

**OPTIMASI DAN VALIDASI METODE ANALISIS IDENTIFIKASI ORTO, META, DAN PARA  
FENILENDIAMIN DALAM SEDIAAN PEWARNA RAMBUT  
SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI**

Tashdiq Anwarulloh, Supandi, Almawati Situmorang

Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA, Jakarta  
Islamic Center, Jl. Delima II/IV, Klender Jakarta Timur 13460

Email: supandi\_19@yahoo.co.id (Supandi)

**ABSTRAK**

Orto, meta, dan para fenilendiamin merupakan bahan kimia yang dilarang untuk ditambahkan sebagai pewarna rambut karena dapat mengakibatkan dermatitis, iritasi, reaksi alergi, dan kanker. Untuk dapat mengidentifikasi ketiga zat warna rambut tersebut secara simultan diperlukan sebuah metode analisis pengujian yang handal dan tervalidasi. Metode analisis menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan detektor Ultra Violet (UV) telah dikembangkan untuk analisis identifikasi orto, meta, dan para fenilendiamin dalam sediaan pewarna rambut. Metode analisis KCKT untuk identifikasi orto, meta, dan para fenilendiamin dioptimasi dengan menggunakan pelarut metanol: air : larutan natrium askorbat 0,5% (50 : 40 : 10) dan kolom C18-fenil X-bridge (4,6 x 250 mm, ukuran partikel 5 µm) dengan fase gerak larutan dapar fosfat pH 10 : metanol (95 : 5), dengan laju alir 1,0 mL/menit dan detektor UV 290 nm. Setelah dilakukan optimasi, kemudian dilakukan validasi metode analisis. Dari hasil validasi metode analisis yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa metode analisis ini valid dengan nilai keseksamaan waktu retensi (orto = 1,092% meta = 1,049% dan para fenilendiamin = 0,817%) dan batas deteksi (orto = 0,132 µg/g, meta = 0,195 µg/g dan para fenilendiamin 62,468 µg/g).

**Kata kunci:** orto, meta, dan para fenilendiamin, KCKT, optimasi dan validasi.

**ABSTRACT**

*Ortho, meta, and para phenylenediamine are prohibited ingredients of hair dye because they cause dermatitis, irritation, allergic reactions, and cancer. It is required a reliable and validated method to identify all three hair dyes simultaneously. The analysis method using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with a ultra violet detector has been developed to identify ortho, meta, and para phenylenediamine in hair dye preparations. HPLC analytical method for the identification of ortho, meta, and para phenylenediamine was optimized using methanol: water: 0.5% sodium ascorbate (50: 40: 10) as a solvent and phenyl-C18 column X-bridge (4.6 x 250 mm, 5 µm particle size) with phosphate buffer solution pH 10: methanol (95: 5) as mobile phase, with a flow rate of 1.0 mL / min and UV detector at 290 nm. After optimized, the methode was validated. It can be concluded that the analysis method is valid with the retention time of ortho, meta and para phenylenediamine are 1.092%, 1.049% and 0.817%, respectively, and the*

*limit of detection of ortho, meta, and para phenylenediamine are 0.132 µg/g, 0.195 µg/g and 62.468 µg/g, respectively.*

**Key words:** *ortho, meta, and para phenylenediamine, HPLC, optimization and validation.*

## Pendahuluan

Kosmetika adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ genital bagian luar) atau gigi dan membran mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan, dan atau memperbaiki bau badan, atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik (Permenkes RI No. 1175 Tahun 2010 tentang izin produksi kosmetika).

Semakin majunya dunia kosmetika dan taraf hidup manusia, kosmetika semakin banyak digunakan. Formula kosmetika menggunakan bahan yang terdiri dari bermacam komponen yaitu komponen pokok dan komponen tambahan. Komponen tambahan dapat digunakan sebagai bahan pengawet, pewarna dan atau pewangi yang sengaja ditambahkan untuk menambah mutu dan daya tarik.

