E-ISSN: 3025-0994
Halaman 3402-3414
Volume 4 Nomor 4 Tahun 2026

Optimasi Pemilihan Fase Gerak Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Penetapan Kadar Hidrokuinon

Novalina Rossa Ramadhan[1*], Rahmadani[2], Nur Hidayah[3], Tuti Alawiyah[4]

[1,2,3,4] Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Kesehatan Universitas Sari Mulia Banjarmasin, Kalimantan Selatan, Indonesia
e-mail: novalinarossa21@gmail.com

Abstrak

Latar Belakang: Hidrokuinon merupakan bahan aktif yang digunakan dalam produk pemutih kulit untuk mengurangi hiperpigmentasi. Namun, penggunaan hidrokuinon secara berlebihan atau tidak sesuai ketentuan dapat menimbulkan efek toksik sehingga diperlukan metode analisis yang tepat untuk menentukan kadarnya. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Keberhasilan analisis KCKT dipengaruhi oleh pemilihan fase gerak yang berperan dalam proses pemisahan senyawa, waktu retensi, serta ketepatan hasil pengukuran. Tujuan: Penelitian ini bertujuan menentukan fase gerak yang optimal antara metanol demineral dan asetonitril dalam penetapan kadar hidrokuinon menggunakan metode KCKT. Metode: Penelitian ini menggunakan desain observasional analitik dengan pendekatan *cross-sectional*. Pengujian dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Sari Mulia menggunakan instrumen KCKT pada panjang gelombang 295 nm, volume injeksi 20 µL, dan laju alir 1 mL/menit. Evaluasi dilakukan berdasarkan waktu retensi, kadar hidrokuinon, serta parameter validasi metode yang meliputi akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi (LOD), dan batas kuantifikasi (LOQ). Hasil: Fase gerak metanol demineral menghasilkan waktu retensi 2,686 menit dan kadar hidrokuinon 18,760 mg/L, sedangkan fase gerak asetonitril menghasilkan waktu retensi 1,793 menit dan kadar 2,263 mg/L. Parameter validasi metode memenuhi persyaratan yang ditetapkan. Simpulan: Fase gerak metanol demineral menunjukkan hasil penetapan kadar hidrokuinon yang lebih tinggi dan direkomendasikan sebagai alternatif fase gerak dalam analisis KCKT berdasarkan hasil pengujian.

Kata Kunci: Fase Gerak, Hidrokuinon, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, Metanol, Penetapan Kadar

Abstract

Background: Hydroquinone is an active ingredient used in skin-lightening products to reduce hyperpigmentation. However, excessive or improper use of hydroquinone can lead to toxic effects, necessitating an accurate analytical method to determine its concentration. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) is one such method. The success of an HPLC

analysis depends on the selection of the mobile phase, which influences compound separation, retention time, and the accuracy of measurement results. Objective: This study aimed to determine the optimal mobile phase comparing methanol (demineralized) and acetonitrile for the quantification of hydroquinone using HPLC. Methods: This study employed an analytical observational design with a cross-sectional approach. Testing was conducted at the Pharmaceutical Chemistry Laboratory of Universitas Sari Mulia using an HPLC instrument at a wavelength of 295 nm, an injection volume of 20 µL, and a flow rate of 1 mL/min. Evaluation was based on retention time, hydroquinone concentration, and method validation parameters, including accuracy, precision, linearity, limit of detection (LOD), and limit of quantification (LOQ). Results: The mobile phase consisting of demineralized methanol yielded a retention time of 2.686 minutes and a hydroquinone concentration of 18.760 mg/L, whereas the acetonitrile mobile phase resulted in a retention time of 1.793 minutes and a concentration of 2.263 mg/L. The method validation parameters met the established requirements. Conclusion: The demineralized methanol mobile phase yielded a higher hydroquinone concentration and is recommended as an alternative mobile phase for HPLC analysis based on the test results.

Keywords : *Determination, High-Performance Liquid Chromatography, Hydroquinone, Methanol, Mobile Phase*

LATAR BELAKANG

Hidrokuinon merupakan salah satu bahan kimia yang umum digunakan dalam produk pemutih kulit karena kemampuannya dalam menghambat pembentukan melanin. Meskipun efektif dalam mencerahkan kulit, penggunaan hidrokuinon secara berlebihan dan dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan efek toksik seperti gangguan pada ginjal, saraf, hati, bahkan berpotensi sebagai zat karsinogenik (Nasiroh et al., 2024). Oleh karena itu, diperlukan metode analisis yang tepat dan valid untuk mengukur kadar hidrokuinon dalam sediaan kosmetik, salah satunya adalah dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

KCKT merupakan metode analisis yang banyak digunakan karena memiliki kepekaan dan selektivitas yang tinggi serta mampu memisahkan senyawa dalam kadar yang sangat kecil. Akan tetapi, keberhasilan analisis menggunakan metode KCKT sangat bergantung pada pemilihan fase gerak yang digunakan. Fase gerak berperan penting dalam menentukan efisiensi pemisahan, waktu retensi, serta akurasi dari kadar yang dihasilkan (Gandjar & Rohman, 2017). Komposisi pelarut yang digunakan sebagai fase gerak dapat mempengaruhi interaksi antara analit dan fase diam, sehingga berpengaruh langsung terhadap kualitas hasil analisis (Rosydiati, 2019).

