

Article Review: The Effect of Mobile Phase Ratio in the Analysis of Hydroquinone Compounds in Cosmetic Preparations Using the High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Review Artikel: Pengaruh Perbandingan Fase Gerak Dalam Analisis Senyawa Hidrokuinon Pada Sediaan Kosmetik Menggunakan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Nur Basmalah ^a, Nayla Nur Azkia Hariadi ^a, and Munir Alinu Mulki ^{a*}

^aProgram Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Singaperbangsa Karawang, Jawa Barat, Indonesia.

*Corresponding Authors: Munir.alinu@fikes.unsika.ac.id

Abstract

Hydroquinone is a compound that is often used in cosmetic products because of its ability to brighten the skin by inhibiting melanin production. However, its use can cause dangerous side effects such as irritation, hyperpigmentation and the risk of cancer, so its use in cosmetics has been limited by BPOM. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) is an analytical method commonly used to detect hydroquinone in cosmetic preparations because of its sensitivity and ability to separate compounds with high complexity. This article is a literature review which aims to determine the effect of mobile phase comparison on hydroquinone analysis using the HPLC method. The research results show that selecting the right mobile phase is very important to guarantee accurate, precise and efficient analysis results. The combination of a polarity-based mobile phase that matches the properties of hydroquinone provides good resolution, high sensitivity, and optimal retention time. This research is expected to provide guidance in optimizing the HPLC method for hydroquinone analysis, and is expected to support cosmetic safety monitoring.

Keywords: High Performance Liquid Chromatography, Hydroquinon, Cosmetics, Mobile phase, Chromatogram Profile.

Abstrak

Hidrokuinon merupakan senyawa yang sering digunakan dalam produk kosmetik karena kemampuannya mencerahkan kulit dengan cara menghambat produksi melanin. Namun, penggunaannya dapat menimbulkan efek samping berbahaya seperti iritasi, hiperpigmentasi, hingga risiko kanker, sehingga penggunaannya dalam kosmetik telah dibatasi oleh BPOM. *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan metode analisis yang umum digunakan untuk mendeteksi hidrokuinon dalam sediaan kosmetik karena sensitivitas dan kemampuannya untuk memisahkan senyawa dengan kompleksitas tinggi. Artikel ini merupakan tinjauan pustaka yang bertujuan untuk mengidentifikasi pengaruh perbandingan fase gerak terhadap analisis hidrokuinon menggunakan metode HPLC. Hasil kajian menunjukkan bahwa pemilihan fase gerak yang tepat sangat penting dalam memastikan hasil analisis yang akurat, presisi, dan efisien. Kombinasi fase gerak berbasis polaritas yang sesuai dengan sifat hidrokuinon memberikan resolusi yang baik, sensitivitas tinggi, dan waktu retensi yang optimal. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan panduan dalam optimasi metode HPLC untuk analisis hidrokuinon, serta diharapkan dapat mendukung pengawasan terhadap keamanan kosmetik.

Kata Kunci: High Performance Liquid Chromatography, Hidrokuinon, Kosmetik, Fase Gerak, Profil Kromatogram.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 23/11/2024,
Revised: 28/04/2025,
Accepted: 28/04/2025,
Available Online : 25/06/2025.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i2.687>

Pendahuluan

Pada era modern ini, kosmetik sudah tidak menjadi suatu tren dalam masyarakat melainkan suatu kebutuhan pokok terutama untuk wanita. Dari banyaknya permintaan pasar yang semakin banyak menyebabkan industri kosmetik berlomba-lomba untuk memproduksi sediaan kosmetik yang unggul. Hal ini kadang membuat beberapa industri melakukan formulasi yang tidak sesuai pada standar keamanan untuk menghasilkan produk yang dengan cepat memberikan efek [1].

Hidrokuinon merupakan salah satu zat yang kerap ditambahkan dalam produk karena aktivitasnya yang mampu memberikan efek mencerahkan kulit dengan menghambat produksi melanin. Namun penggunaan hidrokuinon dapat menimbulkan efek samping berbahaya karena dapat menyebabkan iritasi, hiperpigmentasi, dan dalam kasus yang lebih parah seperti kanker [2]. Oleh karena itu pada tahun 2019 Badan Pengawas Obat dan Makanan mengeluarkan peraturan nomor 23 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika. Pada peraturan tersebut menyebutkan bahwa penggunaan hidrokuinon hanya diperbolehkan untuk kuku artifisial dengan batas kadar 0,02% dan selain itu sediaan kosmetik lainnya tidak diperbolehkan [3].

Saat ini, penggunaan hidrokuinon pada produk kosmetik atau obat bebas telah dilarang oleh Peraturan BPOM Republik Indonesia karena potensi dampak negatifnya bagi Kesehatan [4]. Namun nyatanya, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sendi et al. (2020) menyebutkan bahwa selama periode 2018-2019, 57,9% dari 95 jenis sampel kosmetik mengandung bahan yang dilarang termasuk hidrokuinon [5].

