



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**STUDI OPTOMASI PENENTUAN PARA-FENILENDIAMIN DAN
OKSIDA PARA-FENILENDIAMIN PADA PEWARNA RAMBUT DAN
PEWARNA KULIT DENGAN METODE HPLC**

SKRIPSI



**RAHMA DILLA
0810413126**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2012**

**STUDI OPTIMASI PENENTUAN PARA-FENILENDIAMIN DAN
OKSIDA PARA-FENILENDIAMIN PADA PEWARNA RAMBUT DAN
PEWARNA KULIT DENGAN METODE HPLC**

Oleh:

RAHMA DILLA

0810413126

Skripsi ini diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Andalas

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG**

2012

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur atas kehadiran ﷺ atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga aku dapat menyelesaikan studi dan meraih gelar sarjana.

Shalawat dan salam kusampaikan kepada Rasulullah saw, yang telah membawa kita merasakan dunia seperti sekarang ini.

Ku persembahkan karya ini kepada :

Papaku *Marshal*, seorang ayah yang pengayang dan tak pernah lelah bekerja untuk kehidupan keluarga yang menjadi panutan bagiku, tak pernah menunjukkan kesedihan dan keluh kesahnya padaku, kan ku wujudkan segala mimpi-mimpi serta harapanmu. Ibukku *Rosmiati* yang senantiasa memberikan limpahan kasih sayang dan selalu mendoakanku di setiap sujudnya, membimbingku untuk menjadi yang terbaik dan mendapatkan yang terbaik. Terima kasih ya Allah, ku bersyukur dilahirkan di keluarga ini.

My beloved sister (*kk Wilza*) n my beloved brothers (*bg Tito, bg Ekky, bg Nicko*), aku bahagia jadi adik diantara kalian. Terima kasih atas dukungan yang telah diberikan selama ini kepadaku baik moril maupun materil. We are Marshal's generation. Kepada seluruh keluarga besarku (*nek antan, nek uci, pak etek, ante net, adik² sepupuku Azmal, Tia dan Hakim*), Abang iparku (*Dandi*) dan kakak iparku (*kk ezy*), serta pada keponakan² ku tersayang (*Alfi, Nalisha, Nazhira dan Alike*) ^_^ . Thanks for Allah.

Kepada *dspecialone Deni Mulya, S.Si* yang menjadi pacar, sahabat, teman curhat, penghibur, penyemangat, dan selalu setia bersamaku saat aku bahagia dan saat aku menangis. Selalu mengalah tapi bukan berarti kalah ya bang. Hehehe... *Tunggu Aku di Kotamu !! ^^*

Buat teman²ku

Para perempuan manis di Irigasi 50 (*euwin, lehink, tek wa, pikugs, adz put*), slalu ada canda, tawa, bahagia, marah, kesal, cemburu, semua tlah kita rasakan bersama (*April-Desember*), karena semua rasa yang hadir itu indah dan anugrah. \(^o^)/. Terselip juga buat *Enow* yang slalu ada di setiap momen² penting di irigasi 50. Ahay.. *big hugs ^^.

Kepada sobatku *Annisa Desira*, jalani dan nikmati saja pekerjaanmu dengan ikhlas, manatau nanti bisa jadi menjer Bank.hahaha... aku yakin kamu pasti bisa. Makasih buat semuanya ya kud.

Pada guru-guruku, Semua Dosen di jurusan Kimia UNPAD, Analis labor, Rekan² lab Antar, dan Rekan-rekan kimia OS, kakak BP dan adik BP, buat Robi yg udah mau bantuin antar jemput k rumah pembimbingku, nolongin ngari buku di perpustakaan dsb, makasih ya bii,, semangat Udin ! hahaha.... juga buat ni agi makasih ya ni, walau kerja HPLC labdas berhenti di tengah2 penelitianku, yang sempat membuatku panik tak karuan karena alat rusak,,tapi akhirnya dapat terselesaikan juga...cepat sehat ya uni, jepang menunggu uni di Januari.^.^

Dan kepada semua pihak yang telah mendukung selesainya karya ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Thanks

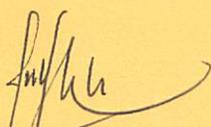
^Rahma Dilla^

LEMBAR PENGESAHAN

Studi optimasi penentuan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin pada pewarna rambut dan pewarna kulit dengan metode HPLC skripsi ini disusun oleh Rahma Dilla (0810413126) sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (Strata I) pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

Disetujui Oleh :

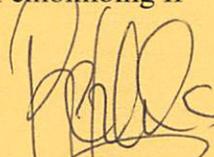
Pembimbing I



Zulfarman, MS

NIP. 194907031977101001

Pembimbing II

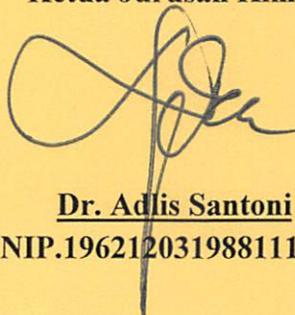


Dr. Refilda

NIP. 195907131987022001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Kimia



Dr. Adlis Santoni

NIP.196212031988111002

ABSTRAK

STUDI OPTIMASI PENENTUAN PARA-FENILENDIAMIN DAN OKSIDA PARA-FENILENDIAMIN PADA PEWARNA RAMBUT DAN PEWARNA KULIT DENGAN METODE HPLC

Oleh :

Rahma Dilla

Sarjana Sains (S.Si) dalam bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas
dibimbing oleh Zulfarman,MS dan Dr.Refilda

Studi optimasi penentuan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) fasa balik telah dilakukan terhadap tiga sampel pewarna rambut dan tiga sampel pewarna kulit. Penelitian dilakukan berupa penentuan optimasi panjang gelombang, pH buffer dan fasa gerak. Kondisi optimum menggunakan kolom C₁₈, dengan sistem pendeteksian UV pada panjang gelombang 304 nm, sistem fasa gerak campuran metanol dengan buffer pH 6,9 pada perbandingan 5:95 dengan laju alir 1 mL/menit. Kadar senyawa para-fenilendiamin tertinggi yaitu 2,91% didapatkan pada sampel pewarna rambut MR dan terendah yaitu 0,28% pada sampel pewarna kulit CM. Kadar senyawa oksida para-fenilendiamin pada semua sampel pewarna rambut dan pewarna kulit melebihi batas maksimum dimana kadar tertinggi yaitu 17,54% terdapat pada sampel pewarna rambut TL. Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa kadar para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin lebih tinggi pada pewarna rambut dari pada pewarna kulit. Senyawa para-fenilendiamin pada sampel tidak melebihi batas yang diizinkan BPOM RI, tetapi oksida para-fenilendiamin melebihi batas maksimum yang diizinkan BPOM RI.

Kata kunci : para-fenilendiamin, oksida para-fenilendiamin, HPLC, pewarna rambut, pewarna kulit

ABSTRACT

OPTIMIZATION STUDY OF DETERMINATION PARA-PHENYLENEDIAMINE AND PARA-PHENYLENEDIAMINE OXIDE IN HAIR DYES AND SKIN DYES BY USING HPLC METHOD

By :

Rahma Dilla

Bachelor of Science (S.Si) in Chemistry Department, Faculty of Mathematic and Natural science.

Advised by Zulfarman, MS and Dr. Refilda

Optimization study of determination para-phenylendiamine and para-phenylendiamine oxide by using reverse-phase *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) method has been conducted to three sample of hair dye and three sample of skin dye. Research was conducted to determine optimum condition of wavelength, pH buffer and composition of mobile-phase condition. The optimum condition with C₁₈ Column, UV detection system at 304 nm, composition of mobile-phase methanol and acetat buffer (5:95) at pH 6.9, flow rate 1 mL / minute. The highest content of para-phenylendiamine is 2.91% on hair dye sample MR, and the lowest content of para-phenylendiamine is 0.28% on skin dye sample CM. Para-phenylendiamine oxide content in all sample hair dye and skin dye exceeds maximum limit and the highest content is 17.54% found in hair dye sample TL. It conclude that the content of para-phenylenediamine and para-phenylenediamine oxide is higher in hair dye than skin dye. The content of para-phenylenediamine on the sample does not exceed the allowed limit BPOM RI, but para-phenylenediamine oxide exceed the allowed limit BPOM RI.

Keyword : para-phenylenediamine, para-phenylenediamine oxide, HPLC, hair dye , skin dye

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Studi Optimasi penentuan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin pada pewarna rambut dan pewarna kulit dengan metode HPLC”**. Penyusunan skripsi ini merupakan syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas.

Dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bantuan, masukan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Bapak Zulfarman, MS selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Dr. Refilda selaku Dosen Pembimbing II sekaligus Dosen Pembimbing Akademik yang telah bersedia memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan bantuan pada penulis.
2. Ibu Indrawati, MS , Ibu Yefrida M.si serta Ibu Dra.Masdiaty M selaku dosen penguji seminar yang telah memberikan masukan dalam pengerjaan skripsi ini.
3. Bapak Dr.Adli Santoni selaku Ketua jurusan Kimia Universitas Andalas.
4. Bapak Dr.Mai Efdi selaku Koordinator Pendidikan Jurusan Kimia.
5. Staf pengajar Jurusan Kimia, pegawai Jurusan Kimia, serta Analis Laboratorium Kimia.
6. Rekan-rekan mahasiswa kimia seperjuangan.

Ucapan terima kasih yang khusus penulis tujukan kepada kedua orang tua yang telah membesarkan, mendidik dan membimbing penulis dengan kasih sayang tiada batas. Penulis menyadari bahwa makalah ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan.

Padang, September 2012

penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Para-Fenilendiamin	4
2.2 Oksida Para-Fenilendiamin	5
2.3 Pewarna Rambut	6
2.4 Pewarna Kulit	7
2.5 Pembentukan Warna	8
2.6 Kasus Alergi Pada Kulit	9
2.7 High Performance Liquid Chromatography	10
2.7.1 Sistem Pompa	12
2.7.2 Sistem Injeksi	12
2.7.3. Fasa Gerak	13
2.7.4 Kolom	13
2.7.5 Detektor	14
2.8 Spektrofotometri	14
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.2 Alat dan Bahan	16

3.3	Persiapan Sampel	16
3.4	Prosedur Kerja.....	17
3.4.1	Pembuatan Reagen	17
3.4.1.1	Pembuatan Larutan Para-fenilendiamin 100 mg/L	17
3.4.1.2	Pembuatan Larutan Oksida Para-fenilendiamin 100 mg/L.....	17
3.4.1.3	Pembuatan Larutan Buffer Asetat.....	17
3.4.2	Penentuan Kondisi Optimum	17
3.4.2.1	Penentuan panjang Gelombang Maksimum para- fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin secara Spektrofotometri UV...	17
3.4.2.2	Penentuan pH Optimum eluen Buffer Asetat Terhadap Pemisahan Para-fenilendiamin dan Oksidanya.....	18
3.4.2.3	Penentuan Komposisi Optimum Fasa Gerak HPLC	18
3.4.3	Pembuatan Kurva Kalibrasi	18
3.4.4	Penentuan Kadar Para-fenilendiamin dan Oksida Para-fenilendiamin dalam Sampel Pewarna Rambut dan Pewarna Kulit Dengan HPLC	18
BAB IV. HASIL DAN DISKUSI		
4.1	Penentuan Kondisi Optimum	20
4.1.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Para-fenilendiamin dan Oksida Para-fenilendiamin Secara Spektrofotometri UV	20
4.1.2	Penentuan pH Optimum eluen Buffer Asetat Terhadap Pemisahan Para-fenilendiamin dan Oksidanya.....	21
4.1.3	Penentuan Komposisi Optimum Fasa Gerak HPLC	22
4.2	Pembuatan Kurva Kalibrasi Para-Fenilendiamin dan Oksida Para-Fenilendiamin.....	23
4.3	Penentuan Kadar Para-fenilendiamin dan Oksida Para-Fenilendiamin dalam Sampel Pewarna Rambut dan Pewarna Kulit.....	26
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan	29
5.2	Saran.....	29
DAFTAR PUSTAKA		30
LAMPIRAN.....		32

