-----------------|------------------------|
| ungu         | hijau kuning    | 400-435                |
| biru         | kuning          | 435-480                |
| biru hijau   | oranye          | 480-490                |
| hijau biru   | merah           | 490-500                |
| hijau        | merah lembayung | 500-560                |
| hijau kuning | ungu            | 560-580                |
| kuning       | biru            | 580-595                |
| oranye       | biru hijau      | 595-610                |
| merah        | hijau biru      | 610-670                |



## BAB III

### KERANGKA KONSEP PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Hidrokuinon merupakan senyawa organik aromatis turunan keton jenis fenol sebagai antioksidan untuk bahan-bahan berpolimerisasi, industri cuci film (fotografi hitam dan putih), industri kimia, produk kedokteran dan masih ditemukan dalam kosmetik. Kandungan kosmetik terdiri atas 95% bahan dasar dan hanya 5% bahan aktif. Bahan dasar yang digunakan adalah lemak, air, dan alkohol. Sedangkan untuk bahan aktif terdiri dari, vitamin A, vitamin C, vitamin D, vitamin E, hormon, protein, enzim, serta bahan aktif kompleks seperti ginseng. Salah satu contoh kosmetik jenis krim wajah yang bermanfaat untuk memutihkan wajah dan menghilangkan bekas jerawat serta flek memiliki kandungan bahan aktif yang terdiri dari hidrokuinon, oxybenzone, dan octyldimethyl-PABA. Penggunaan hidrokuinon di dalam kosmetik, dapat menghambat sintesis enzim tirosinase yang dapat mengakibatkan didepigmentasi karena produksi tirosin menjadi melanin berkurang. Senyawa ini mudah teroksidasi menjadi berwarna gelap ketika terpapar cahaya dan udara, sehingga apabila digunakan untuk kulit dapat mengakibatkan kerusakan kulit. Selain itu, hidrokuinon menghambat sintesis DNA dan RNA dalam melanosit epidermal dan menjadi bersifat toksik untuk melanosom.

Hidrokuinon merupakan komponen yang sangat berbahaya walaupun pada konsentrasi yang sangat rendah, sehingga oleh *United States Environment Protection Agency* (US EPA) dan *European Union* telah melarang dan menggolongkan hidrokuinon sebagai polutan bagi lingkungan. Menurut peraturan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia No.445/MENKES/PER/V/1998 tentang bahan, zat warna, substrat, zat pengawet dan tabir surya pada kosmetik dan BPOM No.HK.00.05.4.1745 tentang kosmetik, telah melarang penggunaan hidrokuinon pada konsentrasi rendah sekalipun dalam kosmetik

Beberapa teknik penentuan hidrokuinon yang telah dilakukan seperti voltametri, kromatografi cair kinerja tinggi, titrimetri, fluorometri, dan kromatografi gas namun, kurang efisien. Pada penelitian ini, dikembangkan metode FIA-spektrofotometri yang merupakan suatu metode dengan sistem injeksi alir dan dideteksi dengan detektor spektrofotometer UV-Vis. Pada sistem injeksi alir, sampel dialirkan bersama cairan pembawa menuju *mixing coil* sebagai zona

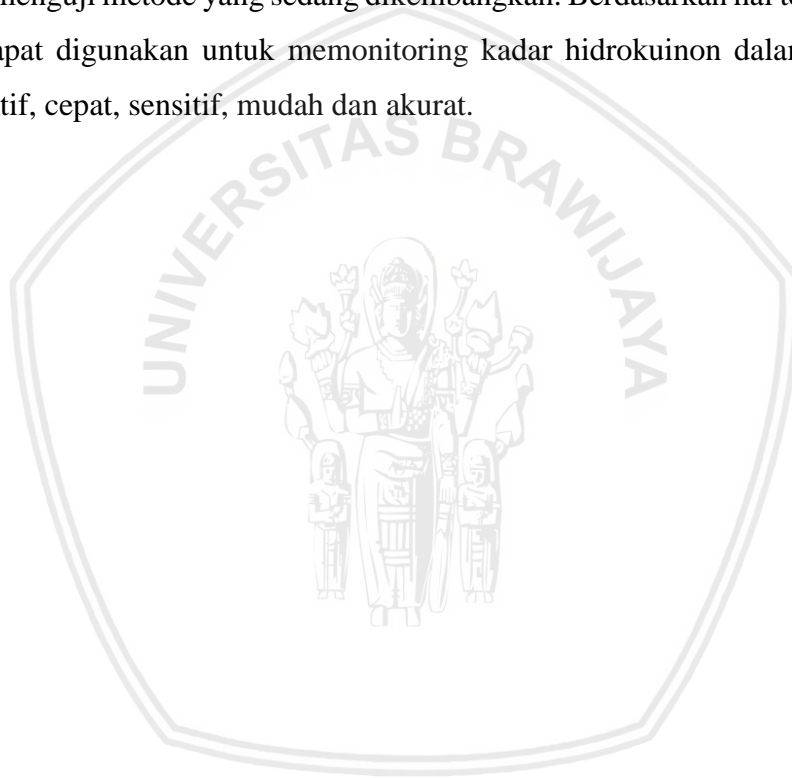
reaksi. Sampel kemudian menuju detektor untuk dianalisis. Beberapa keunggulan dari metode FIA antara lain konsumsi waktu analisis berkisar 100-300 sampel/jam, waktu respon cepat dengan reproduksibilitas yang baik, konsumsi sampel serta reagen yang sedikit. Metode spektrofotometri UV-Vis memiliki keunggulan yaitu ketepatan, sensitivitas, dapat dioperasikan secara mudah dan efektivitas dalam biaya. Sehingga dari pengembangan FIA-spektrofotometri dapat dihasilkan metode yang memiliki akurasi, efisiensi dan sensitivitas yang tinggi

Prinsip dari penelitian ini adalah penentuan hidrokuinon berbasis pembentukan kompleks iodium-amilum. Hidrokuinon bereaksi dengan iodium berlebih, dimana iodium direduksi menjadi iodida dan hidrokuinon dioksidasi menjadi kuinon. Sisa iodium yang tidak bereaksi dengan hidrokuinon, membentuk kompleks warna biru dengan amilum dalam kondisi asam ( $\text{pH} = 1$ ). Hidrokuinon dapat ditentukan berdasarkan penurunan intensitas warna biru ketika hidrokuinon ditambahkan ke dalam larutan. Analisis menggunakan sistem alir (FIA) menggunakan detektor spektrofotometer UV-Vis. Pada metode ini, juga dilakukan uji selektivitas dengan penambahan senyawa pengganggu terhadap kinerja FIA-spektrofotometri untuk penentuan hidrokuinon. Senyawa yang memiliki sifat dan kesamaan struktur dengan hidrokuinon mengganggu analisis, contohnya asam askorbat dan resorsinol yang ditambahkan pada sampel kosmetik. Pada hidrokuinon, senyawa ini memiliki isomer seperti resorsinol dan katekol sehingga keberadaan isomer tersebut bersama dengan hidrokuinon dapat mempengaruhi hasil analisis.

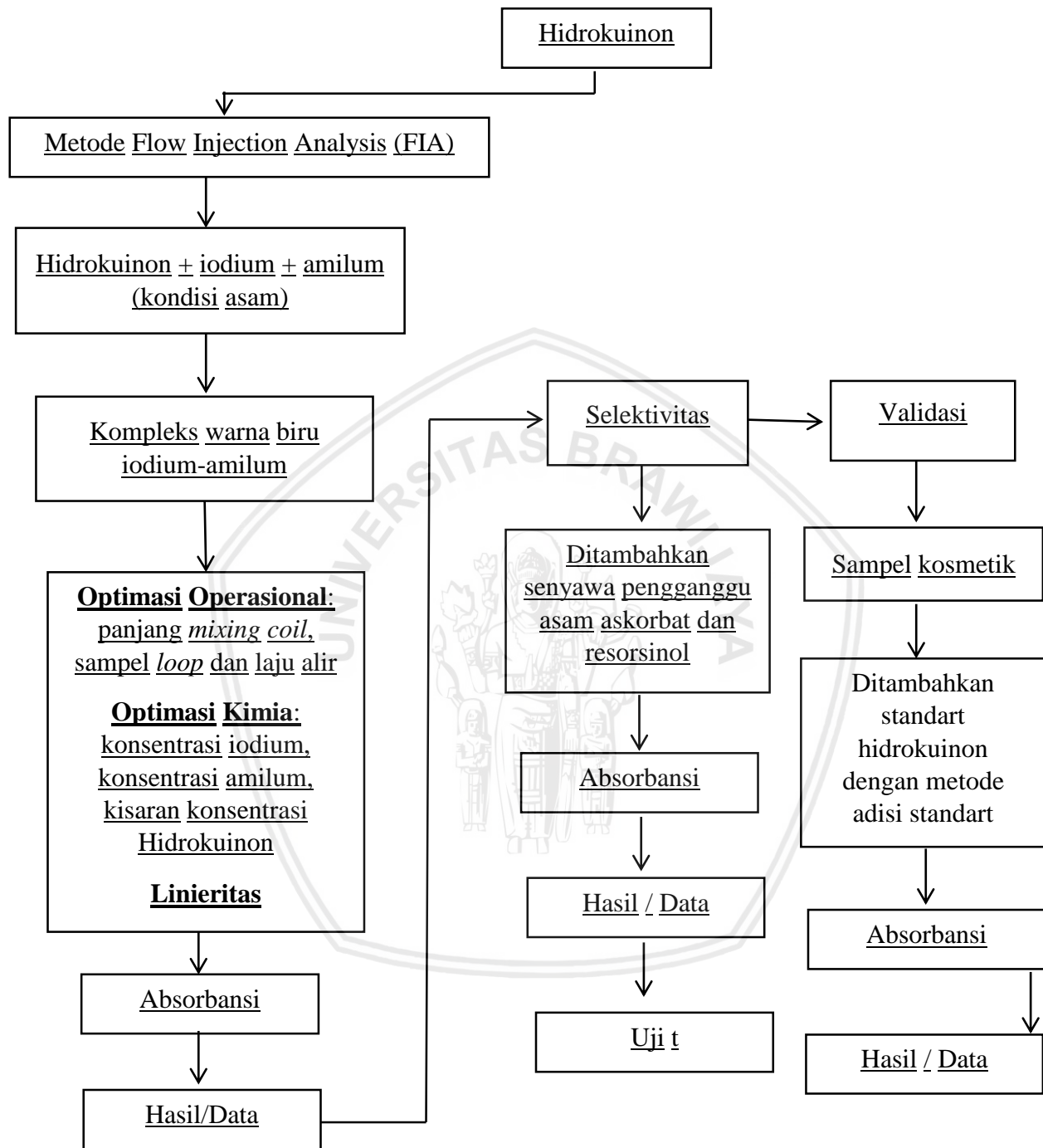
Kinerja FIA dalam metode ini sangat dipengaruhi oleh faktor operasional yang terdiri atas volume sampel, laju alir, dan panjang *mixing coil*. Proses reaksi dipengaruhi oleh volume sampel yang merupakan tempat sampel yang dianalisis. Optimasi perlu dilakukan karena jumlah volume sampel yang dianalisis berpengaruh pada puncak yang dihasilkan. Jumlah sampel yang terlalu banyak dapat mengakibatkan reaksi antara reagen dan sampel menjadi tidak sempurna. Apabila jumlah volume sampel yang disuntikkan terlalu banyak dapat menghasilkan dua puncak (*shoulder peak*), karena sampel hanya bereaksi dengan reagen pada ujung larutan dan reaksi menjadi tidak sempurna. Sedangkan bila jumlah volume yang disuntikkan terlalu sedikit, maka puncak yang dihasilkan tidak optimum. Optimasi laju alir diperlukan untuk meminimalisir dispersi antara reagen dan sampel. Apabila laju alir yang digunakan terlalu lambat, maka dapat menghasilkan puncak yang melebar bahkan tidak muncul puncak karena larutan terdispersi. Dispersi merupakan faktor utama yang dapat mengurangi sensitivitas dan limit deteksi. Reaksi juga dipengaruhi oleh panjang *mixing coil*, karena merupakan tempat terjadinya pengocokan reagen dengan sampel agar

dapat mencapai kesetimbangan reaksi. Apabila panjang *mixing coil* yang digunakan terlalu panjang, maka dihasilkan puncak yang melebar. Sedangkan untuk faktor kimiawi dipengaruhi oleh konsentrasi amilum dan konsentrasi iodium. Penentuan optimasi tidak hanya dari puncak tertinggi yang dibentuk, tetapi bentuk puncak juga harus diperhatikan agar didapatkan puncak yang sensitif dengan nilai yang optimum.

Selektivitas dan validasi metode merupakan tahapan penelitian berikutnya yang meliputi beberapa pengujian seperti recovery, linearitas, limit deteksi dan limit kuantisasi terhadap suatu sampel. Selektivitas dengan penambahan suatu senyawa asing yang digunakan untuk mengetahui ketahanan ketika ditambahkan senyawa tersebut. Validasi merupakan hal yang penting yang digunakan untuk menguji metode yang sedang dikembangkan. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk memonitoring kadar hidrokuinon dalam sampel dengan metode yang efektif, cepat, sensitif, mudah dan akurat.



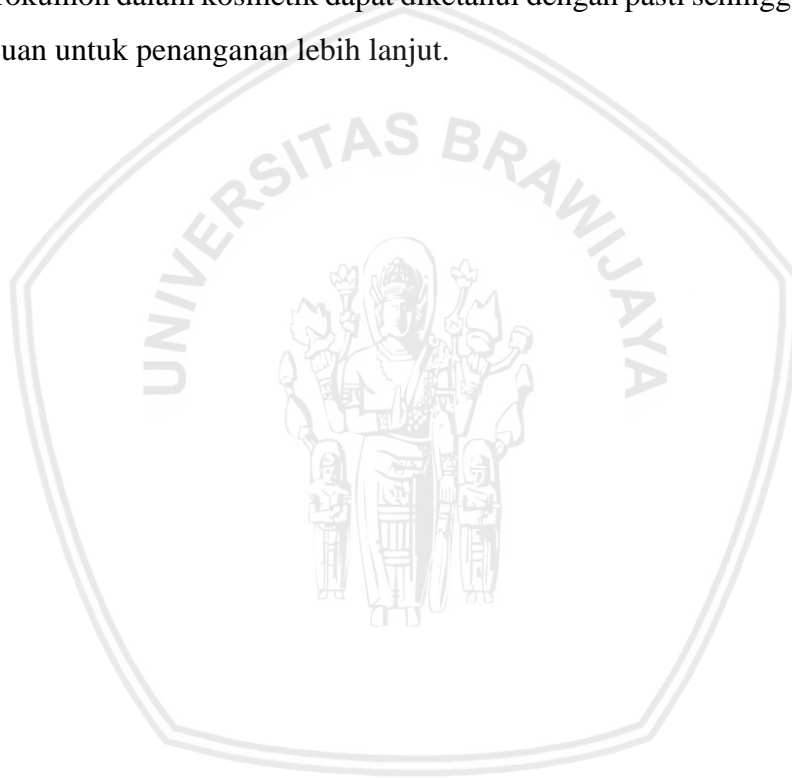
### 3.2 Kerangka Operasional Penelitian





### 3.3 Hipotesis Penelitian

1. Kondisi operasional dan kimiawi sangat berpengaruh dalam analisis hidrokuinon dengan metode FIA.
2. Linieritas dan kisaran konsentrasi yang dihasilkan dengan metode FIA ini menghasilkan kisaran konsentrasi hidrokuinon.
3. Penambahan senyawa asing mempengaruhi selektivitas dalam proses analisis hidrokuinon dengan metode FIA.
4. Metode FIA yang dikembangkan dapat menjadi metode alternatif untuk penentuan hidrokuinon dalam kosmetik.
5. Kadar hidrokuinon dalam kosmetik dapat diketahui dengan pasti sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk penanganan lebih lanjut.



