

## OPTIMASI METODE PENETAPAN KADAR ASAM GLIKOLAT DAN ASAM SALISILAT DALAM TONER MENGGUNAKAN METODE *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)

Nadin Nida'ul Hasanah<sup>1\*</sup>, Nurriszka Kurniawati<sup>2</sup>, Yanuar As'hari Cahyaningrum<sup>3</sup>  
Prodi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Husada Mulia  
Madiun<sup>1,2,3</sup>

Email<sup>1\*</sup>: [hsnhnadin@gmail.com](mailto:hsnhnadin@gmail.com)

### ABSTRAK

Seiring dengan meningkatnya penggunaan produk kosmetik, penting untuk memastikan keamanan dan efektivitas produk kosmetik, khususnya toner yang mengandung asam glikolat (AHA) dan asam salisilat (BHA). Kedua senyawa ini memiliki manfaat eksfoliasi kulit, tetapi penggunaannya harus memenuhi batas kadar maksimal yang ditetapkan BPOM (10% untuk asam glikolat dan 2% untuk asam salisilat). Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dalam menetapkan kadar kedua asam tersebut dalam toner serta memastikan kesesuaiannya dengan standar BPOM. Metode penelitian meliputi analisis kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan analisis kuantitatif dengan HPLC. Sampel terdiri dari 5 toner yang dipilih secara *purposive sampling* berdasarkan kriteria tertentu. Optimasi fase gerak dilakukan untuk menentukan kondisi terbaik dalam pemisahan dan analisis senyawa. Hasil KLT menunjukkan 3 dari 5 sampel positif mengandung asam glikolat dan asam salisilat, yang kemudian dikonfirmasi melalui HPLC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode HPLC efektif dengan kondisi optimum menggunakan laju alir 1 mL/menit, panjang gelombang 230 nm, dan fase gerak buffer fosfat-metanol (70:30). Kadar asam glikolat pada sampel A, B, dan D masing-masing sebesar 0,78%, 0,79%, dan 0,78%, sedangkan kadar asam salisilat sebesar 0,86%, 0,85%, dan 0,88%. Semua sampel memenuhi batas kadar yang ditetapkan BPOM. Metode HPLC terbukti akurat dan reliabel dalam penetapan kadar asam glikolat dan asam salisilat dalam toner. Hasil penelitian juga memberikan informasi penting bagi masyarakat mengenai keamanan produk kosmetik yang beredar.

**Kata Kunci:** Asam Glikolat, Asam Salisilat, HPLC

### ABSTRACT

*With the increasing use of cosmetic products, it is important to ensure the safety and effectiveness of cosmetic products, especially toners containing glycolic acid (AHA) and salicylic acid (BHA). These two compounds have skin exfoliation benefits, but their use must comply with the maximum concentration limits set by the Indonesian Food and Drug Administration (BPOM) (10% for glycolic acid and 2% for salicylic acid). This study aims to optimize the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method for determining the concentrations of these two acids in toners and ensuring compliance with BPOM standards. The research*

*methodology includes qualitative analysis using Thin Layer Chromatography (TLC) and quantitative analysis via HPLC. The samples consist of five toners selected through purposive sampling based on specific criteria. Optimization of the mobile phase was conducted to determine the optimal conditions for separation and analysis of the compounds. TLC results showed that 3 out of 5 samples were positive for glycolic acid and salicylic acid, which were then confirmed via HPLC. The study results indicated that the HPLC method was effective under optimal conditions using a flow rate of 1 mL/minute, a wavelength of 230 nm, and a phosphate-methanol buffer mobile phase (70:30). The glycolic acid content in samples A, B, and D was 0.78%, 0.79%, and 0.78%, respectively, while the salicylic acid content was 0.86%, 0.85%, and 0.88%. All samples met the limits set by the Indonesian Food and Drug Administration (BPOM). The HPLC method proved to be accurate and reliable in determining*

**Keywords:** *Glycolic acid, Salicylic Acid, HPLC*

## **PENDAHULUAN**

Kosmetik didefinisikan sebagai bahan atau sediaan yang digunakan pada bagian luar tubuh manusia, terutama untuk membersihkan, dan mengubah penampilan. Salah satu kosmetik yang digunakan epidermis yaitu toner. Toner merupakan salah satu formulasi kosmetik cair yang digunakan pada wajah sebagai pengganti pembersih wajah dan juga sebagai pelembab untuk mengontrol produksi minyak. Bahan aktif yang banyak digunakan dalam sediaan toner adalah asam glikolat dan asam salisilat (1).

