
REVIEW: ANALISIS KUALITATIF DAN KUANTITATIF HIDROKUINON DALAM SEDIAAN KOSMETIKA

Ine Suharyani^{1,2*}, Nina Karlina¹, Nur Rahmi¹, Dhia Zahra Salsabila¹, Nur Annisa¹, Amaliaputri Sadira¹, Sri Yuli Astuti¹, Yuni Rahmasari¹

¹Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Cirebon, Jl. Cideng Indah No. 3, Kertawinangun, Kedawung, Cirebon, Jawa Barat 45153

²Department Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jln. Raya Bandung-Sumedang Km. 21 Jatinangor, Kab. Sumedang 45363

*Corresponding author: inesuharyani25@gmail.com

Received: 13-Dec-2021; Revised: 20-Dec-2021; Accepted: 28-Dec-2021; Available online: 31-Dec-2021

ABSTRACT

Hydroquinone is a mercury compound derived from benzene, has the chemical formula C₆H₆O₂ and is classified as very toxic. The mechanism of action of hydroquinone as a skin lightener is by inhibiting the enzymatic oxidation of tyrosine to 3, 4-dihydroxyphenylalanine (DOPA), inhibiting the activity of the tyrosinase enzyme in melanocytes and reducing the amount of melanin directly. The purpose of the review is to analyze the hydroquinone content both qualitatively and quantitatively in cosmetic samples. The journal search method was carried out on the website <https://scholar.google.com> with the keyword "hydroquinone analysis" and published within the last 10 years. Qualitative analysis can be carried out using the color reaction method and Thin Layer Chromatography while the Quantitative Analysis can be performed using the Titration Series, UV-Vis Spectrophotometry, High Performance Liquid Chromatography, TLC-Densitometer, and Gas Chromatography-Mass Spectroscopy. The best method that can be used for qualitative analysis is thin layer chromatography, while quantitatively is High Performance Liquid Chromatography.

Keywords: *hydroquinone, qualitative analysis, quantitative analysis, spectrophotometry, chromatography*

ABSTRAK

Hidrokuinon merupakan suatu senyawa merkuri turunan benzena, memiliki rumus kimia C₆H₆O₂ dan tergolong sangat beracun. Hidrokuinon sebagai pencerah kulit, bekerja melalui mekanisme penghambatan oksidasi enzimatik tirosin menjadi 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA), menghambat aktivitas enzim tirosinase dalam melanosit dan mengurangi jumlah melanin secara langsung. Tujuan *review* untuk menganalisis kandungan hidrokuinon baik secara Kualitatif maupun Kuantitatif pada sampel kosmetik. Metode pencarian jurnal dilakukan pada website <https://scholar.google.com> dengan kata kunci "analisis hidrokuinon" dan terbit dalam kurun waktu 10 tahun terakhir. Analisis Kualitatif dapat dilakukan dengan metode reaksi warna dan Kromatografi Lapis Tipis sedangkan Analisis Kuantitatif dapat dilakukan melalui metode Titrasi Serimetri, Spektrofotometri UV-Vis, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, KLT-Densitometer, dan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa. Metode paling baik yang dapat digunakan untuk analisis secara kualitatif yaitu kromatografi lapis tipis, sedangkan secara kuantitatif yaitu Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

Kata kunci: *hidrokuinon, analisis kualitatif, analisis kuantitatif, spektrofotometri, kromatografi, reaksi warna.*

PENDAHULUAN

Hidrokuinon merupakan suatu senyawa merkuri turunan benzena, memiliki rumus kimia $C_6H_6O_2$ dan tergolong sangat beracun. Hidrokuinon sebagai pencerah kulit, bekerja melalui mekanisme penghambatan oksidasi enzimatis tirosin menjadi *3,4-dihydroxyphenylalanine* (DOPA), menghambat aktivitas enzim tirosinase dalam melanosit dan mengurangi jumlah melanin secara langsung (Zuidhoff, 2000).

Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) melalui Peraturan Nomor KH.00.01.43.2503 tanggal 11 Juni 2009 melarang penggunaan hidrokuinon pada sediaan kosmetik. Sementara itu, hidrokuinon hanya diperbolehkan penggunaannya untuk tujuan pengobatan, sehingga hanya dapat diperoleh dengan resep dokter. Namun kenyataannya banyak produk kosmetika yang mengandung hidrokuinon beredar di masyarakat.

