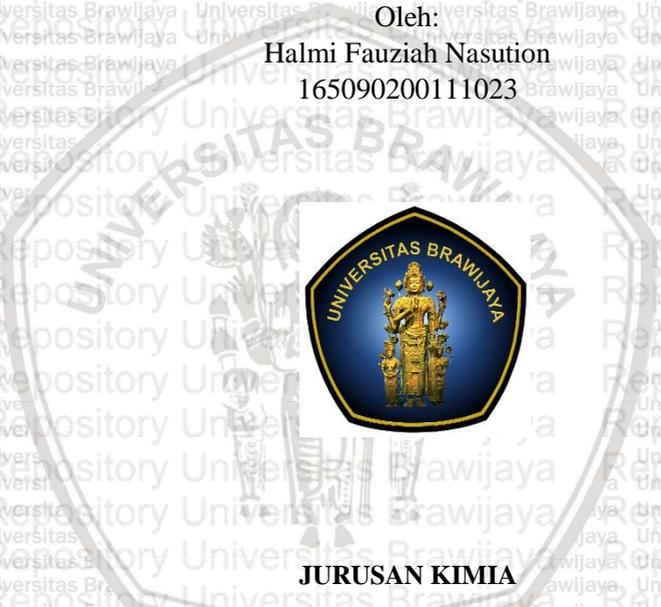




Penentuan Kadar Hidrokuinon pada Krim Pemutih Wajah Menggunakan Teknik μ PAD (*Microfluidic Paper-based Analytical Device*) Berdasarkan Pembentukan Kompleks Besi(II)-Fenantrolin

SKRIPSI

Oleh:
Halmi Fauziah Nasution
165090200111023



JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

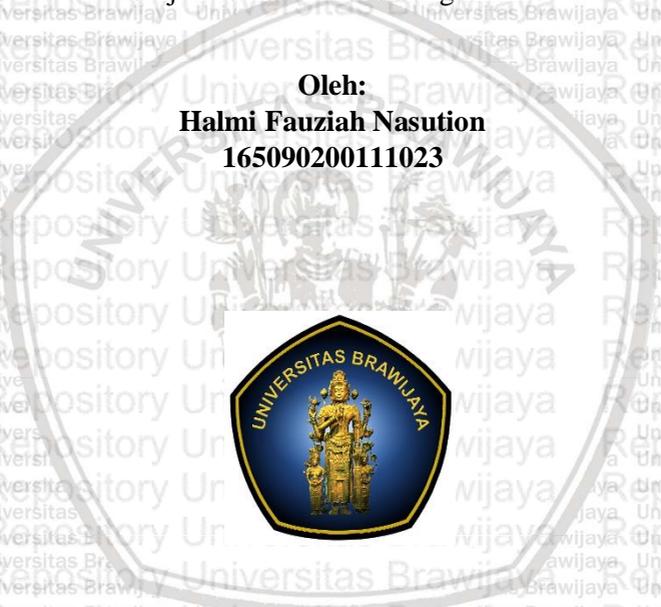
2020

Penentuan Kadar Hidrokuinon pada Krim Pemutih Wajah Menggunakan Teknik μ PAD (Microfluidic Paper-based Analytical Device) Berdasarkan Pembentukan Kompleks Besi(II)-Fenantrolin

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Oleh:
Halmi Fauziah Nasution
165090200111023



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG

2020

LEMBAR PENGESAHAN

Penentuan Kadar Hidrokuinon pada Krim Pemutih Wajah Menggunakan Teknik μ PAD (*Microfluidic Paper-based Analytical Device*) Berdasarkan Pembentukan Kompleks Besi(II)-Fenantrolin

Oleh:

Halmi Fauziah Nasution

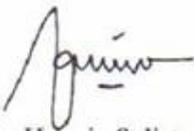
165090200111023

Setelah diseminarkan di depan Majelis Penguji

Pada tanggal 1 juli 2020

Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I



Dr. Hermin Sulistyarti

NIP. 196405291988022001

Pembimbing II



Akhmad Sabarudin, Dr.Sc

NIP. 197404181997021001



Mengetahui

Ketua Jurusan Kimia

Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Masruri, S.Si, M.Si, Ph.D

NIP. 197310202002121001

LEMBARAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Halmi Fauziah Nasution

Nim : 165090200111023

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

Penentuan Kadar Hidrokuinon pada Krim

Pemutih Wajah Menggunakan Teknik μ PAD

(Microfluidic Paper-based Analytical Device)

Berdasarkan Pembentukan Kompleks Besi(II)-

Fenantrolin

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termasuk di isi dan tertulis pada daftar pustaka dalam skripsi ini
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya bersedia menanggung segala resiko yang harus saya terima

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juni 2020

Yang menyatakan,



(Halmi Fauziah Nasution)

NIM.165090200111023

Penentuan Kadar Hidrokuinon pada Krim Pemutih Wajah Menggunakan Teknik μ PAD (*Microfluidic Paper-based Analytical Device*) Berdasarkan Pembentukan Kompleks Besi(II)-Fenantrolin

ABSTRAK

Metode *Microfluidic Paper-Based Analytical Device* (μ PAD) pada penelitian ini adalah metode yang digunakan untuk menganalisa hidrokuinon di dalam produk kosmetik pemutih wajah. Sistem ini dibuat melalui pencetakan area hidrofobik pada kertas *Whattmann* no.1 dengan teknik *wax printing*. Penghalang hidrofobik yang dicetak berbentuk bulat berfungsi untuk mengontrol aliran fluida, sehingga zona reaksi dan zona deteksi berada pada satu area hidrofilik yang sama. Prinsip penelitian didasarkan pada hidrokuinon sebagai agen pereduksi yang mampu mengubah bilangan oksidasi Fe(III) menjadi Fe(II) dalam sistem redoks. Fe(II) yang terbentuk akan bereaksi dengan fenantrolin membentuk senyawa kompleks yaitu Fe(II)-fenantrolin yang berwarna merah-jingga. Metode deteksi yang digunakan adalah kolorimetri yang diukur menggunakan analisis *image color* yaitu *imageJ*. Penelitian ini perlu, menentukan kondisi konsentrasi optimum fenantrolin, waktu optimum pembentukan kompleks Fe(II)-fenantrolin, serta uji validitas dan selektifitas. Hasil yang diperoleh adalah konsentrasi optimum fenantrolin adalah 0,1% . Waktu optimum pembentukan kompleks Fe(II)-fenantrolin pada waktu 5 menit dan waktu maksimum 20 menit. Kurva baku standar hidrokuinon memiliki persamaan regresi $y = -880,73x + 242376$ dengan $R^2 \geq 0,9979$. Presisi kurva baku standar hidrokuinon memiliki nilai %RSD 0,4-2,3%.

Kata kunci : μ PAD, Hidrokuinon, Redoks, Kompleks besi(II)-fenantrolin, *imageJ*



Determination Of Hydroquinone In Facial Whitening Cream Using μ PAD (Microfluidic Paper-based Analytical Device) Based On The Formation of Iron(II)-Phenanthroline Complex

ABSTRACT

Microfluidic Paper-Based Analytical Device (μ PAD) method in this research was developed for analyzing hydroquinone in facial whitening cosmetic products. This system was created by printing hydrophobic areas on Whattmann paper number 1 with wax printing techniques. The hydrophobic barrier which is printed in a round shape functions to control the flow of fluid, so that the reaction zone and the detection zone are in the same hydrophilic area. The principle of this research is based on hydroquinone as a reducing agent that is able to change the oxidation number of Fe (III) to Fe(II) in the redox system. Fe(II) which is formed will react with phenanthroline to form a complex compound that is Fe(II)-phenanthroline which is red-orange. The detection method used is colorimetry measured using image color analysis, imageJ. This research is necessary, to determine the conditions of the optimum concentration of phenanthroline, the optimum time of the formation of Fe (II)-phenanthroline complex, the validity and selectivity tests. The results obtained are the optimum concentration of phenanthroline is 0.1%. The optimum time for the formation of Fe(II)-phenanthroline complex is 5 minutes and maximum time is 20 minutes. The hydroquinone standard curve has a regression equation $y = -880.73x + 242376$ with $R^2 \geq 0.9979$. Precision results for a standard hydroquinone curve is 0.4-2.3%.

Key World : μ PAD, Hydroquinone, Redox, Fe(II)-phenanthroline complex, imageJ.

Laboratorium Kimia Analitik atas dukungan, motivasi, kerjasama, ilmu dan bantuannya.

7. Puspita Mufidah Sari, dan Kurnia Hidayatulloh A, selaku kakak tingkat yang memberikan ilmu, motivasi dan batuan kepada penulis.

8. Paradhita Ayu Puspita Loka, Marda Ahsany dan teman-teman kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya angkatan 2016 khususnya kelas B yang telah membantu dan mendukung penulis selama proses perkuliahan

9. Seluruh pihak yang telah memberikan kontribusi, motivasi, doa dan bantuannya kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, Penulis memohon maaf apabila terdapat kesalahan, dan menerima kritik serta saran untuk penulisan yang lebih baik. Penulis berharap skripsi ini bermanfaat untuk pembaca khususnya, Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya.

Malang, Juni 2020

Penulis





DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBARAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Batasan Masalah	4
1.4. Tujuan penelitian	4
1.5. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Kosmetik	6
2.1.1 Krim Pemutih Wajah	7
2.2 Hidrokuinon	8
2.2.1 Sifat-Sifat Hidrokuinon	8
2.2.2 Aplikasi Hidrokuinon	10
2.2.3 Bahaya Hidrokuinon	10
2.2.4 Analisis Hidrokuinon	11

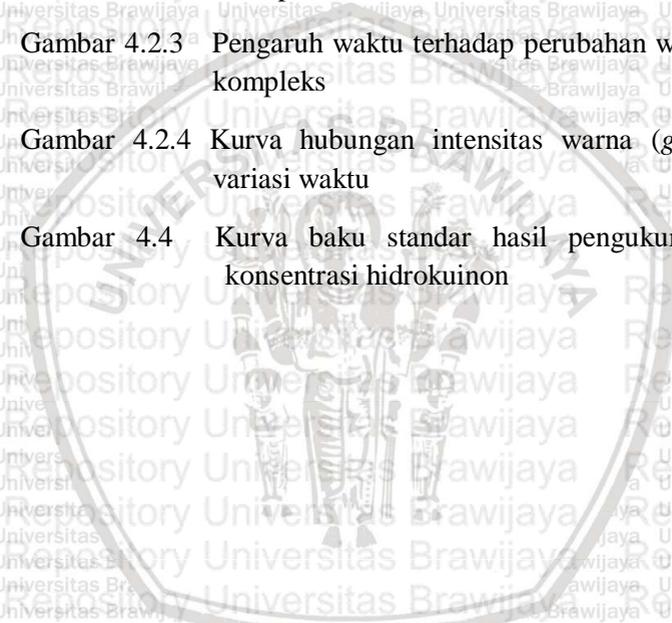
2.3 Reaksi Redoks Hidrokuinon dan Besi	13
2.4 Kompleks Besi dan Fenantrolin	15
2.5 Senyawa pengganggu	17
2.6 Microfluida Paper-based Analytical Device (μPAD)	18
2.6.1 Kertas μPAD	19
2.6.2 Teknik Pembuatan μPAD	20
2.7 ImageJ	22
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2 Alat dan Bahan	23
3.2.1 Alat	23
3.2.2 Bahan	23
3.3 Tahapan Penelitian	23
3.4 Prosedur Penelitian	24
3.4.1 Preparasi Larutan	24
3.4.2 Pembuatan μPADs	26
3.4.3. Prosedur Kerja Metode μPAD	26
3.4.4 Optimasi Konsentrasi Fenantrolin	27
3.4.5 Optimasi Waktu Reaksi	27
3.4.6 Uji Selektifitas	27
3.4.7 Pembuatan Kurva Baku Hidrokuinon	28
3.4.8 Preparasi Larutan Sampel Krim Pemutih Wajah	28
3.4.9 Penentuan Konsentrasi Hidrokuinon dalam sampel krim pemutih wajah	28
3.4.10 Analisis Data	29

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Penentuan Konsentrasi Optimum Fenantrolin	32
4.2 Optimasi waktu pembentukkan kompleks	37
4.3. Uji Selektifitas	40
4.3.1 Pengaruh Asam Askorbat	40
4.3.2 Pengaruh Niasinamida	41
4.4. Penentuan Kisaran Hidrokuinon di dalam sampel	42
4.5 Validitas Metode	44
4.5.1 Uji Linieritas	44
4.5.2 Presisi (Ketelitian)	45
4.5.3 Akurasi (Ketepatan)	45
4.5.4 LOD dan LOQ	46
BAB V PENUTUP	47
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.1	Krim untuk pencerah kulit	8
Gambar 2.2.1	Struktur Hidrokuinon	9
Gambar 2.2.2	Reaksi hidrokuinon di dalam air membentuk ion difenolat	9
Gambar 2.2.3	Okronosis eksogen yang di akibatkan oleh pemakaian krim pemutih	11
Gambar 2.3.1	Reaksi Reduksi Besi Setengah Sel	13
Gambar 2.3.2	Reduksi kuinon pada larutan buffer pH asam	14
Gambar 2.3.3	Reduksi kuinon pada larutan buffer pH basa	14
Gambar 2.3.4	Skema reaksi redoks hidrokuinon dan besi(III)	14
Gambar 2.4.1	Transisi spin dalam kompleks besi (II)	15
Gambar 2.4.2	Hibridisasi kompleks Fe(II)-fenantrolin	16
Gambar 2.4.3	Pembentukan kompleks besi(II)-fenantrolin	17
Gambar 2.5.1	Reaksi redoks asam askorbat dan asam dehidroaskorbat	18
Gambar 2.5.2	Struktur senyawa Niasinamida	18
Gambar 2.6.2	Pembuatan Pembatas Hidrofobik Sebelum dan Setelah Penetrasi	21
Gambar 2.6.3	Proses Deteksi Analit Menggunakan Teknik μ PAD dengan Software	22
Gambar 3.2.1	Desain PAD dengan CorelDraw X7	26
Gambar 4.1.1	Pengaruh perubahan warna akibat variasi konsentrasi fenantrolin	33

Gambar 4.1.2	Kurva hubungan intensitas warna (<i>green</i> dan <i>blue</i>) dengan variasi konsentrasi fenantrolin	34
Gambar 4.1.3	Kurva pengaruh fenantrolin terhadap liniaritas hubungan intensitas warna (<i>green</i> dan <i>blue</i>) terhadap konsentrasi hidrokuinon standar	35
Gambar 4.2.1	Proses Oksidasi Hidrokuinon pada pH asam	37
Gambar 4.2.2	Prinsip Reaksi	38
Gambar 4.2.3	Pengaruh waktu terhadap perubahan warna senyawa kompleks	39
Gambar 4.2.4	Kurva hubungan intensitas warna (<i>green</i>) dengan variasi waktu	40
Gambar 4.4	Kurva baku standar hasil pengukuran sederetan konsentrasi hidrokuinon	43



DAFTAR TABEL

Tabel 4.5.2	Hasil Pengukuran %RSD konsentrasi HQ standar tanpa sampel	45
Tabel C.2	Pembuatan Variasi Larutan Fenantrolin	60
Tabel C.3	Pembuatan Variasi Konsentrasi HQ standar	62
Tabel D.1.1.1	Hubungan Variasi Konsentrasi Fenantrolin Terhadap Intensitas Warna (Indeks Warna <i>Green</i>)	63
Tabel D.1.2	Data Hasil Pengukuran Intensitas <i>Green</i> Terhadap Variasi Konsentrasi Fenantrolin	64
Tabel D.1.2.1	Hasil Pengukuran Intensitas <i>Green</i> HQ Pada Kondisi Variasi Konsentrasi Fenantrolin	65
Tabel D.1.2.2	Hasil Pengukuran Intensitas <i>Blue</i> HQ Pada Kondisi Variasi Konsentrasi Fenantrolin	68
Tabel D.2.1	Hubungan Waktu dengan Intensitas Warna Hasil Pengukuran	70
Tabel D.2.2	Hasil Pengukuran Intensitas Terhadap Waktu	71
Tabel D.3.1	Hubungan Intensitas dengan Sederetan Konsentrasi Hidrokuinon	72
Tabel D.3.2	Hasil Pengukuran Intensitas Warna Terhadap Sederetan Konsentrasi HQ	72
Tabel D.4	Nilai SD dan %RSD	73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	Tahapan Penelitian	55
Lampiran B	Prosedur Kerja	56
B. 1	Prosedur pembuatan larutan Fe(II)	56
B. 2	Pembuatan Larutan Stok Fenantrolin 0,5%	57
B. 3	Pembuatan Larutan Stok Hidrokuinon	57
B. 4	Pembuatan Larutan Stok Asam Askorbat 100 ppm	58
B. 5	Pembuatan Larutan Stok Niasinamida 100 ppm	58
Lampiran C	Perhitungan Pembuatan Larutan	59
C. 1	Perhitungan Larutan Fe(II) 100 ppm	59
C. 2	Perhitungan Pembuatan Larutan Fenantrolin 0,5%	59
C. 3	Perhitungan Pembuatan Larutan Hidrokuinon	61
C. 4	Larutan Stok Asam Askorbat 100 ppm	62
C. 5	Larutan Stok Niasinamida 100 ppm	63
Lampiran D	Data Hasil Penelitian	63
D. 1	Data Hasil Penentuan Konsentrasi Optimum Fenantrolin	63
D.2	Data Hasil Penentuan Waktu Optimum	70
D.3	Data Hasil Penentuan Kurva Baku Standar Hidrokuinon	71
D.4	Perhitungan SD dan RSD Kurva Baku Standar	73
D.5	Hasil Dokumentasi Perubahan Warna Pada Penentuan Waktu Optimum	74

DAFTAR ISTILAH

Simbol/Singkatan

Keterangan

μPAD

Microfluidic paper analytical device

HQ

Hidrokuinon

mg

Satuan massa (milligram)

g

Satuan massa (gram)

ppm

Satuan konsentrasi (part per million)

FIA

Flow injection analysis

FeCl₃

Besi(II) klorida

HCl

Asam klorida

Uv-Vis

ultraviolet-Visibel

mL

Satuan volume (milliliter)

L

Satuan volume (liter)

M

molaritas

Redoks

Reduksi-Oksidasi

Biloks

Bilangan Oksidasi

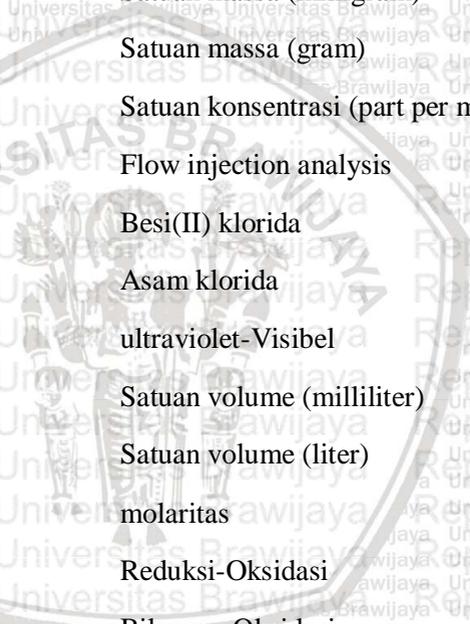
RGB

Red, Green, Blue

Phenan

Fenantrolin

XVI



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini, Penggunaan berbagai jenis kosmetik telah meningkat pesat terutama dikalangan wanita. Banyak kaum wanita yang mengidamkan kulit yang sehat, putih dan cerah khususnya kulit wajah tanpa noda hitam. Adanya berbagai produk kosmetik diharapkan memberikan efek untuk memutihkan kulit wajah. Terdapat berbagai bentuk kosmetik seperti krim, cairan, serbuk dan suspensi yang ditujukan untuk digunakan pada bagian luar tubuh[1].

