

**PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE KROMATOGRAFI
CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) UNTUK ANALISIS HIDROKUINON
DAN DESOKSIMETASON DALAM PRODUK KRIM PEMUTIH**

(SKRIPSI)

Oleh

PUTIK TITIAN CITRA HENING

2218031057



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2026

**PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE KROMATOGRAFI CAIR
KINERJA TINGGI (KCKT) UNTUK ANALISIS HIDROKUINON DAN
DESOKSIMETASON DALAM PRODUK KRIM PEMUTIH**

Oleh

PUTIK TITIAN CITRA HENING

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada

**Jurusan Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2026

Judul Skripsi

: **PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI
(KCKT) UNTUK ANALISIS HIDROKUINON
DAN DESOKSIMETASON DALAM PRODUK
KRIM PEMUTIH**

Nama Mahasiswa

: **Putik Titian Citra Hening**

No. Pokok Mahasiswa

: 2218031057

Program Studi

: Farmasi

Fakultas

: Kedokteran



apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm

NIP. 199405182022032019

apt. Muhammad Iqbal.S.Farm., M.Sc

NIP.198612052022031003

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc

NIP 19760120-200312 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm



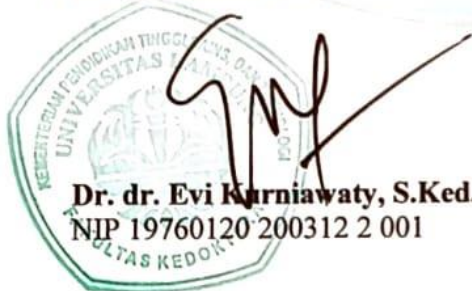
Sekretaris : apt. Muhammad Iqbal.S.Farm., M.Sc



Penguji
Bukan Pembimbing : apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm.,M.Si



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP 19760120 200312 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 26 Januari 2026

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Putik Titian Citra Hening

NPM : 2218031057

Program Studi : Farmasi

Judul Skripsi : Pengembangan Dan Validasi Metode Kromatografi Cair
Kinerja Tinggi (KCKT) Untuk Analisis Hidrokuinon dan
Desoksimeson Dalam Produk Krim Pemutih

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah Skripsi ini merupakan **HASIL KARYA SAYA SENDIRI**. Apabila di kemudian hari terbukti adanya plagiarisme dan kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya bersedia diberi sanksi.

Bandar Lampung, 26 Januari 2026

Mahasiswa,



Putik Titian Citra Hening

NPM.2218031057

RIWAYAT HIDUP

Penulis, Putik Titian Citra Hening, lahir di Bandar Lampung pada 10 Juni 2003. Penulis merupakan putri dari pasangan Bapak Hari Sujito, S.Pd., dan Ibu dra. Dyah Sulistyaningsih. Penulis adalah anak bungsu dari tiga bersaudara, dengan satu kakak laki-laki bernama Gilig Rilo Priandhita, S.Tr.PI, dan satu kakak perempuan bernama Anyes Tiara Suksmarini, S.Kom. Pendidikan Taman Kanak-Kanak (TK) ditempuh di TK Immanuel Bandar Lampung dan diselesaikan pada tahun 2009. Pendidikan Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Immanuel Bandar Lampung pada tahun 2015, Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Immanuel Bandar Lampung pada tahun 2018, serta Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMAN 2 Bandar Lampung pada tahun 2021.

Pada tahun 2022, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Selama menjalani perkuliahan, penulis aktif mengikuti berbagai kegiatan akademik maupun nonakademik. Penulis meraih Juara 2 Lomba *Literature Review* pada kegiatan Pharmalation Tahun 2023, memperoleh pendanaan Belmawa melalui Program Kreativitas Mahasiswa Riset Eksakta (PKM-RE) Tahun 2024, meraih Juara 2 Poster Presentation pada *International Colloquium in Medical Biotechnology* di Universiti Malaysia Sabah (UMS), serta Juara 2 Mahasiswa Berprestasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung Tahun 2025.

Penulis juga aktif berorganisasi dengan bergabung dalam Himpunan Mahasiswa Farmasi Universitas Lampung (Himafarsi Unila) sebagai anggota Departemen Eksternal dan Sosial periode 2023-2024, serta anggota Departemen Minat, Bakat, dan Eksternal periode 2024-2025. Penulis juga dipercaya menjadi Kepala Divisi *Creativity, Entrepreneurship, and Community Service* pada organisasi Lunar Fakultas Kedokteran Universitas Lampung pada tahun 2025.

“Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apapun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur.”

Filipi 4:6

“Sebab TUHAN, Dia sendiri akan berjalan di depanmu, Dia sendiri akan menyertai engkau, Dia tidak akan membiarkan engkau dan tidak akan meninggalkan engkau; janganlah takut dan janganlah patah hati.”

Ulangan 31:8

SANWACANA

Puji syukur senantiasa Penulis sampaikan kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan karunia-Nya Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul **“Pengembangan Dan Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt) Untuk Analisis Hidrokuinon Dan Desoksimeson Dalam Produk Krim Pemutih”** disusun sebagai pemenuh syarat guna mencapai gelar sarjana di Fakultas Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, kritik, dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M., selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. apt. Ihsanti Dwi Rahayu, M.S.Farm selaku Pembimbing I, yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing penulis dengan penuh kesabaran selama proses penyusunan skripsi ini, serta kebersamaan penulis sebagai dosen pembimbing dalam kegiatan PKM-RE dan Pemilihan Mahasiswa Berprestasi. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas arahan, kritik, dan saran yang konstruktif, serta dukungan dan nasihat yang senantiasa diberikan tanpa henti. Penulis sangat menghargai setiap ilmu, pengalaman, dan keteladanan yang telah dibagikan, baik dalam proses akademik maupun pengembangan diri selama masa studi;
5. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc. selaku Pembimbing II, yang telah meluangkan waktu dan tenaga dengan penuh kesabaran untuk memberikan bimbingan, dukungan, serta kritik dan saran yang membangun selama proses penyusunan skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih atas segala arahan dan ilmu yang telah diberikan;

6. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si. selaku Pembahas, yang telah meluangkan waktu dan perhatian untuk memberikan masukan, kritik, saran, serta pembahasan yang sangat bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini. Penulis mengucapkan terima kasih atas arahan dan nasihat yang senantiasa diberikan dan akan selalu dikenang selama proses penyusunan skripsi ini;
7. apt. Citra Yulianda Pardilawati, S.Farm., M.Farm sebagai dosen pembimbing akademik yang selalu memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, serta saran dan kesempatan kepada penulis selama masa pendidikan di Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
8. Mbak Afrita dan Mbak Amel selaku laboran Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
9. Kak Fredison yang sudah membantu penulis dalam proses penyediaan bahan baku penelitian;
10. Segenap jajaran dosen dan civitas Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, yang telah mendidik dan membantu penulis selama perkuliahan;
11. Bapak dan Ibu tercinta, serta kedua kakak penulis, yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, dukungan, dan nasihat yang tak ternilai. Terima kasih atas perhatian, pengorbanan, dan segala bentuk dukungan yang selalu diberikan, baik secara moril maupun materiil, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi hingga tahap ini;
12. Sahabat penulis selama masa perkuliahan, Marshanda, Loisa, dan Claresta, yang telah menjadi teman berbagi cerita, semangat, dan kebersamaan, serta memberikan dukungan dan keceriaan selama perjalanan akademik penulis;
13. Sahabat seperjuangan penulis sejak SMA, Tiara dan Laras, yang senantiasa hadir memberikan semangat, perhatian, dan dukungan, khususnya selama masa penyusunan skripsi, sehingga penulis tetap termotivasi untuk menyelesaikannya dengan baik;

14. Sahabat satu bimbingan penulis, Athaya dan Aldo, yang telah menjadi rekan diskusi, saling menyemangati, dan berbagi pengalaman selama proses bimbingan dan penyusunan skripsi ini;
15. Teman-teman sejawat angkatan 2022 (Troponin-Tropomiosin), terima kasih untuk segala memori indahanya selama 7 semester ini. Semoga perjuangan yang sudah kita lalui dapat membantu kita menjadi dokter yang profesional;
16. Terima kasih kepada segala pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah mendukung dan membantu dalam penyusunan skripsi ini. Terima kasih juga kepada diri saya sendiri yang selalu memilih berusaha dengan jujur dan tidak menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi kebermanfaatan bagi para pembacanya.

Bandar Lampung, 26 Januari 2026

Penulis

Putik Titian Citra Hening

ABSTRACT

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC) METHOD FOR THE ANALYSIS OF HYDROQUINONE AND DEXAMETHASONE IN SKIN-WHITENING CREAM PRODUCTS

By

PUTIK TITIAN CITRA HENING

Background: Facial whitening creams may contain hazardous substances such as hydroquinone and corticosteroids, including desoximetasone, which is prohibited for use in cosmetics due to its potential to cause serious side effects. Therefore, an analytical method that is accurate, selective, and validated is required. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) is widely used for the analysis of these compounds, with validation parameters including specificity, linearity, accuracy, precision, as well as the limits of detection and quantification. **Method:** This study was an experimental research using the HPLC analytical method. Method development was carried out by modifying the maximum wavelength of hydroquinone and desoximetasone and optimizing the ratio of the mobile phase combination of water and acetonitrile. The developed method was then validated and applied to determine the content of hydroquinone and desoximetasone in three whitening cream samples available on the market. **Results:** The optimum conditions were achieved using a mobile phase of water:acetonitrile (50:50) with a flow rate of 1.0 mL/min. The specificity test showed good peak separation without matrix interference. Linearity of hydroquinone and desoximetasone showed correlation coefficients of $r = 0.999$ and $r = 0.9992$, respectively. Method precision was indicated by %RSD values of 0.714-2.904% for hydroquinone and 0.172-2.098% for desoximetasone. Method accuracy met the criteria, with recovery percentages of 100.301-103.194% for hydroquinone and 98.538-102.639% for desoximetasone. The LOD and LOQ values for hydroquinone were 0.972 ppm and 2.946 ppm, while for desoximetasone they were 0.772 ppm and 2.338 ppm, respectively. Application of the method to the samples showed the presence of hydroquinone in all samples, and desoximetasone was detected in several test samples. **Conclusion:** The developed HPLC method met all validation parameters and is suitable for the analysis of hydroquinone and desoximetasone in whitening cream formulations.

Keywords: Skin-whitening cream, hydroquinone, desoximetasone, HPLC, method validation.

ABSTRAK

PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) UNTUK ANALISIS HIDROKUINON DAN DESOKSIMETASON DALAM PRODUK KRIM PEMUTIH

Oleh

PUTIK TITIAN CITRA HENING

Latar Belakang: Krim pemutih wajah berpotensi mengandung bahan berbahaya seperti hidrokuinon dan kortikosteroid, termasuk desoksimeseton yang dilarang penggunaannya dalam kosmetik karena dapat menimbulkan efek samping serius. Oleh karena itu, diperlukan metode analisis yang akurat, selektif, dan tervalidasi. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan metode yang banyak digunakan untuk analisis senyawa tersebut dengan parameter validasi meliputi spesifisitas, linearitas, akurasi, presisi, serta batas deteksi dan kuantifikasi. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode analisis KCKT. Pengembangan metode dilakukan dengan modifikasi pada Panjang gelombang maksimum hidrokuinon dan desoksimeseton serta perbandingan kombinasi fase gerak air dan asetonitril yang digunakan, kemudian dilakukan validasi metode analisis serta analisis kandungan hidrokuinon dan desoksimeseton pada 3 sampel krim pemutih yang beredar di pasaran. **Hasil:** Kondisi optimum diperoleh menggunakan fase gerak air:asetonitril (50:50) dengan laju alir 1,0 mL/menit. Uji spesifisitas menunjukkan pemisahan puncak yang baik tanpa interferensi matriks. Linearitas hidrokuinon dan desoksimeseton menunjukkan koefisien korelasi masing-masing sebesar $r = 0,999$ dan $r = 0,9992$. Presisi metode ditunjukkan oleh nilai %RSD hidrokuinon sebesar 0,714-2,904% dan desoksimeseton sebesar 0,172-2,098%. Akurasi metode memenuhi kriteria dengan persen perolehan kembali hidrokuinon sebesar 100,301-103,194% dan desoksimeseton sebesar 98,538-102,639%. Nilai LOD dan LOQ hidrokuinon masing-masing sebesar 0,972 ppm dan 2,946 ppm, sedangkan desoksimeseton sebesar 0,772 ppm dan 2,338 ppm. Aplikasi metode pada sampel menunjukkan adanya hidrokuinon pada seluruh sampel dan desoksimeseton terdeteksi pada beberapa sampel uji. **Kesimpulan:** Metode KCKT yang dikembangkan memenuhi seluruh parameter validasi dan layak digunakan untuk analisis hidrokuinon dan desoksimeseton dalam sediaan krim pemutih.

Kata Kunci: Krim pemutih, hidrokuinon, desoksimeseton, KCKT, validasi metode.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi Peneliti	4
1.4.2 Bagi Institusi.....	5
1.4.3 Bagi Masyarakat	5
1.5 Batasan Penelitian	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kosmetik.....	6
2.1.1 Definisi Kosmetik	6
2.1.2 Krim Pemutih	7
2.1.3 Zat Aktif Pemutih dalam Sediaan Krim Pemutih	8
2.2 Kulit.....	10
2.2.1 Anatomi dan Fisiologi Kulit.....	10
2.2.2 Warna Kulit dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhinya	11
2.2.3 Mekanisme Biokimia Pembentukan Melanin (Melanogenesis).....	12

2.3 Hidrokuinon	13
2.3.1 Monografi Hidrokuinon	13
2.3.2 Mekanisme Hidrokuinon pada Kulit.....	14
2.3.3 Efek Samping Hidrokuinon.....	15
2.3.4 Regulasi Hidrokuinon dalam Kosmetik	16
2.4 Desoksimetason	17
2.4.1 Monografi Desoksimetason.....	18
2.4.2 Mekanisme Desoksimetason pada Kulit	18
2.4.3 Efek Samping Desoksimetason	19
2.4.4 Regulasi Desoksimetason dalam Kosmetik	20
2.5 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	21
2.6.1 Prinsip Kerja Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.....	22
2.7 Instrumentasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	23
2.7.1 Fase Gerak.....	24
2.7.2 Persyaratan Fase Gerak.....	24
2.7.3 Jenis Fase Gerak	25
2.7.4 Pompa.....	28
2.7.5 Pemasukan Cuplikan.....	29
2.7.6 Kolom.....	31
2.7.7 Detektor.....	33
2.8 Validasi Metode	35
2.8.1 Spesifisitas (<i>Specificity</i>)	37
2.8.2 Linearitas (<i>Linearity</i>)	37
2.8.3 Akurasi (<i>Accuracy</i>)	37
2.8.4 Presisi (<i>Precision</i>).....	39
2.8.5 Rentang (<i>Range</i>)	40
2.8.6 Batas Deteksi (<i>Limit of Detection / LOD</i>).....	40

2.8.7 Batas Kuantifikasi (<i>Limit of Quantification</i> / LOQ).....	40
2.9 Kerangka Teori	41

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian.....	42
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	42
3.2.1 Tempat Penelitian	42
3.2.2 Waktu Penelitian.....	43
3.3 Populasi dan Sampel	43
3.3.1 Populasi Penelitian.....	43
3.3.2 Sampel Penelitian	43
3.4 Definisi Operasional.....	44
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	44
3.5.1 Alat Penelitian	44
3.5.2 Bahan Penelitian	45
3.6 Prosedur	45
3.6.1 Optimalisasi Instrumen	45
3.6.2 Pembuatan Fase Gerak.....	45
3.6.3 Pembuatan Larutan Stok Standar	46
3.6.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	47
3.6.5 Optimasi Fase Gerak KCKT	48
3.5.6 Uji Kesesuaian Sistem.....	48
3.6.7 Preparasi Sampel	48
3.6.8 Pengujian Kadar Hidrokuinon dan Desoksimeson pada Sampel ..	49
3.6.8 Validasi Metode Analisis	49
3.7 Alur Penelitian	52

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian	53
4.1.1 Pemeriksaan Baku Pembanding	53

