

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Deskripsi Metode Penelitian

Metode penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini adalah *review artikel*. *Review artikel* ini biasanya berisi tentang temuan atau penelitian yang didapatkan dari beberapa sumber data hasil dari penelitian maupun pendapat para ahli. *Review artikel* yaitu suatu metode penelitian yang digunakan untuk pengambilan kesimpulan dengan menggabungkan dua atau lebih penelitian artikel sejenis sehingga didapatkan perolehan data secara kuantitatif. Metode ini bertujuan untuk mengembangkan kesimpulan umum dari beberapa artikel yang dilakukan dengan cara membuat rekapitulasi data dengan cara mengevaluasi karya ilmiah hasil dari penelitian dan hasil dari pemikiran yang sudah dibuat oleh peneliti agar tidak perlu dilakukan penelitian eksperimental. Berikut proses dalam melakukan literature review pada penelitian ini :

1. Mencari jurnal atau *review artikel* yang berkaitan dengan penelitian mengenai kandungan asam retinoat pada krim pemutih
2. Melakukan perbandingan beberapa artikel penelitian yang digunakan dengan merujuk pada simpulan umum pada masing- masing artikel tanpa dilakukan *analisis statistic*.
3. Menyimpulkan hasil dari perbandingan artikel yang disesuaikan dengan tujuan penelitian.

Pada pengumpulan artikel sejenis digunakan kata kunci yang dipilih yaitu : krim pemutih, kosmetik, asam retinoat, metode KCKT, validasi metode. Sumber dari pengumpulan artikel ini dilakukan melalui : *google scholar*. Artikel yang digunakan pada literature ini menggunakan artikel dengan terbitan tahun 2018-2020 menggunakan kriteria format PDF, serta menggunakan artikel berbahasa Indonesia dan berbahasa inggris. Artikel yang digunakan yaitu artikel kriteria inklusi dan eksklusi, berikut kriteria inklusi dan eksklusi yaitu :

1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah karakteristik umum subjek penelitian dari suatu populasi target yang terjangkau dan akan diteliti.

Kriteria inklusi pada penelitian adalah :

- a. Artikel yang digunakan diterbitkan pada tahun 2011-2021 dengan kriteria format PDF
- b. Artikel yang digunakan terkait dengan topik penelitian asam retinoat pada krim pemutih
- c. Merupakan penelitian eksperimental

2. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah ciri-ciri anggota populasi yang tidak dapat diambil sebagai sampel.

Kriteria eksklusi pada penelitian adalah :

- a. Artikel yang diterbitkan kurang dari tahun 2010.
- b. Artikel merupakan *review artikel*

B. Informasi Jumlah dan Jenis Artikel

Pada penelitian ini digunakan 5 Artikel yang terdiri dari 2 artikel Nasional dan 3 artikel Internasional. Jurnal yang akan digunakan pada *literature review* ini diperoleh secara elektronik melalui *Google Scholars*.

C. Isi Artikel

Paparan data dari jurnal yang akan digunakan :

a. Artikel pertama

Judul artikel	: Development and Validation Method for Simultaneous Analysis of Retinoic Acid, Hydroquinone and Corticosteroid in Cream Formula by High-Performance Liquid Chromatography
Nama jurnal	: Journal of Applied Pharmaceutical Science
Penerbit	: MediPoeia
Volume dan halaman	: Volume 8(09) halaman 087-092
Tahun terbit	2018
Penulis artikel	: Elvi Rahmayuni, Harmita, Herman Suryadi
Isi artikel	
Tujuan penelitian	: digunakan untuk mengembangkan suatu metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) baru yang lebih cepat, sederhana, murah, sensitif dan divalidasi untuk

penentuan HYQ, DEX, TSA, HYA, BEV dan
REA secara bersamaan dalam krim.

Metode penelitian

Desain : Eksperimental
Populasi : Krim pemutih
Sampel : Asam retinoat
Instrumen : HPLC Waters Alliance e2695 dengan
detektor Waters 2998 photo array (PDA),
kolom Waters X Bridge C18 5 μm (4,6 mm x
250).