Seiring dengan kebutuhan industri kosmetik untuk mematuhi regulasi yang ada, pengembangan metode analisis yang akurat dan efisien untuk mengidentifikasi kandungan hidrokuinon dalam sediaan kosmetik menjadi sangat penting. Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan salah satu teknik analisis yang digunakan untuk pemisahan dan penentuan senyawa aktif dalam berbagai produk, termasuk kosmetik [6].

Metode ini unggul dalam hal pemisahan dan waktu analisis yang cepat, bahkan mampu memisahkan senyawa pada kadar yang sangat kecil [7]. Namun, sistem HPLC memiliki kekurangan, yaitu harganya cukup mahal dan kesulitan mengidentifikasi seluruh peak kromatogram pada pemisahan dengan tepat. Selain itu, metode ini mengharuskan analisis dilakukan secara individual untuk setiap komponen [8]. Walaupun HPLC memiliki keunggulan dalam hal sensitivitas, kecepatan analisis, dan kemampuannya dalam menganalisis senyawa dengan kompleksitas tinggi [7], namun pada aplikasi praktisnya, hasil HPLC akan sangat bergantung kepada parameter operasional, salah satunya yaitu penggunaan fase gerak dengan perbandingan tertentu yang digunakan. Oleh karena itu pemilihan komposisi fase gerak yang tepat sangat penting agar memperoleh hasil yang optimal [9].

Berdasarkan uraian di atas, tujuan dari review artikel ini untuk melihat komposisi fase gerak yang paling baik dalam menganalisis senyawa hidrokuinon yang terkandung dalam sediaan kosmetik. Penulisan ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan terkait metode analisis menggunakan instrumen HPLC yang paling baik dengan pertimbangan fase gerak yang digunakan untuk memastikan ketidakberadaan kadar hidrokuinon dalam produk kosmetik. Dalam hal ini keamanan kosmetik terhadap zat berbahaya hidrokuinon dapat terawasi.

Metode Penelitian

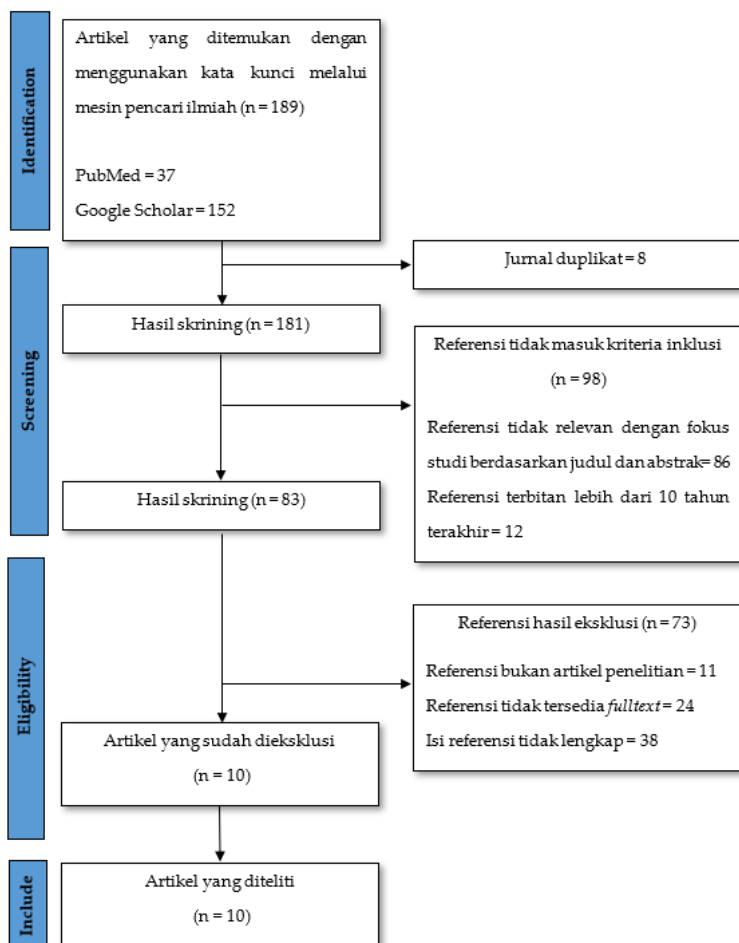
Penelitian ini menggunakan metode studi literatur. Artikel yang relevan dikumpulkan menggunakan dua mesin pencari ilmiah berbasis online, yaitu PubMed dan Google Scholar. Kata kunci yang digunakan dalam pencarian adalah “HPLC, hydroquinone, cosmetics”. Kata kunci tersebut dicari secara bersamaan dan dalam bentuk gabungan. Kata kunci yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1. Artikel yang ditemukan kemudian diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan.