Produk kosmetik yang umum ditemukan adalah dalam bentuk sediaan krim. Hal ini karena, krim memiliki beberapa kelebihan seperti cara pemakaian yang sederhana dan tidak rumit pada area tubuh bagian luar[2]. Selain itu, tidak menempel secara permanen pada kulit setelah penggunaan, dapat digunakan pada seluruh bagian kulit, serta tidak terjadi pengumpulan di bagian kulit tertentu[3]. Krim adalah produk kosmetik berbentuk semi padat yang terbentuk karena sistem emulsi antara dua zat yang tidak saling bercampur, zat yang satu terurai menjadi butir-butir kecil dalam zat lainnya[4]. Contoh produk kosmetik berupa krim yang sering ditemukan dan banyak digunakan oleh kaum wanita adalah krim pemutih wajah.

Krim pemutih wajah menjadi salah satu produk kosmetik yang populer dikalangan masyarakat khususnya wanita. Produk kosmetik ini sangat diminati karena mampu memberikan solusi untuk mengatasi masalah kulit wajah seperti kulit gelap ataupun hiperpigmentasi[5]. Disamping itu, banyak produsen yang menawarkan dengan harga yang terjangkau serta proses kerja produk kosmetik ini tidak membutuhkan waktu yang lama untuk menghasilkan kulit yang putih[6]. Krim ini bekerja secara cepat, disebabkan oleh penambahan zat kimia tertentu seperti hidrokuinon yang berfungsi untuk membatasi aktivitas melanin yang menyebabkan kulit menjadi gelap. Sehingga, pemakaian krim pemutih secara terus menerus akan mencerahkan kulit dan mengatasi masalah kulit seperti hiperpigmentasi[7].

Kemampuan hidrokuinon dalam mencegah pembentukan kulit gelap menjadikan senyawa ini sering ditambahkan sebagai bahan tambahan pada krim pemutih terutama krim pemutih wajah[7, 8]. Hidrokuinon yang terdapat di dalam krim, berperan sebagai inhibitor yang merusak kerja enzim tironase untuk menghasilkan pigmen melanin pada kulit. Akibatnya, senyawa ini menyebabkan kerusakan pada jaringan kulit dan bersifat karsiogenik[7]. Hidrokuinon telah dimasukkan sebagai kelompok obat keras dan berbahaya[6, 7]. Oleh karena itu, pemakaian hidrokuinon yang terus menerus dapat menyebabkan berbagai dampak buruk bagi kesehatan. Kelainan pada kulit seperti iritasi, rasa terbakar pada kulit dan penyebab kanker adalah beberapa dampak dari penggunaan hidrokuinon > 2%. Sedangkan dampak lainnya berupa hilangnya pigmen kulit yang di kenal dengan istilah leukodermakontak adalah akibat penggunaan hidrokuinon < 2% dalam rentang waktu yang lama. Akibat bahaya yang ditimbulkan oleh senyawa inilah yang menjadi dasar larangan penggunaan atau penambahan hidrokuinon di dalam sediaan kosmetik di Indonesia[7, 9]. Akan tetapi, ketidaktahuan masyarakat akan bahaya hidrokuinon, menyebabkan produsen masih menambahkan hidrokuinon ke dalam krim pemutih[6, 7]. Maka dari itu, perlu dilakukan analisis hidrokuinon di dalam sediaan krim pemutih wajah.

Berbagai metode telah dikembangkan untuk menganalisa kadar hidrokuinon di dalam sediaan krim pemutih wajah. Metode-Metode yang telah umum digunakan anatara lain adalah kromatografi lapis tipis, spektrofotometri UV-Vis, kromatografi cair kinerja tinggi, analisa volumetrik, dan kolorimetri[6–10]. Metode-metode tersebut diketahui memberikan hasil yang baik dalam analisis hidrokuinon. Namun, perlu dilakukan pengembangan metode lain untuk mengurangi penggunaan volume reagen, limbah serta biaya yang lebih rendah, seperti metode μ PAD (Microfluidic Paper-based Analytical Device).

Microfluidic Paper-based Analytical Devices merupakan metode yang didasarkan pada pemanfaatan sifat hidrofilik kertas dan pembatas hidrofobik yang di desain pada kertas[11]. Metode ini sesuai untuk negara berkembang karena beberapa keuntungan yang

dapat diperoleh seperti murah, cepat, sederhana dan penggunaan volume reagen yang kecil[11, 12]. Teknik ini telah dimanfaatkan untuk analisa Protein, logam berat dan obat-obatan[11]. Pendekatan kolorimetri adalah teknik yang paling sering dan umum digunakan untuk mendeteksi analit pada teknik μ PAD. Akan tetapi, pendekatan melalui sifat elektrokimia, penyerapan atau emisi cahaya dapat digunakan juga sebagai metode deteksi pada μ PAD[13].

Penentuan hidrokuinon yang memanfaatkan reaksi redoks menggunakan metode *flow- injection analysis* pada krim pemutih telah dilakukan oleh (Albhibhani dkk, 2019). Penelitian tersebut melaporkan bahwa hidrokuinon bertindak sebagai agen pereduksi yang mengubah besi (III) menjadi besi (II). Pada tahap selanjutnya, besi(II) dapat membentuk kompleks dengan fenantrolin berwarna merah jingga. Kompleks inilah yang akan diukur pada panjang gelombang 510 nm[14]. Diketahui bahwa pada rentang pH 2-9, menghasilkan senyawa kompleks yang sangat stabil[15]. Oleh karena itu, Analisis hidrokuinon berdasarkan reaksi redoks dan pembentukan kompleks besi(II)-fenantrolin dapat aplikasikan dan dikembangkan menggunakan teknik μ PAD.

Uraian diatas menjadi latar belakang penelitian ini dalam mengkaji kadar hidrokuinon dalam krim pemutih wajah menggunakan teknik μ PAD. Penentuan ini berdasarkan banyaknya Fe(III) yang direduksi oleh hidrokuinon. Selanjutnya, Fe(II) direaksikan dengan fenantrolin membentuk senyawa kompleks berwarna merah-jingga yang stabil dan di ukur menggunakan program imageJ melalui pendekatan kolorimetri.

1.2. Rumusan Masalah

Mengacu pada latar belakang yang telah di uraikan di atas, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Berapa konsentrasi fenantrolin yang dibutuhkan untuk menentukan kadar hidrokuinon di dalam sampel krim pemutih wajah dengan teknik μ PAD ?

2. Berapa waktu optimum yang dibutuhkan untuk pembentukan senyawa kompleks Fe(II)-fenantrolin sebelum pengukuran nilai RGB menggunakan program imageJ ?
3. Bagaimana selektivitas dan validitas metode μ PAD untuk penentuan hidrokuinon dalam sampel pemutih wajah berdasarkan reaksi Fe(II)-fenantrolin?

1.3. Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah sampel pemutih wajah dalam bentuk krim
2. Konsentrasi Fe(III) yang digunakan adalah 100 ppm
3. Variasi konsentrasi fenantrolin yaitu 0,1% ; 0,2% ;0,3% ; 0,4% dan 0,5%
4. Variasi konsentrasi hidrokuinon yang digunakan adalah 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm
5. Desain μ PADs (*MikroFluidic Paper-based Analytical Devices*) yang digunakan adalah desain berbentuk bulat dengan diameter 5 mm
6. Waktu reaksi adalah 5, 10, 15, dan 20 menit
7. Konsentrasi asam askorbat dan niasinamida 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm

1.4. Tujuan penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut ;

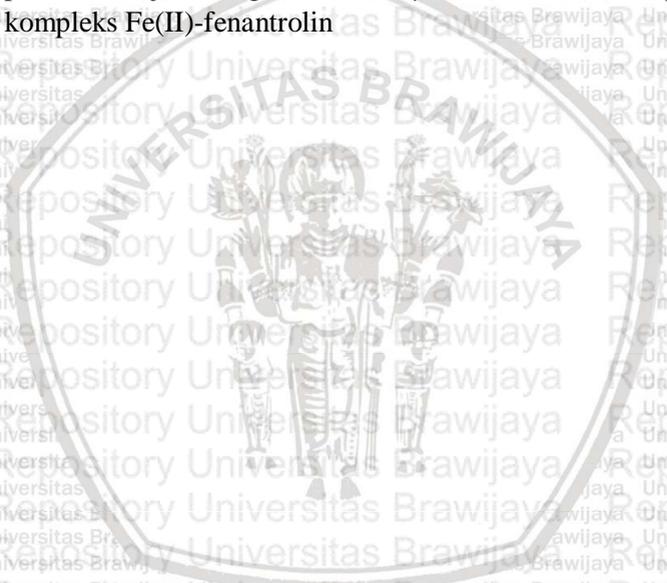
1. Menentukan konsentrasi optimum fenantrolin untuk penentuan kadar hidrokuinon berdasarkan reaksi pembentukan kompleks Fe(II)-fenantrolin dengan teknik μ PAD
2. Menentukan waktu optimum yang dibutuhkan untuk reaksi pembentukan kompleks Fe(II)-fenantrolin sebelum dilakukan analisis menggunakan program imageJ



3. Mempelajari selektivitas dan validitas metode μ PAD berdasarkan pembentukan kompleks Fe(II)-fenantrolin dalam menentukan konsentrasi hidrokuinon dalam krim pemutih wajah

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah mengetahui metode lain yang lebih efisien, sederhana, mudah, cepat dan akurat yang digunakan dalam menentukan kadar hidrokuinon yang terdapat pada krim pemutih wajah dengan metode μ PAD berdasarkan pembentukan kompleks Fe(II)-fenantrolin



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kosmetik

Kosmetik merupakan berbagai bentuk produk kecantikan. Komponen yang memberikan manfaat untuk meningkatkan atau memperbaiki penampilan tubuh, memberikan wangi tertentu serta membersihkan tubuh dan digunakan pada bagian luar tubuh seperti rambut, kuku, organ genital, kulit, gigi, dan membran mukosa mulut adalah definisi dari kosmetik. Pada umumnya, campuran bahan kimia adalah bahan dasar pembuatan produk kosmetik yang digunakan langsung pada kulit[1, 16]. Menyembuhkan dan merawat kulit adalah salah satu dari manfaat kosmetik lainnya[17]. Produk yang sering digunakan seperti kondisioner, lipstick, pasta gigi, parfum, pewarna rambut, pewarna kuku, deodoran dan lain-lain merupakan bagian dari produk kosmetik[18].

Kosmetik dapat diklasifikasikan menjadi dua berdasarkan kegunaannya, yaitu kosmetik sebagai riasan (*make up*) dan perawatan kulit (*skin care*). *Make up* dikenal sebagai jenis kosmetik yang berfungsi memberikan nilai estetika untuk meningkatkan penampilan terutama pada kulit wajah[19]. Contoh *make up* antara lain *eye liner*, perona pipi, maskara, pensil alis dan lain-lain. Produk-produk *make up* tersebut biasa digunakan sebagai riasan yang mempercantik wajah dengan masing-masing fungsinya[16]. Sedangkan, Kosmetik *skin care* didefinisikan sebagai kosmetik yang digunakan untuk merawat, memperbaiki dan meningkatkan kualitas bagian luar tubuh baik dari segi aroma ataupun penampilan. *Skin care* ini dapat berupa kosmetik berbahan alami ataupun sintesis yang digunakan dengan cara seperti dioleskan, ditaburkan atau disemprotkan pada bagian tubuh[18, 19]. Melembabkan wajah dan kulit dengan menggunakan krim atau lotion termasuk dari fungsi *skin care*. Selain itu, melindungi kulit dari sinar UV menggunakan *sunscreen* dan mengatasi masalah kulit seperti jerawat, kerutan, lingkaran hitam di bawah mata, dan lain-lain dengan produk kosmetik adalah manfaat *skin care* lainnya[16]. Produk anti penuaan, anti kerut, dan anti jerawat merupakan contoh-contoh produk

skin care[20]. Selain itu, produk sunscreen, *body lotion* Serta krim pemutih juga kelompok produk *skin care* yang banyak digunakan oleh masyarakat[6].

Kosmetik dapat dibedakan juga berdasarkan bentuk, diantaranya cairan, bubuk, krim emulsi atau krim anhidrat, padatan berupa stik, serbuk, dan suspensi. Namun, kosmetik berbentuk krim lebih banyak digunakan terutama untuk perawatan tubuh tertentu seperti kulit[1, 16]. Keuntungan dalam penggunaan kosmetik berupa sediaan krim menjadikan sediaan ini lebih banyak digunakan. Krim memiliki beberapa kelebihan seperti cara pemakaian yang sederhana dan tidak rumit pada area tubuh bagian luar[2]. Selain itu, tidak menempel secara permanen pada kulit setelah penggunaan, dapat digunakan pada seluruh bagian kulit, serta tidak terjadi pengumpulan di bagian kulit tertentu[3].

2.1.1 Krim Pemutih Wajah

Kulit adalah bagian penting dari tubuh. Kulit bisa menjadi tolak ukur kesehatan tubuh atau meningkatkan rasa percaya diri, terutama di kalangan wanita. Kebanyakan wanita berharap untuk memiliki kulit putih, cerah, dan tanpa ada masalah, Khususnya kulit wajah. Usaha yang dilakukan adalah menggunakan krim untuk kulit. Contoh produk krim yang banyak digunakan adalah krim pemutih wajah[1].

Krim pemutih wajah termasuk dalam jenis-jenis produk *skin care*. Produk pemutih wajah adalah sediaan kosmetik baik sintesis ataupun alami yang mampu memutihkan kulit akibat adanya suatu zat aktif yang menghambat kerja pigmen melanin pada lapisan kulit[6, 8]. Oleh karena itu, tujuan penggunaan krim ini adalah untuk mengatasi kulit gelap. Disamping itu, produk pencerah ini juga sebagai solusi untuk mengatasi masalah hiperpigmentasi[8]. Kemampuan krim ini untuk mengatasi masalah tersebut dikarenakan oleh kandungan-kandungan bahan aktif yang menjadi komponen dasar pembentuk krim pemutih wajah.

Komponen-komponen penyusun kosmetik terdiri atas senyawa-senyawa kimia. Selain itu, terdapat bahan kimia tambahan yang berfungsi sebagai bahan aktif yang mempercepat kerja krim pemutih. Bahan kimia yang ditambahkan ada yang berasal dari alam seperti *kojic acid*, *licorice*, *bearberry*, *arbutin*, *paper melburry*, *kedelai*, *ascorbic acid*, *melatonin*, *glycolic acid*, *aleosin*, *niacinamide*, *azelaic acid*, dan asam retinoid. Selain itu, hidrokuinon dan turunannya, merkuri, kortikosteroid dan retinoid juga menjadi bahan tambahan pada krim pemutih[5, 10, 21]. Pada krim pemutih, merkuri anorganik berpotensi untuk memucatkan warna kulit dengan konsentrasi 1-10% di dalam sediaan krim. Sedangkan, hidrokuinon berfungsi untuk mengatasi masalah kulit gelap dengan cara mengelupas kulit sehingga aktifitas melanin akan terhambat[10].



Gambar 2.1.1 Krim untuk pencerah kulit[16]

2.2 Hidrokuinon

2.2.1 Sifat-Sifat Hidrokuinon

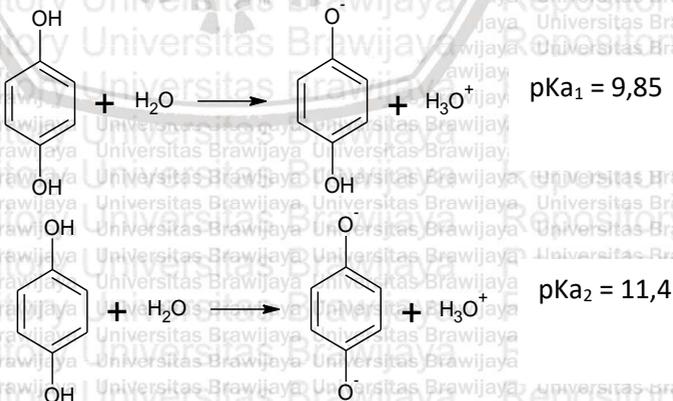
Hidrokuinon adalah turunan benzen yang memiliki dua gugus -OH pada posisi *para* yang termasuk dalam senyawa organik aromatis golongan fenol dengan rumus kimia $C_6H_4(OH)_2$ [11,26]. Hidrokuinon ini banyak terdapat pada makanan dan terbentuk secara alami. Arbutin adalah konjugat glukosa yang terdapat pada tanaman tertentu yang dimanfaatkan sebagai bahan makanan. Pada lambung, Hidrokuinon akan dihasilkan dari proses hidrolisis makanan yang mengandung arbutin dan akan diserap oleh sistem pencernaan[20]. Contoh bahan makanan yang mengandung hidrokuinon antara lain daun dan kulit

buah *blueberry* dan *cranberry*, daun teh, biji kopi tertentu, buah-buahan, sayur-sayuran, gandum, buah pir, bawang, *bir* dan *wine*[20, 22].



Gambar 2.2.1 Struktur Hidrokuinon[22]

Hidrokuinon memiliki beberapa nama lain yaitu *Dihydroxybenzene*, *1,4-benzenediol*, *1,4 dihydroxybenzene*, dan *p-benzenediol*. Senyawa ini memiliki berat molekul sebesar 110,11 g/mol dengan titik leleh sebesar 173°-174°C dan titik didih sebesar 286°-287°C pada tekanan 101,3 kPa. Hidrokuinon merupakan kristal *putih* yang dapat larut dalam air, methanol, dan eter. Zat ini mudah teroksidasi apabila terpapar cahaya dan udara sehingga akan berubah menjadi Kristal yang berwarna lebih gelap[20]. Hidrokuinon yang bereaksi dengan air memiliki $pK_{a1} = 9,85$ dan $pK_{a2} = 11,4$ seperti pada gambar 2.2.2[23].



Gambar 2.2.2 Reaksi hidrokuinon di dalam air membentuk ion difenolat[23]

2.2.2 Aplikasi Hidrokuinon

Hidrokuinon telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Hal tersebut, karena peran hidrokuinon sebagai agen pereduksi. Contoh aplikasi hidrokuinon antara lain pada bidang fotografi, industri pelapisan sebagai zat penstabil pada cat, minyak pernis, dan bahan bakar motor, zat pewarna intermediet, pada bidang industri makanan dan karet berfungsi sebagai antioksidan, sebagai kimia antara untuk menghasilkan antioksidan, agrokimia dan polimer. Selain itu, telah digunakan juga pada bidang kosmetik dan produk kesehatan. Pewarna kuku dan rambut adalah salah satu contoh aplikasi hidrokuinon pada bidang kosmetik[20, 22]. Hidrokuinon juga dimanfaatkan untuk produk pencerah kulit[20, 22, 24].

Aplikasi hidrokuinon pada produk pencerah kulit adalah sebagai zat aktif, yang mampu mengatasi masalah hiperpigmentasi seperti melasma[7, 24]. Melasma adalah suatu kelainan kulit yang ditandai dengan munculnya bercak coklat atau abu-abu karena produksi melanin yang meningkat pada lapisan epidermis, biasanya terjadi di area kulit wajah dan leher[25]. Melanin terbentuk di dalam melanosom melalui proses konversi asam L-tirosin menjadi dopakuinon oleh enzim tironase. Melalui penghambatan aktivitas enzim tironase secara langsung adalah salah satu cara untuk menghalangi pembentukan melanin[9]. Penggunaan produk pencerah kulit adalah cara untuk menghalangi kerja enzim tironase secara langsung. Hal ini karena, pada krim pencerah kulit seringkali ditambahkan zat aktif seperti hidrokuinon[8]. Pada melanogenesis, hidrokuinon merupakan senyawa inhibitor[24]. Sehingga hidrokuinon akan merusak kerja enzim tironase untuk tidak menghasilkan melanin pada lapisan epidermis kulit.

2.2.3 Bahaya Hidrokuinon

Kemampuan hidrokuinon sebagai zat pemutih pada krim pencerah kulit, ternyata memiliki efek samping yang berbahaya bagi tubuh. Diketahui bahwa kelainan kulit seperti melasma, hiperpigmentasi yang dipicu oleh kehamilan, letingin dan vitiligo dapat diobati dengan penggunaan hidrokuinon[21]. Namun,

pemakaian hidrokuinon yang tidak sesuai aturan dan tanpa kontrol dokter serta terus menerus memberikan efek berbahaya bagi tubuh[7].