Metode analisis :

1. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang dilakukan pemisahan menggunakan kolom C18. Pada komponen fase gerak untuk elusi gradien yang digunakan berupa campuran ACN: larutan asam format 0,1%. Sebelum digunakan, fase gerak akan dilakukan penyaringan menggunakan filter membran 0,45 μm kemudian dipisahkan dengan ultrasonikasi. Pada laju aliran dipertahankan pada 1,2 mL / menit dengan suhu kolom 40 ° C. Volume injeksi adalah 20 μL , kemudian dideteksi yang dilakukan pada panjang gelombang 210-400 nm menggunakan detektor PDA.
2. Pembuatan larutan standar : ditimbang obat sebanyak 25 mg secara akurat, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. kemudian obat dilarutkan dengan methanol, kemudian larutan diencerkan hingga batas volume.

3. Validasi metode terdiri dari Spesifikasi, Linieritas, LOD dan LOQ, Presisi, Akurasi.

Hasil penelitian :

Tabel 3.1 Presentasi Hasil Pengujian Formulasi yang Dipasarkan.

Sampel	Komponen	%jumlah rata-rata	SD	%RSD
1	Hydroquinone	99,86	0,8600	0,8612
2	Triamcinolone acetoneide	100,13	0,3022	0,3018
3	Hydrocortisone acetate	97,02	0,1760	0,1814
4	Betametason valerat	102,50	0,7606	0,7420
5	Asam retinoat	104,87	0,9222	0,8795

Pada hasil penelitian ini diperoleh hasil hidrokuinon dan Asam retinoat pada saat dipindai dengan PDA detector pada panjang gelombang 210-400 nm. Hasil pengukuran ini kemudian disajikan dalam bentuk tabel diatas . Pada analisis sampel pasar ini, sampel DEX tidak dilakukan pengujian. Pada tabel diatas analisis dilakukan pada krim kemudian didapatkan kadar pada krim dengan kandungan kadar HYQ (2%), TSA (0,1%), HYA (0,1%), BEV (0,1%), dan REA (0,1%) komersial. Pada puncak yang tajam dan dapat terdefinisi dengan baik yaitu untuk HYQ, TSA, HYA, BEV, dan REA.

Pada tabel hasil dari validasi metode analisis simultan dari obat sebagai berikut: hydroquinone (HYQ), dexamethasone (DEX), triamcinolone acetoneide (TSA), hydrocortisone acetate (HYA), betamethasone valerate (BEV) and retinoic asam (REA) dalam bentuk sediaan krim.

Tabel 3.2 Hasil Parameter Validasi Metode Dalam Jurnal

No	Parameter	HQ	DM	TA	HA	BV	RA	Limits
1	Spesifikasi	Tidak ada gangguan puncak eksepien dengan puncak analit						
2	Jarak							
	—linearitas range	25-150 µg/ml						
	—target konsentrasi	100 µg/ml						
	—V _{xo}	1,670	1,545	2,051	1,576	0,935	1,526	≤ 5,0
	—R	1,000	1,000	0,999	1,000	1,000	1,000	≥ 0,999
3	LOD	2,123	1,964	2,607	2,003	1,188	1,940	—
4	LOQ	7,077	6,545	8,689	6,676	3,960	6,465	—

Tabel 3.3 Hasil parameter presisi dan akurasi pada validasi metode

Konsentrasi		Parameter		
		Precision		Ketepatan
		RSD (%)	Horrat	%Pemulihan
HQ	50	1,289	0,606	99,70
	100	0,289	0,151	100,96
	150	1,656	0,918	99,28
	50	1,331	0,626	99,76
DM	100	1,621	0,846	99,05
	150	0,992	0,551	100,80
	50	1,417	0,667	99,79
TA	100	2,535	1,323	99,14
	150	1,816	1,009	100,84
	50	1,187	0,559	100,07
HA	100	2,011	1,050	99,34
	150	1,905	1,058	100,63
	50	1,300	0,612	100,27
BV	100	0,932	0,486	99,28
	150	0,118	0,621	100,43
	50	0,232	0,109	99,83
RA	100	0,912	0,476	99,27
	150	0,517	0,287	100,14