4.1.2 Optimasi Fase Gerak.....	54
4.1.3 Pengondisian KCKT	55
4.1.4 Uji Kesesuaian sistem	55
4.1.5 Spesifisitas.....	57
4.1.7 Linearitas dan rentang	59
4.1.8 Akurasi	61
4.1.9 Presisi	63
4.1.10 Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ)	65
4.1.11 Penetapan Kadar Hidrokuinon dalam sampel krim pemutih.....	66
4.1.12 Penetapan Kadar Desoksimetason pada sampel krim pemutih	67
4.2 Pembahasan	68
4.2.1 Optimasi Fase Gerak.....	68
4.2.3 Pengondisian Sistem KCKT.....	70
4.2.4 Uji Kesesuaian Sistem	71
4.2.5 Spesifisitas.....	71
4.2.6 Linearitas dan Rentang.....	72
4.2.7 Akurasi	73
4.2.8 Presisi	75
4.2.9 LOD dan LOQ	76
4.2.10 Analisis Senyawa Hidrokuinon Dalam Sampel Krim Pemutih.....	76
4.2.11 Analisis Senyawa Desoksimetason Dalam Sampel Krim Pemutih	77
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan.....	78
5.2 Saran.....	79
DAFTAR PUSTAKA	80
LAMPIRAN	87

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2. 1 Anatomi Kulit	10
2. 2 Struktur Hidrokuinon	13
2. 3 Struktur Desoksimetason.....	18
2. 4 Karakteristik Analisis dan Kategori dalam Validasi Metode	36
3. 1 Alur Penelitian	52
4. 1 Kromatogram Baku Hidrokuinon 100 ppm.....	57
4. 2 Kromatogram Baku Desoksimetason 100 ppm	57
4. 3 Kromatogram Sampel K1	58
4. 4 Kromatogram Baseline.....	58
4. 5 Grafik Linearitas Hidrokuinon.....	60
4. 6 Grafik Linearitas Desoksimetason.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2. 1 Mekanisme Kerja Zat Aktif Pemutih	9
3. 1 Definisi Operasional.....	44
3. 2 Pengkondisian KCKT Secara Teoritis	45
4. 1 Pemeriksaan Baku Pembanding.....	53
4. 2 Hasil Optimasi Fase Gerak	54
4. 3 Hasil Pengondisian KCKT	55
4. 4 Hasil Uji Kesesuaian Sistem Pada Baku Hidrokuinon	56
4. 5 Hasil Uji Kesesuaian Sistem Pada Baku Desoksimesason	56
4. 6 Hasil Spesifisitas	59
4. 7 Hasil Linearitas Hidrokuinon	59
4. 8 Hasil Linearitas Desoksimesason.....	60
4. 9 Hasil Akurasi Hidrokuinon.....	62
4. 10 Hasil Akurasi Desoksimesason	63
4. 11 Hasil Uji Presisi Hidrokuinon.....	64
4. 12 Hasil Uji Presisi Desoksimesason	65
4. 13 Hasil Perhitungan LOD Hidrokuinon dan Desoksimesason.....	66
4. 14 Hasil Perhitungan LOQ Hidrokuinon dan Desoksimesason.....	66
4. 15 Penetapan Kadar Hidrokuinon dalam Sampel Krim Pemutih	67
4. 16 Penetapan Kadar Desoksimesason pada Sampel Krim Pemutih.....	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Etik Penelitian	88
Lampiran 2. CoA Baku Hidrokuinon.....	89
Lampiran 3. CoA Baku Desoksimetason	90
Lampiran 4. Pemeriksaan Baku Pembanding	91
Lampiran 5. Perhitungan dan Pengenceran Larutan Baku dan Uji.....	94
Lampiran 6. Kromatogram	98
Lampiran 7. Hasil dan Perhitungan Uji Akurasi.....	116
Lampiran 8. Hasil dan Perhitungan Uji Presisi	118
Lampiran 9. Hasil dan Perhitungan Uji Hidrokuinon dalam Sampel	122
Lampiran 10. Hasil dan Perhitungan Uji Desoksimetason dalam Sampel.....	123
Lampiran 11. Dokumentasi	124

DAFTAR SINGKATAN

AOAC	: Association of Official Agricultural Chemists
BPOM	: Badan Pengawas Obat dan Makanan
BPOM RI	: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia
BPFI	: Baku Pembanding Farmakope Indonesia
C ₈	: Oktasil (<i>Octylsilane</i>)
C ₁₈	: Oktadesilsilika (<i>Octadecylsilane</i>)
DAD	: <i>Diode Array Detector</i>
FI	: Farmakope Indonesia
HPA axis	: <i>Hypothalamic Pituitary Adrenal axis</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
ICH	: <i>International Council for Harmonisation</i>
KCKT	: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
LOD	: <i>Limit of Detection</i>
LOQ	: <i>Limit of Quantification</i>
MS	: <i>Mass Spectrometry</i>
m/z	: <i>Mass-to-charge Ratio</i>
NF	: <i>National Formulary</i>
NP-HPLC	: <i>Normal Phase High Performance Liquid Chromatography</i>
PG	: Prostaglandin
RI	: <i>Refractive Index</i>
RP-HPLC	: <i>Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography</i>
RSD	: <i>Relative Standard Deviation</i>
SEC	: <i>Size Exclusion Chromatography</i>
t _R	: <i>Time Retention</i> atau waktu retensi
USP	: <i>United States Pharmacopeia</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
UV-Vis	: <i>Ultraviolet-Visible</i>
λ maks	: Panjang Gelombang Maksimum

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan kosmetik di Indonesia mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap penampilan, estetika, dan gaya hidup modern. Produk perawatan kulit, khususnya krim pemutih, menjadi salah satu kategori kosmetik yang paling banyak digunakan karena diklaim mampu mencerahkan kulit, meratakan warna kulit, serta mengurangi hiperpigmentasi (Simaremare, 2019). Studi di Indonesia menunjukkan bahwa penggunaan krim pemutih cukup tinggi pada kelompok usia muda dan dewasa, dengan prevalensi penggunaan tertinggi pada kelompok usia 25-35 tahun sebesar 50%, diikuti kelompok usia 17-22 tahun sebesar 35% dari total responden (Fadhila, 2020). Fenomena ini menunjukkan tingginya permintaan terhadap produk pemutih kulit di masyarakat.

Berdasarkan hasil pengawasan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia, pada tahun 2018 ditemukan peredaran kosmetik ilegal dengan nilai ekonomi lebih dari Rp126 miliar, dan hampir separuh dari temuan tersebut merupakan produk krim pemutih (BPOM RI, 2018). Data pengawasan lanjutan juga menunjukkan bahwa kosmetik pemutih masih menjadi salah satu produk yang paling sering melanggar ketentuan keamanan, terutama terkait kandungan bahan kimia berbahaya dan obat keras (BPOM RI, 2022). Bahan aktif yang paling sering ditemukan secara ilegal dalam krim pemutih adalah hidrokuinon, tretinoin, dan kortikosteroid (Couteau & Coiffard, 2016). Kombinasi ketiganya dikenal sebagai *triple combination cream* dan secara medis digunakan secara terbatas untuk terapi

hiperpigmentasi tertentu di bawah pengawasan dokter (Ogbechie-Godec & Elbuluk, 2017). Hidrokuinon bekerja dengan menghambat enzim tirosinase sehingga menurunkan produksi melanin, sedangkan kortikosteroid seperti desoksimeson ditambahkan untuk menekan inflamasi dan iritasi akibat penggunaan hidrokuinon dan retinoid (Yasnova *et al.*, 2024).

Desoksimeson merupakan kortikosteroid topikal potensi tinggi yang secara farmakologis bekerja dengan menghambat respon inflamasi melalui supresi sintesis sitokin proinflamasi dan prostaglandin. Meskipun efektif secara terapeutik, penggunaan desoksimeson secara tidak terkontrol dalam kosmetik dapat menimbulkan berbagai efek samping serius. Beberapa studi dalam 10 tahun terakhir melaporkan bahwa penggunaan kortikosteroid topikal poten dalam krim pemutih dapat menyebabkan atrofi kulit, telangiektasis, dermatitis perioral, hipopigmentasi sekunder, hingga supresi aksis hipotalamus-hipofisis-adrenal (HPA axis) terutama pada penggunaan jangka panjang (Coondoo *et al.*, 2014; Hengge *et al.*, 2019; Marumata *et al.*, 2023). Selain itu, penggunaan kortikosteroid pada wajah juga meningkatkan risiko *topical steroid dependent face* yang banyak dilaporkan di beberapa negara (Saraswat *et al.*, 2020).

Hidrokuinon sendiri diketahui memiliki risiko toksisitas yang cukup sering ditemui. Penggunaan hidrokuinon dalam jangka panjang dan konsentrasi tinggi dilaporkan dapat menyebabkan iritasi kronis, dermatitis kontak, serta ochronosis eksogen, yaitu kondisi hiperpigmentasi permanen yang sulit diobati (Haryanti *et al.*, 2018). Beberapa studi toksikologi juga mengaitkan hidrokuinon dengan potensi efek mutagenik dan karsinogenik, sehingga penggunaannya dalam kosmetik dinilai tidak aman (Couteau & Coiffard, 2016).

Mengingat risiko tersebut, BPOM Republik Indonesia telah secara tegas melarang penggunaan hidrokuinon dan kortikosteroid, termasuk desoksimeson, dalam kosmetik melalui Peraturan BPOM Nomor HK.00.05.42.1018 Tahun 2008 serta diperkuat kembali dalam Peraturan BPOM Nomor 17 Tahun 2022 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik (BPOM RI, 2022). Namun demikian, berbagai

penelitian dan hasil pengawasan masih menunjukkan bahwa krim pemutih ilegal yang mengandung hidrokuinon dan kortikosteroid poten masih beredar luas, baik melalui penjualan daring maupun pasar tradisional (Charismawati, 2021; BPOM RI, 2022).

Kondisi tersebut menunjukkan perlunya metode analisis yang akurat, selektif, sensitif, dan tervalidasi untuk mendeteksi keberadaan senyawa berbahaya dalam produk kosmetik. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan salah satu metode analisis instrumental yang banyak digunakan karena memiliki kemampuan pemisahan yang tinggi, sensitivitas yang baik, serta mampu menganalisis senyawa dalam matriks kompleks seperti krim kosmetik. Prinsip KCKT didasarkan pada perbedaan distribusi analit antara fase gerak dan fase diam, sehingga memungkinkan pemisahan senyawa dengan karakteristik kimia yang berbeda.

Farmakope Indonesia dan BPOM RI telah mencantumkan metode baku untuk penetapan kadar hidrokuinon dan desoksimeson secara terpisah, dengan komposisi fase gerak yang berbeda, yaitu metanol:air (45:55) untuk hidrokuinon dan methanol-air:asam asetat glasial (65:35:1) untuk Desoksimeson (Farmakope Indonesia VI, 2020). Namun, pengembangan metode dengan variasi fase gerak, polaritas, dan tipe elusi masih diperlukan untuk meningkatkan efisiensi analisis, resolusi pemisahan, serta potensi penerapan metode dalam pengujian rutin kosmetik (Anggraini *et al.*, 2023; Agrahari *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian tersebut, pengembangan dan validasi metode KCKT untuk analisis hidrokuinon dan desoksimeson dalam sediaan krim pemutih menjadi sangat penting dalam rangka pengawasan mutu kosmetik dan perlindungan konsumen. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan dan memvalidasi metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang meliputi optimasi fase gerak serta evaluasi parameter validasi seperti spesifisitas, linearitas, akurasi, presisi, rentang *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ), sehingga dapat digunakan sebagai metode alternatif yang andal dan efisien dalam pengawasan mutu dan keamanan produk kosmetik di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil optimasi fase gerak pada Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk analisis hidrokuinon dan desoksimeson dalam produk krim pemutih?
2. Bagaimana hasil parameter validasi metode analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dikembangkan untuk analisis hidrokuinon dan desoksimeson dalam produk krim pemutih?
3. Bagaimana gambaran hasil analisis senyawa hidrokuinon dan desoksimeson pada sampel krim pemutih dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dikembangkan?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Melakukan optimasi fase gerak pada Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk analisis hidrokuinon dan desoksimeson dalam produk krim pemutih
2. Menilai hasil parameter validasi metode analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dikembangkan untuk analisis hidrokuinon dan desoksimeson dalam produk krim pemutih
3. Menganalisis hasil uji senyawa hidrokuinon dan desoksimeson pada sampel krim pemutih dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dikembangkan

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1.4.1 Bagi Peneliti

Sebagai sarana untuk mengembangkan kemampuan dan pemahaman dalam melakukan optimasi dan validasi metode analisis dengan

instrumentasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk analisis produk kosmetik.

1.4.2 Bagi Institusi

Menambah referensi ilmiah serta memberikan kontribusi terhadap pengembangan metode analisis kosmetik yang tervalidasi, dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

1.4.3 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi ilmiah yang dapat dijadikan dasar dalam edukasi kepada konsumen terhadap penggunaan krim pemutih yang mengandung bahan kimia berbahaya.

1.5 Batasan Penelitian

1. Penelitian ini hanya fokus pada analisis senyawa hidrokuinon dan Desoksimetason pada krim pemutih.
2. Sampel yang dianalisis terbatas hanya pada sediaan krim pemutih wajah yang diperoleh dari satu platform *e-commerce*.
3. Metode analisis yang dikembangkan adalah metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan detektor UV-Vis.
4. Parameter validasi metode analisis yang dikaji mengacu pada *International Conference for Harmonisation* (ICH) yang hanya mencakup pada spesifitas, linearitas, akurasi, presisi, rentang *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantification* (LOQ).
5. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi dari air dengan asetonitril.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kosmetik

2.1.1 Definisi Kosmetik

Kosmetik didefinisikan sebagai sediaan atau campuran bahan yang digunakan pada bagian luar tubuh manusia dengan tujuan untuk membersihkan, mempercantik, mengubah penampilan, menjaga agar tetap dalam kondisi baik, serta memperbaiki bau badan, namun tidak dimaksudkan untuk mengobati maupun menyembuhkan penyakit (Widowati, 2023). Kosmetik digunakan pada bagian luar tubuh manusia, termasuk epidermis, rambut, kuku, bibir, organ genital luar, gigi, dan membran mukosa mulut (BPOM, 2019b)

Tujuan penggunaan kosmetik adalah untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan, memperbaiki bau badan, serta melindungi dan memelihara tubuh agar tetap sehat (BPOM RI, 2011). Menurut Food and Drug Administration (FDA), yang menyebutkan bahwa kosmetik merupakan produk yang dipakai untuk membersihkan, mempercantik, dan mengubah penampilan fisik seseorang (Wells, 2023)

Di Indonesia, penggolongan kosmetika diatur dalam Surat Edaran BPOM No. HK.07.4.42.01.16.84 Tahun 2016. Berdasarkan regulasi tersebut, kosmetika dikelompokkan ke dalam beberapa kategori, antara lain sediaan bayi seperti *baby oil*, *baby lotion*, dan *baby cream*, sediaan perawatan kulit seperti masker dan masker mata, sediaan rias wajah seperti alas bedak dan dasar *make up*, sediaan mandi berupa sabun mandi dan sabun mandi antiseptik, sediaan wangi-wangian seperti *parfum*, *eau*

de parfum, dan pewangi badan, sediaan rambut seperti depilatori, sediaan kebersihan badan seperti penyegar kulit, krim malam, krim siang, dan pelembab, sediaan cukur seperti produk cukur dan pasca cukur, sediaan rias mata seperti pensil alis, *eye shadow*, *eye liner*, dan maskara; sediaan higiene mulut berupa pasta gigi, obat kumur, dan penyegar mulut, sediaan kuku seperti pewarna kuku dan *nail dryer*, sediaan tabir surya, serta sediaan penggelap kulit yang diformulasikan tanpa memerlukan paparan sinar matahari (Fertiasari, Leni & Kristiandi, 2023)

Selain itu, regulasi mengenai kosmetik di Indonesia juga tercantum dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 220/MenKes/Per/IX/1976. Peraturan tersebut mendefinisikan kosmetik sebagai campuran bahan yang digunakan dengan cara digosokkan, ditempelkan, dituangkan, atau disemprotkan pada tubuh dengan tujuan menjaga kebersihan, mempercantik penampilan, meningkatkan daya tarik, serta menunjang kepercayaan diri (Wilbert & Effendy, 2023). Oleh karena itu, regulasi yang ketat mengenai bahan, formulasi, dan keamanan diperlukan agar produk kosmetik yang beredar tidak hanya memenuhi standar mutu, tetapi juga aman digunakan dan tidak menimbulkan risiko kesehatan bagi konsumen.