Penggunaan asam glikolat yang merupakan kelompok *alpha hidroxy acid* (AHA) memiliki efek samping yakni iritasi dan sensitivitas matahari. Gejala iritasi mencakup kemerahan, terbakar, gatal dan nyeri, maka konsentrasi yang dipakai sesuai dengan penggunaannya. Kadar AHA yang dianjurkan 3%-8%, diatas itu, sebaiknya digunakan dibawah pengawasan dokter. Produk dengan fungsi eksfoliasi seperti ini perlu diperhatikan kadar konsentrasinya dengan standar dibawah 10% (2).

Asam salisilat juga merupakan senyawa keratolitik yang mempunyai kemampuan untuk melonggarkan lapisan luar. Penggunaan senyawa asam salisilat juga harus dibatasi, ini dikarenakan senyawa ini dapat memberikan efek negatif pada kulit pengguna seperti iritasi, kulit kemerahan dan gatal. Menurut the Chinese Hygienic Standard (CHS) untuk kosmetika, kandungan asam salisilat di dalam

sediaan kosmetika harus dibawah 2%, batasan kandungan ini sama menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (3).

Kedua senyawa tersebut memiliki batas kadar maksimal. Penggunaan asam glikolat sebagai pelembab dan *exfoliant* memiliki batas kadar maksimal 10% dan pH sediaan 3,5 ataupun lebih. Sedangkan, batas kadar maksimal asam salisilat yaitu 2% (1). Untuk mengetahui jumlah kadar asam glikolat dan asam salisilat dalam toner dapat dilakukan penetapan kadar menggunakan metode *high performance liquid chromatography*. Dalam penelitian ini, peneliti ingin mengembangkan metode dalam menganalisis asam glikolat dan asam salisilat dalam sediaan toner menggunakan HPLC.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

HPLC (*Agilent 1260 infinity II*) fase terbalik dengan detektor UV, kolom C18 dengan panjang kolom 150 x 4,6 mmdl, plat silika gel, timbangan analitik (Sartorius-Enteris), chamber, pipa kapiler, gelas beker (Duran), labu ukur (Iwaki), penyaring *whatman*, batang pengaduk, pipet tetes, *micro pipette* (Dragonlab), gelas ukur (Iwaki).

### **Bahan**

Sampel toner, standar asam glikolat, standar asam salisilat, *water for injection*, metanol *for HPLC*, asetonitril, buffer fosfat pH 3, asam ortofosfat, etanol, dan n-heksan.

### **Analisis Kualitatif Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

#### **Pembuatan Larutan Standar Asam Glikolat dan Asam Salisilat**

Untuk pembuatan larutan standar ditimbang asam glikolat dan asam salisilat masing-masing sebanyak 25 mg, kemudian ditambahkan dengan 25 ml etanol, sehingga diperoleh larutan standar asam glikolat dan asam salisilat dengan konsentrasi 1000 ppm (4).

#### **Pengujian dengan KLT**

Fase diam yaitu plat KLT diaktivasi dengan dipanaskan dengan oven untuk menguapkan molekul air yang terkandung pada plat, sehingga pada proses elusi, lempeng KLT mampu menyerap dan berikatan dengan sampel secara optimal. Fase

gerak yang digunakan pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yaitu n-heksan dan etanol (5:5).

## **Analisis Kuantitatif Metode *Hight Performance Liquid Chromatography* (HPLC)**

### **Preparasi Sampel**

Sampel A, B, C, D, dan E diambil sebanyak 10 ml menggunakan gelas ukur, kemudian masing-masing sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan pelarut hingga tanda batas untuk mendapatkan konsentrasi 1000 ppm. Pelarut yang digunakan ialah fase gerak yang sebelumnya sudah dioptimasi pada pengujian KLT. Untuk mendapatkan larutan sampel yang bersih, saring campuran memakai filtrat membran 0,45  $\mu\text{m}$  yang diikuti dengan kertas saring (5).

### **Penetapan Kondisi Optimal HPLC**

Kondisi HPLC yang digunakan pada tahap optimasi adalah kolom C-18, Kecepatan alir yang digunakan adalah 1,0 mL/menit dengan volume injeksi 20  $\mu\text{L}$  pada detektor UV 230 nm dan fase gerak yang digunakan adalah fase gerak yang telah dioptimasi pada analisis kualitatif KLT.

### **Pembuatan Larutan Induk Asam Glikolat dan Asam Salisilat**

Larutan induk asam glikolat dan asam salisilat dengan konsentrasi 1000 ppm dapat dicapai dengan menambahkan 10 mg masing-masing asam glikolat dan asam salisilat dalam labu ukur 10 ml dengan pelarut yang digunakan ialah fase gerak yang sudah dioptimasi pada analisis kualitatif KLT hingga mencapai tanda batas (6).