Pada uji validasi metode didapatkan hasil linieritas yang baik dengan koefisien korelasi yaitu 0,9990; 0,9991; 0,9984; 0,9991; 0,9997 dan 0,9991 pada kisaran 25-150 µg / ml untuk masing-masing HYQ, DEX, TSA, HYA, BEV dan REA. Hasil dari LOD dan LOQ pada analisis simultan ini didapatkan hasil 2,14 µg / mL dan 7,14 µg / mL untuk HYQ, 1,96 µg / mL dan 6,52 µg / mL untuk DEX, 2,59 µg / mL dan 8,62µg / mL untuk TSA, 1,98 µg / mL dan 6,61 µg / mL untuk HYA, 1,19 µg / mL dan 3,98 µg / mL untuk BEV, dan 1,95 µg / mL dan 6,50 µg / mL untuk REA, pada hasil analisis spesifikasi didapatkan hasil 25, 3039 untuk DM; 3,2606 untuk TA; 4,2133 untuk HA; 23,3667 untuk BV;

29,7337 untuk REA. Pada analisis didapatkan hasil dari Akurasi, hasil tersebut diperoleh dari Pemulihan metode yaitu 99,05-100,96%. Nilai-nilai pemulihan dalam tabel diatas ini menunjukkan bahwa metode yang dilakukan tersebut dapat dikatakan akurat. Pada hasil analisis presisi didapatkan hasil DM, BV, RA < 2% pada kadar analit 100% sedangkan pada hasil presisi untuk TA, HA didapatkan hasil > 2% pada kadar analit 100%.

Kesimpulan :

Metode HPLC ini merupakan metode yang sederhana, linier, dan akurat sehingga tepat dikembangkan dan divalidasi untuk melakukan analisis simultan HYQ, DEX, TSA, HYA, BEV dan REA dalam formulasi topikal krim. Pada hasil dari validasi tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan tersebut tepat, linier dan akurat, yang bisa membuktikan keandalan metode yang diusulkan. Metode ini bisa berhasil diterapkan untuk dilakukan analisis rutin dan kendali mutu dalam bentuk sediaan farmasi.

b. Artikel kedua

Judul artikel : Application of Liquid Chromatography
Photodiode Array Detector for Analysis of
Whitening Agents in Cream Cosmetics
Nama jurnal : Journal of Applied Pharmaceutical Science
Penerbit : MediPoeia
Volume dan halaman : Volume 8 (05) Halaman 143-147

Tahun terbit 2018

Penulis artikel : Abdul Rohman , Sudibyo Martono , Iis
Febriani

Isi artikel

Tujuan penelitian : Digunakan untuk melakukan penentuan
hidroquinon dan asam retinoat secara
simultan dalam sampel kosmetik.

Metode penelitian

Desain : Eksperimental

Populasi : Krim pemutih

Sampel : Asam retinoat

Instrumental : digunakan untuk penentuan HQ dan RA
secara simultan dalam sampel kosmetik,
menggunakan photodiode array detector
(PDA) dengan panjang gelombang 310 nm.
spektrofotometer UV 1800

Metode analisis :

1 . Metode KCKT ini dilakukan dengan menggunakan kolom RP-18 *end-chapped* (250 x 4,6 mm, 5 μ m) dilakukan pada saat suhu 45 ° C. Pada kondisi optimal fase gerak yaitu metanol: air: asam asetat glasial (88: 12: 0,4 v/ v / v), pada laju alir 1,2 mL / menit. Volume injeksi ditetapkan pada 20 μ L.

2. Pembuatan larutan standar : ditimbang secara akurat 6,25 asam retinoat menggunakan timbangan mikro-analitik, kemudian ditambah dengan pelarut yaitu campuran metanol: air: asam asetat glasial (88: 12: 0,4 v / v / v) dalam labu ukur 50 ml.
3. Validasi metode yang terdiri dari Selektivitas, Linieritas, Presisi, LOD dan LOQ, dan Ketahanan.

Hasil penelitian :

Optimasi kondisi KCKT tersebut dimaksudkan agar mendapatkan pemisahan pada hidrokuinon dan asam retinoat dengan optimum berdasarkan resolusi, jumlah pelat teoritis (H), dan faktor tailing (TF) dengan waktu retensi yang dapat diterima. Pemilihan kondisi KCKT tersebut didasarkan pada kemampuannya untuk memberikan resolusi (R_s) yang optimal dengan waktu retensi yang dapat diterima. Pada kondisi KCKT yang dioptimalkan, kemudian dilakukan validasi agar dapat menunjukkan karakteristik kinerjanya. Parameter validasi pertama yang dilakukan evaluasi adalah selektivitas menggunakan metode KCKT untuk memisahkan analit (HQ dan RA) secara selektif. Untuk mengevaluasi kesalahan acak dan sistematis yang terjadi selama analisis dilakukan yaitu dengan menggunakan dua parameter yaitu presisi dan akurasi dievaluasi. Ketepatan pada kondisi KCKT yang

dioptimalkan dan dievaluasi yaitu dengan pengulangan (uji intra-hari) dan presisi menengah (uji antar-hari). Nilai RSD digunakan untuk evaluasi presisi.