Kriteria inklusi dalam pencarian artikel ini mencakup: (a) Penelitian yang membahas tentang analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa hidrokuinon dalam sediaan kosmetik menggunakan instrumen HPLC, dan (b) Referensi yang diterbitkan dalam 10 tahun terakhir. Penggunaan referensi dalam 10 tahun terakhir bertujuan untuk memastikan bahwa informasi yang digunakan tetap relevan, akurat, dan sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi analisis terkini, mengingat metode analisis dan regulasi kosmetik dapat mengalami perubahan dari waktu ke waktu. Skrining artikel dilakukan dengan membaca judul dan abstrak berdasarkan kesesuaian topik pembahasan.

Kriteria eksklusi yang ditetapkan meliputi: (a) Referensi bukan berupa artikel penelitian, (b) Referensi yang tidak tersedia dalam bentuk fulltext, dan (c) Referensi dengan isi yang tidak lengkap. Proses pemilihan artikel dalam penelitian ini dapat dilihat pada diagram PRISMA yang ditampilkan pada Gambar 1. Berdasarkan hasil pencarian, diperoleh dua belas artikel yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan.

Tabel 1. Kata kunci yang digunakan dalam proses pencarian artikel

Sumber pencarian artikel	Kata Kunci
Pubmed	HPLC, hydroquinone, cosmetics = 37
Google Scholar	HPLC, hydroquinone, cosmetics = 37



Gambar 1. Skema strategi pencarian artikel

Hasil dan Pembahasan

Tabel 2. Pengaruh Fase Diam, Laju Alir Dan Fase Gerak Terhadap Waktu Retensi.

Sampel	Fase diam	Fase gerak	Laju alir (ml/menit)	Waktu Retensi (menit)	Referensi
<i>Body lotion</i>	C18	Asetonitril : Aquabidest (20:80)	1	1,610	[10]
Krim pemutih	C18	Metanol : Aqua demineral (2:3)	1	2,449	[11]
Krim pemutih	C18	Asetonitril : Metanol (90:10)	0,8	3,376	[12]
Krim pemutih	Fenil	A: 0,1% Asam asetat dalam air B: Asetonitril Gradien T (min)/%B: 0/10, 10/10, 30/90, 35/90, 40/10, dan 45/10	1,2	2,196	[13]
Krim pemutih	C18	Asetonitril : Air (80:20)	0,7	6,950	[14]
Krim	C18	A: 0,1% Asam asetat dalam metanol B: 0,1% Asam asetat dalam air Gradien T(min)/%B: 0-14/8, 14-22/8-100, dan 22-30/100	0,5	12,67	[15]
Krim	C18	Asetonitril : Metanol (90:10)	0,5	5,77	[16]
Krim	C18	A: Asetonitril B: 0,1% Asam format dalam air Gradien T(min)/%B: 0/8, 5/8, 16/50, 23/95 dan 28/8	1,2	3,697	[17]
Krim	C18	Asetonitril: Buffer fosfat (30:70)	0,8	8,21	[18]
Krim dan toner	C18	Air: Metanol (80:20)	1,0	5,3	[19]

Pengaruh Fase Diam, Laju Alir Dan Fase Gerak Terhadap Waktu Retensi

Kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) merupakan metode pemisahan yang dapat mengidentifikasi, dan mengukur komponen tertentu dalam campuran berdasarkan kepolarannya, termasuk senyawa aktif pada produk kosmetik [20]. Salah satu senyawa yang dapat dianalisis yaitu senyawa hidrokuinon, sebuah zat aktif yang digunakan sebagai agen pemutih kulit. Prinsip kerja HPLC didasarkan pada interaksi antara fase diam dan fase gerak, di mana komposisi fase gerak memainkan peran penting dalam menentukan efisiensi dan selektivitas pemisahan senyawa [21].

Beberapa parameter yang perlu diperhatikan dalam analisis HPLC meliputi fase gerak, kolom kromatografi (fase diam), laju alir, dan waktu retensi sebagai deteksi senyawa [22]. Berdasarkan penelitian yang digunakan sebagai tinjauan review artikel ini, fase gerak yang digunakan berbeda-beda dengan rasio yang bervariasi. Penggunaan fase gerak ini dapat menjadi suatu faktor penting terhadap kualitas pemisahan dalam HPLC. Parameter utama yang dapat menggambarkan kualitas pemisahan dalam HPLC, yaitu mencakup resolusi dan efisiensi kolom.