Bahaya hidrokuinon dapat ditandai dengan beberapa gejala ringan hingga berat. Efek yang ditimbulkan antara lain alergi dan dermatitis[26]. Selain itu, bisa menyebabkan okronosis eksogen[10, 21, 26]. Okronosis adalah kelainan kulit yang ditandai dengan rasa gatal dan panas serta muncul bintil yang berwarna coklat kebiruan seperti pasir[10]. Dampak yang lebih berat menimbulkan kerusakan ginjal dan hati, keracunan darah, mual, sakit perut, kejang hingga koma[22]. Hidrokuinon adalah zat toksik yang bersifat karsinogenik[20].



Gambar 2.2.3 Okronosis eksogen yang di akibatkan oleh pemakaian krim pemutih[21].

2.2.4 Analisis Hidrokuinon

Metode analisis untuk penentuan hidrokuinon telah banyak dikembangkan diantaranya adalah kromatografi lapis tipis, spektrofotometri UV-Vis, kromatografi cair kinerja tinggi, analisa volumetrik, kolorimetri, elektrometri dan GC/MS[6–10]. Metode yang paling umum dan sering digunakan adalah metode spektrofotometri.

Penelitian Analisis hidrokuinon secara spektrofotometri Uv-Vis telah dilakukan oleh Irnawati,dkk (2016). Pengukuran dilakukan dengan mengukur konsentrasi larutan hidrokuinon standar dalam pelarut metanol pada panjang gelombang maksimum 293 nm. Blanko yang digunakan berupa metanol. Sampel dibuat dari 25 mg sampel dalam 50 ml pelarut metanol. Sampel yang digunakan adalah krim pemutih wajah. Penelitian tersebut juga melakukan uji selektifitas

dengan kondisi hidrokuinon standar 14 $\mu\text{g/ml}$, teofilin standar, dan campuran yang terdiri atas teofilin, hidrokuinon standar dan sampel. Metode ini memiliki linieritas yang sangat baik, ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi yaitu 0,9998. Dua dari lima sampel positif mengandung hidrokuinon $< 2\%$ dengan kadar yaitu 1,966% dan 1,591%. Akan tetapi, uji spesifitas dari penelitian yang dilakukan tidak spesifik untuk analisis hidrokuinon[27].

Metode *Flow injection analysis*-spektrofotometri tidak langsung (FIA), juga telah digunakan untuk analisis hidrokuinon di dalam sampel krim pemutih. Penelitian ini dilakukan oleh Albhibani, dkk(2019). Kondisi operasional yang digunakan yaitu 2,8 ml/menit, panjang *mixing coil-1* dan *mixing coil-2* adalah 50 cm dan 75 cm, volum sampel 100 μL , besi (III) 100 ppm, fenantrolin 0,15%. Prinsip penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah hidrokuinon mereduksi besi(III) menghasilkan kuinon dan besi (II) pada aliran-1. Besi (II) bereaksi dengan ligan fenantrolin membentuk kompleks besi(II)-fenantrolin pada aliran-2. Metode ini, menunjukkan linieritas yang sangat baik dengan koefisien korelasi (R^2) 0,999. Selain itu, metode ini juga menunjukkan selektifitas yang baik dengan %recovery yaitu 95-97%[14].

Analisis hidrokuinon dengan metode FIA pada sampel krim pemutih wajah juga dilakukan oleh Alqibtiyah, dkk (2019). Penelitian ini menggunakan kondisi operasional yaitu panjang *mixing coil-1* dan 2 adalah 50 cm dan 75 cm, fenantrolin 0,025%, besi (III) 80 ppm, laju alir 3 ml/menit, volume *sample loop* 75 μL . Prinsip penelitian yang digunakan juga menggunakan pembentukan kompleks besi(II)-fenantrolin. Reaksi yang terjadi adalah hidrokuinon mereduksi besi(III) menjadi besi(II). Besi(II) yang terbentuk bereaksi dengan ligan fenantrolin membentuk kompleks besi(II)-fenantrolin. Penelitian ini, menunjukkan hasil bahwa sampel A mengandung hidrokuinon ($8,087 \pm 0,002$) ppm dan sampel (9,627 $\pm 0,006$) ppm. Selektifitas metode ini menunjukkan %kesalahan $< 5\%$ [28].

2.3 Reaksi Redoks Hidrokuinon dan Besi

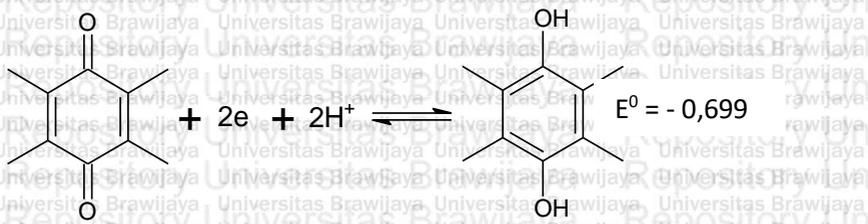
Reaksi reduksi-oksidasi (redoks) adalah reaksi yang melibatkan proses transfer elektron yaitu pelepasan dan penangkapan elektron, reaksi ini terdiri atas dua bagian yaitu reduksi dan oksidasi. Jumlah elektron pada reaksi reduksi harus sama dengan reaksi oksidasi[29].

Besi adalah contoh senyawa yang dapat mengalami reduksi. Pada reaksi setengah sel, Fe^{3+} dan Fe^{2+} memiliki potensial elektroda standar (E^0) +0,77 V. Reduksi Fe^{3+} dalam reaksi setengah sel ditunjukkan oleh gambar 2.3.1[29]. Unsur besi memiliki tingkat bilangan oksidasi lebih dari satu, yaitu +2 dan +3. Unsur ini dapat membentuk kompleks dengan senyawa lain. Namun, pada senyawa kompleks tertentu, Fe^{2+} lebih stabil dibandingkan Fe^{3+} . Umumnya, Fe^{3+} lebih banyak ditemukan, sehingga Fe^{3+} harus di reduksi terlebih dahulu. Cara untuk mereduksi Fe^{3+} adalah menggunakan agen pereduksi. Senyawa-senyawa pereduksi tersebut antara lain ion Sn^{2+} , seng, hidrogen sulfida, natrium tiosulfat, sulfit, asam askorbat, hidrazin, hidroksilamin klorida dan hidrokuinon[15].

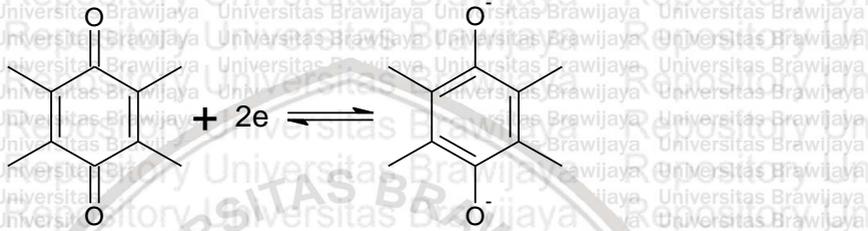


Gambar 2.3.1 reaksi redoks setengah sel pada besi[29]

Hidrokuinon dan kuinon adalah pasangan redoks dalam reaksi setengah sel. Sistem redoks antara kedua senyawa tersebut sangat dipengaruhi oleh pH. Reduksi kuinon pada larutan buffer pH basa, hanya melibatkan dua elektron yang membentuk dianion dari kuinon (gambar 2.3.1). Pada pH asam, kuinon mengalami reduksi yang melibatkan dua proton dan dua elektron membentuk hidrokuinon sebagai pasangan redoks (gambar 2.3.2). Sedangkan, proses reduksi kuinon yang melibatkan satu proton dan dua elektron atau dua elektron saja terjadi pada pH netral[30]. Hidrokuinon memiliki potensial sel sebesar -0,699 dengan mekanisme redoks seperti gambar 2.3.1[23].

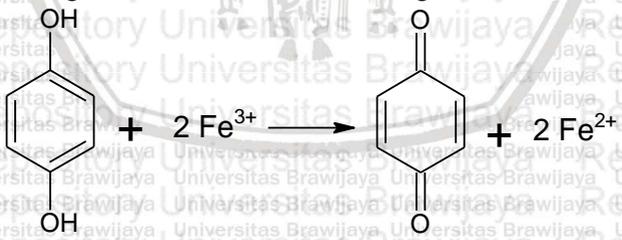


Gambar 2.3.2 Reduksi kuinon pada larutan buffer pH asam[23, 28].



Gambar 2.3.3 Reduksi kuinon pada larutan buffer pH basa[28].

Pada sistem reaksi redoks hidrokuinon dan Fe^{3+} , hidrokuinon akan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dengan cara melepaskan dua elekton sehingga ditangkap oleh Fe^{3+} . Reaksi redoks antara hidrokuinon dan besi (III) merupakan reaksi spontan, yang memiliki nilai potensial + 0,071V. pada sistem ini terdapat dua pasangan redoks yaitu Fe^{3+} dengan Fe^{2+} dan hidrokuinon dengan kuinon[31, 32]

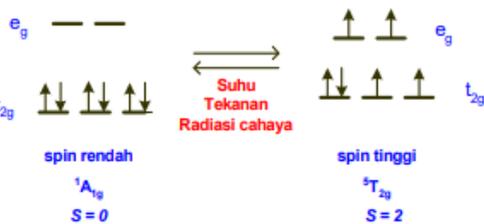


Gambar 2.3.4 Skema reaksi redoks hidrokuinon dan besi(III)[14]

2.4 Kompleks Besi dan Fenantrolin

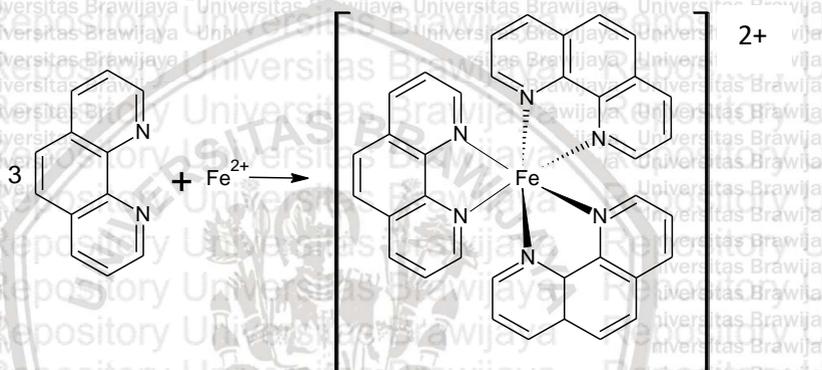
Senyawa kompleks adalah senyawa yang dihasilkan karena adanya ikatan antara suatu kation atau logam dengan beberapa molekul netral atau ion donor elektron. Senyawa kompleks terdiri atas atom pusat dan ligan. Kation atau logam pada senyawa ini disebut sebagai atom pusat. Sedangkan ligannya adalah molekul netral atau ion donor elektron. Umumnya, Atom pusat bersifat sebagai akseptor elektron karena pada orbital-orbital d atom pusat, belum terisi penuh. Kekosongan elektron pada orbital atom pusat diisi oleh elektron yang berasal dari ligan. Hal inilah yang menyebabkan terbentuk ikatan kovalen koordinasi antara atom pusat dan ligan membentuk senyawa kompleks[33].

Salah satu contoh logam transisi yang dapat berlaku sebagai atom pusat pada senyawa kompleks adalah besi. Unsur besi memiliki konfigurasi elektron $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^6$. Pada orbital d, masih ada elektron yang belum berpasangan. Terdapat perbedaan jumlah elektron yang tidak berpasangan dari ion besi (II) dalam senyawa kompleks, seperti pada gambar 2.4.1 dibawah. Fenomena pembelahan tingkat energi orbital d pada ion besi (II) dikenal sebagai fenomena transisi spin. Keadaan ini dapat-balik dari spin rendah (LS) ke keadaan spin tinggi (HS) yang di induksi oleh suhu, tekanan, radiasi cahaya dan medan magnet. Spin rendah besi (II) bersifat diamagnetik dengan $S=0$ sedangkan, spin tinggi bersifat paramagnetik dengan $S=2$. Melalui pembelahan tingkat energi tersebut menghasilkan dua tingkat energi yaitu e_g dan t_{2g} [34, 35].



Gambar 2.4.1 Transisi spin dalam kompleks besi (II)[32]

Besi(II)-fenantrolin adalah senyawa kompleks berwarna merah-jingga yang disebabkan terbentuknya ion $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ dalam kondisi asam. Reaksi yang terjadi ditunjukkan oleh gambar 2.4.3. Tanpa adanya zat pengadsorpsi, senyawa kompleks besi(II)-fenantrolin dapat terbentuk dalam waktu yang singkat. Umumnya, reaksi terjadi pada pH 2-9, menghasilkan warna merah-jingga yang stabil dalam waktu yang lama. Senyawa kompleks Fe(II)-fenantrolin memiliki rentang panjang gelombang 480-560 nm sehingga dapat diukur dengan spektrofotometri Uv-vis[15].

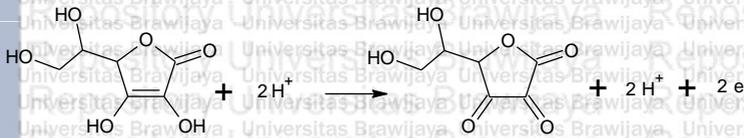


Gambar 2.4.3 Reaksi kompleks pembentukan besi(II)-fenantrolin[14]

2.5 Senyawa pengganggu

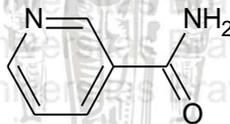
Krim pemutih wajah terdiri atas bahan-bahan kimia seperti *kojic acid*, *licorice*, *bearberry*, *arbutin*, *paper melburry*, *kedelai*, *ascorbic acid*, *melatonin*, *glycolic acid*, *aleosin*, *niacinamide*, *azelaic acid*, dan asam retinoid. Selain itu, hidrokuinon dan turunannya, merkuri, kortikosteroid juga menjadi bahan tambahan pada krim pemutih[5,10,21]. Asam askorbat atau vitamin C pada krim pemutih memiliki fungsi utama antara lain sebagai antioksidan yang melindungi kulit, menjaga kekenyalan, kelenturan, kehalusan kulit dengan cara merangsang pembentukan kolagen kulit dan mencerahkan kulit[37]. Asam askorbat merupakan agen pereduksi yang kuat, senyawa ini akan teroksidasi menjadi dehidro L-askorbat. Reaksi

redoks yang terjadi bersifat *reversible*[38]. Mekanisme reaksi redoks pada asam askorbat seperti pada gambar 2.5.1 di bawah ini.



Gambar 2.5.1 Reaksi redoks asam askorbat dan asam dehidroaskorbat[37]

Niasinamida juga merupakan bahan kimia yang terdapat pada krim pemutih wajah. Senyawa ini memiliki fungsi untuk mengurangi hiperpigmentasi pada kulit. Niasinamida akan mencengah terjadinya transfer melanosom dari melanosit ke keratinosit. Niasinamida atau nikotinamida yang merupakan bentuk aktif biologi dari golongan vitamin B. Melalui uji klinis, penggunaan niasinamida 2% mengurangi hiperpigmentasi dan mencerahkan kulit setelah pemakaian dalam waktu empat minggu. Struktur niasinamida atau nikotinamida dapat dilihat pada gambar 2.5.2[39].



Gambar 2.5.2 Struktur senyawa Niasinamida[38]

2.6 Microfluida Paper-based Analytical Device (μ PAD)

Perangkat mikrofluida (*Microfluidic device*) merupakan alat yang memiliki fungsi yang sesuai untuk analisa senyawa organik dan anorganik. Perangkat ini, membutuhkan biaya produksi yang rendah, dan komponennya sederhana yaitu ringan dan berukuran kecil, serta *portable*. Selain itu, rendahnya pemakaian reagen menjadi kelebihan khusus yang dimiliki oleh alat mikrofluida. Beberapa bidang ilmu seperti ilmu medis, genomik, forensik, toksikologi, imunologi, studi lingkungan, kimia atau biokimia telah menggunakan mikrofluida dalam analisisnya. Perangkat mikrofluida dibagi menjadi dua

kelompok yaitu *micro total analysis system* (μ TAS) dan *microfluidic paper-based analytical device* (μ PAD)[40].

Microfluidic paper analytical device (μ PAD) merupakan perangkat mikrofluida dengan memanfaatkan kertas yang bersifat hidrofilik. Area hidrofilik ini menjadi tempat terjadinya reaksi. Adanya daya kapilaritas kertas mendorong aliran reagen pada area hidrofilik tanpa perlu alat tambahan. Selain itu, volume reagen dan sampel yang diperlukan sangat kecil[41, 42]. Reagen di aplikasikan pada zona deteksi di area hidrofilik yang memungkinkan reagen mengalir pada kertas[13]. Untuk mengkontrol alur aliran reagen tersebut diperlukan sebuah area hidrofobik. Pembatas hidrofobik ini dibuat dengan cara membuat pola yang dicetak pada kertas[41].

2.6.1 Kertas μ PAD

Kertas merupakan komponen yang dibuat dari serat selulosa berbentuk lembaran tipis yang berukuran ≤ 1 mm. Material ini tersedia dalam berbagai variasi, yang dikelompokkan berdasarkan ketebalan, komposisi kimia, ukuran pori dan harga[42]. Bidang kimia, telah memanfaatkan kertas dalam menganalisis suatu analit. Contohnya metode μ PAD.

Penggunaan kertas dalam metode μ PAD memiliki lima keuntungan yaitu tersedia dalam jumlah besar dengan harga yang sangat murah, sifat serat selulosa kertas memberikan dorongan pada cairan untuk mengalir tanpa ada bantuan sistem eksternal, porositas dan biokompabilitas selulosa kertas memungkinkan reagen dan biomolekul disimpan dalam perangkat kertas, pembuatan μ PAD dan diagnostik menggunakan kertas yang dikombinasikan dengan pencetakan memberikan proses yang sangat fleksibel dan murah serta mudah dibuang setelah pemakaian melalui pembakaran, daur ulang dan terurai oleh mikroorganisme[12].

Berbagai jenis kertas telah banyak digunakan dalam pembuatan sensor. Meskipun demikian, pemilihan bahan kertas harus disesuaikan dengan pembuatan metode sensor yang akan digunakan. Beberapa jenis kertas yang dapat digunakan untuk pembuatan sensor antara lain adalah kertas kromatografi whattman no 1 dan 4, kertas

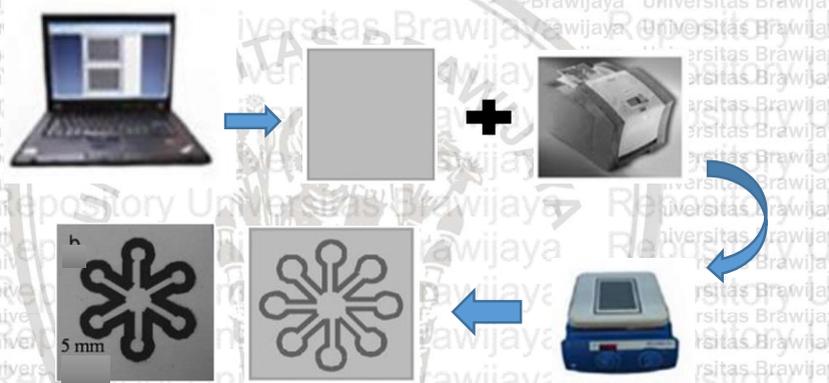
saring whattman no 1 dan 4, membran nitroselulosa, kertas bioaktif, kertas mengkilat (*Glossy paper*), *glass microfiber filters*, dan *polyester-cellulose blended-paper*[13, 43].