Keakuratan pada metode analisis ini dievaluasi dengan menggunakan spiked placebo dan dilakukan persentase pemulihan yang dapat digunakan sebagai indikasi akurasi. Rata-rata% recovery yang diperoleh adalah 100% untuk HQ dan 99.67% untuk RA. % Nilai recovery yang dibutuhkan pada level analit 1 ppm adalah 80-110%, oleh karena itu pada metode KCKT yang divalidasi dinyatakan akurat. Ketahanan dilakukan dengan cara mengubah suhu oven dari suhu optimum yaitu 45 ° C menjadi ± 5 ° C, yaitu 40 ° C, 45 ° C, dan 50 ° C. Pada hasil uji ANOVA kemudian dilanjutkan lagi dengan melakukan uji independen untuk menunjukkan bahwa perubahan suhu terhadap nilai yang ditentukan tidak dapat berpengaruh secara signifikan ($P > 0,05$). Berdasarkan hasil validasi tersebut bisa disimpulkan bahwa KCKT pada kondisi optimal dinyatakan valid untuk analisis HQ dan RA pada sampel nyata.

Kesimpulan :

KCKT pada fase terbalik menggunakan fase gerak yang dioptimalkan, fase gerak tersebut terdiri dari campuran metanol: air: asam asetat glasial (88: 12: 0,4 v / v / v) secara isokratik dengan laju alir 1,2 mL / menit berhasil digunakan untuk menganalisis hidrokuinon dan asam retinoat pada krim kosmetik. Metode yang dikembangkan ini

dikatakan relatif cepat dan tidak melibatkan preparasi sampel yang ekstensif.

c. Artikel ketiga

Judul artikel : Retinoid Acid Analysis Of Night Bleaching Cream Circulating Beautiful Clinic Beauty Of Jambi City In Jelutung District

Nama jurnal : Media Farmasi

Penerbit : Program Studi Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu Jambi

Volume dan Halaman : Vol. 17. No.1. Halaman 1-12

Tahun terbit : 2020

Penulis artikel : Armini Hadriyati, Bermi Hartesi, Siska Fitri

Isi artikel

Tujuan penelitian : Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah krim pemutih yang beredar di Kecamatan Jelutung Kota Jambi mengandung asam retinoat, dan dilakukan untuk mengetahui kandungan asam retinoat

Metode penelitian

Desain : Eksperimental

Populasi : Krim pemutih

Sampel : Asam retinoat

Instrumental :Seperangkat alat KCKT LC-6AD (SHIMADZU®), yang dilengkapi detektor UV-Vis (*Ultraviolet-Visibel* SPD M20A), Sentrifugator, glass ware, Erlenmeyer (Iwaki®), gelas ukur (Iwaki®)), batang pengaduk, spatel, tissue, lemari pendingin (LG®), timbangan analitik (precisa XB 220A®), oven (MEMMERT®), sonikator, vortex mixer, gelas objek dan pH meter.

Metode analisis :

1. Metode KCKT dilakukan dengan menggunakan kolom C18 (*Oktadesil Silane*) 15 cm x 4,6 mm,dengan ukuran partikel 10 µm. Pada metode ini fase gerak yang digunakan berupa Asetonitril: Air: Asamfosfat. Pada artikel ini tidak dijelaskan perbandingan dan kondisi yang digunakan.
2. Pembuatan larutan baku : Pipet larutan standar asam retinoat dengan konsentrasi 10 ppm hingga 2, 4, 6, 8, 10 ml, kemudian masukkan masing-masing asam retinoat kedalam labu ukur 10 ml, lalu tambahkan larutan asetonitril sampai tanda, lalu USG 12 menit untuk menghilangkan gelembung dan udara dalam larutan. Kemudian 20 liter larutan diinjeksikan kedalam alat KCKT dengan laju alir 1,4 ml/menit. Kemudian tuliskan hasil luas puncak.

