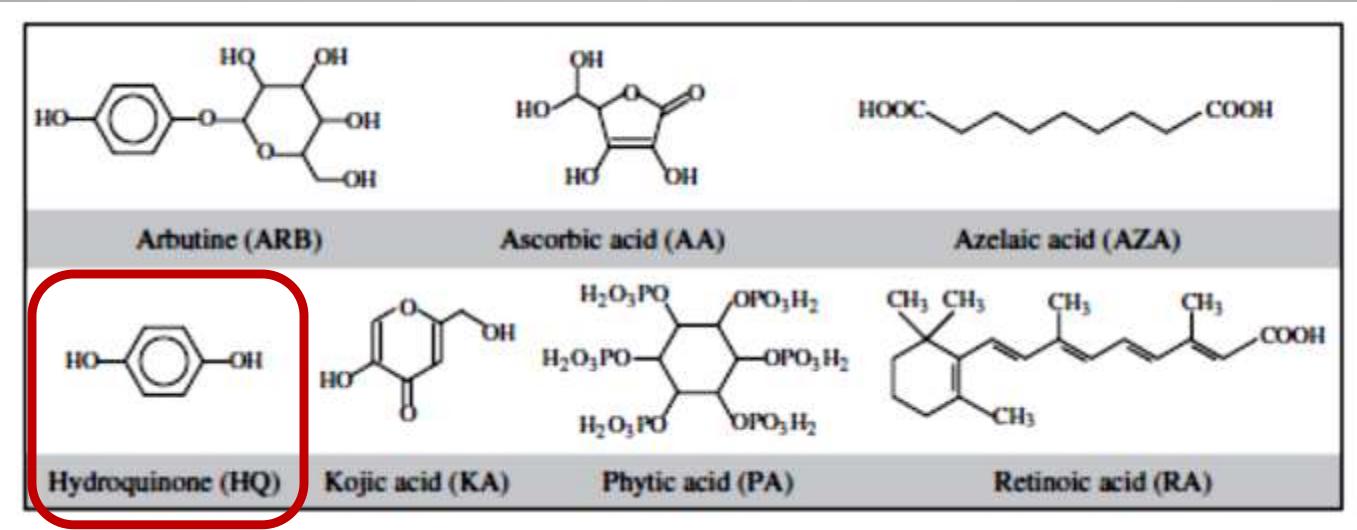




# Latar Belakang

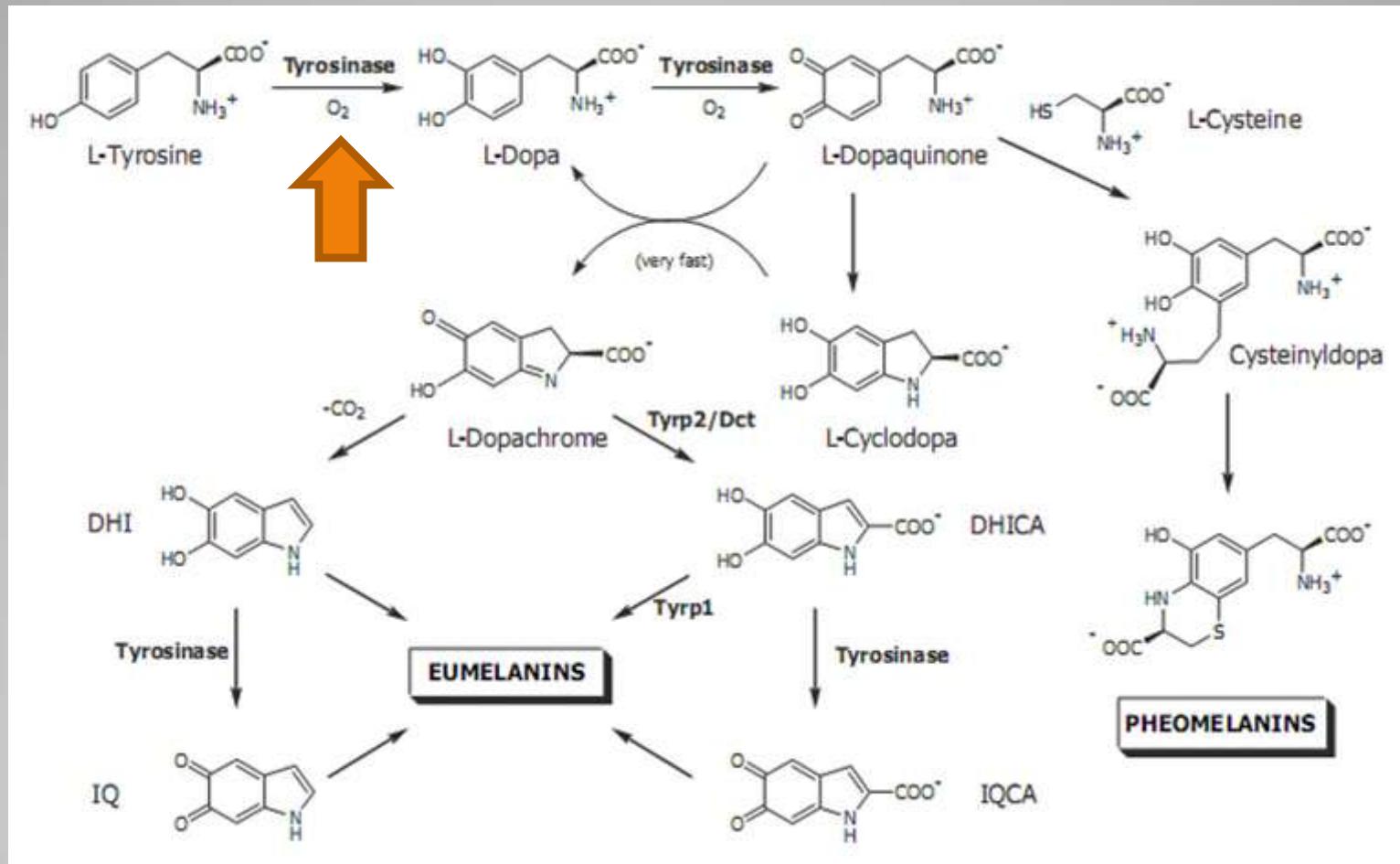


- Beberapa bahan pencerah kulit :



- Hidrokuinon merupakan inhibitor enzim tirosinase yang paling kuat.
- Kompetitif terhadap oksidasi Tirosin.
- Beberapa gangguan pigmentasi kulit :
  - >> Age Spot ( usia > 60 tahun )
  - >> Post Inflammatory Hyperpigmentation ( inflamasi paska operasi kosmetik, paska laser, alergi, luka ).
  - >> Melasma

# Jalur Enzimatik Sintesis Melanin



Gambar : Sintesis melanin dengan jalur enzimatik Raper-Mason.(Sumber : Kenneth A. Walters & Michael S. Roberts. *Dermatologic, Cosmeceutic, and Cosmetic Development Therapeutic and Novel Approaches*. Informa Healthcare. London. 2008. pp. 67)

# HIDROKUINON

- Regulasi US :  
Konsentrasi < 2% >>  
OTC. Konsentrasi > 2%  
>> Harus dengan Resep  
Dokter.
- Regulasi EU  
(REGULATION (EC) No  
1223/2009 & (EU)344/2013)  
: >> konsentrasi 0.3%  
untuk pewarna rambut.  
>> 0.02% untuk pewarna  
kuku (metileter).
- Regulasi Indonesia : >>  
kategori dilarang  
penggunaannya.