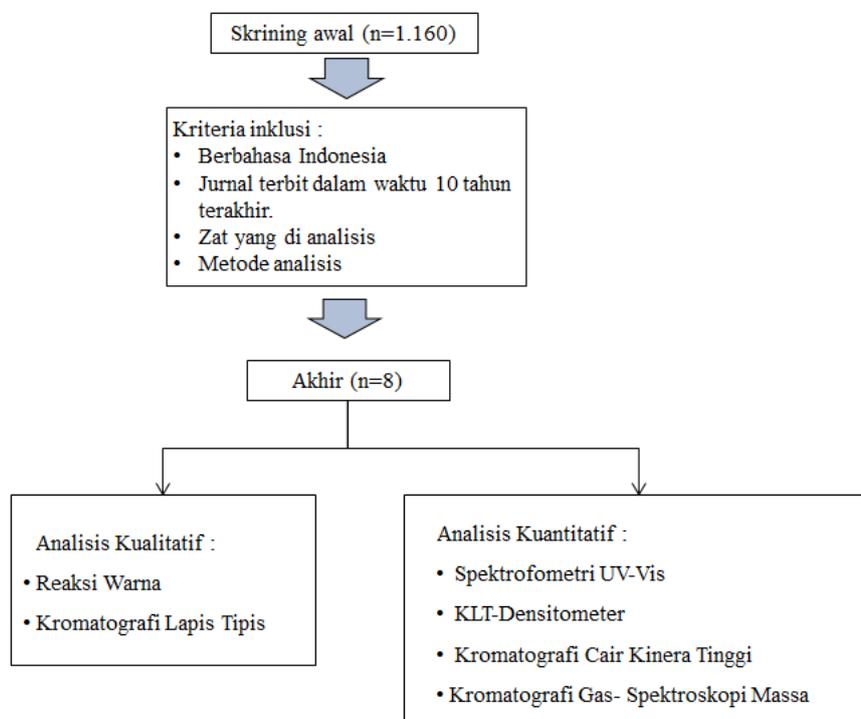
Hidrokuinon merupakan salah satu zat yang memiliki aktivitas sebagai pemutih kulit, tetapi mempunyai efek samping yang merugikan jika digunakan dalam waktu yang cukup lama. Penggunaan hidrokuinon dalam pengobatan melalui pengawasan dokter dengan rekomendasi konsentrasi sebesar 2-4%, dan penggunaannya disarankan tidak lebih dari 6 bulan (Gul et al., 2014).

Untuk itu telah banyak dilakukan analisis hidrokuinon pada produk kosmetik yang beredar untuk mengetahui apakah produk tersebut mengandung hidrokuinon atau tidak. Analisis ini dilakukan baik secara Kualitatif maupun Kuantitatif.

Analisis secara Kualitatif dapat dilakukan dengan metode reaksi warna, dan Kromatografi Lapis Tipis. Sedangkan analisis secara kuantitatif dapat dilakukan melalui metode titrasi Serimetri, Spektrofotometri UV-VIS, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), dan Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (KG-MS).

METODE PENELITIAN

Pencarian jurnal dilakukan pada website <https://scholar.google.com> dengan kata kunci “Analisis Hidrokuinon”. Pada penulisan review jurnal ini ditulis dengan menggunakan teknik studi pustaka dengan prosedur sebagai berikut:



Gambar 1. Metode pemilihan jurnal

METODE ANALISIS HIDROKUINON

Analisis Kualitatif

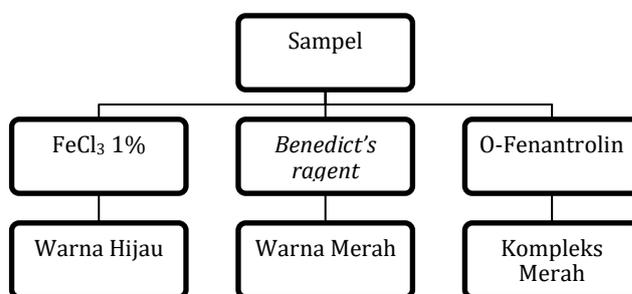
Analisis kualitatif merupakan suatu analisis untuk mengidentifikasi zat, gugus fungsi, dan/atau senyawa tertentu yang terdapat dalam suatu sampel. Analisis kualitatif ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan suatu analit dalam suatu sampel (Gholib & Rohman, 2007). Analisis Hidrokuinon secara Kualitatif dapat dilakukan melalui uji warna dan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Tabel 1. Metode Analisis Hidrokuinon secara Kualitatif

Metode	Sampel	Pereaksi	Referensi
Reaksi Warna	Krim	1. Larutan FeCl ₃ 1% 2. Reagen Benedict	(Yulia, 2020)
Kromatografi Lapis Tipis	Krim	Fase gerak berupa Methanol:Kloroform (1:1)	(Yulia, 2020)
Kromatografi Lapis Tipis	Krim	Fase gerak berupa campuran 8 ml Toluena dan 2 ml Asam Asetat Glasial	(Astuti et al., 2016)
Kromatografi Lapis Tipis	Krim	Fase gerak berupa campuran 8 ml Toluena dan 2 ml Asam Asetat Glasial	(Harimurti et al., 2021)
Reaksi Warna	Krim	1. Reagen Benedict 2. Larutan FeCl ₃ 3. Larutan O-fenantrolin	(Sarah, 2014)
Kromatografi Lapis Tipis	Krim	Fase gerak berupa : 1. N-heksan dan Aseton (1:2) 2. Kloroform:Metanol (1:1) 3. Toluena:Asam Asetat Glasial (1:4)	(Sarah, 2014)

Reaksi Warna

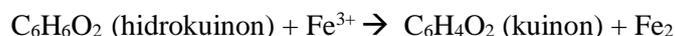
Reaksi warna dapat dilakukan dengan tiga pereaksi, yaitu FeCl₃, Benedict dan o-Fenantrolin.



Gambar 1. Bagan reaksi warna hidrokuinon

Analisis hidrokuinon dengan metode reaksi warna dilakukan dengan menggunakan pereaksi seperti FeCl₃, Benedict, dan O-fenantrolin. Hidrokuinon jika ditambahkan FeCl₃ menghasilkan senyawa kompleks (Chakti et al., 2019).