3. Validasi metode yang terdiri dari Akurasi dan Presisi
4. Validasi Krim yang terdiri dari Uji stabilitas, Uji organoleptis, Homogenitas, Pengukuran PH, Daya sebar, Uji iritasi

Hasil penelitian :

Dari hasil pengamatan waktu retensi asam retinoat dari kromatogram yang diperoleh, pada ketiga perbandingan komposisi fase gerak, kondisi terbaik adalah rasio asam puncak 15,587 menit. Dalam penelitian ini dilakukan verifikasi beberapa parameter pada metode KCKT asam retinoat, yaitu linieritas, LOD dan LOQ, akurasi dan presisi. Penentuan LOD menentukan konsentrasi analit terendah yang dapat diukur, dan penentuan LOQ menentukan konsentrasi terendah yang dapat ditentukan dengan metode akurasi dan presisi yang baik. Uji presisi adalah uji kesesuaian sistem yang dilakukan setelah KCKT. Hasil pemeriksaan ditemukan bahwa krim 1, krim 2, krim 3, krim 4, dan krim 5 yang diambil di klinik kecantikan dan salon Kota Jambi, Kecamatan Jelutung positif asam retinoat, dan tidak sesuai dengan syarat yang ditetapkan oleh BPOM. Dalam penelitian ini, tidak ada partikel yang terlihat dalam uji homogenitas, yang berarti bahwa formulasinya homogen. Hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa nilai pH formulasi krim pemutih berada pada kisaran 4,7 – 5,8, sehingga nilai pH formulasi krim memenuhi persyaratan tersebut. Hasil tes ini menunjukkan bahwa tidak mengiritasi kulit, sehingga suplemen krim pemutih ini dapat digunakan dengan aman sebagai suplemen topikal. Hal ini berkaitan dengan viskositas, jika dispersi tinggi maka viskositas rendah, sebaliknya jika viskositas tinggi maka dispersi rendah.

Jika sediaan mudah diaplikasikan pada kulit, lebih disukai karena lebih mudah dan lebih menyenangkan untuk digunakan.

Berdasarkan persyaratan BPOM untuk bahan krim pemutih, asam retinoat tidak boleh dikandung dalam kosmetik tersebut. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa krim pemutih yang beredar di kecamatan Jelutung Kota Jambi mengandung asam retinoat.

Kesimpulan : Berdasarkan hasil penelitian tersebut, sampel krim 1, 2, 3, 4, dan 5 menunjukkan senyawa asam retinoat positif dan tidak memenuhi persyaratan BPOM yaitu dilarang menggunakan zat berbahaya yaitu asam retinoat. Dalam bahan kosmetik yang menyebabkan iritasi kulit menyebabkan kekeringan, rasa terbakar, teratogenisitas (cacat janin) dan dapat menyebabkan kanker kulit. Krim 1 (klinik) memiliki kandungan asam retinoat 0,032%, krim 2 (klinik) 0,015%, krim 3 (klinik) 0,014%, krim 4 (klinik) 0,021%, krim 5 (klinik) 0,011%.

d. Artikel keempat

Judul artikel	: Analytical Methods Validation of Retinoic Acid and Hydroquinone Using Ultra High Performance Liquid Chromatography in Medicinal Cream
Nama jurnal	: Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal
Penerbit	: Elsevier BV
Volume dan halaman	: Volume 1(1) Halaman 7-1
Tahun Terbit	: 2019

Isi artikel

Tujuan penelitian : untuk mengembangkan cepat, sederhana, lebih murah, sensitif dan dapat tervalidasi metode dalam menentukan REA secara bersamaan dan HYQ dalam krim menggunakan cairan kinerja sangat tinggi kromatografi (UHPLC).

Metode Penelitian

Desain : Eksperimental

Populasi : Krim pemutih

Sampel : Asam retinoat

Instrumen : UHPLC Dionex 3000 dengan susunan fotodiode (PDA) detector, Data akan dianalisis menggunakan perangkat lunak Chromeleon, Kromatografi pemisahan dilakukan dengan Phenomenex Luna® 10 C18 (150 mm x 3,9 mm), Deteksi akan dilakukan pada REA 341 nm menggunakan detektor PDA.