Salah satu sediaan kosmetika yang digunakan dalam industri kosmetika adalah pewarna rambut. Zat warna yang digunakan dalam pewarna rambut dapat berupa zat warna alam, sintetik maupun logam. Penggunaan zat warna dalam pewarna rambut diatur

dalam Peraturan Kepala Badan POM RI Nomor HK.03.1.23.08.11.07517 Tahun 2011 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika. Zat warna yang dilarang digunakan sebagai pewarna rambut berdasarkan peraturan tersebut di antaranya adalah orto fenilendiamin, meta fenilendiamin dan para fenilendiamin karena berdampak buruk pada kesehatan. Berdasarkan penelitian, senyawa-senyawa tersebut dapat mengakibatkan dermatitis, iritasi, reaksi alergi, dan kanker (Al-Suwaidi dan Ahmed, 2010). Untuk dapat mengidentifikasi zat warna rambut yang dilarang yaitu orto, meta, dan para fenilendiamin dalam sediaan pewarna rambut secara simultan, diperlukan sebuah metode analisis pengujian yang handal dan tervalidasi.

*Occupational safety and health administration, united states department of labor* telah mempublikasikan metode analisis orto, meta dan para fenilendiamin secara simultan dalam sampel udara dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Elskamp 1991). Dalam jurnal tersebut dijelaskan cara preparasi orto, meta dan para fenilendiamin yang berasal dari udara dengan menggunakan filter dan mengandung pelarut asam sulfat yang

diekstraksi dengan larutan EDTA (Etilen Diamin Tetra Asetat). Untuk dapat diaplikasikan pada sediaan pewarna rambut, metode ini akan dikembangkan dengan memodifikasi cara preparasi dan pelarut sehingga orto, meta, dan para fenilendiamin dapat diekstraksi dari matriks sediaan pewarna rambut.

Sebelum digunakan dalam pengujian rutin dengan hasil yang dapat dipertanggungjawabkan maka metode analisis perlu divalidasi. Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Dengan kata lain tujuan dari validasi metode analisis adalah untuk mengkonfirmasi atau memastikan metode analisis yang dipakai sesuai dengan peruntukannya.

Harmita (2004) menyebutkan beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagaimana cara penentuannya. Adapun parameter-parameter tersebut antara lain adalah kecermatan (*accuracy*), keseksamaan (*precision*), selektifitas (spesifisitas), linearitas dan rentang, batas deteksi dan batas

kuantitasi, ketangguhan metode (*ruggedness*), dan kekuatan (*robustness*). Apabila parameter-parameter ini dapat dipertanggungjawabkan maka suatu metode analisis dapat dikatakan valid dan dapat digunakan untuk analisis rutin.

Pada penelitian ini dilakukan analisis orto, meta, dan para fenilendiamin dalam sediaan pewarna rambut secara KCKT karena metode ini memiliki keuntungan waktu analisis yang singkat dan pemisahan tinggi serta akurat. Detektor yang digunakan adalah detektor ultra violet karena senyawa tersebut memiliki gugus kromofor.

## Metode Penelitian

### Bahan

Baku pembanding yang digunakan yaitu orto fenilendiamin BPFI (BPOM), meta fenilendiamin (Sigma Aldrich<sup>®</sup>), para fenilendiamin BPFI (BPOM). Pereaksi yang digunakan adalah asetonitril berderajat KCKT (Merck<sup>®</sup>), akua bidestilata (Bratacem<sup>®</sup>), metanol pro analisis (Merck<sup>®</sup>), metanol berderajat KCKT (Merck<sup>®</sup>), etanol pro analisis (Merck<sup>®</sup>), asam orto-fosfat 85% pro analisis (Merck<sup>®</sup>), natrium fosfat dibase (Merck<sup>®</sup>).

### *Prosedur Penelitian*

#### 1. Optimasi Pelarut

Dilakukan optimasi terhadap empat jenis pelarut dengan komposisi yang berbeda (pelarut campur). Pelarut pertama (A) terdiri dari campuran etanol pro analisis : air : larutan natrium sulfat 1% (50 : 49 : 1), pelarut kedua (B) hanya menggunakan metanol pro analisis, pelarut ketiga (C) menggunakan campuran metanol pro analisis : air (50 : 50) dan pelarut keempat (D) terdiri dari metanol pro analisis : air : larutan natrium askorbat 0,5% (50 : 40 : 10).