Senyawa kompleks yang terbentuk karena adanya atom O pada hidrokuinon yang bereaksi FeCl₃ dalam suasana asam menghasilkan warna hijau. Reaksi ini merupakan reaksi reduksi oksidasi yang ditandai dengan adanya perubahan warna dari suatu senyawa. Reaksi yang terjadi antara hidrokuinon dan FeCl₃ adalah sebagai berikut (Musiam et al., 2019):

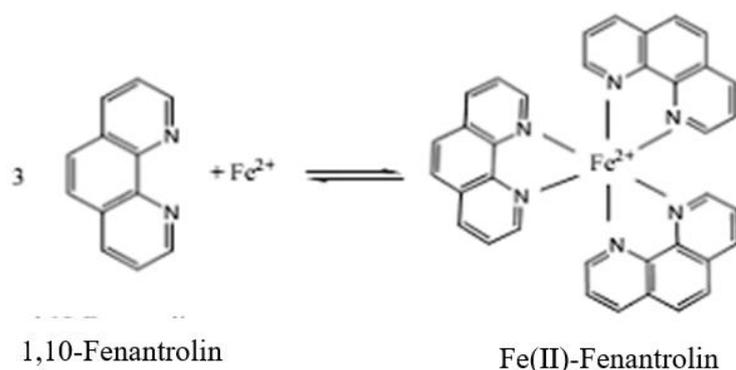


Reaksi yang terjadi menggunakan *benedict's reagent* adalah reduksi – oksidasi (Damodaran K, 2011).

Hidrokuinon merupakan senyawa golongan fenol. Senyawa fenol, jika disimpan di udara terbuka akan mudah teroksidasi. Terjadinya oksidasi senyawa ini ditandai dengan perubahan warna karena pembentukan hasil oksidasi (Hart, 1983). Sampel direaksikan dengan *benedict's reagent* lalu menghasilkan warna merah menandakan adanya gugus fenol (Carissa, 2015). Reaksi antara hidrokuinon dengan *benedict's reagent* yaitu sebagai berikut (Sanjaya, Restyana, Ismillayli, 2021):



Hidrokuinon jika direaksikan dengan 0-fenantrolin akan membentuk senyawa kompleks besi(II)-fenantrolin yang memiliki warna merah-jingga. Reaksi yang terjadi yaitu reaksi redoks, hidrokuinon akan mereduksi besi (III) menjadi besi (II) yang membentuk kompleks besi(II)-fenantrolin ketika bereaksi dengan fenantrolin (Alqibthiyah, 2019).



Gambar 2. Pembentukan Kompleks Besi(II)-Fenantrolin

Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah salah satu bentuk kromatografi planar. Kromatografi ini berbeda dengan kromatografi kolom yang menggunakan kolom kemas sebagai fase diam. KLT menggunakan fase diam berupa lapisan bahan yang seragam dan tersebar merata pada permukaan bidang datar yang dialasi dengan plat kaca, aluminium, atau plastik (Gholib & Rohman, 2007).

Uji analisis kualitatif juga dapat menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik kromatografi yang sederhana untuk memisahkan senyawa kimia, biokimia, maupun memeriksa kemurnian produk. Kelebihan metode pemisahan dengan KLT yaitu dapat memisahkan hampir semua senyawa, hemat biaya, dan pemisahan dapat dilakukan dalam waktu yang singkat (Rosamah, 2019).

Parameter yang digunakan sebagai dasar untuk identifikasi pada KLT adalah nilai Rf. Suatu senyawa dinyatakan identik jika memiliki nilai Rf yang sama. Untuk mengkonfirmasi hasil identifikasi dapat digunakan lebih dari satu fase gerak dan berbagai macam pereaksi semprot (Gholib & Rohman, 2007).

Tabel 2. Analisis Kualitatif dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Pembuatan sampel dan baku pembanding	Fase diam dan Fase gerak	Penotolan	Deteksi Bercak
<ul style="list-style-type: none"> - Sampel krim 0,1 g dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 5 ml. - Pembanding (Hidrokuinon) 0,1g dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 8 ml. 	Fase diam : silika gel Fase gerak: campuran methanol:kloroform (1:1) dibuat sebanyak 5 ml	Penotolan menggunakan kapiler/mikro berskala 1 µl.	pipa pipet Lampu UV 254 nm
<ul style="list-style-type: none"> - Sampel krim 1,25 g ditambahkan 3 tetes HCl 4N dan etanol sebanyak 5 ml lalu dipanaskan sambil sesekali diaduk, kemudian disaring menggunakan kertas saring yang sudah ditambahkan natrium sulfat untuk mengangkat lemak, dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan ditambahkan etanol sampai 25 ml. - Hidrokuinon 25 mg dilarutkan dengan etanol di labu ukur sampai 25 ml. 	Fase diam: silika gel Fase gerak: campuran toluena:asam asetat glacial (4:1) dibuat sebanyak 10 ml.	Penotolan menggunakan tabung mikro hematokrit/microsyringe dengan volume 25 µl.	Lampu UV
<ul style="list-style-type: none"> - Sampel krim 2g dilarutkan dengan etanol 96% di labu ukur sampai 15ml, lalu dihomogenkan di atas penangas air selama 10 menit, kemudian dimasukkan ke penangas es sampai terpisah lilin dan fase cair, lalu disaring, filtrat digunakan untuk analisis KLT. - Hidrokuinon 2 g dilarutkan dengan etanol 96% di labu ukur sampai 15ml, lalu dihomogenkan di atas penangas air selama 10 menit, kemudian dimasukkan ke dalam penangas es sehingga terpisah lilin dan fase cair, lalu disaring, filtrat digunakan untuk analisis KLT. 	Fase diam: lempeng KLT GF254 Fase gerak: campuran N-heksana:aseton (3:2) kloroform:metanol (1:1) toluena:asam asetat glacial (1:4)	penotolan dilakukan dengan pipa kapiler yang berjarak 1,5 cm dari bawah plat, sementara jarak antar noda adalah 2,5 cm	lampu UV 254 nm

Berdasarkan tabel diatas, beberapa jurnal memiliki perbedaan prosedur dalam analisis kualitatif menggunakan metode KLT. Beberapa perbedaan prosedur yaitu pada pembuatan sampel dan baku pembanding, penggunaan fase gerak, dan pada volume penotolan.