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemilihan fase gerak sangat mempengaruhi hasil analisis. Penelitian oleh (Dwi Anggraini et al., 2023) menggunakan fase gerak asetonitril : aquabidest dengan berbagai perbandingan, dan menemukan rasio 20:80 (v/v) menghasilkan waktu retensi yang cepat serta bentuk puncak yang simetris, sehingga dianggap sebagai komdisi optimum. (Dwi Anggraini et al., 2023). Sementara itu, penelitian

oleh Mar'atul Soleha (2021) menggunakan berbagai komposisi metanol:air dan menemukan bahwa rasio 43:57 (v/v) memberikan pemisahan yang selektif dan waktu retensi yang stabil (Mar'Atus, 2021).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan dua jenis fase gerak, yaitu metanol : aqua demineral dan asetonitril : metanol, dalam penetapan kadar hidrokuinon menggunakan metode KCKT. Dengan melakukan optimasi terhadap fase gerak, diharapkan diperoleh fase gerak yang lebih efektif dan efisien dalam mendeteksi kadar hidrokuinon secara akurat

METODE

Penelitian ini menggunakan metode observasional analitik dengan desain *cross sectional* untuk membandingkan fase gerak optimal dalam penetapan kadar hidrokuinon menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Saputri dan Hakim, 2021). Alat yang digunakan meliputi instrumen KCKT Shimadzu, timbangan analitik, alat gelas, sentrifugasi, penyaring, dan ultrasonikator. Bahan penelitian meliputi hidrokuinon, metanol, aqua demineral, dan asetonitril dengan tingkat kemurnian sesuai kebutuhan analisis serta kolom C18.

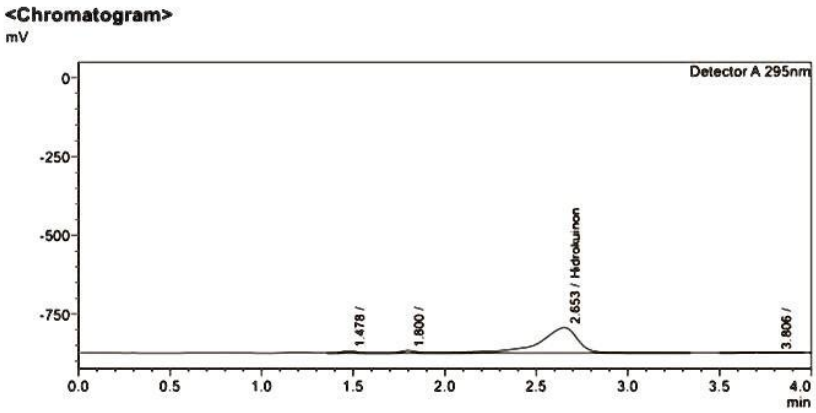
Larutan induk hidrokuinon 1000 mg/L dibuat dengan melarutkan 25 mg hidrokuinon dalam metanol hingga 25 mL. Fase gerak metanol demineral dan asetonitril disiapkan dengan perbandingan 200:300 mL, kemudian disaring menggunakan membran 0,45 µm dan didegas selama 15 menit. Analisis dilakukan pada panjang gelombang 295 nm dan volume injeksi 20 µL (Mar'Atus, 2021).

Larutan standar 2, 4, 6, 8, 10, 12, dan 14 mg/L digunakan untuk membuat kurva kalibrasi berdasarkan hubungan konsentrasi dan luas area puncak. Penetapan kadar dilakukan melalui injeksi sampel, pengamatan kromatogram, dan perhitungan menggunakan persamaan regresi linear (Sa'diyah et al., 2023).