#### 2. Pembuatan Baku Induk

- a. Ditimbang secara saksama masing-masing lebih kurang 3 mg baku orto fenilendiamin, meta fenilendiamin, dan para fenilendiamin, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berwarna coklat 5,0 mL, dilarutkan dengan lebih kurang 2,5 mL pelarut campur, dihomogenkan. Pelarut campur ditambahkan sampai tanda batas labu ukur, dihomogenkan. Diperoleh konsentrasi lebih kurang 600 µg/mL.
- b. Larutan tersebut selanjutnya dipipet 1 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur berwarna coklat 10 mL.

Dilarutkan dengan pelarut campur lebih kurang 3 mL, dihomogenkan. Pelarut campur ditambahkan sampai tanda batas labu ukur, dihomogenkan. Diperoleh konsentrasi lebih kurang 60 µg/mL. Larutan tersebut disaring dengan penyaring berukuran 0,45 µm.

#### 3. Optimasi pH Dapar Fase Gerak

Dalam penelitian ini dilakukan percobaan untuk mendapatkan pH dapar fase gerak yang optimum pada pH yang berkisar antara pH 7 sampai dengan pH 11. Sebanyak 7,1 g natrium fosfat dibase ditimbang saksama ke dalam *beaker glass* 50 mL, dilarutkan dengan lebih kurang 40 mL akuades, dikocok dengan batang pengaduk, dipindahkan larutan ke dalam labu ukur 1 L, dibilas *beaker glass* dengan akuades 40 mL sebanyak 3 kali. Masing-masing bilasan dimasukkan ke dalam labu ukur 1 L yang telah berisi larutan natrium fosfat dibase, dihomogenkan. Akuades ditambahkan sampai tanda batas labu ukur, dihomogenkan. Kemudian diatur pH dengan penambahan asam orto fosfat 85% untuk mendapatkan pH 7-9 dan penambahan natrium hidroksida 1 N untuk mendapatkan pH 10-11. Larutan disaring menggunakan

penyaring berukuran 0,45  $\mu\text{m}$ . Larutan dibebaskan menggunakan penghilang gas.

#### 4. Sistem KCKT dan Fase Gerak

Kolom C18-fenil X-bridge<sup>®</sup> (4,6 x 250 mm, ukuran partikel 5  $\mu\text{m}$ ), laju alir 1,0 mL/menit, detektor ultra violet-visible (UV-Vis), panjang gelombang 290 nm, volume penyuntikan 20  $\mu\text{L}$ , dan fase gerak larutan dapar fosfat : metanol pro berderajat KCKT (95 : 5).

#### 5. Pembuatan Matriks

- Beeswax* (1 g), asam stearat (4,4 g), mineral oil (44 g) dan trietanolamin (0,6 g) dilelehkan dalam *beaker glass* dengan menggunakan *hot plate*.
- Air dipanaskan dalam *beaker glass* sampai suhu 80 °C.
- Air panas (50 g) tersebut dituangkan ke dalam campuran bahan yang telah dilelehkan. Kemudian diaduk hingga homogen.

#### 6. Metode Analisis

- Sebanyak 0,5 g matriks ditimbang secara saksama dalam labu ukur berwarna coklat 25 mL, dilarutkan dengan pelarut campur lebih kurang 20 mL, kemudian divorteks, dicukupkan sampai tanda, dan dihomogenkan. Setelah itu didinginkan dalam lemari es

selama 1 jam lalu disentrifuga 3500 rpm selama 10 menit.

- Supernatan diambil, kemudian disaring dengan penyaring 0,45  $\mu\text{m}$  sebanyak 2 mL ke dalam vial berwarna coklat. Larutan disuntikkan ke dalam sistem KCKT.

#### 7. Uji Kesesuaian Sistem

Larutan baku dicampur dengan konsentrasi 60  $\mu\text{g/mL}$ , disuntikkan ke dalam sistem KCKT sebanyak 6 (enam) kali pengulangan dengan pelarut, fase gerak dan sistem KCKT yang terpilih. Waktu retensi ( $t_r$ ) dicatat, selanjutnya dihitung nilai resolusi, luas area, nilai lempeng teoritis (N), *High Equivalent Theoretical Plate* (HETP), faktor ikutan ( $t_f$ ) dan *Relative Standard Deviation* (RSD).