## BAB IV METODE PENELITIAN

### 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai dengan April 2019 di laboratorium kimia analitik dan kimia instrumen jurusan kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Brawijaya Malang.

### 4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan gelas, neraca analitik digital Mattler, kaki tiga, pematik api, indikator pH universal, *flow injection analyser* (terdiri atas pompa peristaltik, injektor sampel, *silicon tubing*, pipa kapiler PTFE *i.d* 0,75 mm sebagai *sample loop* dan *mixing coil*), spektrofotometer UV-Vis 1601/Shimadzu, serta botol sampel.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan bahan kimia *pro analysis* (p.a) seperti hidrokuinon (*Merck*), amilum, spiritus, iodium (*Merck*), kalium iodida (*Merck*), asam salisilat (*Merck*), asam sulfat 98 % (*Merck*), ethanol 95 %, resorsinol (*Merck*), asam askorbat (*Merck*), dan aquades.

### 4.3 Tahapan Penelitian

Tahap pelaksanaan penelitian meliputi:

1. Persiapan alat dan bahan
2. Pembuatan larutan
  - a. Pembuatan larutan standart hidrokuinon dalam 40 mg/L iodium
  - b. Pembuatan larutan amilum 0,05%
  - c. Pembuatan larutan asam sulfat 1 M
  - d. Pembuatan larutan resorsinol dan asam askorbat
3. Optimasi metode *flow injection analysis* (FIA)
  - a. Parameter operasional
    - Penentuan panjang *mixing coil* optimum
    - Penentuan sampel *loop* optimum

- Penentuan laju alir optimum
- b. Parameter kimia
  - Penentuan konsentrasi amilum optimum
  - Penentuan konsentrasi iodium optimum
- 4. Penentuan linieritas konsentrasi hidrokuinon
- 5. Uji selektivitas terhadap senyawa asing (resorsinol dan asam askorbat)
- 6. Validasi metode pada sampel kosmetik

#### **4.4 Metode Kerja**

##### **4.4.1 Pembuatan Larutan**

###### **4.4.1.1 Pembuatan Larutan Stok Hidrokuinon 100 mg/L**

Larutan hidrokuinon 100 mg/L dibuat dengan menimbang sebanyak 0,01 g hidrokuinon dan dilarutkan dengan aquades dalam beaker glass 50 mL. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan dengan aquades hingga tanda batas.

###### **4.4.1.2 Pembuatan Larutan Hidrokuinon 6 mg/L dalam 40 mg/L Iodium**

Larutan iodium 40 mg/L dibuat dengan menimbang 4 mg iodium, ditambahkan dengan 8 mg kalium iodida dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL. Iodium dan kalium iodida yang telah berada di dalam beaker glass kemudian ditambahkan aquades sebanyak 30 mL dan diaduk hingga larut sempurna. Setelah larut sempurna, masukkan iodium ke dalam labu takar 100 mL lalu ditambahkan dengan 6 mL larutan hidrokuinon stok dan ditambah aquades hingga tanda batas.

###### **4.4.1.3 Pembuatan Larutan Asam Sulfat 1 M**

Larutan asam sulfat 1 M dibuat dengan mengambil 5,44 mL asam sulfat 98 % dengan pipet ukur, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang telah diisi aquades. Ditambahkan aquades hingga tanda batas.

###### **4.4.1.4 Pembuatan Larutan Amilum 0,05 %**

Larutan amilum 0,05 % dibuat dengan menimbang 0,05 g amilum ditambah 1 mg asam salisilat dan dilarutkan dengan aquades dalam beaker glass 50 mL. Larutan kemudian ditambahkan aquades yang telah hangat kemudian dipanaskan hingga mendidih. Larutan amilum yang telah

mendidih, kemudian didinginkan dan ditambahkan dengan 1 mL asam sulfat 1 M. Pembuatan amilum harus dilakukan beberapa jam sebelum dilakukan analisis.

#### **4.4.1.5 Pembuatan Larutan Stok Resorsinol dan Asam Askorbat 100 mg/L**

Pembuatan larutan stok resorsinol dan asam askorbat 100 mg/L dilakukan dengan menimbang masing-masing 10 mg resorsinol dan asam askorbat kemudian dilarutkan dengan aquades dalam beaker glass sebanyak 50 mL. Setelah larut, kemudian larutan resorsinol serta asam askorbat ditambahkan aquades hingga tanda batas.

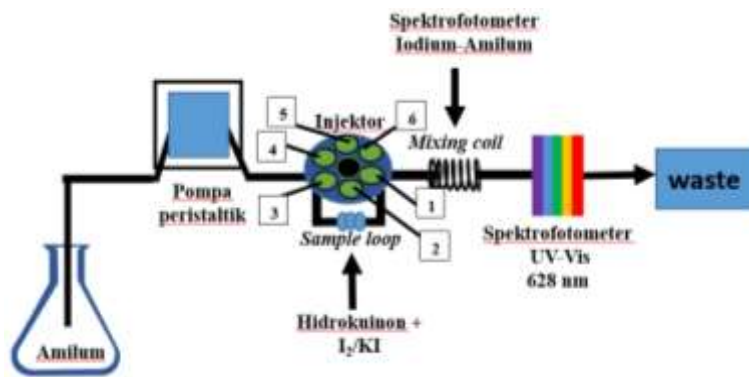
#### **4.4.1.6 Pembuatan Larutan Senyawa Asing (Resorsinol dan Asam Askorbat)**

Pembuatan larutan senyawa asing dilakukan dengan melakukan variasi konsentrasi resorsinol serta asam askorbat yaitu 0,1, 0,5, 1, dan 5 mg/L. Untuk pembuatan 5 mg/L senyawa asing resorsinol maupun asam askorbat dilakukan dengan mengambil masing-masing 5 mL larutan stok 50 mg/L dengan pipet ukur. Kemudian senyawa resorsinol maupun asam askorbat masing-masing dicampur dalam 40 mg/L iodium dan dilarutkan hingga larut sempurna. Untuk membuat larutan 0,1, 0,5, 1 mg/L resorsinol serta asam askorbat dilakukan hal yang sama.

### **4.4.2 Optimasi Metode**

#### **4.4.2.1 Susunan Manifold FIA**

Susunan manifold FIA terdiri atas pompa peristaltik, injektor sampel, *silicon tubing*, pipa kapiler PTFE *i.d* 0,75 mm sebagai *sample loop* dan *mixing coil*. Pompa peristaltik pada sistem FIA digunakan untuk mendorong larutan melewati tubing. Injektor sampel merupakan alat untuk menginjeksikan sampel ke dalam *sample loop* dengan volume tertentu untuk bereaksi bersama reagen. *Mixing coil* sebagai zona atau tempat terjadi pengocokan antara sampel dan reagen, kemudian mengalir menuju detector UV-Vis untuk dideteksi pada panjang gelombang 628 nm. Susunan manifold *Flow Injection Analysis (FIA)* ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 *Flow Injection Analysis (FIA)* Manifold

Keterangan bagian-bagian pada injektor :

1. Katup menuju detektor
2. Katup larutan pembawa
3. *Loop* sampel
4. Injek sampel
5. Buangan (*waste*)
6. *Loop* sampel

#### 4.4.2.2 Parameter Operasional

Berikut merupakan tahapan optimasi dengan *Flow Injection Analysis (FIA)* meliputi tahap pencucian, tahap pengisian *Loop* sampel, dan tahap penentuan hidrokuinon, berikut merupakan tahapan optimasi.

##### Tahap Pencucian

Pada tahap pencucian, sebelum dan setelah dilakukan analisis menggunakan manifold FIA keseluruhan *line* hingga detektor dialirkan aquades serta asam askorbat selama setengah jam untuk memastikan *line* bersih. Aquades dan asam askorbat mengalir dari katub 2 menuju katub 3, 6, dan 1 dilanjutkan menuju detektor. Aquades ini berfungsi untuk membersihkan keseluruhan *line* hingga kuvet yang digunakan untuk detektor spektrofotometer dari sisa-sisa pengotor yang mempengaruhi sinyal pembacaan.

##### Tahap Pengisian *Loop* Sampel

Tahap pengisian *loop* sampel ini dilakukan pada posisi *load* dengan menyuntikkan sampel hidrokuinon sebanyak 100  $\mu\text{L}$  pada tubing yang menuju ke katub 3, yang selanjutnya terhubung

repository.ub.ac.id

dengan katub 6. Tubing pada sampel *loop* harus terisi penuh agar volume sampel yang digunakan untuk analisis memiliki keterulangannya tinggi.

### **Tahap Penentuan Hidrokuinon**

Tahap penentuan hidrokuinon dilakukan dengan cara menghidupkan alat *Flow Injection Analysis* (FIA) yang telah dilakukan tahap pencucian dari pengotor. Tubing pada *loop* sampel yang telah terisi oleh sampel dirubah dari posisi *load* menjadi posisi injek. Larutan reagen amilum mengalir menuju katup 2 dan berlanjut menuju katub 3 dan katub 6 yang merupakan tempat sampel yang dianalisis. Sampel hidrokuinon bersama dengan reagen amilum sebagai larutan pembawa mengalir menuju *mixing coil*. Sampel bertemu dan mengalir bersama dengan reagen amilum menuju *mixing coil*. Larutan pembawa dibawa menuju katub 2 dilanjutkan menuju katub 3 dan 6 yang merupakan tempat sampel. Selanjutnya larutan pembawa dan sampel bereaksi di *mixing coil* membentuk kompleks I<sub>2</sub>-amilum berwarna biru. Larutan kemudian menuju ke detektor sehingga menghasilkan nilai absorbansi yang terbaca pada komputer dan hasil yang telah dideteksi kemudian menuju tempat limbah.

#### **a. Penentuan *Loop* Sampel Optimum**

Optimasi *loop* sampel dilakukan dengan mengukur volume sampel dari tubing yang digunakan menggunakan larutan kompleks I<sub>2</sub>-amilum yang terbentuk. Optimasi *loop* sampel dilakukan dengan menggunakan panjang *mixing coil* 50 cm dan laju alir yaitu 1,9 mL/menit pada panjang gelombang 628 nm. Volume untuk menentukan *loop* sampel divariasi dengan variasi 50, 75, 100, dan 125  $\mu$ L. Volume sampel yang optimum dipilih berdasarkan nilai absorbansi kompleks I<sub>2</sub>-amilum yang paling tinggi serta memiliki sensitivitas puncak yang baik sehingga dipilih sebagai parameter uji pada percobaan selanjutnya.

#### **b. Penentuan Laju Alir Optimum**

Penentuan laju alir optimum dilakukan untuk meminimalisir adanya disperse pada sampel dan reagen menggunakan selang PTFE. Laju alir divariasi dengan variasi laju alir 0,4, 0,8, 1,9, dan 2,9 mL/menit. Optimasi laju alir dilakukan dengan menggunakan panjang *mixing coil* 50 cm dan *loop* sampel 100  $\mu$ L pada panjang gelombang 628 nm. Laju alir optimum dipilih berdasarkan nilai absorbansi kompleks I<sub>2</sub>-amilum yang paling tinggi serta memiliki sensitivitas puncak yang baik sehingga dipilih sebagai parameter uji pada percobaan selanjutnya.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



### c. Penentuan Panjang *Mixing Coil* Optimum

Panjang *mixing coil* merupakan salah satu bagian penting dimana pembentukan kompleks I<sub>2</sub>-amilum untuk penentuan hidrokuinon. Lama waktu reaksi antara reagen dan sampel dalam selang PTFE mempengaruhi pembentukan warna kompleks dan dipersu pada larutan. Oleh karena itu, panjang *mixing coil* dioptimasi dengan menggunakan selang PTFE dengan panjang yang berbeda yaitu 25, 50, 75, dan 100 cm. Optimasi panjang *mixing coil* dilakukan pada *loop* sampel 100 µL dan laju alir 2,9 mL/menit. Panjang *mixing coil* optimum dipilih berdasarkan nilai absorbansi kompleks I<sub>2</sub>-amilum yang paling tinggi serta memiliki sensitivitas puncak yang baik sehingga dipilih sebagai parameter uji pada percobaan selanjutnya.

#### 4.4.2.3 Parameter Kimia

##### a. Penentuan Konsentrasi Iodium Optimum

Optimasi konsentrasi iodium sebagai agen pengoksidasi dilakukan untuk memastikan pembentukan kompleks biru I<sub>2</sub>-amilum tanpa penambahan hidrokuinon. Optimasi juga dilakukan untuk mendapatkan kisaran linieritas yang panjang. Konsentrasi iodium dilakukan dengan variasi konsentrasi dari 30 mg/L hingga 100 mg/L dengan menggunakan parameter optimum yaitu *loop* sampel 100 µL, panjang *mixing coil* 50 cm, laju alir 2,9 mL/min, dan konsentrasi amilum 0,05 %. Konsentrasi iodium optimum dipilih berdasarkan nilai absorbansi kompleks I<sub>2</sub>-amilum yang paling tinggi serta memiliki sensitivitas puncak yang baik sehingga dipilih sebagai parameter uji pada percobaan selanjutnya.