Bahan yang digunakan dalam kosmetik harus memenuhi standar mutu sebagaimana tercantum dalam Kodeks Kosmetika Indonesia atau standar lain yang diakui Dimana tercantum dalam peraturan BPOM No. 18 Tahun 2019. Hanya bahan yang tercantum dalam daftar bahan yang diperbolehkan yang dapat digunakan, sementara penggunaan bahan tertentu yang secara tegas dilarang tidak diperkenankan dalam formulasi kosmetik (BPOM, 2019a)

2.1.2 Krim Pemutih

Krim didefinisikan sebagai “cairan kental atau emulsi setengah padat baik bertipe air dalam minyak atau minyak dalam air” (Chauhan & Gupta, 2020). Krim biasanya digunakan sebagai emolien atau pemakaian

obat pada kulit. Krim pemutih merupakan campuran basis krim dengan bahan atau zat aktif kimia dengan khasiat memutihkan kulit atau memudarkan noda hitam (coklat) pada kulit (Harimurti *et al.*, 2023).

Berdasarkan cara penggunaannya produk pemutih kulit dibedakan menjadi 2 (dua), yaitu:

1. *Skin Bleaching*

Skin Bleaching Adalah pemutih kulit yang mengandung bahan aktif yang kuat, yang berfungsi memudarkan noda-noda hitam, tidak digunakan secara merata pada kulit dan tidak digunakan pada siang hari (Altraide *et al.*, 2021).

2. *Skin lightening*

Skin lightening adalah produk perawatan kulit yang digunakan dengan tujuan agar kulit pemakai tampak lebih putih, cerah dan bercahaya. Produk lightening kategori ini dapat digunakan secara merata pada seluruh permukaan kulit (Anggraeni, 2014).

2.1.3 Zat Aktif Pemutih dalam Sediaan Krim Pemutih

Zat pencerah kulit merupakan kelompok senyawa yang bekerja melalui berbagai mekanisme biokimia untuk mengurangi hiperpigmentasi serta memperbaiki homogenitas warna kulit (Shagjaa, Sanga & Rossi, 2022). Mekanisme kerja zat pencerah kulit dapat dikategorikan ke dalam beberapa jalur utama, antara lain penghambatan aktivitas enzim tirosinase, pengaturan transkripsi tirosinase, percepatan pergantian sel epidermis, penghambatan transfer melanosom, efek antiinflamasi, serta aktivitas penangkapan radikal bebas (Fiske, Wasnik & Sabale, 2021).

Rincian mekanisme dan senyawa yang mewakili masing-masing kategori dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Mekanisme Kerja Zat Aktif Pemutih

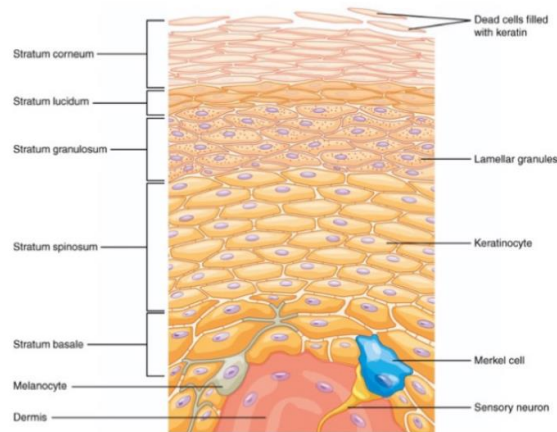
Mekanisme Kerja	Senyawa/ Zat Aktif
Inhibisi transkripsi tirosinase	Tretinoin, glukosamin, retinol, retinaldehida, N-asetil glukosamin
Inhibisi langsung aktivitas tirosinase	Hidrokuinon, mequinol, arbutin, asam azelat, asam kojat, asam elagat, resveratrol, oksiresveratrol
Percepatan pergantian sel epidermis	Vitamin C, vitamin E, asam <i>thioctic acid</i> , retinoid, asam laktat, asam glikolat, asam salisilat, likuiritin
Inhibisi transfer melanosom	Asam linoleat
Aktivitas antiinflamasi	Niasinamid, ekstrak susu kedelai
Aktivitas penangkap radikal bebas	Kortikosteroid topikal, asam glisirretinat

(Fiske, Wasnik & Sabale, 2021)

Berdasarkan tabel tersebut, diketahui bahwa zat depigmentasi tidak hanya bekerja melalui satu mekanisme tunggal, melainkan melalui berbagai jalur yang saling melengkapi. Beberapa senyawa seperti hidrokuinon dan asam kojic dikenal memiliki potensi tinggi karena mampu menghambat aktivitas tirosinase secara langsung, sementara agen lain seperti tretinoin berperan sebagai inhibitor transkripsi enzim tyrosinase, serta kortikosteroid seperti deksametason, betametason, mometasone sering digunakan pada krim pemutih kulit karena memiliki aktivitas penangkap radikal bebas, dimana radikal bebas dapat menyebabkan pigmentasi kulit (Pena-Rodríguez *et al.*, 2021).

2.2 Kulit

2.2.1 Anatomi dan Fisiologi Kulit



Gambar 2. 1 Anatomi Kulit

Sumber: (Lotfollahi, 2024)

Kulit merupakan organ terbesar pada tubuh manusia yang berfungsi sebagai pelindung utama terhadap pengaruh lingkungan luar. Secara anatomi, kulit tersusun atas tiga lapisan utama, yaitu epidermis, dermis, dan hipodermis, yang masing-masing memiliki struktur dan fungsi yang berbeda namun saling berhubungan (Adhisa & Megasari, 2020)

Lapisan epidermis adalah lapisan terluar yang berperan sebagai penghalang fisik terhadap masuknya mikroorganisme patogen, zat kimia berbahaya, serta mencegah kehilangan air berlebih dari permukaan kulit. Epidermis tersusun atas beberapa sublapisan, yaitu stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum, dan stratum korneum (Ibrahim *et al.*, 2021).

1. Stratum basale merupakan lapisan terdalam yang terdiri atas keratinosit, melanosit, dan sel taktil (*Merkel cells*). Sel-sel keratinosit di lapisan ini aktif mengalami mitosis untuk menggantikan sel-sel kulit yang terdeskuamasi di lapisan atas.

Melanosit berfungsi memproduksi pigmen melanin yang menentukan warna kulit.

2. Stratum spinosum terdiri atas sel-sel anak dari keratinosit dan sel dendritik (*Langerhans cells*) yang berperan dalam respons imun kulit.
3. Stratum granulosum mengandung 3-5 lapis keratinosit yang mengalami perubahan morfologi dan mengandung granula keratohialin.
4. Stratum lucidum, yang hanya terdapat pada kulit tebal seperti telapak tangan dan kaki, tersusun atas sel-sel keratinosit yang padat dengan protein eleidin, memberikan tampilan transparan.
5. Stratum korneum merupakan lapisan terluar yang terdiri atas 15-30 lapis sel mati yang telah mengalami proses keratinisasi (kornifikasi). Sel-sel ini akan terlepas setiap ± 4 minggu sebagai bagian dari proses regenerasi kulit .
6. Lapisan dermis berada di bawah epidermis dan tersusun atas jaringan ikat padat yang mengandung serabut kolagen, elastin, pembuluh darah, saraf, kelenjar, serta folikel rambut. Dermis memberikan kekuatan, elastisitas, dan dukungan nutrisi bagi epidermis. Sementara itu, hipodermis atau subkutis merupakan lapisan terdalam yang mengandung jaringan lemak dan berfungsi sebagai bantalan pelindung serta penyimpan energi (Ibrahim *et al.*, 2021).

2.2.2 Warna Kulit dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhinya

Warna kulit manusia ditentukan oleh beberapa faktor utama, yaitu melanin, karoten, dan hemoglobin. Dari ketiga faktor tersebut, melanin merupakan determinan paling penting dalam variasi warna kulit antar individu maupun populasi (Solano, 2014). Melanin diproduksi oleh sel khusus yang disebut melanosit, yang terdapat di lapisan stratum basale epidermis. Melanosit mensintesis melanin di dalam organel yang disebut

melanosom, yang kemudian ditransfer ke keratinosit di sekitarnya melalui proses fagositosis (Mamoto, Kalangi & Karundeng, 2013)

Terdapat dua jenis utama melanin, yaitu:

1. Eumelanin, berupa polimer berwarna cokelat gelap hingga hitam yang tidak larut dalam air dan dihasilkan melalui polimerisasi produk oksidasi tirosin.
2. Pheomelanin, berupa polimer berwarna kuning kemerahan yang mengandung sulfur dan relatif lebih larut (Ibrahim *et al.*, 2021).

Variasi warna kulit manusia terutama ditentukan oleh jumlah, ukuran, dan distribusi melanosom, bukan oleh jumlah melanosit. Pada kulit terang, melanosom cenderung lebih kecil, kurang matang, dan berkelompok; sedangkan pada kulit gelap, melanosom berukuran lebih besar, matang, serta tersebar secara tunggal dan merata di sitoplasma keratinosit (Yamaguchi & Hearing, 2014).

2.2.3 Mekanisme Biokimia Pembentukan Melanin (Melanogenesis)

Proses melanogenesis merupakan jalur biokimia kompleks yang melibatkan berbagai enzim dan dikontrol oleh sejumlah gen. Enzim kunci dalam proses ini adalah tirosinase (TYR), yang berperan mengkatalisis oksidasi L-tirosin menjadi L-DOPA (3,4-dihidroksifenilalanin), kemudian menjadi dopaquinone (DQ). Dopaquinone selanjutnya menjadi prekursor bagi pembentukan eumelanin maupun pheomelanin, tergantung kondisi lingkungan dan ketersediaan senyawa sulfur (Solano, 2014).

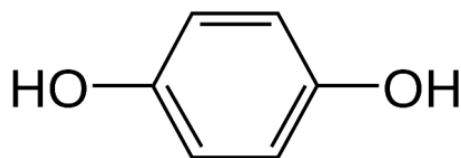
Aktivitas tirosinase dapat distimulasi oleh paparan sinar ultraviolet (UV) dan *Melanocyte Stimulating Hormone* (MSH) yang disekresikan oleh kelenjar hipofisis anterior. Peningkatan aktivitas ini merupakan mekanisme fisiologis tubuh untuk melindungi jaringan kulit dari

kerusakan akibat radiasi UV dengan meningkatkan deposisi melanin yang berfungsi sebagai penyerap radiasi (Eichner *et al.*, 2014).

Selain faktor genetik dan hormonal, faktor eksternal seperti paparan sinar matahari, polusi, bahan kimia, serta faktor internal seperti status nutrisi, usia, dan kondisi patologis (misalnya hiperpigmentasi atau albinisme) juga memengaruhi produksi dan distribusi melanin (Suryani, 2020).

2.3 Hidrokuinon

2.3.1 Monografi Hidrokuinon



Gambar 2. 2 Struktur Hidrokuinon

Sumber: (Couteau & Coiffard, 2016)

Rumus Molekul	: $C_6H_6O_2$
Bobot Molekul	: 110,11
Nama Lain	: <i>Hydroquinone</i>
Pemerian	: Kristal berbentuk jarum halus, berwarna putih, yang mudah berubah menjadi coklat gelap apabila terpapar cahaya dan udara. Tidak berbau atau hampir tidak berbau.
Kelarutan	: Mudah larut dalam air, mudah larut dalam etanol, dan larut dalam eter.
Panjang Gelombang	: 293 nm

(Farmakope V , 2014)

Hidrokuinon merupakan senyawa organik aromatik yang bersifat polar karena memiliki dua gugus hidroksil (-OH) yang bersifat hidrofilik. Struktur dasarnya berupa cincin benzena yang berfungsi sebagai kerangka aromatik utama (Julan, Febria Leswana & Linden, 2023). Pada cincin tersebut, dua gugus hidroksil terikat pada posisi para (1,4-dihidroksibenzena), sehingga memengaruhi sifat kimia dan fisiknya (Fajariyani & Huwaid, 2022).

Dalam kajian spektroskopi, hidrokuinon mengandung kromofor dan auksokrom. Cincin benzena bertindak sebagai kromofor karena mampu menyerap cahaya ultraviolet, sedangkan gugus hidroksil berperan sebagai auksokrom yang dapat mendonorkan pasangan elektron bebas ke sistem aromatik, sehingga menggeser panjang gelombang serapan atau meningkatkan intensitas penyerapan Cahaya (Fajariyani & Huwaid, 2022).

Kombinasi keberadaan kromofor dan auksokrom ini tidak hanya memengaruhi karakteristik spektrum hidrokuinon, tetapi juga menjelaskan reaktivitasnya, misalnya dalam proses oksidasi menjadi benzoquinon. Gugus hidroksil sebagai auksokrom meningkatkan polaritas senyawa dan memengaruhi interaksi hidrokuinon dengan fase gerak maupun fase diam dalam kromatografi. Sifat polar ini menyebabkan hidrokuinon lebih mudah dipisahkan menggunakan kolom fase terbalik (*reversed-phase*) (Julan, Febria Leswana & Linden, 2023).

2.3.2 Mekanisme Hidrokuinon pada Kulit

Hidrokuinon merupakan senyawa fenolik yang secara luas digunakan sebagai agen pencerah kulit karena kemampuannya dalam menghambat proses melanogenesis (Ristianing Putri & Nur Wahyudiani, 2021). Mekanisme utama kerja hidrokuinon adalah melalui penghambatan aktivitas enzim tirosinase yang terdapat pada melanosit (Rejeki & Pramiastuti, 2022). Tirosinase merupakan enzim kunci dalam biosintesis

melanin, yaitu pigmen alami yang bertanggung jawab terhadap warna kulit, rambut, dan mata. dengan terhambatnya enzim tersebut, maka konversi tirosin menjadi dopaquinon tahap awal pembentukan melanin menjadi terhambat, sehingga jumlah melanin yang dihasilkan berkurang secara signifikan (Charismawati, 2021).

Proses penghambatan ini pada akhirnya berdampak pada penurunan akumulasi pigmen melanin di epidermis, sehingga dapat mengurangi tampilan bercak atau bintik hitam pada kulit (Priadiamanti, 2018).

2.3.3 Efek Samping Hidrokuinon

Penggunaan hidrokuinon tanpa pengawasan medis berpotensi menimbulkan reaksi lokal hingga sistemik. Reaksi lokal yang sering dilaporkan meliputi eritema, rasa terbakar, pruritus, iritasi, dan diskomfortitas pada area tertentu (Gul, 2014). Penggunaan jangka panjang dan/atau konsentrasi tinggi ($\geq 5\%$) berkaitan dengan perubahan warna kebiruan-kehitaman akibat gangguan metabolisme melanin (okronosis eksogen). Secara sistemik, dikaitkan dengan nefropati, risiko karsinogenik, termasuk leukemia dan adenoma hepatoseluler, serta potensi modulasi imun (peningkatan IL-4 dan IgE) yang dapat memperberat reaksi alergi (Gul, 2014; Schwartz *et al.*, 2023).

Efek samping hidrokuinon dapat dikelompokkan menjadi dua kategori, yaitu reaksi jangka pendek dan jangka panjang. Reaksi jangka pendek biasanya berupa dermatitis kontak, iritasi, sensasi terbakar, rasa gatal, atau reaksi alergi. Sedangkan efek samping jangka panjang yang lebih serius meliputi okronosis eksogen (penumpukan pigmen kebiruan kehitaman pada kulit akibat penggunaan kronis), gangguan pigmentasi permanen, serta potensi kerusakan jaringan (Gad & Pham, 2022). Karakteristik khas sediaan hidrokuinon adalah kecenderungan warnanya berubah menjadi coklat ketika terpapar udara bebas, akibat sifatnya yang mudah teroksidasi (Fertiasari, Leni & Kristiandi, 2023).

Selain itu, hidrokuinon juga dapat berinteraksi dengan obat atau bahan topikal lain. Kombinasi dengan benzoyl peroxide atau hydrogen peroxide dapat menimbulkan noda pada kulit, sedangkan penggunaan bersamaan dengan produk pewarna rambut, bahan penghilang bulu, atau pembersih kulit yang mengandung alkohol, astringen, jeruk nipis, atau ekstrak rempah cenderung meningkatkan risiko iritasi (Gad & Pham, 2022). Meskipun secara klinis hidrokuinon terbukti efektif menekan produksi melanin dengan cara menghambat aktivitas enzim tirosinase dalam melanosit (Gul, 2014), konsentrasi tinggi di atas 5% berpotensi menimbulkan pengelupasan lapisan kulit luar dan memperparah resiko okronosis bila digunakan dalam jangka panjang.