Sifat bahan kertas harus di pertimbangkan dalam pembuatan μ PAD. Contoh, bahan membran nitroselulosa sangat halus dan memiliki ukuran pori 0,45 μ m. material ini dapat dikombinasikan dengan *wax printing* untuk pembuatan μ PAD. Akan tetapi, penetrasi pembatas hidrofobik membutuhkan waktu yang lama dibandingkan dengan kertas saring. Membran nitroselulosa lebih umum digunakan untuk metode ELISA dan uji nanopartikel emas. Kertas bioaktif juga telah digunakan dalam pembuatan biosensor. Namun, kertas ini harus dimodifikasi terlebih dahulu dan sifat kertasnya kurang efektif sebagai area hidrofilik[13]. Sedangkan, Kertas saring whattman no.1 menawarkan keuntungan yaitu laju alir, retensi dan porositas partikel yang sesuai. Sehingga, jenis kertas ini telah luas digunakan untuk pembuatan sensor dan μ PAD[43].

2.6.2 Teknik Pembuatan μ PAD

Teknik pembuatan pembatas hidrofobik pada μ PAD telah banyak dikembangkan di antaranya *Photolithography*, pencetakan lilin, pencetakan injek, *plotting*, *cutting*, Sablon, *plasma treatment*, *flexography*, *screen-printing*, dan *laser treatment*[44, 45]. Teknik pembuatan pembatas hidrofobik terbagi dua yaitu pola kimia dan pola fisik. Teknik dengan pola kimia dan fisik memiliki tujuan masing-masing untuk membentuk area hidrofobik/penghalang. Pola kimia bertujuan untuk membentuk penghalang/area hidrofobik di dalam pori-pori kertas. Pola ini meliputi *photolithography*, *wax printing* (pencetakan lilin), *plasma treatment*, *plotting*, *inkjet printing*, *laser printing*, *flexographic printing*, *stamping*, *chemical vapor deposition*, *wet etching*, *hand-held corona treatment*, *screen-printing*, 3D printing dan *Spraying*. Sedangkan, teknik pola fisik bertujuan untuk membentuk saluran atau bentuk penghalang melalui pemotongan pola yang telah ditentukan. Teknik fisik ini antara lain *Knife plotter*, *craft cutting*, *embossing*, dan *laser cutting*[46].

Salah satu teknik pembuatan pembatas area hidrofobik adalah Teknik pencetakan lilin (*wax printing*). Metode ini memiliki beberapa kelebihan diantaranya biaya yang murah, proses pembuatan yang mudah dan cepat. Teknik ini banyak digunakan karena kelebihanannya dibandingkan dengan teknik lainnya. Disamping itu, teknik ini bersifat non-toksik. *Wax printing* adalah teknik pencetakan pembatas hidrofobik dari lilin, yang dibuat polanya menggunakan pulpen atau printer pada membran nitroselulosa, selanjutnya, pembatas dibuat menembus hingga bagian belakang melalui pemanasan menggunakan hot plate atau oven. Pola lilin yang berbentuk 3D pada kertas inilah yang akan mengontrol aliran fluida pada μ PAD[13, 46].



Gambar 2.6.2 Pembuatan pembatas hidrofobik sebelum dan sesudah penetrasi wax pada kedua sisi[39]

2.6.3 Teknik Deteksi μ PAD

Suatu analit pada sampel biologi atau lingkungan dapat ditentukan dengan metode μ PAD. Sampel di tetesi pada zona deteksi. Pada tahap selanjutnya, analit tersebut dapat di analisis dengan berbagai cara. Deteksi analit pada μ PAD didasrakan pada reaksi kimia yang membentuk warna, sifat elektrokimia, dan penyerapan atau emisi cahaya[13]. Beberapa teknik konvensional untuk deteksi analit berbasis kertas, yang telah diterapkan adalah kolorimetri, *chemiluminescence*, elektrokimia, spektrum massa (MS), Fluoresensi, spektroskopi raman yang disempurnakan dengan permukaan (SERS),

dan *electrochemiluminescence*. Teknik-teknik tersebut dapat dikombinasikan dengan metode μ PAD[13, 45, 46].

Teknik kolorimetri adalah salah satu teknik yang telah dikombinasikan dengan μ PAD. Kolorimetri merupakan metode deteksi yang paling sering dan umum digunakan. Deteksi ini berdasarkan adanya pembentukan atau perubahan warna, meliputi dua cara. Cara pertama, warna yang terbentuk pada perangkat μ PAD di rekam dengan menggunakan kamera *single-lens reflex* (SLR), perangkat seluler, atau pemindaian menggunakan *scanner* dan dikombinasikan dengan software seperti MATLAB dan aplikasi pembaca warna RGB untuk kuantifikasi. Cara yang lainnya adalah pengukuran absorbansi sampel pada panjang gelombang tertentu dengan spektrofotometer[13]. Pembacaan analisis menggunakan teknik kolorimetri memiliki kelebihan yaitu sederhana, biaya rendah, deteksi cepat, dan *portable*[46, 47].



Gambar 2.6.3 Proses deteksi analit menggunakan teknik μ PAD dengan software[39]

2.7 ImageJ

Image-J adalah aplikasi perangkat lunak yang mengolah dan analisis gambar berbasis java yang terinspirasi oleh gambar NIH untuk Macintosh. Gambar dengan kualitas 8-bit, 16-bit, dan 32-bit dapat di tampilkan, diubah, di proses, dianalisis, disimpan dan dicetak menggunakan software ini. Disamping itu, format gambar seperti TIFF, GIF, JPEG, BMP, DICOM, FITS dan raw dapat dibaca oleh program imageJ. Software ini dapat mempermudah pengguna dalam menghitung nilai statistik area dan pixel dari gambar yang diinginkan oleh pengguna. ImageJ dapat digunakan untuk pengukuran sudut dan jarak serta pembuatan densitas histogram dan plot profile garis[48].

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya pada bulan Januari hingga Mei 2020.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Penelitian ini menggunakan beberapa alat diantaranya yaitu Pipet Mikro, Hot plate, pinset, labu ukur 100 ml, labu ukur 50 ml, pipet tetes, pipet volume 10 ml, bola hisap, Erlenmeyer 250 ml, Erlenmeyer 100 ml, botol semprot, botol sampel, selotip gunting, tip, wax printer Xerox ColorQube 8580 DN-2 tipe T2B047382, gelas arloji, *scanner* HP Dekjet 2130 dan neraca analitik.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kertas whattman No.1, FeCl_3 (*Merck*), Fenantrolin(*Merck*), Hidrokuinon(*Sigma-aldrich*), etanol 95%, akuades, HCl teknis, dan sampel krim pemutih wajah.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan kegiatan, antara lain yaitu:

1. Pembuatan larutan stok

- Larutan Fe(III) 100 ppm
- Larutan Stok Fenantrolin 0,5%
- Larutan Stok Hidrokuinon 1000 ppm
- Pembuatan Larutan stok asam askorbat 100 ppm
- Pembuatan larutan stok niasinamida 100 ppm

2. Pembuatan μ PADs

- a. Pembuatan desain μ PADs menggunakan Corel Draw X7
 - b. Pencetakan desain μ PADs menggunakan *wax printer Xerox*
 - c. Penetrasi lapisan hidrofobik kertas μ PADs menggunakan hot plate
3. Prosedur kerja metode μ PAD
 4. Optimasi variasi konsentrasi fenantrolin
 5. Optimasi waktu reaksi pembentukan kompleks Fe(II)-Fenantrolin
 6. Uji selektifitas
 7. Pembuatan Kurva Baku hidrokuinon
 8. Preparasai larutan sampel krim pemutih wajah
 9. Penentuan konsentrasi hidrokuinon pada krim pemutih wajah
 10. Analisis Data

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Larutan

3.4.1.2 Pembuatan Larutan Fe(III) 100 ppm

Larutan besi(III) 100 ppm dibuat dengan cara menimbang padatan FeCl_3 sebanyak 0,0290 gram menggunakan neraca analitik. Langkah selanjutnya, ditambahkan larutan HCl p.a sebanyak tiga tetes dan akuades di dalam gelas kimia 100 ml. Diukur pH larutan menggunakan kertas pH hingga menunjukkan pH 1-3. Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml secara kuantitatif. Akuades ditambahkan ke dalam labu ukur 100 ml hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Larutan dipindakan ke dalam botol sampel.

3.4.1.3 Pembuatan Larutan Stok Fenantrolin 0,5%

Larutan Fenantrolin 0,5% dibuat dengan cara menimbang padatan fenantrolin sebanyak 0,500 g, pada gelas arloji menggunakan neraca analitik. Padatan fenantrolin dipindahkan secara kuantitatif ke dalam gelas kimia 100 ml. Selanjutnya, dilarutkan dengan larutan etanol p.a 95%. Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml.

Akuades ditambahkan ke dalam labu ukur 100 ml hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Larutan fenantrolin dengan konsentrasi yang lebih rendah dapat dibuat dengan melakukan pengenceran larutan stok fenantrolin 0,5% menggunakan akuades dengan volume yang sesuai.

3.4.1.4 Pembuatan Larutan Stok Hidrokuinon 1000 ppm

Larutan Hidrokuinon 1000 ppm dibuat dengan cara menimbang padatan hidrokuinon sebanyak 0,100 g, menggunakan neraca analitik. Padatan tersebut dilarutkan dengan akuades di dalam gelas kimia 100 ml. Larutan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 ml. Akuades di tambahkan ke dalam labu ukur 100 ml hingga tanda batas dan dikocok sampai homogen. Larutan hidrkuinon dengan konsentrasi yang lebih rendah dapat dibuat dengan melakukan pengenceran larutan stok hidrokuinon 1000 ppm menggunakan akuades sesuai dengan volume yang diinginkan.

3.4.1.5 Pembuatan larutan Stok Asam Askorbat 100 ppm

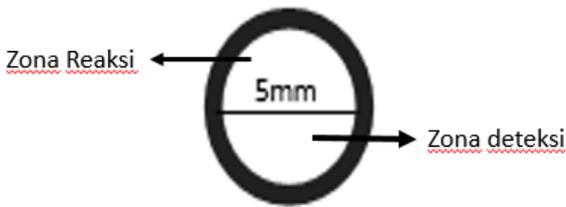
Larutan asam askorbat 100 ppm dibuat melalui penimbangan padatan asam askorbat 0,0100 g dengan neraca analitik. Dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 ml dan dilarutkan dengan akuades. Larutan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 ml. Akuades ditambahkan hingga tanda batas. Selanjutnya, Larutan dikocok hingga homogen. Konsentrasi asam askorbat yang lebih rendah dapat dibuat melalui pengenceran larutan stok 100 ppm, menggunakan akuades.

3.4.1.6 Pembuatan Larutan Stok Niasinamida 100 ppm

Larutan niasinamida 100 ppm dibuat melalui penimbangan padatan niasinamida 0,0100 g dengan neraca analitik. Dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 ml dan dilarutkan dengan akuades. Larutan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 ml. Akuades ditambahkan hingga tanda batas. Selanjutnya, Larutan dikocok hingga homogen. Konsentrasi niasinamida yang lebih rendah dapat dibuat melalui pengenceran larutan stok 100 ppm, menggunakan akuades.

3.4.2 Pembuatan μ PADS

Pembuatan μ PADS dimulai dari tahap pembuatan pola menggunakan program CorelDraw X7. Pola yang dibuat yaitu berbentuk bulat seperti gambar 4.2.1 di bawah. Pada pola bulat memiliki diameter sebesar 5 mm, dengan panjang 12 mm dan lebar 9 mm. Garis hidrofobik pola memiliki ketebalan yang sama yaitu 0,8 mm.



Gambar 3.2.1 Desain PAD dengan CorelDraw X7

Tahap selanjutnya adalah pencetakan pola pada kertas whattman No.1 menggunakan *wax printer xerox*. Tinta yang digunakan pada printer ini berfungsi sebagai penghalang hidrodobik pada kertas. Akan tetapi, hanya pada bagian depan kertas saja sedangkan pada bagian belakang kertas tidak terdapat penghalang hidrofobik seperti gambar 4.2.2 sehingga perlu dilakukan penetrasi.

Tahap terakhir adalah tahap penetrasi penghalang hidrofobik hingga ke bagian belakang kertas. Pada tahap ini, dilakukan dengan cara memanaskan kertas yang telah dicetak diatas hot plate. Pemanasan dilakukan pada suhu 120 °C selama 90 detik. Hot plate yang digunakan sebelum pemanasan harus dilapisi oleh aluminium foil terlebih dahulu. Kertas hasil pemanasan dapat dilihat seperti pada gambar 4.2.3.

3.4.3. Prosedur Kerja Metode μ PAD

Penentuan hidrokuinon dengan teknik μ PAD dilakukan dengan deteksi kolorimetri yaitu larutan fenantrolin dipipet dengan pipet mikro sebanyak 0,5 μ L. Diteteskan pada kertas μ PAD. Dikeringkan. Selanjutnya, Ditetesi larutan Fe(III) sebanyak 0,5 μ L pada zona yang

sama. ditunggu hingga kering. Larutan hidrokuinon dipipet menggunakan pipet mikro sebanyak 0,5 μL . Adanya perubahan warna pada kertas di scan dan dilakukan analisis dengan menggunakan software imageJ untuk memperoleh nilai absorbansi melalui nilai intensitas RGB yang di ukur.

3.4.4 Optimasi Konsentrasi Fenantrolin

Optimasi konsentrasi fenantrolin dengan berbagai konsentrasi yaitu 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% dan 0,5%. Dilakukan dengan cara yaitu larutan fenantrolin 0,1-0,5% dipipet sebanyak 0,5 μL menggunakan pipet mikro, ditetesi pada kertas μPAD . Pada tahap selanjutnya, larutan FeCl_3 100 ppm dengan volume sebanyak 0,5 μL ditetesi juga pada kertas μPAD . Dipipet larutan hidrokuinon 50 ppm dan ditetesi pada kertas. Perhatikan perubahan warna yang dihasilkan kemudian dianalisis nilai RGB dari masing masing konsentrasi menggunakan imageJ.

3. 4.5 Optimasi Waktu Reaksi

Optimasi waktu reaksi dilakukan dengan cara mempipet variasi larutan fenantrolin sebanyak 0,5 μL pada kertas μPAD . Selanjutnya larutan larutan Fe(III) ditetaskan pada kertas sebanyak 0,5 μL menggunakan pipet mikro. Setelah kertas kering, ditambahkan larutan hidrokuinon 50 ppm sebanyak 0,5 μL pada kertas. Setelah penetesan hidrokuinon maka dilakukan variasi waktu reaksi yaitu 5 menit, 10 menit, 15 menit, dan 20 menit sebelum di lakukan analisis dengan menggunakan software imageJ untuk mengetahui waktu optimum reaksi.

3.4.6 Uji Selektifitas

Uji selektifitas dilakukan dengan meneteskan larutan fenantrolin konsentrasi optimum, larutan Fe(III) 100 ppm dan hidrokuinon 50 ppm pada kertas μPAD . Selanjutnya, ditambahkan larutan senyawa pengganggu asam askorbat dan niasinamida dengan variasi konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm. Perubahan warna yang terjadi pada kertas μPAD , di analisis dengan software imageJ. Sehingga, diperoleh nilai intensitas yang diubah menjadi absorbansi. Oleh karena itu, dapat

dibuat kurva baku hubungan absorbansi dan konsentrasi hidrokuinon yang telah ditambahkan senyawa pengganggu sehingga dapat diukur % kesalahan.

3.4.7 Pembuatan Kurva Baku Hidrokuinon

Pembuatan kurva baku hidrokuinon dibuat dengan kondisi yaitu larutan fenantrolin yang dibuat seperti pada **prosedur 3.4.3**, larutan Fe(III) 100 ppm dan larutan hidrokuinon dengan konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm dan 1000 ppm. Perubahan warna pada kertas, dianalisis dengan software imageJ. Berdasarkan hasil analisis akan diperoleh hasil hubungan absorbansi dan konsentrasi sehingga dapat dibuat kurva baku.

3.4.8 Preparasi Larutan Sampel Krim Pemutih Wajah

Sampel krim pemutih wajah ditimbang sebanyak 0,01 g pada gelas arloji menggunakan neraca analitik. Dipindahkan kedalam gelas kimia 250 ml. Selanjutnya, etanol ditambahkan sebanyak 10 ml dan diaduk. Disaring dengan kertas saring dan filtratnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. tambahkan etanol hingga tanda batas. Dikocok hingga homogen. Sampel disimpan pada botol coklat tertutup.

3.4.9 Penentuan Konsentrasi Hidrokuinon dalam sampel krim pemutih wajah

Sampel krim pemutih wajah yang telah disiapkan diukur sesuai dengan **prosedur 3.4.3** dengan kondisi yaitu larutan Fe(III) 100 ppm dan larutan fenantrolin konsentrasi optimum yang diperoleh melalui **prosedur 3.4.4**. Berdasarkan pengukuran diperoleh data nilai absorbansi melalui analisis software imageJ dan diinterpolasikan pada persamaan kurva baku hidrokuinon sehingga diperoleh konsentrasi hidrokuinon dalam sampel.

3.4.10 Analisis Data

3.4.10.1 Perhitungan Persamaan Regresi linier dan Koefisien Korelasi

Kurva baku hidrokuinon standar digunakan untuk menentukan kadar hidrokuinon yang terkandung dalam sampel. Konsentrasi hidrokuinon dalam sampel diperoleh melalui persamaan regresi linier sebagai berikut[49]:

$$y = ax + b \quad (3.1)$$

Setelah dilakukan pengukuran dan diperoleh intensitas sebagai nilai y serta *slope* (a) dan intersep (b) yang masing-masing diperoleh dari persamaan di bawah, yaitu[49]:

$$a = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} \quad (3.2)$$

$$b = \frac{(\sum Y)(\sum X^2) - (\sum X)(\sum XY)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} \quad (3.3)$$

Ketepatan nilai regresi linier pada kurva ditentukan berdasarkan nilai koefisien korelasi. Kurva linier sempurna dinyatakan dengan nilai koefisien korelasi sama dengan 1. Koefisien korelasi dapat ditentukan melalui persamaan berikut ini[49]:

$$r^2 = \frac{n(\sum XY) - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[n(\sum X^2) - (\sum X)^2][n(\sum Y^2) - (\sum Y)^2]}} \quad (3.4)$$

3.4.10.2 Perhitungan rata-rata

Nilai rata-rata intensitas hasil pengukuran yang dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut ini[49]:

$$x \text{ rata-rata} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n} \quad (3.5)$$

Keterangan:

x_i = data pengulangan

n = jumlah pengulangan

3.4.10.3 Penentuan Konsentrasi Hidrokuinon

Persamaan regresi pada kurva baku standar dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi hidrokuinon, seperti berikut[49]:

$$y = ax + b \quad (3.6)$$

y adalah intensitas hidrokuinon sedangkan x adalah konsentrasi hidrokuinon dalam satuan ppm. X dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut[49]:

$$x = \frac{y-b}{a} \quad (3.7)$$

3.4.10.4 Perhitungan % kesalahan

Perhitungan %kesalahan dilakukan untuk mengetahui besarnya pengaruh penyimpangan akibat penambahan senyawa pengganggu. Nilai %kesalahan dapat diperoleh dengan persamaan berikut ini[49]:

$$\% \text{ kesalahan} = \frac{[C]_{\text{standar}+\text{spike}} - [C]_{\text{standar}}}{[C]_{\text{standar}}} \times 100\% \quad (3.8)$$

3.4.10.5 Presisi

Ketelitian (presisi) adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji tiap ulangan. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi ditentukan berdasarkan nilai RSD (*relative standard deviation*) melalui persamaan berikut[47]:

$$SD = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_i^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3.9)$$

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad (3.10)$$

Keterangan :

SD = Standar deviasi

RSD = Standar relatif deviasi

x_i = nilai intensitas yang diperoleh

\bar{x} = nilai intensitas rata-rata

n = jumlah ulangan



3.4.10.6 Akurasi

Akurasi (ketepatan) adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Ada dua cara untuk penentuan akurasi, yaitu metode simulasi (*spike-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). Ketepatan diukur berdasarkan persen perolehan kembali (*%recovery*) analit yang ditambahkan. Nilai *%recovery* dapat ditentukan berdasarkan persamaan berikut[47]:

$$\% \text{ recovery} = \frac{[C]_{\text{standar+spike}} - [C]_{\text{spike}}}{[C]_{\text{standar}}} \times 100\% \quad (3.11)$$

3.4.10.7 Perhitungan LOD dan LOQ

Perhitungan LOD dan LOQ dapat ditentukan dengan persamaan sebagai berikut[49]:

$$A_{LOD} = 3 \times Sb/SI \quad (3.12)$$

$$A_{LOQ} = 10 \times Sb/SI \quad (3.13)$$

Keterangan :

Sb = Simpangan baku atau Standar deviasi

SI = Slope

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk *mengembangkan microfluidic paper analytical device* dalam menentukan hidrokuinon yang terdapat pada krim pemutih wajah. Metode μ PAD yang digunakan dibuat dengan teknik *wax printing* dengan bentuk seperti pada **gambar 3.2.1**. Pada metode ini, hidrokuinon ditentukan berdasarkan pembentukan senyawa kompleks Fe(II)-fenantrolin yang berwarna merah-jingga. Semakin banyak kompleks Fe(II)-fenantrolin yang terbentuk mengindikasikan bahwa semakin banyak Fe(III) yang direduksi oleh hidrokuinon menjadi Fe(II). Skema reaksi yang terjadi dapat dilihat pada **gambar 2.3.3** dan **2.4.3**. Konsentrasi hidrokuinon ditentukan melalui pengukuran nilai intensitas warna RGB.