##### b. Penentuan Konsentrasi Amilum Optimum

Amilum sebagai indikator kompleks yang dioptimasi untuk mengetahui efek dari kenaikan konsentrasi amilum terhadap absorbansi kompleks I<sub>2</sub>-amilum. Optimasi konsentrasi amilum dilakukan dengan variasi konsentrasi 0,01, 0,02, 0,05, 0,07, dan 0,1 %. Parameter yang digunakan adalah *loop* sampel 100 µL, panjang *mixing coil* 50 cm, laju alir 2,9 mL/min, dan konsentrasi iodium 40 mg/L. Konsentrasi amilum optimum dipilih berdasarkan nilai absorbansi kompleks I<sub>2</sub>-amilum yang paling tinggi serta memiliki sensitivitas puncak yang baik sehingga digunakan untuk penentuan linieritas konsentrasi hidrokuinon.

#### **4.4.3 Penentuan Linieritas Hidrokuinon**

Penentuan linieritas kadar hidrokuinon dilakukan berdasarkan nilai optimum yang telah diperoleh pada percobaan 4.4.2.1 dan 4.4.2.2. Konsentrasi hidrokuinon yang divariasi untuk penentuan linieritas adalah 1 hingga 15 mg/L dan diukur menggunakan spektrofotometer sebagai detektor. Data yang diperoleh dibuat kurva hubungan antara konsentrasi sampel (sumbu x) dengan absorbansi (sumbu y). Linieritas dapat diketahui dengan menentukan persamaan regresi berdasarkan kurva yang telah diperoleh.

#### **4.4.4 Uji Selektivitas**

Uji selektivitas dilakukan dengan menambahkan senyawa pengganggu ke dalam sampel hidrokuinon. Penambahan senyawa pengganggu yaitu asam askorbat dan resorsinol. Tiap sampel hidrokuinon akan ditambahkan senyawa pengganggu masing-masing dengan konsentrasi 0,1, 0,5, 1, dan 5 mg/L. Sampel yang telah ditambahkan senyawa pengganggu selanjutnya dianalisis menggunakan FIA sesuai dengan hasil optimasi yang telah didapatkan pada percobaan 4.4.2.1 hingga 4.4.2.3. Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji-t untuk mengetahui apakah tanpa penambahan senyawa pengganggu dan dengan penambahan senyawa pengganggu berbeda signifikan atau tidak dengan tingkat kepercayaan 95 %.

#### **4.4.5 Validasi Metode FIA**

##### **4.4.5.1 Preparasi Sampel**

Preparasi sampel yang dilakukan meliputi sampel hidrokuinon yang diambil dari krim pemutih yang beredar di masyarakat. Hidrokuinon diekstrak dengan mengambil 0,1 g sampel krim pemutih dilarutkan dalam 100 mL aquades lalu di stirrer. Sampel kemudian disaring dengan kertas saring hingga seluruh ekstrak tersaring. Filtrat yang telah tersaring disimpan dalam botol sampel untuk dianalisis lebih lanjut.

##### **4.4.5.2 Uji Validasi Menggunakan Metode FIA-Spektro pada Sampel Kosmetik**

Penentuan hidrokuinon dalam sampel kosmetik dilakukan sesuai dengan percobaan 4.4.2. Sampel yang digunakan pada penelitian ini merupakan sampel yang telah di persiapkan sesuai dengan percobaan 4.4.5.1. Data yang diperoleh dibuat kurva hubungan antara konsentrasi sampel (sumbu x) dengan absorbansi (sumbu y).

#### a. Pembuatan Kurva Standar Hidrokuinon

Kurva standar hidrokuinon dibuat dengan memvariasi konsentrasi hidrokuinon sebesar 0 hingga 15 mg/L. Konsentrasi variasi hidrokuinon dibuat dengan mengencerkan larutan stok hidrokuinon 100 mg/L. Kemudian variasi konsentrasi 0 hingga 15 mg/L diukur absorbansinya pada panjang gelombang 628 nm. Data yang diperoleh kemudian dibuat kurva hubungan antara konsentrasi sampel (sumbu x) dengan absorbansi (sumbu y) serta diperoleh persamaan regresi untuk diketahui linieritasnya.

#### b. Penentuan Konsentrasi Hidrokuinon dalam Sampel Kosmetik

Penentuan konsentrasi hidrokuinon dalam sampel kosmetik yang telah dipersiapkan sesuai percobaan 4.4.5.1. kemudian ditambahkan standart hidrokuinon dengan metode adisi standart pada konsentrasi 2, 4, dan 6 ppm. Sampel tanpa penambahan adisi dan dengan penambahan adisi diukur absorbansinya menggunakan hasil optimasi metode FIA dengan detektor spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 628 nm. Hasil yang diperoleh kemudian dihitung konsentrasinya dengan persamaan regresi linier dan dihitung nilai persen perolehan kembalinya (*recovery*).

### 4.4.5.3 Analisis Data

#### a. Perhitungan Persamaan Regresi Linier Dan Koefisien Korelasi

Kurva standar dibuat dengan hubungan antara konsentrasi sampel (hidrokuinon) terhadap nilai absorbansi digunakan persamaan regresi linier 4.1 berikut:

$$y = ax + b \quad (4.1)$$

Nilai a dan b dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sum_{i=1}^n x_i^2} \quad (4.2)$$

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n} - a \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (4.3)$$

keterangan:

y = absorbansi (A)

x = konsentrasi sampel terukur

a = slope / kemiringan garis regresi

b = konstanta yang merupakan titik potong pada sumbu y

Sedangkan, koefisien korelasi  $R^2$  dari persamaan regresi tersebut ditentukan dengan persamaan berikut:

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sqrt{(\sum_{i=1}^n x_i^2)(\sum_{i=1}^n y_i^2)}} \quad (4.4)$$

Koefisien korelasi digunakan untuk menyatakan garis linier yang diperoleh dari persamaan regresi tepat rata-rata pada semua nilai titik koordinat pada kurva standart.

### b. Perhitungan Standar Deviasi

Perhitungan standar deviasi dan standar deviasi relatif adalah ukuran keragaman data dimana perhitungan ini digunakan untuk mengetahui ketelitian dari rata-rata nilai absorbansi larutan sampel yang diperoleh. Berikut merupakan persamaan standar deviasi dan standar deviasi relatif :

$$SD = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (4.5)$$

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \% \quad (4.6)$$

Keterangan : SD = Standar deviasi

N = Pengulangan

$X_i$  = nilai hasil yang diperoleh

$\bar{X}$  = Rata-rata nilai

RSD = standar deviasi relatif

### c. Uji-t

Uji-t dilakukan terhadap puncak absorbansi yang diperoleh untuk mengetahui apakah tidak berbeda nyata atau sangat berbeda antar sampel menggunakan Flow Injection Analysis (FIA-UV-Vis). Uji-t ditentukan menggunakan persamaan 4.7 dan 4.8 berikut:

$$Sp = \sqrt{\frac{S_1^2(n_1-1) + S_2^2(n_2-1)}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (4.7)$$

$$T_{hitung} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{Sp} \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} \quad (4.8)$$

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata hasil pengukuran

n = jumlah sampel

S = standar deviasi, angka 1 dan 2 menunjukkan hasil pengukuran metode 1 dan 2

$T_{hitung}$  yang dihasilkan dibandingkan dengan  $t_{tabel}$  dengan tingkat kepercayaan tertentu dan derajat kebebasan  $df = n_1 + n_2 - 2$ . Apabila  $t_{hitung} > t_{tabel}$  maka tidak ada perbedaan diantara perlakuan

yang dilakukan. Akan tetapi jika  $t_{hitung} < t_{tabel}$  maka terdapat perbedaan secara signifikan dengan tingkat kepercayaan 95 %.

**d. Limit Deteksi (LOD) dan Limit Kuantisasi (LOQ)**

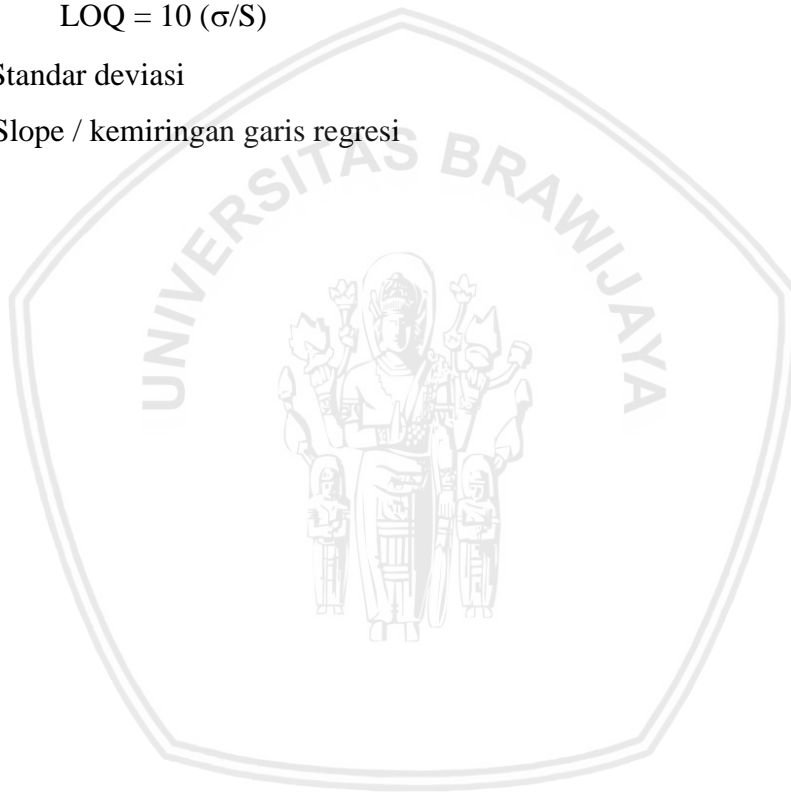
*Limit of Detection* (LOD) merupakan jumlah analit terkecil dalam sampel  $g$  yang masih memberikan respon sinyal untuk dideteksi. Sedangkan *limit of Quantitation* (LOQ) adalah konsentrasi terendah analit yang dapat ditentukan dengan akurasi. Persamaan untuk perhitungan LOD dan LOQ adalah menggunakan persamaan 4.9 dan 4.10 berikut:

$$LOD = 3 (\sigma/S) \quad (4.9)$$

$$LOQ = 10 (\sigma/S) \quad (4.10)$$

Keterangan,  $\sigma$  = Standar deviasi

$S$  = Slope / kemiringan garis regresi

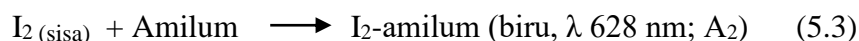
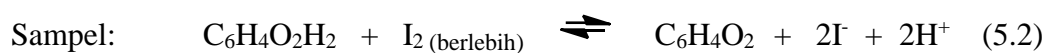
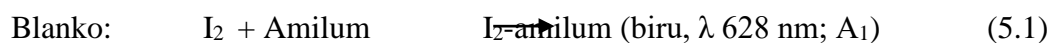


## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan analisis hidrokuinon yang diaplikasikan pada sampel kosmetik menggunakan metode FIA-Spektrofotometri. Prinsip metode FIA-Spektrofotometri pada penelitian ini adalah didasarkan pada pembentukan kompleks iodium-amilum yang berwarna biru pada suasana asam. Hidrokuinon yang dilarutkan dalam iodium bereaksi bersama reagen amilum dan bercampur didalam *mixing coil*. Dari reaksi tersebut sisa iodium yang tidak bereaksi dengan hidrokuinon berikatan dengan amilum membentuk kompleks I<sub>2</sub>-amilum berwarna biru. Metode analisis penentuan hidrokuinon didasarkan oleh perbedaan nilai absorbansi kompleks amilum-iodium yang berwarna biru dengan penambahan hidrokuinon dibandingkan dengan nilai absorbansi larutan kompleks amilum-iodium tanpa penambahan hidrokuinon (sebagai larutan blanko). Kompleks yang terbentuk kemudian dideteksi oleh spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 628 nm.

Pada larutan blanko yang ditunjukkan pada persamaan reaksi 5.1, iodium langsung bereaksi dengan amilum membentuk kompleks warna biru iodium-amilum dan dideteksi pada panjang gelombang 628 nm sebagai absorbansi A<sub>1</sub>. Pada persamaan reaksi 5.2 dan 5.3 larutan yang mengandung sampel hidrokuinon, sebagian iodium tereduksi oleh hidrokuinon menjadi ion iodida, sisa iodium yang tidak tereduksi berikatan dengan amilum membentuk kompleks warna biru. Nilai potensial reduksi iodium (+ 0,54 volt) lebih kecil dibandingkan nilai potensial hidrokuinon yaitu (+ 0,69 volt), sehingga iodium cenderung mengalami reduksi dan hidrokuinon mengalami oksidasi. Larutan sampel yang mengandung hidrokuinon (A<sub>2</sub>) menghasilkan nilai absorbansi yang lebih rendah bila dibandingkan dengan larutan blanko (A<sub>1</sub>). Semakin besar konsentrasi hidrokuinon, maka semakin banyak iodium yang tereduksi oleh hidrokuinon menjadi ion iodida, sehingga nilai absorbansi semakin kecil dan nilai perbedaan (delta) absorbansi blanko terhadap sampel semakin besar sesuai persamaan 5.4.

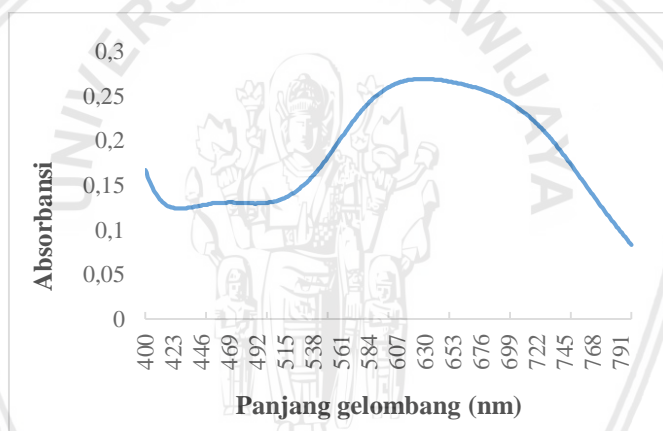


$$\Delta A = A_1 - A_2 \sim \text{konsentrasi hidrokuinon.} \quad (5.4)$$



### 5.1 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum

Kompleks amilum-iodium dipindai dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 hingga 800 nm menghasilkan absorpsi spektra yang ditunjukkan pada Gambar 5.1 dengan nilai absorbansi 0,269. Dari Gambar 5.1, spektrum menunjukkan serapan maksimum kompleks warna biru amilum-iodium pada panjang gelombang 628 nm. Warna biru memiliki panjang gelombang di daerah 480 nm, pada penelitian ini panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 628 nm. Panjang gelombang 628 nm menunjukkan warna yang terserap adalah merah yang merupakan warna komplementer dari warna hijau kebiruan dari kompleks I<sub>2</sub>-amilum. Panjang gelombang maksimum dipilih sebagai dasar pengukuran FIA untuk meningkatkan sensitivitas pengukuran sehingga memperkecil kesalahan dalam pengukuran menggunakan deteksi spektrofotometri UV-Vis.