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur Para-Fenilendiamin	4
Gambar 2. Struktur Basis Bandrowski.....	5
Gambar 3. Reaksi Oksidasi Para-Fenilendiamin	5
Gambar 4. Dermatitis setelah kontak dengan pewarna kulit.....	10
Gambar 5. Skema Komponen HPLC	11
Gambar 6. Tipe Injektor Katup Putaran.....	12
Gambar 7 . Spektrum UV Para-Fenilendiamin dan Oksida Para-Fenilendiamin 100 mg/L.....	20
Gambar 8. Kurva Kalibrasi Para-Fenilendiamin.....	23
Gambar 9. Kurva Kalibrasi Oksida Para-Fenilendiamin	24
Gambar 10.Kromatogram Penentuan Para-Fenilendiamin dan Oksida Para- Fenilendiamin dalam Sampel Pewarna Rambut dan Pewarna Kulit ..	26

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Penentuan pH Optimum Asam Asetat Terhadap Analit	21
Tabel 2. Penentuan Komposisi Optimum Fasa Gerak	22
Tabel 3. Hasil Perhitungan Kadar dan Persentase Kadar Para-Fenilendiamin dan Oksida Para-Fenilendiamin Pada Sampel	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Persamaan Regresi dan Koefisien Determinasi Para-Fenilendiamin	32
Lampiran 2. Perhitungan Persamaan Regresi dan Koefisien Determinasi Oksida Para-Fenilendiamin waktu retensi (t_R) 2,9	33
Lampiran 3. Perhitungan Persamaan Regresi dan Koefisien Determinasi Oksida Para-Fenilendiamin waktu retensi (t_R) 3,6	34
Lampiran 4. Kromatogram Pemisahan Para-fenilendiamin dan Oksida Ppara-fenilendiamin Berdasarkan Variasi pH Buffer Asetat	35
Lampiran 5. Kromatogram Pemisahan Para-fenilendiamin dan Oksida Para-fenilendiamin Berdasarkan Variasi Komposisi Eluen (Metanol : Buffer Asetat pH 6.9)	36
Lampiran 6. Perhitungan Kadar Para-Fenilendiamin dan Oksida Para-Fenilendiamin dalam Sampel	37
Lampiran 7. Peraturan BPOM RI Nomor HK.03.1.23.08.11.07517 Tahun 2011 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik.....	39

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Akhir-akhir ini pemakaian pewarna rambut dan tato temporer semakin populer di kalangan masyarakat terutama kalangan selebriti. Untuk memperoleh hasil pewarnaan yang dapat memberikan tampilan alami dan tahan lama, banyak produsen pewarna rambut dan pewarna kulit menggunakan zat pewarna kimia yang mengandung para-fenilendiamin dan banyak terdapat pada berbagai merek pewarna rambut dan pewarna kulit serta beredar luas di pasaran. Pewarnaan rambut dan kulit yang diinginkan tersebut ternyata juga dapat mengundang berbagai kasus alergi pada kulit, baik pada pemakai ataupun penata rambut serta pada pemakai tato temporer yang mengandung Para-Fenilendiamin.¹

Pewarna alami yang banyak digunakan adalah henna (*Lawsonia inermis*) yakni tumbuhan asli yang terdapat di daerah tropis dan subtropis wilayah Afrika dan Asia Selatan. Henna mengandung molekul pewarna lawsone (2-hydroxy-1,4-naphthoquinone) dan molekul ini dapat berikatan dengan protein. Henna digunakan pada pewarna kulit, rambut dan kuku, pewarna sutera, kulit dan wol. Penggunaan henna relatif aman dan memiliki resiko yang rendah terhadap alergi pada kulit sehingga jarang terjadi kasus alergi terhadap kulit dari pemakaian henna tersebut¹.

Kandungan Para-fenilendiamin yang tinggi pada pewarna rambut dan pewarna kulit dapat mengakibatkan alergi pada kulit, iritasi mata, asma, radang lambung, pusing, bahkan pingsan. Dalam jangka panjang akan mengakibatkan alergi terhadap kulit yang kronis dan gagal ginjal. Berdasarkan *Scientific Committee on Consumer Product* (SCCP), para-fenilendiamin sangat potensial menyerang kulit yang sensitif. Para-fenilendiamin merupakan alergen (penyebab alergi), apalagi ketika seseorang belum pernah kontak dengan senyawa ini, maka akan menjadi sangat sensitif terhadap senyawa tersebut. Para-fenilendiamin yang bereaksi dengan hidrogen peroksida memiliki sifat beracun yang telah dilakukan percobaan terhadap tikus¹.

Para-fenilendiamin sering ditambahkan pada henna untuk mendapatkan warna hitam (*black henna*) karena warna yang dihasilkan oleh henna alami adalah

oranye, dan untuk mempercepat proses terbentuknya warna dalam pembuatan tato, dimana jika henna alami membutuhkan waktu antara 4 sampai 12 jam, dengan penambahan para-fenilendiamin proses terbentuknya warna hanya 1 sampai 2 jam dan juga ketahanan tato menjadi lebih lama¹.

Penentuan kandungan para-fenilendiamin dan oksidanya pada pewarna rambut dan pewarna kulit dengan menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Dimana analisis dengan HPLC tersebut cepat, daya pisah baik, sensitifitas tinggi, penyiapan sampel mudah, dan dapat dihubungkan dengan detektor yang sesuai.

1.2 Perumusan Masalah

Para-fenilendiamin diduga ditemukan pada pewarna rambut dan pewarna kulit yang beredar di pasaran. Para-fenilendiamin pada pewarna rambut dan pewarna kulit ini dapat menimbulkan efek samping seperti alergi pada kulit terhadap sebagian orang. Senyawa ini dapat teroksidasi menjadi oksidanya yang juga menimbulkan pengaruh yang sama pada kulit. Maka dilakukan penelitian tentang keberadaan para-fenilendiamin dan oksidanya pada pewarna rambut dan pewarna kulit. Dalam penelitian ini dibahas mengenai kondisi optimum penentuan para-fenilendiamin dan oksidanya dengan metoda HPLC fasa balik, menggunakan campuran metanol dan buffer asetat sebagai fasa gerak dengan parameter berupa panjang gelombang analisis, penentuan pH optimum buffer asetat terhadap analit, penentuan komposisi optimum fasa gerak, kadar para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin serta untuk mengetahui apakah senyawa tersebut berada pada batas yang diizinkan atau telah melebihi batas yang diizinkan.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kondisi optimum penentuan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin dengan metoda HPLC fasa balik menggunakan campuran metanol dan buffer asetat sebagai fasa gerak, dan mengidentifikasi kandungan para-fenilendiamin serta oksida para-fenilendiamin pada beberapa merek pewarna rambut dan pewarna kulit dengan metoda HPLC.

1.4 Manfaat Penelitian

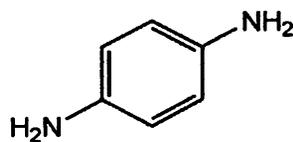
Penelitian ini diharapkan dapat melengkapi informasi dasar dalam penentuan para-fenilendiamin dan oksidanya dengan metoda HPLC. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat dijadikan referensi bagi konsumen untuk memilih pewarna rambut dan pewarna kulit yang baik sehingga konsumen akan lebih berhati-hati dalam memilih pewarna rambut dan kulit yang akan digunakan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Para-Fenilendiamin

Para-fenilendiamin (PFD) adalah senyawa amina aromatis dengan rumus kimia $C_6H_8N_2$ dan berat molekul 108.15 g/mol. Berbentuk serbuk ungu yang berkilap, larut dalam alkohol, eter, dan sedikit larut dalam air dan kloroform^{2,3}.

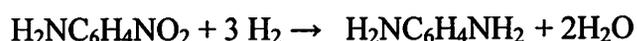
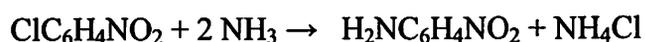


Gambar 1. Struktur Para-Fenilendiamin

Senyawa yang telah dikenal sejak 1888 ini mempunyai titik leleh 139-147 °C dan titik didih 267 °C. Berat jenis 1,1 g/mL dengan Titik nyala 156 °C dan kelarutan dalam air 4g/100 ml pada suhu kamar. serta mempunyai tekanan uap 144 Pa pada 100°C⁸. Nama lain dari PFD adalah 1,4- diaminobenzene, 1,4- fenilendiamin, para-Diaminobenzene (p-Diaminobenzene), Phenylenediamine base, para-Aminoaniline (p-Aminoaniline), Orsin, Rodol, Ursol, Fouramine D, Fourrine D, Fur Black 41866, Oxidation Base 10, Pelagol D, Peltol D⁵.

Para-Fenilendiamin (PFD) merupakan senyawa kimia yang banyak digunakan sebagai bahan pewarna pada pewarna rambut dan pewarna kulit permanen. Senyawa ini biasanya ditambahkan ke pewarna alami dan digunakan untuk membuat tato yang berwarna hitam. Zat ini juga dapat ditemukan pada pewarna tekstil, kosmetik, pengembang fotografi, fotokopi dan tinta cetak^{1,5}.

Reaksi Sintesis PFD⁶:



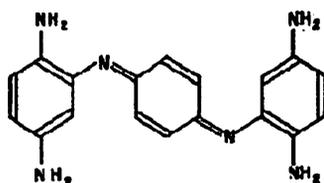
Berdasarkan peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK. 03.1.23.08.11.07517 tahun 2011 tentang persyaratan teknis bahan kosmetik, kadar maksimum dari para-fenilendiamin adalah 6%. Penggunaan dalam jumlah yang melampaui batas dapat menimbulkan

efek samping yang merugikan kesehatan seperti alergi terhadap kulit, iritasi mata, asma, radang lambung, pusing, bahkan pingsan. Dalam jangka panjang akan mengakibatkan alergi terhadap kulit yang kronis dan gagal ginjal.

2.2 Oksida Para-Fenilendiamin

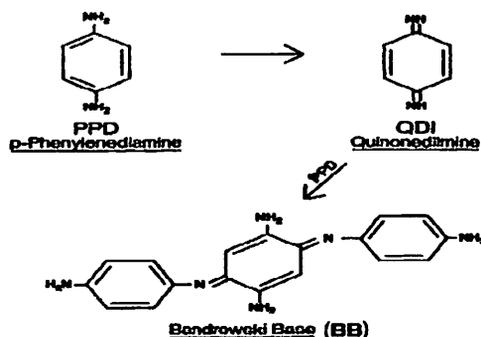
Para-fenilendiamin tidak stabil dan dapat mengalami transformasi secara *in vivo*. Para-fenilendiamin dapat teroksidasi menjadi benzokuinondiamin yang bereaksi dengan para-fenilendiamin membentuk “trinuclear dye-N, N’-bis (4-aminophenyl)-2,5-diamino-1,4-quinondiamin” yang disebut juga dengan Basis Bandrowski (BB) dan dengan perantara yang sekunder membentuk berbagai warna⁷.

Oksidasi para-fenilendiamin dan struktur utama dari oksidasi para-fenilendiamin telah banyak dipublikasikan. Oksidasi dari para-fenilendiamin pertama kali dipelajari oleh Bandrowski dan Erdmann yang telah melaporkan bahwa suatu senyawa $C_{18}H_{18}N_6$ yang sekarang dikenal dengan nama basis bandrowski dibentuk dalam larutan basa lemah⁸. Struktur senyawa Basis Bandrowski seperti berikut :



Gambar 2. Struktur Basis Bandrowski

Oksidasi dari para-fenilendiamin oleh hidrogen peroksida akan membentuk senyawa perantara yaitu kuinondiamin, senyawa ini juga dapat bereaksi secara cepat dengan para-fenilendiamin membentuk senyawa basis bandrowski⁹.



Gambar 3. Reaksi Oksidasi Para-Fenilendiamin

Para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin merupakan alergen yang sangat kuat yang dapat menyebabkan alergi pada kulit bahkan dapat berpotensi sebagai senyawa karsinogen⁷.

2.3 Pewarna Rambut

Pewarna rambut adalah sediaan kosmetik yang digunakan dalam tata rias rambut baik untuk mengembalikan pada warna asalnya, menutupi uban dan untuk merubah warna alami rambut menjadi warna lain¹⁰.

Ada dua cara pewarnaan rambut yaitu secara langsung dan tidak langsung. Pewarnaan rambut secara langsung adalah pewarnaan rambut menggunakan sediaan pewarna rambut yang dapat digunakan secara langsung pada rambut tanpa mencampur komponen pewarna rambut terlebih dahulu¹⁰.

Pewarnaan rambut tidak langsung adalah pewarnaan rambut menggunakan sediaan pewarna rambut yang terdiri dari dua macam sediaan yaitu sediaan campuran warna intermediet dan sediaan pembangkit warna yang dicampur sesaat sebelum digunakan¹⁰.

Berdasarkan daya lekat zat warna pewarnaan rambut dapat dibedakan menjadi 3 golongan yaitu¹⁰:

1. Pewarnaan rambut temporer.

Pewarnaan rambut temporer adalah pewarnaan rambut yang sifatnya sebentar dan mudah dihilangkan dengan keramas menggunakan sampo. Produk ini tidak mengandung amonia sehingga batang rambut tidak terbuka selama proses pewarnaan dan warna alami rambut tetap bertahan ketika rambut dikeramas menggunakan sampo. Bentuk sediaan pewarna rambut jenis ini dapat berbentuk cairan, spray atau serbuk.

2. Pewarnaan rambut semi permanen.

Pewarnaan rambut semi permanen adalah pewarnaan rambut yang memiliki daya lekat tidak terlalu lama, biasanya akan hilang setelah 4 – 5 kali keramas menggunakan sampo. Daya penetrasi zat warna yang digunakan dalam pewarnaan ini biasanya sangat terbatas, pewarna rambut berpermeasi ke dalam kutikula dan korteks dan warna diserap rambut dengan mekanisme ikatan ionik.

3. Pewarnaan rambut permanen

Pewarnaan rambut permanen ini mempunyai daya lekat jauh lebih lama dan akan tetap melekat pada rambut hingga pertumbuhan rambut selanjutnya dan rambut yang kena cat dipotong, dilunturkan dengan proses pemucatan rambut atau dilunturkan menggunakan zat penghilang cat rambut.

Sediaan pewarnaan rambut permanen disajikan dalam 2 bagian yaitu bagian pertama merupakan campuran warna intermediet dan bagian kedua adalah larutan pembangkit warna seperti hidrogen peroksida¹⁰.

Bahan pewarna rambut permanen sebagian besar yang digunakan adalah bahan pewarna oksidasi. Untuk pewarnaan rambut ini diperlukan 4 tipe zat kimia untuk menghasilkan pewarnaan permanen yaitu :

- Zat warna intermediet
- Coupler
- Oksidator (hidrogen peroksida)
- Senyawa pembentuk suasana basa (ammonia)

Penggunaan Para-fenilendiamin sebagai pewarna rambut sangat populer karena merupakan pewarna permanen yang memberikan tampilan alami. Rambut juga bisa tetap di keramas tanpa mengalami “decoloured” dan mengeriting. Para-fenilendiamin pewarna rambut biasanya dikemas dalam 2 botol, satu berisi pewarna Para-fenilendiamin dan yang lainnya berisi pengembang atau oksidator. Para-fenilendiamin membutuhkan oksigen untuk menjadi berwarna⁵.

Reaksi yang disebabkan oleh penggunaan pewarna rambut dalam kasus-kasus ringan biasanya hanya melibatkan dermatitis pada kelopak mata atas atau pinggiran telinga. Dalam kasus yang lebih parah bahkan terjadi kemerahan dan pembengkakan pada kulit kepala dan wajah. Kelopak mata benar-benar dapat menutup dan reaksi alergi ini bisa menjadi lebih luas⁵.

2.4 Pewarna Kulit

Pada dasarnya pewarna alami yang digunakan pada kulit sama dengan pewarna alami pada rambut yakni henna. Zat pewarna yang terdapat pada henna adalah 2-hydroxy-1,4 naphthoquinone. Henna atau hina (*Lawsonia inermis*) merupakan jenis tumbuhan dari family *Lythraceae* adalah tumbuhan asli yang terdapat di

daerah tropis dan subtropis wilayah Afrika dan Asia selatan. Henna secara komersil dikembangkan di Maroko, Sudan, India, Pakistan, Yaman dan Negara lainnya. Henna digunakan untuk menghiasi tubuh wanita ketika acara pernikahan dan acara sosial lainnya. Di Arab dan beberapa daerah di India, henna digunakan untuk menghiasi rambut dan kulit ketika acara pernikahan dengan menghiasi pengantin wanita dan terkadang pria¹.

Pada tahun 1986, dilaporkan bahwa henna bukan merupakan sensitiser. Henna sangat jarang menimbulkan reaksi alergi kecuali jika henna yang digunakan dicampur dengan para-fenilendiamin. Henna yang alami biasanya berwarna coklat kemerahan. Henna dapat digunakan dengan dikombinasikan dengan bahan-bahan lain, seperti sari lemon, minyak lavender, kopi, dan campuran rahasia lainnya¹¹.

Pada umumnya henna yang dijual di pasaran, baik dalam bentuk serbuk maupun pasta tidak mencantumkan komposisi zat-zat yang terkandung di dalam kemasannya. Akhir-akhir ini henna yang dipergunakan sebagai tato temporer yang terdapat di pasaran mengandung bahan campuran PFD untuk mendapatkan tato yang berwarna hitam, bahan pewarna tato meresap lebih cepat, dan agar tato bertahan lebih lama.

Menurut hasil penelitian Brancaccio dkk, konsentrasi Para-fenilendiamin yang terdapat pada campuran tato henna hitam adalah 15.7%, dimana kadar ini lebih tinggi dibandingkan pada cat rambut komersial. Tingginya konsentrasi Para-fenilendiamin pada tato temporer ini dapat meningkatkan resiko terjadinya sensitisasi¹².

2.5 Pembentukan Warna

Pembentukan warna dengan menggunakan para-fenilendiamin termasuk jenis permanen. Jenis cat rambut menggunakan para-fenilendiamin terdiri dari 2 komponen yang dicampur sebelum dipakai yaitu komponen yang tidak berwarna dan hidrogen peroksida. Campuran dari komponen yang tidak berwarna terdiri dari perantara primer (primary intermediat) dan perangkai (couplers)⁷.

Perantara primer yaitu para-fenilendiamin (PFD), toluen 2,5-diamin (p-toluendiamin) dan para-aminofenol. Dengan menambah hidrogen peroksida dan

dengan adanya amonia maka pelepasan oksigen dari hidrogen peroksida dipermudah lalu terjadi proses oksidasi dan terbentuklah kuinondiamin yang sangat reaktif. Diamin ini bereaksi dengan perangkai (coupler) yang disebut juga dengan modifier dan terbentuklah warna, dan ini terjadi di batang rambut. Proses pembentukan warna ini kira-kira 15-30 menit. Reaksi ini terjadi di dalam batang rambut dan zat warna ini sulit hilang sehingga warna rambut dapat menjadi permanen. Amonia ditambahkan pada formula tidak hanya untuk alkali yang akan mempercepat pelepasan O_2 dari H_2O , tetapi juga dapat menambah penetrasi dari cat kedalam rambut⁷.

2.6 Kasus Alergi Pada Kulit

Alergi akibat pewarna rambut atau pewarna kulit adalah kelainan yang disebabkan kulit berkontak dengan bahan-bahan yang ada didalam pewarna rambut⁷. Reaksi yang disebabkan oleh penggunaan pewarna rambut dalam kasus-kasus ringan biasanya hanya melibatkan dermatitis pada kelopak mata atas atau pinggiran telinga. Dalam kasus yang lebih parah, mungkin ada ditandai kemerahan dan pembengkakan pada kulit kepala dan wajah. Kelopak mata benar-benar dapat menutup dan reaksi alergi ini dapat menjadi luas⁵.

Penelusuran pada kasus alergi karena kontak dengan Para-fenilendiamin ini dapat dibagi ke dalam 2 kelompok: (1) respon akut, dimana reaksi kulit terjadi dalam 1-2 hari setelah kontak; (2) respon sub-akut, dimana erupsi kulit terjadi lambat yaitu dalam 1-2 minggu setelah kontak. Pada kasus ini reaksi alergi kulit timbul dalam waktu 1 minggu, yang menunjukkan adanya respon subakut dan sensitisasi terjadi setelah aplikasi tato temporer¹².

Seorang wanita usia 34 tahun, bangsa Indonesia, mengalami alergi pada bagian tangannya dengan rasa gatal dan timbul bintil-bintil merah. Hal ini dialami karena 1 minggu sebelumnya penderita memakai tato temporer yang berwarna hitam pada tangannya tersebut. Hasil diagnosa menunjukkan bahwa terjadi alergi pada kulit akibat tato temporer yang mengandung para-fenilendiamin dan diperoleh hasil positif kuat (++) terhadap Para-fenilendiamin dari bahan tato¹².



Gambar 4. Dermatitis setelah kontak dengan pewarna kulit

2.7 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan campuran yang didasarkan atas perbedaan migrasi dan distribusi dari komponen diantara dua fasa, yaitu fasa diam (padat atau cair) dan fasa gerak (cair atau gas)¹³. Dua fasa ini dapat berupa padat-cair, cair-cair, gas-cair atau gas-padat.

Kromatografi dapat dibedakan atas berbagai macam, tergantung pada pengelompokkannya. Berdasarkan pada mekanisme pemisahannya, kromatografi dibedakan menjadi kromatografi adsorpsi, kromatografi partisi, kromatografi pertukaran ion, kromatografi eksklusi. Berdasarkan alat yang digunakan, kromatografi dapat dibedakan atas kromatografi kertas, kromatografi lapisan tipis, kromatografi cair kinerja tinggi, dan kromatografi gas. Jenis kromatografi yang digunakan tergantung pada jenis analit yang dianalisis¹⁴.

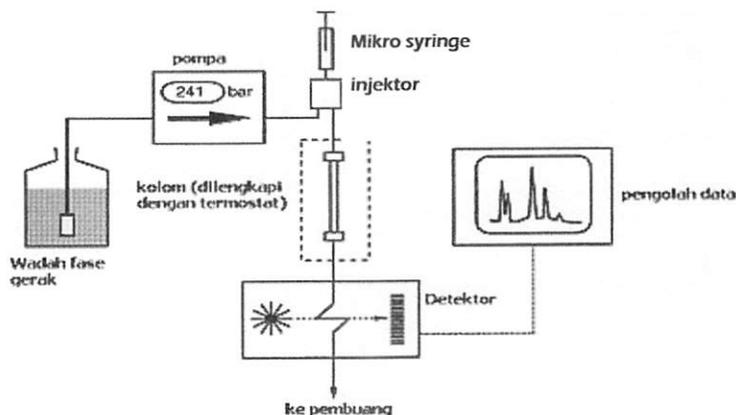
High Performance Liquid Chromatography (HPLC) adalah salah satu jenis kromatografi yang menggunakan fasa gerak cair melalui suatu kolom kromatografi bertekanan tinggi untuk memisahkan analit dari suatu campuran. Interaksi antara fasa diam dengan fasa gerak terhadap analit akan memisahkan campuran menjadi komponen-komponennya. Dari kolom kromatografi komponen-komponen tersebut akan terus ke detektor dan hasil pemisahannya ditampilkan pada monitor. Metode HPLC memiliki beberapa keuntungan yaitu analisa dilakukan dalam waktu yang cepat, daya pisahnya baik, cocok untuk analisa senyawa bermolekul besar maupun kecil, bisa untuk senyawa yang mudah menguap dan yang tidak mudah menguap, senyawa organik dan anorganik, senyawa ionik dan non ionik, senyawa polar dan non polar¹⁵.

HPLC memungkinkan untuk analisis senyawa secara kualitatif dan kuantitatif. Pengukuran secara kualitatif didasarkan pada waktu retensi yang spesifik pada sistem tertentu. Untuk pengukuran secara kuantitatif, terjadinya elusi pada kolom akan memberikan sinyal yang proporsional dengan konsentrasi komponen.

Sistem pemisahan pada HPLC terbagi atas dua yaitu sistem fasa balik dan sistem fasa normal. Perbedaan dari kedua sistem tersebut adalah kepolaran dari fasa gerak, fasa diam dan analit yang dianalisis. Sistem fasa balik dimana fasa diam yang digunakan bersifat non polar, fasa gerak yang digunakan bersifat polar, sedangkan fasa normal dimana fasa diam yang digunakan bersifat polar, fasa gerak yang digunakan bersifat non polar dan analit yang dipisahkan bersifat non polar.

Metode pada HPLC terbagi atas dua, yaitu elusi isokratik: dimana komposisi dari fasa gerak tetap selama proses elusi berlangsung, dan elusi gradien: dimana komposisi dari fasa gerak berubah selama proses elusi. Efek dari elusi gradien adalah mempersingkat waktu retensi dari senyawa-senyawa yang tertahan kuat pada kolom. Apabila dibandingkan dengan elusi isokratik, elusi gradien memberikan beberapa keuntungan yaitu total waktu analisis dapat direduksi, resolusi setiap senyawa dalam campuran bertambah, dan puncak yang tajam¹⁶.

Sistem peralatan HPLC pada umumnya terdiri dari pompa, injektor, kolom, detektor, dan integrator (alat pembaca sinyal yang dihasilkan detektor). Adapun bagan peralatan HPLC dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Skema komponen HPLC

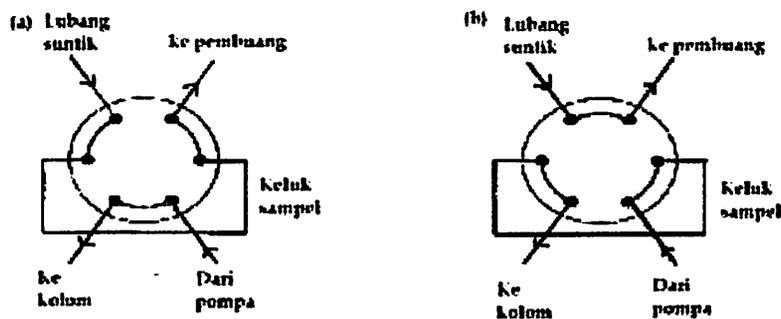
2.7.1 Sistem Pompa

Fungsi pompa di dalam sistem HPLC adalah untuk mengalirkan fasa gerak masuk ke dalam kolom menggunakan pompa yang bertekanan tinggi. Pompa yang baik harus memiliki pengaliran yang stabil tanpa getaran untuk meminimalkan gangguan pada detektor, tahan terhadap semua jenis pelarut dan volume pengaliran harus konstan. Kecepatan pengaliran umumnya yaitu 0,5-10 mL/menit¹⁶.

2.7.2 Sistem Injeksi

Injektor adalah tempat memasukkan sampel atau cuplikan yang akan dianalisis ke dalam alat kromatografi. Untuk mendapatkan pemisahan yang sempurna, selain kolom yang baik juga ditentukan oleh jumlah cuplikan yang dimasukkan ke dalam sistem injektor¹⁴. Mikro *syringe* dapat memasukkan cuplikan ke dalam kolom dalam jumlah kecil karena kualitasnya, memiliki ketepatan ulang yang tinggi dan mudah digunakan¹³.

Injektor terbagi menjadi tiga tipe yaitu injektor dengan cara penghentian aliran (*stop flow*), septum dan katup putaran (*loop valve*). Injektor pada HPLC yang sering digunakan adalah injektor katup putaran. Untuk memasukkan cuplikan ke dalam aliran fasa gerak perlu dua langkah: (a) sejumlah volume cuplikan disuntikkan ke dalam *loop* dalam posisi *load*, cuplikan masih berada dalam *loop*, (b) kran diputar untuk mengubah posisi *load* menjadi posisi injeksi dan fasa gerak membawa cuplikan ke dalam kolom. Tipe injektor katup putaran dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Tipe Injektor Katup Putaran

2.7.3 Fasa Gerak

Fasa gerak disebut juga sebagai eluen, berfungsi untuk membawa sampel melewati kolom dan mengelusi komponen sampel yang terdistribusi antara fasa gerak dan fasa diam. Retensi analit tergantung pada kekuatan interaksi antara fasa gerak dan fasa diam sehingga pemilihan fasa gerak sangat penting untuk meningkatkan selektivitas dan reproduksibilitas pemisahan analit¹⁵.

Di dalam kromatografi cair, komposisi dari eluen adalah salah satu dari variabel yang mempengaruhi pemisahan. Terdapat variasi yang sangat luas pada eluen yang digunakan untuk HPLC. Fasa gerak mempunyai sifat: stabil, tingkat kemurnian tinggi, mudah didapatkan, titik didih 20-50°C diatas temperatur kolom, tidak bereaksi dengan wadah (packing), sesuai dengan detektor, dapat melarutkan sampel, memiliki viskositas rendah dan memungkinkan perolehan kembali sampel dengan mudah¹⁵. Menghilangkan gas (*degassing*) harus dilakukan jika menggunakan kolom yang sangat sensitif terhadap udara, karena udara yang terlarut pada fasa gerak jika tidak dikeluarkan akan menyebabkan gangguan.

2.7.4 Kolom

Kolom merupakan jantung kromatografi, yaitu sebagai tempat terjadinya proses pemisahan dan bagian yang sangat penting karena menjadi kunci penentu keberhasilan pemisahan komponen-komponen sampel serta hasil akhir analisis dengan HPLC.

Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok yaitu kolom analitik dan kolom preparatif. Kolom analitik memiliki diameter dalam 2-6 mm. Panjang kolom tergantung pada jenis material pengisi kolom. Kolom preparatif umumnya memiliki diameter 6 mm atau lebih besar dengan panjang kolom 25-100 cm. Kolom yang berisi fasa diam biasanya terbuat dari *stainles steel* dan dioperasikan pada temperatur kamar, tetapi bisa juga digunakan temperatur lebih tinggi, terutama untuk kromatografi penukar ion dan kromatografi eksklusi¹⁵.

Kolom secara rapat diisi oleh fasa diam yang merupakan partikel kecil padat dan berpori dimana materialnya memiliki ukuran partikel distribusi tertentu dan diameter pori yang spesifik untuk jenis fasa diam yang tergantung pada sifat dan tipe pemisahan yang diinginkan¹⁶.



2.7.5 Detektor

Detektor yang baik memiliki sensitifitas yang tinggi, gangguan (noise) yang rendah, kisaran respon linier yang luas, dan memberi respon untuk semua tipe senyawa. Jenis-jenis detektor diantaranya adalah detektor UV/Vis, detektor fluoresensi, detektor spektrofotometer massa, detektor konduktivitas, detektor elektrokimia, dan detektor indeks bias. Detektor HPLC yang umum digunakan adalah detektor UV/Vis karena sebagian besar senyawa organik mengabsorpsi sinar dalam daerah UV dari spektrum elektromagnetik. Pada panjang gelombang ini pelarut yang digunakan menyerap sedikit, sedangkan analit menyerap dengan kuat¹⁵.

Detektor UV dioperasikan untuk pendeteksian analit yang mempunyai serapan pada panjang gelombang UV. Fasa gerak yang digunakan menyerap cahaya relatif kecil pada daerah UV agar didapatkan *baseline* yang datar. Kesensitifan alat ini tergantung pada koefisien absorptivitas molar komponen analit, dengan absorptivitas yang besar akan memberikan batas deteksi yang baik dibandingkan dengan absorptivitas yang lebih kecil¹⁵.

2.8 Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan suatu metoda analisa yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fotosel. Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmitten atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang¹⁷.

Spektrofotometri merupakan metoda yang sangat penting dalam analisa kimia kuantitatif. Spektrofotometri mempunyai beberapa kelebihan yaitu dapat digunakan secara luas baik untuk penentuan senyawa organik maupun senyawa anorganik, mempunyai kepekaan yang tinggi, cukup selektif, pengerjaannya mudah dan cepat¹⁷.

Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber cahaya, monokromator, sel pengabsorpsi, detektor dan indikator. Sumber cahaya terdiri dari lampu hidrogen atau deuterium untuk daerah UV dan lampu wolfram untuk daerah sinar tampak. Monokromator berfungsi untuk mengubah sinar polikromatis menjadi sinar

monokromatis¹⁴. Dimana syarat untuk analisa dengan spektrofotometri yaitu komponen-komponen dalam larutan tidak boleh saling bereaksi, puncak serapan komponennya tidak tumpang tindih, dan komponen memenuhi hukum Lambert Beer. Hukum Lambert-Beer dapat dituliskan dengan persamaan¹⁷ :

$$A = a.b.c$$

Dimana A = absorban

a = koefisien absorbtivitas komponen

b = tebal medium pengabsorpsi

c = konsentrasi

Pada penelitian ini, spektrofotometer berfungsi untuk menentukan panjang gelombang maksimum dari senyawa para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin, sehingga nilai serapan tersebut diatur pada alat HPLC.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret sampai Agustus 2012 di Laboratorium Analisis Terapan Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas dan Laboratorium Sentral Universitas Andalas.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan untuk melakukan penelitian ini adalah seperangkat alat HPLC (Shimadzu LC-20AD) dengan kolom C₁₈ (250 mm x 4,6 mm) dan detektor UV-Vis, mikro *syringe* 20 µL, perangkat ultrasonik (Branson tipe 1510), Spektrofotometer UV-Vis (Evolution 201 UV-Visible), neraca analitis (Mettler), pH meter (Mettler), membran filter PTFE 0,45µm (Whatman), serta peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah para-fenilendiamin p.a (*Merck*), metanol p.a (*Merck*), metanol HPLC *grade* (*Merck*), asam asetat glasial (*Merck*), akuabides (PT.Ikapharmindo Putramas), amonium hidroksida, hidrogen peroksida, tiga sampel pewarna rambut dan tiga sampel pewarna kulit yang diperoleh dari beberapa pasar swalayan dan pasar raya kota Padang.

3.3 Persiapan Sampel

Sampel dipilih dari beberapa merek pewarna rambut dan pewarna kulit yang beredar di pasaran daerah Padang. Enam merek yang terdiri dari tiga merek pewarna rambut dan tiga merek pewarna kulit dalam keadaan utuh dijadikan sampel dalam penelitian ini. Dimana pemilihan sampel pewarna rambut berdasarkan hasil penelusuran dari beberapa salon di kota Padang dan dipilih beberapa merek pewarna rambut yang banyak digunakan konsumen di salon-salon. Sedangkan pemilihan sampel pewarna kulit dilakukan berdasarkan hasil penelusuran dari beberapa tempat pembuatan tato di kota Padang. Sampel

pewarna kulit yang dipilih adalah beberapa merek yang banyak digunakan oleh konsumennya, yaitu jenis pewarna kulit temporer (tato temporer).

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pembuatan Reagen

3.4.1.1 Pembuatan Larutan Para-fenilendiamin 100 mg/L

Ditimbang Para-fenilendiamin murni sebanyak 10 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian dilarutkan dengan metanol p.a , dihomogenkan kemudian di tepatkan volume hingga garis tanda.

3.4.1.2 Pembuatan Larutan Oksida Para-fenilendiamin 100 mg/L

Ditimbang Para-fenilendiamin murni sebanyak 10 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dan dihomogenkan. Lalu larutan tersebut di oksidasi dengan 1 mL hidrogen peroksida, dan ditepatkan volume hingga garis tanda dengan metanol p.a kemudian dibiarkan terbuka selama ± 2 jam.

3.4.1.3 Pembuatan Larutan Buffer Asetat

Pembuatan larutan buffer asetat dalam penelitian ini yaitu dengan mereaksikan antara asam asetat 0,05 M dengan amonium hidroksida 0,05 M dengan volume asam asetat yang berlebih sehingga kelebihan asam asetat dan garam yang terbentuk dari hasil reaksi berperan sebagai larutan buffer asetat.

3.4.2 Penentuan Kondisi Optimum

3.4.2.1 Penentuan panjang Gelombang Maksimum para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin secara Spektrofotometri UV

Larutan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV, didapatkan spektrum serapannya. Dari spektrum ini dapat ditentukan panjang gelombang untuk analisis kedua senyawa tersebut.

3.4.2.2 Penentuan pH Optimum Eluen Buffer Asetat Terhadap Pemisahan Para-Fenilendiamin dan Oksidanya

Masing-masing larutan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam kolom HPLC dengan laju alir 1 mL/menit, pengukuran pH buffer asetat dengan menggunakan pH meter, menggunakan fasa gerak campuran dari metanol dan buffer asetat pH 5,0 ; 5,5 ; 5,9 ; 6,5 ; 6,9 dengan komposisi buffer asetat dan metanol 95:5 pada panjang gelombang analisis yang telah ditentukan sebelumnya. Kemudian ditentukan pH optimum eluen yang baik terhadap analit.

3.4.2.3 Penentuan Komposisi Optimum Fasa Gerak HPLC

Masing-masing larutan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam kolom HPLC dengan laju alir 1 mL/menit menggunakan fasa gerak campuran dari buffer asetat dan metanol 95:5 ; 92,5:7,5 ; 90:10 ; 87,5:12,5 ; 85:15 dengan pH buffer asetat yang telah ditentukan sebelumnya pada panjang gelombang analisis. Kemudian ditentukan komposisi fasa gerak yang menghasilkan pemisahan paling baik.

3.4.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan para-fenilendiamin dengan konsentrasi 10 mg/L, 40 mg/L, 85 mg/L, 120 mg/L diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam kolom HPLC menggunakan kondisi optimum analisis yang telah ditentukan sebelumnya. Kurva kalibrasi dibuat berdasarkan konsentrasi (mg/L) dan luas puncak yang dihasilkan. Hal yang sama juga dilakukan terhadap oksida para-fenilendiamin.

3.4.4 Penentuan Kadar Para-fenilendiamin dan Oksida Para-fenilendiamin dalam Sampel Pewarna Rambut dan Pewarna Kulit Dengan HPLC

Ditimbang sampel pewarna rambut dan pewarna kulit masing-masing sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer 50 mL, lalu dilarutkan dengan metanol sampai 50 mL dan dibiarkan selama 15 menit, kemudian disaring. Lalu 0,5 mL dari larutan tersebut diencerkan dengan 10 mL metanol. Sebelum digunakan, metanol disaring dengan membran filter. Analisa dengan alat HPLC ini dimulai

dengan melakukan *degassing* terhadap fasa gerak yang akan digunakan. Proses *degassing* ini menggunakan perangkat ultrasonik dan bertujuan untuk menghilangkan gas pada fasa gerak yang dapat mengganggu analisis. Selanjutnya, tombol 'ON' pada HPLC ditekan lalu distabilkan selama 2 menit untuk proses *purging*. Sistem program dilakukan dengan komputer sesuai dengan instruksi dalam komputer . Dengan bantuan pompa, fasa gerak dialirkan ke dalam kolom guna untuk mencuci kolom sehingga diperoleh *base line* yang datar (± 60 menit). Kemudian sampel diinjeksikan sebanyak 30 μL pada injektor dengan metode katup putaran yang terdiri dari dua langkah yakni, langkah pertama sejumlah volume cuplikan disuntikkan ke dalam *loop* dalam posisi 'load', cuplikan masih berada dalam *loop* dan mengalir melalui kolom, pada saat posisi 'load' cuplikan melalui keluk sampel dan kelebihan dikeluarkan ke pembuang sehingga volume injeksi tepat 20 μL . Langkah kedua kran diputar untuk mengubah posisi 'load' menjadi posisi 'injeksi' dan fasa gerak membawa cuplikan ke dalam kolom, pada saat penyuntikan katup diputar sehingga fase gerak mengalir melewati keluk sampel dan cuplikan diteruskan ke kolom. Di dalam kolom terjadi pemisahan analit dari sampel. Analit yang memiliki kepolaran lebih tinggi akan lebih cepat terbawa oleh fase gerak ke detektor. Hasil pengukuran dengan HPLC yaitu berupa kromatogram yang terekam pada rekorder. Dari kromatogram diketahui waktu retensi dan luas puncak dari senyawa para-fenilendiamin dan oksidanya pada sampel pewarna rambut dan pewarna kulit.

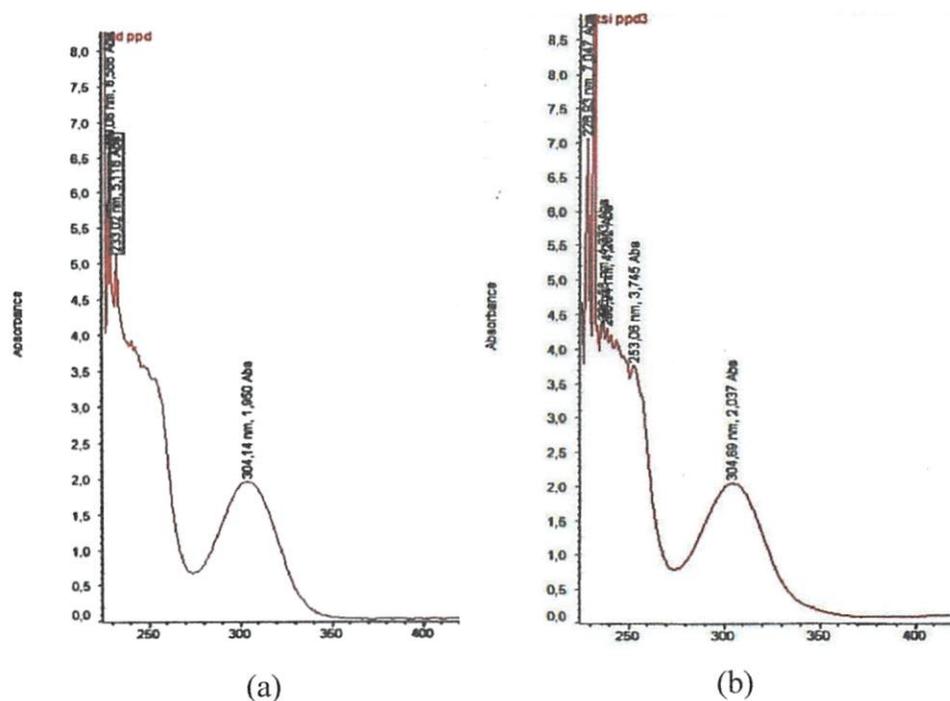
BAB IV

HASIL DAN DISKUSI

4.1 Penentuan Kondisi Optimum

4.1.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Para-fenilendiamin dan Oksida Para-fenilendiamin Secara Spektrofotometri UV

Panjang gelombang optimum pemisahan ditentukan dengan mengukur serapan larutan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin dengan konsentrasi masing-masing 100 mg/L pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV. Dari hasil pengukuran didapatkan panjang gelombang yang sama yaitu pada 304 nm seperti terlihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Spektrum UV (a) para-fenilendiamin (b) oksida para-fenilendiamin

Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa pada panjang gelombang 304 nm, senyawa para-fenilendiamin maupun oksida para-fenilendiamin dapat menyerap dengan baik sehingga pada panjang gelombang 304 nm dijadikan sebagai panjang gelombang optimum pemisahan.

4.1.2 Penentuan pH Optimum Eluen Buffer Asetat Terhadap Pemisahan Para-Fenilendiamin dan Oksidanya

Fasa gerak yang digunakan adalah campuran dari metanol dan buffer asetat (pH 5,0 ; 5,5 ; 5,9 ; 6,5 ; 6,9) dengan komposisi buffer asetat dan metanol yaitu 95:5 menggunakan kolom C₁₈ dengan laju alir 1 mL/menit dan waktu retensi 10 menit. Dari hasil pengukuran didapatkan data seperti yang terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Penentuan pH optimum eluen buffer asetat pada HPLC

pH Buffer Asetat	Jenis Senyawa	Waktu Retensi ,tR (menit)	Luas Puncak	Resolusi , Rs
5	PFD	2,850	131.212	1,105
	Oksida PFD	2,514	150.842	
5,5	PFD	3,200	353.020	1,362
	Oksida PFD	2,602	124.670	
5,9	PFD	3,618	465.534	2,096
	Oksida PFD	2,592	77.024	
6,5	PFD	4,563	1.250.225	1,916
	Oksida PFD	2,556	201.488	
6,9	PFD	4,853	1.093.329	1,935
	Oksida PFD	2,499	159.444	

Dari data hasil pengukuran diatas, diperoleh nilai resolusi tertinggi terhadap pemisahan para-fenilendiamin dan oksidanya yaitu pada pH 5,9 tetapi puncak para-fenilendiamin tidak terpisah dengan baik. Pada pH 5 dan pH 5,5 waktu retensi pemisahan kedua senyawa tersebut lebih cepat dibandingkan waktu retensi kedua senyawa pada pH lainnya, tetapi puncak para-fenilendiamin tidak terpisah dengan baik. Pada pH 6,5 dan 6,9 puncak senyawa para-fenilendiamin telah terpisah dengan baik, namun pada pH 6,9 puncak para-fenilendiamin yang terpisah lebih baik dibandingkan puncak para-fenilendiamin pada pH 6,5. Selain itu, nilai resolusi pada pH 6,9 lebih baik dari nilai resolusi pH 6,5. Dengan demikian, pH 6,9 dijadikan pH untuk buffer asetat sebagai komponen fasa gerak karena menghasilkan pemisahan dan resolusi senyawa yang baik. Kromatogram

pemisahan para-fenilendiamin dan oksidanya berdasarkan variasi pH buffer asetat dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.1.3 Penentuan Komposisi Optimum Fasa Gerak HPLC

Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa pada komposisi fasa gerak metanol dan buffer asetat pH 6,9 (5:95) telah terjadi pemisahan yang baik untuk senyawa para-fenilendiamin dan oksidanya. Tetapi untuk memperoleh pemisahan yang lebih baik dengan waktu retensi yang lebih cepat dan resolusi yang lebih baik, maka dilakukan perbandingan dengan penambahan volume metanol sehingga variasi komposisi fasa gerak menjadi 7,5:92,5 ; 10:90 ; 12,5:87,5 dan 15:85. Dari hasil pengukuran didapatkan data seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Penentuan komposisi optimum fasa gerak HPLC

Fasa Gerak (Metanol : buffer Asetat pH 6,9)	Jenis Senyawa	Waktu Retensi,tR (menit)	Luas Puncak	Resolusi ,Rs
5:95	PFD	4,853	1.093.329	1,935
	Oksida PFD	2,499	159.444	
7,5:92,5	PFD	4,180	1.037.768	1,765
	Oksida PFD	2,511	147.916	
10:90	PFD	3,815	974.576	1,527
	Oksida PFD	2,525	140.723	
12,5:87,5	PFD	3,567	902.995	1,481
	Oksida PFD	2,516	114.646	
15:85	PFD	3,354	438.489	2,096
	Oksida PFD	2,505	85.935	

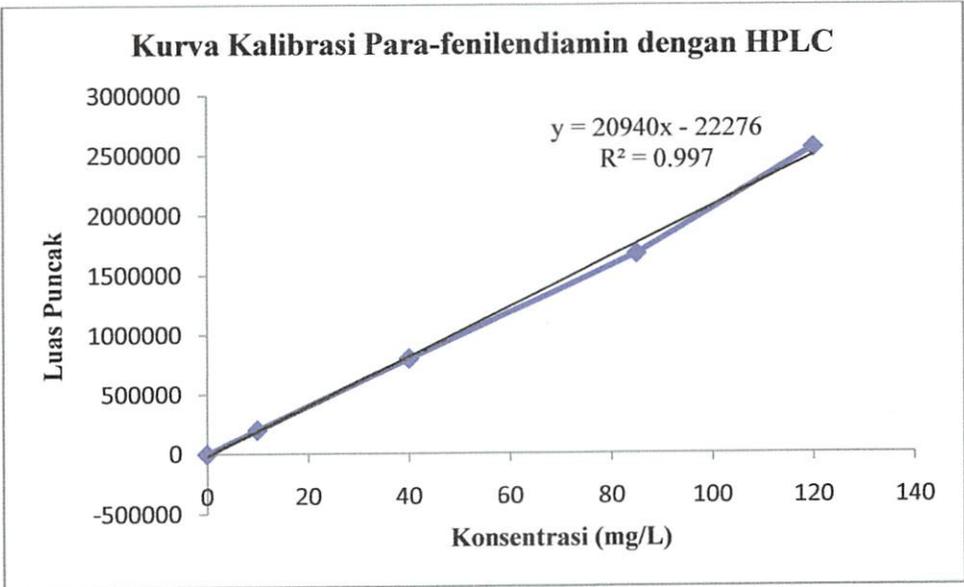
Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa waktu retensi kedua senyawa pada komposisi fasa gerak metanol dan buffer asetat pH 6,9 (5:95) lebih lama dibandingkan dengan waktu retensi kedua senyawa pada komposisi fasa gerak lainnya. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa semakin besar volume metanol yang digunakan, maka waktu retensi setiap senyawa semakin cepat. Namun waktu

retensi yang cepat tidak berbanding lurus dengan pemisahan yang baik. Dimana semakin cepat waktu retensi atau volume metanol yang ditambahkan maka puncak para-fenilendiamin semakin tidak terpisah dengan baik. Nilai resolusi yang tinggi didapatkan pada komposisi fasa gerak metanol dan buffer asetat pH 6,9 (15:85) yaitu 2,096. Nilai resolusi tersebut tidak sebanding dengan pemisahan yang baik karena puncak para-fenilendiamin tidak terpisah. Kromatogram pemisahan para-fenilendiamin dan oksidanya berdasarkan variasi komposisi eluen metanol : buffer asetat pH 6,9 dapat dilihat pada Lampiran 5.

Pengelusian yang baik terjadi pada komposisi fasa gerak metanol dan buffer asetat pH 6,9 (5:95) dimana pemisahan kedua senyawa yakni para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin dapat terlihat dengan jelas walaupun waktu retensi kedua senyawa tersebut lebih lama dibandingkan dengan waktu retensi pada komposisi fasa gerak lainnya. Oleh karena itu, komposisi fasa gerak metanol dan buffer asetat pH 6,9 (5:95) dipilih sebagai komposisi fasa gerak optimum untuk penentuan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin.

4.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Para-Fenilendiamin dan Oksida Para-Fenilendiamin

Dari hasil pengukuran sederetan larutan standar para-fenilendiamin didapatkan kurva kalibrasi seperti yang terlihat pada Gambar 8.

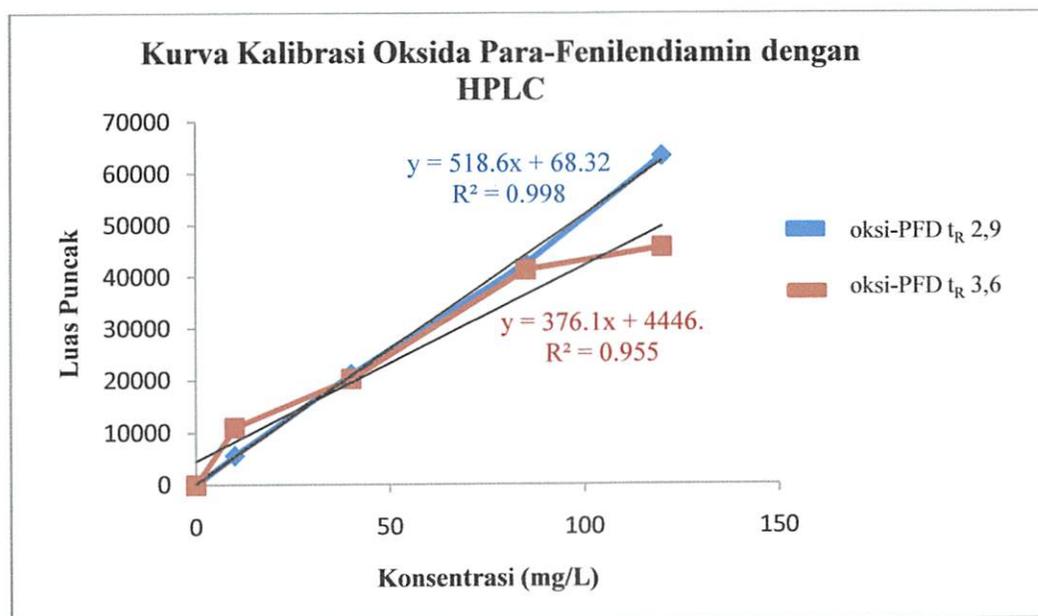


Gambar 8. Kurva Kalibrasi Para-Fenilendiamin

Dari hasil pengukuran sederetan larutan standar para-fenilendiamin, didapatkan persamaan regresi dari para-fenilendiamin $y = 20940 x - 22276$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) 0,997. Nilai koefisien determinasi yang diperoleh menunjukkan hasil yang baik karena mendekati nilai 1. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa terdapat hubungan yang linier antara konsentrasi para-fenilendiamin dan luas area yang terukur seperti terlihat pada Gambar 8. Perhitungan persamaan regresi dan koefisien determinasi para-fenilendiamin tertera pada Lampiran 1.

Dari kromatogram yang diperoleh, terdapat banyak puncak oksida para-fenilendiamin pada waktu retensi yang berbeda-beda dan saling berdekatan. Hal tersebut dikarenakan sifat dari para-fenilendiamin yang mudah teroksidasi dan tidak stabil. Maka dipilih dua puncak oksida para-fenilendiamin yang tinggi dan luas area yang luas, yaitu oksida para fenilendiamin (t_R 2,9) dan oksida para fenilendiamin (t_R 3,6).

Dari hasil pengukuran sederetan larutan standar oksida para-fenilendiamin tersebut, didapatkan kurva kalibrasi seperti yang terlihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Kurva kalibrasi oksida para-fenilendiamin

Dari hasil pengukuran sederetan larutan standar tersebut, didapatkan dua persamaan regresi dari oksida para-fenilendiamin, yaitu persamaan regresi dari

oksida para fenilendiamin (t_R 2,9) dan persamaan regresi dari oksida para-fenilendiamin (t_R 3,6).

Persamaan regresi dari oksida para-fenilendiamin (t_R 2,9) yaitu $y = 518,6x + 68,32$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) 0,998. Nilai koefisien determinasi yang diperoleh mendekati 1 sehingga dapat dikatakan terdapat hubungan yang linier antara konsentrasi dan luas area yang terukur seperti terlihat pada Gambar 10. Perhitungan persamaan regresi dan koefisien determinasi oksida para-fenilendiamin (t_R 2,9) tertera pada Lampiran 2.

Persamaan regresi dari oksida para-fenilendiamin (t_R 3,6) yaitu $y = 376,1x + 4446$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) 0,955. Nilai koefisien determinasi yang diperoleh cukup baik sehingga dapat dikatakan terdapat hubungan yang cukup linier antara konsentrasi dan luas area yang terukur seperti terlihat pada Gambar 10. Perhitungan persamaan regresi dan koefisien determinasi oksida para-fenilendiamin (t_R 3,6) tertera pada Lampiran 3.

Hasil perhitungan kadar dan persentase kadar para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin dalam sampel dapat dilihat pada Tabel 3. Sedangkan data dan perhitungan kadar kedua senyawa tersebut dalam sampel dapat dilihat pada Lampiran 6.

Tabel 3. Hasil perhitungan kadar dan persentase kadar para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin pada sampel

Kode Sampel	Kadar (mg/L)			Persentase Kadar (%)		
	PFD	Oksi-PFD t_R 2,9	Oksi-PFD t_R 3,6	PFD	Oksi-PFD t_R 2,9	Oksi-PFD t_R 3,6
TL	26.013	-	175.404	2,60	-	17,54
BG	11.406	-	44.564	1,14	-	4,46
MR	29.162	-	47.051	2,91	-	4,70
CM	2.834	-	53.013	0,28	-	5,30
EG	6.676	-	60.166	0,67	-	6,02
RC	3.738	-	48.036	0,37	-	4,80

Dari hasil pengukuran yang diperoleh dapat diketahui bahwa semua sampel pewarna rambut dan pewarna kulit mengandung para-fenilendiamin sebagai zat warna dan telah teroksidasi menjadi oksidanya dimana kadar tertinggi dari para-fenilendiamin terdapat pada sampel pewarna rambut MR yaitu 2,91 % dan terendah terdapat pada sampel pewarna kulit CM yaitu 0,28 %. Oksida para-fenilendiamin kedua (t_R 3,6) terdapat pada semua sampel dimana kadar tertinggi terdapat pada sampel pewarna rambut TL yaitu 17,54 % dan kadar terendah terdapat pada sampel pewarna rambut BG yaitu 4,46 %. Tidak ada terdapat oksida para-fenilendiamin pertama (t_R 2,9) . Dari hal tersebut dapat diketahui bahwa oksida para-fenilendiamin kedua (t_R 3,6) merupakan hasil oksidasi dari para-fenilendiamin.

Berdasarkan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI), kadar maksimum dari para-fenilendiamin pada kosmetik baik itu pewarna rambut ataupun pewarna kulit adalah 6% dan kadar maksimum dari oksida para-fenilendiamin dalam kosmetik adalah 4%. Peraturan BPOM RI mengenai kadar maksimum dari kedua senyawa ini dapat dilihat pada Lampiran 7.

Dari hasil perhitungan persen kadar kedua senyawa tersebut dapat diketahui bahwa senyawa para-fenilendiamin berada pada batas yang masih diizinkan. Kadar senyawa oksida para-fenilendiamin pada semua sampel, baik itu sampel pewarna rambut ataupun sampel pewarna kulit melebihi batas maksimum atau batas yang diizinkan.

Faktor yang sangat mempengaruhi proses oksidasi yang terjadi pada beberapa merek pewarna rambut adalah kemasan yang tidak sesuai dengan standar kemasan kosmetik, sifat dari para-fenilendiamin yang sangat reaktif dan mudah teroksidasi bila terpapar dengan udara sehingga sangat mempengaruhi kualitas dari suatu sampel yang mengandung para-fenilendiamin.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Didapatkan kondisi optimum untuk penentuan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin dengan metode HPLC yaitu menggunakan fasa gerak metanol dan buffer asetat pH 6,9 (5:95) dengan sistem pendeteksian UV pada panjang gelombang 304 nm, laju alir 1 mL/menit dengan kolom C₁₈ (250 mm x 4,6 mm).

Para-fenilendiamin dan oksidanya ditemukan dalam semua sampel pewarna rambut dan pewarna kulit, dimana kadar para-fenilendiamin tertinggi pada sampel pewarna rambut MR yaitu 2,91% dan kadar terendah pada sampel pewarna kulit CM yaitu 0,28%, sedangkan kadar oksida para-fenilendiamin tertinggi terdapat pada sampel pewarna rambut TL, yaitu 17,61% dan kadar oksida para-fenilendiamin terendah terdapat pada sampel pewarna rambut BG, yaitu 4,46%.

Kadar para-fenilendiamin pada pewarna rambut dan pewarna kulit tidak melebihi batas maksimum yang diizinkan, dan kadar senyawa oksida para-fenilendiamin pada semua sampel melebihi batas maksimum yang diizinkan menurut peraturan BPOM RI, dimana batas maksimum untuk para-fenilendiamin adalah 6%, dan batas maksimum oksida para-fenilendiamin adalah 4%.

5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan disarankan untuk melengkapi data validasi metode seperti penentuan standar deviasi relatif, penentuan perolehan kembali, penentuan limit deteksi dan limit kuantisasi. Diharapkan kepada masyarakat untuk lebih berhati-hati dalam memilih pewarna rambut ataupun pewarna kulit guna mencegah terjadinya efek samping yang dapat ditimbulkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. A.Ayesha, H.Ahmed. Determination of para-phenylenediamine (PPD) in Henna in The United Arab Emirates. *Int J. Environ. Res. Public Health*.7 : 1681-1693 (2010).
2. P.P. sybil. *Dictionary of Scientific and Technical Terms*, 3rd ed. Mc.Graw Hill International. New York. 1983.
3. P-Phenylenediamine (PPD). http://www2.dupont.com/Specialty_Chem_Intermediates/en_US/products/ppd.html (diakses pada 20 Januari 2012)
4. International Chemical Safety Cards. *p-Phenylenediamine*. <http://www.cdc.gov/niosh/ipcsneng/neng0805.html> (diakses pada 20 Januari 2012)
5. V.Ngan. *Allergy to para-phenylenediamine*. <http://dermnetnz.org/dermatitis/paraphenylenediamine-allergy.html> (diakses pada 20 Januari 2012)
6. The Free Dictionary. P-phenylenediamine. <http://encyclopedia.thefreedictionary.com/P-Phenylenediamine> (diakses pada 20 Januari 2012)
7. I.D.Roesyanto M. *Penentuan Beberapa Metabolit yang Diduga Merupakan Hapten Immunogenik Pada Penderita yang Alergi Kontak Terhadap PFD Melalui Pemeriksaan Uji Transformasi Limfosit T dan Uji Tempel*. Disertasi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran USU, Medan. 2003.
8. Dolinsky.M, et al. Oxidation Products of P-Phenylenediamine in Hair Dyes. *J.Soc.Cosmetics Chemists*. 19:411-422 (1968).
9. B.Frederick, B.Margaret. Studies Concerning the Reactions of Oxidation Dye Intermediates. *J.Soc.Cosmetics Chemists*. 19: 361-379 (1968).
10. Majalah Naturakos, Badan POM. *Pewarna Rambut*. ISSN1907-6606. Vol. III/No. 7, Mei 2008
11. I.J.Kang And M.H. Lee. Quantification of para phenylenediamine and heavy metals in henna dye. *J. contact dermatitis*.55: 26-29 (2006).
12. N. Carolina, K.A. Nababan, I. D. Roesyanto Mahadi. *Laporan Kasus*. Majalah Kedokteran Nusantara Volume 41. 2008.

13. J.R.Gitter,M.J.Bobbit, dan E.A.Schwarting. *Kromatografi*.terjemahan K.Padmawinata. ITB Bandung.1991.
14. S.M.Khopkar. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press : Jakarta.201
15. E.D.Lux Putra. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Bidang Farmasi*. USU Digital Library. Medan. 2004.
16. S.Lindsay. *High Performance Liquid Chromatography*. John Willey and Sons.London.1987.
17. R.A.Day dan A.L Underwood. *Analisa Kimia Kuantitatif*. Erlangga : Jakarta.1989.

Lampiran 1. Perhitungan Persamaan Regresi dan Koefisien Determinasi Para-fenilendiamin

x	y	xy	x ²	y ²
0	0	0	0	0
10	201.017	2.010.170	100	4,0408x10 ¹⁰
40	800.030	32.001.200	1600	6,4005x10 ¹¹
85	1.672.521	142.164.285	7225	2,7973x10 ¹²
120	2.554.726	306.567.120	14400	6,5266x10 ¹²
Σx = 255	Σy = 5.228.294	Σxy = 482.742.775	Σx ² = 23.325	Σy ² = 1,0004x10 ¹³

1. Perhitungan Persamaan Regresi

$$b = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

$$= \frac{(5 \times 482.742.775) - (255 \times 5.228.294)}{(5 \times 23.325) - (255)^2}$$

$$= 20.940$$

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$= 1.045.658,8 - (20.940 \times 51)$$

$$= - 22.276$$

$$y = a + bx$$

$$y = - 22.276 + 20.940x$$

$$y = 20.940x - 22.276$$

2. Perhitungan Koefisien Determinasi

$$R = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{[n\sum x^2 - (\sum x)^2] [n\sum y^2 - (\sum y)^2]}}$$

$$= \frac{(5 \times 482.742.775) - (255 \times 5.228.294)}{\sqrt{[(5 \times 23.325) - (255)^2][(5 \times 1,0004 \times 10^{13}) - (5.228.294)^2]}}$$

$$= 0.998$$

$$R^2 = 0,997$$

Lampiran 2. Perhitungan Persamaan Regresi dan Koefisien Determinasi Oksida Para-fenilendiamin waktu retensi (t_R) 2,9

x	y	xy	x ²	y ²
0	0	0	0	0
10	5.610	56.100	100	31.472.100
40	21.154	846.160	1600	447.491.716
85	42.503	3.612.755	7225	1.860.505.009
120	63.340	7.600.800	14400	4.011.955.600
$\Sigma x = 255$	$\Sigma y = 132.607$	$\Sigma xy = 12.115.815$	$\Sigma x^2 = 23.325$	$\Sigma y^2 = 6.297.424.425$

1. Perhitungan Persamaan Regresi

$$b = \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$= \frac{(5 \times 12.115.815) - (255 \times 132.607)}{(5 \times 23.325) - (255)^2}$$

$$= 518,6$$

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$= 26.521,4 - (518,6 \times 51)$$

$$= 68,32$$

$$y = a + bx$$

$$y = 68,32 + 518,6x$$

2. Perhitungan Koefisien Determinasi

$$R = \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{\sqrt{[n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2] [n \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2]}}$$

$$= \frac{(5 \times 12.115.815) - (255 \times 132.607)}{\sqrt{[(5 \times 23.325) - (255)^2][(5 \times 6.297.424.425) - (132.607)^2]}}$$

$$= 0.9992$$

$$R^2 = 0,998$$

Lampiran 3. Perhitungan Persamaan Regresi dan Koefisien Determinasi Oksida Para-fenilendiamin waktu retensi (t_R) 3,6

x	y	xy	x ²	y ²
0	0	0	0	0
10	10.949	109.490	100	119.880.601
40	20.256	810.240	1600	410.305.536
85	41.313	3.511.605	7225	1.706.763.969
120	45.642	5.477.040	14400	2.083.192.164
$\Sigma x = 255$	$\Sigma y = 118.160$	$\Sigma xy = 9.908.375$	$\Sigma x^2 = 23.325$	$\Sigma y^2 = 4.320.142.270$

1. Perhitungan Persamaan Regresi

$$b = \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$= \frac{(5 \times 9.908.375) - (255 \times 118.160)}{(5 \times 23.325) - (255)^2}$$

$$= 376,18$$

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$= 23.632 - (376,18 \times 51)$$

$$= 4446,64$$

$$y = a + bx$$

$$y = 4446,64 + 376,18x$$

2. Perhitungan Koefisien Determinasi

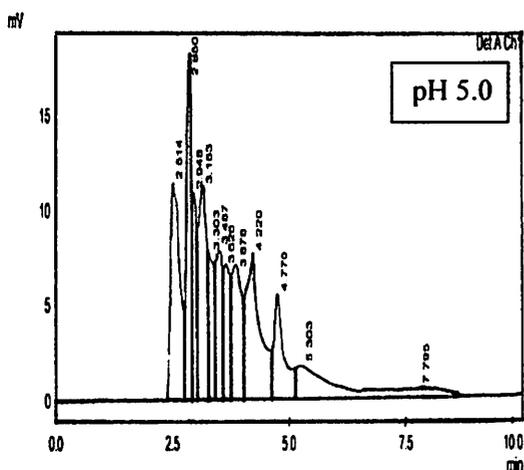
$$R = \frac{n \Sigma xy - \Sigma x \Sigma y}{\sqrt{[n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2] [n \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2]}}$$

$$= \frac{(5 \times 9.908.375) - (255 \times 118.160)}{\sqrt{[(5 \times 23.325) - (255)^2][(5 \times 4.320.142.270) - (118.160)^2]}}$$

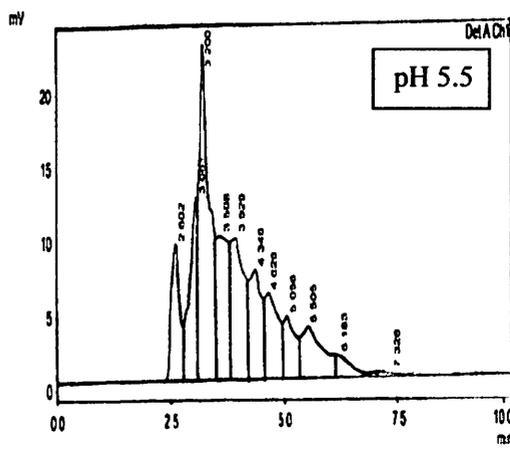
$$= 0.9777$$

$$R^2 = 0,955$$

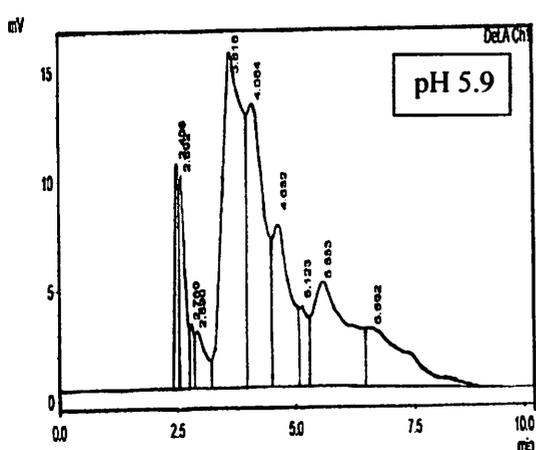
Lampiran 4. Kromatogram pemisahan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin berdasarkan variasi pH buffer asetat



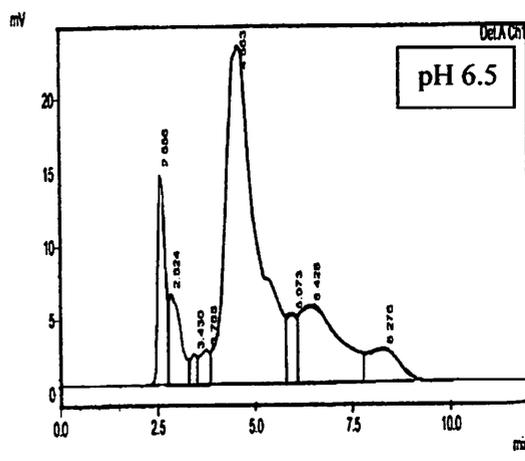
1 DeLA Ch1/304nm



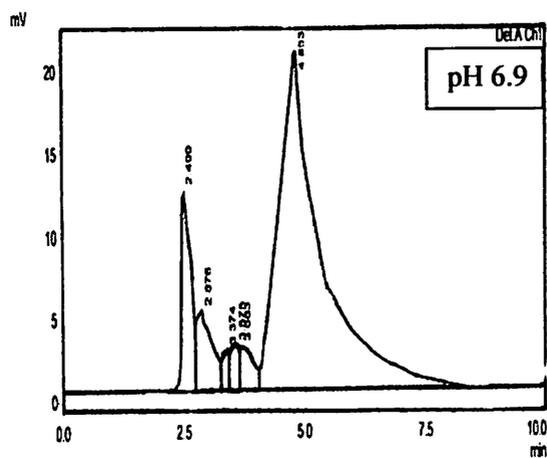
1 DeLA Ch1/304nm



1 DeLA Ch1/304nm

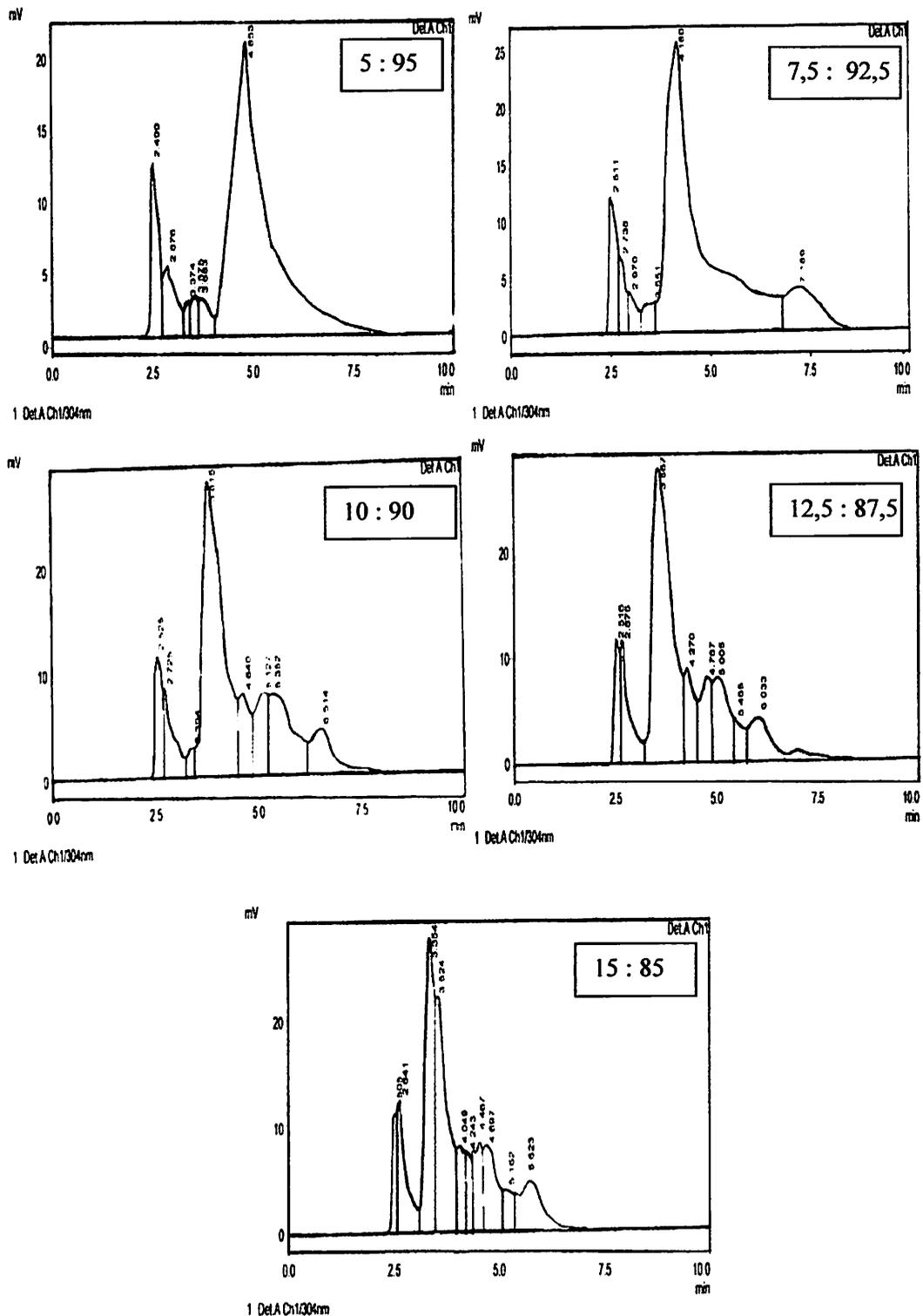


1 DeLA Ch1/304nm



1 DeLA Ch1/304nm

Lampiran 5. Kromatogram pemisahan para-fenilendiamin dan oksida para-fenilendiamin berdasarkan variasi komposisi eluen (Metanol : Buffer Asetat pH 6.9)



Lampiran 6. Data dan perhitungan kadar Para-fenilendiamin dan Oksida Para fenilendiamin dalam sampel

Data perhitungan faktor pengenceran sampel

Kode Sampel	Pelarutan		Pengenceran		Faktor Pengenceran
	Berat penimbangan (gram)	Volume pelarutan (mL)	Volume pemipetan (mL)	Volume pengenceran (mL)	
TL	0,5019	50	0,5	10	1.992
BG	0,5011	50	0,5	10	1.994
MR	0,5017	50	0,5	10	1.992
CM	0,5025	50	0,5	10	1.990
EG	0,5009	50	0,5	10	1.996
RC	0,5017	50	0,5	10	1.992

Data luas puncak dan perhitungan kadar para-fenilendiamin dan oksidanya pada sampel

Kode Sampel	Luas Puncak			Kadar (mg/L)			Persentase Kadar (%)		
	PFD	Oksi-PFD t _R 2,9	Oksi-PFD t _R 3,6	PFD	Oksi-PFD t _R 2,9	Oksi-PFD t _R 3,6	PFD	Oksi-PFD t _R 2,9	Oksi-PFD t _R 3,6
TL	251.173	-	37.571	26.013	-	175.404	2,60	-	17,54
BG	97.501	-	12.854	11.406	-	44.564	1,14	-	4,46
MR	284.276	-	13.332	29.162	-	47.051	2,91	-	4,70
CM	7.542	-	14.468	2.834	-	53.013	0,28	-	5,30
EG	47.760	-	15.786	6.676	-	60.166	0,67	-	6,02
RC	17.015	-	13.518	3.738	-	48.036	0,37	-	4,80

Dari data luas puncak yang diperoleh dapat diketahui kadar dan persentase kadar para-fenilendiamin pada sampel.

Rumus :

Persamaan regresi : $y = a + bx$

$y =$ luas area

$x =$ konsentrasi $\rightarrow x = \frac{y-a}{b}$

Kadar senyawa dalam sampel = $x \cdot$ faktor pengenceran

% Kadar senyawa dalam sampel = $\frac{X \cdot \text{faktor pengenceran}}{10.000}$

Contoh perhitungan kadar para-fenilendiamin dalam sampel A:

$$y = 20.940x - 22.276$$

$$251.173 = 20.940x - 22.276$$

$$x = 13,0587 \text{ mg/L}$$

Kadar para-fenilendiamin pada sampel TL = $13,0587 \text{ mg/L} \times 1992$
= 26.013 mg/L

% Kadar para-fenilendiamin pada sampel TL = $\frac{13,0587 \text{ mg/L} \times 1992}{10.000}$
= $2,60 \%$

**BAHAN YANG DIPERBOLEHKAN DIGUNAKAN DALAM KOSMETIKA
DENGAN PEMBATAHAN DAN PERSYARATAN PENGGUNAAN**

NAMA BAHAN	PEMBATAHAN			PENANDAAN / PERINGATAN
	KEGUNAAN	KADAR MAKSIMUM	PERSYARATAN LAIN	
<p>p-Phenylenediamine dan garamnya CAS No 106-50-3 Einecs 203-404-7</p> <p>p-Phenylenediamine HCl CAS No 624-18-0 Einecs 210-834-9</p> <p>p-Phenylenediamine sulphate CAS No 16245-77-5 Einecs 240-357-1</p>	Zat warna intermediet pada pewarna rambut	6% dihitung sebagai basa bebas	Setelah pencampuran dengan oksidator, konsentrasi maksimum tidak lebih dari 4 % dihitung sebagai basa bebas	<div style="text-align: center;">  </div> <ul style="list-style-type: none"> - Pewarna rambut dapat menyebabkan reaksi alergi yang parah. - Baca dan ikuti petunjuk pemakaian - Tidak digunakan untuk anak usia di bawah 16 tahun. - Risiko alergi dapat meningkat apabila pernah menggunakan tato "black henna" temporer - Jangan mewarnai rambut, jika: <ul style="list-style-type: none"> • ada kemerahan pada wajah • kulit kepala yang sensitif, iritasi dan luka • pernah mengalami reaksi yang tidak diinginkan setelah mewarnai rambut, pernah mengalami reaksi yang tidak diinginkan terhadap penggunaan tato 'black henna' temporer. - Perbandingan antara pewarna rambut dan oksidatornya harus dicantumkan pada label - Jangan digunakan untuk mewarnai alis dan bulu mata - Hanya digunakan oleh tenaga profesional. - Gunakan sarung tangan yang sesuai.