Metode analisis :

1. Metode HPLC dilakukan pemisahan dengan menggunakan Fase diam Kolom C18 pada metode ini Fase gerak yang digunakan untuk elusi stasioner adalah campuran metanol- asam asetat 0,1% yang kemudian disaring melalui membran 0,45 m, kemudian dilakukan penyaringan dan dihilangkan gasnya yaitu dengan gelombang ultrasonik . Laju aliran dipertahankan pada 1,0 mL/menit dengan suhu kolom 40°C. Volume injeksi adalah 20 L.
2. Pembuatan larutan standar : Dilakukan dengan cara menimbang asam retinoat secara akurat , kemudian dimasukkan ke dalam labu takar dan ditambahkan larutan methanol, kemudian dilarutkan dengan air sampai volume batas.
3. Validasi metode yang terdiri dari Spesifikasi, Linieritas, Presisi, Akurasi.

Hasil penelitian :

Larutan metanol-asam asetat glasial 0,1% (85:15) digunakan sebagai fase gerak, dan kromatogram menunjukkan pemisahan dengan puncak terbaik . Pemisahan dilakukan di isokratik program, dengan laju alir 1,0 mL/menit pada kolom pada suhu 40°C. PDA tersebut digunakan sebagai detector dengan menggunakan perangkat lunak Kromatografi Chromeleon dan dengan prosedur panjang gelombang waktu.

HYQ dibaca pada panjang gelombang 295 nm, dan REA dibaca pada panjang gelombang 341 nm. Nilai dari hasil pemulihan menunjukkan metode yang diusulkan dikatakan akurat. Berdasarkan hasil dari validasi ini dapat menggunakan analisis sampel komersial. Angka tersebut menunjukkan bahwa kromatogram UHPLC dari sampel komersial ini mengandung HYQ dan REA. Pada hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa metode ini dikatakan valid untuk menganalisis kedua komponen dalam sampel komersial. Krim tersebut tidak seharusnya dibeli tanpa resep dokter dan dengan dosis yang diberikan dokter. Hasil dari metode validasi menunjukkan bahwa waktu retensi HYQ pada 1,55 menit dan REA pada 3,73 menit.

Kesimpulan : Pada metode UHPLC yang diusulkan tersebut dikatakan akurat, tepat, sensitif, selektif, dan cepat untuk simultan penentuan hidrokuinon dan asam retinoat dan itu dapat diterapkan dalam formulasi krim.

e. Artikel kelima

Judul artikel : Validasi Metode Analisis Identifikasi Simultan Hidrokuinon dan Asam Retinoat Secara UHPLC-PDA dalam Sediaan Semi Solida

Nama Jurnal : ERUDITIO

Penerbit : Pusat Pengembangan Sumber Daya Manusia Pengawas Obat dan Makanan

Volume dan halaman : Volume 1 No.1 Halaman 1-10

Tahun terbit : 2020

Penulis artikel : Mohammad Ibnu Fajri

Isi artikel

Tujuan Penelitian : Untuk mengembangkan dan memvalidasi metode analisis identifikasi hidrokuinon dan asam retinoat yang akan lebih cepat dan lebih efisien namun tetap memiliki akurasi yang baik, sehingga sampel produk yang diuji dapat lebih banyak dan dapat selesai lebih cepat.

Metode penelitian

Desain : Eksperimental

Populasi : Krim pemutih

Sampel : Asam retinoat

Instrumen : metanol *grade* HPLC (Merck), asam format p.a. (Merck), hidrokuinon (BPFI), asam retinoat (BPFI), dan matriks sampel *cream base oil in water*, UHPLC Thermo Scientific UltiMate 3000 dengan detektor PDA Thermo Scientific DAD-3000(RS), kolom Hypersil Gold C18 (150 mm x 2,1 mm 3 μ m), *software* Chromeleon, dan dideteksi pada panjang gelombang hidrokuinon 290 nm dan asam retinoat 354 nm.

Metode analisis :

1. Metode HPLC dilakukan pemisahan dengan menggunakan Fase diam yaitu kolom C-18, pada metode ini Fase gerak yang digunakan adalah methanol – asam format 0,1%, sebelumnya fase gerak harus disaring terlebih dahulu melalui membran filter 0,22 μ m dan dilakukan *degasi* menggunakan ultrasonic degasser (*Elmasonic*) dan Laju alir dijaga pada 0,35 mL/menit dengan temperatur kolom 40 °C ,dan Volume injeksi yang digunakan sebesar 2,5 μ L.