Gambar 5.1. Panjang gelombang maksimum kompleks amilum-iodium

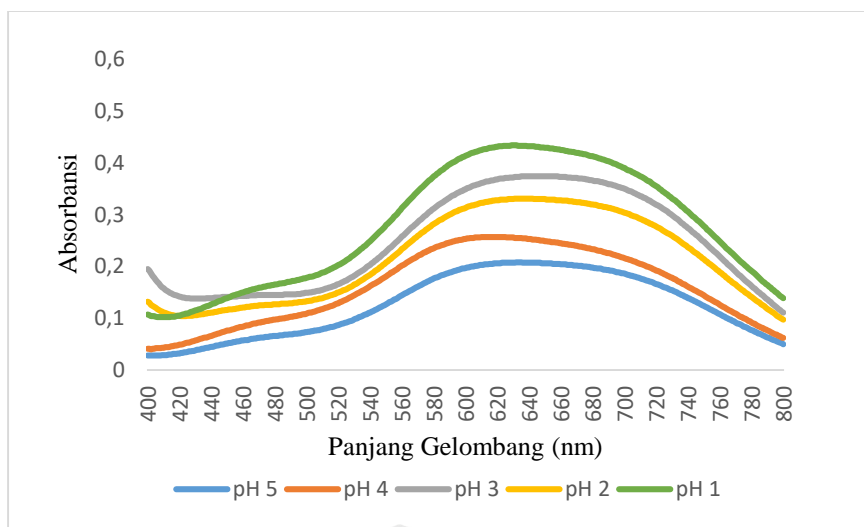
Dalam penelitian yang dikembangkan oleh Febrianti (2013) dan Sulistyarti (2015) berbasis pembentukan warna biru kompleks iodium-amilum dalam suasana asam. Pada Febrianti (2013) melakukan identifikasi iodida menggunakan metode kolorimetri pada panjang gelombang 615 nm (Febrianti dkk., 2013). Sulistyarti (2015) mengukur konsentrasi merkuri (II) pada panjang gelombang 618 nm (Sulistyarti, H., 2015). Namun, dari hasil penelitian yang dikembangkan, panjang gelombang maksimum dari kompleks iodium-amilum adalah 628 nm. Hal ini diduga karena perbedaan konsentrasi iodium yang digunakan untuk membentuk kompleks dengan amilum. Boonpo, S., dan Kungwankunakorn, S. (2017), melakukan penelitian tentang pengaruh

volume iodium terhadap kompleks iodium-amilum dari 3 tipe pati singkong yang berbeda. Konsentrasi amilum atau pati yang digunakan adalah 0,1% dan konsentrasi iodium adalah 0,2% dengan memvariasi volume penambahan iodium sebesar 1, 2, 3, 4 mL. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Boonpo (2017), panjang gelombang maksimum dari kompleks iodium-amilum bergeser ke panjang gelombang yang lebih pendek ketika volume iodium 0,2% yang ditambahkan pada sistem ditingkatkan seperti hasil dari salah satu sampel yang tersaji pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Panjang gelombang maksimum dan absorbansi panjang gelombang maksimum pada kompleks iodium-amilum (Boonpo, S. dan Kungwankunakorn, S., 2017).

| Sampel    | I <sub>2</sub> 1 mL         |                       | I <sub>2</sub> 2 mL         |                       | I <sub>2</sub> 3 mL         |                       | I <sub>2</sub> 4 mL         |                       |
|-----------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|
|           | Abs<br>( $\lambda_{\max}$ ) | $\lambda_{\max}$ (nm) | Abs<br>( $\lambda_{\max}$ ) | $\lambda_{\max}$ (nm) | Abs<br>( $\lambda_{\max}$ ) | $\lambda_{\max}$ (nm) | Abs<br>( $\lambda_{\max}$ ) | $\lambda_{\max}$ (nm) |
| Rata-rata | 0,7406                      | 617-612               | 0,8591                      | 607-609               | 0,9064                      | 597-603               | 0,9545                      | 596-599               |
| SD        | 0,0065                      |                       | 0,0040                      |                       | 0,0129                      |                       | 0,0081                      |                       |
| RSD       | 0,8842                      |                       | 0,4647                      |                       | 1,4282                      |                       | 0,8522                      |                       |

Dari Tabel 5.1, diketahui penambahan iodium 0,2% dengan volume 1 hingga 4 mL dalam konsentrasi amilum 0,1% dengan penambahan masing-masing volume 5 mL, memberikan perbedaan yang signifikan pada nilai absorbansi. Pada penambahan lebih dari 2 mL iodium 0,2%, mulai terbentuk kompleks berwarna hijau. Dari hasil penelitian tersebut dapat diketahui bahwa penambahan volume iodium yang berbeda-beda dapat memberikan perubahan warna kompleks yang terbentuk, sehingga berpengaruh pada panjang gelombang maksimum yang terdeteksi oleh spektrofotometer UV-Vis (Boonpo, S. dan Kungwankunakorn, S., 2017).



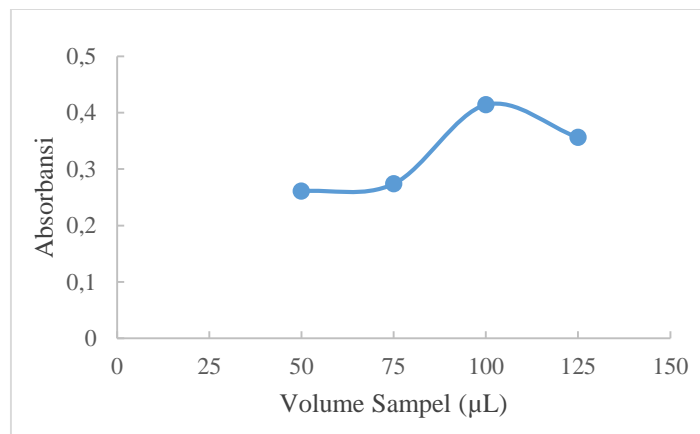
Gambar 5.2. Pengaruh variasi pH terhadap panjang gelombang maksimum kompleks  $I_2$ -amilum.

Derajat keasaman merupakan hal yang penting untuk menjamin terjadinya kompleks iodium-amilum. Pengujian pH dimulai dari pH 1 hingga 5, pH tersebut dipilih karena diketahui pada pH rendah spesi iodium merupakan spesi yang mendominasi seperti yang tersaji pada Gambar 2.4 (Bichsel, 2000). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dan tersaji pada Gambar 5.2, perubahan peningkatan pH tidak mempengaruhi perubahan panjang gelombang maksimum dari kompleks iodium-amilum. Namun, dapat diketahui dari Gambar 5.2, semakin asam suatu larutan maka semakin banyak ion  $H^+$  maka dapat meningkatkan kesempurnaan reaksi redoks yang terjadi. Hal ini karena ketersediaan iodium semakin banyak dan mengakibatkan kenaikan nilai absorbansi kompleks biru iodium-amilum. Begitu sebaliknya, pada pH yang lebih besar kestabilan iodium semakin berkurang dan mengakibatkan warna biru kompleks  $I_2$ -amilum semakin memudar (Sulistiyarti dkk., 2019).

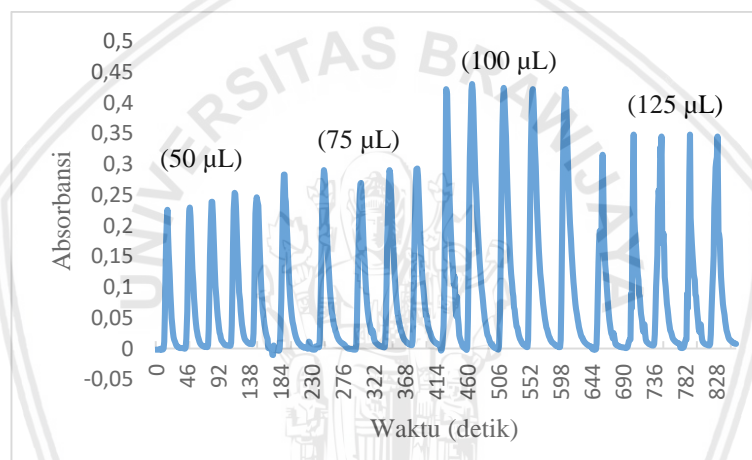
## 5.2 Pengaruh Parameter Operasional

### 5.2.1 Pengaruh Volume Sampel

Volume sampel sangat berpengaruh pada sinyal yang dihasilkan sehingga optimasi diperlukan untuk mengetahui jumlah volume sampel yang digunakan secara tepat untuk mencapai kesetimbangan mol dengan pereaksi pada kondisi asam. Sampel yang disuntikkan ditampung pada *sample loop* dan mengalir bersama reagen menuju sistem FIA. Variasi optimasi volume sampel yang dilakukan yaitu pada volume 50 – 125  $\mu$ L. Hasil optimasi *sample loop* ditunjukkan pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3. Pengaruh variasi volume sampel pada absorbansi hidrokuinon. Kondisi: *mixing coil* 50 cm, laju alir 2,9 mL/menit, amilum 0,05 %, dan iodium 40 mg/L pada panjang gelombang 628 nm.



Gambar 5.4. Profil FIAgram pengaruh optimasi volume sampel. Kondisi: seperti Gambar 5.3

Kondisi volume sampel optimum ditentukan berdasarkan absorbansi sinyal serta bentuk dari puncak yang dihasilkan dengan keterulangan puncak yang baik. Volume sampel yang disuntikkan pada saat optimasi tidak mengubah konsentrasi sampel, optimasi sampel ini hanya memperpanjang zona sampel untuk mengetahui volume sampel optimum untuk mencapai kesetimbangan mol reaksi (Karlberg dan Pacey, 1989). Dari Gambar 5.3 diketahui bahwa pada 100 µL menghasilkan absorbansi sinyal tertinggi dengan sensitivitas dan keterulangan yang baik.

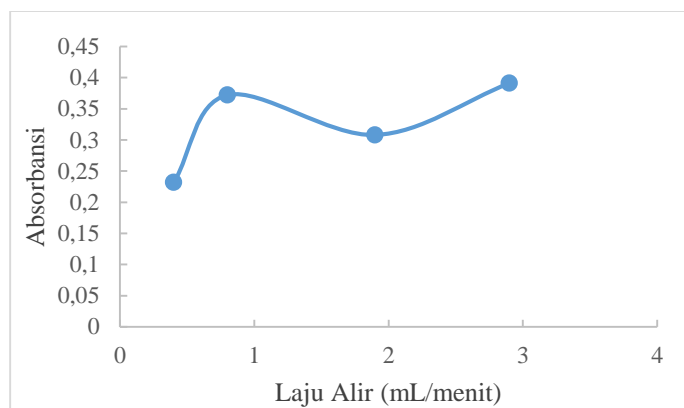
Peningkatan volume sampel dari 50 µL hingga 100 µL meningkatkan nilai absorbansi karena semakin meningkat volume sampel maka kesetimbangan mol reaksi mulai tercapai. Perubahan volume yang diinjeksi akan meningkatkan warna kompleks yang terbentuk, sehingga nilai

absorbansi akan meningkat karena semakin banyak sampel yang bereaksi dengan reagen (Kholifa, M., dkk, 2018). Namun pada volume sampel 125  $\mu\text{L}$  mengalami penurunan nilai absorbansi, hal ini karena sampel bereaksi dengan reagen pada bagian ujung sehingga pencampuran dengan reagen tidak sempurna dan puncak yang dihasilkan membentuk *shoulder peak*. Selain itu, volume sampel yang disuntikkan ke dalam sistem terlalu banyak sehingga mengakibatkan dispersi pada larutan sampel sehingga reaksi antara sampel dan reagen tidak optimum. Pada volume sampel 100  $\mu\text{L}$  menghasilkan nilai absorbansi yang optimum, karena volume sampel yang diinjeksikan tepat bereaksi mengalami kesetimbangan berikatan dengan sejumlah reagen amilum yang tersedia pada suasana asam.

### 5.2.2 Pengaruh Laju Alir

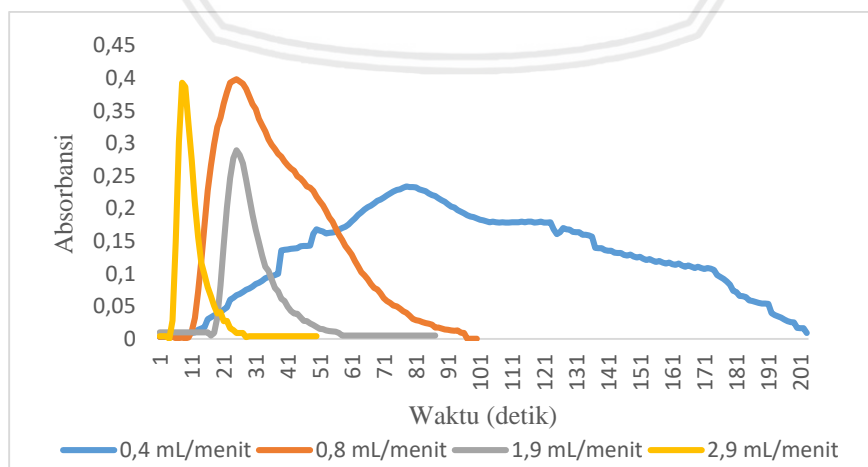
Laju alir merupakan parameter yang dapat digunakan untuk meningkatkan sensitivitas pengukuran, selain itu laju alir mempengaruhi proses pembentukan kompleks  $\text{I}_2$ -amilum, dan cepat lambatnya analisis. Sehingga optimasi laju alir sangat diperlukan dengan tujuan untuk mencapai kesempurnaan reaksi dan meminimalisir dispersi antara reagen dan sampel.