### **Penetapan Kadar Sampel**

Sampel A, B, C, D, dan E yang sebelumnya sudah dipreparasi selanjutnya dilakukan penetapan kadar dengan uji kuantitatif menggunakan metode HPLC. Larutan sampel disaring dengan penyaring *whatman* dan disonikasi selama 15 menit. Kemudian masing-masing sampel diinjeksikan ke dalam HPLC yang telah dioptimasi sebelumnya volume injeksi 20  $\mu\text{L}$  selama 5 menit dan pada detektor UV 230 nm dan menggunakan komposisi fase gerak yang sudah dioptimasi pada analisis kualitatif dengan laju alir 1 mL/menit. Selanjutnya luas area digunakan untuk menghitung kadar asam glikolat dan asam salisilat pada sampel (6).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi dan mengaplikasikan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dalam penetapan kadar asam glikolat dan asam salisilat dalam sediaan toner. Hasil yang diperoleh dari analisis kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan analisis kuantitatif menggunakan HPLC selanjutnya dibahas untuk mengevaluasi efektivitas metode, kesesuaian kadar sampel dengan regulasi, serta akurasi dan presisi dari metode yang dikembangkan. Pembahasan juga mencakup interpretasi data hasil kromatografi serta perbandingannya dengan penelitian-penelitian sebelumnya untuk memberikan perspektif yang lebih komprehensif.

### Uji Kualitatif Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pada uji KLT menggunakan fase gerak yaitu n-heksan dan etanol dengan perbandingan (5:5).

Tabel 1 Hasil Identifikasi Uji KLT Asam Glikolat

No	Sampel	Nilai Rf			Rata – Rata Rf	Keterangan
		1	2	3		
1.	Standar Asam Glikolat	0,56	0,58	0,56	0,56	Positif
2.	A	0,58	0,6	0,58	0,58	Positif
3.	B	0,56	0,58	0,54	0,56	Positif
4.	C	-	-	-	-	Negatif
5.	D	0,58	0,58	0,56	0,57	Positif
6.	E	-	-	0,62	0,62	Negatif

Berdasarkan Tabel 5.3, nilai Rf sampel A, B, dan D menunjukkan kesesuaian dengan nilai Rf standar asam glikolat yaitu sebesar 0,56. Hasil nilai dari rata-rata sampel A yaitu 0,58 nilai rata-rata Rf dari sampel B yaitu 0,56 dan nilai rata-rata Rf dari sampel D yaitu 0,57. Sehingga dapat dikatakan 3 dari 5 sampel positif mengandung asam glikolat karena nilai Rf dapat dikatakan positif apabila nilai Rf sama atau mendekati dengan selisih  $\leq 0,2$ . Sementara itu, sampel C dan E tidak menunjukkan bercak pada KLT, sehingga dinyatakan negatif. Variasi nilai Rf pada replikasi pengujian dapat disebabkan oleh faktor teknis seperti

ketidakhomogenan fase gerak, kelembaban ruang, atau ketebalan lapisan fase diam (7).

Menurut penelitian sebelumnya oleh Wulandari (8), nilai Rf yang stabil dan reproduktif sangat bergantung pada kondisi optimasi fase gerak dan aktivasi plat KLT. Hasil ini sejalan dengan temuan Rahmasari & Astuti (6) yang menyatakan bahwa selisih nilai  $R_f \leq 0,2$  masih dapat diterima sebagai indikator positif, asalkan didukung oleh uji kualitatif lainnya seperti reaksi warna. Selain itu, ketidakkonsistenan nilai Rf juga dapat dipengaruhi oleh tingkat kejenuhan chamber selama elusi, di mana chamber yang tidak jenuh cenderung menghasilkan nilai Rf lebih tinggi (9).

Tabel 2 Hasil Identifikasi Uji KLT Asam Salisilat

No	Sampel	Nilai Rf			Rata – Rata Rf	Keterangan
		1	2	3		
1.	Standar Asam Salisilat	0,80	0,78	0,78	0,78	-
2.	A	0,80	0,78	0,82	0,80	Positif
3.	B	0,84	0,74	0,78	0,78	Positif
4.	C	-	-	-	-	Negatif
5.	D	0,80	0,80	0,78	0,79	Positif
6.	E	-	-	-	-	Negatif

Berdasarkan Tabel 2, 3 sampel toner yaitu sampel A, B, dan D menunjukkan rata-rata nilai Rf yang mendekati standar asam salisilat sebesar 0,78, dengan rata-rata berturut-turut 0,80, 0,78, dan 0,79. Selisih  $\leq 0,2$  pada 3 sampel ini memenuhi kriteria positif karena dikatakan positif apabila nilai Rf sama atau mendekati dengan selisih  $\leq 0,2$ . Sementara itu, sampel C dan E tidak menunjukkan bercak spesifik pada KLT sehingga dinyatakan negatif. Variasi kecil nilai Rf antar replikasi dapat disebabkan oleh faktor teknis seperti ketidaksempurnaan elusi atau perbedaan kelembaban lingkungan selama analisis.