- Efek samping :
  - a. Iritasi atau Dermatitis kontak.
  - b. Kerusakan melanosit
  - c. Re-pigmentasi akibat paparan sinar UV
- Metode Analisis untuk Hidrokuinon dalam sediaan kosmetik :
  1. KLT
  2. KCKT
  3. GC – MS
  4. Spektrofotometri

# Jurnal Acuan

*Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 2012, 2, 224-228  
doi:10.4236/jcdsa.2012.23042 Published Online September 2012 (<http://www.SciRP.org/journal/jcdsa>)



## Qualitative and Quantitative Estimation of Hydroquinone in Skin Whitening Cosmetics

Saima Siddique<sup>\*</sup>, Zahida Parveen, Zeeshan Ali, Muhammad Zaheer

PCSIR Labs Complex, Lahore, Pakistan.

Email: \*saimesiddique@gmail.com

Received February 1<sup>st</sup>, 2012; revised March 5<sup>th</sup>, 2012; accepted March 19<sup>th</sup>, 2012

### ABSTRACT

Hydroquinone has been used for decades as a skin lightening agent. Its use in cosmetics has been banned as a result of skin problems including contact dermatitis and ochronosis. A total of 22 samples of different skin whitening cosmetics were collected from local market. They were analyzed by using thin layer chromatography and HPLC for qualitative and quantitative determination of their hydroquinone contents. The hydroquinone was extracted from samples by using 96% ethanol and was subjected to TLC analysis. Eleven out of 22 samples were found to contain hydroquinone. The HPLC analysis showed the concentration of hydroquinone ranged from 0.002% to 0.092% in the cosmetic samples.

**Keywords:** Hydroquinone; HPLC; Whitening Cosmetics; Thin Layer Chromatography



# **KUALITATIF**

# **ANALISIS KLT**

- 1. Preparasi Sampel**
- 2. Preparasi Larutan Standar / Referensi**
- 3. Prosedur KLT**

2 gram sampel ditimbang dalam *beker glass*  
25 ml, ditambahkan 15 ml etanol 96% v/v.



Campuran tersebut dihomogenkan dalam tangas air ( suhu 60° C, selama 15 menit ). Dinginkan dalam tangas es hingga terjadi pemisahan lapisan lemak.



Dilakukan penyaringan, filtrat digunakan untuk analisis KLT.

>> Prosedur diatas diulangi untuk sampel lainnya.

## 1. Preparasi Sampel

- Larutan standar ini harus dibuat segar dan stabil kurang dari satu hari pada suhu kamar.
- Prosedur preparasi larutan standar :