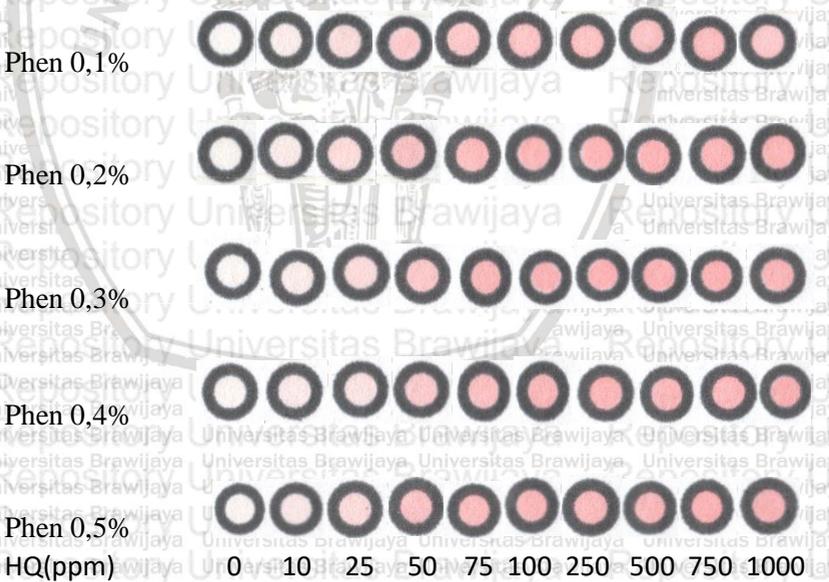
Pada penelitian ini, dilakukan beberapa tahapan optimasi sebelum menentukan konsentrasi HQ pada sampel. Tahapan-tahapan tersebut terdiri atas, optimasi konsentrasi fenantrolin, optimasi waktu reaksi terbentuknya kompleks Fe(II)-fenantrolin, uji selektifitas yang meliputi penambahan senyawa pengganggu (niasinamida dan vitamin C), serta validitas metode yang meliputi linieritas, presisi, akurasi.

4.1 Penentuan Konsentrasi Optimum Fenantrolin

Salah satu parameter yang perlu ditentukan pada penelitian ini adalah penentuan konsentrasi optimum dari fenantrolin. Tujuan optimasi fenantrolin adalah untuk mengetahui fenantrolin dengan konsentrasi minimum yang dapat bereaksi maksimum dengan Fe(II) membentuk warna kompleks merah-jingga yang dapat diidentifikasi pada zona deteksi. Konsentrasi fenantrolin yang diteteskan pada zona deteksi akan mempengaruhi warna kompleks yang terbentuk. Apabila konsentrasi fenantrolin yang terlalu kecil maka akan menyebabkan warna kompleks yang terbentuk sulit diidentifikasi. Sehingga, akan berpengaruh terhadap nilai intensitas yang terukur. Oleh karena itu, perlu ditentukan konsentrasi fenantrolin yang sesuai untuk menghasilkan warna kompleks yang baik.

Penentuan konsentrasi optimum fenantrolin dilakukan dengan variasi konsentrasi yaitu 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, dan 0,5% dengan kondisi Fe(II) 100 ppm dan HQ 50 ppm. Variasi konsentrasi yang digunakan ini berdasarkan penelitian albibani *et al.* (2019) yang menggunakan konsentrasi fenantrolin pada rentang 0,05-0,25% secara *flow injection analysis-spechtrphotometry*. Akan tetapi, Konsentrasi tersebut menghasilkan warna yang tidak dapat diamati dengan baik jika di aplikasikan pada kertas μ PAD untuk membentuk kompleks dengan Fe(II). Sehingga, rentang konsentrasi optimasi fenantrolin pada percobaan ini dimulai dari konsentrasi 0,1-0,5%.

Fenantrolin dengan masing-masing konsentrasi di teteskan sebanyak 0,5 μ L pada setiap zona reaksi μ PAD. Warna yang dihasilkan oleh kompleks Fe(II)-fenantrolin adalah merah-jingga. *Scanner* digunakan untuk menangkap citra, sehingga diperoleh gambar yang dapat dilihat pada **gambar 4.1.1** di bawah.

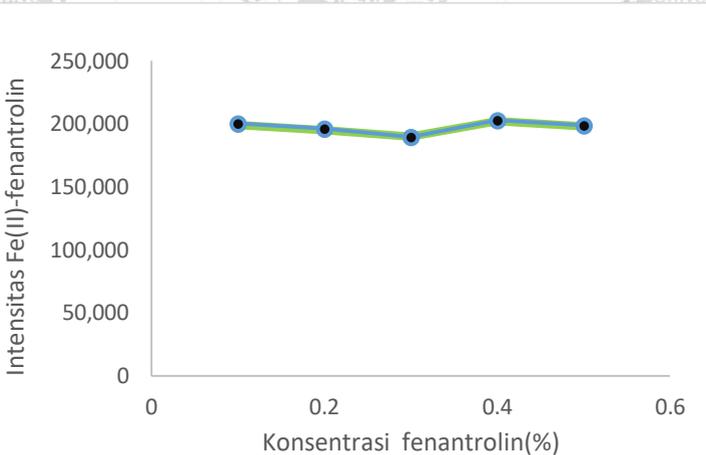


Gambar 4.1.1 Pengaruh Perubahan Warna Senyawa Kompleks Fe(II)-fenantrolin pada Pengukuran Sederetan HQ Standar (0-1000 ppm) akibat Pengaruh Variasi Konsentrasi Fenantrolin (0,1-0,5%)

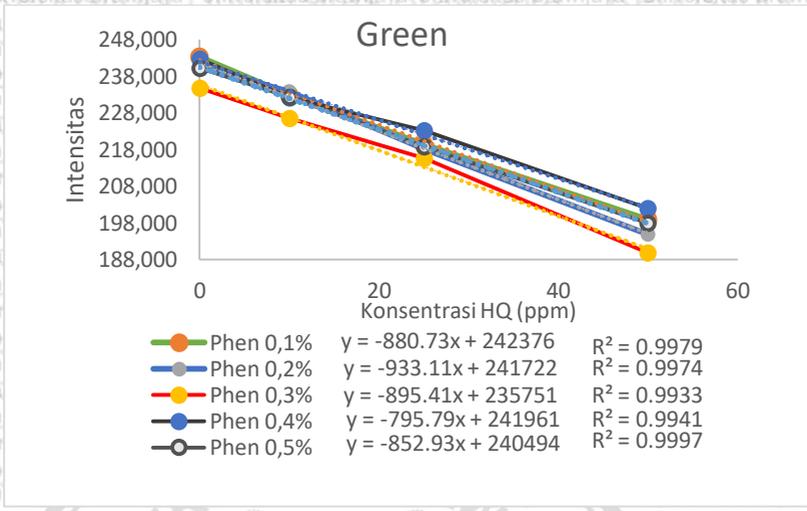


Pada tahap selanjutnya, citra yang diperoleh di analisis dengan menggunakan *software imageJ*. Analisis citra oleh *imageJ* akan menghasilkan nilai intensitas RGB. Indeks warna RGB diketahui sebagai warna primer yang menjadi dasar pembentuk warna lain. Intensitas warna (indeks warna RGB) inilah yang digunakan untuk menentukan konsentrasi optimum fenantrolin.

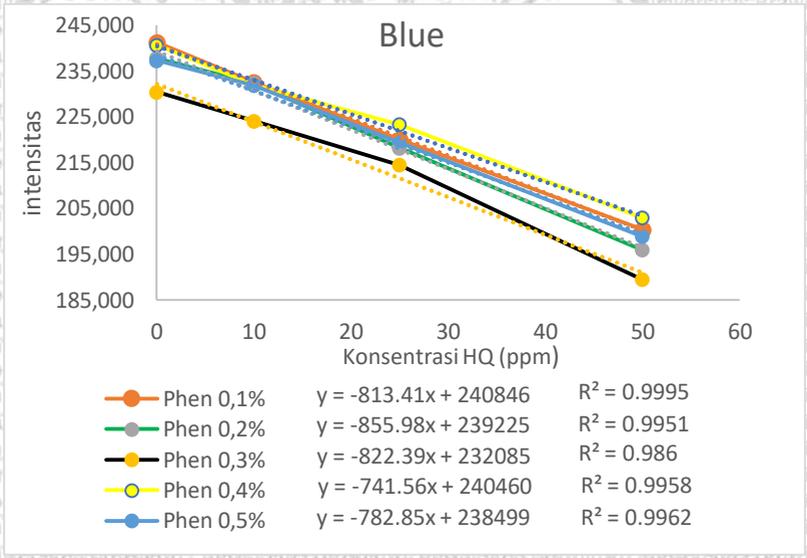
Penentuan optimasi yang didasarkan pada nilai indeks warna RGB, dilakukan dengan menentukan intensitas acuan. Indeks warna RGB diubah ke dalam kurva hubungan intensitas dengan variasi konsentrasi fenantrolin. Intensitas yang dijadikan sebagai acuan adalah komplementer warna dari warna kompleks yang terbentuk. Menurut Bao, J *et al.*(2018) Intensitas merah-jingga memiliki warna komplementer yaitu warna biru-kehijauan[50]. Kurva intensitas *green* dan *blue* dapat dilihat pada **gambar 4.1.2** di bawah ini. Pada gambar tersebut, dapat dilihat bahwa intensitas *green* dan *blue* tidak jauh berbeda. Maka, dilakukan peninjauan berdasarkan pengaruh fenantrolin terhadap linieritas dan sensitivitas kurva hubungan intensitas warna (*green* dan *blue*) terhadap konsentrasi HQ pada **gambar 4.1.3**.



Gambar 4.1.2 kurva hubungan intensitas warna (*green* dan *blue*) dengan variasi konsentrasi fenantrolin



(a)



(b)

Gambar 4.1.3 (a) kurva pengaruh variasi konsentrasi fenantrolin terhadap linearitas hubungan intensitas green dan konsentrasi HQ (0-50 ppm) (b) kurva pengaruh variasi konsentrasi fenantrolin terhadap hubungan intensitas blue dan konsentrasi HQ (0-50 ppm)

Kedua kurva seperti pada **gambar 4.1.3**, menunjukkan pengaruh variasi fenantrolin terhadap linieritas kurva hubungan intensitas warna dengan konsentrasi HQ. Pada intensitas *green* nilai memiliki $R^2 \geq 0,99-0,999$, sedangkan intensitas *blue* memiliki $R^2 \geq 0,98-0,999$. Hal ini, menunjukkan bahwa linieritas kedua kurva tidak berbeda secara signifikan. Sehingga, berdasarkan linieritas belum dapat menentukan intensitas acuan yang akan digunakan. Maka dari itu, perlu ditinjau berdasarkan nilai sensitivitas.

Sensitivitas ditentukan melalui nilai slope (a) yang terdapat pada persamaan regresi **gambar 4.1.3**. Nilai slope pada persamaan tersebut seluruhnya bernilai negatif. Hal ini dikarenakan, terjadinya penurunan nilai intensitas yang dimulai dari kiri atas ke kanan bawah. Semakin besar nilai slope maka semakin besar sensitivitas. Pada kurva intensitas *green*, slope berkisar antara 795,79-933,11. Sedangkan, kurva intensitas *blue* memiliki slope berkisar antara 741,56-855,98. Nilai slope kurva intensitas *green* lebih tinggi dibandingkan kurva intensitas *blue*. Sehingga, sensitivitas yang lebih tinggi terdapat pada kurva intensitas *green*. Oleh karena itu, kurva intensitas *green* digunakan sebagai intensitas acuan dalam penelitian ini.

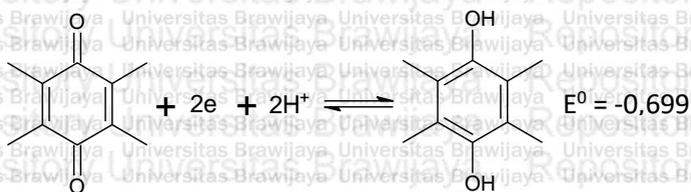
Pada **gambar 4.1.1**, terlihat bahwa tidak ada perbedaan warna yang signifikan akibat pengaruh variasi konsentrasi fenantrolin. Maka untuk menentukan pengaruhnya, ditentukan melalui nilai intensitas. Pada **gambar 4.1.2**, dapat dilihat perbedaan nilai intensitas yang terukur dari konsentrasi fenantrolin 0,1-0,5%. Kurva tersebut menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan yang mempengaruhi perubahan intensitas antara konsentrasi 0,1-0,5%. Perbedaan intensitas terukur tersebut $< 5\%$. Maka, konsentrasi optimum yang dipilih adalah 0,1% karena memiliki pengaruh yang sama dengan konsentrasi fenantrolin lainnya.

4.2 Optimasi waktu pembentukan kompleks

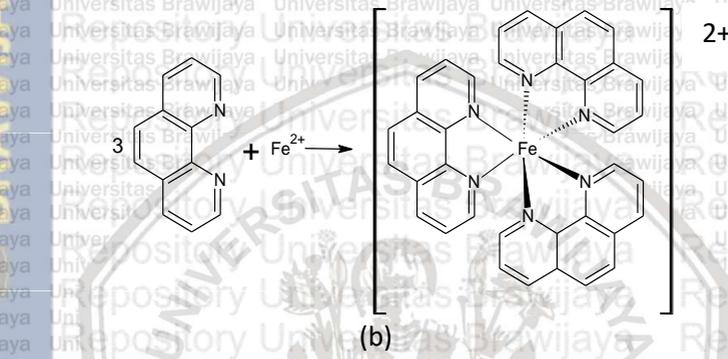
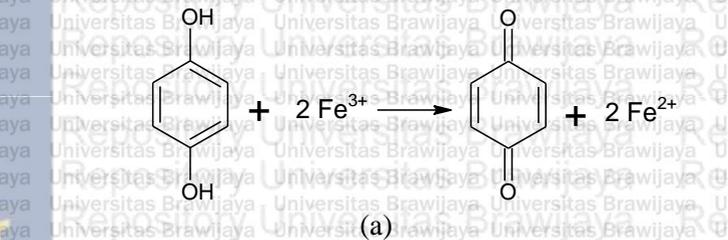
Pada metode μ PAD, Penentuan waktu penangkapan citra oleh Scanner/kamera sangat menentukan keakuratan data. Waktu penangkapan citra pada penelitian ini, ditentukan berdasarkan terbentuknya warna senyawa kompleks Fe(II)-fenantrolin.

Senyawa kompleks Fe(II)-fenantrolin, terbentuk disebabkan adanya interaksi antara logam dengan ligan. Logam yang digunakan adalah senyawa besi (Fe^{3+}). Sedangkan, ligan yang digunakan adalah fenantrolin. Fe^{2+} lebih stabil membentuk kompleks dengan fenantrolin dibandingkan Fe^{3+} . Oleh karena itu, Fe^{3+} harus direduksi terlebih dahulu menjadi Fe^{2+} . Pada pH asam, hidrokuinon akan melepaskan dua elektron dan dua H^+ (**gambar 4.2.1**) [23]. Sehingga, hidrokuinon mengalami kenaikan bilangan oksidasi (oksidasi). Sebaliknya, Fe^{3+} menangkap dua elektron sehingga mengalami penurunan bilangan oksidasi (reduksi). Hasil proses reaksi redoks antara hidrokuinon dan Fe^{3+} menghasilkan kinon dan Fe^{2+} seperti pada **gambar 4.2.2a**. pada tahap selanjutnya, Fe^{2+} akan bereaksi dengan ligan fenantrolin

Logam Fe^{2+} memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital d sehingga bersifat sebagai akseptor elektron (asam lewis). Sedangkan ligan fenantrolin merupakan donor elektron atau bersifat sebagai basa lewis. Elektron dari ligan fenantrolin akan mengisi orbital d dari logam pusat. Maka, terbentuk ikatan koordinasi antara Fe^{2+} dengan ligan fenantrolin. Transfer elektron dari ligan ke atom pusat ini, menyebabkan kompleks $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ berwarna merah-jingga. Terbentuknya ion-ion $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ ini berlangsung dalam waktu tertentu dan stabil dalam jangka waktu yang lama. Reaksi yang terjadi ditunjukkan pada **gambar 4.2.2b** di bawah.



Gambar 4.2.1 Proses Oksidasi Hidrokuinon pada pH asam [23, 28].

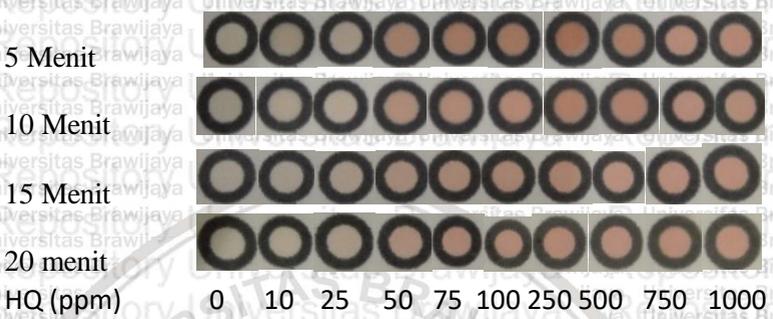


Gambar 4.2.2 prinsip reaksi (a) reaksi reduksi-oksidasi besi dan hidrokuinon (b) reaksi senyawa kompleks besi(II)-fenantrolin[14].

Warna senyawa kompleks inilah, yang ditangkap citranya menggunakan kamera kemudian di analisis dengan imageJ. Namun, Apabila citra warna ditangkap pada saat masih berlangsung interaksi Fe(II) dengan fenantrolin membentuk ion $[\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3]^{2+}$ maka indeks warna RGB yang akan diperoleh tidak akurat. Hal ini karena, masih terjadi proses pembentukan warna atau belum mencapai kesetimbangan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penentuan waktu optimum pembentukan kompleks Fe(II)-fenantrolin yang menghasilkan warna paling baik dan stabil.