Validasi metode meliputi linearitas, sensitivitas melalui LOD dan LOQ, presisi berdasarkan %RSD, serta akurasi berdasarkan persentase *recovery* (Handoyo et al., 2022; Chandra et al., 2020). Data dianalisis secara univariat dan dibandingkan berdasarkan waktu retensi serta kadar hidrokuinon yang diperoleh dari masing-masing fase gerak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil



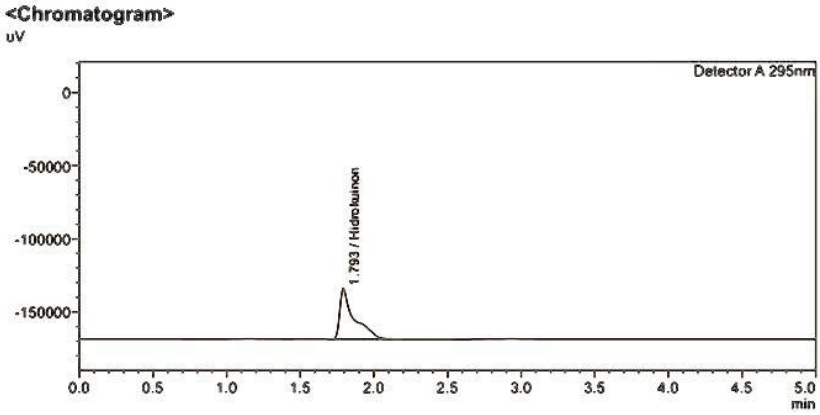
<Peak Table>
Detector A 295nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	1.478	40330	6901	0.000		V	
2	1.800	52241	8082	0.000		V	
3	2.653	1207428	81123	18.760	mg/L	V	Hidrokuinon
4	3.806	25273	1651	0.000			
Total		1325273	97758				

Gambar 1. Waktu retensi fase gerak metanol : aqua demineral

a. Waktu Retensi Metanol : Aqua Demineral

Pada larutan baku hidrokuinon dengan menggunakan fase gerak metanol : aqua demineral diperoleh waktu retensi 2,653 menit.



<Peak Table>
Detector A 295nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Unit	Mark	Name
1	1.793	234621	34702	2.263	mg/L	SV	Hidrokuinon
Total		234621	34702				

Gambar 2. Waktu retensi fase gerak asetonitril : metanol

b. Waktu Retensi Asetonitril : Metanol

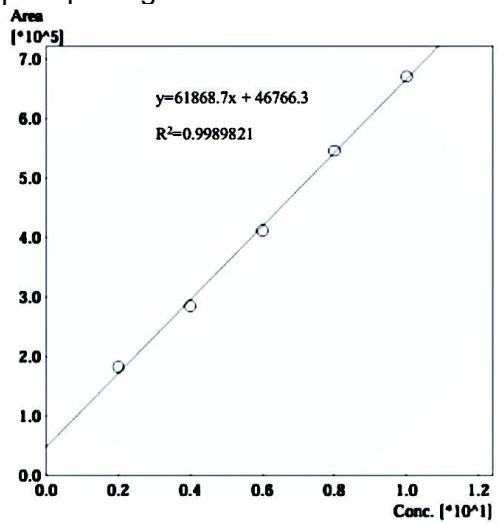
Pada larutan baku hidrokuinon dengan menggunakan fase gerak asetonitril : metanol diperoleh waktu retensi 1,793 menit.

c. Larutan Standar Hidrokuinon (Metanol : Aqua Demineral)

Tabel 1. Luas area larutan standar hidrokuinon metanol : aqua demineral

Conc.(Ratio)	MeanArea	Area
2	181455	181455
4	283414	283414
6	410907	410907
8	544535	544535
10	669581	669581

Hasil dari luas area yang didapatkan kemudian dibuat kurva baku untuk mengetahui hasil persamaan regresi seperti pada gambar berikut:



Gambar 3. kurva baku hidrokuinon metanol:aquademineral

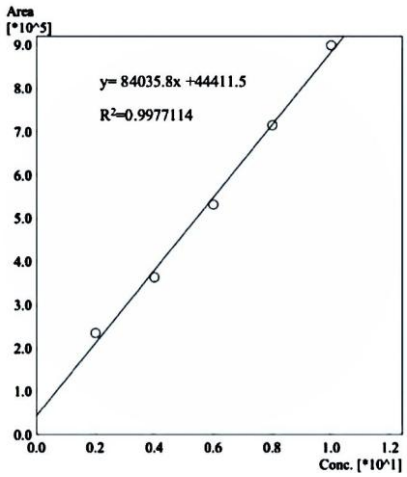
Dari hasil data kurva baku standar hidrokuinon pada penggunaan fase gerak metanol : aqua demineral penelitian ini menunjukkan bahwa hasil nilai koefisien korelasi sebesar 0,9989821 dengan persamaan regresi linier yang diperoleh adalah y = 61868.7x + 46766.3.

d. Larutan Standar Hidrokuinon (Asetonitril : Metanol)

Tabel 2. Luas area larutan standar hidrokuinon asetonitril : metanol

Conc.(Ratio)	MeanArea	Area
2	234621	234621
4	363053	363053
6	531690	531690
8	714525	714525
10	899243	899243