0.05 gram  
Hidrokuinon

Dilarutkan  
dalam  
sejumlah kecil  
etanol 96% v/v

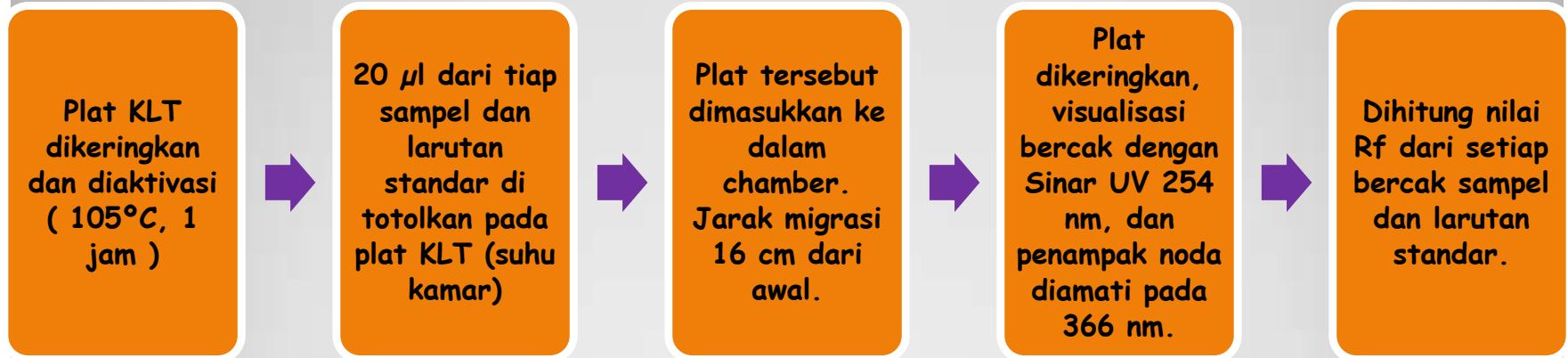
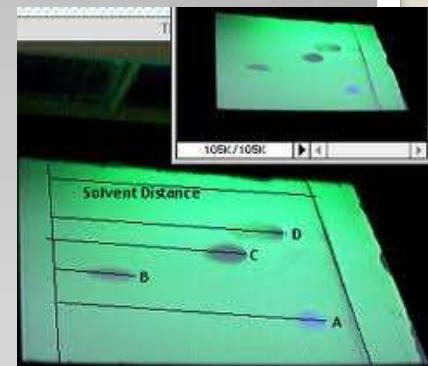
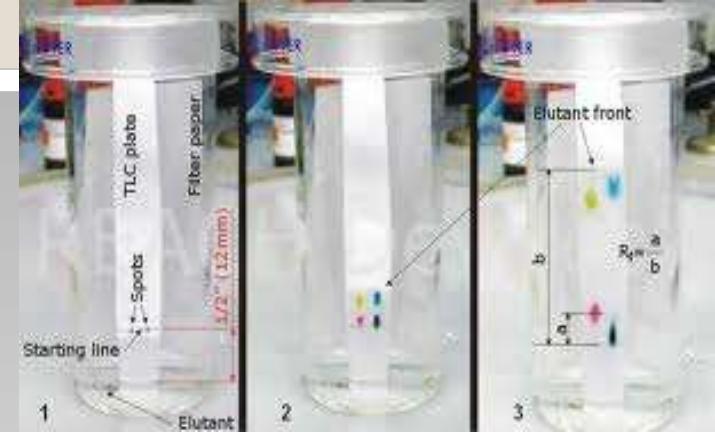
Cukupkan  
volume larutan  
standar hingga  
25 ml.

How to mix a Standard Solution



## 2. Preparasi Larutan Standar

- Plat KLT ukuran  $20 \times 20$  cm, ketebalan 0.25 mm, dipersiapkan dari Silica Gel (90g) dan Air (180ml).
- Sistem pelarut digunakan n-heksan/aseton dengan perbandingan 3:2.
- Chamber sebelum digunakan terlebih dahulu dijenuhkan ( waktu penjenuhan 1 jam).
- Larutan penampak noda, Diklorofluoresin Etanolic 0.2%
- Prosedur Kerja :



### 3. Prosedur KLT

# Tabel 1. Nilai Rf Sampel

Sample No.	Sample Name	Manufacturers	R <sub>f</sub> value
1	WT Whitens Cream	Anonymous	0.61
2	Face Fresh Beauty Cream	Shaheen Cosmetics Company (Pvt.) Ltd., Pakistan	0.61
3	Barbie Whitening Cream		0.50
4	Faiza Beauty Cream	Poonia Brothers, Pakistan	0.50
5	Blesso Cream	Blesso Cosmetics	0.91
6	Care Cream	Coslab (Pvt.) Ltd.	0.86
7	English Fairness Cream	English Laboratories (Pvt.) Ltd., Pakistan	0.86
8	Virgo Acne Cream	Virgo Cosmetics, Pakistan	0.50
9	White Gold Cream	Trade Masters, Pakistan	0.50
10	19-Herbs Cream	Allied Medical & Chemical Research Co., Pakistan	0.50
11	Pearl Whitening Cream	Cosmo Care, Pakistan	0.50
12	Chun Chehra		0.81
13	Sanober Beauty Cream	Future Sky Marketing Ltd., London	0.50
14	Kamal Face Cream	Anonymous	0.86
15	X-Cream	Anonymous	0.81
16	Farzana Beauty Cream	Farzana Cosmetics, Pakistan	0.50
17	Fair & Lovely	Unilever (Pvt.) Ltd., Pakistan	0.88
18	Bio Nikhar	Forvil Cosmetics, Pakistan	0.50
19	Roop Nikhar	Singh Herbals, India	0.50
20	Gipsy Cream	Gipsy Cosmetics, Pakistan	0.88
21	Dabar Cream	H. & Sons Enterprises, Pakistan	0.88
22	Ever Green Cream	Anonymous	0.50

R<sub>f</sub> values of Reference Hydroquinone Solution = 0.50.