Di samping itu, ada beberapa persamaan diantaranya, dalam penggunaan pelarut pada sampel yang menggunakan pelarut polar berupa etanol, dan pada fase gerak digunakan campuran pelarut nonpolar dan polar. Persamaan lainnya yaitu tahapan setelah penotolan pada plat KLT, selanjutnya plat dimasukkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak yang sudah dijenuhkan. Setelah itu, plat diangkat dan dibiarkan mengering. Hasil yang diperoleh diamati di bawah sinar UV, kemudian fluoresensinya dibandingkan dengan standar hidrokuinon dan dihitung faktor retensi atau nilai Rf dari masing-masing bercak. Hasil positif hidrokuinon ditandai dengan terbentuknya warna gelap atau terdapat bercak hitam pada silika gel saat diamati di bawah sinar UV.

Fase diam yang digunakan dalam KLT berupa penjerap yang memiliki molekul penyusun berukuran kecil dengan diameter sekitar 10 – 30 µm. Silika Gel merupakan salah satu penjerap yang banyak digunakan dalam KLT. Plat silika umumnya digunakan untuk analisis asam amino, hidrokarbon, vitamin, dan alkaloid. Selain itu digunakan juga plat KLT. Plat KLT dibuat dengan cara melapiskan bahan penjerap di atas permukaan lapisan gelas, kaca atau aluminium dengan tebal sekitar 250 µm. Arti dari lempeng KLT GF254 yaitu ditambah bahan yang berfluoresensi seperti silikat teraktivasi mangan, yang pada panjang gelombang eksitasi senyawa berfluoresensi yang ditambahkan (Gholib & Rohman, 2007).

Fase gerak umumnya ialah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini sedemikian rupa dapat mudah diatur sehingga pemisahan zat-zat yang dianalisis dapat terjadi secara optimal. Beberapa petunjuk yang bisa digunakan untuk memilih dan optimasi fase gerak yaitu (Gholib & Rohman, 2007):

- Harus memiliki kemurnian sangat tinggi. Hal ini disebabkan KLT memiliki sistem yang sensitif.

- Daya elusi dari fase gerak harus diatur agar nilai Rf berada pada rentang 0,2-0,8 agar pemisahan terjadi secara maksimal.
- Pemisahan yang menggunakan fase diam bersifat polar seperti silika gel, maka polaritas fase gerak yang digunakan akan mempengaruhi nilai Rf. Penambahan pelarut agak polar seperti dietil eter ke dalam pelarut yang bersifat non polar seperti metil benzena akan menaikkan nilai Rf secara signifikan.
- Pelarut ionik dan polar lebih baik digunakan sebagai campuran pelarut untuk fase geraknya.

Penotolan sampel pada kromatografi lapis tipis dikatakan optimal apabila sampel ditotolkan dengan ukuran bercak yang sangat kecil dan sempit. Penotolan yang kurang tepat dapat menyebabkan melebarnya bercak dan terjadi puncak ganda (Gholib & Rohman, 2007). Untuk tujuan identifikasi diameter bercak yang direkomendasikan 3 mm untuk volume sampel sampai 1 µl. Konsentrasi sampel 0,1 % - 1 % dengan banyaknya sampel 1 µg - 20 µg (Adamovics, 1997).

Bercak pada KLT dapat dideteksi baik dengan pereaksi kimia maupun secara fisika. Deteksi bercak secara kimia dapat dilakukan dengan cara menyemprotkan pereaksi sehingga bercak menjadi terlihat jelas. Beberapa pereaksi yang dapat digunakan antara lain ninhidrin, asam sulfat, rhodamin B, 2,7-fluorescein. Cara fisika dilakukan dengan menggunakan sinar radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Lempong KLT dengan meletakkan plat yang disinari dengan lampu ultraviolet yang memiliki panjang gelombang 254 tau 366 untuk menampakkan pelarut sebagai bercak gelap atau bercak yang berfluoresensi pada dasar fluoresensi yang seragam (Gholib & Rohman, 2007).

Berikut ini adalah keuntungan lain kromatografi lapis tipis yaitu (Gholib & Rohman, 2007):

- Metode ini sering digunakan untuk analisis baik kualitatif maupun kuantitatif
- Identifikasi dari komponen yang dipisahkan dapat dilakukan melalui fluoresensi, penambahan pereaksi warna, atau radiasi sinar ultraviolet.
- Pada KLT dapat dilakukan elusi baik secara menurun (*descending*), menaik (*ascending*), atau secara 2 dimensi.
- Penentuan kadar pada metode ini akan lebih baik karena konsentrasi diukur terhadap masing-masing komponen merupakan bercak diam.

Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif merupakan suatu metode untuk menentukan konsentrasi analit di dalam suatu sampel. Analisis kuantitatif dapat dilakukan secara konvensional seperti titrimetri maupun instrumental seperti spektrofotometri dan kromatografi (Gholib & Rohman, 2007). Analisis Hidrokuinon secara kuantitatif dapat dilakukan dengan metode sebagai berikut:

Tabel 3. Metode Analisis Hidrokuinon Secara Kuantitatif

Metode	Bahan yang digunakan	Alat	Referensi
Titration Serimetri	H ₂ SO ₄ 0,1 N, Indikator Difenilamin Serium (IV) Sulfat 0,1 N	-	(Astuti et al., 2016)
Spektrofotometer UV-Vis	Standar Hidrokuinon	Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S)	(Arifiyana et al., 2019)
	Etanol 96% Metanol		
	Methanol Kloroform	Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu)	(Yulia, 2020)
	Metanol p.a Standar Hidrokuinon	Spektrofotometer UV (AMTAST AMV 11)	(Yuan, 2021)
	Etanol 95% p.a Floroglusin p.a NaOH pa	Spektrofotometer UV-Vis (Cintra 101)	(Sarah, 2014)
KLT-Densitometer	Toluen, Asam asetat glasial, HCL 4N, Etanol Natrium Sulfat, Silika gel GF 254	Densitometer (Camag TLC Scanner 4)	(Harimurti et al., 2021)
Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	Methanol	HPLC Dionex . Kolom analitik C18, membran filter 0,2 µm, syringe filter 0,2 µm	(Rahmi, 2017)
Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	Metanol	Kolom RP 18	(Sukmawati et al.,

Kromatografi Gas - Spektrometri Massa	Etanol Sodium Sulfat	Kromatografi Gas Spektrometri Massa	2017) (Pangesti & Jamaluddin , 2021)
--	-------------------------	--	--

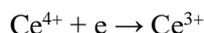
Titration Serimetry

Serimetry is the determination of the concentration of a reductant using cerium (IV) sulfate solution as a titrant (oxidant). This titration can only be carried out in acidic conditions, because in neutral conditions a cerium (IV) hydroxide precipitate will form.

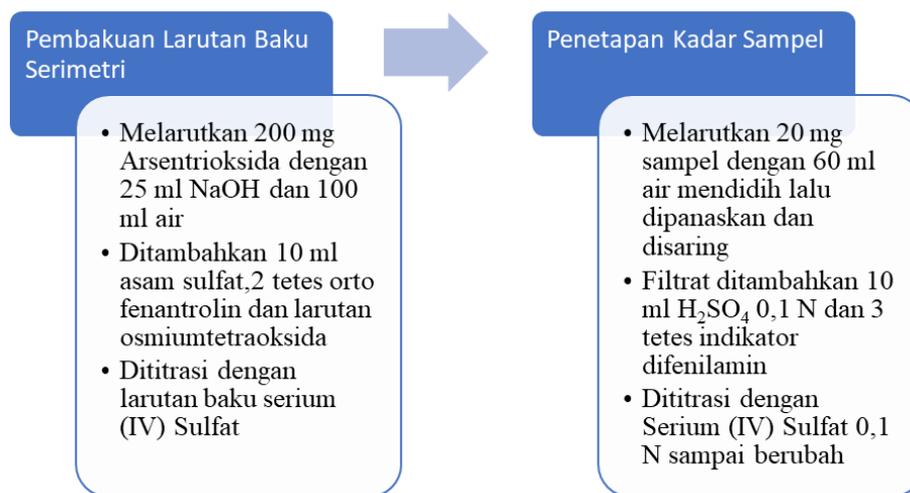
Cerium (IV) sulfate solution in acidic conditions is a strong oxidant and is more stable than potassium permanganate solution, if the sulfuric acid has a sufficient amount to avoid hydrolysis and precipitation in the form of a salt (Gholib & Rohman, 2007).

Advantages of cerium (IV) sulfate as a titrant solution (Gholib & Rohman, 2007):

- Its solution is stable in acidic conditions or resistant to light and heat.
- It can be used for the determination of samples containing chloride, because it does not oxidize chloride. The concentration of chloride is below 1 M.
- It can be used for various samples because of its strong oxidizing properties.
- Redox reactions are very simple.



Disadvantages of cerium (IV) sulfate are its high cost and slow reaction rate with some substances like As_2O_3 which requires a catalyst.



Gambar 3. Bagan Analisis Titration Serimetry

UV-Vis Spectrophotometry

UV-Vis Spectrophotometry is often used to analyze samples in gas/liquid or solution form. The sample to be analyzed must be in a clear solution form. Requirements for a substance used in UV-Vis Spectrophotometry are:

1. Can dissolve the sample well
2. Does not have a chromophore and is colorless
3. Does not react with the analyte
4. Has high purity (Suhartati, 2017).

UV-Vis Spectrophotometry is an instrument that uses electromagnetic radiation in the ultraviolet range (190-380 nm) and visible light range (380-780 nm). The principle of UV-Vis Spectrophotometry is the absorption of UV-

Vis oleh gugus-gugus molekul yang dapat menyebabkan transisi yang berbeda dengan tingkat energi elektronik molekul tersebut (Suhartati, 2017).