Hasil dari luas area yang didapatkan kemudian dibuat kurva baku untuk mengetahui hasil persamaan regresi seperti pada gambar berikut:



Gambar 4. Kurva baku hidrokuinon asetonitril : metanol

Dan penggunaan fase gerak asetonitril : metanol pada penelitian ini menunukkan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9977114 dengan persamaan regresi linier yang diperoleh adalah y = 84035.8x + 44411.5.

e. Penetapan Kadar Hidrokuinon

Tabel 3. Hasil penetapan kadar hidrokuinon

Larutan	Konsentrasi (ppm)
Metanol : Aqua Demineral (200 ml : 300 ml)	18.760
Asetonitril : Metanol (200 ml : 300 ml)	2.263

Penetapan kadar hidrokuinon ini dilakukan dengan menginjeksikan sejumlah 40 µL larutan baku hidrokuinon yang telah dipreparasi kedalam instrumen KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). Luas area yang dihasilkan dapat diamati dari hasil kromatogram larutan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penggunaan fase gerak metanol : aqua demineral menghasilkan kadar hidrokuinon sebesar 18,76 ppm, sedangkan fase gerak asetonitril : metanol hanya menghasilkan kadar 2,263 ppm.

f. Validasi Metode Analisis

Tabel 4. Hasil uji validitas metanol : aqua demineral

No	Validasi	Hasil	Syarat
1	Linieritas	0,9989821	Mendekati 1
2	LOD	0,428 ppm	< 2 ppm
3	LOQ	1,428 ppm	>10 ppm

4	Presisi	0,856 %	%RSD < 11%
5	Akurasi	106%	80-120%

Tabel 5. Hasil uji validitas asetonitril : metanol

No	Validasi	Hasil	Syarat
1	Linieritas	0,9977114	Mendekati 1
2	LOD	0,643 ppm	< 2 ppm
3	LOQ	2,143 ppm	>10 ppm
4	Presisi	2,06 %	%RSD < 11%
5	Akurasi	109%	80-120%

Uji validasi dalam penelitian ini meliputi pengujian linearitas, sensitivitas (LOD dan LOQ), presisi (%RSD), serta akurasi (% recovery) untuk dua fase gerak berbeda: metanol:aqua demineral (2:3) dan asetonitril:metanol (2:3) menggunakan KCKT.

a) Linearitas

Kedua fase gerak menunjukkan linearitas yang sangat baik dengan nilai koefisien korelasi (r) mendekati 1, yaitu 0,9989821 untuk metanol:aqua demineral dan 0,9977114 untuk asetonitril:metanol. Hal ini menandakan bahwa terdapat hubungan proporsional yang konsisten antara konsentrasi hidrokuinon dan luas area puncak, yang memenuhi syarat linearitas metode kuantitatif.

b) Sensitivitas (LOD dan LOQ)

Fase gerak metanol:aqua demineral menunjukkan LOD sebesar 0,428 ppm dan LOQ sebesar 1,428 ppm, lebih rendah dibandingkan asetonitril:metanol dengan LOD 0,643 ppm dan LOQ 2,143 ppm. Nilai yang lebih rendah menandakan bahwa metode dengan metanol:aqua demineral lebih sensitif dalam mendeteksi dan mengukur hidrokuinon pada konsentrasi rendah.

c) Presisi

Hasil %RSD untuk metanol : aqua demineral adalah 0,856%, sedangkan untuk asetonitril:metanol adalah 2,06%. Kedua nilai ini berada di bawah batas maksimum 11%, yang berarti metode tersebut cukup presisi, dengan fase gerak metanol: aqua demineral menunjukkan presisi yang lebih baik.

d) Akurasi

Nilai akurasi diperoleh sebesar 106% untuk metanol:aqua demineral dan 109% untuk asetonitril:metanol. Keduanya berada dalam rentang yang diperbolehkan (80–120%), menunjukkan bahwa metode valid dalam menghasilkan hasil yang mendekati nilai sebenarnya