Fase diam dalam HPLC dapat mempengaruhi hasil analisis HPLC dengan melihat dari waktu retensi senyawa yang diperoleh, terutama dalam teknik fase terbalik. Pada beberapa penelitian yang ditinjau, C18 (octadecylsilane) dan fase diam berbasis fenil adalah dua pilihan umum yang digunakan untuk analisis senyawa organik dan aromatik, seperti hidrokuinon [23]. Dalam HPLC fase terbalik, fase diam seperti C18 dan fenil memainkan peran penting dalam menentukan waktu retensi senyawa, yang dipengaruhi oleh kepolaran dan interaksinya. Fase diam C18 yang non polar menarik senyawa non polar melalui interaksi hidrofobik, sehingga menghasilkan waktu retensi yang lebih lama. Di sisi lain, hidrokuinon yang bersifat polar karena adanya gugus hidroksil, lebih mudah larut dalam fase gerak polar dan memiliki interaksi yang lebih lemah dengan fase diam C18 [24]. Akibatnya, hidrokuinon bergerak lebih cepat melalui kolom, sehingga waktu retensinya lebih pendek [2]. Meskipun fase fenil bersifat non polar, ia memiliki tambahan sifat berupa cincin aromatik yang memungkinkan terjadinya interaksi yang membuat senyawa aromatik cenderung memiliki waktu retensi yang lebih pendek dibandingkan pada C18 [25]. Namun berdasarkan tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat faktor lain yang mempengaruhi waktu retensi yang diperoleh, hal ini

dibuktikan oleh waktu retensi yang berbeda-beda meskipun telah menggunakan jenis kolom yang sama. Faktor lain yang dapat mempengaruhi yaitu dari laju alir dan fase gerak.

Dilihat dari laju alir yang digunakan pada penelitian-penelitian dalam tabel 1, menunjukkan waktu retensi yang berbeda-beda dan tidak konsisten. Laju alir yang digunakan yaitu 0,5 ml/menit, 0,7 ml/menit, 0,8 ml/menit, 1 ml/menit, dan 1,2 ml/ menit. Penelitian yang menggunakan laju alir yang sama seperti penelitian Anggraini dkk (2023), Nasiroh dkk (2024), dan Zukepli dkk (2015) menghasilkan waktu retensi yang berbeda-beda. Begitupun pada penelitian Maggadani dkk (2019) dengan Jamal dan Azza (2019) menggunakan laju alir yang sama, yaitu 0,8 ml/menit menghasilkan waktu retensi yang jauh berbeda yaitu berturut-turut 3.376 menit dan 8,21 menit. Hal ini diperkuat oleh penelitian lain dengan laju alir 1,2 ml/menit dan 0,5 ml/menit bahwa hasil yang diperoleh tidak konsisten walaupun menggunakan laju alir yang sama. Secara teori, laju alir yang semakin kecil akan membuat senyawa lebih lama tertahan dalam kolom sehingga menyebabkan waktu retensi yang dihasilkan semakin lama. Sebaliknya, semakin besar laju alir yang diberikan maka senyawa akan semakin terdorong melewati kolom yang menyebabkan waktu retensi yang dihasilkan akan semakin singkat [26]. Namun tidak dengan hasil yang tertera, seperti halnya penelitian yang dilakukan oleh Anggraini dkk (2023) menggunakan laju alir 1 ml/menit menghasilkan waktu retensi lebih singkat yaitu 1,610 menit dibandingkan dengan Rahmayuni dkk (2018) yang menggunakan laju alir 1,2 ml/menit memperoleh waktu retensi 3,697 menit. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat faktor lain yang mempengaruhi waktu retensi hidrokuinon yaitu fase gerak yang digunakan [9].

Fase gerak merupakan salah satu faktor kunci karena komposisinya mempengaruhi sifat interaksi antara senyawa target (hidrokuinon) dengan fase diam. Pemilihan fase gerak, baik berbasis polar atau nonpolar, harus disesuaikan dengan sifat kimia hidrokuinon untuk memastikan pemisahan yang optimal atau resolusi yang baik [27]. Pada tabel 1 menunjukkan bahwa fase gerak yang digunakan memberikan nilai waktu retensi yang berbeda. Hal ini membuktikan bahwa adanya pengaruh dari fase gerak terhadap hasil analisis. Penggunaan fase gerak perlu dilakukan optimasi untuk mendapatkan fase gerak yang paling cocok sehingga pengujian dapat diperoleh hasil yang optimal [9].

Tabel 3. Pengaruh Fase Gerak Terhadap Keandalan Metode (Parameter Validasi)

Fase gerak	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	Linearitas (r)	Presisi (%RSD)	Akurasi (%R)	Referensi
Asetonitril : Aquabidest (20:80)	0,274	0,913	0,9995	0,069	100,276	[10]
Metanol : Aqua demineral (2:3)	7,16	23,88	0,9938	4,534	-	[11]
Asetonitril : Metanol (90:10)	6.86	22.89	0.9999	0.20	99.63	[12]
A: 0,1% Asam asetat dalam air B: Asetonitril Gradien T (min)/%B: 0/10, 10/10, 30/90, 35/90, 40/10, dan 45/10	-	-	0.9996	1.14	99.2	[13]
Asetonitril : Air (80:20)	0,0096	0,032	0,999	3,18	82	[14]
A: 0,1% Asam asetat dalam metanol B: 0,1% Asam asetat dalam air Gradien T(min)/%B: 0-14/8, 14-22/8-100, dan 22-30/100	0.1	0.3	0.9999	4,7	96,4	[15]
Asetonitril : Metanol (90:10)	0,4208	1,275	0,995	0.4869	100.50	[16]
A: Asetonitril B: 0,1% Asam format dalam air Gradien T(min)/%B: 0/8, 5/8, 16/50, 23/95 dan 28/8	2,123	7,077	0,999	1,656	99,28	[17]
Asetonitril: Buffer fosfat (30:70)	2,00	6.692	0,9993	0.24	99.90	[18]
Air: Metanol (80:20)	0,0708	0,214	0,999	2.13	-	[19]

Tabel 4. Tabel Keberterimaan Validasi Metode Berdasarkan USP.