#### 8. Validasi Metode Analisis

##### a. Keseksamaan (*precision*)

Dilakukan enam kali penyuntikan pada orto, meta, dan para fenilendiamin pada konsentrasi 60  $\mu\text{g/mL}$  berturut-turut, didapat waktu retensi dan luas area, kemudian dihitung rata-rata dan % RSD dari nilai waktu retensi dan luas area.

##### b. Selektifitas/Spesifisitas

Selektifitas/spesifisitas orto, meta, dan para fenilendiamin dilakukan

terhadap pelarut, matriks, dan zat warna rambut lain yang biasa ditambahkan dalam sediaan pewarna rambut seperti pirogalol, resorsinol, dan hidrokinon. Masing-masing zat disuntikkan ke dalam sistem KCKT kemudian diamati hasil kromatogram apakah mengganggu kromatogram dari baku campur fenilendiamin.

c. LOD (*Limit of Detection*)

c.1 Analisis Matriks

Matriks 0,5 g ditimbang, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Kemudian dilarutkan dengan pelarut campur sebanyak 10 mL, divorteks dan dicukupkan sampai tanda, dihomogenkan. Setelah itu didinginkan dalam lemari es selama 1 jam lalu disentrifuga 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, kemudian disaring dengan penyaring 0,45  $\mu\text{m}$  sebanyak 2 mL ke dalam vial coklat. Larutan disuntikkan ke dalam sistem KCKT. Diperoleh nilai *noise* untuk masing-masing baku fenilendiamin.

c.2 Analisis *Spiked*

Matriks 0,5 g ditimbang, dimasukkan ke dalam labu ukur

25 mL, ditambahkan 2,5 mL baku campur, dilarutkan dengan pelarut campur sebanyak 10 mL, kemudian divorteks dan dicukupkan sampai tanda, dihomogenkan. Setelah itu didinginkan dalam lemari es selama 1 jam lalu disentrifugasi 3500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil, kemudian disaring dengan penyaring 0,45  $\mu\text{m}$  sebanyak 2 mL ke dalam vial coklat. Larutan disuntikkan ke dalam sistem KCKT. Diperoleh nilai *signal* untuk masing-masing baku fenilendiamin.

c.3 Perhitungan LOD

Larutan *spiked* dibuat dengan konsentrasi tertentu sehingga diperoleh  $s/n = 3$  untuk masing-masing baku fenilendiamin, kemudian diinjeksikan ke dalam sistem KCKT. Diperoleh nilai *signal* untuk masing-masing baku fenilendiamin. LOD-nya dihitung.

## Hasil dan Pembahasan

### 1. Optimasi Metode Analisis

#### a. Pemilihan Pelarut

Percobaan awal menggunakan pelarut etanol : air : larutan natrium

sulfit 1% (50 : 49 : 1) dikarenakan kelarutan ketiga senyawa tersebut yang dapat larut dalam larutan etanol dan air. Larutan natrium sulfit 1% ditambahkan berdasarkan literatur dari *Manufacture of Beauty Products* karangan SBP Board of Consultants & Engineers, New Delhi yang menyebutkan bahwa para fenilendiamin stabil dalam larutan tersebut. Hasil dari campuran pelarut ini diperoleh bentuk puncak kromatogram yang pecah pada para fenilendiamin dan tidak lancip pada meta fenilendiamin. Penelitian dilanjutkan dengan menggunakan pelarut tunggal 100% metanol pro analisa karena ketiga senyawa dapat larut di dalam metanol, diperoleh puncak kromatogram orto, meta, dan para fenilendiamin tidak simetris dan terdapat *fronting* pada kromatogram para fenilendiamin.