Pada Gambar 5.6, diketahui laju alir dari 0,4 mL/menit menghasilkan puncak melebar yang menyebabkan waktu analisis menjadi lama. Menurut Karlberg dan Pacey (1989), penurunan laju alir mempengaruhi aliran larutan yang ada di coil sehingga larutan menjadi terdispersi dan reaksi menjadi tidak maksimal. Kenaikan laju alir hingga 0,8 mL/menit menghasilkan puncak absorbansi yang lebih tinggi dibandingkan laju alir 0,4 mL/menit, namun puncak yang dihasilkan melebar dengan *shoulder peak*. Laju alir yang lambat membuat sampel mengalami pengenceran selama di coil. Selain itu, kenaikan nilai absorbansi dengan puncak yang melebar menunjukkan bahwa reaksi antara reagen amilum dan iodium tidak berlangsung dengan optimal yang disebabkan oleh laju alir yang lambat sehingga terjadi dispersi pada larutan seperti pada Gambar 5.6 (Ensafi et al., 2004). Dispersi merupakan faktor utama yang mengakibatkan berkurangnya sensitivitas dan limit deteksi (Trojanowicz, 2008).



Gambar 5.5. Pengaruh variasi laju alir pada absorbansi hidrokuinon  
Kondisi: *mixing coil* 50 cm, volume sampel 100  $\mu$ L, amilum 0,05 %, dan iodium 40 mg/L pada panjang gelombang 628 nm.

Berdasarkan Gambar 5.5, diketahui bahwa laju alir 0,4 mL/menit hingga 2,9 mL/menit mengalami peningkatan. Pada laju alir 0,8 mL/menit dan laju alir 2,9 mL/menit tidak menghasilkan perbedaan puncak sinyal absorbansi yang signifikan. Namun, dengan pada laju alir hingga 0,8 mL/menit, dihasilkan puncak yang melebar dengan *shoulder peak*. Selain itu, waktu analisis yang diperlukan untuk laju alir 0,8 mL/menit adalah 70 detik/sampel sedangkan laju alir 2,9 mL/menit adalah 23 detik/sampel. Hal itu menunjukkan bahwa reaksi yang terjadi antara iodium dengan amilum dalam membentuk kompleks merupakan reaksi yang berlangsung cepat. Menurut Karlberg dan pacey (1989), penurunan laju alir mempengaruhi aliran turbulen dari larutan yang ada di coil sehingga terjadi dispersi yang menyebabkan reaksi tidak maksimal. Sehingga laju alir 2,9 mL/menit dipilih sebagai laju alir yang optimum karena menghasilkan puncak dengan absorbansi tinggi dan sensitivitas yang baik.



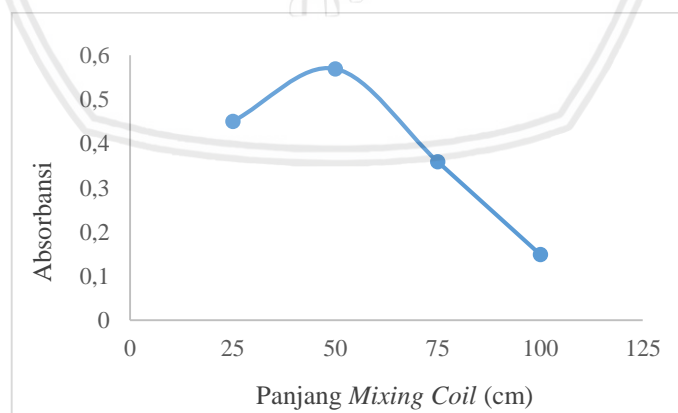


Gambar 5.6 Profil FIAGram pengaruh optimasi laju alir  
Kondisi: seperti Gambar 5.5.

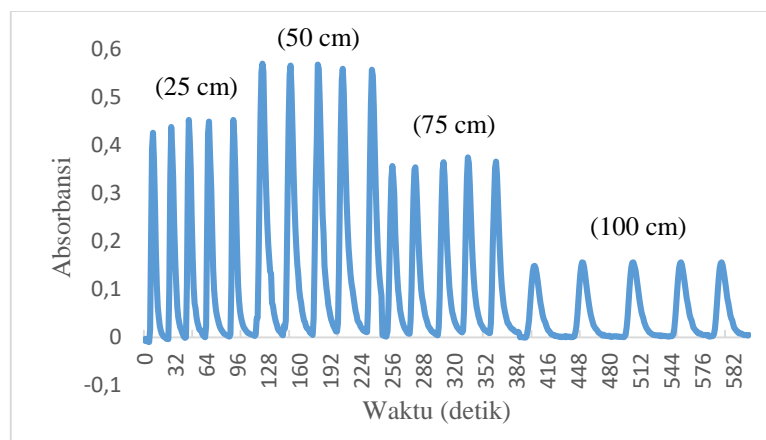
### 5.2.3 Pengaruh Panjang *Mixing Coil*

*Mixing coil* merupakan bagian dari zona reaksi dimana tempat terjadi reaksi antara sampel dan reagen dengan cara pengocokan pada panjang *mixing coil* tertentu untuk mencapai kesetimbangan kimia (Karlberg dan Pacey, 1989). Panjang *mixing coil* berpengaruh pada kesetimbangan kimia yang dihasilkan ketika sampel bereaksi dengan reagen. Semakin panjang *mixing coil* maka idealnya semakin lama waktu reagen dan sampel berinteraksi sehingga reaksi yang semakin sempurna, tetapi hasil yang didapatkan tetap bergantung pada reaksi yang terjadi. Namun, semakin panjang *mixing coil* dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan dispersi larutan sehingga dapat menurunkan sensitivitas pengukuran (Ensafi *et al.*, 2004). Panjang *mixing coil* perlu dioptimasi untuk mengetahui panjang optimum *mixing coil* sebagai zona reaksi antara sampel dengan reagen pada metode *flow injection analysis* (FIA-spektrofotometri).

Rangkaian FIA pada Gambar 4.1 terdapat *mixing coil* yang merupakan zona reaksi terjadinya pencampuran antara sampel mengandung hidrokuinon dan iodium dengan amilum sebagai reagen pada kondisi asam yang kemudian mengalir menuju detektor. Panjang *mixing coil* divariasikan dengan panjang 25, 50, 75, dan 100 cm. Kondisi pengukuran yang digunakan adalah volume sampel 100  $\mu\text{L}$ , laju alir 2,9 mL/menit, konsentrasi iodium 40 mg/L dan konsentrasi amilum 0,05 % yang diukur pada panjang gelombang 628 nm.



Gambar 5.7. Pengaruh variasi *mixing coil* pada absorbansi hidrokuinon  
Kondisi: volume sampel 100  $\mu\text{L}$ , laju alir 2,9 mL/menit, amilum 0,05%, dan iodium 40 mg/L pada panjang gelombang 628 nm.



Gambar 5.8. Profil FIAgram pengaruh optimasi *mixing coil*  
Kondisi: seperti Gambar 5.7

Seperti yang terlihat pada Gambar 5.7, peningkatan panjang *mixing coil* 25 cm sampai 50 cm menghasilkan nilai absorbansi yang meningkat pula. Hal ini dikarenakan *mixing coil* sebagai zona reaksi antara sampel dan reagen dapat meningkatkan kecepatan reaksi melalui proses pengocokan. Namun, pada panjang *mixing coil* 75 cm hingga 100 cm menghasilkan penurunan sinyal yang ditunjukkan dengan penurunan nilai absorbansi. Penurunan sinyal ini berlawanan dengan teori Karlberg dan Pacey (1989) yang menyatakan bahwa semakin panjang *mixing coil* akan meningkatkan waktu reaksi dengan cara pengocokan sehingga absorbansi meningkat. Penurunan nilai absorbansi disebabkan oleh *mixing coil* yang semakin panjang dan proses pengocokan antara amilum dan hidrokuinon- $I_2$  semakin sempurna dalam *mixing coil*. Namun semakin panjang *mixing coil* peningkatan derajat dispersi semakin tinggi sehingga absorbansi yang diamati semakin kecil. Penurunan derajat dispersi memberikan efek berupa penurunan sensitivitas (Trojanowicz, 2008). Berdasarkan hasil yang diperoleh, pada panjang *mixing coil* 50 cm menghasilkan absorbansi tertinggi dengan keterulangan yang baik sehingga dipilih sebagai *mixing coil* optimum.

### 5.3 Pengaruh Parameter Kimia

#### 5.3.1 Pengaruh Konsentrasi Iodium

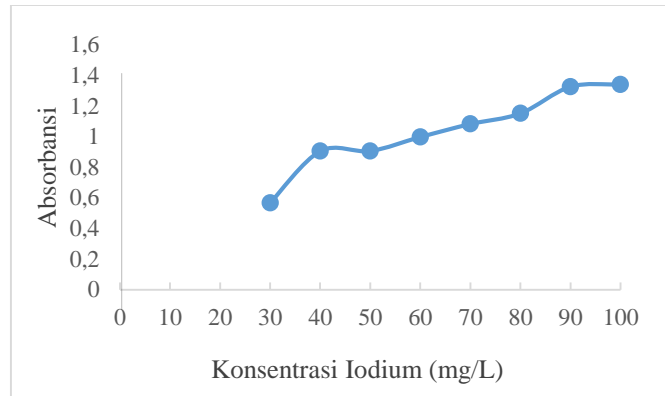
Larutan iodium sebagai agen oksidasi yang dibuat dengan melarutkan iodium ke dalam potassium iodida yang membentuk ion kompleks triiodida yang larut dalam pelarut serta dipelajari pengaruhnya untuk memaksimalkan kisaran linearitas dari pembentukan kompleks warna biru iodium-amilum. Larutan iodium yang digunakan divariasikan dengan variasi konsentrasi yaitu 30-100

mg/L. Reaksi antara iodium dengan hidrokuinon didasarkan pada reaksi redoks, dimana iodium direduksi menjadi iodida dan hidrokuinon dioksidasi menjadi kuinon, ditunjukkan dengan persamaan reaksi 5.5. Lalu, sisa dari iodium yang tidak bereaksi dengan hidrokuinon bereaksi dengan amilum membentuk kompleks berwarna biru (Kolthoff,1926). Berdasarkan persamaan reaksi 5.5, diketahui bahwa perbandingan mol antara hidrokuinon dengan iodium adalah 1:1 dimana 1 mol hidrokuinon ekuivalen dengan 1 mol iodium. Perbandingan mol antara hidrokuinon dengan iodium kemudian dijadikan acuan untuk menentukan konsentrasi iodium berlebih sehingga sisa iodium yang tidak bereaksi dengan hidrokuinon bereaksi dengan amilum membentuk kompleks I<sub>2</sub>-amilum. Pada penelitian ini, konsentrasi iodium yang digunakan adalah 1,58 x 10<sup>-4</sup> M dan konsentrasi hidrokuinon tertinggi adalah 1,36 x 10<sup>-4</sup> M. Dari hasil tersebut, diperoleh perbandingan konsentrasi iodium dan konsentrasi hidrokuinon tertinggi adalah 8:7. Sehingga pada konsentrasi hidrokuinon tertinggi, diketahui bahwa masih terdapat sisa mol iodium yang dapat bereaksi dengan amilum meskipun menghasilkan intensitas kompleks warna biru yang rendah.



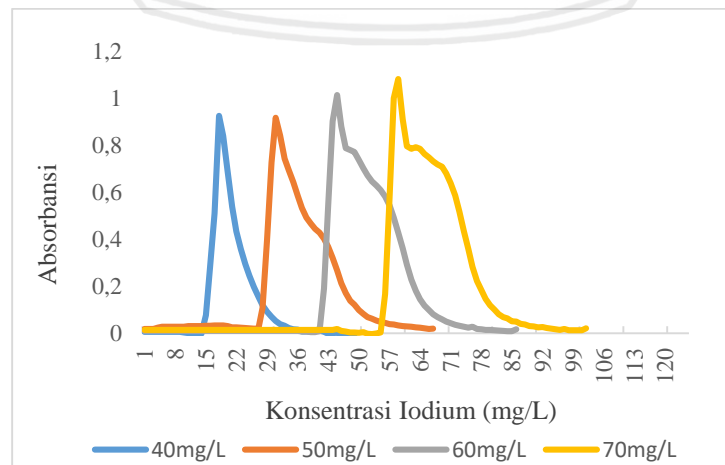
Pada penelitian yang dilakukan oleh Murdoch K. A. (1992) menyebutkan bahwa iodium yang telah dilarutkan dengan potassium iodida membentuk rantai iodium bermuatan negatif yang terdiri dari ion I<sub>3</sub><sup>-</sup> dan molekul iodium. Muatan-muatan negatif pada rantai iodium menyebabkan heliks dalam amilum saling tolak menolak dan menarik ion bermuatan positif serta molekul air. Karena konsentrasi molekul air tinggi, setiap heliks memperoleh selubung molekul air sehingga potensial listrik dalam heliks menurun karena adanya interaksi dipol-ion. Selain itu, air memfasilitasi ikatan hidrogen antar unit heliks sehingga menstabilkan unit heliks dan kompleks yang terbentuk. Hasil perbanyakan (propagasi) terjadi karena tarikan molekul iodium pada ion I<sub>3</sub><sup>-</sup> dan konversinya menjadi dipol yang diinduksi ion (Murdoch, 1992).

Kondisi yang digunakan dalam pengukuran adalah volume sampel 100 µL, panjang *mixing coil* 50 cm, laju alir 2,9 mL/menit, dan konsentrasi amilum 0,05%. Dari hasil pengukuran, diperoleh hasil seperti Gambar 5.9.



Gambar 5.9. Pengaruh variasi konsentrasi iodium pada absorbansi kompleks  $I_2$ -amilum  
Kondisi: volume sampel 100  $\mu$ L, laju alir 2,9 mL/menit, *mixing coil* 50 cm, dan amilum 0,05 % pada panjang gelombang 628 nm.

Dari Gambar 5.9 diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi iodium maka warna biru dari kompleks iodium-amilum yang terbentuk dapat meningkatkan intensitas. Pada konsentrasi iodium dari 30 mg/L hingga 100 mg/L terjadi kenaikan nilai absorbansi, namun pada konsentrasi 40 mg/L dan 50 mg/L tidak nampak perbedaan absorbansi yang signifikan. Pada absorbansi kompleks untuk konsentrasi yang lebih tinggi, tidak berarti bahwa puncak FIAgram diterima. Pada Gambar 5.10 diketahui bahwa akibat dari kenaikan konsentrasi iodium dihasilkan kenaikan nilai absorbansi dengan puncak membentuk *shoulder peak*, dimana *shoulder peak* semakin jelas terlihat pada konsentrasi iodium yang semakin tinggi. Hal ini terjadi karena adanya dispersi dan reaksi tidak mencapai kesetimbangan kimia (Trojanowicz, 2008). Sampel bereaksi pada ujung reagen sehingga terbentuk dua puncak, dengan puncak pertama yang lebih tinggi dibandingkan puncak kedua. Hasil menunjukkan bahwa pada 40 mg/L dihasilkan FIA gram dengan bentuk puncak dan sensitivitas yang baik dibandingkan 50 mg/L, sehingga 40 mg/L dipilih sebagai konsentrasi iodium yang optimum.