Parameter Validasi	Nilai Rentang	Kategori
Akurasi	98%-102%	Baik
Presisi	<2%	Baik
Linearitas	≥0,995	Baik

Pengaruh Fase Gerak Terhadap Profil Kromatogram HPLC

Fase gerak dapat mempengaruhi keberhasilan suatu metode, baik itu dilihat dari akurasi, presisi, linearitas, dan nilai LOD dan LOQ yang diperoleh. Pemilihan fase gerak yang tidak tepat akan menyebabkan kurang optimalnya interaksi antara senyawa target dengan fase diam sehingga hasil yang didapatkan bias dan tidak dapat dijamin bahwa metode analisis bersifat akurat, spesifik, reproduktibel dan tahan terhadap kisaran senyawa yang dianalisis [28].

Berdasarkan tabel 2. fase gerak yang menghasilkan nilai akurasi, presisi dan linearitas baik sesuai tabel 3. yaitu penelitian oleh Anggraini dkk (2023) dengan fase gerak Asetonitril : Aquabidest (20:80) dan penelitian Rahmayuni dkk (2018) yaitu menggunakan fase gerak A: Asetonitril B: 0,1% Asam Format dalam air dengan gradien T(min)/%B: 0/8, 5/8, 16/50, 23/95 dan 28/8. Keduanya juga memiliki sensitivitas yang tinggi ditandai dengan nilai LOD dan LOQ yang rendah [29]. Hal ini menunjukkan bahwa kedua fase gerak tersebut sangat efektif digunakan dalam analisis senyawa hidrokuinon menggunakan HPLC walaupun dengan konsentrasi yang cukup rendah.

Akurasi yang tinggi menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan cukup efektif untuk menganalisis keberadaan hidrokuinon dalam kosmetik secara akurat [29]. Sedangkan presisi diukur sebagai simpangan baku relatif, dimana nilai yang tinggi menunjukkan bahwa metode yang digunakan telah memenuhi persyaratan dan mampu dilakukan pengulangan dengan hasil yang sama (repeatability dan reproducibility) [29]. Nilai linearitas yang diperoleh menunjukkan nilai yang baik yaitu ≥0,999, hal ini membuktikan bahwa koefisien korelasi atau hubungan antara konsentrasi hidrokuinon dan respon detektor telah baik dan [30].

Tabel 5. Pengaruh Fase Gerak Terhadap Profil Kromatogram HPLC

Fase gerak	Waktu retensi (menit)	Resolusi	Efisiensi kolom	Referensi
Asetonitril : Aquabidest (20:80)	1,610	Baik	-	[10]
Metanol : Aqua demineral (2:3)	2,449	-	-	[11]
Asetonitril : Metanol (90:10)	3.376	Baik	Tinggi	[12]
A: 0,1% Asam asetat dalam air B: Asetonitril Gradien T (min)/%B: 0/10, 10/10, 30/90, 35/90, 40/10, dan 45/10	1,2	Baik	Tinggi	[13]
Asetonitril : Air (80:20)	0,7	Baik	Sedang	[14]
A: 0,1% Asam asetat dalam metanol B: 0,1% Asam asetat dalam air Gradien T(min)/%B: 0-14/8, 14-22/8-100, dan 22-30/100	12,67	Cukup	Sedang	[15]
Asetonitril : Metanol (90:10)	5,77	Baik	Tinggi	[16]
A: Asetonitril B: 0,1% Asam format dalam air Gradien T(min)/%B: 0/8, 5/8, 16/50, 23/95 dan 28/8	3,697	Baik	Tinggi	[17]
Asetonitril: Buffer fosfat (30:70)	8,21 min	Buruk	Tinggi	[18]
Air: Metanol (80:20)	5,3 menit	-	Tinggi	[19]

Pengaruh Rasio Fase Gerak Terhadap Profil Kromatogram HPLC

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan bahwa terdapat tiga jenis fase gerak berbeda yang menghasilkan resolusi baik dan efisiensi kolom yang tinggi, diantaranya yaitu fase gerak yang menggunakan sistem elusi

isokratik dan gradien. Elusi isokratik merupakan sistem elusi yang menggunakan fase gerak dengan komposisi dan laju aliran yang konsisten selama analisis. Sedangkan elusi gradien merupakan sistem elusi dengan komposisi fase gerak yang mengalami perubahan secara bertahap selama analisis [31].