Efek samping sistemik juga menjadi perhatian. Sejumlah penelitian melaporkan bahwa hidrokuinon dapat bersifat nefrotoksik dan meningkatkan risiko kelainan ginjal (*nephropathy*), kanker darah (*leukemia*), serta tumor hati seperti *hepatocellular adenoma*. Selain itu, hidrokuinon memengaruhi sistem imun dengan meningkatkan produksi interleukin-4 dan imunoglobulin E, sehingga memperburuk respons alergi (Gad & Pham, 2022). Dengan demikian, meskipun hidrokuinon efektif sebagai agen pencerah kulit, penggunaannya harus dibatasi, diawasi secara medis, serta dipertimbangkan dengan cermat antara manfaat dan potensi risikonya.

1.3.4 Regulasi Hidrokuinon dalam Kosmetik

Badan POM menetapkan pembatasan ketat terhadap dalam kosmetik. Peraturan BPOM (2011) mengklasifikasikan sebagai bahan yang diperbolehkan hanya untuk aplikasi kuku artifisial dengan kadar maksimum 0,02%, harus diaplikasikan oleh tenaga profesional, dan diupayakan tidak terjadi kontak dengan kulit. Kebijakan ini dipertegas dalam Peraturan Kepala BPOM RI No. 18 Tahun 2015 yang menegaskan kembali ruang lingkup dan batas kadar Hidrokuinon pada kosmetik siap pakai. Dalam praktik dermatologi, dikategorikan sebagai obat keras yang

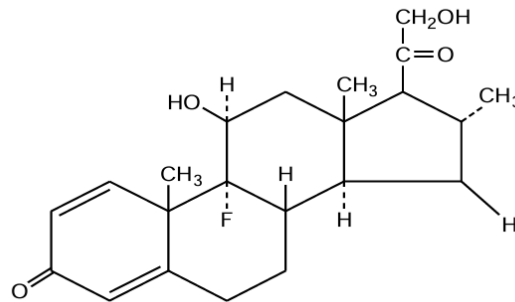
penggunaannya memerlukan resep dokter untuk indikasi hiperpigmentasi seperti melasma, *chloasma*, dan *post-inflammatory hyperpigmentation*, sedangkan pada krim pemutih wajah untuk penggunaan bebas telah dilarang sejak 2008 (Rejeki & Pramiastuti, 2022)

Berbagai penelitian di tingkat daerah masih menemukan produk yang beredar bebas mengandung hidrokuinon dengan kadar melebihi batas ketentuan. Kandungan berbahaya pada krim pemutih ditemukan di Sumbawa dengan kadar 1,52-4%, di Banjarnegara sebesar 0,1-11,18%, di Mataram sebesar 3,13-4,29%, serta di Brebes sebesar 0,725-0,734% (Rahmadari *et al.*, 2021; Fahira *et al.*, 2021). Temuan ini menunjukkan bahwa pelanggaran terhadap regulasi masih terjadi (Harimurti *et al.*, 2021). Data tersebut menegaskan pentingnya pelaksanaan *surveilans* secara berkelanjutan oleh pihak berwenang serta perlunya peningkatan edukasi kepada konsumen mengenai bahaya penggunaan kosmetik ilegal atau tidak terdaftar (Wulandari *et al.*, 2021).

2.4 Desoksimeson

Desoksimeson adalah golongan obat kortikosteroid yang diketahui memiliki efek yang berhubungan dengan kemampuannya untuk merangsang biosintesis protein lipomodulin, yang dapat menghambat kerja enzimatis fosfolipase A2 sehingga mencegah pelepasan mediator proses peradangan, yaitu asam arakidonat dan metabolitnya, seperti prostaglandin (PG), leukotrien (LT), tromboksan dan prostasiklin yang dapat menyebabkan nyeri, efek vasodilatasi, penimbunan leukosit dan efek fagositosis yang menyebabkan kerusakan jaringan (Siswandono & Soekardjo, 2008).

2.4.1 Monografi Desoksimetason



Gambar 2. 3 Struktur Desoksimetason

Sumber: (Rahmayuni, Harmita & Suryadi, 2018)

Rumus Molekul	: $C_{22}H_{29}FO_5$
Bobot Molekul	: 376,46
Nama Lain	: Desoximethasone, 9-Fluoro-11 β ,21-dihidroksi-16 α -metilpregna-1,4diena-3,20-dion [382-67-2] $C_{22}H_{29}FO_4$
Pemerian	: Serbuk hablur, putih sampai praktis putih; tidak berbau.
Kelarutan	: Tidak larut dalam air:mudah larut dalam etanol, dalam aseton dan dalam kloroform
Panjang Gelombang	: 239 nm

(Farmakope V , 2014)

2.4.2 Mekanisme Desoksimetason pada Kulit

Desoksimetason merupakan kortikosteroid topikal potensi tinggi bekerja dengan berikatan pada reseptor glukokortikoid intrasel, kemudian

mengatur transkripsi gen yang berperan dalam respons inflamasi. Aktivasi reseptor ini meningkatkan ekspresi protein antiinflamasi seperti lipokortin (annexin A1) yang menekan aktivitas fosfolipase A₂, sehingga menghambat pembentukan asam arakidonat sebagai prekursor utama prostaglandin dan leukotrien. Selain itu, desoksimetason juga menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi seperti interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). Kombinasi efek tersebut menyebabkan penurunan respons inflamasi, vasodilatasi, serta permeabilitas kapiler pada jaringan kulit (Coondoo *et al.*, 2014; Hengge *et al.*, 2006).

Selain aktivitas antiinflamasi, penggunaan kortikosteroid topikal termasuk desoksimetason dapat memengaruhi pigmentasi kulit. Efek ini tidak terjadi melalui supresi sistemik *pro-opiomelanocortin* (POMC) atau *melanocyte-stimulating hormone* (MSH), melainkan melalui penurunan aktivitas melanosit dan sintesis melanin, serta hambatan transfer melanosom ke keratinosit. Penggunaan topikal jangka panjang atau tidak tepat dapat menyebabkan hipopigmentasi lokal, yang umumnya bersifat reversibel dan tidak disertai destruksi sel melanosit (Hengge *et al.*, 2006; Ference & Last, 2009).

2.4.3 Efek Samping Desoksimetason

Penggunaan deksametason topikal dalam jangka panjang dapat menyebabkan berbagai efek samping, baik lokal maupun sistemik. Efek samping lokal yang paling umum adalah atrofi kulit, yaitu penipisan lapisan epidermis dan dermis akibat penghambatan proliferasi keratinosit dan fibroblas serta penurunan sintesis kolagen dan mukopolisakarida (Coondoo *et al.*, 2014). Kulit yang mengalami atrofi tampak tipis, kering, mudah memar, dan memperlihatkan pembuluh darah superfisial.

Efek lainnya meliputi hipopigmentasi, *striae* (guratan), purpura, eritema, hipertrikosis, serta peningkatan risiko infeksi sekunder oleh bakteri,

jamur, atau virus akibat penurunan imunitas lokal kulit (Coondoo *et al.*, 2014). Pada penggunaan jangka panjang, Desoksimeson juga dapat menekan sumbu hipotalamus pituitary adrenal (HPA axis), terutama bila diaplikasikan dalam dosis tinggi, area luas, atau dengan teknik oklusi (Mohammed *et al.*, 2023). Kondisi ini dapat menyebabkan insufisiensi adrenal, sindrom cushing iatrogenik, hiperglikemia, dan gangguan metabolik lainnya (Nicolaides *et al.*, 2022).

Beberapa kasus melaporkan munculnya perioral dermatitis dan rosasea steroid-induksi, khususnya pada penggunaan topikal di wajah. Selain itu, penurunan respons terhadap obat akibat penggunaan berulang (takifilaksis) dapat terjadi sehingga mendorong pengguna untuk meningkatkan potensi steroid dan memperburuk efek samping (Coondoo *et al.*, 2014).

2.4.4 Regulasi Desoksimeson dalam Kosmetik

Desoksimeson merupakan kortikosteroid yang digunakan secara medis untuk terapi inflamasi dan alergi, namun dilarang penggunaannya dalam produk kosmetik karena berisiko menimbulkan efek samping serius pada kulit. BPOM Republik Indonesia menetapkan desoksimeson sebagai bahan terlarang dalam kosmetik, termasuk produk pemutih kulit, meskipun masih ditemukan peredarannya secara ilegal bersama kortikosteroid lain seperti deksametason, betametason, dan klobetasol (BPOM, 2018).

Beberapa penelitian telah melaporkan pengembangan metode analisis desoksimeson menggunakan HPLC, namun umumnya dilakukan pada bahan baku dan sediaan krim farmasi, bukan pada sampel kosmetik. Gorle *et al.* mengembangkan dan memvalidasi metode RP-HPLC untuk penetapan kadar desoksimeson dalam bulk dan krim farmasi menggunakan kolom C18 dengan fase gerak metanol-air yang mengandung 0,1% asam ortofosfat (pH 3) dan deteksi UV pada 240 nm. Perbedaan matriks sampel serta komposisi fase gerak menunjukkan bahwa

metode tersebut belum tentu dapat langsung diaplikasikan pada produk kosmetik, sehingga diperlukan pengembangan dan validasi metode HPLC yang spesifik untuk analisis desoksimeson dalam matriks kosmetik (Gorle, 2019) .

2.5 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

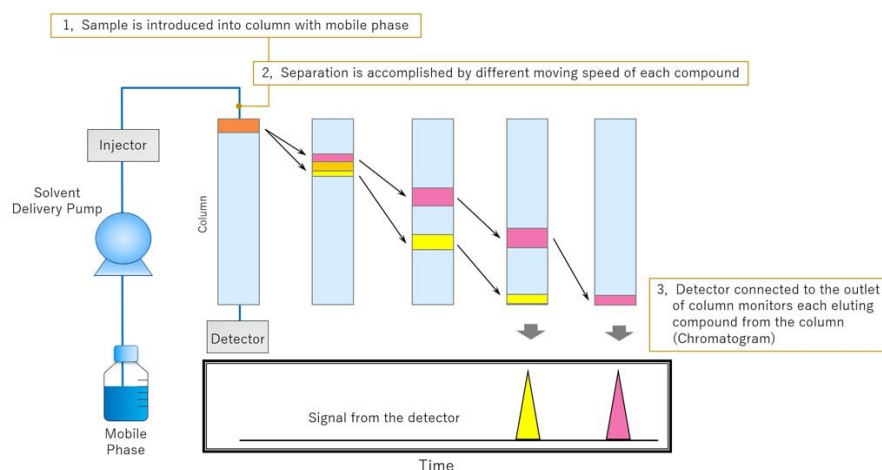
Kromatografi merupakan teknik pemisahan senyawa yang didasarkan pada perbedaan distribusi analit di antara dua fase yang tidak saling bercampur. Dalam sistem ini, satu fase bersifat statis (fase diam), sementara fase lainnya bergerak melalui sistem sebagai pembawa (fase gerak) (Dong, 2019).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah pengembangan dari teknik kromatografi cair kolom konvensional. Berbeda dengan metode klasik, KCKT menggunakan pompa bertekanan tinggi untuk mendorong fase gerak melewati kolom, sehingga menghasilkan pemisahan yang lebih cepat, lebih presisi, dan bersifat non destruktif (Dong, 2019). Metode ini dapat diaplikasikan tidak hanya untuk analisis kualitatif guna mengidentifikasi senyawa, tetapi juga untuk analisis kuantitatif, termasuk dalam penetapan kadar obat pada bentuk bahan baku, sediaan farmasi, maupun cairan biologis (Gandjar & Rohman, 2010).

KCKT memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan metode pemisahan lainnya, antara lain kemampuan resolusi yang tinggi, sensitivitas yang baik, kecepatan analisis yang memadai, serta stabilitas instrumen yang memungkinkan penggunaan kolom secara berulang. Selain itu, metode ini dapat mencegah degradasi senyawa sehingga analit tetap dalam kondisi utuh saat dianalisis (Merck, 2021). Meski demikian, keterbatasan tetap ada, terutama dalam menghadapi sampel yang sangat kompleks. Pada kondisi tersebut, KCKT perlu dikombinasikan dengan spektrometri massa (MS) agar identifikasi senyawa lebih akurat dan detail (Gandjar & Rohman, 2010).

2.6.1 Prinsip Kerja Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Prinsip dasar pemisahan dalam kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) didasarkan pada distribusi analit antara fase gerak (eluen) dan fase diam (material pengisi kolom). Pemisahan pada KCKT terjadi akibat adanya perbedaan laju elusi setiap komponen ketika melewati kolom kromatografi. Variasi ini dipengaruhi oleh interaksi zat terlarut dengan fase gerak dan fase diam (Gandjar & Rohman, 2010). Ketika sampel melewati kolom, laju migrasi molekul akan diperlambat oleh fase diam, dan tingkat perlambatan ini bergantung pada struktur kimia senyawa tersebut. Interaksi spesifik, baik berupa ikatan hidrogen, gaya *Van der Waals*, maupun interaksi hidrofobik, antara molekul analit dengan material pengisi kolom, menentukan lama waktu tinggalnya dalam kolom (*retention time*). Setiap komponen dalam sampel akan keluar dari kolom pada waktu yang berbeda, menghasilkan pemisahan yang efektif antar konstituen (Sah, 2021).



Gambar 2. 4 Prinsip Pemisahan dalam KCKT

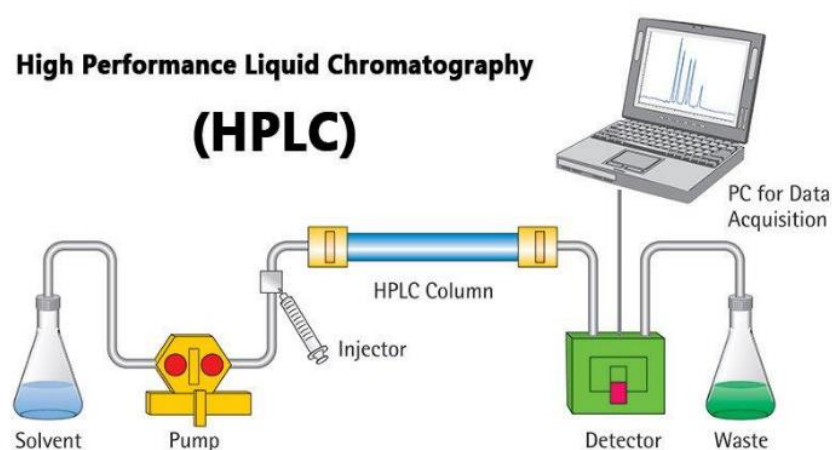
Sumber: (Shimadzu, 2025)

Tahapan analisis menggunakan KCKT dimulai dengan kondisioning kolom, yaitu mengalirkan fase gerak tertentu ke dalam kolom untuk menstabilkan kondisi sistem. Selanjutnya dilakukan injeksi sampel, dimana larutan sampel dimasukkan ke kolom. Pada tahap ini, molekul

analit akan berinteraksi dengan fase diam sesuai karakteristik kimianya, sementara komponen lain yang tidak memiliki interaksi kuat akan lebih cepat keluar dari kolom (Sah, 2021). Setelah itu dilakukan pencucian (*washing*) dengan mengalirkan larutan pencuci untuk membersihkan kolom dari sisa matriks yang tidak diinginkan, sehingga potensi interferensi dapat diminimalkan. Tahap terakhir adalah elusi, dimana eluen dialirkan untuk melepaskan analit yang tertahan pada fase diam, sehingga keluar dari kolom dalam bentuk eluat yang kemudian dideteksi dan dianalisis. Proses berurutan ini memastikan bahwa setiap komponen campuran dapat dipisahkan dan dianalisis secara tepat serta terukur (Merck, 2021).

Setelah terelusi dari kolom, analit dideteksi oleh unit detektor, misalnya detektor ultraviolet (UV). Sinyal yang ditangkap detektor kemudian dikonversi menjadi data digital, diproses oleh perangkat lunak komputer, dan ditampilkan dalam bentuk kromatogram yang merepresentasikan profil pemisahan senyawa. Fase gerak yang telah melewati detektor dapat diarahkan ke unit tambahan seperti kolektor fraksi, detektor sekunder, atau dibuang sebagai limbah (Sah, 2021).