# KUANTITATIF

# **ANALISIS KCKT**

1. Preparasi Sampel
2. Preparasi Larutan Standar / Referensi
3. Prosedur KCKT

$2 \pm 0.1$  g sampel ditimbang saksama dalam beker glass dan ditambahkan 25 ml fase gerak (campuran air (45) : metanol (55) ).

Campuran tersebut di homogenkan diatas tangas air suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit, dinginkan dengan tangas es hingga terjadi pemisahan lemak dan lilin.

Campuran tersebut disaring, filtrat dipindahkan kedalam labu tenukur 100 ml. Volume filtrat dicukupkan hingga tanda dengan fase gerak.

# 1. Preparasi Sampel

## 2. Preparasi Larutan Standar

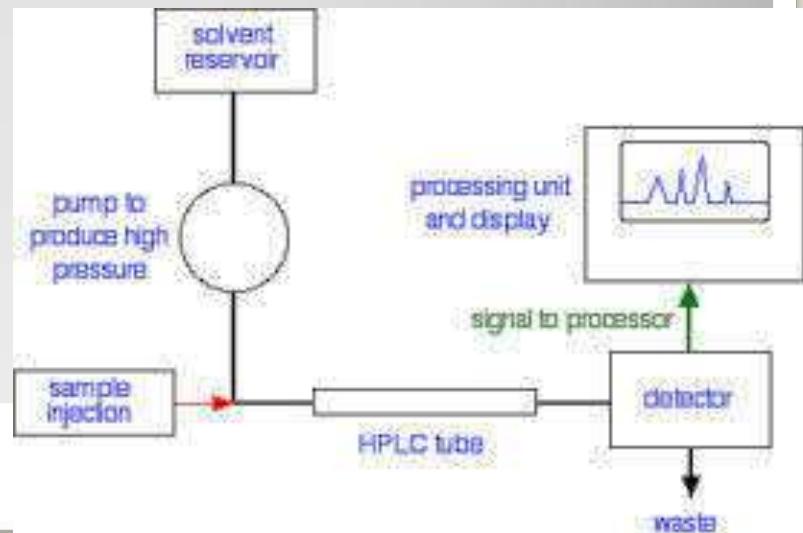
Ditimbang  
0.05 g  
Hidrokuinon  
standar

Dilarutkan  
dengan  
fase gerak  
hingga  
volume  
50.0 ml

Dipipet 5  
ml,  
dipindahkan  
ke labu  
takar 50.0  
ml

Dicukupkan  
volume  
larutan  
hingga 50.0  
ml dengan  
fase gerak.

- Instrumen : Schimadzu LC-9
- Detektor : UV 295 nm
- Kolom : ODS ( 25 cm X 4.6 mm)
- Fase gerak : Air-Metanol ( 45 : 55 )
- Laju alir : 1 ml/menit
- Suhu :  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- Volume Injeksi : 20  $\mu\text{l}$



$$\begin{aligned}\% \text{ Hidrokuinon} = \\ bi/pi \times Wref/Wspl \\ \times d \times 100\end{aligned}$$

Dimana :

- $bi$  = Area puncak Hidrokuinon dalam larutan sampel
- $pi$  = Area puncak Hidrokuinon dalam larutan standar
- $d$  = faktor pengenceran
- $Wref$  = Bobot Hidrokuinon dalam larutan standar
- $Wspl$  = Bobot Hidrokuinon dalam larutan sampel