Pada penelitian Maggadani dkk (2019) dan Sheliya dkk (2014) menggunakan fase gerak yang sama yaitu asetonitril:metanol (90:10) dengan sistem elusi isokratik. Pemilihan fase gerak ini didasarkan pada sifat polar hidrokuinon dan sifatnya yang mudah larut dalam metanol [32]. Selain itu, asetonitril yang memiliki gugus nitril dan gugus CN serta ikatan rangkap tiga menyebabkan asetonitril bersifat polar. Kombinasi fase gerak yang bersifat polar ini memungkinkan senyawa hidrokuinon terbawa dengan baik melewati kolom [9].

Selain itu terdapat juga fase gerak dengan elusi gradien yaitu fase gerak A: 0,1% asam asetat dalam air B: Asetonitril dengan gradien T(min)/%B: 0/10, 10/10, 30/90, 35/90, 40/10, dan 45/10 pada penelitian Rovira dkk (2016) dan pada penelitian Rahmayuni dkk (2018) menggunakan A: Asetonitril, B: 0,1% Asam format dalam air dengan gradien T(min)/%B: 0/8, 5/8, 16/50, 23/95 dan 28/8 sebagai fase geraknya. Kedua jenis fase gerak tersebut merupakan fase gerak yang dikombinasikan dengan asam, dimana penambahan asam memberikan pH yang stabil terhadap senyawa hidrokuinon yang bersifat asam [33]. Fase gerak yang lebih asam akan mencegah hidrokuinon membentuk ion yang dapat mengganggu kesesuaian afinitas hidrokuinon terhadap fase diam dan fase gerak [9].

Berdasarkan tabel 4, ketiga jenis fase tersebut menghasilkan resolusi dan efisiensi kolom yang baik, dimana resolusi merupakan profil kromatogram yang menggambarkan kekuatan pemisahan komponen dalam sampel yang diinjeksikan [34]. Efisiensi kolom menggambarkan ketajaman puncak kromatogram yang terlihat, semakin lebar suatu puncak maka pemisahan semakin tidak efisien. Lebar puncak dipengaruhi oleh pergerakan analit serta interaksinya dengan fase gerak dan fase diam [35].

Walaupun ketiga jenis fase gerak memberikan resolusi dan efisiensi kolom yang baik, waktu retensi yang diperoleh menunjukkan bahwa elusi gradien mampu memberikan pemisahan yang lebih cepat dibandingkan elusi isokratik. Waktu retensi menunjukkan bahwa penggunaan metode elusi gradien membutuhkan waktu analisis lebih singkat namun tetap mempertahankan resolusi atau pemisahan yang baik, sehingga analisis yang dilakukan lebih efisien [34]. Selain itu, penggunaan fase gerak dengan elusi gradien mampu memisahkan senyawa lebih baik dan menghasilkan puncak kromatogram yang lebih tajam dibandingkan dengan metode isokratik [36].

Berdasarkan data yang dipaparkan, dapat diambil kesimpulan bahwa fase gerak A: Asetonitril, B: 0,1% Asam format dalam air dengan gradien T(min)/%B: 0/8, 5/8, 16/50, 23/95 dan 28/8 paling efektif dalam menganalisis hidrokuinon menggunakan HPLC. Tingginya akurasi, presisi, dan linearitas yang tinggi (tabel 2) menunjukkan bahwa penggunaan fase gerak tersebut memberikan hasil yang sangat baik dan mampu dilakukan pengulangan dengan hasil yang sama [29]. Sensitivitas yang tinggi juga menunjukkan bahwa analisis dapat dilakukan untuk konsentrasi analit yang rendah sehingga tetap efektif jika sampel yang dimiliki hanya sedikit. Selain itu, penggunaan fase gerak A: Asetonitril, B: asam format 0,1% dengan gradien T(min)/%B: 0/8, 5/8, 16/50, 23/95 dan 28/8 mampu memberikan resolusi atau daya pisah dan efisiensi kolom yang sangat baik (tabel 4).

Kesimpulan

HPLC merupakan teknik pemisahan dengan melibatkan beberapa parameter yang dapat mempengaruhi hasil analisis. Faktor yang mempengaruhi yaitu fase diam, fase gerak, laju alir terhadap waktu retensi, resolusi dan efisiensi kolom. Fase gerak menjadi salah satu faktor utama yang menentukan keberhasilan suatu analisis. Fase gerak yang cocok dalam membawa senyawa hidrokuinon akan menjadikan suatu analisis dapat dilakukan secara efisien. Berdasarkan data yang diperoleh, fase gerak A: Asetonitril, B: 0,1% Asam format dalam air dengan gradien T(min)/%B: 0/8, 5/8, 16/50, 23/95 dan 28/8 menunjukkan akurasi, presisi, linearitas dan sensitivitas yang tinggi. Selain itu fase gerak tersebut memberikan resolusi dan efisiensi kolom yang baik serta waktu retensi yang lebih singkat.