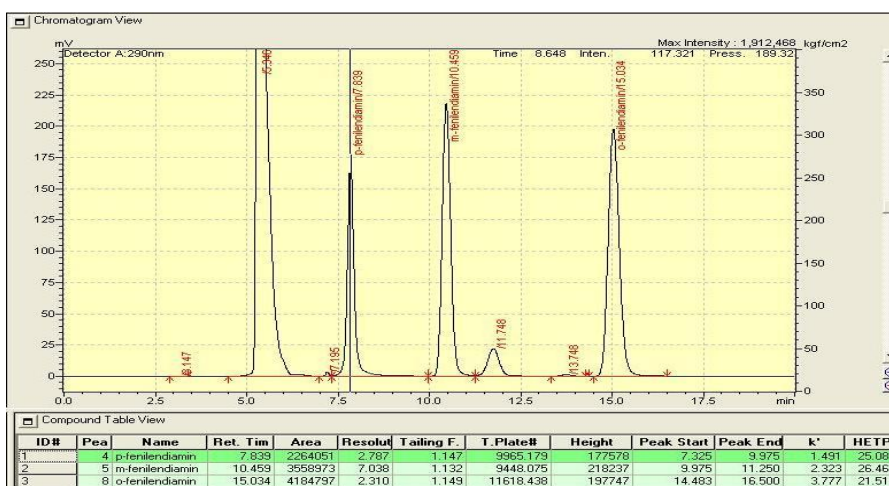
Pelarut dimodifikasi dengan komposisi metanol : air (50 : 50) diperoleh bentuk kromatogram yang simetris untuk orto, meta, dan para fenilendiamin. Kromatogram yang diperoleh dari komposisi pelarut ini sudah cukup baik namun

masih terdapat kekurangan karena tidak dapat menjaga stabilitas orto, meta, dan para fenilendiamin yang mudah teroksidasi yang ditandai dengan perubahan warna larutan yang terjadi setelah lebih kurang 2 jam dari jernih menjadi biru kehitaman sehingga diperlukan adanya penambahan antioksidan dalam komposisi pelarut tersebut. Antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan natrium askorbat 0,5% sehingga komposisi pelarut diubah menjadi metanol : air : larutan natrium askorbat 0,5% (50 : 40 : 10). Kromatogram yang dihasilkan memiliki bentuk yang sama dengan komposisi pelarut metanol : air (50 : 50). Puncak dari larutan natrium askorbat 0,5% memiliki waktu retensi yang cukup jauh dengan waktu retensi ketiga baku fenilendiamin. Larutan antioksidan ini juga dapat menjaga stabilitas orto, meta, dan para fenilendiamin sehingga tidak mudah teroksidasi yang dibuktikan dengan tidak adanya perubahan warna larutan baku selama 4 (empat) hari. Dengan demikian komposisi ini memberikan bentuk kromatogram



yang paling baik seperti yang terlihat pada Gambar 1. Komposisi pelarut ini juga menghasilkan

larutan baku yang stabil dibandingkan komposisi pelarut lainnya.



**Gambar 1.** Kromatogram baku orto, meta, dan para fenilendiamin dengan pelarut metanol : air : larutan natrium askorbat 0,5% (50:40:10).

#### b. Pemilihan pH Dapar Fase Gerak

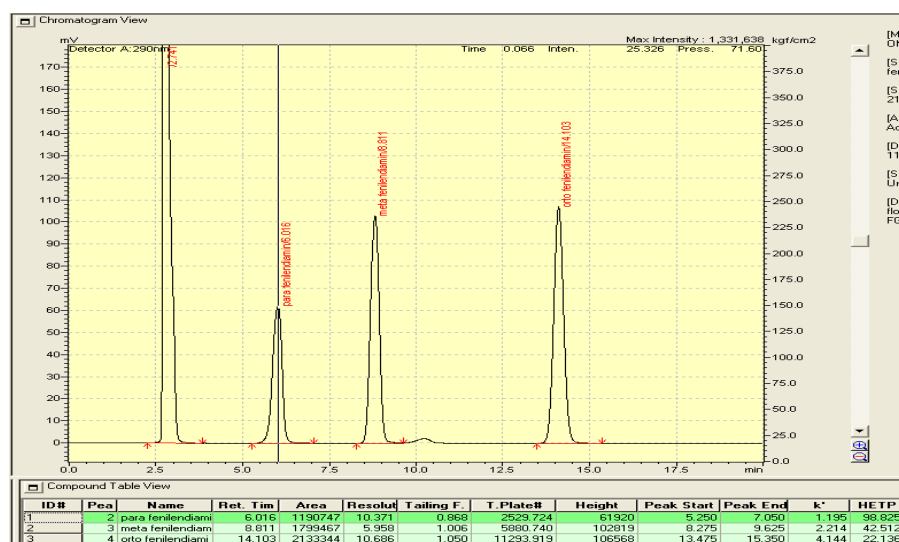
Dapar yang digunakan untuk fase gerak yaitu dapar fosfat pH 7 seperti yang terdapat di dalam jurnal acuan (Elskamp, 1991). Pada jurnal tersebut fase gerak yang digunakan adalah dapar fosfat pH 7 : Asetonitril (95 : 5). Dalam penelitian ini komposisi fase gerak dimodifikasi menjadi dapar fosfat : metanol (95 : 5) dengan alasan penggunaan metanol sebagai pelarut. Nilai pH dapar fosfat merupakan salah satu faktor yang sangat berpengaruh karena orto,