2.7 Instrumentasi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi



Gambar 2. 5 Instrumentasi KCKT atau HPLC

Sumber: (Mochida & Kawamoto, 2023)

Secara umum, sistem KCKT terdiri dari beberapa komponen utama, yaitu: reservoir pelarut, pompa bertekanan tinggi, katup injeksi, kolom kromatografi, detektor, serta unit pengolah data. Eluen dipompa dengan tekanan tinggi pada laju alir konstan agar aliran tetap stabil tanpa denyut, sehingga sinyal detektor tetap akurat dan minim gangguan. Sampel dimasukkan ke dalam aliran fase gerak melalui katup injeksi, lalu dibawa menuju kolom untuk dipisahkan sesuai sifat fisikokimia masing-masing komponen. Dengan mekanisme ini, KCKT mampu menghasilkan pemisahan yang sangat presisi dan dapat diterapkan dalam analisis kuantitatif maupun kualitatif (Sah, 2021).

2.7.1 Fase Gerak

Fase gerak (*mobile phase*) merupakan komponen penting dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang berperan sebagai pelarut untuk membawa zat terlarut (*solute*) melewati kolom menuju detektor (Skoog *et al.*, 2014). Selama proses pemisahan, fase gerak mengalir secara kontinu melalui kolom yang berisi fase diam, sehingga terjadi interaksi berulang antara molekul analit dengan kedua fase tersebut. Perbedaan kekuatan interaksi ini akan menentukan waktu retensi setiap komponen dalam campuran (Harris, 2015).

Fase gerak harus dipilih dengan cermat karena secara langsung memengaruhi efisiensi, selektivitas, resolusi, dan waktu analisis. Komposisi pelarut, polaritas, pH, kekuatan elusi, serta kemurnian fase gerak akan menentukan keberhasilan pemisahan senyawa target seperti hidrokuinon yang bersifat polar (Dong, 2006).

2.7.2 Persyaratan Fase Gerak

Agar diperoleh hasil analisis yang akurat dan *reproducible*, fase gerak harus memenuhi beberapa persyaratan berikut (Snyder & Dolan, 2006; Dong, 2006):

1. Kemurnian tinggi

Pelarut yang digunakan harus memiliki derajat kemurnian tinggi (KCKT grade) untuk mencegah gangguan baseline, kontaminasi, atau munculnya puncak tambahan pada kromatogram.

2. Bebas gas terlarut dan partikel

Fase gerak harus disaring dengan membran berpori 0,45 μm dan didegassing (melalui sonikasi atau vakum) untuk menghindari terbentuknya gelembung udara yang dapat mengganggu kestabilan tekanan dan sinyal detektor.

3. Kompatibel dengan kolom dan analit

Komposisi pelarut tidak boleh merusak fase diam (misalnya, kolom C_{18} rusak pada pH ekstrem) dan harus sesuai dengan polaritas analit yang akan dianalisis.

4. Memiliki viskositas rendah dan kestabilan kimia

Fase gerak dengan viskositas rendah menghasilkan tekanan balik yang lebih kecil, meningkatkan umur kolom dan efisiensi pemisahan.

5. pH terkontrol dan stabil

Untuk analit yang dapat terionisasi, seperti hidrokuinon yang mengandung gugus fenolik (-OH), pH fase gerak harus dikontrol menggunakan buffer agar kestabilan ionisasi tetap terjaga dan bentuk puncak tetap simetris.

6. Tidak bereaksi secara kimia dengan analit

Pelarut tidak boleh membentuk kompleks atau bereaksi dengan zat terlarut karena dapat mengubah struktur maupun waktu retensi.

2.7.3 Jenis Fase Gerak

Fase gerak dalam KCKT dapat dibedakan menjadi beberapa jenis berdasarkan komposisi dan mekanisme pemisahannya (Hage & Carr, 2010; Dong, 2006):

1. Berdasarkan Komposisi:

- Isokratik (*Isocratic Elution*)

Pada sistem ini, komposisi pelarut tetap selama analisis. Cocok digunakan untuk sampel sederhana dengan satu atau dua

komponen utama. Keunggulannya adalah kestabilan baseline dan kemudahan reproduksi hasil.

- Gradien (*Gradient Elution*)

Komposisi pelarut diubah secara bertahap selama analisis, biasanya dari pelarut polar ke nonpolar (atau sebaliknya), untuk meningkatkan resolusi terhadap campuran kompleks. Sistem gradien sering digunakan dalam analisis sediaan kosmetik yang mengandung berbagai bahan aktif.

2. Berdasarkan Polaritas Sistem:

- Kromatografi fase normal / adsorpsi (*Normal Phase HPLC/NP-HPLC*).

Pada metode ini, pemisahan analit didasarkan pada perbedaan polaritas. Fase diam yang digunakan bersifat polar, sedangkan fase geraknya bersifat non-polar. Molekul dengan polaritas tinggi akan lebih lama tertahan pada permukaan fase diam, sementara molekul non-polar akan lebih cepat terelusi.

- Kromatografi fase terbalik/ partisi (*Reversed Phase HPLC/RP-HPLC*).

Merupakan tipe KCKT yang paling luas penggunaannya. Pada metode ini, fase diam bersifat non-polar (umumnya rantai alkil C₈ atau C₁₈ yang diikat pada partikel silika), sedangkan fase gerak bersifat polar hingga semi-polar, biasanya berupa campuran air dengan pelarut organik seperti metanol atau asetonitril. Mekanisme pemisahan didasarkan pada interaksi hidrofobik, di mana analit non-polar akan berasosiasi lebih kuat dengan fase diam sehingga tertahan lebih lama

- Kromatografi pertukaran ion (*Ion Exchange Chromatography*).

Pada teknik ini, retensi analit dipengaruhi oleh gaya tarik elektrostatis antara ion dalam sampel dengan muatan pada permukaan fase diam. Ion yang memiliki muatan sama dengan fase diam akan ditolak, sedangkan ion dengan muatan berlawanan akan berinteraksi dan tertahan. Kromatografi

pertukaran ion banyak diaplikasikan dalam pemurnian air, pemisahan protein, karbohidrat, serta oligosakarida, termasuk metode anion-exchange pada pH tinggi .

- Kromatografi eksklusi ukuran (*Size Exclusion Chromatography/SEC*).

Dikenal juga sebagai kromatografi permeasi gel atau filtrasi gel, metode ini memisahkan molekul berdasarkan ukuran dan berat molekul. Molekul besar akan lebih cepat keluar dari kolom karena tidak dapat masuk ke dalam pori-pori gel, sedangkan molekul kecil akan tertahan lebih lama karena terperangkap dalam matriks. Selain untuk pemisahan, SEC juga digunakan dalam penentuan struktur tersier dan kuarterner protein, analisis asam amino, serta penentuan berat molekul polisakarida .

- Kromatografi Fase Terikat (*Bonded Phase Chromatography*)

Metode ini sorben fase terikat terdiri dari partikel silika yang dimodifikasi secara kimia dengan rantai alkil. Sebaliknya, fase diam terdiri dari partikel yang secara fisik dilapisi dengan zat cair non polar. Kromatografi fase terikat merupakan fase yang stabil, setiap pelarut dapat dipakai tanpa menambahkan penjenruh(Sah, 2021).

Dalam analisis hidrokuinon, metode fase terbalik (RP-HPLC) lebih disukai karena hidrokuinon bersifat polar dan larut baik dalam pelarut polar. Umumnya digunakan campuran air-metanol atau air-asetonitril dalam berbagai rasio, misalnya 60:40 atau 70:30 (v/v), dengan penyesuaian pH menggunakan buffer fosfat atau asam asetat untuk memperoleh puncak simetris dan waktu retensi optimum (Wardhani *et al.*, 2019; Pratiwi *et al.*, 2021).

Fase gerak juga dapat dimodifikasi dengan penambahan modifier seperti asam format, asam asetat, atau trietilamina untuk menurunkan interaksi analit dengan gugus silanol pada kolom, sehingga mengurangi tailing puncak (Snyder *et al.*, 2010).

2.7.4 Pompa

Pompa merupakan salah satu komponen utama dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang berfungsi untuk mengalirkan fase gerak cair secara kontinu dan stabil melalui kolom yang berisi fase diam serta sampel yang akan dipisahkan (Snyder *et al.*, 2011). Kinerja pompa sangat menentukan kestabilan aliran dan tekanan sistem, karena keberhasilan pemisahan dalam KCKT sangat bergantung pada kecepatan aliran (flow rate) yang konstan dan tekanan yang dapat mencapai hingga 4000 psi atau lebih (Dong, 2013).

Pompa yang digunakan dalam KCKT harus memenuhi beberapa persyaratan, antara lain mampu memberikan tekanan tinggi dan stabil, memiliki kecepatan alir yang dapat diatur secara presisi, serta tahan terhadap korosi dan pelarut organik yang umum digunakan dalam fase gerak (Harris, 2015). Selain itu, pompa harus mampu meminimalkan fluktuasi tekanan agar menghasilkan garis dasar (baseline) kromatogram yang stabil.

Secara umum, terdapat beberapa jenis pompa yang digunakan dalam sistem KCKT, yaitu pompa *reciprocating*, pompa *displacement*, dan pompa pneumatik.

1. Pompa *Reciprocating* (Pompa Bolak-Balik)

Pompa ini bekerja berdasarkan prinsip gerak bolak-balik piston atau plunger di dalam silinder yang mengisap dan mendorong pelarut secara bergantian. Keunggulan pompa *reciprocating* adalah kemampuannya menghasilkan tekanan tinggi dan aliran yang presisi,

sehingga banyak digunakan pada sistem KCKT modern. Namun, pompa ini dapat menimbulkan sedikit pulsa tekanan (*pressure pulsation*) yang biasanya diatasi dengan penggunaan peredam pulsa (*pulse damper*) (Dong, 2013).

2. Pompa *Displacement* (Pompa Perpindahan Tetap)

Pompa *displacement* bekerja dengan memindahkan volume pelarut dalam jumlah tetap per siklus kerja. Jenis ini memberikan aliran yang sangat halus dan tanpa pulsa, namun tekanan yang dihasilkan relatif lebih rendah dibandingkan pompa *reciprocating*. Pompa *displacement* umumnya digunakan pada sistem KCKT dengan kebutuhan tekanan sedang (Snyder *et al.*, 2011).

3. Pompa Pneumatik

Pompa pneumatik menggunakan tekanan udara atau gas untuk mendorong fase gerak melalui kolom. Jenis pompa ini memiliki konstruksi sederhana dan cocok untuk sistem tekanan rendah atau aplikasi analisis sederhana. Namun, kestabilan tekanan dan kecepatan alirnya kurang presisi dibandingkan dengan pompa mekanik lainnya, sehingga penggunaannya terbatas pada kondisi tertentu (Harris, 2015).

2.7.5 Pemasukan Cuplikan

Pemasukan cuplikan (injeksi) merupakan tahap penting dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), karena kualitas dan reproduktibilitas hasil analisis sangat bergantung pada cara serta volume cuplikan yang dimasukkan ke dalam sistem (Snyder *et al.*, 2011). Sistem injeksi berfungsi untuk mengintroduksi volume tertentu dari sampel ke dalam aliran fase gerak tanpa mengganggu kestabilan tekanan dan kecepatan alir di dalam kolom (Dong, 2013). Volume injeksi biasanya berkisar antara 1-100 μL tergantung sensitivitas metode dan ukuran kolom yang digunakan (Harris, 2015).

Terdapat beberapa jenis sistem pemasukan cuplikan yang umum digunakan dalam KCKT, yaitu injeksi syringe, injeksi stop-flow, dan kran cuplikan (*loop injector*).

1. Injeksi *Syringe* (Suntikan Manual)

Metode injeksi *syringe* dilakukan dengan menyuntikkan cuplikan secara manual menggunakan jarum suntik langsung ke dalam aliran fase gerak. Metode ini sederhana dan cocok untuk sistem tekanan rendah atau analisis awal yang tidak memerlukan presisi tinggi. Namun, pada sistem KCKT bertekanan tinggi, penggunaan syringe dapat menyebabkan fluktuasi tekanan serta ketidakstabilan aliran karena adanya gangguan mekanik saat penyuntikan (Dong, 2013).

2. Injeksi *Stop-Flow*

Pada sistem injeksi *stop-flow*, aliran fase gerak dihentikan sejenak saat cuplikan dimasukkan ke dalam sistem, kemudian aliran dilanjutkan kembali setelah injeksi selesai. Keunggulan metode ini adalah kemampuannya menghindari gangguan tekanan selama injeksi, serta memungkinkan kontrol yang lebih baik terhadap volume sampel yang dimasukkan (Snyder *et al.*, 2011).

3. Kran Cuplikan (*Loop Injector*)

Kran cuplikan atau *sample loop injector* merupakan sistem injeksi yang paling banyak digunakan dalam KCKT modern. Sistem ini bekerja dengan cara mengisi volume loop tertentu (misalnya 20 μL) dengan cuplikan melalui posisi “load”, kemudian dengan memutar kran ke posisi “inject”, fase gerak akan mengalirkan sampel dari loop menuju kolom (Harris, 2015). Keunggulan sistem ini adalah tingkat reproduibilitas dan presisi yang tinggi, karena volume

cuplikan yang dimasukkan selalu konstan. Selain itu, sistem loop injector dapat dioperasikan secara manual maupun otomatis dengan bantuan autosampler, yang meningkatkan efisiensi analisis.

2.7.6 Kolom

Kolom merupakan komponen inti dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), karena di dalam kolomlah proses pemisahan komponen-komponen campuran berlangsung. Efektivitas suatu pemisahan sangat bergantung pada karakteristik kolom yang digunakan, termasuk jenis fase diam, ukuran partikel, panjang kolom, dan kondisi operasional (Snyder *et al.*, 2011). Kolom berfungsi sebagai tempat terjadinya interaksi antara analit dengan fase diam, sementara fase gerak berperan membawa analit melalui kolom dengan kecepatan yang berbeda-beda bergantung pada tingkat afinitas masing-masing komponen terhadap fase diam (Dong, 2013).

Secara umum, kolom dalam KCKT terdiri atas dua jenis utama, yaitu kolom utama (*analytical column*) dan kolom pengaman (*guard column*), serta bagian penting di dalamnya berupa fase diam (*stationary phase*).

1. Kolom Utama (*Analytical Column*)

Kolom utama merupakan bagian sentral tempat terjadinya pemisahan komponen cuplikan. Kolom ini biasanya berupa tabung logam tahan tekanan tinggi (biasanya dari stainless steel) dengan panjang 5-30 cm dan diameter dalam 2-5 mm, berisi partikel fase diam berukuran sangat kecil (3-10 μm) (Harris, 2015).

Pemilihan kolom tergantung pada jenis analisis (*normal phase*, *reversed phase*, *ion-exchange*, atau *size-exclusion*). Pada sistem *reversed phase* . fase diam bersifat nonpolar (seperti C_{18} atau C_8),

sedangkan fase gerak bersifat polar (misalnya campuran air dan metanol atau asetonitril) (Dong, 2013).

2. Fase Diam (*Stationary Phase*)

Fase diam adalah bahan padat atau cair yang terikat pada permukaan padatan inert di dalam kolom, berfungsi untuk menahan sementara analit berdasarkan perbedaan polaritas atau interaksi spesifik lainnya. Jenis fase diam yang digunakan menentukan mekanisme pemisahan yang terjadi. Pada kromatografi fase normal, fase diam bersifat polar (misalnya silika gel atau alumina), dan fase gerak bersifat nonpolar. Sebaliknya, pada kromatografi fase terbalik (*reversed phase*), fase diam bersifat nonpolar (misalnya oktadesilsilika atau C₁₈), sedangkan fase gerak bersifat polar. Selain itu, terdapat pula fase diam khusus untuk kromatografi penukar ion dan kromatografi eksklusi ukuran, yang masing-masing memisahkan senyawa berdasarkan muatan listrik atau ukuran molekul (Snyder *et al.*, 2011).

3. Kolom Pengaman (*Guard Column*)

Kolom pengaman merupakan kolom kecil yang ditempatkan sebelum kolom utama dan berfungsi melindungi kolom utama dari kontaminasi oleh partikel, kotoran, atau senyawa yang dapat mengendap dan merusak fase diam (Dong, 2013). Kolom pengaman umumnya diisi dengan fase diam yang sama seperti pada kolom utama, namun memiliki panjang lebih pendek, sekitar 1-2 cm.

Meskipun ukurannya kecil, kolom pengaman berperan penting dalam memperpanjang umur kolom utama serta menjaga reproduktibilitas hasil analisis. Penggunaan kolom pengaman sangat direkomendasikan terutama pada analisis sampel kompleks atau

yang mengandung matriks nonlarut yang dapat menyebabkan fouling (Snyder *et al.*, 2011).