Referensi

- [1] Arifiyana, D., dkk. Analisis Kuantitatif Hidrokuinon pada Produk Kosmetik Krim Pemutih yang Beredar di Wilayah Surabaya Pusat dan Surabaya Utara dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Akta Kimindo*. 2019;4(2):107-117. doi: <http://dx.doi.org/10.12962/j25493736.v4i2.5532>

- [2] Lestari, W. R., & Dian, P. Analisis Hidrokuinon pada Bleaching Cream yang Dijual secara Online dan Tidak Memiliki Izin Edar dari BPOM. Media Farmasi. 2018;15(1):43-51. doi: <https://doi.org/10.12928/mf.v15i1.12357>
- [3] BPOM. Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika. Jakarta;2019.
- [4] Putri, A. R., & Wahyudiani, M. N. Analisis Kadar Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Yang Beredar Di Toko Online Dengan Metode Spektrofotometri. Jurnal Sosial dan Sains. 2021;1(11):1464,1471. doi: <https://doi.org/10.59188/jurnalsosains.v1i11.258>
- [5] Sende, I. F., dkk. Peredaran Kosmetik Pemutih Ilegal di Indonesia dan Upaya Penanggulangannya, Eruditio. 2020;1(1):48-62. doi: <https://doi.org/10.54384/eruditio.v1i1.30>
- [6] Suprianto dkk. Aplikasi Metode Penetapan Kadar Rutin Parasetamol PT. Kimia Farma, Tbk Secara HPLC pada Sediaan Tablet Generik dan Bermerek di Medan, Jurnal Indah Sains & Klinis. 2020;1(1):1-5. doi: 10.52622/9abdjn64
- [7] Fertiasari, R., dkk. Analisis Hidrokuinon pada Kosmetik Cair Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Media Ilmiah Kesehatan Indonesia. 2023;1(1):6-11. doi: <https://doi.org/10.58184/miki.v1i1.85>
- [8] Hirjani, dkk. Prediction of High Performance Liquid Chromatography Retention Time for Some Organic Compounds Based on Ab initio QSPR Study. Acta. Chim. Asiana. 2018;1(1):24-29. doi: <https://doi.org/10.29303/aca.v1i1.6>
- [9] Rosydiati, dan Ela K. S. Karakterisasi Puncak Kromatogram Dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Terhadap Perbedaan Fase Gerak, Laju Alir, Dan Penambahan Asam Dalam Analisis Indole Acetic Acid (IAA). Kandaga. 2019;1(2):65-73. doi: <https://doi.org/10.24198/kandaga.v1i2.25056.g12831>
- [10] Aggraini, Y. D. dkk. Analisis Kadar Hidrokuinon dan Asam Kojic Dalam Tiga Merek Dagang Body Lotion Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Jurnal Ilmiah Sains. 2023;23(1):20-30. doi: <https://doi.org/10.35799/jis.v23i1.45703>
- [11] Nasiroh, dkk. Identifikasi Kadar Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Yang Beredar Di Marketplace. 2024;4(2):250-258. doi: 10.33859/jpcs.v4i2
- [12] Maggadani, B.P., dkk. (2019). Simultaneous Identification And Quantification Of Hydroquinone, Tretinoin And Betamethasone In Cosmetic Products By Isocratic Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography. International Journal of Applied Pharmaceutics. 2019;11(3):181-185. doi: <http://dx.doi.org/10.22159/ijap.2019v11i3.32297>
- [13] Rovira, F.G. Development and validation of a new RP-HPLC method for the simultaneous determination of hydroquinone, kojic acid, octinoxate, avobenzone, BHA dan BHT in skin-whitening cream. Analytical Methods. 2016;8:1170-1180. doi: 10.1039/C5AY02207J
- [14] Eradati, N., dkk. Optimization of cleaning and analytical method for determination of arbutin, hydroquinone and kojic acid in cosmetic products. J. Med. Plants. 2021;20(77):50-59. doi: 10.29252/jmp.20.77.50
- [15] Wang, Y.H. dk. Quantitative Determination of α -Arbutin, β -Arbutin, Kojic Acid, Nicotinamide, Hydroquinone, Resorcinol, 4-Methoxyphenol, 4-Ethoxyphenol, and Ascorbic Acid from Skin Whitening Products by HPLC-UV. Journal of AOAC International. 2015;98(1):5-12. doi: 10.5740/jaoacint.14-123
- [16] Sheliya, K dkk. Development and validation of analytical method for simultaneous estimation of mometasone furoate, hydroquinone and tretinoin in topical formulation by RP-HPLC. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2014;6(4):934-940.
- [17] Rahmayuni, E. dkk. Development and Validation Method for Simultaneous Analysis of Retinoic Acid, Hydroquinone and Corticosteroid in Cream Formula by High-Performance Liquid Chromatography. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2018;8(9):87-92. doi: 10.7324/JAPS.2018.8913
- [18] Jamal, M. K. A.dan Azza A.G. Development And Validation Of Analytical Spectrophotometric And Rp-Hplc Methods For The Simultaneous Estimation Of Hydroquinone, Hydrocortisone And Tretinoin Ternary Mixture In Topical Formulation. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2019;11(11):10-16. doi: <http://dx.doi.org/10.22159/ijpps.2019v11i11.35188>
- [19] Zukepli, N.W.M. dkk. Assessment On Hyroquinone In Selected Cosmetic Cream And Toner Via High Performance Liquid Chromatography And Ultra-Violet Visible Detector Spectrometry. Malaysian Journal of Analytical Sciences. 2015;19(4), 824-830.