Sampel  
diinjeksikan ke  
inlet KCKT

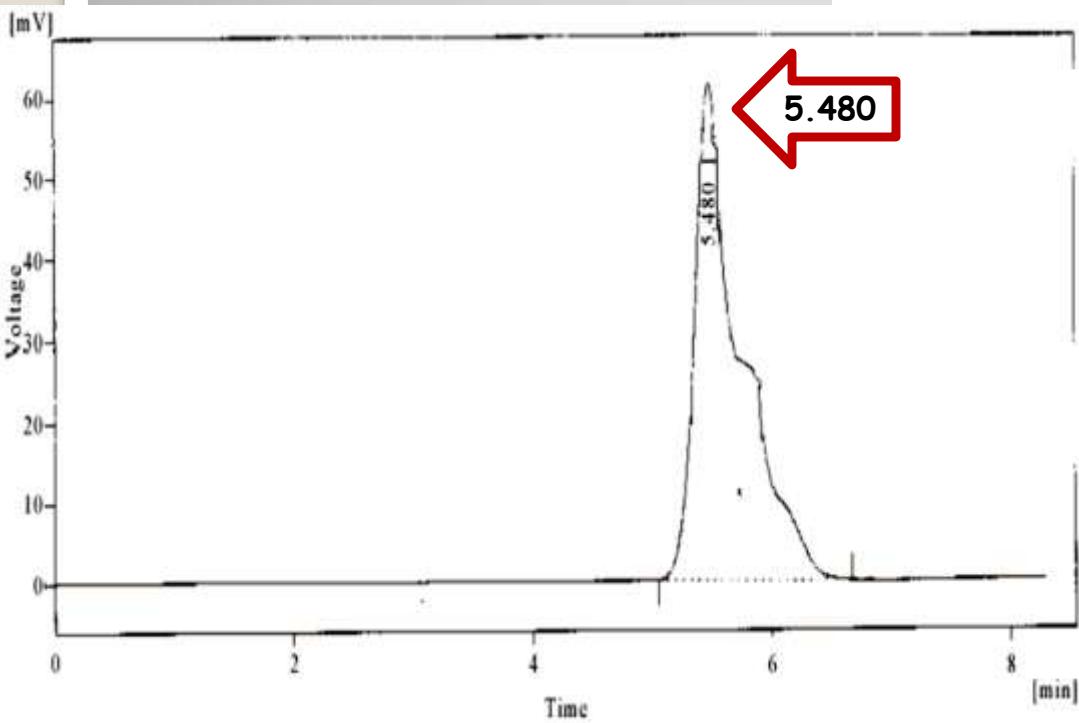
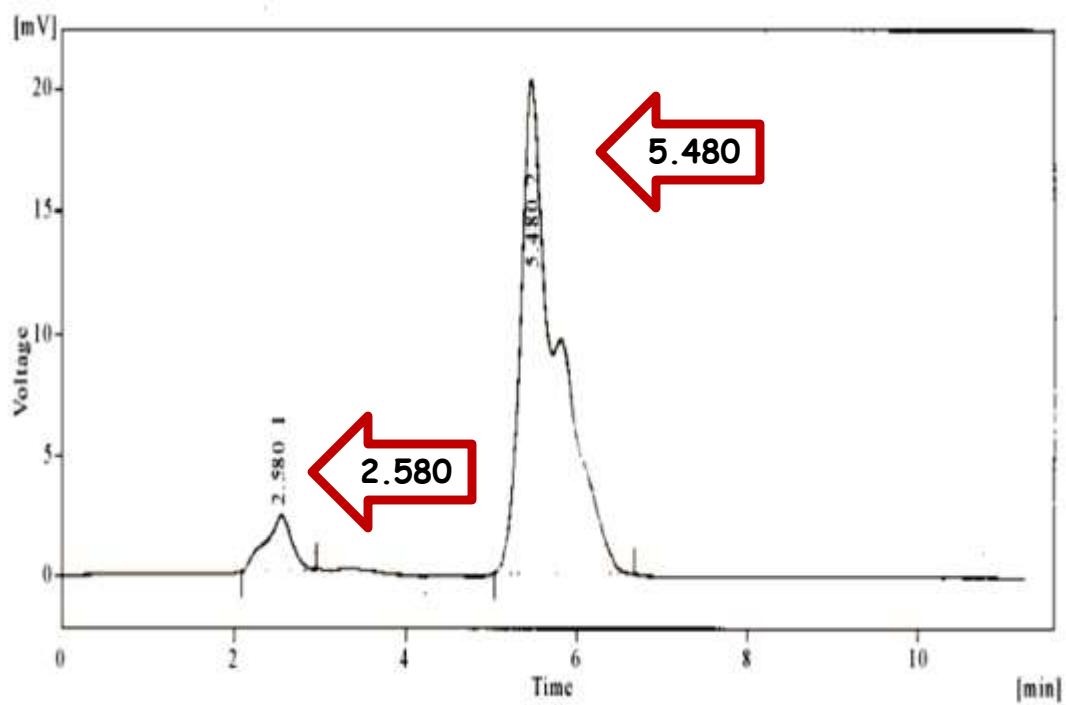
Kromatogram  
direkam