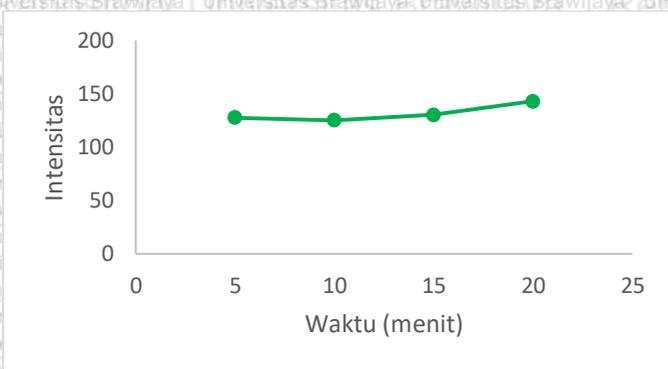
Penentuan waktu optimum kompleks Fe(II)-fenantrolin dilakukan dengan kondisi yaitu konsentrasi hidrokuinon standar 50 ppm, Fe(II) 100 ppm dan fenantrolin 0,1%. Penggunaan konsentrasi hidrokuinon standar 50 ppm dan fenantrolin 0,1% ini berdasarkan penentuan konsentrasi optimum fenantrolin yang dapat dilihat pada **gambar 4.1.2**. Melalui, konsentrasi fenantrolin optimum yang diperoleh adalah

0,1%. Penentuan waktu optimum, ditentukan melalui kurva hubungan intensitas warna dengan variasi waktu. Variasi waktu yang digunakan pada penelitian ini adalah 5, 10, 15, dan 20 menit. Perubahan warna pada variasi waktu tersebut dapat dilihat pada **gambar 4.2.2** di bawah.



Gambar 4.2.3 Pengaruh Waktu Terhadap Perubahan Warna Senyawa Kompleks

Pada **gambar 4.2.2** dapat dilihat bahwa warna yang paling pekat dihasilkan pada waktu lima menit. Akan tetapi, warna antara 5-10 menit tidak jauh berbeda. Sedangkan warna pada 15 dan 20 menit lebih pudar. Hubungan perubahan warna dan waktu dapat dilihat pada **kurva 4.2.3**. Diketahui bahwa nilai intensitas tertinggi terdapat pada waktu 20 menit dan paling rendah pada waktu 5 menit. Hal ini sesuai dengan pernyataan Bustomi,dkk (2014) nilai indeks warna RGB yang tinggi menunjukkan citra semakin terang. Sebaliknya nilai indeks warna RGB yang rendah menunjukkan citra tersebut akan semakin gelap[51]. Sehingga, waktu optimum yang diperoleh adalah 5 menit. Akan tetapi, pada waktu 5 menit kertas μ PAD yang ditetesi larutan masih dalam keadaan basah. Sehingga, Apabila Penangkapan citra dilakukan pada waktu 5 menit dikhawatirkan adanya gangguan karena kondisi pengukuran yang basah. Oleh karena itu, waktu pengukuran yang digunakan adalah 20 menit karena sebagai waktu maksimum dan kertas μ PAD telah kering. Sehingga, diperkirakan tidak ada gangguan kondisi pengukuran.



Gambar 4.2.4 kurva hubungan intensitas warna dengan variasi waktu pembentukan kompleks Fe(II)-fenantrolin

4.3. Uji Selektifitas

Uji selektifitas dilakukan untuk mengetahui pengaruh penyimpangan konsentrasi hidrokuinon dalam larutan dengan penambahan senyawa pengganggu dari konsentrasi standarnya. Pada uji ini, dilakukan dengan menambahkan senyawa pengganggu yaitu asam askorbat dan niasinamida. Kedua senyawa tersebut adalah senyawa yang banyak ditemukan pada krim pemutih wajah. Uji selektifitas ini ditentukan berdasarkan nilai % kesalahan.

4.3.1 Pengaruh Asam Askorbat

Uji selektifitas ini dilakukan dengan menambahkan asam askorbat pada berbagai konsentrasi. Akan tetapi, uji selektifitas dengan penambahan asam askorbat dalam penelitian ini belum dilakukan. Namun, pengaruh asam askorbat terhadap prinsip penelitian dapat diperkirakan melalui studi literatur.

Diketahui bahwa asam askorbat merupakan salah satu bahan yang terdapat di dalam krim pemutih wajah. Selain itu, asam askorbat memiliki sifat yang sama dengan hidrokuinon yaitu sebagai agen pereduksi. Prinsip percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah hidrokuinon mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} seperti pada **gambar 4.2.1a**. Sehingga, penambahan asam askorbat ditujukan untuk mengetahui pengaruh asam askorbat terhadap kerja hidrokuinon untuk proses reduksi Fe(III) menjadi Fe(II).

Asam askorbat atau disebut juga sebagai vitamin C, memiliki sifat sebagai antioksidan. Berdasarkan metode penentuan *Ferric Reduction Activity Potential* (FRAP) yaitu proses reduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} dikarenakan adanya aktivitas antioksidan. Pada penelitian tersebut, Jatmika, dkk (2015) menyatakan bahwa nilai FRAP asam askorbat adalah yang paling kecil dibandingkan dengan sampel antioksidan lainnya. Semakin kecil nilai FRAP maka kemampuan antioksidan senyawa tersebut untuk mereduksi Fe^{3+} semakin besar[52]. Kemampuan asam askorbat sebagai agen pereduksi disebabkan oleh adanya ikatan ganda antar C2 dan C3 pada cincin lakton karbon tersebut[53]. Menurut penelitian pengukuran hidrokuinon berdasarkan pembentukan kompleks besi(II)-fenantrolin dengan metode *flow injection analysis* (FIA) oleh Alqibtiyah (2019) bahwa asam askorbat mengganggu ketika konsentrasi asam askorbat yang ditambahkan lebih dari 1% [28]. Oleh karena itu, Asam askorbat diperkirakan dapat mengganggu penentuan hidrokuinon pada metode μ PAD ini. Hal ini dikarenakan asam askorbat merupakan agen pereduksi kuat yang juga dapat mereduksi Fe^{3+} sehingga, akan mempengaruhi banyaknya jumlah Fe^{3+} yang tereduksi. Tingkat selektifitas dari metode μ PAD dapat ditentukan berdasarkan nilai %kesalahan, maka pada uji ini diharapkan nilai %kesalahan yang diperoleh adalah $\leq 5\%$ sehingga selektifitas metode μ PAD ini dapat diterima.

4.3.2 Pengaruh Niasinamida

Uji selektifitas pada penelitian ini, dilakukan dengan penambahan variasi konsentrasi niasinamida yaitu 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm. Kondisi kimia yang digunakan adalah fenantrolin 0,1%, $Fe(III)$ 100 ppm, dan hidrokuinon 50 ppm dan waktu penetesan niasinamida setelah pengeringan hidrokuinon 20 menit. Akan tetapi, penelitian ini belum dilakukan sehingga pengaruh niasinamida dapat diperkirakan melalui studi literatur.

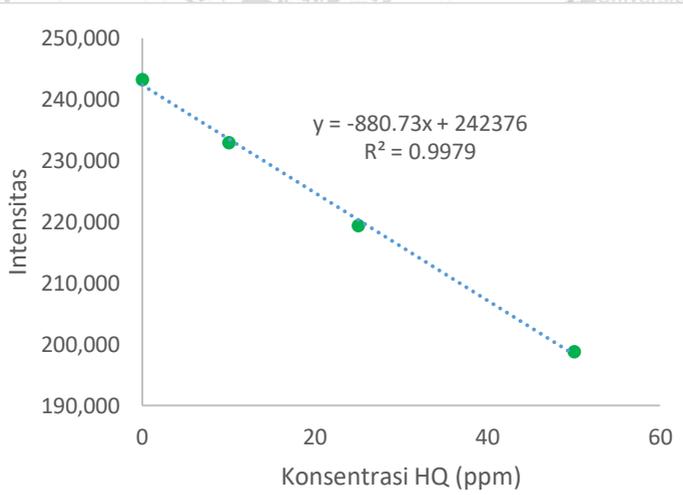
Niasinamida termasuk bahan yang juga banyak ditemukan pada krim pemutih. Senyawa ini memiliki fungsi yang sama dengan hidrokuinon untuk mengatasi masalah hiperpigmentasi, namun niasinamida memiliki struktur yang berbeda dengan hidrokuinon[38]. Selain itu, niasinamida tidak bersifat sebagai agen pereduksi seperti asam askorbat dan hidrokuinon. Sehingga, Niasinamida tidak akan mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Akan tetapi, atom N yang terdapat pada niasinamida memiliki pasangan elektron bebas yang dapat dipakai bersama dengan Fe^{2+} . Sehingga memungkinkan niasinamida untuk membentuk kompleks dengan besi (II). Akan tetapi, kemungkinan terbentuknya kompleks besi(II) dengan niasinamida diperkirakan tidak mempengaruhi pengukuran. Hal ini disebabkan niasinamida tidak meningkatkan jumlah besi (III) yang direduksi oleh hidrokuinon. Selain itu, besi(II) lebih cenderung membentuk kompleks dengan ligan fenantrolin. Hal ini disebabkan ligan fenantrolin merupakan ligan kuat. Menurut Alqibtiyah (2019) penambahan niasinamida dengan konsentrasi 0 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 30 ppm dan 50 ppm dengan metode FIA, tidak memberi pengaruh yang signifikan terhadap pengukuran hidrokuinon dengan nilai %kesalahan $< 5\%$ [28]. Oleh karena itu, Adanya penambahan senyawa niasinamida pada uji selektifitas ini, diperkirakan tidak akan mengganggu penentuan hidrokuinon. Metode μ PAD ini diharapkan memiliki selektifitas yang baik ditandai dengan nilai %kesalahan yang terukur $\leq 5\%$.

4.4. Penentuan Kisaran Hidrokuinon di dalam sampel

Hidrokuinon yang terdapat pada sampel krim pemutih wajah dapat ditentukan dengan metode μ PAD melalui kurva baku standar. Penentuan hidrokuinon di dalam sampel dilakukan dengan penggunaan kondisi yaitu fenantrolin 0,1%, Waktu reaksi 20 menit, dan $Fe(III)$ 100 ppm. Kurva baku hidrokuinon dibuat dengan larutan hidrokuinon pada variasi konsentrasi 0 ppm, 10 ppm, 25 ppm, dan 50 ppm. Kurva baku hidrokuinon ditunjukkan oleh **gambar 4.4** dibawah ini. Akan tetapi, penelitian ini belum melakukan pengukuran pada sampel krim pemutih wajah.

Pengukuran sederetan konsentrasi hidrokuinon menghasilkan kurva baku standar. Kurva baku hidrokuinon ditunjukkan oleh **gambar 4.4**, menghasilkan persamaan regresi dengan nilai koefisien korelasi (R^2) $\geq 0,9979$. Koefisien korelasi (R^2) yang mendekati 1 menunjukkan linieritas hubungan antara intensitas dan hidrokuinon standar yang terukur. Selain itu, konsentrasi hidrokuinon dapat ditentukan melalui persamaan regresi $y = -880,73x + 242376$ yang diperoleh pada **gambar 4.4**, melalui **persamaan 3.7**.

Pengukuran sederetan konsentrasi hidrokuinon standar ini dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Prinsip penentuan hidrokuinon ini adalah Semakin besar konsentrasi hidrokuinon pada sampel maka warna kompleks Fe(II)-fenantrolin yaitu merah-jingga akan semakin pekat. Hal ini, disebabkan oleh semakin banyak hidrokuinon yang mereduksi Fe(III) menjadi Fe(II) maka akan semakin banyak Fe(II) yang terbentuk. Tahap selanjutnya, besi (II) akan membentuk kompleks dengan ligan fenantrolin. Oleh karena itu, hidrokuinon dapat ditentukan dengan kurva pada **gambar 4.4** di bawah serta diharapkan mampu menentukan kadar hidrokuinon dengan %RSD yaitu $< 2\%$.



Gambar 4.4 Kurva baku standar hubungan Intensitas dan konsentrasi HQ standar

Pada **gambar 4.4** terjadi penurunan intensitas green terhadap kenaikan konsentrasi HQ. Menurut Bustomi,dkk (2014) nilai indeks warna RGB yang tinggi menunjukkan citra semakin terang. Sebaliknya nilai indeks warna RGB yang rendah menunjukkan citra tersebut akan semakin gelap[51]. Suatu citra yang terang terbentuk karena pengaruh warna putih yang lebih banyak, sedangkan citra yang gelap disebabkan adanya warna hitam. Pada kurva diatas, HQ 0 ppm (blanko) memiliki indeks *green* tertinggi. Hal ini terjadi karena, pada blanko tidak terbentuk warna apapun (cenderung putih). Sehingga, indeks *green* menjadi tinggi. Sebaliknya, indeks *green* terendah adalah 50 ppm, dikarenakan terbentuknya warna merah jingga yang lebih pekat (cenderung gelap). Sehingga, pada HQ 50 ppm memiliki indeks *green* terendah. Semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin rendah indeks warna *green*/intensitas warna. Oleh karena itu, intensitas warna akan berbanding terbalik dengan konsentrasi.

4.5 Validitas Metode

Uji validitas metode diperlukan untuk menentukan keakuratan data hasil suatu metode. Melalui, uji ini dapat diketahui kedekatan hasil analisis suatu metode terhadap nilai analit yang sebenarnya. Maka, penentuan hidrokuinon dengan teknik μ PAD pada penelitian ini, harus dilakukan uji validitas. Sehingga, data yang diperoleh melalui metode μ PAD dapat diterima. Uji validitas yang digunakan pada penelitian ini didasarkan pada nilai linieritas, presisi, akurasi, LOD dan LOQ.

4.5.1 Uji Linieritas

Salah satu penentuan validitas metode pada penelitian ini adalah melalui uji linieritas. Uji linieritas yang dilakukan dengan membuat kurva baku standar. Kurva tersebut adalah kurva hubungan intensitas dan konsentrasi HQ sehingga akan diperoleh persamaan regresi $y = ax + b$ dan nilai koefisien korelasi (R^2). Menurut Lestari,dkk (2011) nilai $R^2 > 0,99$ menunjukkan linieritas kurva yang sangat baik[54]. Pada kurva baku standar **gambar 4.4**, diketahui bahwa persamaan regresi yang diperoleh adalah $y = -880,73x + 242376$ dan

nilai koefisien korelasi (R^2) $\geq 0,9979$. Hasil kurva baku pada penelitian ini memiliki linieritas yang sangat baik yang ditandai dengan nilai $R^2 \geq 0,9979$ atau mendekati 1.

4.5.2 Presisi (Ketelitian)

Presisi (ketelitian) merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian hasil pengukuran setiap pengulangan. Nilai ketelitian ini dinyatakan sebagai %RSD (*relative standard deviation*)[47]. Pada penelitian ini, pengukuran dilakukan tiga kali pengulangan untuk setiap konsentrasi HQ standar. Maka, presisi ditentukan untuk menentukan presisi kurva baku standar hidrokuinon. Pada **tabel 4.5.2**, diperoleh nilai %RSD untuk setiap ulangan pengukuran konsentrasi. Pada **lampiran D.4** dapat dilihat hasil perhitungan SD dan %RSD HQ standar. %RSD yang diperoleh berkisar pada rentang 0,47-2,3% untuk presisi pengukuran HQ standar dengan metode μ PAD. Nilai %RSD $\leq 2\%$ menunjukkan bahwa pengukuran memiliki ketelitian yang baik.

Tabel 4.5.2 Hasil pengukuran %RSD konsentrasi HQ standar tanpa sampel

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata	%RSD
	1	2	3		
0	246.075	243.651	240.149	243.292	1,225
10	234.721	236.588	227.690	233.000	2,014
25	220.546	219.296	218.467	219.436	0,477
50	201.612	201.612	193.517	198.914	2,350

4.5.3 Akurasi (Ketepatan)

Akurasi atau ketepatan adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Ukuran akurasi ditentukan berdasarkan %*recovery*[47]. Melalui, penambahan senyawa pengganggu dapat ditentukan akurasi pada penelitian ini. Senyawa pengganggu yang digunakan pada penelitian ini adalah asam askorbat dan niasinamida. Asam askorbat dan niasinamida

ditambahkan dengan berbagai konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm. Kondisi kimia yang digunakan adalah fenantrolin 0,1%, HQ 50 ppm, Besi(III) 100 ppm dan waktu reaksi 20 menit. Akan tetapi, pengujian dengan penambahan senyawa pengganggu belum dilakukan pada penelitian ini. Sehingga, nilai %recovery belum dapat ditentukan untuk mengetahui akurasi metode μ PAD untuk penentuan hidrokuinon pada penelitian ini.

4.5.4 LOD dan LOQ

LOD (limit of detection) digunakan untuk menentukan kadar analit terkecil yang dapat dideteksi. Sedangkan LOQ (limit of quantification) adalah jumlah analit terkecil yang masih dapat dideteksi dan memenuhi kriteria presisi dan akurasi. LOD dan LOQ dapat dihitung melalui persamaan regresi linier kurva baku standar[47]. Nilai LOD yang diperoleh dari penelitian ini adalah 11,404 ppm sehingga, analit terkecil yang dapat di deteksi adalah 11,404 ppm. Sedangkan, LOQ sebesar 38,013 ppm. Hasil ini diperoleh melalui perhitungan yang dapat dilihat pada **lampiran D.5**

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Penentuan hidrokuinon di dalam sampel krim pemutih wajah dengan metode μ PAD berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa, kondisi optimum yang diperoleh pada optimasi konsentrasi fenantrolin adalah 0,1%. Sedangkan waktu optimum terbentuknya kompleks Fe(II)-fenantrolin pada waktu 5 menit dan waktu maksimumnya adalah 20 menit. Persamaan regresi diperoleh $y = -880,73x + 242376$ dengan nilai R^2 sebesar 0,9979 melalui kurva baku standar hidrokuinon. Uji linieritas diperoleh bahwa kurva baku standar HQ memiliki linieritas yang sangat baik serta presisi dengan %RSD berkisar antara 0,4-2,3%.

5.2 Saran

Saran dalam penelitian ini, yaitu:

1. Penelitian ini perlu dipelajari lebih lanjut, untuk mengetahui waktu optimum reaksi antara Fe(II) dengan fenantrolin membentuk senyawa Fe(II)-fenantrolin yang berwarna merah-jingga pada kertas μ PAD dengan rentang waktu yang lebih lama sehingga waktu optimum dapat ditentukan lebih akurat.
2. Pengujian penambahan pengaruh senyawa pengganggu perlu dilakukan untuk mengetahui selektifitas metode μ PAD dalam menentukan hidrokuinon dalam sampel serta mengetahui validasi metode μ PAD yang ditinjau berdasarkan linieritas presisi, akurasi, LOD dan LOQ
3. Penelitian ini belum menentukan konsentrasi hidrokuinon pada sampel krim pemutih wajah. Sehingga, perlu melakukan pengukuran sampel krim pemutih wajah untuk menentukan konsentrasi hidrokuinon yang terkandung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Retno Haryanti, Auliya Suwantika, M. A. (2013). ARTIKEL ULASAN: Tinjauan Bahan Berbahaya Dalam Krim Pencerah Kulit. *Farmaka*, 4, 1–15.
2. Yumas, M. (2016). Formulasi Sediaan Krim Wajah Berbahan Aktif Ekstrak Metanol Biji Kakao Non Fermentasi (Theobroma cacao L) Kombinasi Madu Lebah. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 11(2), 75–87. <https://doi.org/10.33104/jihp.v11i2.3414>
3. Riski, R. dkk. (2017). Formulasi Krim Pemutih dari Fitosom Ekstrak Daun Murbei (Morus alba L.). *Jf Fik Unam*, 5(4), 233–238.
4. Lubis, E. S., Lubis, L. S., & Reveny, J. (2012). Pelembab Kulit Alami Dari Sari Buah Jeruk Bali [Citrus maxima (Burm .) Osbeck] Natural Skin Moisturizer From Pomelo Juice [Citrus maxima (Burm .) Osbeck]Lubis, Lubis, E.S., Lubis, L.S. & Reveny, J., 2012. Pelembab Kulit Alami Dari Sari Buah Jeruk Ba. *Journal of Pharmaceutics and Pharmacology*, 1(2), 104–111.
5. Nur Hayati. (2013). Analisis merkuri dalam sediaan krim “a” dan “b” (tidak terdaftar) yang dibeli melalui internet (secara. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya Vol.2 No.2 (2013)*, 2(2), 1–12.
6. M., L. D., & INHS, C. (2015). Penetapan Kadar Hidrokuinon pada Krim Pemutih Wajah A dan B dengan Metode Kolorimetri. *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan*, 2(1), 0–3.
7. Astuti, D. W., Prasetya, H. R., & Irsalina, D. (2016). Identifikasi Hidroquinon pada Krim Pemutih Wajah yang Dijual di Minimarket Wilayah Minomartani , Yogyakarta. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 2(445), 13–19.