Untuk melakukan analisis kuantitatif menggunakan Spektrofotometri UV-Vis ada beberapa hal yang harus dipersiapkan, antara lain:

Tabel 4. Analisis Kuantitatif dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Pembuatan sampel	larutan	Sampel krim 25mg dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 50ml, di dapat konsentrasi 500 ppm
Pembuatan larutan pembanding	baku	Hidrokuinon 5mg dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 100 ml, kemudian diencerkan di dalam labu ukur sampai 50ml sehingga di dapat konsentrasi 10ppm. Larutan baku hidrokuinon 10 ppm diencerkan menjadi beberapa konsentrasi yaitu 0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0,10 ; 0,20 ; 0,30 ppm dalam labu ukur 50ml.
Pengukuran gelombang maksimum	panjang	Digunakan larutan baku hidrokuinon dengan konsentrasi 0,08ppm, didapatkan serapan maksimum pada 293 nm yang sebelumnya dilakukan kalibrasi menggunakan metanol sebagai blanko.
Penetapan hidrokuinon	kadar	Larutan baku dan larutan sampel dianalisis dengan menggunakan Spektro. Absorbansi diukur secara spektrofotometri ultraviolet pada panjang gelombang 293 nm. Penetapan kadar hidrokuinon dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear $y= bx+a$ yang diperoleh melalui kurva baku hidrokuinon.

Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan karena pada panjang gelombang maksimum kepekaan juga terjadi secara maksimum karena perubahan absorbansi untuk setiap satuan absorbansi yang paling besar. Jika terjadi pengukuran ulang, kesalahan akibat pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali.

Kelebihan metode analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis antara lain (Anita Ratna Ningrum, 2011):

- Panjang gelombang suatu sinar berwarna putih lebih mudah terseleksi.
- Cara yang sederhana
- Mampu mendeteksi konsentrasi analit yang sangat kecil.

Kelemahan metode analisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis antara lain:

- Perbedaan pH, suhu dan zat pengganggu dalam larutan sampel akan mempengaruhi absorpsi
- Metode ini hanya dapat dilakukan pada rentang daerah ultraviolet yaitu dengan panjang gelombang >185 nm
- Terbatas penggunaannya untuk gugus fungsional dengan elektron valensi yang memiliki energi eksitasi yang rendah
- Sinar yang digunakan harus monokromatis

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi merupakan salah satu teknik pemisahan secara fisik dari beberapa campuran analit. Pemisahan terjadi berdasarkan pada perbedaan distribusi masing-masing analit yang dapat terpisah pada fase diam dengan adanya pengaruh dari fase gerak. Fase gerak yang digunakan dapat berupa zat cair maupun gas, sementara fasa diam dapat berupa zat padat maupun zat cair (Dachriyanus, 2015).

Untuk melakukan analisis menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, ada beberapa hal yang harus disiapkan, antara lain:

Tabel 5. Analisis Kuantitatif dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Fase Gerak	<ol style="list-style-type: none"> 1. Campuran air dan methanol dengan perbandingan 40:60 2. Metanol - Air (55:45)
Scan λ_{maks}	<ol style="list-style-type: none"> 1. Larutan baku hidroquinon 10 ppm, 2. Scan pada panjang gelombang 200-400 nm 3. Diperoleh λ_{maks} 295 nm
Larutan Standar Hidrokuinon	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dibuat larutan baku 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. 2. Masing-masing larutan kemudian diinjeksikan pada KCKT dengan λ_{maks} 295 nm
Preparasi Krim	<ol style="list-style-type: none"> 1. Krim dibilas dengan fase gerak lalu di vorteks kemudian dipanaskan diatas waterbath. 2. Dinginkan lalu ditambah fase gerak dan dilakukan sentrifugasi dan penyaringan.

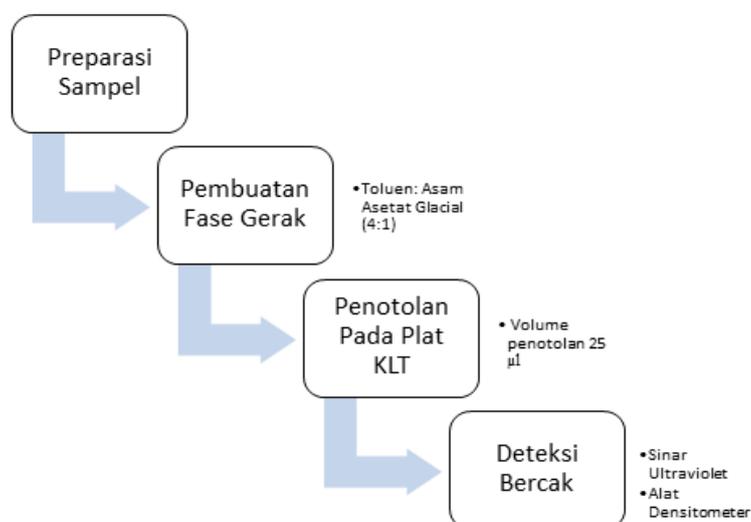
KCKT digunakan untuk analisis senyawa yang tidak mudah menguap. Untuk fase normal (yaitu fase diam yang lebih polar daripada fase gerak), kemampuan hasil elusi meningkat dengan kenaikan tingkat polaritas dari pelarut yang digunakan. Sementara itu, untuk KCKT yang menggunakan sistem fase terbalik (yaitu fase diam yang kurang polar daripada fase gerak), kemampuan daya elusi akan menurun dengan adanya peningkatan polaritas pelarut.

Hasil analisis berupa kurva kalibrasi konsentrasi vs AUC atau waktu retensi digunakan untuk mengukur kadar Hidrokuinon yang ada dalam sampel uji. Waktu retensi larutan uji dibandingkan dengan larutan baku. Jika waktu retensi larutan uji sama dengan waktu retensi pada larutan baku menandakan bahwa sampel uji tersebut positif mengandung hidrokuinon.