Area puncak  
sampel  
dibandingkan  
dengan area puncak  
standar

Dihitung jumlah  
persentase  
Hidrokuinon dalam  
sampel

### 3. Prosedur KCKT

Gambar 1.  
Kromatogram  
Larutan  
Standar  
Hidrokuinon



Gambar 2.  
Kromatogram  
larutan  
sampel (3)  
hidrokuinon

# Kromatogram

## Tabel 2. Konsentrasi Hidrokuinon

Sample No.	Sample Name	Sample Concentration (Y)	Percentage Concentration of Hydroquinone $= b_i / p_i \times w_{\text{ref}} / w_{\text{sp}} \times d \times 100$
3	Barbie Whitening Cream	35.071	0.005
4	Faiza Beauty Cream	40.817	0.006
8	Virgo Acne Cream	10.00	0.002
9	White Gold Cream	220.855	0.034
10	19-Herbs Cream	607.071	0.092
11	Pearl Whitening Cream	25.318	0.004
13	Sanober Beauty Cream	549.325	0.08
18	Bio Nikhar	30.574	0.005
19	Roop Nikhar	21.652	0.003
16	Farzana Beauty Cream	230.76	0.035
22	Ever Green Cream	25.512	0.004

Konsentrasi  
Hidrokuinon  
dalam sampel  
0.002 -  
0.092 %

# 1. Elektrokromatografi Kapiler ( Journal of

Chromatography A, 887 (2000) ).

- Untuk penetapan Hidrokuionon dan turunan eter-nya.
- Kombinasi elektroforetik & kromatografi : analit dipisahkan berdasarkan perbedaan patisi antara fase erak dan fase diam. Aliran elektroosmotik bertanggungjawab sebagai penggerak analit.
- Instrumen : Automatic Electrophoresis HP3D dengan detektor UV-Vis Diode Array pada 205 nm dan sistem pendingin termostat.

## Metode Lainnya

## **2. Spektrofotometri** (African Journal of Pharmacy, May 2010 )

- Identifikasi awal : dengan KLT.

» 2.5g sampel (setara 50 mg Hidrokuinon), dilarutkan dengan campuran metanol & kloroform hingga 50 ml.

» 5  $\mu$ l sampel ditotolkan ke lempeng KLT. Fase gerak metanol : kloroform ( 1:1).

- Penetapan Kadar : Spektrofotometri

» Dibuat larutan stok standar Hidrokuinon 1% dibuat seri pengenceran 10-50  $\mu$ g/ml.