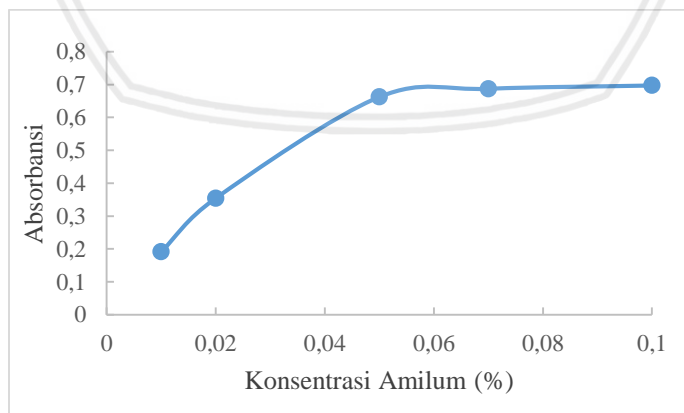
Gambar 5.10. Profil FIAGram pengaruh optimasi konsentrasi iodium.  
Kondisi: seperti Gambar 5.9

Pada penelitian ini digunakan pH asam, karena semakin kecil pH maka kelimpahan ion  $H^+$  untuk terjadinya reaksi redoks semakin banyak dan ini sangat diperlukan. Dalam suasana basa, iodium mengalami hidrolisis dan terdisproporsionasi menjadi asam hipiodit dan iodida seperti reaksi pada 5.6. Sedangkan pada pH 14 seperti yang terlihat pada persamaan reaksi 5.7, iodium menjadi iodida dan ion iodat (Sulistiyarti dkk., 2019).



### 5.3.2 Pengaruh Konsentrasi Amilum

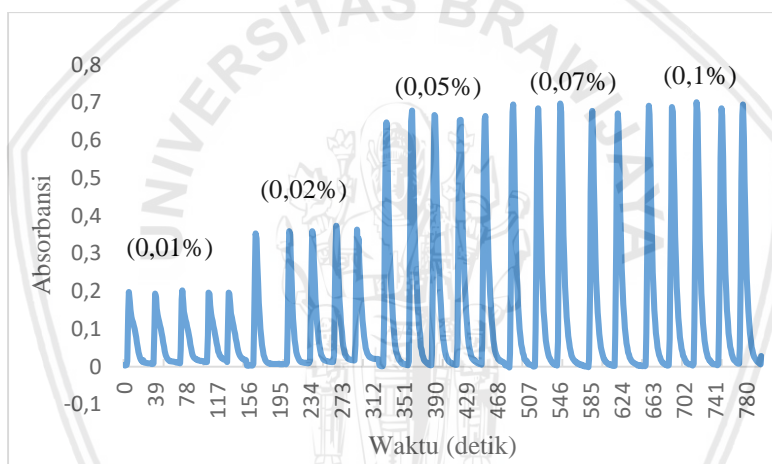
Amilum merupakan larutan indikator spesifik yang menghasilkan kompleks berwarna biru ketika berikatan dengan iodium. Ketika amilum larut dalam air, amilosa membentuk molekul bergerombol yang tidak kasat mata karena hanya pada tingkat molekuler. Rantai dari amilum, membentuk heliks sehingga iodium terikat di dalam rantai heliks amilum seperti tercantum pada Gambar 2.7. Optimasi amilum dilakukan untuk menghasilkan absorbansi maksimum dengan sensitivitas yang baik oleh kompleks iodium-amilum. Optimasi konsentrasi amilum dilakukan pada variasi konsentrasi amilum 0,01% sampai 0,1%. Hasil reaksi antara amilum-iodium kemudian diukur pada panjang gelombang 628 nm dengan hasil seperti pada gambar 5.10.



Gambar 5.11. Pengaruh variasi konsentrasi amilum pada absorbansi kompleks  $I_2$ -amilum  
Kondisi: volume sampel 100  $\mu$ L, laju alir 2,9 mL/menit, *mixing coil* 50 cm, dan

iodium 40 mg/L pada panjang gelombang 628 nm.

Kondisi yang digunakan dalam pengukuran adalah volume sampel 100  $\mu\text{L}$ , panjang *mixing coil* 50 cm, laju alir 2,9 mL/menit, dan konsentrasi iodium 40 mg/L. Berdasarkan Gambar 5.11, diketahui bahwa terjadi peningkatan absorbansi dari konsentrasi amilum 0,01% hingga 0,05%. Sesuai dengan konsep kesetimbangan, dengan penambahan konsentrasi reagen (amilum), kesetimbangan reaksi akan bergeser ke arah produk (kompleks iodium-amilum) (Sulistiyarti dkk., 2019). Dari hasil pengukuran menunjukkan bahwa pada konsentrasi amilum 0,05 %, 0,07 % sampai 0,1 % dengan kisaran hasil absorbansi masing-masing 0,66, 0,687, dan 0,697. Pada konsentrasi 0,05 % hingga 0,1 % dihasilkan absorbansi yang tidak signifikan berbeda, sehingga konsentrasi amilum 0,05 % dipilih sebagai konsentrasi optimum.



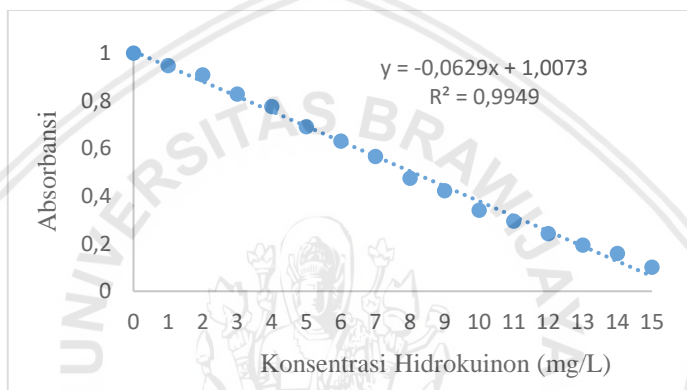
Gambar 5.12. Profil FIAgram pengaruh optimasi konsentrasi amilum. Kondisi: seperti Gambar 5.11

#### 5.4 Penentuan Kisaran Konsentrasi Pengukuran Hidrokuinon

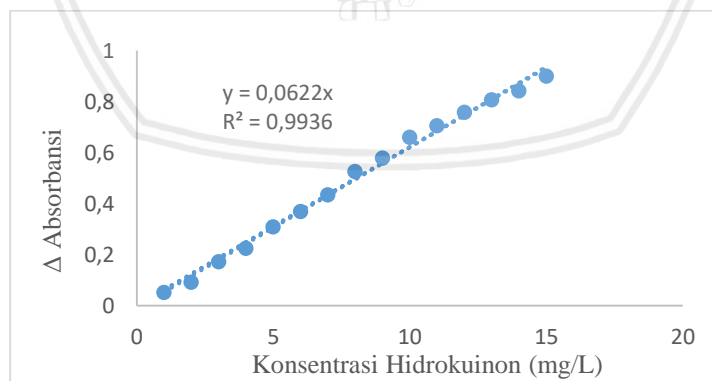
Penentuan kisaran konsentrasi pengukuran hidrokuinon ditentukan menggunakan kurva kalibrasi dari pengukuran larutan standar hidrokuinon. Dari nilai absorbansi yang diperoleh kemudian hasil pengukuran diplot pada kurva yang tertera pada Gambar 5.13, kemudian diolah menjadi kurva linier yang ditunjukkan pada Gambar 5.14 dimana sumbu x menyatakan konsentrasi hidrokuinon dan sumbu y menyatakan  $\Delta A$  (nilai perbedaan absorbansi blanko terhadap sampel hidrokuinon).



Berdasarkan Gambar 5.13 diketahui bahwa semakin besar konsentrasi hidrokuinon, maka semakin banyak iodium yang tereduksi oleh hidrokuinon menjadi ion iodida, sehingga nilai absorbansi semakin kecil dan nilai perbedaan (delta) absorbansi blanko terhadap sampel semakin besar. Absorbansi yang teramati pada Gambar 5.13 merupakan hasil pengukuran secara tidak langsung yang di plot sebagai absorbansi, karena yang setara dengan konsentrasi hidrokuinon adalah delta absorbansi seperti Gambar 5.14. Delta absorbansi menyatakan kesetaraan dengan absorbansi hidrokuinon yang ada di dalam sampel, dimana semakin besar konsentrasi hidrokuinon maka semakin besar nilai absorbansinya dengan mengikuti hukum *Lambert-Beer* ( $A = abc$ ). Metode ini hanya mampu mengukur konsentrasi dari 1 mg/L hingga 15 mg/L.



Gambar 5.13. Kurva linieritas hubungan absorbansi dengan konsentrasi hidrokuinon  
Kondisi: volume sampel 100  $\mu$ L, laju alir 2,9 mL/menit, *mixing coil* 50 cm, amilum 0,05% dan iodium 40 mg/L pada panjang gelombang 628 nm.



Gambar 5.14. Kurva linieritas hubungan  $\Delta$  absorbansi dengan konsentrasi hidrokuinon  
Kondisi: seperti Gambar 5.13.

Sensitivitas merupakan kemampuan alat atau metode untuk memberikan respon hasil pengukuran yang berbeda terhadap perubahan. Nilai sensitivitas diperoleh dari nilai *slope* atau

repository.ub.ac.id

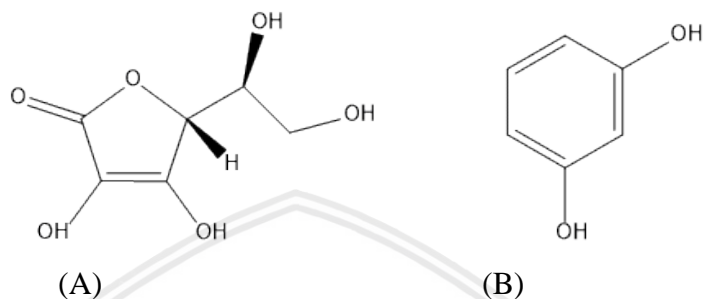
kemiringan kurva kalibrasi (Kholifa, M., dkk, 2018). Kurva hubungan antara konsentrasi hidrokuinon terhadap delta absorbansi menghasilkan persamaan regresi yaitu  $y = 0,0622x$  yang menunjukkan nilai slope hidrokuinon. Nilai slope yang diperoleh menunjukkan bahwa perubahan dari setiap satu satuan konsentrasi hidrokuinon menghasilkan perubahan yang berarti sebesar nilai slope tersebut (Kholifa, M., dkk, 2018). Limit deteksi yang diperoleh sebesar 0,16 mg/L dengan menggunakan metode penentuan limit deteksi  $3SD/slope$ . Sedangkan, nilai LOQ yang diperoleh 0,53 mg/L dengan menggunakan metode penentuan limit deteksi  $10SD/slope$ . Nilai limit deteksi yang rendah menunjukkan sensitivitas yang tinggi terhadap suatu metode. Nilai koefisien korelasi diperoleh sebesar  $R^2$  0,9936, yang berarti  $\pm 99,36\%$  perubahan absorbansi dipengaruhi oleh konsentrasi sedangkan 0,64% dipengaruhi oleh faktor lain. Koefisien korelasi merupakan nilai akar kuadrat dari koefisien determinasi dimana dari hasil pengukuran menghasilkan linieritas 0,9936 yang mendekati nilai 1 sehingga diketahui adanya hubungan linier antara konsentrasi hidrokuinon dengan delta absorbansi. Hal ini menunjukkan, bahwa metode ini memiliki potensi sebagai metode alternatif untuk pengukuran hidrokuinon.

### 5.5 Uji Selektivitas

Uji selektivitas dilakukan dengan menambahkan senyawa pengganggu ke dalam sampel hidrokuinon. Senyawa pengganggu yang digunakan dalam uji selektivitas pada metode FIA-Spektrofotometri ini adalah asam askorbat (vitamin C) dan resorsinol. Pemilihan senyawa pengganggu berupa asam askorbat dan resorsinol didasarkan pada penggunaannya didalam produk kosmetik atau farmasi. Menurut Couteau (2016), Neocutis Laboratories mengkombinasikan hidrokuinon dengan 4 bahan aktif diantaranya fenil etil resorsinol untuk perawatan penderita *pseudofolliculitis barbae* (radang kulit pada folikel rambut) (Couteau, C. dan Coiffard, L., 2016). Selain itu, penambahan senyawa pengganggu memungkinkan adanya pengaruh terhadap pengukuran karena asam askorbat bersifat sebagai reduktor. Sedangkan, resorsinol dipilih sebagai senyawa pengganggu pada selektivitas penentuan hidrokuinon karena merupakan isomer dihidroksibenzena yang memiliki kemiripan sifat senyawa dengan hidrokuinon (Wang, C. *et al.*, 2012). Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Dari hasil uji selektivitas dapat diketahui dari nilai konsentrasi yang dihitung setelah penambahan senyawa asam askorbat dan resorsinol, dimana untuk penambahan asam askorbat dengan konsentrasi 0,1 mg/L menunjukkan persen perolehan kembali yang bernilai 106% dan

109%. Sedangkan, pada penambahan asam askorbat dengan konsentrasi 0,5 mg/L sudah mengganggu hasil sinyal yang diberikan dengan adanya kenaikan nilai konsentrasi terukur dan persen perolehan kembali diatas 110 %. Hal tersebut juga terjadi setelah penambahan senyawa pengganggu resorcinol 0,5 mg/L sudah mengganggu sinyal dengan adanya kenaikan konsentrasi dan persen perolehan kembali diatas 120 %.



Gambar 5.15. Struktur Kimia Senyawa Asam Askorbat (A) dan Resorsinol (B)

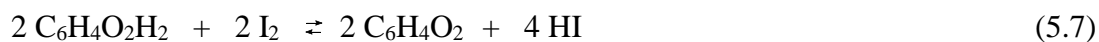
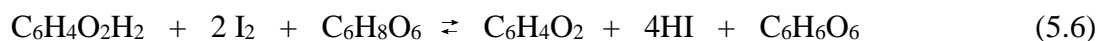
Persen *recovery* adalah salah satu validasi yang dilakukan dengan tujuan untuk melihat kemampuan kadar analit sebenarnya dan ketepatan suatu metode untuk campuran (Kholifa, M., dkk, 2018). Menurut Sumardi dalam penelitian Mariana (2018), nilai persentase *recovery* yang memenuhi suatu standar adalah berkisar antara 90 – 110 % (Mariana, E. *et al.*, 2018). Dari hasil persentase *recovery* tersebut diketahui bahwa penambahan senyawa pengganggu pada konsentrasi 0,1 mg/L memenuhi syarat keterimaan *recovery* yang menunjukkan ketepatan yang baik.