PEMBAHASAN

Penetapan kadar hidrokuinon pada penelitian ini menggunakan 2 fase gerak yang berbeda dengan menggunakan alat KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol : aqua demineral dengan perbandingan 2:3 dan asetonitril : metanol dengan perbandingan 2:3. Senyawa hidrokuinon pada penelitian ini ditambahkan dengan pelarut metanol. Metanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar, sehingga bebas berikatan dengan non polar ataupun pola (Edison et al., 2020). Hal ini sesuai pernyataan (Fudjayanti & Suarantika, 2022) bahwa hidrokuinon bersifat polar. Pemilihan kedua kombinasi tersebut didasarkan pada sifat polaritas pelarut serta kompatibilitasnya dengan karakteristik kimia hidrokuinon. Hidrokuinon diketahui memiliki gugus hidroksil aromatik yang menyebabkan senyawa ini bersifat polar (Fudjayanti & Suarantika, 2022). Oleh karena itu, diperlukan fase gerak dengan polaritas yang sesuai agar mampu melarutkan dan mengelusi hidrokuinon secara optimal. Fase gerak metanol : aqua demineral (2:3) menghasilkan sistem yang sangat polar, karena mengombinasikan pelarut semi polar (metanol) dengan pelarut polar kuat (aqua demineral). Sistem ini memungkinkan terjadinya interaksi yang tinggi antara fase gerak dan hidrokuinon, sehingga waktu retensi yang dihasilkan cenderung lebih panjang dan resolusi pemisahan menjadi lebih baik. Hal ini sejalan dengan penelitia (Gandjar & Rohman, 2017) yang menunjukkan bahwa kombinasi metanol dan air efektif dalam pemisahan senyawa fenolik polar pada kolom reverse-phase.

Sebaliknya, kombinasi asetonitril : metanol (2:3) membentuk sistem fase gerak dengan polaritas yang lebih rendah dibanding sistem sebelumnya. Asetonitril merupakan pelarut polar aprotik dengan kekuatan elusi yang lebih tinggi, viskositas yang lebih rendah, serta tidak membentuk ikatan hidrogen dengan analit. Keunggulan ini menjadikan asetonitril lebih efisien dalam mempercepat proses elusi dan menghasilkan tekanan sistem yang lebih stabil. Keberadaan metanol dalam campuran tersebut tetap mempertahankan kemampuan pelarut dalam melarutkan hidrokuinon, sekaligus memberikan pengaruh terhadap kestabilan dan ketajaman puncak. Penelitian (Putri et al., 2024) mendukung temuan ini, di mana campuran asetonitril-metanol mampu menghasilkan puncak kromatografik yang tajam dan waktu analisis yang lebih singkat untuk senyawa polar.

a. Waktu Retensi Larutan Baku Hidrokuinon

Hasil setelah diinjeksikan larutan baku hidrokuinon pada panjang gelombang 295 nm. Pada fase gerak metanol : aqua demineral diperoleh waktu retensi 2,686 menit. Dan pada fase gerak asetonitril : metanol diperoleh waktu retensi 1,793 menit. Pernyataan hasil tersebut didukung dengan penelitian (Rejeki & Pramiastuti, 2022) yang menyatakan bahwa peak senyawa hidrokuinon akan naik pada menit ke 1-2. Pada penelitian ini menggunakan fase gerak yang berbeda dan larutan baku 50 ppm yang diinjeksikan untuk pengujian dengan fase gerak yang berbeda ke dalam instrumen KCKT adalah larutan yang sama. Namun, pada hasil waktu retensi yang dihasilkan oleh kedua fase gerak tersebut berbeda. Hal ini disebabkan karena fase gerak metanol : aqua demineral memiliki polaritas yang lebih tinggi dibandingkan asetonitril : metanol. Dalam kromatografi fase terbalik (reverse phase), fase diam bersifat non-polar (biasanya menggunakan kolom C18), sedangkan fase gerak bersifat lebih polar. Senyawa hidrokuinon yang juga bersifat polar akan berinteraksi lebih kuat dengan fase diam ketika digunakan fase gerak yang lebih polar seperti metanol : aqua

demineral, sehingga elusi berlangsung lebih lambat dan menghasilkan waktu retensi yang lebih panjang. Sebaliknya, ketika menggunakan fase gerak asetonitril : metanol yang memiliki polaritas lebih rendah dan kekuatan elusi yang lebih tinggi, hidrokuinon akan lebih cepat terelusi dari kolom, sehingga waktu retensinya lebih singkat.

b. Linieritas

Kurva baku dapat dikatakan baik apabila hasil yang diperoleh linier dimana parameter linieritas ditentukan dari nilai koefisien korelasi mendekati 1 menunjukkan bahwa hubungan linier antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan sangat baik (Sharger, 1985 dalam (Manoppo *et al*., 2019). Dari hasil data kurva baku standar hidrokuinon pada penggunaan fase gerak metanol : aqua demineral penelitian ini menunjukkan bahwa hasil nilai koefisien korelasi sebesar 0,9989821 dengan persamaan regresi linier yang diperoleh adalah y = 61868.7x + 46766.3. Dan penggunaan fase gerak asetonitril : metanol pada penelitian ini menunukkan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9977114 dengan persamaan regresi linier yang diperoleh adalah y = 84035.8x + 44411.5. Secara keseluruhan, kedua sistem pelarut menunjukkan hasil regresi linier yang valid dengan nilai $R^2 > 0.997$, yang berarti bahwa metode ini mampu memberikan respons yang proporsional dengan konsentrasi hidrokuinon pada rentang yang diuji. Linearitas yang baik merupakan dasar penting bagi validitas metode kuantitatif dalam analisis kimia.