» Dibuat kurva Kalibrasi

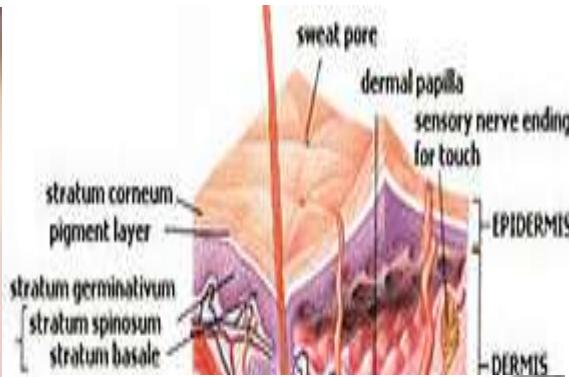
» 0.5 g sampel ditriturasi dengan metanol hingga 250 mL, dibuat pengenceran hingga diperoleh konsentrasi 10  $\mu$ g/ml.

» Diukur pada 293 nm, digunakan blanko metanol.

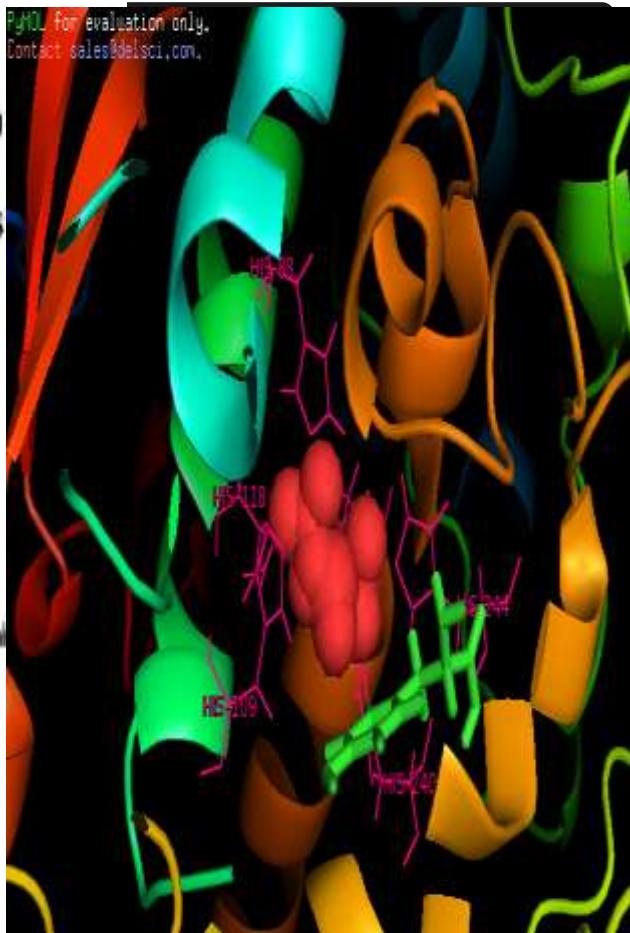
## **Metode Lainnya**

# REFERENSI

- *Dermatologic, Cosmeceutic, and Cosmetic Development Therapeutic and Novel Approaches.* Kenneth A. Walters & Michael S. Roberts. Informa Healthcare. London. 2008.
- *Handbook of Cosmetic Science and Technology* 3<sup>rd</sup> Edition. Andre O. Barrel (Ed.). Informa Healthcare. New York. 2009.
- *Qualitative and Quantitative Estimation of Hydroquinone in Skin Whitening Cosmetics.* Saima Siddique, Zahida Parveen, Zeeshan Ali & Muhammad Zaheer. Journal Of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications, 2012, 2, 224-228.
- *Analysis of Hydroquinone and Some of its Ethers by Using Capillary Electrochromatography.* Claudia Desiderio, Luigia Ossicini and Salvatore Fanali. Journal of Chromatography A, 887 (2000) 489-496.
- *Identification and Spectrophotometric Determination of Hydroquinone Levels in Some Cosmetic Creams.* P.O. Odomusu and T. O. Ekwe. African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vo. 4(5), pp. 231-234, May 2010.



Thank you



SEKIAN