- [20] Prihasti, N. D. P., Mulki, M. A., & Hidayat, M. N. N. Narrative Review: Parameter dalam Metode Analisis Untuk Identifikasi Rhodamin B dalam Lipstik. *Jurnal Sehat Mandiri*. 2024;19(1):271-284.
- [21] Amin, S., Amir, M., & Slamet, I. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Analisis Senyawa Diuretik yang Disalahgunakan Sebagai Doping Dalam Urin. *Jurnal Sains Keolahragaan & Kesehatan*, 2016;1(2):34-41. doi: <https://doi.org/10.5614/jskk.2016.1.2.1>
- [22] Angraini, N., & Desmaniar, P. Optimasi Penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk Analisis Asam Askorbat Guna Menunjang Kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan. *Jurnal Penelitian Sains*. 2020;22(2):69-75. doi: <https://doi.org/10.56064/jps.v22i2.583>
- [23] Fudjayanti, S., & Farendina, S. Tinjauan Pustaka Metode Analisis Senyawa Hidrokuinon dalam Sediaan Krim. *Jurnal Riset Farmasi*. 2022;2(2):138-144. doi: <https://doi.org/10.29313/jrf.v2i2.1483>
- [24] Yulianti, E. N. D., & Dyah, A. W. Analisis Kadar Hidrokuinon dalam Krim Pemutih yang Tidak Memiliki Izin BPOM yang Beredar di Kecamatan Ajibarang. *Jurnal Mahasiswa Ilmu Kesehatan*, 2023;1(2):56-76. doi: <https://doi.org/10.59841/jumkes.v1i2.36>
- [25] Stevenson, P. G., Fabrice, G., Georges, G., Kirsty, J. M., Gary, R. D., & Andrew, R. S. π -Selective stationary phases: (II) Adsorption behaviour of substituted aromatic compounds on n-alkyl-phenyl stationary phases. *Journal of Chromatography A*. 2010;1217(33):5365-5376. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2010.04.064>
- [26] Nofita, dkk. Penetapan Kondisi Optimum Pengujian Kadar Paracetamol dan Kafein Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 2018;1(2):96-106. doi: <https://doi.org/10.33024/jfm.v1i2.1242>
- [27] Cordova, D. M., Darmawan, S. A. N., Alfiyah, M., Utami, M. R., & Nurfadhila, L. Review Artikel: Metode Analisis Obat Tuberkulosis dalam Plasma Darah. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. 2023;6(2):848-862. doi: <http://dx.doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i2.160>
- [28] Harmono, H. D. Validasi Metode Analisis Logam Merkuri (Hg) Terlarut pada Air Permukaan dengan Automatic Mercury Analyzer. *Indonesian Journal of Laboratory*. 2020;2(3):11-16.
- [29] Siswanto, A., dkk. Validasi Metode HPLC untuk Penetapan Aspirin dan Asam Salisilat dalam Plasma Kelinci (*Lepus curpaeums*) secara Simultan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2016;6(2):68-78.
- [30] Maulina, D.I., dkk. Analisis Ibuprofen Menggunakan HPLC dan Pengujian Validasi Metode. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*. 2024;10(14):390-423. doi: <https://doi.org/10.5281/zenodo.13580099>
- [31] Setiawan, J., & Sari, P. M. N. A. Metode Analisis Rifampisin dalam Plasma Darah. *Journal Transformation of Mandalika*. 2022;3(4):49-61.
- [32] Depkes RI. Farmakope Indonesia edisi VI. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2020.
- [33] Sari, Dkk. Analisis Kualitatif Merkuri Pada Lotion Pemutih Yang Dijual Di Online Shop Daerah Kota Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 2017;2(1):13-19. doi: <https://doi.org/10.36387/jiis.v2i1.77>
- [34] Annisa, S. dkk. Perbandingan Metode Analisis Instrumen HPLC dan UHPLC: Article Review, Farmaka. 2020;17(3):189-197. doi: <https://doi.org/10.24198/jf.v17i3.21894>
- [35] Harvey, David. *Modern Analytical Chemistry*. New York: McGraw-Hill Comp; 2000
- [36] Vidushi, Y., & Meenakshi, B. A Review on HPLC Method Development and Validation. *Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Chemistry*. 2017;2(6):166-178. doi: 10.26479/2017.0206.12