c. Penetapan Kadar Hidrokuinon

Penetapan kadar hidrokuinon pada optimasi pemilihan fase gerak dilakukan dengan penginjeksian larutan baku hidrokuinon 50 ppm ke dalam instrumen KCKT dengan laju alir 1 ml/menit, volume injeksi 40 µl dengan panjang gelombang 295 nm. Hasil yang didapatkan ialah berupa kromatogram. Berdasarkan luas area yang diperoleh, maka dapat dilakukan perhitungan kadar hidrokuinon. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penggunaan fase gerak metanol : aqua demineral menghasilkan kadar hidrokuinon sebesar 18,76 ppm, sedangkan fase gerak asetonitril : metanol hanya menghasilkan kadar 2,263 ppm.

Nilai kadar yang lebih tinggi pada fase metanol : aqua demineral menunjukkan sistem pemisahan yang lebih efisien untuk hidrokuinon, yang secara struktur kimia merupakan senyawa polar dengan dua gugus hidroksil (-OH), sehingga memiliki afinitas lebih tinggi terhadap pelarut polar.

Penelitian ini didukung oleh (Mar'Atus, 2021) menunjukkan bahwa penggunaan larutan baku hidrokuinon 50 ppm menghasilkan kadar uji sebesar 48,94 ppm. Nilai ini sangat mendekati konsentrasi baku, dengan selisih kurang dari 1,1 ppm. Keselarasan nilai tersebut menunjukkan bahwa larutan baku yang digunakan telah terukur dengan tepat dan menghasilkan data yang valid. Konsistensi antara nilai baku dan kadar uji ini memperlihatkan bahwa proses analisis mampu merepresentasikan kondisi sebenarnya dari sampel uji.

Jika dikaitkan dengan hasil penelitian ini, kadar hidrokuinon yang diperoleh pada fase gerak metanol : aqua demineral sebesar 18,76 ppm memang belum mendekati kadar larutan baku 50 ppm, namun masih menunjukkan kemampuan deteksi dan pemisahan yang jauh lebih baik dibandingkan sistem asetonitril : metanol. Hal ini sejalan dengan prinsip kimia-fisika, di mana senyawa polar seperti hidrokuinon lebih larut dan stabil dalam pelarut polar seperti metanol dan air, sehingga mampu membentuk interaksi yang lebih baik dengan fase diam dalam sistem reverse phase dan menghasilkan puncak kromatogram yang tajam serta

luas area yang memadai. Sebaliknya, fase gerak asetonitril : metanol yang memiliki polaritas lebih rendah menghasilkan kadar yang jauh di bawah larutan baku, yaitu hanya 2,263 ppm, yang mencerminkan efisiensi elusi yang kurang optimal. Elusi yang terlalu cepat menyebabkan waktu retensi pendek dan puncak yang sempit, sehingga luas area menjadi lebih kecil dan kadar yang dihitung lebih rendah. Dengan membandingkan hasil kadar dalam penelitian ini dengan penelitian terdahulu yang juga menggunakan larutan baku dalam kisaran serupa, dapat disimpulkan bahwa penggunaan sistem dengan polaritas yang sesuai sangat mempengaruhi hasil kadar akhir. Fase gerak metanol : aqua demineral terbukti memberikan kadar hidrokuinon yang lebih representatif dibandingkan fase gerak asetonitril : metanol.

d. LOD & LOQ (Sensitivitas)

Pada penentuan LOD dan LOQ pada fase gerak metanol : aqua demineral menunjukkan hasil 0,428 dan 1,428. Nilai ini menunjukkan bahwa metode ini mampu mendeteksi hidrokuinon pada konsentrasi serendah 0.428 ppm dan mengkuantifikasinya mulai dari 1.428 ppm secara andal. Dan pada fase gerak menggunakan asetonitril : metanol LOD dan LOQ menunjukkan hasil 0,643 dan 2,143. Hasil ini menunjukkan bahwa metode ini memiliki sensitivitas yang cukup baik, meskipun LOD dan LOQ sedikit lebih tinggi dibandingkan sistem Metanol : Aqua Demineral. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin sensitif suatu metode analisis tersebut. Secara keseluruhan, kedua sistem pelarut menunjukkan kemampuan deteksi dan kuantifikasi hidrokuinon dalam konsentrasi rendah (Dwi Anggraini et al., 2023; Gandjar & Rohman, 2017).