8. Azmalina Adriani dan Rifa Safira. (2018). Analisa Hidrokuinon Dalam Krim Dokter Secara Spektrofotometri UV-VIS, *6*(2), 103–113.
9. Mawaddah, M., Susilawati, Y., Farmasi, F., Padjadjaran, U., & Taya, K. B. (n.d.). Potensi Tumbuhan Sebagai Whittening Agent, *16*, 598–605.
10. Indriaty, S., Hidayati, N. R., & Bachtiar, A. (2018). Bahaya Kosmetika Pemutih yang Mengandung Merkuri dan Hidroquinon serta Pelatihan Pengecekan Registrasi Kosmetika di Rumah Sakit Gunung Jati Cirebon. *Jurnal Surya Masyarakat*, *1*(1), 8. <https://doi.org/10.26714/jsm.1.1.2018.8-11>
11. Widia I., marline A., A. Y. C. dan taufik R. (2018). Paper-Based Analytical Device For Detection Of Metal, Non Metal, And Organic Pollutants : Review, *16*, 213–221.
12. Garnier, G., & Then, W. L. (2018). *PAPER MICROFLUIDICS: Applications And Perspectives*. <https://doi.org/10.15376/frc.2013.2.541.PAPER>
13. Singh, A. T., Lantigua, D., Meka, A., Taing, S., Pandher, M., & Camci-Unal, G. (2018). Paper-based sensors: Emerging themes and applications. *Sensors (Switzerland)*, *18*(9), 1–22. <https://doi.org/10.3390/s18092838>
14. Mohamed, M., Alhibani, O., Sulistyarti, H., & Sabarudin, A. (2019). Flow Injection – Indirect Spectrophotometry for Hydroquinone Analysis Based on the Formation of Iron (II) - Phenanthroline Complex, *8*(October), 208–216. <https://doi.org/10.21776/ub.jpacr.2019.008.03.478>
15. Anjarsari, N., & Djarot, R. (2015). Analisa Gangguan Ion Merkuri(II) terhadap Kompleks Besi(II)-Fenantrolin Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Sains Dan Seni Its*, *4*(2), 5–8.

16. A.K.Mohiuddin. (2019). An Extensive Review of Cosmetics in Use. *American Journal of Dermatological Research and Reviews*, 2(7), 1–40. <https://doi.org/10.28933/ajodrr-2019-05-2001>
17. Arifiyana, D., Harjanti, H., Sri, Y., Ebtavanny, E., & Gusti, T. (2019). Analisis Kuantitatif Hidrokuinon pada Produk Kosmetik Krim Pemutih yang Beredar di Wilayah Surabaya Pusat dan Surabaya Utara dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Akta Kimia Indonesia*, 4(2), 107. <https://doi.org/10.12962/j25493736.v4i2.5532>
18. J. N., O. (2015). Possible Health Implications Associated with Cosmetics: A Review. *Science Journal of Public Health*, 3(5), 58. <https://doi.org/10.11648/j.sjph.s.2015030501.21>
19. Briliani, Rizka Asri, D. (2016). Analisis Kecenderungan Pemilihan Kosmetik Wanita Di Kalangan Mahasiswi Jurusan Stastistika Universitas Dipenegoro Menggunakan Biplot Komponen Utama. *Jurnal Gaussian*, 5, 545–551. Retrieved from <http://ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/gaussian>
20. Enguita, F. J., & Leitão, A. L. (2013). Hydroquinone: Environmental pollution, toxicity, and microbial answers. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/542168>
21. Davids, L. M., Van Wyk, J., Khumalo, N. P., & Jablonski, N. G. (2016). The phenomenon of skin lightening: Is it right to be light? *South African Journal of Science*, 112(11–12), 1–5. <https://doi.org/10.17159/sajs.2016/20160056>
22. Elferjani, H. S. (2017). Penentuan Hydroquinone di Beberapa Farmasi dan Kosmetik Persiapan dengan Metode Spektrofotometri.
23. Mulyasuryani, A., & Savitri, A. (2015). Penentuan Hidrokuinon dalam Sampel Krim Pemutih Wajah secara Voltammetri Menggunakan Screen Printed Carbon Electrode (SPCE). *Jurnal Kimia VALENSI*, 1(November), 97–102. <https://doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3145>



24. Osman, H. M., Shayoub, M. E., Ahmed, M. M. E., & Babiker, E. M. (2015). Assessment of Using Cosmetics Containing Hydroquinone among Sudanese Women. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 05(02), 73–77. <https://doi.org/10.4236/jcdsa.2015.52009>
25. Handayani, F. W., Muhtadi, A., Farmasi, F., Padjadjaran, U., Dara, T., Manis, K., & Aktif, S. (2013). Review Artikel: Herbal potensial Sebagai Anti Hiperpigmentasi. *Farmaka*, 4, 1–15.
26. Odumosu, P. O., & Ekwe, T. O. (2010). Identification and spectrophometric determination of hydroquinone levels in some cosmetic creams. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(5), 231–234.
27. Irnawati, Sahumena, M. H., & Dewi, W. O. N. (2016). Analisis Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Wajah Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Pharmacon*, 5(3), 229–237.
28. Alqibthiyah, K. H., Kimia, J., Matematika, F., Ilmu, D. A. N., Alam, P., & Brawijaya, U. (2019). Analisis Hidrokuinon dalam Sediaan Larutan Pencerah Wajah Menggunakan Metode Flow Injection Analysis (FIA) – Spektrofotometri Analisis Hidrokuinon dalam Sediaan Larutan Pencerah Wajah Menggunakan Metode Flow Injection Analysis.
29. Sulistryarti, H. (2017). *Kimia Analisa Dasar Untuk Analisis Kualitatif*. Universitas Brawijaya Press.
30. Guin, P. S., Das, S., & Mandal, P. C. (2011). Electrochemical Reduction of Quinones in Different Media: A Review. *International Journal of Electrochemistry*, 2011, 1–22. <https://doi.org/10.4061/2011/816202>
31. Jiang, C., Garg, S., & Waite, T. D. (2015). Hydroquinone-Mediated Redox Cycling of Iron and Concomitant Oxidation of Hydroquinone in Oxidic Waters under Acidic Conditions: Comparison with Iron-Natural Organic Matter Interactions. *Environmental Science and Technology*, 49(24), 14076–14084. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03189>

32. Hwang, W. (2010). Standardization and Application Of Spectrophotometric Method For Reductive Capacity Measurement Of Nanomaterial (Thesis). *mechanical Engineering, Texas A&M University*, 29(14), 235–246.
33. Sulistya, E. (2016). Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks Zn (II) -8-Hidroksikuinolin. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19(3), 94–98.
34. Zakiah, fathiana dini, & Djulia, O. (2005). Sintesis Dan Karakterisasi Senyawa Kompleks Besi (II) Dengan Ligan Karakterisasi Hasil Sintesis Senyawa Kompleks Besi (II) Sintesis Senyawa Kompleks Besi (II) dengan, 7(1), 16–20.
35. Male, Y. T., Tehubijuluw, H., & Pelata, P. M. (2013). Synthesis Of Binuclear Complex Compound Of { [Fe (L) (NCS) 2] 2 oks } (L = Sintesis Senyawa Kompleks Berinti Ganda, (L), 15–22.
36. Budianti, T., Sugiarto K. S., R. D., & Suprpto, S. (2017). Analisis Perbandingan Pengaruh Campuran ION Cu²⁺ dan Ni²⁺ Pada Penentuan Kadar Fe Sebagai Fe(II)-Fenantrolin. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 6(2), 2–7. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v6i2.27571>
37. Kembuan, M. V., Wangko, S., & Tanudjaja, G. N. (2013). Peran Vitamin C Terhadap Pigmentasi Kulit. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 4(3). <https://doi.org/10.35790/jbm.4.3.2012.1215>
38. Amanto, B. S., Ishartani, D., & Nurulaini, A. (2016). Kinetika Degradasi L-Asam Askorbat Pada Proses Pasteurisasi Puree Jambu Biji (Psidium guajava) Varietas Getas Merah, IX(1), 62–70.
39. Mohiuddin, A. (2016). Skin Lightening & Management of Hyperpigmentation AK. *International Journal for Research in Biology & Pharmacy Research*, 2(3), 58–66.

40. Lisowski, P., & Zarzycki, P. K. (2013). Microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) and micro total analysis systems (μ TAS): Development, applications and future trends. *Chromatographia*, 76(19–20), 1201–1214. <https://doi.org/10.1007/s10337-013-2413-y>
41. Cate, D. M., Dungchai, W., Cunningham, J. C., Volckens, J., & Henry, C. S. (2013). Simple, distance-based measurement for paper analytical devices. *Lab on a Chip*, 13(12), 2397–2404. <https://doi.org/10.1039/c3lc50072a>
42. Martinez, A. W. (2011). Microfluidic paper-based analytical devices: From POCKET to paper-based ELISA. *Bioanalysis*, 3(23), 2589–2592. <https://doi.org/10.4155/bio.11.258>
43. Abdollahi-Aghdam, A., Majidi, M. R., & Omid, Y. (2018). Microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) for fast and ultrasensitive sensing of biomarkers and monitoring of diseases. *BioImpacts*, 8(4), 237–240. <https://doi.org/10.15171/bi.2018.26>
44. Gao, B., Chi, J., Liu, H., & Gu, Z. (2017). Vertical Paper Analytical Devices Fabricated Using the Principles of Quilling and Kirigami. *Scientific Reports*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07267-9>
45. Liu, S., Su, W., & Ding, X. (2016). A Review on Microfluidic Paper-Based Analytical Devices for Glucose Detection. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 16(12). <https://doi.org/10.3390/s16122086>
46. Lim, H., Jafry, A. T., & Lee, J. (2019). Fabrication, flow control, and applications of microfluidic paper-based analytical devices. *Molecules*, 24(16), 1–32. <https://doi.org/10.3390/molecules24162869>
47. Tee-Ngam, P., Nunant, N., Rattanasat, P., Siangproh, W., & Chailapakul, O. (2013). Simple and rapid determination of ferulic acid levels in food and cosmetic samples using paper-based platforms. *Sensors (Switzerland)*, 13(10), 13039–13053. <https://doi.org/10.3390/s131013039>

48. Ferreira, T., & Rasband, W. (2012). ImageJ User Guide User Guide ImageJ. *Image J user Guide*.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>
49. Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *jurnal ilmu kefarmasian*, 3(1), 117–135.
50. Bao, J., Li, T., & Ren, B. (2018). Determination of wastewater color by integral spectrophotometry based on complementary color, *120(Ifeesm 2017)*, 1249–1253.
<https://doi.org/10.2991/ifeesm-17.2018.228>
51. Bustomi, M. A., & Dzulfikar, Z. (2014). Analisis Distribusi Intensitas RGB Citra Digital untuk Klasifikasi Kualitas Biji Jagung menggunakan Jaringan Syaraf Tiruan, 127–132.
52. Jatmika, C., & Maggadani, B. P. (2015). Evaluasi Aktivitas Antioksidan Senyawa 4- [(E) -2- (4-okso- Analognya Abstrak, 2(3).
53. Febrianti, N., Yuniato, I., & Dhaniaputri, R. (2015). Kandungan Antioksi dan Asam Askorbat pada Jus Buah-Buahan Tropis, 3(1), 6–9.
54. Pudji Lestari, Sabikis, P. I. U. (2011). Analisis Natrium Nitrit Secara Spektrofotometri Visibel Dalam Daging Burger Yang Beredar di Swalayan Purwokerto, 08(03), 88–98.

LAMPIRAN

Lampiran A . Tahapan Penelitian

Pengumpulan alat dan bahan

Pembuatan larutan:

- 1.larutan Stok Hidrokuinon 1000 ppm
2. larutan $FeCl_3$ 100 ppm
3. larutan Fenantrolin 0,5%
4. larutan stok asam askorbat 100 ppm
5. larutan stok niasinamida 100 ppm

Penentuan Kondisi Optimum

Waktu pengeringan
sebelum dilakukan

Konsentrasi
fenantrolin

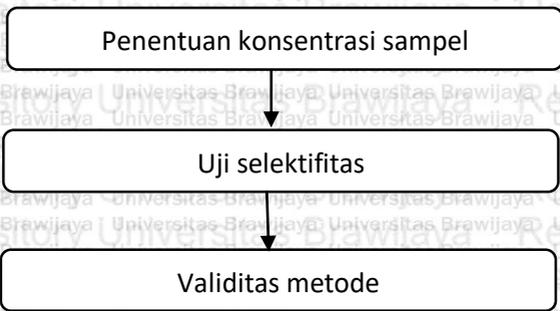
Analisis nilai RGB

Pembuatan Kurva baku Hidrokuinon

Preparasi Sampel Krim pemutih wajah

Lampiran B. Prosedur Kerja

B. 1 Prosedur pembuatan larutan Fe(II)

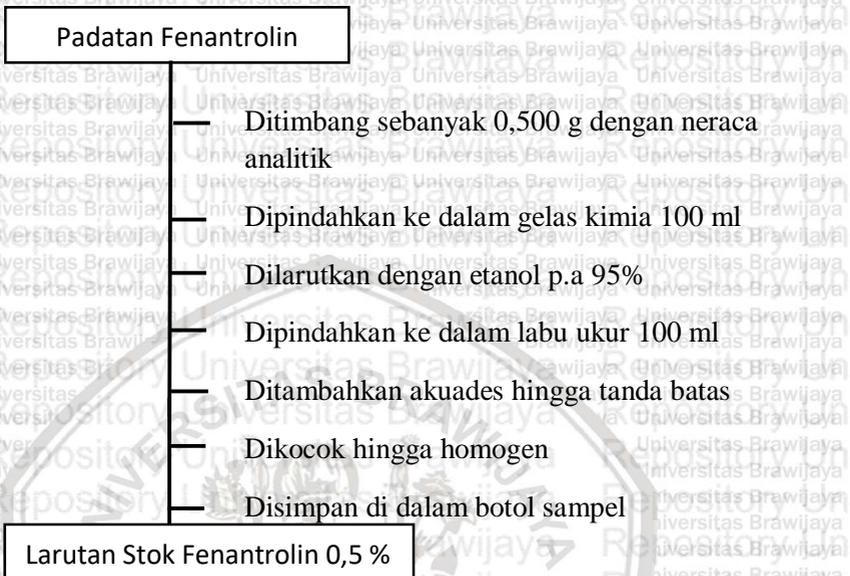


Larutan FeCl₃

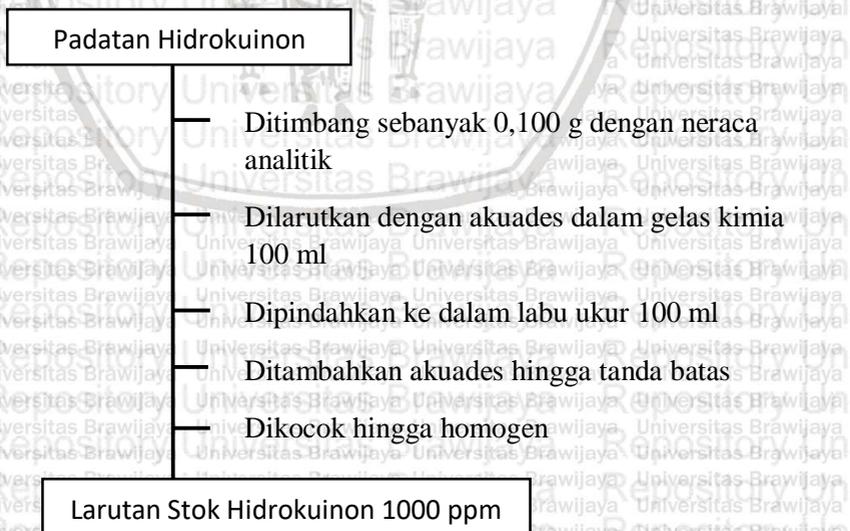
- Ditimbang sebanyak 0,0290 g dengan neraca analitik
- Ditambahkan HCl p.a sebanyak tiga tetes
- Dilarutkan dengan akuades pada gelas kimia 100 ml
- Diukur pH larutan
- Dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml
- Ditambahkan akuades hingga tanda batas
- Dikocok hingga homogen
- Disimpan dalam larutan botol coklat

Larutan FeCl₃ 100 ppm

B. 2 Pembuatan Larutan Stok Fenantrolin 0,5%



B. 3 Pembuatan Larutan Stok Hidrokuinon 1000 ppm



B. 4 Pembuatan Larutan Stok Asam Askorbat 100 ppm

Padatan Asam Askorbat

- Ditimbang sebanyak 0,100 g dengan neraca analitik
- Dilarutkan dengan akuades dalam gelas kimia 100 ml
- Dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml
- Ditambahkan akuades hingga tanda batas
- Dikocok hingga homogen

Larutan stok asam askorbat 100 ppm

B. 5 Pembuatan Larutan Stok Niasinamida 100 ppm

Padatan Niasinamida

- Ditimbang sebanyak 0,100 g dengan neraca analitik
- Dilarutkan dengan akuades dalam gelas kimia 100 ml
- Dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml
- Ditambahkan akuades hingga tanda batas
- Dikocok hingga homogen

Larutan Stok Niasinamida 100 ppm

Lampiran C Perhitungan Pembuatan Larutan

C. 1 Perhitungan Larutan Fe(II) 100 ppm

Larutan FeCl₃ 100 ppm dibuat dari padatan FeCl₃ dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Kadar (ppm)} = \frac{\text{Massa Fe (mg)}}{\text{Volume Larutan (L)}}$$

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{Massa Fe (mg)}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{Massa FeCl}_3 = 10 \text{ mg} = 0,01 \text{ g}$$

Massa FeCl₃ yang dibutuhkan adalah

$$\text{Massa FeCl}_3 = \frac{\text{Mr FeCl}_3}{\text{Ar Fe}} \times \text{Massa Fe}$$

$$\text{Massa FeCl}_3 = \frac{162,5 \text{ g/mol}}{56 \text{ g/mol}} \times 0,01 \text{ g}$$

$$\text{Massa FeCl}_3 = 0,0290 \text{ g}$$

C. 2 Perhitungan Pembuatan Larutan Fenantrolin 0,5%

Larutan Fenantrolin 0,5% sebanyak 100 ml dengan pelarut etanol 95% : akuades (1 : 9) berdasarkan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi Fenantrolin} = \frac{\text{Massa Fenantrolin (g)}}{100 \text{ mL}} \times 100 \%$$

$$0,5 \% = \frac{\text{Massa Fenantrolin (g)}}{100 \text{ mL}} \times 100 \%$$

$$\text{Massa Fenantrolin} = 0,5 \text{ g}$$

Larutan Fenantrolin dengan berbagai konsentrasi dibuat dengan cara melakukan pengenceran larutan stok Fenantrolin 0,5 % berdasarkan perhitungan sebagai berikut :



$$V_1 \times M_2 = V_2 \times M_1$$

$$V_1 \times 0,5 \% = 100 \text{ mL} \times 0,4 \%$$

$$V_1 = \frac{25 \text{ mL} \times 0,4 \%}{0,5 \%}$$

$$V_1 = 20 \text{ mL}$$

Larutan standar fenantrolin dengan konsentrasi yaitu 0,4% ; 0,3% ; 0,2% ; dan 0,1 % dapat dibuat dengan volume larutan seperti pada tabel C.2 berikut ini :

Tabel C.2 Pembuatan Variasi Larutan Fenantrolin

V ₁	M ₁	V ₂	M ₂
10	0,5	50	0,1
20	0,5	50	0,2
30	0,5	50	0,3
40	0,5	50	0,4

C. 3 Perhitungan Pembuatan Larutan Hidrokuinon

C.3.1 Larutan Stok Hidrokuinon 1000 ppm

Larutan hidrokuinon 1000 ppm dibuat berdasarkan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Kadar (ppm)} = \frac{\text{Massa hidrokuinon (mg)}}{\text{Volume Larutan (L)}}$$