2. Pembuatan larutan standar : 1,0 g sampel ditimbang dengan saksama kedalam tabung sentrifuse. Kemudian ditambahkan Pelarut sebanyak 10 mL, kemudian dilakukan sonikasi selama 15 menit, lalu divorteks hingga larut. Kemudian sentrifugasi pada 3500 rpm selama 15 menit, kemudian saring larutan yang telah dijernihkan melalui filter membrane 0,22 m.

3. Pembuatan Larutan Baku : 10 mg asam retinoat BPHI ditimbang dengan saksama lalu dimasukkan ke dalam labu 10 mL yang berbeda, kemudian dilarutkan dengan metanol. Masing-masing larutan baku induk dipipet 0,2 mL untuk asam retinoat, setelah itu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. kemudian dilarutkan dan diencerkan dengan metanol hingga tanda batas volume, kemudian dilakukan penyaringan dengan penyaring membran berukuran 0,22 μm .

4. Validasi metode yang terdiri dari Selektivitas dan Batas deteksi (LOD).

Hasil penelitian : Untuk penentuan pada laju alir system UHPLC didasarkan pada empat hal, yaitu sebagai berikut : tekanan maksimum kolom, tekanan maksimum alat, *run time* pemisahan, dan resolusi. Hal yang harus diperhitungkan pertama

kali adalah tekanan maksimal yang dapat diterima pada alat dan kolom, dimana saat laju alir tersebut dijalankan, pada tekanan tersebut tidak melebihi tekanan maksimum alat yaitu sebesar 1030 bar dan tidak melebihi tekanan maksimum kolom Hypersil GOLD®

I.D. 150 mm x 2,1 mm *particle size* 3 µm yaitu sebesar 400 bar. Pada hasil akhir optimasi laju alir yaitu didapatkan pada 0,35 mL/menit, di mana tekanan tersebut belum melampaui tekanan maksimal, dan puncak analit tidak bersinggungan dengan puncak pelarut, dan pemisahan berjalan tidak terlalu lama.

Hal ini dikarenakan kolom UHPLC memiliki diameter yang lebih sempit dan ukuran partikel yang lebih kecil, maka dari itu volume injeksi adalah hal yang perlu disesuaikan. Injeksi dengan volume di atas 2,5 µL memang memberikan peningkatan pada tinggi puncak, namun cenderung dapat menyebabkan pelebaran puncak sehingga terjadi *fronting* dan mengurangi nilai N dari puncak, di mana nilai N berbanding terbalik dengan lebar puncak.

Hasil validasi metode menunjukkan bahwa waktu retensi

hidrokuinon adalah 1,935 menit, dan waktu retensi asam retinoat adalah 11,997 menit. Tidak ada puncak yang dapat memberikan waktu retensi yang sama dalam pelarut dan larutan sampel. Persamaan kurva kalibrasi retina menunjukkan hasil $y = 37839x + 17732$ ($r=0,999$). Batas deteksi hidrokuinon dan asam retinoat masing-masing adalah 5,92 µg/g dan 7,74 µg/g. Metode ini cocok untuk analisis hidrokuinon dan asam retinoat dalam sampel kosmetik.

Kesimpulan : Pada penelitian ini telah divalidasi bahwa metode analisis ini dapat mengidentifikasi simultan hidrokuinon dan asam retinoat dengan metode UHPLC-PDA. Dikarenakan metode ini telah memenuhi kriteria validasi untuk metode analisis tipe identifikasi sesuai pedoman pada USP 29 dan ICH Q2(R1), dengan menunjukkan bahwa metode ini dikatakan spesifik dan selektif terhadap senyawa yang dianalisis.

Hasil dari nilai batas deteksi dari metode ini untuk hidrokuinon 5,92 µg/g dan 7,74 µg/g untuk asam retinoat, lebih kecil dibandingkan dengan metode ACM INO03 (2005) dan ACM SIN 01 (2005). Pada metode ini juga dikatakan lebih cepat 67%, dan lebih hemat fasa gerak 90%, serta lebih hemat baku pembanding 88% dibandingkan dengan metode ACM INO 03 (2005) dan ACM SIN 01 (2005).