Dari hasil persen *recovery* diketahui bahwa, penambahan senyawa asing resorsinol dan asam askorbat pada konsentrasi  $\geq 0,5$  mg/L memberikan gangguan secara negatif. Gangguan secara negatif ini merupakan gangguan yang menurunkan sinyal analitis secara palsu sehingga diperoleh nilai persen *recovery* mencapai diatas 120% (Valcarcel, 2012). Semakin tinggi konsentrasi senyawa pengganggu yang ditambahkan, intensitas warna kompleks biru  $I_2$ -amilum yang diperoleh semakin menurun. Pada penelitian ini, penurunan sinyal absorbansi dipengaruhi oleh semakin meningkatnya konsentrasi senyawa pengganggu yang ikut mereduksi iodium menjadi iodida, serta menempelnya sisa resorsinol dan asam askorbat pada tubing yang dialiri oleh pereaksi kompleks  $I_2$ -amilum sehingga nilai absorbansi menurun. Selain itu, kesamaan struktur resorsinol dengan hidrokuinon melalui reaksi tautomerisasi menjadikan kromofor hasil tautomerisasi terbaca oleh detektor.

Tabel 5.2. Pengaruh senyawa pengganggu terhadap absorbansi kompleks  $I_2$ -amilum

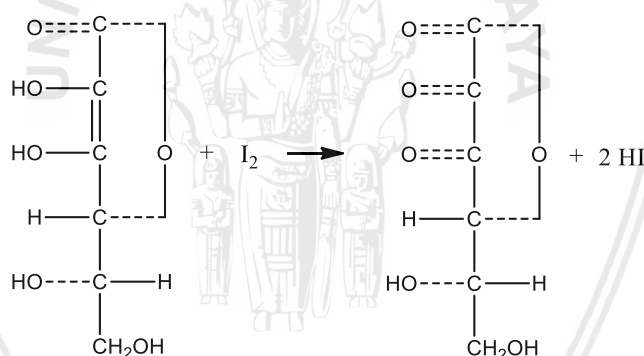
| Konsentrasi HQ (mg/L) | Senyawa Pengganggu | Konsentrasi senyawa pengganggu (mg/L) | Konsentrasi terukur (mg/L) | Recovery (%) |
|-----------------------|--------------------|---------------------------------------|----------------------------|--------------|
| 5                     | Asam askorbat      | -                                     | 5,020 ± 0,325              | -            |
|                       |                    | 0,1                                   | 5,314 ± 0,295              | 106          |
|                       |                    | 0,5                                   | 6,817 ± 0,336              | 136          |
|                       |                    | 1                                     | 8,430 ± 0,228              | 168          |
|                       |                    | 5                                     | 9,780 ± 0,362              | 195          |
| 5                     | Resorsinol         | -                                     | 5,220 ± 0,445              | -            |
|                       |                    | 0,1                                   | 5,461 ± 0,283              | 109          |
|                       |                    | 0,5                                   | 7,607 ± 0,216              | 146          |
|                       |                    | 1                                     | 9,147 ± 0,454              | 175          |
|                       |                    | 5                                     | 12,270 ± 0,066             | 210          |

Pada penambahan senyawa pengganggu resorsinol dan asam askorbat konsentrasi  $\geq 0,5$  mg/L menghasilkan penurunan nilai absorbansi yang jauh berbeda terhadap hidrokuinon tanpa adanya penambahan senyawa pengganggu. Hal ini disebabkan karena sifat asam askorbat yang bersifat sebagai reduktor serta resorsinol yang merupakan isomer dari hidrokuinon memiliki hampir kesamaan sifat. Semakin besar konsentrasi asam askorbat dan resorsinol yang ditambahkan, maka semakin banyak iodium yang tereduksi menjadi iodida. Sehingga, terjadi penurunan nilai absorbansi yang drastis pada kompleks biru iodium-amilum. Sedangkan pada penambahan asam askorbat dan resorsinol 0,1 mg/L tidak memberikan nilai perbedaan absorbansi yang nyata. Berikut merupakan persamaan reaksi antara hidrokuinon dengan asam askorbat yang ditunjukkan pada persamaan 5.6 (Isaacs dan Eldik, 1997), serta reaksi hidrokuinon dengan resorsinol pada persamaan 5.7 yang masing-masing bereaksi pula dengan iodium.

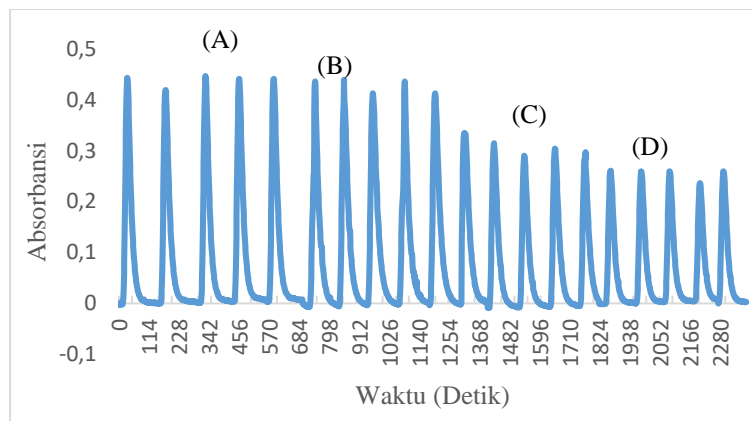


Pada konsentrasi asam askorbat dan resorsinol diatas 0,5 mg/L menunjukkan nilai absorbansi yang diperoleh menjadi turun sehingga selektivitas terhadap kompleks I<sub>2</sub>-amilum juga menurun. Hal ini dipengaruhi oleh struktur kimia dari senyawa asam askorbat tersaji pada Gambar 5.16, menunjukkan bahwa asam askorbat tersusun atas gugus karbonil. Sifat asam askorbat yang memiliki keasaman yang kuat dan sebagai reduktor yang kuat disebabkan karena adanya struktur enadiol yang terkonjugasi dengan gugus karbonil pada cincin lakton. Gugus karbonil pada asam askorbat bersifat polar yang terdiri dari sebuah atom karbon sp<sup>2</sup> yang dihubungkan pada sebuah atom oksigen oleh ikatan sigma dan ikatan -pi. Gugus karbonil, dengan elektron dalam ikatan sigma dan ikatan -pi cenderung bersifat elektronegatif.

Selain itu, iodium memiliki potensial reduksi (+ 0,535 volt) yang lebih besar bila dibandingkan potensial reduksi asam askorbat yang lebih kecil (+ 0,390 volt) (Willard, H.H. and Wooten, A.L 1950). Sehingga, asam askorbat yang merupakan reduktor kuat cenderung mereduksi iodium menjadi iodida dalam suasana asam dan kompleks warna biru yang terbentuk semakin menurun intensitas warnanya. Gambar 5.17 menunjukkan perkiraan reaksi yang terjadi antara iodium dan asam askorbat.



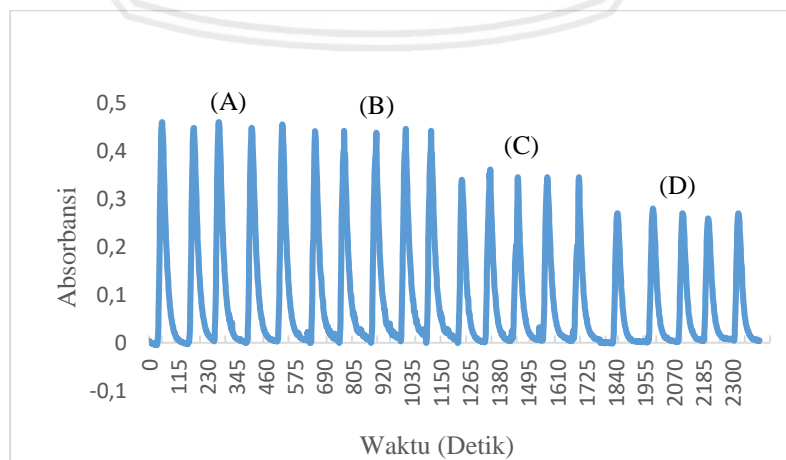
Gambar 5.16 Reaksi antara iodium dan asam askorbat.



Gambar 5.17. Profil FIAgram selektivitas dengan penambahan asam askorbat pada Kondisi volume sampel 100  $\mu$ L, laju alir 2,9 mL/menit, *mixing coil* 50 cm, amilum 0,05% dan iodium 40 mg/L pada panjang gelombang 628 nm.

(A) Hidrokuinon 5 ppm tanpa penambahan; (B) Penambahan asam askorbat 0,1 mg/L; (C) Penambahan asam askorbat 0,5 mg/L; (D) Penambahan asam askorbat 1 mg/L.

Resorsinol yang merupakan isomer hidrokuinon memiliki dua gugus hidroksil (-OH) pada meta, sedangkan hidrokuinon memiliki gugus hidroksil pada orto (Nuryati dan Prasetyo, 2013). Gugus hidroksil pada molekul resorsinol diaktifkan karena densitas elektron dari elektron -pi berkontribusi terhadap substitusi elektrofilik proton pada cincin benzena (Durairaj, 2005). Resorsinol yang dilarutkan dengan pelarut dalam kondisi asam mengalami tautomerisasi membentuk keto-enol sehingga mengganggu pengukuran. Kesamaan struktur resorsinol dengan hidrokuinon melalui reaksi tautomerisasi menjadikan kromofor hasil tautomerisasi terbaca oleh detektor. Resorsinol dengan potensial reduksi sebesar + 0,150 volt bertindak seperti hidrokuinon, dimana cenderung bersifat sebagai reduktor yang mereduksi iodium menjadi iodida (Willard, H.H. and Wooten, A.L 1950).





Gambar 5.18. Profil FIAGram selektivitas dengan penambahan resorsinol  
Kondisi: seperti Gambar 5.14.  
(A) Hidrokuinon 5 ppm tanpa penambahan; (B) Penambahan resorsinol 0,1 mg/L; (C) Penambahan resorsinol 0,5 mg/L; (D) Penambahan resorsinol 1 mg/L.

### 5.6 Validasi Metode *Flow Injection Analysis-Spectrophotometry*

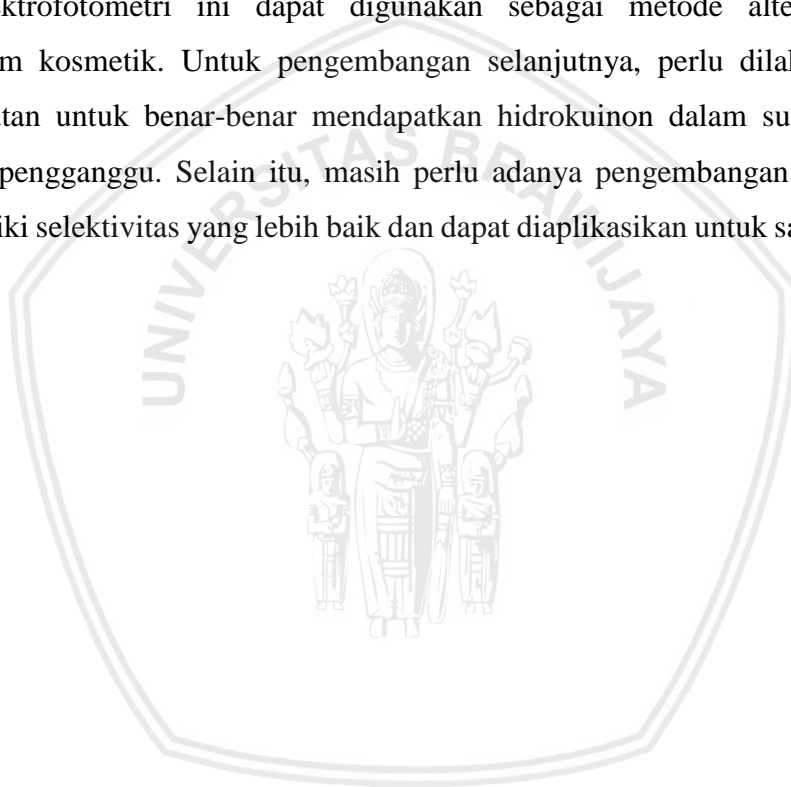
Uji validasi dilakukan untuk mengetahui metode *flow injection analysis* dapat dijadikan sebagai metode alternatif untuk penentuan hidrokuinon. Pada uji validasi, metode yang dilakukan adalah menggunakan metode adisi standar. Metode adisi standar yaitu suatu metode yang digunakan untuk kadar hidrokuinon suatu sampel asli (x) kemudian ditambah dengan larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya sehingga diperoleh nilai perolehan kembali (*recovery*). Sampel yang diukur kadar hidrokuinonnya kemudian ditambahkan larutan standar hidrokuinon dengan konsentrasi 0, 2, 4 dan 6 mg/L, lalu diukur dengan metode FIA-Spektrofotometri sehingga menghasilkan data konsentrasi sampel yang terukur serta persen *recovery* yang tersaji pada Tabel 5.3.

Pada metode ini juga dihitung nilai standart deviasi untuk mengetahui besar perbedaan dari nilai sampel terhadap rata-rata (Mariana, E. et al., 2018). Dari Tabel 5.3 diketahui nilai standart deviasi dari sebaran data konsentrasi dalam sampel kosmetik yang telah diadisi dengan standar hidrokuinon berbagai konsentrasi. Dari nilai deviasi yang diperoleh, menunjukkan nilai deviasi yang kecil, sehingga sebaran nilai absorbansi tiap-tiap konsentrasi dekat dari nilai rata-rata.