e. Presisi

Pada penentuan presisi, metode analisis yang divalidasi memiliki ketelitian yang baik apabila nilai % RSD memenuhi persyaratan yang dapat diterima yaitu tidak melebihi dari 11% (Mei Widiyanti et al., 2024). Berdasarkan hasil yang diperoleh pada fase gerak metanol : aqua demineral presisi memiliki nilai 0,856%. Dan pada fase gerak asetonitril : metanol memiliki hasil 2,06% menunjukkan penelitian ini memenuhi persyaratan presisi yang ditetapkan. Kedua sistem pelarut menunjukkan hasil presisi yang dapat diterima. Metanol : Aqua Demineral memiliki presisi yang lebih baik, namun kedua pelarut tetap menghasilkan hasil yang konsisten dan valid untuk keperluan analisis kuantitatif.

f. Akurasi

Pada penentuan akurasi metode validasi dinyatakan memenuhi syarat apabila persen perolehan kembali berada dalam rentang 80–120% (Chandra et al., 2020). Akurasi merupakan salah satu parameter validasi metode yang menggambarkan sejauh mana hasil analisis mendekati nilai sebenarnya. Berdasarkan hasil yang diperoleh, nilai akurasi metanol : aqua demineral adalah 106%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada penelitian ini memenuhi persyaratan akurasi yang ditetapkan. Dan berdasarkan hasil yang diperoleh, nilai akurasi asetonitril : metanol adalah 109%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada penelitian ini memenuhi persyaratan akurasi yang ditetapkan. Secara keseluruhan kedua sistem pelarut, yaitu Metanol : Aqua Demineral dan Asetonitril : Metanol, menunjukkan hasil akurasi yang umumnya memenuhi kriteria validasi metode. Dan kedua pelarut menghasilkan nilai % recovery yang berada dalam kisaran 80–120% mengindikasikan bahwa metode ini mampu mengukur hidrokuinon secara akurat dalam kondisi yang telah diuji.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan yaitu bertujuan untuk membandingkan optimasi dua jenis fase gerak, yaitu metanol : aqua demineral (2:3) dan asetonitril : metanol (2:3), dalam penetapan kadar hidrokuinon menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Hasil analisis menunjukkan bahwa meskipun jenis fase gerak berbeda memberikan perbedaan signifikan terhadap hasil analisis kadar hidrokuinon menggunakan KCKT. Fase gerak metanol : aqua demineral menghasilkan waktu retensi yang lebih lama dan kadar hidrokuinon yang lebih tinggi, serta memberikan hasil validasi metode yang lebih baik dari segi linieritas, sensitivitas, presisi, dan akurasi. Dengan demikian, fase gerak metanol : aqua demineral (2:3) dinyatakan sebagai fase gerak yang paling optimal untuk penetapan kadar hidrokuinon dalam penelitian ini.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, fase gerak metanol demineral (2:3) lebih optimal dibandingkan asetonitril (2:3) dalam penetapan kadar hidrokuinon menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Fase gerak metanol demineral menghasilkan waktu retensi 2,686 menit dan kadar hidrokuinon 18,760 ppm, dengan linearitas 0,9989821, LOD 0,428 ppm, LOQ 1,428 ppm, presisi 0,856%, dan akurasi 106%. Kedua fase gerak memenuhi parameter validasi yang dilaporkan, tetapi metanol demineral menunjukkan sensitivitas dan presisi lebih baik sehingga dapat dipertimbangkan sebagai fase gerak untuk analisis hidrokuinon.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan khususnya kepada apt. Rahmadani, M.Farm, Nur Hidayah, MT, serta apt. Tuti Alawiyah, S.Farm.,MM yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama proses penelitian ini hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini..

DAFTAR PUSTAKA

Chandra, E. H., Sarudji, S., Maslachah, L., Sukmanadi, & Utama, S. (2020). Penetapan Retention Time Progesteron Dalam Pelarut Eluen Phase Mobile Menggunakan High Performance Liquid Chromatography. *Journal Of Basic Medical Veterinary*, *9 (1)*, 13–21.

Dwi Anggraini, Y., Anwar, K., & Budiarti, A. (2023). Analisis Kadar Hidrokuinon Dan Asam Kojic Dalam Tiga Merek Dagang Body Lotion Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Ilmiah Sains*, *23*(1), 20–30. Https://Doi.Org/10.35799/Jis.V23i1,45703

Edison, Diharmi, A., Ariani, N. M., & Ilza, M. (2020). Bioactive Components And Antioxidant Activity Of Sargassum Plagiophyllum Crude Extract. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, *23*(1), 58–66. Https://Doi.Org/10.17844/Jphpi.V23i1.30725

Fudjayanti, S., & Suarantika, F. (2022). Tinjauan Pustaka Metode Analisis Senyawa Hidrokuinon Dalam Sediaan Krim. *Jurnal Riset Farmasi (Jrf)*, *2 (2)*.