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{Massa hidrokuinon (mg)}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{Massa Hidrokuinon} = 100 \text{ mg} = 0,1 \text{ g}$$

Larutan standar hidrokuinon 500 ppm dapat dibuat melalui pengenceran larutan stok hidrokuinon 1000 ppm dengan menggunakan akuades berdasarkan perhitungan sebagai berikut:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 100 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = \frac{50 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 25 \text{ mL}$$

Larutan standar hidrokuinon pada berbagai konsentrasi yaitu 500 ppm, 250 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 30 ppm dan 10 ppm dapat dibuat dengan cara pengenceran larutan stok hidrokuinon 1000 ppm berdasarkan perhitungan volume larutan sesuai dengan tabel C.3 berikut ini:

Tabel C.3 Pembuatan Variasi Konsentrasi HQ standar

V ₁ (mL)	M ₁ (ppm)	V ₂ (mL)	M ₂ (ppm)
0,5	1000	50	10
1,25	1000	50	25
2,5	1000	50	50
3,75	1000	50	75
5	1000	50	100
12,5	1000	50	250
25	1000	50	500
37,5	1000	50	750

C. 4 larutan Stok Asam Askorbat 100 ppm

Pembuatan larutan stok asam askorbat 100 ppm dilakukan dengan perhitungan sebagai berikut ini:

$$\text{Kadar (ppm)} = \frac{\text{massa asam askorbat (mg)}}{\text{Volume larutan (L)}}$$

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{massa asam askorbat (mg)}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{Massa asam askorbat} = 10 \text{ mg} = 0,1 \text{ g}$$

C. 5 Larutan Stok Niasinamida 100 ppm

Larutan niasinamida 100 ppm dibuat melalui perhitungan sebagai berikut ini:

$$\text{Kadar (ppm)} = \frac{\text{massa niasinamida (mg)}}{\text{volume larutan (L)}}$$

$$100 \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{\text{massa niasinamida (mg)}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{Massa niasinamida} = 10 \text{ mg} = 0,01 \text{ g}$$

Lampiran D. Data Hasil Penelitian

D. 1 Data Penentuan Konsentrasi Optimum Fenantrolin

D.1.1 Data Hasil Pengukuran Intensitas *Green* Terhadap Konsentrasi Fenantrolin

Intensitas warna (indeks warna *green*) terhadap variasi konsentrasi fenantrolin diukur dengan kondisi yaitu Fe^{3+} 100 ppm, HQ 50 ppm. Sehingga, diperoleh hasil pengukuran intensitas warna dengan tiga kali ulangan sebagai berikut:

Tabel D.1.1.1 Hubungan Variasi Konsentrasi Fenantrolin Terhadap Intensitas Warna (Indeks Warna *Green*)

Konsentrasi fenantrolin(%)	Intensitas Green
0.1	198.914
0.2	194.888
0.3	189.862
0.4	201.924
0.5	197.912

Hasil pengukuran intensitas dengan tiga kali ulangan setiap konsentrasi fenantrolin dengan kondisi Fe^{3+} 100 ppm dan HQ 50 ppm ditunjukkan pada tabel berikut ini:

Tabel D.1.2 Data hasil pengukuran intensitas *green* terhadap variasi konsentrasi fenantrolin

Fenantrolin (%)	Intensitas			Rata-rata
	1	2	3	
0,1	201.612	201.612	193.517	198.914
0,2	197.577	193.331	193.756	194.888
0,3	189.701	200.998	178.887	189.862
0,4	204.025	201.990	199.758	201.924
0,5	191.891	195.812	206.032	197.912

*tiga kali ulangan

Nilai rata-rata intensitas pada tabel D.1.2 diperoleh melalui perhitungan sebagai berikut:

$$\text{rata - rata} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n}$$

- Rata-rata 0,1% = $\frac{201.612 + 201.612 + 193.517}{3} = 198.914$
- Rata-rata 0,2% = $\frac{197.577 + 193.331 + 193.756}{3} = 194.888$
- Rata-rata 0,3% = $\frac{189.701 + 200.998 + 178.887}{3} = 189.862$
- Rata-rata 0,4% = $\frac{204.025 + 201.990 + 199.758}{3} = 201.924$
- Rata-rata 0,5% = $\frac{191.891 + 195.812 + 206.032}{3} = 197.912$

D.1.2 Data Hasil Pengukuran Sederetan HQ standar pada kondisi Variasi Konsentrasi Fenantrolin

Sederetan konsentrasi hidrokuinon standar diukur dengan kondisi kimia yaitu Fe^{3+} 100 ppm, waktu 20 menit dan variasi konsentrasi fenantrolin yaitu 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% dan 0,5%. Hasil pengukuran intensitas warna (*green* dan *blue*) diperoleh sebagai berikut:

Tabel D.1.2.1 Intensitas *green* HQ pada kondisi variasi Fenantrolin

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	246.075	243.651	240.149	243.292
10	234.721	236.588	227.690	233.000
25	220.546	219.296	218.467	219.436
50	201.612	201.612	193.517	198.914
75	200.811	192.716	198.496	197.341
100	196.644	196.711	199.031	197.462
250	194.968	194.450	198.289	195.902
500	194.861	205.607	189.188	196.552
750	188.866	192.576	204.660	195.367
1000	203.271	184.155	193.734	193.720

*kondisi fenantrolin 0,1%

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	240.075	239.062	242.924	240.687
10	233.295	233.638	234.524	233.819
25	217.872	216.915	219.755	218.181
50	197.577	193.331	193.756	194.888
75	190.227	190.412	190.392	190.344
100	183.541	187.144	185.387	185.357
250	191.286	183.720	185.011	186.672
500	185.165	184.581	181.962	183.903
750	186.732	183.175	183.306	184.404
1000	190.204	187.732	183.135	187.024

*Kondisi Fenantrolin 0,2%

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	223.745	245.581	234.968	234.765
10	218.407	235.340	225.982	226.576
25	199.358	219.752	227.966	215.692
50	189.701	200.998	178.887	189.862
75	180.945	184.909	192.147	186.000
100	178.525	181.566	187.480	182.524
250	181.876	181.570	173.861	179.102
500	160.572	181.138	187.335	176.348
750	176.451	180.245	190.519	182.405
1000	170.712	184.152	165.308	173.391

*Kondisi Fenantrolin 0,3%

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	244.071	242.811	241.452	242.778
10	233.345	230.413	231.112	232.229
25	226.668	203.871	219.876	223.272
50	204.025	201.990	199.758	201.924
75	193.266	190.466	182.037	188.590
100	184.075	182.749	188.706	185.177
250	184.444	182.532	189.912	185.629
500	185.009	183.337	186.970	185.105
750	179.470	186.747	192.855	186.357
1000	186.302	192.428	194.373	191.034

*Kondisi Fenantrolin 0,4%

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	240.143	243.763	236.996	240.301
10	231.495	231.163	231.524	231.394
25	217.801	217.878	220.932	218.870
50	191.891	195.812	206.032	197.912
75	188.303	190.803	194.696	191.267
100	189.105	186.980	180.616	185.567
250	189.265	187.978	181.603	186.282
500	186.194	186.880	186.507	186.527
750	188.179	181.108	177.803	182.363
1000	187.041	180.191	186.002	184.411

*Kondisi Fenantrolin 0,5%

Tabel D.1.2.2 Intensitas *blue* HQ pada kondisi variasi Fenantrolin

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	243.559	241.137	238.987	241.228
10	233.529	235.233	228.705	232.489
25	220.490	219.666	220.152	220.103
50	202.814	202.814	195.643	200.424
75	201.310	194.046	200.631	198.662
100	197.554	198.327	201.006	198.962
250	195.837	196.350	199.990	197.392
500	196.232	207.851	191.125	198.403
750	190.121	194.679	207.085	197.295
1000	205.020	185.783	195.749	195.517

*Kondisi Fenantrolin 0,1%

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	238.090	235.848	239.359	237.766
10	231.852	231.704	233.305	232.287
25	218.003	217.479	218.970	218.151
50	198.420	194.695	194.705	195.940
75	191.204	191.423	191.086	191.238
100	184.710	188.670	186.443	186.608
250	192.737	185.586	186.210	188.178
500	186.878	186.128	183.117	185.374
750	188.488	184.621	184.744	185.951
1000	192.298	189.484	184.365	188.716

*Kondisi Fenantrolin 0,2%

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	216.760	242.734	231.762	230.419
10	214.003	233.399	224.949	224.117
25	196.479	219.615	227.250	214.448
50	187.545	201.692	179.123	189.453
75	178.797	186.450	193.270	186.172
100	176.031	183.073	189.474	182.859
250	179.724	183.279	175.112	179.372
500	159.453	182.951	188.921	177.108
750	175.308	181.866	192.778	183.317
1000	168.939	186.203	166.237	173.793

*Kondisi Fenantrolin 0,3%

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	240.101	241.767	240.145	240.671
10	232.366	192.606	231.499	231.933
25	225.668	203.639	220.888	223.278
50	205.066	202.576	201.137	202.926
75	194.589	191.827	182.643	189.686
100	185.431	183.521	189.750	186.234
250	185.583	183.642	191.450	186.892
500	186.498	184.677	188.450	186.542
750	181.054	188.469	194.688	188.070
1000	180.363	187.344	194.373	187.360

*Kondisi Fenantrolin 0,4%



HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	236.297	240.744	234.895	237.312
10	231.141	230.930	233.582	231.884
25	218.905	217.742	221.428	219.358
50	192.580	196.168	207.168	198.639
75	189.484	191.952	196.602	192.679
100	190.286	188.388	181.870	186.848
250	190.365	189.711	182.878	187.651
500	187.243	188.337	187.633	187.738
750	189.865	182.593	178.762	183.740
1000	188.831	182.189	187.254	186.091

*Kondisi Fenantrolin 0,5%

D.2 Data Hasil Penentuan Waktu Optimum

Waktu optimum ditentukan berdasarkan pengukuran intensitas warna (indeks warna *green*) dengan kondisi HQ 50 ppm, Fe 100 ppm dan Fenantrolin 0,1%. Berikut ini adalah tabel hubungan intensitas dengan variasi waktu:

Tabel D.2.1 Hubungan waktu dengan intensitas warna hasil pengukuran

Waktu (menit)	Intensitas
5	127,697
10	125,234
15	130,294
20	143



Hasil pengukuran intensitas green terhadap waktu dilakukan melalui tiga kali ulangan pengukuran untuk setiap waktu. Hasil pengukurannya adalah sebagai berikut:

Tabel D.2.2 Hasil Pengukuran intensitas terhadap waktu

Waktu(Menit)	Intensitas			Rata-rata
	1	2	3	
5	127,405	117,168	138,518	127,697
10	122,483	116,554	136,665	125,234
15	114,086	125,73	151,066	130,294
20	131	146	153	143

*tiga kali ulangan

Nilai rata-rata Intensitas pada tabel D.2.2. diatas diperoleh melalui perhitungan sebagai berikut:

$$rata - rata = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n}$$

- Rata-rata 5 menit = $\frac{127,405 + 117,168 + 138,518}{3} = 127,697$
- Rata-rata 10 menit = $\frac{122,483 + 116,554 + 136,665}{3} = 125,234$
- Rata-rata 15 menit = $\frac{114,086 + 125,73 + 151,066}{3} = 130,294$
- Rata-rata 20 menit = $\frac{131 + 146 + 153}{3} = 143$

D.3 Data Hasil Penentuan Kurva Baku Standar Hidrokuinon

Kurva baku standar hidrokuinon dibuat dengan mengukur sederetan larutan standar hidrokuinon yaitu 0 ppm, 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm dan 75 ppm. Kondisi kimia dalam pengukuran yang dilakukan adalah fenantrolin 0,1%, Fe 100 ppm dan waktu 20 menit. Hasil pengukuran intensitas yang diperoleh adalah sebagai berikut:



Tabel D.3.1 Hubungan intensitas dengan sederetan konsentrasi hidrokuinon

Konsentrasi (ppm)	Intensitas Green
0	243,292
10	233,000
25	219,436
50	198,914

Hasil pengukuran intensitas pada berbagai konsentrasi hidrokuinon, dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Hasil tersebut seperti berikut:

Tabel D.3.2 Hasil Pengukuran intensitas warna terhadap sederet konsentrasi HQ dengan tiga kali ulangan

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	246.075	243.651	240.149	243.292
10	234.721	236.588	227.690	233.000
25	220.546	219.296	218.467	219.436
50	201.612	201.612	193.517	198.914

Nilai rata-rata intensitas hasil pengukuran sebanyak tiga kali diperoleh melalui perhitungan sebagai berikut:

$$\text{rata - rata} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n}$$

- Rata-rata Hq 0 ppm = $\frac{246.075 + 243.651 + 240.149}{3} = 243.292$
- Rata-rata Hq 10 ppm = $\frac{234.721 + 236.588 + 227.690}{3} = 233.000$
- Rata-rata Hq 25 ppm = $\frac{220.546 + 219.296 + 218.467}{3} = 219.436$
- Rata-rata Hq 50 ppm = $\frac{201.612 + 201.612 + 193.517}{3} = 198.914$

D.4 Perhitungan Standar Deviasi dan Relative Standard Deviation Kurva Baku Standar

Kurva baku standar pengukuran sederetan larutan hidrokuinon standar yaitu 0 ppm, 10 ppm, 25 ppm, dan 50 ppm. Dilakukan perhitungan *standard deviation* (SD) dan *relative standard deviation* (%RSD) untuk menentukan ketelitian kurva baku standar penelitian ini. Hasil yang diperoleh seperti pada tabel 4.5.2 dan tabel D.4 dibawah ini, dengan perhitungan sebagai berikut:

Tabel D.4 Nilai SD dan %RSD

HQ (ppm)	Ulangan			Rata-rata	SD	%RSD
	1	2	3			
0	246.075	243.651	240.149	243.292	2979,297	1,225
10	234.721	236.588	227.690	233.000	4692,104	2,014
25	220.546	219.296	218.467	219.436	1046,58	0,477
50	201.612	201.612	193.517	198.914	4673,65	2,350

$$SD = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_i^n (x_i - \bar{x})^2}$$

- SD Hq 0 ppm = $\sqrt{\frac{1}{2}(7.746.944,4 + 129.120,4 + 9.876.353,7)}$
= 2979,297
- SD Hq 10 ppm = $\sqrt{\frac{1}{2}(2.962.988,4 + 12.876.136,1 + 28.192.560,1)}$
= 2,014
- SD Hq 25 ppm = $\sqrt{\frac{1}{2}(1.231.360,1 + 19.693,4 + 939.607,1)}$
= 1046,58
- SD Hq 50 ppm = $\sqrt{\frac{1}{2}(7.281.002,7 + 7.281.002,7 + 29.124.011,1)}$
= 4673,65

Perhitungan Penentuan %*relative standard deviation* (%RSD)

untuk sedretan konsentrasi hidrokuinon standar diperoleh sebagai berikut:

$$RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

- $RSD \text{ Hq } 0 \text{ ppm} = \frac{2979,297}{243,292} \times 100 \%$
 $= 1,225\%$

- $RSD \text{ Hq } 10 \text{ ppm} = \frac{4692,104}{233,000} \times 100 \%$
 $= 2,014\%$

- $RSD \text{ Hq } 25 \text{ ppm} = \frac{1046,58}{219,436} \times 100 \%$
 $= 0,477\%$

- $RSD \text{ Hq } 50 \text{ ppm} = \frac{4673,65}{198,914} \times 100 \%$
 $= 2,350\%$

D.5 Perhitungan LOD dan LOQ

Persamaan regresi pada kurva baku standar hidrokuinon dapat digunakan untuk menentukan nilai LOD dan LOQ pada penelitian ini. Persamaan regresi yang diperoleh adalah $y = -880,73x + 242376$. Sedangkan rata-rata SD diperoleh sebesar 3347,908. Sehingga, Nilai LOD dan LOQ diperoleh melalui perhitungan sebagai berikut:

$$A_{LOD} = 3 \times \frac{Sb}{SI}$$

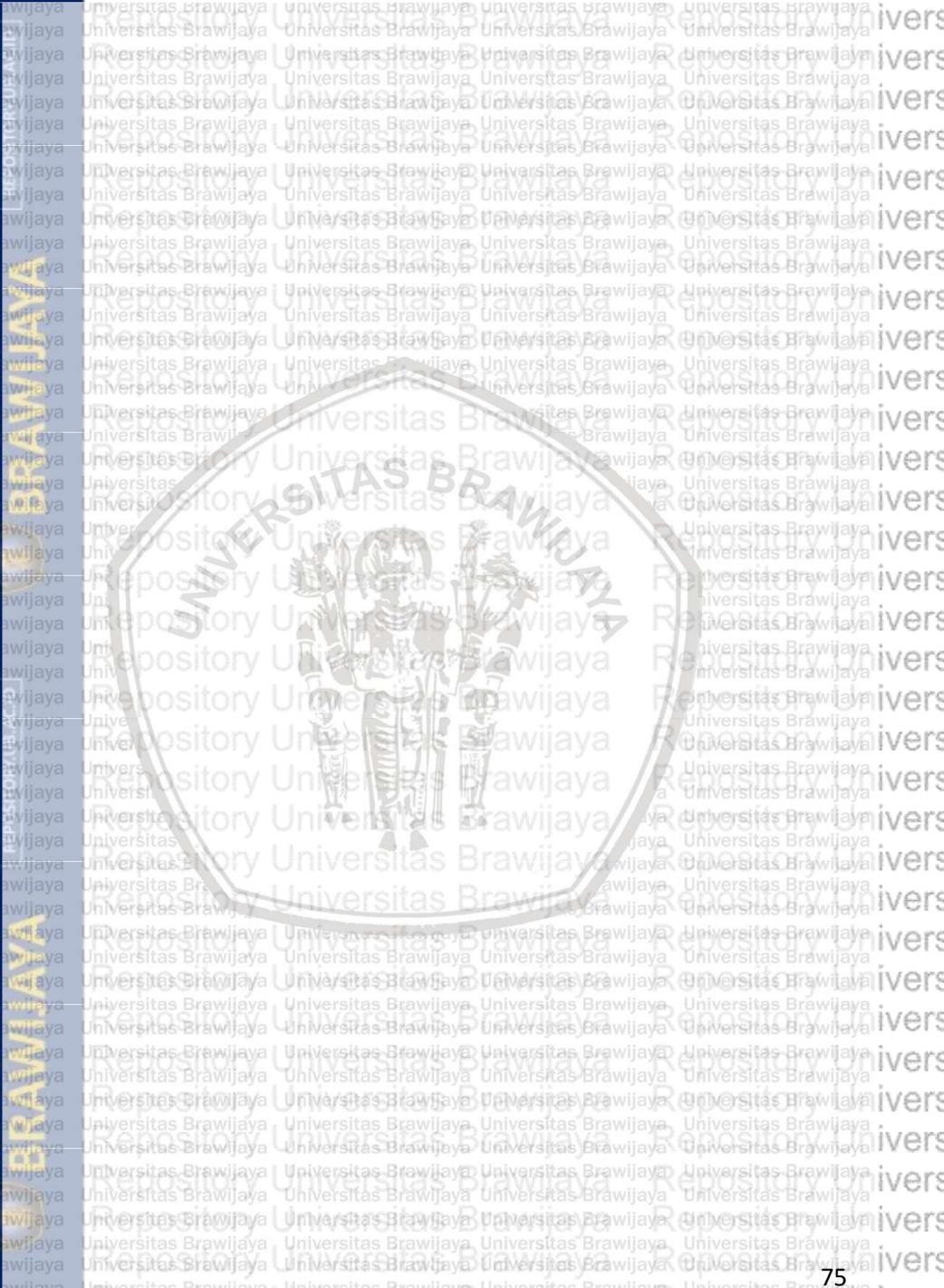
$$A_{LOQ} = 10 \times \frac{Sb}{SI}$$

- $LOD = 3 \times \frac{3347,908}{880,73} = 11,404 \text{ ppm}$

- $LOQ = 10 \times \frac{3347,908}{880,73} = 38,013 \text{ ppm}$



Repository Universitas Brawijaya



Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya