

Studi dan Karakterisasi Bahan Baku Resorsinol sebagai calon Baku Pembanding dan Pengembangan Metode Analisis Penetapan Kadar Resorsinol dalam Bahan Baku

Neni Isnaeni ^{a,1,*}, Nurul Dwirini ^{a,2}

^a Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, BPOM, Jl. Percetakan Negara No.23, Jakarta Pusat, 10560

¹ neni.isnaeni@pom.go.id, ² nurul.dwirini@pom.go.id

* corresponding author

ARTICLE INFO

Article history

Received: 04
Juli 2022

Revised: 06
September
2023

Accepted: 27
September
2023

DOI:
<https://doi.org/10.54384/eruditio.v3i2.121>

ABSTRACT / ABSTRAK

Resorsinol sering disalahgunakan dalam kosmetik sebagai obat jerawat. Sesuai peraturan BPOM Resorsinol hanya diperbolehkan untuk sediaan pewarna rambut, losion rambut dan sampo. Untuk meningkatkan kapabilitas dan kapasitas pengujian BPOM dalam rangka pengawasan *post market* kosmetik yang beredar di Indonesia dibutuhkan baku pembanding dan metode analisis Resorsinol. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan studi dan karakterisasi bahan baku Resorsinol sebagai calon baku pembanding dan pengembangan metode analisis penetapan kadar Resorsinol dalam bahan baku. Karakterisasi bahan baku Resorsinol dilakukan secara spektrofotometri inframerah dan KCKT-PDA, uji kemurnian secara KLT, KCKT, dan DSC, uji homogenitas, serta penetapan kadar secara KCKT-PDA. Pengembangan metode analisis penetapan kadar Resorsinol dilakukan menggunakan sistem KCKT-PDA yang dilengkapi dengan *autosampler* dan kolom Atlantis T3-C18 (Waters); 250 x 4,6 mm i.d. 5 μ m. Suhu kolom diatur pada suhu 25°C. Fase gerak terdiri dari larutan asam *orto*-fosfat 0,085% pH 3 dan metanol (50:50) dengan laju alir 1 mL/menit, deteksi pada 274 nm. Karakterisasi Resorsinol secara spektrofotometri inframerah menunjukkan adanya gugus fungsi ikatan C-H dari aromatik (3100 – 3000 cm^{-1}), ikatan C-H (1374 dan 773 cm^{-1}), ikatan C-OH (1311-1298, 1166; 1151 dan 460 cm^{-1}), ikatan C-C (1608 dan 1490 cm^{-1}), cincin aromatik (543 cm^{-1}), dan gugus *meta disubstituted ring* (842 dan 739 cm^{-1}). Uji kemurnian secara KLT dan KCKT diperoleh hasil tidak terdeteksi bercak atau puncak lain menunjukkan bahan memiliki kemurnian yang tinggi. Kemurnian secara DSC sebesar 99,05% dan titik lebur 109,41°C. Bahan baku dinyatakan homogen dengan nilai kadar 99,28% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Metode analisis yang dikembangkan linier pada rentang 0,1 – 0,3 mg/mL dengan koefisien korelasi dan V_{x0} berturut-turut yaitu 0,9999 dan 0,5%. Batas deteksi dan kuantifikasi yaitu 0,11 μ g/mL dan 0,34 μ g/mL, serta akurasi (% bias) sebesar 0,10%. Semua parameter validasi metode analisis telah memenuhi syarat. Dengan demikian, bahan baku Resorsinol dapat dijadikan sebagai calon baku pembanding dan metode analisis yang dikembangkan akurat, handal, dan valid sehingga dapat diaplikasikan untuk penetapan kadar Resorsinol dalam bahan baku.

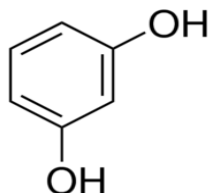
Resorcinol is often misused for antiacne cosmetics. Corresponding to Indonesian FDA regulation, it is only allowed for hair dyes, hair lotion, and shampoo. Reference standard and analytical method of Resorcinol are needed for strengthening capability and capacity of Indonesian FDA for post-market controlling of cosmetics in Indonesia. Therefore, this research developed a reference standard by study and characterization and an analytical method for assay Resorcinol in raw material. Characterization of Resorcinol raw material using infrared spectrophotometry and HPLC-PDA, purity testing with TLC, HPLC, and DSC, homogeneity testing and assay by HPLC-PDA. Development analytical method for assay of Resorcinol was performed using an HPLC - PDA system with Waters Atlantis T3-C18 (5 μ m, 250 x 4.6 mm) column. The column temperature was set at 25°C. The mobile phase consists of ortho-phosphoric acid 0.085% pH 3 and methanol (50:50 v/v), delivered at a 1.0 mL/min flow rate. Detection was carried out at 274 nm. Resorcinol characterization using infrared spectrophotometry showed the presence of aromatic C-H bond functional groups (3100 – 3000 cm⁻¹), C-H bonds (1374 and 773 cm⁻¹), C-OH bonds (1311-1298, 1166; 1151 and 460 cm⁻¹), C-C bonds (1608 and 1490 cm⁻¹), aromatic rings (543 cm⁻¹), and meta di-substituted ring groups (842 and 739 cm⁻¹). Purity testing by TLC and HPLC were obtained that no spots or other peaks detected, indicating that the material has high purity. Purity by DSC of 99.05% and melting point of 109.41°C. The sample was homogenous with a content of 99.28% on a dried basis. Furthermore, the developed method has a linear range of 0.1 – 0.3 mg/mL at a coefficient correlation of 0.9999 and Vx0 of 0.5%. The limit of detection is 0.11 μ g/mL, while the limit of quantification is 0.34 μ g/mL and accuracy (% bias) of 0.10%. All validation parameters have met the requirement. These results meet the criteria for the candidate of a reference standard and the developed method is accurate, reliable, and valid so it can be applied to determine Resorcinol in raw material.

Keywords: Resorcinol, characterization, assay, reference standard, HPLC-DAD

Kata Kunci: Resorsinol, karakterisasi, penetapan kadar, baku pembandingan, KCKT-DAD

1. Pendahuluan

Resorsinol dengan nama kimia 1,3-dihydroxybenzene merupakan serbuk hablur berbentuk jarum, berwarna putih, sedikit berbau dan memiliki rasa pahit (Schmiedel & Decker, 2000; USP, 2020; Williams, 2013). Resorsinol memiliki rumus kimia C₆H₆O₂ dan bobot molekul relatif 110,11 g/mol. Nama lain resorsinol adalah 1,3-benzenediol, ms-benzenediol, m-dihydroxybenzene, m-hydroquinone, 3-hydroxyphenol, dan resorcin (Bernauer et al., 2021; Moffat et al., 2004; Williams, 2013). Resorsinol merupakan turunan fenol dimana atom hidrogen disubstitusi oleh gugus hidroksil pada posisi meta terhadap gugus OH (Hahn et al., 2006). Struktur kimia Resorsinol seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur kimia Resorsinol

Pada sediaan kosmetika krim pengobatan jerawat, resorsinol digunakan sebagai antipuritik, exfoliating agen atau keratolitik pada konsentrasi 2,5% hingga 5% (Reynolds, 1982). Namun, beberapa penelitian menemukan bahwa aplikasi resorsinol pada kulit dapat menyebabkan efek pada kelenjar tiroid yang merugikan kulit manusia (Goebel et al., 2012). Resorsinol dapat terserap melalui rute oral,

dermal dan subkutan, cepat dimetabolisme dan diekskresikan sebagai glukuronida terkonjugasi di dalam urin. Beberapa efek toksikologi yang ditimbulkan oleh Resorsinol yaitu disfungsi tiroid, iritasi kulit, gangguan sistem syaraf pusat, dan mengubah massa kelenjar adrenalin (Hahn et al., 2006).

Sesuai dengan Peraturan Kepala BPOM No. HK.00.05.42.1018 tahun 2008 tentang Bahan Kosmetika, penggunaan resorsinol dalam produk kosmetika hanya diizinkan untuk sediaan pewarna rambut dengan kadar 5% dan dalam sediaan losion rambut dan sampo dengan kadar 0,5%. Penggunaan resorsinol dalam sediaan selain sediaan pewarna rambut, losion rambut dan sampo tidak diperbolehkan (BPOM, 2008).

Dengan demikian, pengembangan baku pembanding Resorsinol sangat penting untuk meningkatkan kapabilitas dan kapasitas pengujian dalam rangka penguatan pengawasan kosmetika yang beredar di wilayah Indonesia. Pengembangan baku pembanding oleh Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional (PPPOMN) akan mengurangi biaya pengeluaran negara dalam hal pengadaan baku pembanding untuk pengujian baik di PPPOMN maupun Balai Besar/Balai dan Loka POM seluruh Indonesia. Dengan dikembangkannya baku pembanding ini, juga akan menambah pemasukan kas negara melalui jalur Penerimaan Negara Bukan Pajak (PNBP) jika dimanfaatkan oleh pihak eksternal BPOM.

Menurut WHO, baku pembanding merupakan bahan seragam, autentik yang digunakan dalam pengujian fisika dan kimia, sifat-sifatnya dibandingkan dengan bahan yang memiliki kemurnian yang tinggi sesuai dengan tujuan penggunaannya (WHO, 2007). Baku pembanding sekunder merupakan senyawa yang karakteristiknya ditetapkan melalui perbandingan dengan baku pembanding primer. Baku pembanding primer dikenal memiliki kualitas yang sesuai dalam konteks tertentu dimana nilainya dapat diterima tanpa perbandingan dengan senyawa kimia lain. Ketertelusuran keduanya harus didokumentasikan dengan baik (WHO, 2007).

Baku pembanding sekunder harus mempunyai sifat yang sama dengan baku primer yang relevan dengan uji yang ditetapkan. Persyaratan baku pembanding adalah salah satu atau lebih sifat-sifatnya telah ditetapkan dengan jelas, stabil, homogen, penandaan atau label yang tertera dalam kemasan atau sertifikat analisis memberikan informasi yang jelas. Nilai atau bilangan yang ditetapkan dalam baku pembanding farmakope adalah valid untuk kegunaan yang dimaksud dan tidak berlaku untuk kegunaan lainnya (ISO, 2009; WHO, 2007). Sesuai pedoman WHO TRS 943 - Annex 3, beberapa tahapan yang harus dilakukan untuk mengembangkan baku pembanding, yaitu perlu memastikan identitas dan karakter bahan dengan cara identifikasi secara spektrofotometri inframerah, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), spektroskopi NMR (*nuclear magnetic resonance*), spektroskopi massa atau XRD (*X-ray diffraction crystallography*). Kemudian menetapkan kemurnian bahan secara kromatografi, spektrofotometri, DSC (*Differential Scanning Calorimetry*) atau metode lainnya. Selanjutnya adalah penetapan nilai baku pembanding tersebut (WHO, 2007).

Beberapa penelitian terkait analisis Resorsinol baik secara FTIR, DSC maupun KCKT-DAD telah dilaporkan (De et al., 2014; Kumar Trivedi & Branton, 2015; Siti Maysarah & Netti Herlina, 2015). Namun, belum ada laporan penelitian terkait pengembangan baku pembanding Resorsinol. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pengembangan baku pembanding dan metode analisis Resorsinol. Karakterisasi bahan dilakukan secara spektrofotometri inframerah dan KCKT, uji kemurnian secara DSC, KLT (kromatografi lapis tipis) dan KCKT, serta uji homogenitas dan penetapan kadar baku pembanding. Kemudian parameter validasi yang ditetapkan meliputi selektivitas, akurasi, linearitas, rentang, batas deteksi dan kuantifikasi serta presisi (ripitabilitas dan presisi antara). Dengan demikian baku pembanding maupun metode analisis yang dikembangkan akan dapat digunakan dalam pengujian produk kosmetika baik secara kualitatif maupun kuantitatif.

2. Metodologi

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Baku Pembanding, Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, BPOM pada bulan Juli sampai Agustus 2019.

2.2. Bahan dan Instrumen Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah baku primer *Resorcinol* USPRS Lot No. I0D135 dengan kadar 99,8%, bahan baku Resorsinol dengan kemurnian lebih dari 95%, kalium bromida, pan

DSC, lempeng HPTLC *silica gel* 60 F 254 ukuran 20 x 10 cm (Merck, Jerman), reagen seperti n-heksana, etil asetat dan metanol (Merck, Germany), asam *orto*-fosfat, larutan NaOH, metanol derajat KCKT (Merck, Germany) dan air bebas mineral yang diperoleh dari *purifyer water system* Milli-Q (18,2 MΩcm). Instrumen yang digunakan adalah timbangan mikro Mettler Toledo XS3DU, spektrofotometer inframerah Shimadzu IR-Prestige 21 (Shimadzu, Japan), TLC Visualizer (CAMAG, Swiss), DSC 60A (Shimadzu, Japan), dan seperangkat KCKT Waters Alliance e2695 dilengkapi dengan autosampler, *Diode Array Detector* (Waters, USA), kolom C18 (Atlantis T3, Waters) dimensi 250 x 4,6 mm i.d. 5 μm.

2.3. Karakterisasi Sampel

2.3.1. Karakterisasi secara Spektrofotometri Inframerah

Ditimbang masing-masing secara terpisah 2 mg baku primer *Resorcinol* USPRS dan bahan baku Resorsinol. Kemudian didispersikan ke dalam 200 mg kalium bromida dan diukur serapan dengan spektrofotometer inframerah Shimadzu IR-Prestige 21.

2.3.2. Karakterisasi secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Larutan baku dan uji disiapkan sebagai berikut. Larutan baku: ditimbang saksama 2 mg baku primer *Resorcinol* USPRS dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, dilarutkan dan diencerkan dengan metanol sampai tanda. Larutan uji: ditimbang saksama 2 mg bahan baku Resorsinol dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, dilarutkan dan diencerkan dengan metanol sampai tanda.

Larutan uji dan baku disuntikkan ke dalam sistem KCKT dengan kondisi: kolom C18 (Atlantis T3, Waters); 250 x 4,6 mm i.d. 5 μm. Suhu kolom diatur pada 25°C. Volume penyuntikkan 10 μL, menggunakan fase gerak campuran larutan asam *orto*-fosfat 0,085% pH 3 dan metanol (50:50) yang dieluasi secara isokratik dengan laju alir 1 mL/menit. Deteksi dilakukan pada panjang gelombang 274 nm.

2.4. Uji Kemurnian Resorsinol

2.4.1. Penetapan Titik Lebur dan Kemurnian secara *Differential Scanning Calorimetry* (DSC)

Ditimbang saksama 2 mg bahan baku Resorsinol, dimasukkan ke dalam pan DSC Shimadzu 60A dan diukur titik lebur dengan cara pemanasan pada laju kenaikan suhu 10°C/menit hingga 150°C.

2.4.2. Uji Kemurnian secara Kromatografi lapis Tipis (KLT)

Larutan uji: ditimbang saksama 100 mg bahan baku Resorsinol dilarutkan dalam 2,0 mL metanol. Larutan baku 1: ditimbang saksama 20 mg *Resorcinol* USPRS dilarutkan dalam metanol hingga 2,0 mL dan Larutan baku 2: dipipet 1,0 mL Larutan baku 1 dan diencerkan dengan metanol hingga 2,0 mL. Larutan baku dan Larutan uji ditotolkan pada lempeng HPTLC *silica gel* 60 F 254 dan dengan volume penotolan 10 μL. Kemudian dieluasi dengan larutan pengembang n-heksana – etil asetat (70:30) hingga pengembang bergerak $\frac{3}{4}$ tinggi lempeng, angkat dan keringkan. Deteksi dilakukan dengan TLC Visualizer pada lampu UV- 254 dan 366 nm.

2.4.3. Uji Kemurnian secara KCKT

Uji kemurnian dilakukan dengan kondisi sistem seperti pada identifikasi secara KCKT. Larutan uji dan Larutan baku disiapkan secara terpisah dengan konsentrasi masing-masing 1 mg/mL dalam metanol.

2.5. Uji Homogenitas

Uji homogenitas Resorsinol dilakukan dengan cara bahan baku dalam kemasan bulk disampling pada bagian atas, tengah dan bawah dan dikemas ke dalam vial-vial kecil. Dilakukan sampling secara acak dari sejumlah vial tersebut sebanyak 10 vial. Ditetapkan kadar 5 vial pada hari pertama masing-masing ditetapkan duplo dan hari kedua 5 vial berikutnya dengan sistem KCKT dan prosedur yang sama. Dihitung MS_B , MS_W dan F hitung sesuai persamaan 1 - 3 di bawah ini. F hitung dibandingkan dengan nilai F tabel. Jika F hitung < F tabel maka sampel dinyatakan homogen.

$$MS_B = \left[\frac{1}{2(n-1)} \right] \sum [(a_1 + b_1) - (a_1 + b_1)_{rata-rata}]^2 \quad (\text{Pers. 1})$$

$$MS_W = \left[\frac{1}{2n} \right] \sum [(a_1 - b_1) - (a_1 - b_1)_{rata-rata}]^2 \quad (\text{Pers. 2})$$

$$F_{hitung} = \frac{MS_B}{MS_W} \quad (\text{Pers. 3})$$

Keterangan : MS_B = keragaman (variability) antar rata – rata sampel
 MS_W = keragaman dalam masing – masing sampel

2.6. Validasi Metode dan Penetapan kadar secara KCKT

Parameter validasi yang ditetapkan adalah selektivitas/spesifisitas, akurasi, linearitas, rentang, batas deteksi dan kuantifikasi serta presisi (ripitabilitas dan presisi antara).

2.6.1. Selektivitas/spesifisitas

Larutan baku: ditimbang saksama 2 mg baku primer *Resorcinol* USPRS dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, dilarutkan dan diencerkan dengan metanol sampai tanda. Larutan uji: ditimbang saksama 2 mg bahan baku dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, dilarutkan dan diencerkan dengan metanol sampai tanda. Blanko (metanol), Larutan baku dan Larutan uji masing-masing disuntikkan ke dalam KCKT dengan kondisi sistem seperti pada uji identifikasi secara KCKT.

2.6.2. Akurasi

Larutan baku disiapkan seperti pada uji selektivitas/spesifisitas. Dibuat dua Larutan baku dengan konsentrasi yang sama dan masing-masing disuntikkan ke dalam kromatograf cair kinerja tinggi (KCKT) sebanyak 6 (enam) kali dengan kondisi sistem seperti tercantum pada uji identifikasi secara KCKT.

Perhitungan akurasi menggunakan rumus berikut :

$$\text{Kadar sebenarnya (\%)} = \frac{r_2}{r_1} \times \frac{C_1}{C_2} \times \text{Kadar baku (\%)} \quad (\text{Pers. 4})$$

Akurasi dinyatakan sebagai % bias, dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Akurasi (\%)} = \left| \frac{\text{Kadar sebenarnya} - \text{kadar baku}}{\text{Kadar baku}} \right| \times 100\% \quad (\text{Pers. 5})$$

Keterangan:

r_1	=	Rataan area puncak larutan baku 1
r_2	=	Rataan area puncak larutan baku 2
C_1	=	Konsentrasi larutan baku 1 (%)
C_2	=	Konsentrasi larutan baku 2 (%)
Kadar baku	=	Kadar baku primer yang tertera dalam etiket/sertifikat analisis

2.6.3. Linearitas dan Rentang

Disiapkan larutan stok dengan cara ditimbang saksama lebih kurang 10 mg baku primer *Resorcinol* USPRS dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL, dilarutkan dan diencerkan dengan metanol sampai tanda. Larutan uji linearitas dibuat dari 5 tingkat konsentrasi dengan cara dipipet larutan baku stok masing-masing: 0,5; 0,75; 1,0; 1,25; dan 1,5 mL, masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 5-mL, dan diencerkan dengan metanol sampai tanda. Masing-masing tingkat konsentrasi larutan uji disuntikkan ke dalam kromatograf, diamati dan dicatat AUC (luas area di bawah puncak). Buat kurva hubungan antara konsentrasi dan AUC dan hitung persamaan garis regresinya. Linearitas kurva ditetapkan berdasarkan V_{x0} dan koefisien korelasi garis regresi linear (r).

2.6.4. Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)

Batas deteksi dan batas kuantifikasi dapat dihitung secara statistik melalui regresi linier dari kurva kalibrasi pada uji linearitas. LOD dan LOQ dihitung dengan persamaan di bawah ini.

$$LOD = \frac{3 \times SB}{slope(b)} \quad (\text{Pers. 6})$$

$$LOQ = \frac{10 \times SB}{slope(b)} \quad (\text{Pers. 7})$$

2.6.5. Presisi

Larutan baku dan uji dilakukan seperti pada uji selektivitas/spesifisitas. Larutan baku dan larutan uji masing-masing disuntikkan ke dalam kromatograf cair kinerja tinggi dengan kondisi seperti cara penetapan pada uji selektivitas/spesifisitas. Dilakukan penetapan keterulangan (ripitabilitas) dari 10 kali penetapan larutan uji sesaat (waktu yang sama) dan presisi antara (*intermediate precision*) pada dua hari yang berbeda. Hitung RSD (simpangan baku) dari penetapan presisi tersebut.

2.6.6. Penetapan Kadar

Perhitungan kadar berasal dari uji presisi. Kadar Resorsinol dihitung dengan persamaan berikut:

$$Kadar(\%) = \frac{r_u}{r_b} \times \frac{C_b}{C_u} \times Kadar\ baku(\%) \quad (\text{Pers. 8})$$

Kadar Resorsinol dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan (K):

$$K(\%) = \frac{100}{(100-SP)} \times Kadar\ \% \quad (\text{Pers. 9})$$

Keterangan:

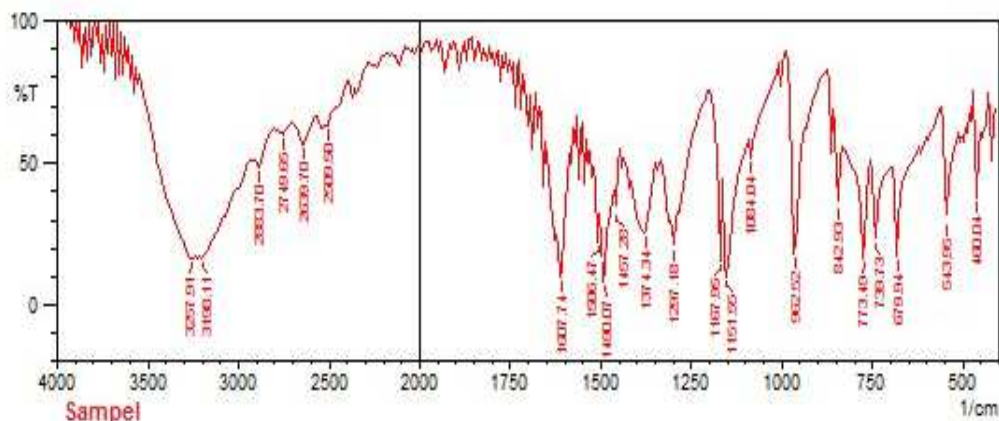
r_u	=	Rataan area puncak larutan uji
r_b	=	Rataan area puncak larutan baku
C_b	=	Konsentrasi larutan baku (%)
C_u	=	Konsentrasi larutan uji (%)
Kadar baku	=	Kadar baku primer yang tertera dalam etiket/sertifikat analisis
SP	=	Susut pengeringan bahan baku (%)

3. Hasil dan Pembahasan

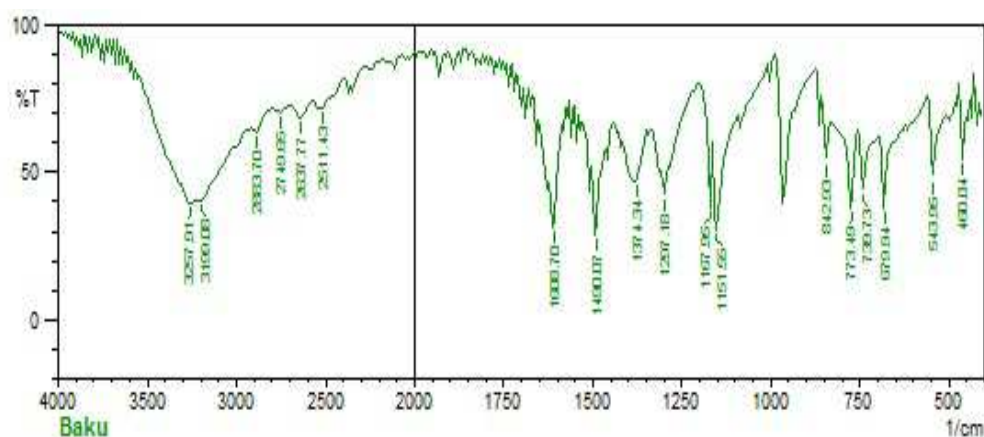
3.1. Karakterisasi secara Spektrofotometri Inframerah

Pengukuran dengan spektrofotometri inframerah bertujuan untuk mengidentifikasi adanya gugus fungsi berdasarkan vibrasi dan rotasi atom. Gugus fungsi ditentukan berdasarkan bilangan gelombang yang dibutuhkan oleh suatu molekul untuk bervibrasi pada suatu ikatan, dimana setiap ikatan mempunyai bilangan gelombang yang spesifik sehingga setiap molekul mempunyai spektra inframerah yang spesifik. Bilangan gelombang antara 1300 – 1000 cm^{-1} dikenal sebagai daerah sidik jari (*fingerprint*) dan setiap senyawa mempunyai sidik jari dengan pola yang khas (Kosela S., 2010).

Karakteristik pita serapan spektrum inframerah Resorsinol pada 1149, 1603, 774, 962, 1164, 1289 cm^{-1} (Moffat et al., 2004). Hasil identifikasi secara spektrofotometri inframerah menghasilkan profil spektrum dan sidik jari yang identik antara sampel uji dengan baku seperti terlihat pada Gambar 2 dan 3 berikut ini.



Gambar 2. Spektrum inframerah sampel Resorsinol

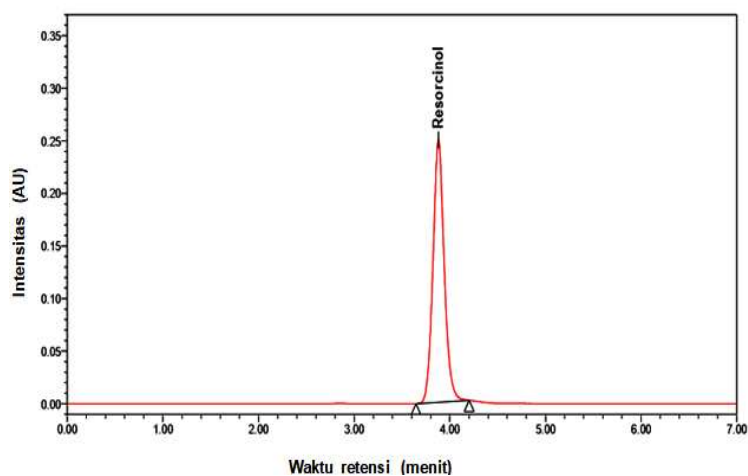


Gambar 3. Spektrum inframerah baku primer *Resorcinol* USPRS

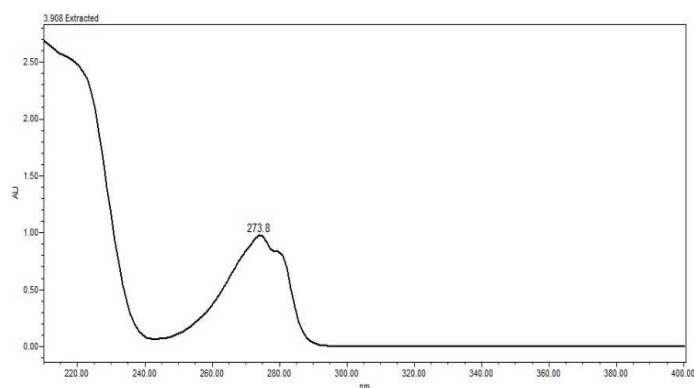
Bilangan gelombang 3100 – 3000 cm^{-1} pada spektrum inframerah menunjukkan adanya frekuensi ulur ikatan C-H dari senyawa aromatik, Frekuensi ulur C-H tumpang tindih dengan frekuensi ulur O-H. Bilangan gelombang 1374 cm^{-1} dan 773 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan C-H; bilangan gelombang 1311-1298 cm^{-1} ; 1166 cm^{-1} ; 1151 cm^{-1} dan 460 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan C-OH. Bilangan gelombang 1608 dan 1490 cm^{-1} menyatakan adanya vibrasi peregangan dari ikatan C-C, serta 543 cm^{-1} berasal dari vibrasi cincin aromatik. Adanya bilangan gelombang pada 842 dan 739 cm^{-1} disebabkan oleh adanya gugus *meta di-substituted ring* (Kumar Trivedi & Branton, 2015). Berdasarkan hasil karakterisasi tersebut, dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut adalah Resorsinol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya (De et al., 2014; Kumar Trivedi & Branton, 2015; Siti Maysarah & Netti Herlina, 2015).

3.2. Karakterisasi secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Karakterisasi secara KCKT-DAD bertujuan untuk menentukan waktu retensi analit dan spektrum dari puncak. Hasil karakterisasi secara KCKT-DAD terlihat pada Gambar 4 menunjukkan bahwa waktu retensi puncak utama Resorsinol sekitar 3,87 menit, sedangkan spektrum Resorsinol pada kromatogram DAD (Gambar 5) menunjukkan puncak serapan panjang gelombang maksimum pada 273,8 nm. Panjang gelombang maksimum Resorsinol pada literatur adalah 273 nm (Moffat et al., 2004). Hal ini membuktikan bahwa Resorsinol mengandung gugus fenol. Hal ini menunjukkan bahwa bahan baku adalah benar Resorsinol dan memenuhi syarat sebagai calon baku pembanding.



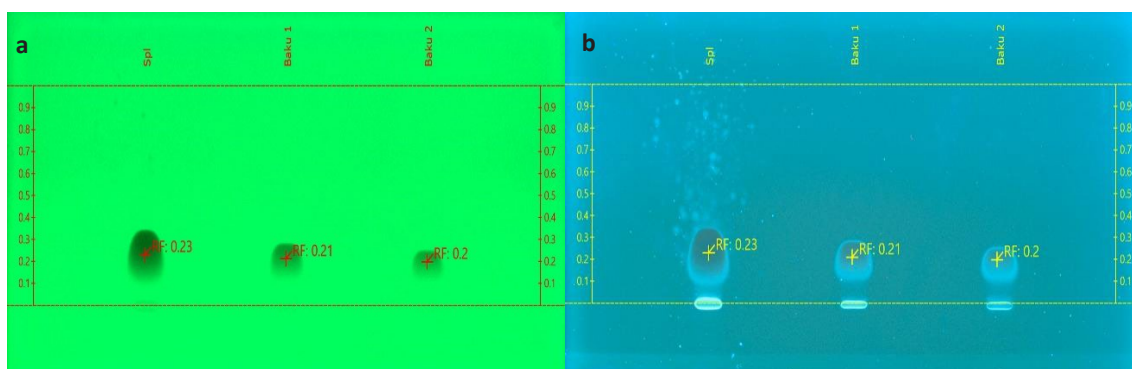
Gambar 4. Kromatogram KCKT-DAD Resorsinol



Gambar 5. Profil spektrum Resorsinol

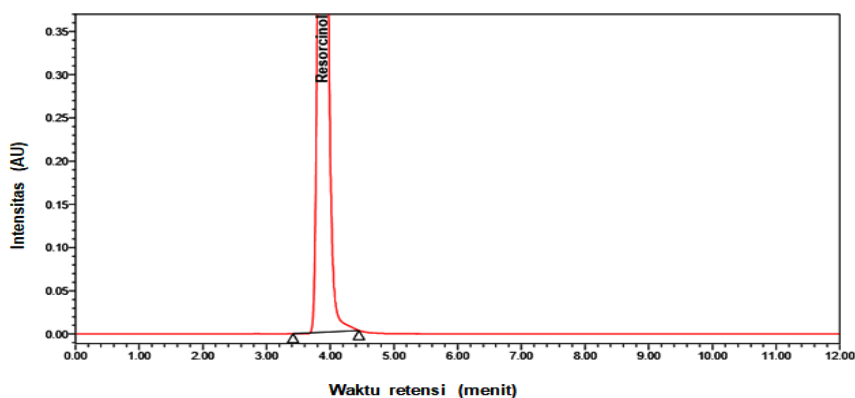
3.3. Uji Kemurnian Resorsinol

Penetapan kemurnian Resorsinol dengan KLT menunjukkan bercak tunggal dengan nilai Rf yang sesuai dengan larutan baku (Gambar 6). Nilai Rf Resorsinol adalah 0,23. Nilai Rf terlalu rendah kemungkinan disebabkan karena sistem pengembang yang digunakan yaitu n-heksana – etil asetat (70:30) bersifat nonpolar sedangkan Resorsinol bersifat polar sehingga senyawa lebih tertahan pada fase diam yang polar. Namun, pada lempeng tidak terdeteksi adanya bercak lain selain bercak utama. Hal ini mengindikasikan bahwa sampel memiliki kemurnian yang tinggi.



Gambar 6. Kromatogram KLT Resorsinol, deteksi pada (a). Lampu 254 nm dan (b). Lampu 366 nm

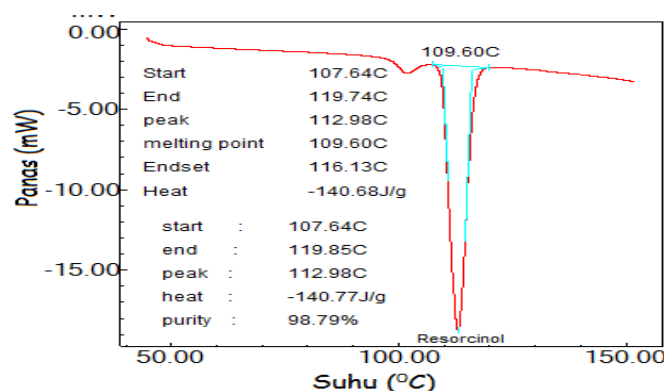
Uji kemurnian juga dilakukan dengan KCKT-DAD. Pada Gambar 7 terlihat pada kromatogram KCKT-DAD tidak terdeteksi adanya puncak lain selain puncak utama analit Resorsinol. Kemurnian bahan secara KLT dan KCKT-DAD hampir mendekati 100%. Menurut pedoman WHO TRS 943, Annex 3, persyaratan kemurnian suatu bahan untuk menjadi baku pembanding adalah lebih dari 95% atau lebih dari 90% secara KLT (WHO, 2007). Dengan demikian, bahan baku Resorsinol memenuhi syarat sebagai calon baku pembanding.



Gambar 7. Kromatogram KCKT-DAD pada uji kemurnian Resorsinol

3.4. Penetapan Titik Lebur dan Kemurnian secara DSC

Resorsinol ditetapkan titik lebur dan kemurnian secara DSC. Pada termogram terdapat garis berwarna biru yang menunjukkan area puncak termogram untuk senyawa dengan kemurnian mendekati 100%. Terlihat pada Gambar 8, termogram DSC Resorsinol memiliki puncak yang tajam dimana puncak termogram sampel berhimpit dengan garis biru yang menunjukkan bahwa sampel memiliki kemurnian yang tinggi (Kumar Trivedi & Branton, 2015). Hal ini memperkuat uji kemurnian secara KLT dan KCKT. Berdasarkan hasil pengukuran dengan DSC, diperoleh rata-rata titik lebur Resorsinol pada 109,41 °C (n = 3; SD = 0,22%) dan kemurnian adalah 99,05% (n = 3, SD = 0,22%). Pada pustaka dinyatakan bahwa Resorsinol memiliki titik lebur 109 – 111°C (USP, 2019).



Gambar 8. Profil termogram Resorsinol

3.5. Uji Homogenitas

Homogenitas merupakan karakteristik penting dalam baku pembanding. Homogenitas adalah suatu sifat atau kondisi keserbasamaan baik jenis maupun kadar suatu bahan atau sampel. Suatu bahan yang homogen, jika dianalisis akan memberikan hasil yang teliti dan tepat. Sebaliknya bahan atau sampel yang tidak homogen (heterogen) jika dianalisis akan memberikan hasil yang beragam (bervariasi) dan kemungkinan salah (ISO, 2017; Linsinger et al., 2001).

Perhitungan homogenitas dilakukan dengan persamaan 1 – 3, diperoleh nilai $F_{hitung} < F_{tabel}$ yaitu sebesar $1,20 < 3,02$. Hal ini menunjukkan bahwa sampel homogen sehingga memenuhi syarat sebagai calon baku pembanding.

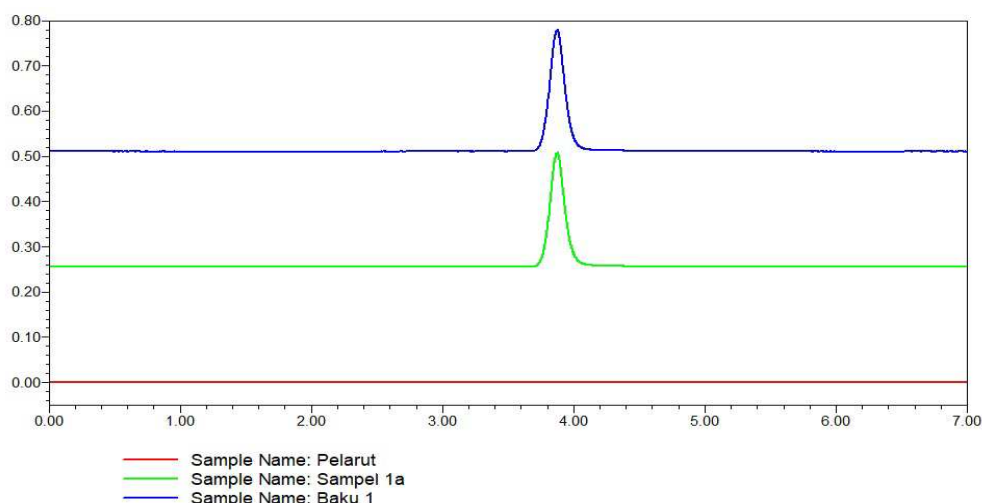
3.6. Validasi Metode dan Penetapan Kadar

Uji kesesuaian sistem dilakukan dengan penyuntikan berulang larutan baku pada uji selektivitas/spesifisitas sebanyak 6 kali. Pada uji kesesuaian sistem yang diamati adalah parameter kromatografi seperti faktor ikutan, lempeng teoritis dan presisi keberulangan penyuntikan. Faktor ikutan puncak Resorsinol adalah 1,07 dengan lempeng teoritis 4959,04. Nilai presisi keberulangan yang dinyatakan dalam RSD baik area maupun waktu retensi secara berurutan adalah 0,34% dan 0,04%. Pengulangan penyuntikan dilakukan untuk menjamin bahwa area dan waktu retensi yang terukur adalah benar sehingga hasil analisis yang dilakukan valid. Jika pengulangan penyuntikan menghasilkan area dan waktu retensi yang bervariasi dan tidak memenuhi syarat maka luas area puncak kromatogram yang dihasilkan dapat tidak sesuai dan akan menghasilkan data yang tidak valid. Hasil kesesuaian sistem menunjukkan bahwa sistem memenuhi syarat validasi metode analisis dan memiliki presisi keberulangan yang baik.

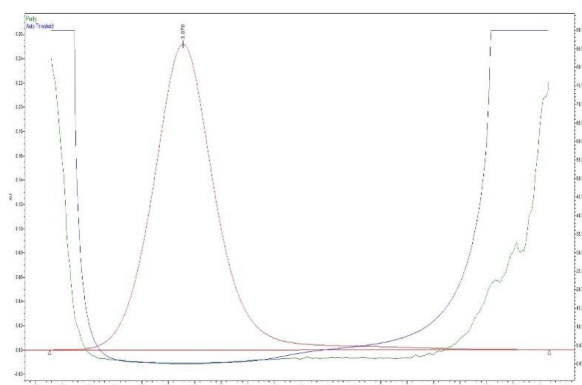
Tabel 1. Uji kesesuaian sistem Resorsinol

Parameter	Hasil	Kriteria (USP, 2020)
Faktor ikutan	1,07	$\leq 1,5$
Lempeng teoritis	4959,04	≥ 2000
RSD area (%)	0,34	$\leq 2,0 \%$
RSD waktu retensi (%)	0,04	$\leq 1,0 \%$

Pada kromatogram KCKT-DAD (Gambar 9), terlihat bahwa tidak ada puncak pada kromatogram larutan blanko yang memiliki waktu retensi yang sama dengan puncak utama pada kromatogram larutan baku. Selain itu, puncak utama pada kromatogram larutan uji mempunyai waktu retensi yang sama dengan puncak utama pada kromatogram larutan baku. Kurva kemurnian pada kromatogram DAD (Gambar 10) memperlihatkan bahwa garis hijau berada di bawah garis biru dengan nilai *purity angle* < *purity threshold* ($0,214 < 0,409$), yang menggambarkan bahwa tidak ada cemaran/senyawa lain pada waktu retensi analit Resorsinol. Dengan demikian, metode yang digunakan selektif dan spesifik untuk analisis Resorsinol secara KCKT-DAD. Hal ini sesuai dengan kriteria parameter validasi selektivitas/spesifisitas.



Gambar 9. Kromatogram KCKT-DAD blanko (pelarut), sampel dan baku Resorsinol



Gambar 10. Peak purity pada kromatogram KCKT-DAD Resorsinol

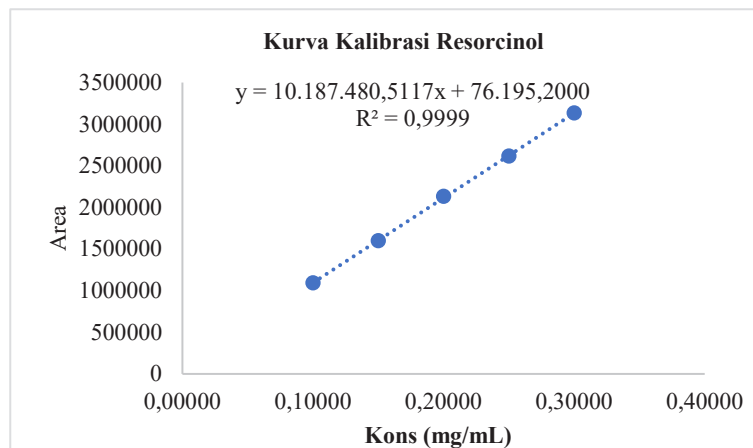
Akurasi metode dilakukan dengan menetapkan % bias larutan baku Resorsinol yang diperoleh dibandingkan dengan kadar pada sertifikat. Nilai akurasi metode yang diperoleh rata-rata 0,10% seperti yang terlihat pada Tabel 2. Kriteria akurasi (% bias) $\leq 2,0\%$ (Ahuja, 2005). Hal ini menunjukkan metode yang digunakan akurat dan valid untuk kuantifikasi bahan baku Resorsinol.

Tabel 2. Akurasi metode penetapan kadar Resorsinol secara KCKT-DAD

	I	II
Akurasi (%)	0,02	0,19
Rata-rata (%)	0,10	

Uji linearitas penetapan kadar Resorsinol secara KCKT-DAD ditunjukkan pada kurva kalibrasi pada Gambar 11 di bawah ini. Kurva kalibrasi Resorsinol linier pada rentang konsentrasi 0,1 – 0,3 mg/mL dengan persamaan garis regresi, $y = 10.187.480,5117x + 76.195,2000$. Nilai R dan V_{x0} yang

diperoleh berturut-turut yaitu 0,9999 dan 0,5% memenuhi kriteria keberterimaan yaitu $R \geq 0,995$ dan $V_{x0} \leq 5,0\%$ (AOAC, 2002). Batas deteksi dan kuantifikasi yang diperoleh secara berurutan adalah 0,11 dan 0,34 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 11. Kurva linieritas Resorsinol

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur ditetapkan terhadap replikasi sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi dapat menghasilkan nilai rata-rata yang sangat dekat dengan nilai yang sebenarnya dengan simpangan baku (SD) atau simpangan baku relatif (RSD) sebagai parameter ukur (ICH, 2005). Parameter presisi yang dilakukan pada penelitian ini meliputi presisi sistem, metode dan intermediet yang dilakukan pada dua hari yang berbeda. Presisi sistem diperoleh dari penyuntikan larutan baku secara berulang menunjukkan RSD area kurang dari 2,0%. Presisi metode (ripitabilitas) pada dua hari yang berbeda pada penelitian ini adalah 0,44% dan 0,24% sedangkan presisi intermediet sebesar 0,36%. Nilai $RSD < 2\%$ menunjukkan bahwa parameter presisi memberikan keterulangan yang dapat diterima dengan baik. Nilai kadar sampel sebesar 99,28% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan dengan $RSD = 0,36\%$ ($n = 20$).

4. Kesimpulan

Bahan baku Resorsinol memenuhi syarat karakterisasi dan kemurnian sebagai calon baku pembanding dan dapat digunakan dalam analisis kualitatif dan kuantitatif. Karakterisasi secara spektrofotometri inframerah dan KCKT-DAD membuktikan bahwa bahan baku adalah Resorsinol. Uji kemurnian secara KLT dan KCKT menunjukkan bahan memiliki kemurnian yang tinggi. Kemurnian secara DSC sebesar 99,05% dan titik lebur $109,41^{\circ}\text{C}$. Bahan baku dinyatakan homogen dengan $F_{hitung} < F_{tabel}$ yaitu sebesar $1,20 < 3,02$. Kadar calon baku pembanding Resorsinol adalah 99,28% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Metode analisis penetapan kadar Resorsinol dalam bahan baku secara KCKT-DAD memenuhi syarat kriteria keberterimaan semua parameter validasi seperti selektivitas/spesifisitas, akurasi, presisi, linearitas, dan ripitabilitas. Batas deteksi dan kuantifikasi metode secara berurutan adalah 0,11 dan 0,34 $\mu\text{g/mL}$. Metode analisis yang dikembangkan akurat, handal, dan valid sehingga dapat diaplikasikan untuk penetapan kadar Resorsinol dalam bahan baku secara KCKT-DAD.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pimpinan dan Staf Pusat Pengembangan Pengujian Obat dan Makanan Nasional, BPOM atas segala kontribusi yang diberikan sehingga penelitian ini dapat dilakukan dengan baik.

Daftar Referensi

- Ahuja, S. (2005). Overview: Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC. In *Separation Science and Technology* (Vol. 6, Issue C). [https://doi.org/10.1016/S0149-6395\(05\)80045-5](https://doi.org/10.1016/S0149-6395(05)80045-5)
- AOAC. (2002). *AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*. AOAC.

- Bernauer, U., Bodin, L., Commission, A. E., Chaudhry, Q., & Dusinska, M. (2021). *SCCS Opinion on Resorcinol-SCCS / 1619 / 20 - Final Opinion Scientific Committee on Consumer Safety SCCS Opinion on Resorcinol The SCCS adopted this document. April.*
- BPOM. (2008). *Peraturan Kepala BPOM No. HK.00.05.42.1018 tentang Bahan Kosmetik.*
- De, A. K., Chowdhury, P. P., & Chattapadhyay, S. (2014). Quantitative Analysis of Resorcinol from Marketed Hair Tonic Using Liquid Chromatographic Technique. *International Scholarly Research Notices*, 2014, 1-5. <https://doi.org/10.1155/2014/632591>
- Goebel, C., Diepgen, T. L., Krasteva, M., Schlatter, H., Nicolas, J., Blömeke, B., Jan, P., Schnuch, A., Taylor, J. S., Pungier, J., Fautz, R., Fuchs, A., Schuh, W., Gerberick, G. F., & Kimber, I. (2012). Quantitative risk assessment for skin sensitisation: Consideration of a simplified approach for hair dye ingredients. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 64(3), 459-465. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.10.004>
- Hahn, S., Kielhorn, J., Koppenhöfer, J., Wibbertmann, A., & Mangelsdorf, I. (2006). Concise international chemical assessment document 71. In *IPCS Concise International Chemical Assessment Documents* (Numéro 71).
- ICH. (2005). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). *ICH Harmonised Tripartite Guideline*, 1-13. <https://doi.org/10.1002/9781118532331.ch23>
- ISO. (2017). *ISO Guide 35: Reference materials — Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability.*
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2014, Farmakope Indonesia V hal. 1669-1673, Ketentuan Umum <1381> Validasi Prosedur dalam Farmakope, Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kosela, S. (2010). *Cara Mudah dan Sederhana Penentuan Struktur Molekul berdasarkan Spectra Data (NMR, Mass, IR, UV)*. Lembaga Penerbit Fakultas Ekonomi UI.
- Kumar Trivedi, M., & Branton, A. (2015). Characterisation of Physical, Spectral and Thermal Properties of Biofield treated Resorcinol. *Organic Chemistry: Current Research*, 04(03). <https://doi.org/10.4172/2161-0401.1000146>
- Linsinger, T. P. J., Pauwels, J., Van Der Veen, A. M. H., Schimmel, H., & Lamberty, A. (2001). Homogeneity and stability of reference materials. *Accreditation and Quality Assurance*, 6(1), 20-25. <https://doi.org/10.1007/s007690000261>
- Moffat, A. C., Osselton, M. D., Widdop, B., & Watts, J. (2004). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons* (3rd éd.). Pharmaceutical Press.
- Reynolds, J. E. F. (Éd.). (1982). *Martindale: The Complete Drug Reference* (28th éd.). Pharmaceutical Press.
- Schmiedel, K., & Decker, D. (2000). Resorcinol. In *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim.
- Siti Maysarah, & Netti Herlina. (2015). Pembuatan Perekat Lignin Resorsinol Formaldehid Dari Natrium Lignosulfonat Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 4(4), 58-63. <https://doi.org/10.32734/jtk.v4i4.1514>
- The United States Pharmacopeial. (2019). United State Pharmacopoeia 2019 USP 42- NF 37. In The United States Pharmacopeial Convention (Ed.), *United State Pharmacopoeia 2019 USP 42- NF 37*. The United States Pharmacopeia (USP).
- The United States Pharmacopeial. (2020). United State Pharmacopoeia 2020 USP 43-NF 38. In United State Pharmacopoeia (Ed.), *United State Pharmacopoeia (42nd-NF 38th ed.)*. United State Pharmacopoeia.
- WHO. (2007). *WHO committee on specifications for pharmaceutical preparations, Annex 3, general guidelines for the establishment, maintenance, and distribution of chemical reference standards*. Geneva: WHO.
- Williams, M. (2013). The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals, 15th Edition Edited by M.J.O'Neil, Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK ISBN 9781849736701; 2708 pages. April 2013, \$150 with 1-year free access to The Merck Index Online. *Drug Development Research*, 74(5), 339-339. <https://doi.org/10.1002/ddr.21085>