Gandjar, G. I., & Rohman, A. (2017). *Analisis Obat Secara Spektrofotometri Dan Kromatografi*.

Handoyo, T. R., Purnomo, G. A., Maryanto, C. D., & Gani, M. R. (2022). Validasi Dan Penetapan Kadar Senyawa Rutin Pada Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera Cordifolia (Ten.) Steenis) Dengan Metode Kckt. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi*, *12*(1), 1–13. Https://Doi.Org/10.33751/Jf.V12i1.3596

International Council For Harmonisation Of Technical Requirements For Pharmaceuticals For Human Use. (2023). *Ich Harmonised Guideline: Validation Of Analytical Procedures Q2(R2).* Https://Database.Ich.Org/Sites/Default/Files/Ich_Q2%28r2%29_Guideline_2023_1130.Pdf

Manoppo, T. M., Sudewi, S., & Wewengkang, D. S. (2019). *Analisis Pemanis Natrium Siklamat Pada Minuman Jajanan Yang Dijual Di Daerah Sekitar Kampus Universitas Sam Ratulangi Manado*. *8*.

Mar'atus. (2021). *Analisis Kadar Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Dengan Metode Kckt (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi)*. Stikes Bhakti Husada Mulia Madium.

Mayola Pisacha, I., Dwiningrum, R., Nursoleha, E., & Sutomo, A. (2023). Review: Analisis Kualitatif Dan Kuantitatif Hidrokuinon Pada Sediaan Krim Pemutih Wajah Yang Beredar Di Pasaran. *Jurnal Farmasi Aisyah*, *2*(1), 35–45. Https://Journal.Aisyahuniversity.Ac.Id/Index.Php/Jfa/Article/View/Analisisiga

Mei Widiyanti, P., Widiastuti, R., Sudarwanto, M. B., & Sudarnika, E. (2024). *Validasi Metode Analisis Residu Antibiotik Enrofloksasin Dalam Susu Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt)*.

Nasiroh, N., Rahmadani, R., Salwati, S., & Alawiyah, T. (2024). *Identifikasi Kadar Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Yang Beredar Di Marketplace*. *4(2)*, 250–258. Https://Doi.Org/10.33859/Jpcs

Putri, A. R., Adelsa, A., Wulan, & Dinar, Na. (2024). *Analisis Kadar Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Badan Yang Beredar Di Toko Kosmetik Area Kota Malang Menggunakan High Performance Liquid Chromatography (Hplc)*.

Rejeki, D. S., & Pramiastuti, O. (2022). Analisis Hidrokuinon Pada Lima Merk Produk Krim Malam Menggunakan Metode High Performance Liquid Chromatography (Hplc). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kesehatan*, *13*(2), 2022–2023. Http://Ojs.Stikesbhamadaslawi.Ac.Id/Index.Php/Jik

Rosita, R., Ardianto, N., & Wardana, F. Y. (2024). Analisis Kandungan Hidrokuinon Pada Krim Whitening Yang Beredar Di Toko Kosmetik X Desa Purwosari Kabupaten Pasuruan. *Journal Medicine And Clinical Pharmacy*, *1*(1), 1–7. Https://Doi.Org/10.47794/Medclip.V1i1.1

Rosydiati. (2019). *Karakteristik Puncak Kromatogram Dalam High Performance Liquid Chromatography (Hplc) Terhadap Perbedaan Fase Gerak, Laju Alir, Dan Penambahan Asam Dalam Analisis Indole Acetic Acid (Iaa)* . 65–73.

Sa'diyah, Rahmadani, & Malahayati, S. (2023). Penetapan Kadar Metilparaben Pada Krim Pemutih Wajah Yang Beredar Di Kecamatan Mentaya Hilir Utara Menggunakan Hplc (High Performance Liquid Chromatography). *Journal Of Pharmaceutical Care And Sciences (Jpcs)*, *4 (1)*, 192–201. Https://Doi.Org/10.33859/Jpcs

Saputri, R., & Hakim, A. R. (2021). *Metodologi Penelitian Kesehatan* (R. Saputri & A. R. Hakim, Eds.). Cv. Pena Persada. Widiastuti, H., Nurkhalisah, D., & Aminah. (2024). Analisis Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Wajah Yang Beredar Di Kabupaten Pinrang. *Makassar Pharmaceutical Science Journal*, *2*(1), 122–134. Https://Journal.Farmasi.Umi.Ac.Id/Index.Php/Mpsj

U.S. Food And Drug Administration. (2024). *Q2(R2) Validation Of Analytical Procedures: Guidance For Industry.* Https://Www.Fda.Gov/Regulatory-Information/Search-Fda-Guidance-Documents/Q2r2-Validation-Analytical-Procedures