2.7.7 Detektor

Detektor merupakan komponen penting dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang berfungsi untuk mengidentifikasi dan mengukur jumlah komponen yang keluar dari kolom. Sinyal yang dihasilkan detektor berbanding lurus dengan konsentrasi analit dalam fase gerak, dan selanjutnya diubah menjadi data kromatogram melalui sistem perekam (Dong, 2013).

Sebuah detektor yang baik harus memenuhi beberapa persyaratan utama, yaitu memiliki sensitivitas tinggi, stabilitas sinyal yang baik, waktu respon cepat, volume sel kecil, serta kompatibel dengan fase gerak dan rentang aliran yang digunakan dalam sistem KCKT (Harris, 2015).

1. Detektor *Ultraviolet-Visible (UV-Vis Detector)*

Detektor UV-Vis merupakan jenis detektor yang paling umum digunakan dalam KCKT karena banyak senyawa organik yang dapat menyerap radiasi ultraviolet atau tampak. Prinsip kerja detektor ini berdasarkan pada pengukuran penyerapan cahaya oleh molekul pada panjang gelombang tertentu, biasanya antara 190-400 nm untuk UV dan 400-800 nm untuk *visible* (Dong, 2013).

Jenis utama dari detektor UV-Vis meliputi:

- A. Detektor *Single Wavelength (Fixed Wavelength Detector)*, yang hanya bekerja pada satu panjang gelombang tertentu, seperti 254 nm untuk senyawa aromatik.
- B. Detektor *Variable Wavelength*, yang memungkinkan pemilihan panjang gelombang sesuai kebutuhan analit.

C. Detektor *Diode Array Detector* (DAD), yang mampu mendeteksi pada berbagai panjang gelombang secara simultan sehingga memungkinkan karakterisasi spektrum absorbansi tiap puncak kromatogram (Snyder *et al.*, 2011).

Kelebihan detektor UV-Vis adalah sensitivitas yang tinggi dan stabilitas sinyal yang baik, namun hanya dapat digunakan untuk senyawa yang memiliki gugus kromofor (penyerap cahaya).

2. Detektor Fluoresensi (*Fluorescence Detector*)

Detektor fluoresensi memiliki sensitivitas lebih tinggi dibandingkan detektor UV-Vis karena mampu mendeteksi emisi cahaya dari molekul yang tereksitasi oleh sinar UV. Prinsipnya, molekul yang menyerap energi pada panjang gelombang tertentu akan memancarkan cahaya pada panjang gelombang yang lebih panjang. Detektor ini sangat selektif dan cocok untuk analisis senyawa yang bersifat fluoresen, seperti vitamin, obat, dan senyawa aromatik (Harris, 2015). Kelemahannya adalah tidak semua senyawa bersifat fluoresen, sehingga sering kali diperlukan derivatisasi kimia untuk menghasilkan sifat fluoresensi.

3. Detektor *Refractive Index* (*RI Detector*)

Detektor *Refractive Index* bekerja berdasarkan perbedaan indeks bias antara fase gerak murni dengan fase gerak yang mengandung analit. Detektor ini bersifat universal karena hampir semua senyawa memberikan respon, tetapi memiliki sensitivitas rendah dan tidak dapat digunakan untuk sistem gradien karena perubahan komposisi pelarut akan mengubah indeks bias (Dong, 2013).

4. Detektor Konduktivitas dan Elektrokimia

Detektor konduktivitas digunakan terutama dalam kromatografi penukar ion, di mana sinyal dihasilkan dari perubahan daya hantar listrik larutan akibat adanya ion yang keluar dari kolom. Detektor elektrokimia menawarkan sensitivitas yang sangat tinggi untuk senyawa redoks aktif, seperti katekolamin, asam askorbat, dan beberapa obat (Snyder *et al.*, 2011).

5. Detektor Massa (*Mass Spectrometry*, MS)

Detektor massa merupakan salah satu perkembangan terbaru dalam sistem KCKT, menghasilkan kombinasi yang dikenal sebagai KCKT-MS. Prinsip kerja detektor ini adalah mendeteksi ion-ion analit berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z). Selain memberikan sensitivitas yang sangat tinggi, KCKT-MS juga mampu memberikan informasi struktur molekul, sehingga sangat berguna dalam identifikasi senyawa kompleks atau metabolit dalam bidang farmasi dan bioteknologi (Dong, 2013).

2.8 Validasi Metode

Validasi metode analisis adalah proses sistematis yang dilakukan untuk memastikan bahwa suatu prosedur analitik sesuai dengan tujuan penggunaannya. Validasi bertujuan menjamin bahwa metode tersebut mampu menghasilkan data yang akurat, presisi, konsisten, dan dapat direproduksi. Proses ini dilakukan berdasarkan pendekatan ilmiah yang terdokumentasi dengan baik, sehingga hasil pengujian dapat diandalkan baik dalam konteks penelitian maupun aplikasi rutin di laboratorium (Susanto, Mulyani & Nugraha, 2021).

Menurut ICH 2023, metode analisis diklasifikasikan dalam 4 kategori, yaitu:

- a. Kategori I Metode analisis yang digunakan untuk penetapan kadar komponen utama dalam bahan baku obat dan sediaan obat jadi atau bahan aktif lainnya seperti pengawet.

- b. Kategori II Metode analisis yang digunakan untuk penetapan cemaran dalam bahan baku obat atau hasil degradasinya dalam sediaan obat jadi.
- c. Kategori III Metode analisis yang digunakan untuk penetapan kinerja dan kualitas sediaan obat jadi, seperti uji disolusi dan uji pelepasan obat.
- d. Kategori IV Uji identifikasi

Tabel 2. 4 Karakteristik Analisis dan Kategori dalam Validasi Metode

Karakteristik Analisis	Kategori I	Kategori II (Kuantitatif)	Kategori II (Limit tes)	Kategori III	Kategori IV
Akurasi	Ya	Ya	*	*	Tidak
Presisi	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Spesifitas	Ya	Ya	Ya	*	Ya
LOD	Tidak	Tidak	Ya	*	Tidak
LOQ	Tidak	Ya	Tidak	*	Tidak
Linieritas	Ya	Ya	Tidak	*	Tidak
Range	Ya	Ya	*	*	Tidak

Keterangan:

Ya = Parameter validasi wajib dilakukan dan harus memenuhi kriteria

Tidak = Parameter validasi tidak dipersyaratkan

* = Parameter validasi tidak diwajibkan atau tidak relevan untuk kategori metode analisis tersebut

Menurut standar internasional, setiap laboratorium wajib melakukan validasi dan verifikasi terhadap metode analisis, terutama untuk metode non-standar, metode yang dimodifikasi, maupun metode yang dirancang atau dikembangkan sendiri (ICH, 2023). Hal ini penting untuk memastikan bahwa prosedur tersebut layak digunakan sesuai dengan lingkup aplikasinya. Parameter yang biasanya dievaluasi dalam proses validasi meliputi akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi (*Limit of Detection/LOD*), batas kuantifikasi (*Limit of Quantification/LOQ*), sensitivitas, spesifisitas, serta ketangguhan metode (ICH, 2023). Dari parameter-parameter tersebut, presisi dan akurasi dianggap sebagai persyaratan minimum yang harus dipenuhi agar suatu metode dapat diakui valid (Sa'adah & Ari, 2010).

2.8.1 Spesifisitas (*Specificity*)

Spesifisitas adalah kemampuan suatu metode analisis untuk secara selektif mengukur analit target tanpa adanya gangguan dari komponen lain yang terdapat dalam matriks sampel, termasuk pengotor, eksipien, atau produk degradasi. Dalam metode berbasis pemisahan, seperti kromatografi, spesifisitas dibuktikan melalui pemisahan puncak yang memadai antar senyawa. Pada metode non-pemisahan, spesifisitas dapat ditunjukkan dengan pembandingan ortogonal atau uji ketidakberadaan interferensi (ICH, 2023).

2.8.2 Linearitas (*Linearity*)

Linearitas adalah kemampuan metode analisis untuk memberikan respon instrumen yang sebanding dengan konsentrasi analit dalam rentang tertentu. Penilaian linearitas dilakukan dengan menyusun kurva kalibrasi pada beberapa konsentrasi, kemudian mengevaluasi koefisien korelasi dan kesesuaian model matematis. Linearitas yang baik ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi yang mendekati satu, menandakan adanya hubungan proporsional antara konsentrasi dan respon instrument (ICH, 2023).

2.8.3 Akurasi (*Accuracy*)

Akurasi adalah derajat kedekatan antara hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya atau nilai rujukan yang diterima secara resmi. Menurut International Council for Harmonisation (ICH), akurasi menggambarkan seberapa dekat nilai hasil analisis dengan nilai benar (*true value*) dari analit yang diukur (ICH, 2023). Suatu metode analisis dikatakan memiliki akurasi yang baik apabila hasil pengukurannya mendekati atau identik dengan nilai sebenarnya.

Pengujian akurasi umumnya dilakukan melalui studi perolehan kembali (recovery study), yaitu dengan menambahkan sejumlah analit baku ke dalam sampel atau matriks tertentu, kemudian menghitung persentase analit yang berhasil terdeteksi kembali oleh metode analisis tersebut. Nilai perolehan kembali yang memenuhi kriteria menunjukkan bahwa metode analisis tersebut bebas dari kesalahan sistematis yang signifikan dan layak digunakan untuk penetapan kadar (ICH, 2023).

Menurut ICH dan beberapa literatur analitik, terdapat tiga pendekatan utama dalam penentuan akurasi, yaitu perbandingan dengan standar referensi, recovery analit pada matriks kosong, dan metode penambahan baku (*standard addition method*).

1. Metode Perbandingan (*Comparative Method*)

Metode perbandingan dilakukan dengan cara mengukur kadar analit dalam sampel, kemudian membandingkan hasil yang diperoleh dengan nilai yang ditetapkan menggunakan standar pembanding atau metode analisis lain yang telah tervalidasi. Standar pembanding yang digunakan harus memiliki karakteristik yang setara dengan sampel, baik dari segi komposisi maupun sifat fisikokimia (Ramadhan, 2021).

Dalam analisis farmasi, apabila tersedia beberapa metode analisis yang berbeda secara prinsip, seperti metode gravimetri, titrimetri, spektrofotometri, atau kromatografi, maka kesesuaian hasil antara dua metode atau lebih yang berbeda dapat diterima sebagai indikasi tidak adanya kesalahan sistematis yang bermakna (Ravisankar et al., 2015).

2. Metode Simulasi atau *Spiked Placebo Recovery*

Metode simulasi dilakukan dengan menambahkan analit baku pada matriks kosong atau placebo, kemudian dianalisis menggunakan metode yang dikembangkan. Konsentrasi hasil analisis selanjutnya dibandingkan dengan konsentrasi analit yang sebenarnya ditambahkan. Metode ini

sangat berguna untuk mengevaluasi pengaruh matriks terhadap akurasi metode analisis, terutama pada sediaan farmasi dengan komposisi kompleks (Ramadhan, 2021).

3. Metode Penambahan Baku (*Standard Addition Method*)

Metode penambahan baku dilakukan dengan menambahkan sejumlah analit baku ke dalam sampel yang mengandung analit, kemudian selisih konsentrasi sebelum dan sesudah penambahan baku dihitung sebagai nilai perolehan kembali. Metode ini banyak digunakan apabila komposisi matriks atau placebo sampel tidak diketahui secara pasti, karena mampu meminimalkan pengaruh matriks terhadap hasil analisis (Ramadhan, 2021).

Dalam penentuan akurasi metode analisis, pengujian dilakukan pada minimal tiga tingkat konsentrasi yang berbeda, yaitu konsentrasi rendah, sedang, dan tinggi. Pada masing-masing tingkat konsentrasi, pengukuran dilakukan sekurang-kurangnya tiga kali replikasi untuk memperoleh hasil yang representatif. Berdasarkan pedoman ICH dan berbagai literatur, kriteria penerimaan akurasi umumnya ditetapkan apabila nilai perolehan kembali (*recovery*) berada dalam rentang 98-102% untuk analit utama dalam sediaan farmasi (Ravisankar et al., 2015; ICH, 2005).

2.8.4 Presisi (*Precision*)

Presisi adalah ukuran keterulangan hasil analisis ketika prosedur dilakukan berulang kali pada kondisi yang sama. Presisi mencerminkan konsistensi metode dan biasanya dinyatakan dalam bentuk simpangan baku relatif (RSD). Evaluasi presisi dapat dilakukan pada tingkat keterulangan (*repeatability*), presisi antar-hari (*intermediate precision*), maupun reproduksibilitas antar-laboratorium (*reproducibility*) (ICH, 2023).

2.8.5 Rentang (*Range*)

Rentang adalah interval antara konsentrasi terendah hingga tertinggi dari analit yang dapat ditentukan dengan akurasi, presisi, dan linearitas yang dapat diterima. Rentang ditetapkan berdasarkan hasil pengujian linearitas, akurasi, dan presisi untuk memastikan metode tetap valid pada kadar analit yang bervariasi, baik pada konsentrasi rendah maupun tinggi (ICH, 2023).

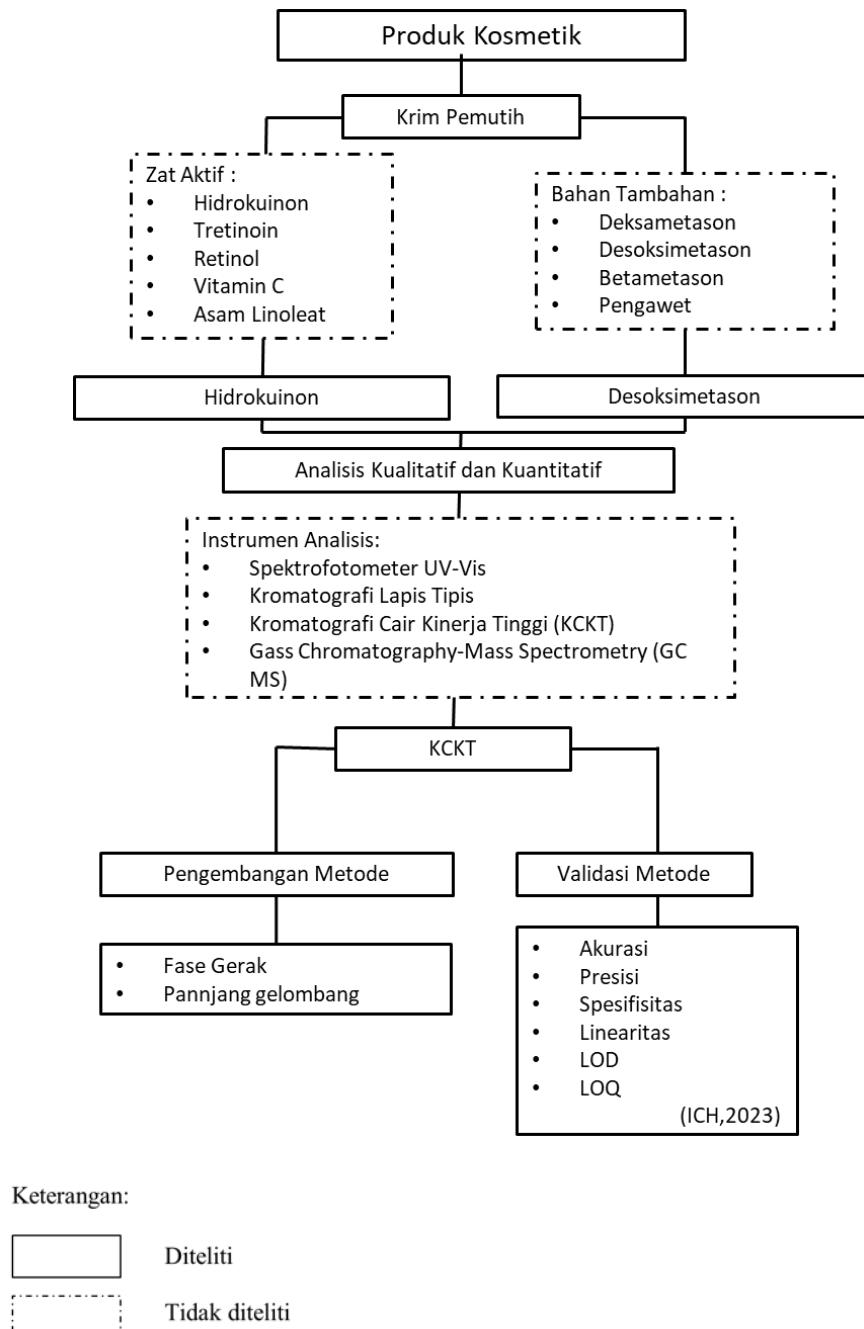
2.8.6 Batas Deteksi (*Limit of Detection* / LOD)

Batas deteksi adalah konsentrasi analit terendah yang masih dapat dideteksi oleh instrumen, meskipun belum dapat diukur secara kuantitatif dengan presisi. Penentuan LOD biasanya dilakukan secara statistik menggunakan standar deviasi blanko dan kemiringan kurva kalibrasi (ICH, 2023).

2.8.7 Batas Kuantifikasi (*Limit of Quantification* / LOQ)

Batas kuantifikasi adalah konsentrasi analit terendah yang masih dapat ditentukan secara kuantitatif dengan tingkat akurasi dan presisi yang dapat diterima. Perhitungan LOQ umumnya dilakukan dengan metode statistik yang sama dengan LOD, tetapi dengan ambang yang lebih ketat sehingga hasil kuantifikasi tetap valid dan reliabel (ICH, 2023).

2.9 Kerangka Teori



Gambar 2. 5 Kerangka Teori

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bertujuan untuk memvalidasi metode analisis penetapan kadar hidrokuinon dan Desoksimeson dalam sediaan krim pemutih menggunakan instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Fokus penelitian adalah menguji kombinasi fase gerak alternatif yang lebih ekonomis sekaligus melakukan optimasi terhadap kombinasi fase gerak tersebut. Tahapan penelitian meliputi optimasi kondisi KCKT, pembuatan larutan standar, pembuatan larutan sampel, analisis kualitatif dan kuantitatif, validasi metode berdasarkan parameter yang telah ditetapkan, serta mengukur kadar hidrokuinon pada masing-masing sampel.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Analisis, Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Seluruh tahap, mulai dari preparasi sampel, pembuatan larutan standar, analisis menggunakan KCKT, hingga validasi metode, dilakukan di laboratorium tersebut.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November- Desember 2025.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah sediaan kosmetik berupa jenis krim pemutih pagi dan malam, dengan maupun tanpa nomor registrasi dengan merk berbeda yang di dapatkan di e-commerce.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel merupakan representasi Sebagian anggota yang diambil. Sampel penelitian ini yaitu 3 merek krim pemutih diberi kode K1, K2, dan K3. Kriteria inklusi sampel merupakan sediaan berbentuk krim baik yang memiliki atau tanpa izin edar; digunakan pagi atau malam hari; merk lokal maupun impor; memiliki klaim atau indikasi untuk memutihkan kulit; memiliki harga < Rp50.000,00; dapat ditemukan di salah satu *e-commerce* yang paling sering digunakan di Indonesia dan kriteria eksklusi sampel berupa sediaan yang *expired* dan sediaan krim yang diperoleh selain dari *e-commerce*.

3.4 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel terikat				
Kandungan hidrokuinon dan Desoksimetason	hidrokuinon dan Desoksimetason yang akan diidentifikasi dan ditetapkan kadarnya.	KCKT	kandungan senyawa hidrokuinon dan Desoksimetason dapat dilihat dari retensi waktu terbentuknya peak. Kurva baku seri konsentrasi menghasilkan persamaan regresi linier $y=bx+a$	Rasio
Variabel bebas				
Sampel Krim Kosmetik	Sediaan krim yang diperoleh dari pasar, dengan kriteria sampel mengandung label pencerah/pemutih	KCKT	kandungan senyawa hidrokuinon dan desoksimetason pada sampel kosmetik dapat dilihat dari retensi waktu terbentuknya peak. Kurva baku seri konsentrasi menghasilkan persamaan regresi linier $y=bx+a$	Rasio

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1900i®), seperangkat instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) *Reversed Phase* (Rittun L-3000®) dengan detektor UV-Vis, timbangan analitik, beaker glass (Iwaki®), gelas ukur (Iwaki®), labu ukur (Pyrex®), pipet volume, pipet tetes, mikropipet, spatula, corong, kaca arloji, oven, *waterbath*, *vortex mixer*, kertas saring, serta membran milipore berpori 0,45 µm.

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian terdiri dari sampel krim pemutih, standar Hidrokuinon (HIMEDIA), Desiksimetason Baku Pembanding Farmakope Indonesia (BPFI), *Acetonitril for HPLC*, *Aqua for HPLC*.

3.6 Prosedur

3.6.1 Optimalisasi Instrumen

Tabel 3. 2 Pengkondisian KCKT Secara Teoritis

Parameter	Kualifikasi		
Kolom (Rahmayuni, Harmita & Suryadi, 2018)	C ₁₈		
Panjang gelombang (Rahmayuni, Harmita & Suryadi, 2018)	Zat aktif	Panjang Gelombang	
	Hidrokuinon	294 nm	
	Deksametason	241 nm	
Fase Gerak (Maggadani <i>et al.</i> , 2019; Mohammad Ibnu Fajri, 2020)	Optimasi fase gerak	Asetonitril	Aqua
		0	100
		25	70
		50	50
		75	25
		100	0
Flow rate (Maggadani <i>et al.</i> , 2019)	1 ml/min		
Tipe Elusi (Rahmayuni, Harmita & Suryadi, 2018)	Isokratik		
Volume Injeksi (Rahmayuni, Harmita & Suryadi, 2018)	20 µL		

3.6.2 Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini berupa campuran asetonitril dan aqua for HPLC dengan variasi perbandingan konsentrasi. Variasi komposisi dan waktu akan diatur pada alat KCKT. Instrumen

KCKT akan secara otomatis mengatur pelarut yang diletakkan dalam wadah fase Gerak pada system KCKT dengan perbandingan yang telah diatur dengan tipe elusi isokratik (Lestari & Prasasti, 2018).

Fase gerak yang digunakan yaitu Air HPLC grade, dan Asetonitril HPLC grade. Sebanyak masing-masing 1 liter fase Gerak di ukur dan dimasukkan ke dalam beaker glass 1 liter, kemudian tutup menggunakan plastic wrap, dan lakukan degassing dengan sonikator selama 15 menit, dengan suhu ruangan 25 C. Setelah selesai fase gerak air dimasukkan dalam wadah penampung fase gerak bertanda A, dan asetonitril pada wadah bertanda B

3.6.3 Pembuatan Larutan Stok Standar

1. Pembuatan Larutan Baku Hidrokuinon

Buat larutan baku induk Hidrokuinon 100 $\mu\text{g/mL}$ (setara dengan 100 ppm) dengan menimbang 10 mg Hidrokuinon menggunakan neraca analitik, kemudian masukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Tambahkan campuran pelarut asetonitril dan air (50:50, v/v) hingga tanda batas dan homogenkan hingga larut sempurna dari larutan baku induk ini, dibuat larutan baku seri dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 $\mu\text{g/mL}$ dengan memipet berturut-turut 0,2 mL; 0,4mL; 0,6 mL; 0,8 mL; dan 1 mL larutan induk 100 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam masing-masing labu ukur 10 mL (Rejeki & Pramiastuti, 2022). Kemudian tambahkan pelarut campuran asetonitril:air (50:50, v/v) hingga tanda batas. Larutan disaring menggunakan membran filter 0,45 μm untuk menghilangkan partikel yang tidak larut, lalu disonikasi selama 5 menit untuk menjamin homogenitas dan kestabilan sebelum dilakukan analisis spektrofotometri. (Farmakope Indonesia VI, 2020; Setyaningrum *et al.*, 2022).

2. Pembuatan Larutan Baku Desoksimetason

Buat larutan baku induk Desoksimetason BPFI 100 $\mu\text{g/mL}$ dengan menimbang 10 mg Desoksimetason, kemudian masukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Tambahkan campuran pelarut asetonitril dan air (50:50, v/v) hingga tanda batas dan homogenkan. Dari larutan induk 100 $\mu\text{g/mL}$, dibuat larutan baku seri dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 $\mu\text{g/mL}$ dengan memipet masing-masing 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; dan 1 mL larutan induk ke dalam labu ukur 10 mL (Budiarti, 2015). Setiap labu kemudian ditambahkan pelarut campuran asetonitril:air (50:50, v/v) hingga tanda batas dan dihomogenkan. Lakukan penyaringan menggunakan membran filter 0,45 μm pada saat pemindahan larutan induk ke labu ukur seri untuk memastikan kejernihan dan kestabilan larutan. (Sheliya *et al.*, 2014).

3.6.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

1. Penentuan Panjang gelombang hidrokuinon

Larutan baku Hidrokuinon konsentrasi 100 ppm diambil sebanyak 1,5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambah dengan pelarut campuran asetonitril dan air hingga tanda batas dan dikocok hingga tercampur sempurna. Sebelum pembacaan, larutan disaring menggunakan membran filter 0,45 μm untuk menghilangkan partikel dan bila diperlukan disonikasi singkat untuk memastikan kejernihan. Selanjutnya spektrum absorbansi larutan dibaca pada rentang panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}); gunakan pelarut campuran asetonitril dan air sebagai blanko.

2. Penentuan Panjang gelombang Desoksimetason

Larutan Desoksimeson 10 ppm dimasukkan ke dalam kuvet lalu dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm untuk memperoleh λ maks Desoksimeson. Sebelum pengukuran, pastikan larutan telah disaring melalui membran 0,45 μ m dan homogen, gunakan asetonitril dan air sebagai blanko pada pengukuran.

3.6.5 Optimasi Fase Gerak KCKT

Larutan standar 100 ppm diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan variasi panjang gelombang yang telah diukur sebelumnya nm, laju alir 1 mL/menit, dan volume injeksi 20 μ L. Fase Gerak kombinasi asetonitril dengan air digunakan satu per satu, dan dipilih kombinasi fase Gerak dengan waktu retensi dan peak terbaik (Lestari & Prasasti, 2018)

3.5.6 Uji Kesesuaian Sistem

Uji Kesesuaian sistem dilakukan dengan menginjeksikan baku hidrokuinon dan Desoksimeson 100 ppm sebanyak 6 kali

3.6.7 Preparasi Sampel

Sebanyak 2,5 g sampel krim pemutih dari masing-masing merek (A, B, C) ditimbang, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit fase gerak asetonitril:air (50:50, v/v) sebanyak 15 mL. Larutan dihomogenkan menggunakan vortex selama 1 menit, kemudian dipanaskan pada *waterbath* bersuhu 60 °C selama 15 menit, masukkan dalam labu 100 ml dan dinginkan. Setelah didinginkan, volume dicukupkan hingga tanda batas 100 ml dengan fase gerak. Larutan disaring menggunakan membran *milipore* berukuran 0,45 μ m sebelum diinjeksikan ke dalam sistem KCKT. di lakukan 3 kali replikasi untuk setiap sampel (BPOM, 2011)

3.6.8 Pengujian Kadar Hidrokuinon dan Desoksimetason pada Sampel

Setelah dilakukan pembuatan larutan baku hidrokuinon dan larutan sampel dari sediaan krim maupun lotion pemutih, pengujian dilanjutkan menggunakan sistem kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Instrumen KCKT yang digunakan dilengkapi dengan detektor pada panjang gelombang sesuai dengan zat yang akan diuji. KCKT menggunakan kolom C₁₈. Fase gerak berupa campuran asetonitril dan air dengan komposisi terbaik hasil optimasi, dialirkan dengan laju 1 mL/menit menggunakan sistem elusi isokratik. Suhu kolom dipertahankan pada 40 °C untuk menjaga kestabilan pemisahan. Injeksi dilakukan dengan volume $\pm 20 \mu\text{L}$, baik untuk larutan baku maupun larutan sampel, yang dimasukkan secara terpisah ke dalam sistem kromatografi sehingga fase gerak membawa komponen analit menuju kolom untuk dipisahkan dan dideteksi.

3.6.8 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis dilakukan untuk memastikan bahwa prosedur yang digunakan dapat menghasilkan data yang akurat, presisi, serta dapat direproduksi sesuai dengan tujuan penggunaannya. Proses validasi mengacu pada pedoman internasional (ICH, 2023)

1. Spesifisitas

Spesifisitas adalah kemampuan metode untuk mengukur analit target secara tepat tanpa dipengaruhi oleh keberadaan komponen lain, seperti pengotor, eksipien, maupun produk degradasi. Penentuan spesifisitas metode dilakukan dengan membandingkan kromatogram baku, sampel, dan blanko (Handayani et al., 2015).

Evaluasi spesifisitas dilakukan dengan cara membandingkan kromatogram larutan standar dan sampel uji. Puncak kromatogram harus terpisah dengan resolusi yang memadai dan tidak menunjukkan

adanya tumpang tindih. Metode dinyatakan spesifik apabila puncak analit dapat diidentifikasi dengan jelas dan tidak ada interferensi dari komponen lain (Patel *et al.*, 2022). Spesifitas yang baik juga dapat ditunjukkan dari nilai resolusi analit dari komponen lain lebih besar dari 1,5 - 2,0 (ICH, 2023).

2. Linearitas

Linearitas menunjukkan kemampuan metode menghasilkan respon instrumen yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam rentang tertentu. Uji linearitas dilakukan dengan menyiapkan larutan standar pada beberapa konsentrasi, kemudian dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi dengan respon instrumen. Linearitas dianggap baik apabila koefisien korelasi ($r \geq 0,999$) atau koefisien determinasi (r^2) mendekati 1, sesuai standar analisis kuantitatif (ICH, 2023).

3. Akurasi

Akurasi adalah ukuran kedekatan hasil analisis dengan nilai sebenarnya. Uji Akurasi dilakukan dengan 3 konsentrasi sampel yaitu pada 60 µg/L,; 80 µg/L dan 100 µg/L dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing konsentrasi. Akurasi dinyatakan baik apabila persentase perolehan kembali berada dalam rentang 98-102% untuk analisis kuantitatif, sesuai standar validasi metode (Astuti *et al.*, 2016; ICH, 2023).

4. Presisi

Presisi menggambarkan kedekatan hasil analisis berulang terhadap sampel homogen pada kondisi yang sama. Uji dilakukan dengan menggunakan 5 konsentrasi yaitu pada 20 µg/L; 40 µg/L ;60 µg/L; 80 µg/L ,dan 100 µg/L. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing konsentrasi, dilakukan pada pengujian intrahari (dalam 1 hari).Presisi yang baik ditunjukkan oleh nilai simpangan baku relatif (*Relative Standard Deviation/RSD*) $\leq 2\%$ untuk metode

kuantitatif (ICH, 2023) atau 8% untuk larutan dengan konsentrasi 100 µg/L (BPOM, 2025) .

5. Rentang

Rentang merupakan interval konsentrasi terendah hingga tertinggi dari analit yang dapat dianalisis secara akurat, presisi, dan linear. Penentuan rentang dilakukan berdasarkan data hasil uji linearitas, akurasi, dan presisi. Rentang metode ditetapkan apabila seluruh parameter dalam interval tersebut memenuhi kriteria penerimaan (ICH, 2023).

6. Batas Deteksi (LOD)

LOD adalah konsentrasi terendah dari analit yang masih dapat terdeteksi oleh instrumen, tetapi belum dapat diukur secara kuantitatif dengan tepat. Nilai LOD biasanya dihitung berdasarkan persamaan:

$$\text{Limit of Detection} = \frac{3.3\sigma}{S}$$

Dimana:

σ = Simpangan baku

S = Slope kurva baku

Metode dinyatakan memiliki sensitivitas baik apabila nilai LOD cukup rendah sehingga memungkinkan deteksi analit dalam konsentrasi kecil yang relevan secara analitis maupun regulatori (ICH, 2023).

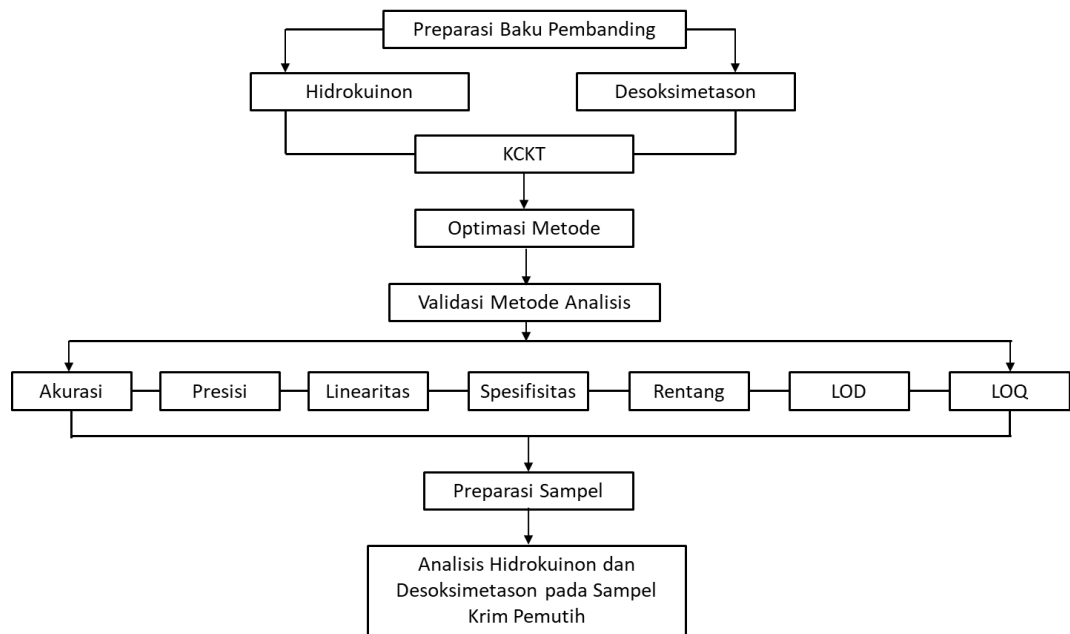
7. Batas Kuantifikasi (LOQ)

LOQ adalah konsentrasi terendah analit yang masih dapat ditentukan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi memadai. Nilai LOQ dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Limit of Quantification} = \frac{10\sigma}{S}$$

LOQ yang diperoleh harus lebih rendah dari batas regulatori yang ditetapkan untuk memastikan metode mampu melaporkan kadar analit secara akurat pada konsentrasi yang relevan (ICH, 2023).

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Alur Penelitian

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Optimasi fase gerak KCKT menunjukkan bahwa komposisi air : asetronitril (v/v 50:50) merupakan kondisi optimum untuk pemisahan hidrokuinon dan desoksimeson menggunakan kolom C₁₈ dengan sistem elusi isokratik dan laju alir 1,0 mL/menit.
2. Hasil validasi metode KCKT menunjukkan bahwa metode yang dikembangkan memenuhi seluruh parameter validasi analisis. Uji spesifisitas menunjukkan tidak adanya interferensi matriks pada kromatogram blanko, dengan nilai kemurnian puncak hidrokuinon sebesar 99,702-99,784% dan desoksimeson sebesar 96,398-97,711%. Uji linearitas pada rentang konsentrasi 20-100 ppm menghasilkan koefisien korelasi (r) sebesar 0,999 untuk hidrokuinon dengan persamaan regresi $y = 28,978x + 49,205$ dan 0,9992 untuk desoksimeson dengan persamaan regresi $y = 4,353x + 153,14$. Uji akurasi menghasilkan persen perolehan kembali hidrokuinon sebesar 100,301-103,194% dan desoksimeson sebesar 98,538-102,639%, yang berada dalam rentang keberterimaan. Uji presisi menunjukkan nilai %RSD hidrokuinon sebesar 0,714-2,904% dan desoksimeson sebesar 0,172-2,098%, yang menandakan keseksamaan metode yang baik. Sensitivitas metode ditunjukkan oleh nilai LOD

hidrokuinon 0,972 ppm dan LOQ 2,946 ppm, serta LOD desoksimesason 0,772 ppm dan LOQ 2,338 ppm, sehingga metode mampu mendeteksi dan mengkuantifikasi kedua senyawa pada konsentrasi rendah.

3. Aplikasi metode pada sampel krim pemutih menunjukkan bahwa hidrokuinon terdeteksi pada seluruh sampel uji, dengan kadar rata-rata masing-masing sebesar 0,121 mg/g (K1), 0,329 mg/g (K2), dan 0,076 mg/g (K3). Desoksimesason terdeteksi secara kuantitatif pada sampel K1 dengan kadar rata-rata 0,327 mg/g, sedangkan pada sampel K2 berada di bawah batas kuantifikasi, dan pada sampel K3 tidak terdeteksi desoksimesason.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka disarankan:

1. Menggunakan rentang konsentrasi baku desoksimesason yang lebih luas, sehingga diharapkan dapat memperkecil batas kuantifikasi
2. Melakukan analisis simultan hidrokuinon dan desoksimesason dalam satu sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan optimasi metode lebih lanjut, sehingga metode yang dikembangkan dapat digunakan secara lebih efisien dan aplikatif untuk pengujian rutin produk kosmetik.
3. Penelitian selanjutnya disarankan mencakup jumlah dan variasi sampel yang lebih luas, sehingga dapat memberikan gambaran yang lebih representatif mengenai peredaran krim pemutih ilegal di pasaran, dapat juga menganalisis desoksimesason atau steroid lain dalam salep gatal atau salep eksim yang dijual bebas.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhisa, S., and Megasari, D. S. (2020). Kajian Penerapan Model Pembelajaran Kooperatif Tipe True or False Pada Kompetensi Dasar Kelainan Dan Penyakit Kulit. *E-Jurnal*, 09(3), 82-90.
- Agrahari, V., Bajpai, M., and Nanda, S. (2013). Essential concepts of mobile phase selection for Reversed phase HPLC. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 6(5), 459-464.
- Altraide, D., Aladeh, A., Otike-Odibi, B., and Mohideen, A. K. S. (2021). Article no.AJRDES.64662 Review Article Altraide *et al.* *Asian Journal of Research in Dermatological Science*, 4(1), 34-42.
- Anggraini, Y., Anwar, K., and Budiarti, A. (2023). Analisis Kadar Hidrokuinon dan Asam Kojic Dalam Tiga Merek Dagang Body Lotion Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Analysis of Hydroquinone and Kojic Acid Content in Three Brand Body Lotions Using High Performance Liquid Chromatography. *Jurnal Ilmiah Sains*, 23(1), 20-30.
- AOAC. (2016). *Association of Official Agricultural Chemists Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements*.
- Aziz, Z., Nurhidayati, L., Abdillah, S., Yuliana, N. D., and Simanjuntak, P. (2020). Optimasi dan Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi untuk Menetapkan Kadar Asam Klorogenat dalam Ekstrak Etanol Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp. and Endl.) H. Robinson). *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 16(1), 67.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Peraturan Kepala BPOM

RI Nomor HK.03.1.23.07.11.6662 Tentang Persyaratan Cemaran Mikroba dan Logam Berat dalam Kosmetika. Jakarta. BPOM; 2011.

Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2011). Peraturan Kepala BPOM RI No. HK.03.1.23.08.11.07331 Tentang Metode Analisa Kosmetika. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia*, 92.

BPOM. (2019). Cemaran dalam Kosmetika. *Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan*, 12, 1-9.

BPOM. (2019). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 23 Tahun 2019 Tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia*, 2010, 1-258.

Budiarti, A. (2015). *Analisis Bahan Kimia Obat Deksametason Dalam Jamu Pegal Linu Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Aqnes*. 18, 1-6

Charismawati, N. A. (2021). Analisis Kadar Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Yang Beredar Online Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Dan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Kartika Kimia*, 4(2), 58-65.

Chauhan, L., and Gupta, S. (2020). Creams: A Review on Classification, Preparation Methods, Evaluation and its Applications. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(5-s), 281-289.

Couteau, C., and Coiffard, L. (2016). Overview of skin whitening agents: Drugs and cosmetic products. *Cosmetics*, 3(3).

Depkes RI (2018) 'Badan pengawas obat dan makanan republik indonesia', *Bpom Ri*, 11, pp. 1-16.

Eichner, A., Hänsel, M., Domino, K. B., and Hübler, M. (2014). Case 24: Tibia fracture. *Complications and Mishaps in Anesthesia: Cases - Analysis - Preventive Strategies*, 9783642454073(1), 233-242.

Elvina Nur Dwi Yulianti, and Dyah Ayu Widowati. (2023). Analisis Kadar

- Hidrokuinon Dalam Krim Pemutih Yang Tidak Memiliki Izin Bpom Yang Beredar Di Kecamatan Ajibarang. *Jurnal Mahasiswa Ilmu Kesehatan*, 1(2), 26-36.
- Fiske, A., Wasnik, S. and Sabale, D.V. (2021) ‘A Systematic Review on Skin Whitening Product’, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 71(1), pp. 102-116.
- Fajariyani, A., and Huwaid, M. F. (2022). Identifikasi dan Penetapan Kadar Hidrokuinon pda Kosmetik Krim pemutih Wajah dengan Metode Spektrofotometer UV-Vis. *PHRASE (Pharmaceutical Science) Journal*, 2(1), 84-94.
- Fertiasari, R., Leni, L., and Kristiandi, K. (2023). Analisis Hidrokuinon Pada Kosmetik Cair Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt). *Media Ilmiah Kesehatan Indonesia*, 1(1), 6-11.
- Gorle, A., Mahajan, J., & Bhave, P. (2019). Development and Validation of RP-HPLC Method for Desoximetasone in Bulk and Cream Formulation. *J. Drug Deliv. Ther*, 9, 154-159.
- Harimurti, S., Mawarni, A., Deriyanti, I. S., Widada, H., and Sukamdi, D. P. (2023). The Analytical Survey of Mercury Content in Whitening Cream Sold in Banjarnegara Regency’s Traditional Market. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 10(1), 39-46.
- Haryanti, R., Auliya, S., and Abdassah, M. (2018). Artikel Ulasan: Tinjauan Bahan Berbahaya dalam Krim Pencerah Kulit. *Farmaka*, 16(2), 214-224.
- Ibrahim, A. A. E., Bagherani, N., Smoller, B., Bagherani, N., and Reyes-Barron, C. (2021). Anatomy and Organization of Human Skin. *Atlas of Dermatology, Dermatopathology and Venereology: Cutaneous Anatomy, Biology and Inherited Disorders and General Dermatologic Concepts*, 109-132.
- ICH. (2023). ICH Q2 (R2) Guideline on validation of analytical procedures. *European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*, 2(December

2023), 1-33.

- Julan, M., Febria Leswana, N., and Linden, S. (2023). Identifikasi Kandungan Hidrokuinon Dalam Krim Pemutih Yang Beredar Di Pasar Segiri Kota Samarinda Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Visible. *Pharmacon*, 12(2), 244-251.
- Lestari, W. R., and Prasasti, D. (2018). Analisis Hidrokuinon Pada Bleaching Cream Yang Dijual Secara Online Dan Tidak Memiliki Izin Edar Dari Bpom. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 15(1), 43.
- Lotfollahi, Z. (2024) 'The anatomy, physiology and function of all skin layers and the impact of ageing on the skin', *Wound Practice and Research*, 32(1), pp. 6-10.
- Maggadani, B. P., Harmita, Harahap, Y., and Hutabalian, H. L. N. (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*, 11(3), 181-185.
- Mahdi Ahmed, Azni Idris, S. R. S. O., P A Wheeler, Rome, L. de, Abu-zahra, T. R., Ta, R. A., Arabiyyat, A. R., Mikkelsen, R. L., United States Environment Protection Agency, Risse, M., Afriyansyah, B., Zghair, H., Ali, A., Adhikari, B. K., Barrington, S., Martinez, J., King, S., Agamuthu, P., Fauziah, S. H., Hue, N. V, ... Khalil, M. S. (2011). Title. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(1), 20-29.
- Mamoto, N., Kalangi, S., and Karundeng, R. (2013). Peran Melanokortin Pada Melanosit. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 1(1).
- Marumata, S. H., Perwitasari, M., Putri, I. K., and Beandrade, M. U. (2023). Determination of Hydroquinone Content in Whitening Toner Sold in Online Market Place X by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Proceedings The International Allied Health*

Students Conference (IAHSC) "Innovation and Future Prospect in Health for Well-Being," 75-81.

Merck (2021) 'A Practical Guide to High Performance Liquid Chromatography', pp. 1-76.

Mochida, Y. and Kawamoto, Y. (2023) 'High Performance Liquid Chromatography', *Drug Delivery System*, 38(4), pp. 329-333.

Mohammad Ibnu Fajri. (2020). Validasi metode analisis identifikasi simultan Hidrokuinon dan Asam Retinoat secara UHPLC-PDA dalam sediaan semi solida. *Erudito : Indonesia Journal of Food and Drug*, 1(1).

Mohammed, F.Y. *et al.* (2023) 'Effect of dexamethasone administration on gonadal-fertility functions in female albino rats', *The Pan African medical journal*, 44, p. 160.

Ogbechie-Godec, O. A., and Elbuluk, N. (2017). Melasma: an Up-to-Date Comprehensive Review. *Dermatology and Therapy*, 7(3), 305-318.

Patel, P. H., Shah, J. R., Soni, H., Patel, V., and Patel, J. (2022). Development and Validation of Analytical Method for Estimation of Calcium in Herbomineral Formulation by Atomic Absorption Spectrophotometry. *Journal of Natural Remedies*, 22(4), 597-606.

Pena-Rodríguez, E. *et al.* (2021) 'Dexamethasone-loaded lipomers: Development, characterization, and skin biodistribution studies', *Pharmaceutics*, 13(4).

Putri Dewianti, Z., Aprillian, A., and Damayanti, H. (2019). Review Artikel: Metode Kromatografi Cair Pada Pemisahan Enansiomer Ofloksasin. *Jurnal Farmagazine*, 6(2), 66.

Rahmayuni, E., Harmita, H., and Suryadi, H. (2018). 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*, 8(9), 87-92.

- Ramadhan, S. A., & Musfiroh, I. (2021). Verifikasi Metode Analisis Obat. *Farmaka*, 19(3), 87-92.
- Ravisankar, P., Navya, C. N., Pravallika, D., & Sri, D. N. (2015). A review on step-by-step analytical method validation. *IOSR J Pharm*, 5(10), 7-19.
- Rejeki, D. S., and Pramiastuti, O. (2022). Analisis Hidrokuinon Pada Lima Merk Produk Krim Malam Menggunakan Metode High Performance Liquid Chromatography (Hplc). *Bhamada: Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kesehatan (E-Journal)*, 13(2), 14-21.
- Ristianing Putri, A. and Nur Wahyudiani, M. (2021) 'Analisis Kadar Hidrokuinon pada Krim Pemutih yang Beredar di Toko Online dengan Metode Spektrofotometri', *Jurnal sosial dan sains*, 1(11), pp. 1464-1471.
- Services, H. (2015). *Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry*. July.
- Shagjaa, T., Sanga, V. and Rossi, G.P. (2022) 'Skin Hyperpigmentation Due to Post-Surgical Adrenal Insufficiency Regressed with the Dexamethasone Treatment', *Journal of Clinical Medicine*, 11(18).
- Sheliya, K., Shah, K., and Kapupara, P. (2014). 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*, 6(4), 934-940.
- Simaremare, E. S. (2019). Analisis Merkuri Dan Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Yang Beredar Di Jayapura. *JST (Jurnal Sains Dan Teknologi)*, 8(1), 1-11.
- Suryani, A. (2020). Faktor-Faktor yang Memengaruhi Pigmentasi Manusia. *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(11), 682.
- Susanto, A., Mulyani, T., and Nugraha, S. (2021). Validasi Metode Analisis Penentuan Kadar Logam Berat Pb, Cd dan Cr Terlarut dalam Limbah Cair

Industri Tekstil dengan Metode Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry Prodigy7. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 19(1), 191-200.

Wells, N. (2023). FDA Regulation of Cosmetics and Personal Care Products Under the Modernization of Cosmetics Regulation Act of 2022 (MoCRA). *Congressional Research Service (CRS) Reports and Issue Briefs*, 2022, NA-NA.

Wilbert, A. N., and Effendy, N. (2023). Pengaruh Intensitas Penggunaan Kosmetik Terhadap Kepercayaan Diri Pada Wanita Pekerja Frontliner Di Kota Surabaya. *Experientia: Jurnal Psikologi Indonesia*, 11(1), 70-87.

Yamaguchi, Y., and Hearing, V. J. (2014). Melanocytes and their diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4(5).

Yasnova, N., Sirait, S. P., and Rahmayunita, G. (2024). The effectiveness and safety of 3% tranexamic acid cream vs. 4% hydroquinone cream for mixed-type melasma in skin of color: a double-blind, split-face, randomized controlled trial. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Pannonica et Adriatica*, 33(2), 83-88.