Tabel 5.3. Hasil pengukuran sampel kosmetik dengan adisi standar

| Konsentrasi adisi<br>HQ (mgL <sup>-1</sup> ) | Absorbansi | Konsentrasi<br>terukur<br>(mg/L) | Recovery<br>(%) |
|--|------------|----------------------------------|-----------------|
| -  | 0,802      | 3,264 ± 0,187                    | -               |
| 2  | 0,693      | 4,996 ± 0,144                    | 91,78           |
| 4  | 0,556      | 7,174 ± 0,162                    | 97,24           |
| 6  | 0,438      | 9,051 ± 0,115                    | 93,47           |
| Rata-rata                                    | -          | -                                | 94,16           |

Menurut Sumardi (2002), nilai persentase *recovery* yang memenuhi suatu standar adalah berkisar antara 90 – 110 % (Mariana, E. et al., 2018). Berdasarkan nilai persen *recovery* yang tersaji pada Tabel 5.3, pengukuran sampel dengan adisi menghasilkan rata-rata persen *recovery* sebesar 94,16%. Dari nilai rata-rata yang diperoleh memenuhi nilai standar *recovery*, hal ini menunjukkan bahwa metode ini memiliki akurasi atau ketepatan yang baik. Nilai rata-rata persentase *recovery* yang belum mencapai 100% ini dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah komposisi dalam kosmetik yang cukup kompleks dan belum terpisahkan saat ekstraksi dengan aquades sehingga senyawa yang bersifat polar ikut terlarut serta mempengaruhi hasil pengukuran. Dari hasil validasi dengan persen *recovery* tersebut dapat diketahui bahwa metode FIA-Spektrofotometri ini dapat digunakan sebagai metode alternatif penentuan hidrokuinon dalam kosmetik. Untuk pengembangan selanjutnya, perlu dilakukan pemisahan secara berkelanjutan untuk benar-benar mendapatkan hidrokuinon dalam suatu sampel tanpa adanya senyawa pengganggu. Selain itu, masih perlu adanya pengembangan lebih lanjut agar metode ini memiliki selektivitas yang lebih baik dan dapat diaplikasikan untuk sampel lain, seperti sampel limbah.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengembangan metode yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

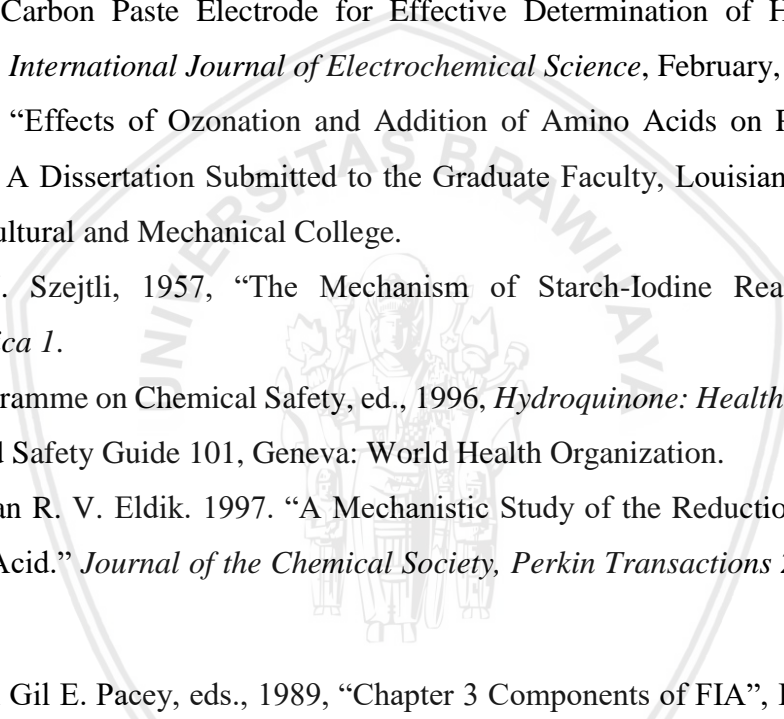
1. Kondisi operasional optimum untuk analisis hidrokuinon dengan metode FIA-Spektrofotometri yaitu volume sampel 100  $\mu$ L, laju alir 2,9 mL/menit, panjang *mixing coil* 50 cm. Sedangkan, untuk kondisi kimiawi konsentrasi iodium 40 mg/L dan konsentrasi amilum 0,05%.
2. Kisaran konsentrasi untuk analisis hidrokuinon dengan metode FIA-Spektrofotometri adalah dari 1 mg/L hingga 15 mg/L dengan nilai koefisien regresi ( $R^2$ ) mencapai 0,9949 serta nilai LOD dan LOQ masing-masing adalah 0,16 mg/L dan 0,53 mg/L.
3. Keberadaan asam askorbat dan resorsinol hingga konsentrasi 0,1 mg/L tidak mengganggu selektivitas yang ditunjukkan dengan nilai persen *recovery* masing - masing 106% dan 109%, namun pada konsentrasi  $\geq 0,5$  mg/L mengganggu selektivitas hasil pengukuran hidrokuinon.
4. Validasi analisis hidrokuinon secara FIA-Spektrofotometri dilakukan pada sampel kosmetik dengan rata-rata nilai persen *recovery* adalah 94,16 % sehingga dapat digunakan sebagai metode alternatif untuk penentuan hidrokuinon.

#### 5.2 Saran

Perlu adanya pengembangan lebih lanjut agar metode ini memiliki selektivitas yang lebih baik dan dapat diaplikasikan untuk sampel lain, seperti sampel limbah.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Aldstadt, J, C. Olson, Duane, K. Wolcott, G. Marshall, dan S. W. Stieg, 2006, "Flow and Sequential Injection Analysis Techniques in Process Analysis."
- Astuti, D.W., H.R. Prasetya, dan D. Irsalina, 2016, "Identifikasi Hidroquinon Pada Krim Pemutih Wajah Yang Dijual Di Minimarket Wilayah Minomartani, Yogyakarta", *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* 2, No.1: 13–19.
- Bichsel, Yves, 2000, "Behavior of Iodine Species in Oxidative Processes during Drinking Water Treatment", Doctoral Thesis, ETH Zurich.
- Boonpo, S., dan K., Sukjit. 2017. "Study on Amylose Iodine Complex from Cassava Starch by Colorimetric Method." *Journal of Advanced Agricultural Technologies* 4 (4): 345–49.
- Cao, S., J.C. Zhong, H. Kiyoshi, dan Hu Wenzhi., 1996, "On-Line Monitoring of Trace Amounts of Copper(II) in Steam Condensate and Boiler Feed-Water by Flow Injection Analysis Based on Its Catalytic Effect on the Oxidation of Hydroquinone by Hydrogen Peroxide", *Analytica Chimica Acta*, 331: 257–62.
- Couteau, C., and L. Coiffard, 2016, "Overview of Skin Whitening Agents: Drugs and Cosmetic Products", *Cosmetics*, 3 (27).
- Davids, L.M., J.V. Wyk, N.P. Khurmalo, dan N.G. Jablonski, 2016, "The Phenomenon of Skin Lightening: Is It Right to Be Light?", *South African Journal of Science* 112, No. 11/12 (July).
- Deisinger, P.J., T.S. Hill, dan J.C. English, 1996, "Human Exposure to Naturally Occurring Hydroquinone", *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 47 (1): 31–46.
- Durairaj, Raj B, 2005, *Resorcinol: Chemistry, Technology and Applications*. Springer Science & Business Media.
- Elferjani, H.S., N.H.S Ahmida, dan A. Ahmida, 2017, "Determination of Hydroquinone in Some Pharmaceutical and Cosmetic Preparations by Spectrophotometric Method", *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 6 (7):2219–24.
- Enguita, Francisco J., dan A.L. Leitão, 2013, "Hydroquinone: Environmental Pollution, Toxicity, and Microbial Answers", *BioMed Research International* 2013.
- Ensafi, A.A., B. Rezaei, dan S. Nouroozi, 2004, "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Nitrite and Nitrate by Flow Injection Analysis", *Analytical Sciences* 20: 1749–53.

- repository.ub.ac.id
- Fahmi, M.I, H. Sulistyarti, A. Mulyasuryani, dan A. Wiryawan, 2019, "Optimization of Flow Injection (FI)-Spectrophotometry for Hydroquinone Analysis", *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research* 8 (1).
- Fatma L., dan R.I.S. Tranggono. 2013. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Gramedia Pustaka Utama.
- Febrianti,S., H. Sulistyarti, dan Atikah, 2013, "Penentuan Kadar Iodida Secara Spektrofotometri Berdasarkan Pembentukan Kompleks Amilum-Iodium Menggunakan Oksidator Iodat", *Kimia.Studentjournal* 1 (February): 50–56.
- H. El-Ads, Ekram, 2018, "Electrochemical Sensor Based on Nano-Perovskite/Ionic Liquid Crystal Modified Carbon Paste Electrode for Effective Determination of Hydroquinone and Catechol", *International Journal of Electrochemical Science*, February, 1452–71.
- Hee,Y. A., 2005, "Effects of Ozonation and Addition of Amino Acids on Properties of Rice Starches", A Dissertation Submitted to the Graduate Faculty, Louisiana state University and Agricultural and Mechanical College.
- Hollo, J., dan J. Szejtli, 1957, "The Mechanism of Starch-Iodine Reaction", *Periodica Polytechnica* 1.
- International Programme on Chemical Safety, ed., 1996, *Hydroquinone: Health and Safety Guide*. Health and Safety Guide 101, Geneva: World Health Organization.
- Isaacs, Neil S., dan R. V. Eldik. 1997. "A Mechanistic Study of the Reduction of Quinones by Ascorbic Acid." *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions* 2, no. 8 (January): 1465–68.
- Karlberg, Bo, dan Gil E. Pacey, eds., 1989, "Chapter 3 Components of FIA", In *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, 10:29–65, Flow Injection Analysis: Elsevier.
- Kabau, Sehat, dan P. Riyanto. 2012. "Hubungan Antara Pemakaian Jenis Kosmetik dengan Kejadian Akne Vulgaris." *Tesis*, Fakultas Kedokteran.
- Kholifa, M., T. Mulyono, dan Y.M. Muflihah, 2018. "Penentuan Magnesium ( $Mg^{2+}$ ) Dan Amonium ( $NH_4^+$ ) Secara Simultan Dengan Analisis Injeksi Alir." *Jurnal Ilmu Dasar* 19 (1).
- Kolthoff, I. M., 1926, "The Titration of Hydroquinone with Iodine or Dichromate According to the Ordinary and the Potentiometric Method", *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas* 45 (10): 745–52.
- 

- repository.ub.ac.id
- Kulkarni, A. A., dan I.S. Vaidya, 2015, "Flow Injection Analysis: An Overview", *Journal of Critical Reviews*, 2 (4): 19–24.
- Mariana, E., E. Cahyono, E.F. Rahayu, dan B. Nurcahyo, 2018. "Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol Dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector." *Indonesian Journal of Chemical Science* 7 (3): 277–84.
- Moulay, Saad, "Molecular Iodine/Polymer Complexes", *J. Polym Eng.* 33(5): 389–443.
- Murdoch, Kenneth A., 1992. "The Amylose-Iodine Complex." *Carbohydrate Research* 233 (September): 161–74.
- Nuryati dan Imam Prasetyo, 2013, "Pembuatan Resin Phenol Formaldehyde Sebagai Prekursor Untuk Preparasi Karbon Berpori: Pengaruh Jenis Turunan Phenol Terhadap Karakteristik Resin Dan Karbon", *Jurnal Rekayasa Proses*, 5 (1): 30–34.
- O'Donoghue, J. L., 2006, "Hydroquinone and Its Analogues in Dermatology - a Risk-Benefit Viewpoint", *Journal of Cosmetic Dermatology* 5 (3): 196–203.
- Osman, H.M., M.E. Shayoub, M.M.E. Ahmed, dan E.M. Babiker, 2015, "Assessment Of Using Cosmetics Containing Hydroquinone Among Sudanese Women", *Journal Of Cosmetics, Dermatological Sciences And Applications* 5 (June): 73–77
- Permata, L.M., 2017, "Uji Selektivitas dan Validitas Teknik Flow Injection Analysis (FIA) untuk Penentuan Merkuri pada Sampel Limbah Berbasis Penurunan Absorbansi Kompleks Iodium-Amilum", Malang, Indonesia: Brawijaya University.
- Qassim, Bushra B, dan H.S, Omaish, 2014, "Development of FIA System for the Spectrophotometric Determination of Hydroquinone in Pure Material and Pharmaceutical Formulations", 12.
- Ranger, Craig B., 1981, "Flow Injection Analysis. Principles, Techniques, Applications, Design." *Analytical Chemistry*, 53 (1): 20A-32A.
- Raymond, K. N., dan M.D. Pluth, 2006, "Reversible Guest Exchange Mechanisms in Supramolecular Host- Guest Assemblies", *Original Research Article Cement and Concrete Research*, 36 (1): 161–71.
- Seliem A.F, dan H.M. Khalil 2013, "Sensitive Spectrophotometric Method for Determination of Hydroquinone in Some Common Cosmetics in Najran Region in K.S.A", *Ultra Chemistry* 9 (2): 221–28.



- Shah, R.S., R.B. Pawar, dan P.P. Gayakar, 2015. "Uv-Visible Spectroscopy-A Review." *International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences* 5 (5): 490–505.
- Stack, Andrew G., C.M. Eggleston, dan M.H. Engelhard, 2004, "Reaction of Hydroquinone with Hematite." *Journal of Colloid and Interface Science* 274 (2): 433–41.
- Sulistiyarti, H., E. Sulisty, S. Sutrisno, dan Z. Rismiarti, 2019, "Metode Spektrofotometri Secara Tidak Langsung untuk Penentuan Merkuri (II) Berdasarkan Pembentukan Kompleks Biru Iodium-Amilum", *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia* 15(1): 149–64.
- Sundaramurthy, S., V. Srivastava, I. Mishra, dan I. Mani, 2011, "Adsorption of Hydroquinone in Aqueous Solution by Granulated Activated Carbon", *Journal of Environmental Engineering-Asce*, 137 : 1145–57.
- Ta, Responsible, dan T. Kikas., "Introduction to Flow Injection Analysis (FIA)", 14
- Triyati, Ety. 1985. "Spektrofotometer Ultra-Violet Dan Sinar Tampak Serta Aplikasinya Dalam Oseanologi." *Oseana X* (1): 9.
- Trojanowicz, Marek, 2008, *Advances in Flow Analysis*, John Wiley & Sons.
- Valcarcel, Miguel. 2012. *Principles of Analytical Chemistry: A Textbook*. Springer Science & Business Media.
- Wang, C., R. Yuan, Y. Chai, dan F. Hu, 2012, "Simultaneous Determination of Hydroquinone, Catechol, Resorcinol and Nitrite Using Gold Nanoparticles Loaded on Poly-3-Amino-5-Mercapto-1,2,4-TriazoleMWNTs Film Modified Electrode", *The Royal Society of Chemistry*, 4: 1626–28.
- Willard, H.H., dan A.L. Wooten, 1950. "Iodometric Determination of Resorcinol | Analytical Chemistry." *Anal. Chem* 22 (4) (April): 585–86.
- Zagatto, Elias A. G., C. C. Oliveira, A. Townshend, dan P.J. Worsfold. 2012. "Chapter 5 - Flow Analysers." In *Flow Analysis with Spectrophotometric and Luminometric Detection*, edited by Elias A. G. Zagatto, Cláudio C. Oliveira, Alan Townshend, and Paul J. Worsfold, 147–203. Amsterdam: Elsevier.