meta, dan para fenilendiamin memiliki sifat kebasaaan yang cukup tinggi dengan nilai pKb sebesar 9,54 sehingga pH fase gerak harus cenderung bersifat basa untuk meminimalisir terjadinya *tailing* pada kromatogram. Berdasarkan hal tersebut dilakukan percobaan dengan menggunakan komposisi fase gerak pH dapar fosfat antara 7-11 : metanol (95 : 5) untuk mendapatkan pH dapar fosfat yang optimum.

Dari berbagai nilai pH dapar fosfat antara 7-11 yang

dikombinasikan dengan metanol untuk fase gerak, diperoleh bentuk kromatogram yang paling baik adalah dapar fosfat pada pH 10. Pada fase gerak dapar fosfat pH 10 : metanol (95 : 5) diperoleh bentuk puncak dari orto, meta, dan para fenilendiamin yang terpisah secara baik dengan bentuk yang simetris. Kromatogram tersebut juga

memenuhi persyaratan parameter kromatogram yang baik seperti yang terlihat pada Gambar 2. Berdasarkan hasil tersebut maka dipilih dapar fosfat pH 10 sebagai fase gerak : metanol (95 : 5) karena memiliki waktu retensi yang lebih cepat dan nilai resolusi yang lebih besar dibandingkan pelarut lainnya.



**Gambar 2.** Kromatogram baku orto, meta, dan para fenilendiamin dengan fase gerak dapar fosfat pH 10 : metanol (95 : 5).

#### c. Uji Kesesuaian Sistem (UKS)

Berdasarkan hasil uji UKS diperoleh waktu retensi dan luas area pada masing-masing orto, meta, dan para fenilendiamin telah memenuhi persyaratan yaitu

memiliki % RSD  $\leq$  2%. Sementara untuk nilai rata-rata resolusi, lempeng teoritis, HETP, dan faktor ikutan juga telah memenuhi persyaratan sehingga proses

analisis dapat dilanjutkan ke tahap  
validasi metode analisis

## 2. Validasi Metode Analisis

### a. Keseksamaan (*Precision*)

**Tabel 1.** Data hasil validasi uji keseksamaan

| Senyawa | Waktu retensi     |       | Luas Area       |                 |
|---------|-------------------|-------|-----------------|-----------------|
|         | Rata-rata (menit) | % RSD | Rata-rata (mAU) | % RSD Luas area |
| Orto    | 13,974            | 1,092 | 1565069         | 1,558           |
| Meta    | 8,948             | 1,049 | 1379386         | 0,857           |
| Para    | 6,453             | 0,817 | 896661          | 0,881           |

Dari hasil yang diperoleh, yaitu koefisien variasi yang kurang dari 2% dapat disimpulkan bahwa uji keseksamaan/*precision* yang dilakukan penyuntikan enam kali berturut-turut pada hari yang sama memberikan hasil yang baik.

uji ini bertujuan untuk melihat bahwa pada waktu retensi orto, meta, dan para fenilendiamin tidak terdapat faktor pengganggu. Hasil penelitian terhadap selektifitas/spesifisitas dapat dilihat pada Tabel 2.