Keunggulan metode analisis kuantitatif dengan menggunakan KCKT adalah metode ini mampu melakukan pemisahan secara cepat, efisien, dan resolusi tinggi, sehingga dapat memisahkan sekaligus menetapkan kadar lebih dari satu zat aktif dalam sampel dengan hasil yang optimal (Gholib Ganjar & Rohman, 2012).

KLT-Densitometri

KLT-densitometer merupakan suatu cara untuk analisis secara kuantitatif dari suatu analit yang sudah dipisahkan dengan KLT. Densitometer dapat diaplikasikan baik secara serapan maupun fluoresensi. Gangguan yang utama pada sistem serapan dan fluoresensi adalah fluktuasi *noise* namun pada sistem fluoresensi gangguan lebih rendah (Gholib & Rohman, 2007).



Gambar 4. Analisis dengan metode KLT-Densitometri

Uji analisis kualitatif dengan metode KLT dapat diteruskan dengan menggunakan densitometer untuk mengetahui kadar kandungan hidrokuinon pada sampel. Hasil positif hidrokuinon pada plat KLT dimasukkan ke dalam alat densitometer dan bercak dilihat pada panjang gelombang 254 nm. Namun, validasi untuk metode KLT-Densitometri ini masih belum tersedia untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Untuk itu, analisis kuantitatif untuk mengukur kadar hidrokuinon dihitung dengan membandingkan luas AUC dari sampel dan luas AUC dari kontrol positif dikalikan dengan kadar hidrokuinon pada kontrol positif.

Keuntungan analisis menggunakan metode KLT-Densitometer antara lain (Najib, 2018):

- Menggunakan fase gerak yang sedikit.
- Waktu yang relatif lebih singkat .
- Dapat dilakukan penetapan kadar beberapa sampel secara simultan.

Kromatografi Gas-Spektrometri Massa

Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan dinamis untuk mengidentifikasi maupun penetapan konsentrasi senyawa organik yang mudah menguap baik dalam bentuk tunggal maupun campuran. Pemisahan pada kromatografi gas berdasarkan titik didih senyawa dimana solut yang mudah menguap akan terelusi berdasarkan pada peningkatan titik didihnya. Fase gerak yang berupa gas akan membawa atau memindahkan komponen uap menuju fase diam, lalu mengantarkannya pada detektor (Gholib Ganjar & Rohman, 2012).

Fase gerak yang digunakan adalah suatu gas (helium, hidrogen, atau nitrogen) dengan kemurnian tinggi dan terbebas dari komponen yang dapat merusak fase diam atau mengurangi sensitifitasnya seperti, hidrokarbon, uap air, atau oksigen. Fase diam yang banyak dipakai adalah kolom kapiler karena dapat memberikan harga jumlah lempeng teori (N) yang sangat besar (>300000 lempeng) (Gholib Ganjar & Rohman, 2012).

Kromatografi gas sebagai instrumen fisiko-kimia banyak digunakan untuk analisis instrumental, dengan alasan yaitu kecepatan atau tekanan aliran fase gas terkontrol, uap sampel mudah tercampur dengan fase gas, terdapat 13 macam detektor yang dapat dipakai, dan dapat dikombinasikan dengan instrumen fisiko-kimia lain seperti GC-MS (Mulja, 1994).

Analisis spektrum massa suatu senyawa organik, tidak hanya memperhatikan massa ion molekul (M^+) maupun massa fragmen-fragmen saja, tetapi juga diperhitungkan dari massa fragmen yang hilang dari spektrum. Massa fragmen ini mempengaruhi penentuan suatu struktur molekul, karena akan memprediksi kehilangan massa ini berhubungan dengan massa yang hilang dari senyawa yang dianalisis (Suhartati, 2017).

Kromatografi gas dapat digabungkan dengan spektrometer massa (sebagai detektor) yang disebut dengan GC-MS (*gas chromatography-mass spectrometry*). Pada metode ini, eluen yang keluar dari kolom GC akan diteruskan pada instrumen MS dan menghasilkan spektrum massa untuk tiap komponen. (Gholib Ganjar & Rohman, 2012).

Spektrometer massa ini akan memberikan informasi data mengenai struktur kimia senyawa sudah maupun yang belum diketahui. Spektrometer massa dapat membantu memonitor ion tunggal atau beberapa ion khas yang terdapat pada suatu analit dengan cara mengaktifkan batas deteksi masing-masing ion (Gholib Ganjar & Rohman, 2012).

Sampel yang akan dilakukan uji dilarutkan terlebih dahulu dengan pelarut. Pelarut yang dipilih yaitu pelarut polar karena dapat berikatan dengan senyawa hidroksil dan menyebabkan senyawa tersebut sulit teroksidasi dalam udara terbuka.

Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS) dapat menganalisis senyawa yang tidak terurai ketika diuapkan dan, memilih resolusi dan spesifik, fleksibel, sensitivitas yang tinggi, efisien. Kromatografi gas-Spektrometri Massa dapat menganalisis secara kualitatif dan kuantitatif secara bersamaan sehingga efektif dan efisien (Pangesti & Jamaluddin, 2021).

Hasil analisis dari GC kemudian diteruskan ke dalam instrumen MS sehingga didapatkan data dari massa molekul relatif suatu sampel. Massa molekul relatif hidrokuinon adalah 110 (Pangesti & Jamaluddin, 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian *review artikel* analisis kualitatif hidrokuinon pada kosmetik yang paling baik adalah dengan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) karena pemisahan komponen dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi dan radiasi sinar uv sehingga ketepatan komponen lebih baik yaitu berupa bercak yang tidak bergerak. Analisis kuantitatif hidrokuinon yang paling baik adalah dengan menggunakan metode KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) karena efisiensi dan resolusi tinggi sehingga hasil analisis yang didapatkan lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adamovics, J. A. (1997) : (2nd Editio).
- Alqibthiyah, K. H. (2019) : Universitas Brawijaya.
- Anita Ratna Ningrum. (2011) : Maksimum Tablet Amoksisilin Yang Dijual Di Pasar Pramuka Dengan Spektrofotometer Uv-Vis. *Anita Ratna Ningrum*.
- Arifiyana, D., Harjanti, H., Sri, Y., Ebtavanny, E., & Gusti, T. (2019) : Analisis Kuantitatif Hidrokuinon pada Produk Kosmetik Krim Pemutih yang Beredar di Wilayah Surabaya Pusat dan Surabaya Utara dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Akta Kimia Indonesia*, **4**(2), 107.
- Astuti, D. W., Prasetya, H. R., & Irsalina, D. (2016) : Identifikasi Hidroquinon pada Krim Pemutih Wajah yang Dijual di Minimarket Wilayah Minomartani , Yogyakarta. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, **2**(445), 14.
- Carissa. (2015) : Analisis Hidrokuinon Secara Spektrofotometri Sinar Tampak Dalam Sediaan Krim Malam NC-16 Dan NC-74 Dari Klinik Kecantikan LSC Surabaya. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, **4**(1), 1–16.
- Chakti, A. S., Simaremare, E. S., & Pratiwi, R. D. (2019) : Analisis Merkuri dan Hidrokuinon Pada Krim Pemutih yang Beredar di Jayapura. *Jurnal Sains Dan Teknologi*, **8**, 1–11.
- Dachriyanus, M. (2015) : LPTIK Universitas Andalas.
- Damodaran K, G. (2011) : Jaypee Brother Medical.
- Gholib Ganjar, I., & Rohman, A. (2012) : Pustaka Pelajar.
- Gholib, I., & Rohman, A. (2007) : Pustaka Pelajar.
- Gul, S., Monazzam, A., Rashid, H., & Ali, S. M. (2014) : *ISSN 2311-4673 Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Hidden Killers for Women : Mercury , Steroids and Hydroquinone in Skin Whitening and Bleach Creams*. **2**(1).
- Harimurti, S., Deriyanti, I. S., Widada, H., & Utami, P. (2021) : Identifikasi Kandungan Hidrokuinon pada Krim Pemutih yang Beredar di Pasar Tradisional Wilayah Kabupaten Banjarnegara Identification of Hydroquinone Contents in Whitening Cream Distributed in Traditional Markets, Banjarnegara Region. *Jurnal Farmasi Indonesia*, **18**(1), 1–8.
- Hart, H. (1983) : Erlangga.
- Mulja, M. (1994) : Airlangga University Press.
- Musiam, S., Noor, R. M., Ramadhani, I. F., Wahyuni, A., Alfian, R., Kumalasari, E., & Aryzki, S. (2019) : Analisis Zat Pemutih Berbahaya Pada Krim Malam Di Klinik Kecantikan Kota Banjarmasin. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, **2**(1), 18–25.
- Najib, A. (2018) : Deepublish.
- Pangesti, R. I., & Jamaluddin, J. (2021) : Analisis Kandungan Merkuri dan Hidrokuinon pada Krim Pemutih Tanpa Izin Edar yang Beredar Dikota Palu. *Syntax Idea*, **3**(2), 368.
- Rahmi, S. (2017) : Identifikasi Senyawa Hiroquinon dan Merkuri Pada Krim Kecantikan yang Beredar Di Pasaran. *Jurnal Penelitian Pendidikan MIPA*, **2**(1), 118–122.
- Rosamah, E. (2019) : (A. Hafidz Khanz (ed.)). Mulawarman University Press.
- Sanjaya, Restyana, Ismillayli, H. (2021) : Penentuan Hydroquinon menggunakan Metode The Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) R. *Penentuan Hydroquinon Menggunakan Metode The Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)*, **10**, 28–33.
- Sarah, K. W. (2014) : Analisis Hidrokuinon dalam Sediaan Krim malam “CW1” dan “CW2” dari Klinik Kecantikan “N” dan “E” diKabupaten Sidoharjo. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*,

3(2), 1.

Suhartati, T. (2017) : Anugrah Utama Raharja.

Sukmawati, A. E., Surachman, E., & Purnamasari, D. (2017) : Analisis Hidrokuinon Pada Produk Krim Malam dari Klinik Kecantikan di Jalan Margonda Depok melalui Metoda Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan*, **08**, 80–86.

Yuan, R. A. (2021) : Uji Kandungan Hidroquinon Pada Sediaan Krim Racikan Dokter Dan Krim Pencerah Wajah Dengan Menggunakan Spektrofotometer UV. *Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologis*, **4**(1), 30.

Yulia, R. (2020) : Analisis Hidrokuinon Pada Beberapa Sediaan Krim Malam Dengan Metoda Spektrofotometri Uv-Vis. *SCIENTIA : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, **10**(2), 128.

Zuidhoff, H. W. (2000) : The Whitening Properties of Lactic Acid and Lactates. *Personal Care Ingredients Asia*, 85–87.