### b. Selektifitas/Spesifisitas

**Tabel 2.** Hasil selektifitas/spesifitas

| Senyawa    | Waktu Retensi (Menit) | Luas Area (mAU) | Resolusi | Lempeng Teoritis | HETP ( $\times 10^{-4}$ ) | Faktor Ikutan |
|------------|-----------------------|-----------------|----------|------------------|---------------------------|---------------|
| Orto       | 14,103                | 2133344         | 10,686   | 11293,919        | 22,136                    | 1,050         |
| Meta       | 8,811                 | 1799467         | 5,958    | 5880,740         | 42,512                    | 1,006         |
| Para       | 6,016                 | 1190747         | 10,371   | 2529,724         | 98,825                    | 0,868         |
| Pelarut    | -                     | -               | -        | -                | -                         | -             |
| Pirgalol   | 4,565                 | 862872          | -        | 106,848          | 2339,764                  | 2,170         |
| Resorsinol | 4,880                 | 1390637         | -        | 2698,265         | 92,652                    | 0,869         |
| Hidrokinon | 4,929                 | 1628            | -        | 3539,565         | 70,630                    | 0,968         |
| Matriks    | 6,378                 | 5944            | 3,144    | 1920,163         | 130,197                   | 0,884         |

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada matriks terdapat

puncak yang berdekatan dengan puncak para fenilendiamin sehingga

para fenilendiamin tidak spesifik/selektif terhadap matriks yang digunakan, hal ini dapat terjadi dikarenakan terdapat bahan pada matriks yang memiliki waktu retensi yang sama dengan para fenilendiamin. Puncak tersebut kemungkinan adalah puncak dari trietanolamin karena bersifat basa. Namun hal ini tidak terjadi pada orto dan meta fenilendiamin. Pelarut dan zat pewarna rambut lainnya tidak memberikan puncak pada waktu retensi yang sama dengan waktu retensi ketiga baku fenilendiamin. Hal ini menunjukkan metode ini cukup spesifik/selektif terhadap pelarut, matriks dan zat pewarna rambut lainnya.

c. LOD (*Limit of Detection*)

Penentuan batas deteksi (LOD) dapat ditentukan dengan beberapa cara, yaitu dengan evaluasi secara visual, berdasarkan *signal-to-noise ratio*, dan berdasarkan standar deviasi dari respon yang terdeteksi dan *slope* (berdasarkan standar deviasi matriks sampel dan berdasarkan kurva kalibrasi) (ICH, 2005). Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah berdasarkan *signal-to-noise ratio* ( $s/n = 3$ ). Hasil

LOD yang diperoleh untuk orto 0,132 µg/g, meta 0,195 µg/g, dan para fenilendiamin 62,468 µg/g.

### Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa identifikasi orto, meta, dan para fenilendiamin dengan metode analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan kolom C18-fenil X-bridge (4,6 x 250 mm, ukuran partikel 5 µm), dengan pelarut metanol : air : larutan natrium askorbat 0,5% (50 : 40 : 10), komposisi fase gerak dapar fosfat pH 10 : metanol (95 : 5), laju alir 1,0 mL/menit dan detektor UV pada panjang gelombang 290 nm merupakan metode yang efektif dan efisien serta valid untuk identifikasi orto, meta, dan para fenilendiamin pada sediaan pewarna rambut dengan nilai keseksamaan waktu retensi (orto = 1,092% meta = 1,049% dan para fenilendiamin = 0,817%) dan batas deteksi (orto = 0,132 µg/g, meta = 0,195 µg/g, dan para fenilendiamin 62,468 µg/g).

### Saran

Untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan optimasi kembali untuk memperoleh selektifitas/spesifitas para

fenilendiamin yang lebih baik kemudian dilakukan validasi metode analisis orto, meta, dan para fenilendiamin secara simultan dalam sediaan pewarna rambut secara KCKT.

#### Pustaka

- Al-Suwaidi, A., Ahmed, H., 2010. Determination of para-phenylenediamine (PPD) in henna in the United Arab Emirates. *Int J Environ Res Public Health*, 7(4):1681-1693.
- Elskamp, C.J., 1991. *m-, o- and p-phenylenediamine*. Utah: United States Department of Labor.
- Harmita, 2004. *Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- SBP Board of Consultants & Engineers. *Manufacture of beauty products*. New Delhi: Small Business Publications.