Penggunaan n-heksan-etanol (5:5) dalam penelitian ini terbukti efektif memisahkan asam salisilat berdasarkan hasil Rf yang konsisten. Penelitian Rahmasari & Astuti (6) juga menegaskan bahwa KLT dengan fase gerak serupa mampu mendeteksi asam salisilat pada kosmetik dengan spesifisitas baik. Namun, ketidakstabilan nilai Rf pada beberapa replikasi mengindikasikan pentingnya

kontrol ketat terhadap kondisi KLT, terutama tingkat kejenuhan chamber dan ketebalan fase diam (9).

### **Uji Kuantitatif *High Performance Liquid Chromatography***

#### **Kondisi Optimum HPLC Untuk Analisis Asam Glikolat dan Asam Salisilat**

Pada penetapan kondisi optimum HPLC untuk menganalisis asam glikolat dan asam salisilat menggunakan kondisi optimasi berdasarkan pada laju alir 1 mL/menit, volume injeksi 20  $\mu$ L, detektor UV dengan Panjang gelombang 230 nm, fase diam C18 dengan ukuran 140 $\times$ 4,6 mmdl dan fase gerak yang digunakan pada penelitian ialah buffer fosfat pH 3 dan metanol (70:30).

#### **Hasil Luas Area Standar Asam Glikolat dan Asam Salisilat**

Hasil luas area standar asam glikolat sebesar 20.000 dan asam salisilat sebesar 25.000 menunjukkan respons detektor HPLC yang baik terhadap kedua senyawa tersebut. Nilai luas area yang tinggi mengindikasikan sensitivitas metode HPLC dalam mendeteksi asam glikolat dan asam salisilat, yang sejalan dengan penelitian Wulandari (8) yang melaporkan bahwa HPLC mampu menghasilkan respons linier untuk analisis senyawa hidroksi asam dengan akurasi tinggi. Selain itu, penggunaan fase gerak buffer fosfat pH 3 dan metanol (70:30) terbukti efektif dalam memisahkan dan mendeteksi kedua senyawa ini, sebagaimana diungkapkan oleh Kishore (10) yang menyatakan bahwa kombinasi buffer fosfat dan metanol dapat meningkatkan resolusi dan sensitivitas analisis. Hal ini juga didukung oleh penelitian Rahmasari & Astuti (6) yang menunjukkan bahwa metode HPLC mampu menghasilkan luas area standar yang stabil dan reproduisibel untuk analisis asam salisilat dalam sediaan kosmetik.

Tabel 3 Hasil Luas Area Standar

Standar	Luas Area
Asam Glikolat	20000
Asam Salisilat	25000

#### **Penetapan Kadar Asam Glikolat Dan Asam Salisilat**

Tabel 4 Hasil Penetapan Kadar Asam Glikolat Pada Sampel

Sampel	Luas Area	PPM	Kadar (%)	%RSD
A1	15935	79,675 ppm	0,79%	

A2	15685	78,425 ppm	0,78%	1,9%
A3	15389	76,945 ppm	0,76%	
B1	15987	79,935 ppm	0,79%	4,4%
B2	16403	82,015 ppm	0,82%	
B3	15068	75,34 ppm	0,75%	
D1	15466	77,33 ppm	0,77%	2,5%
D2	16254	81,27 ppm	0,81%	
D3	15389	76,945 ppm	0,79%	

Berdasarkan Tabel 4, kadar asam glikolat dalam tiga sampel toner yaitu, sampel A, B dan D berkisar antara 0.75-0.82%, dengan kadar tertinggi pada sampel B replikasi 2 yaitu, 0.82% dan terendah pada sampel B replikasi 3 sebesar 0.75%. Hasil tersebut masih berada di bawah batas maksimal 10% yang ditetapkan BPOM (1) untuk kandungan asam glikolat dalam produk kosmetik.

Tabel 5 Hasil Penetapan Kadar Asam Salisilat Pada Sampel

Sampel	Luas Area	PPM	Kadar (%)	%RSD
A1	22063	88,252 ppm	0,88%	1,7%
A2	21789	87,156 ppm	0,87%	
A3	21377	85,508 ppm	0,85%	
B1	20327	81,308 ppm	0,81%	5,5%
B2	20924	83,696 ppm	0,83%	
B3	22714	90,856 ppm	0,90%	
D1	20538	82,152 ppm	0,82%	6,0%
D2	23214	92,856 ppm	0,92%	
D3	22541	90,164 ppm	0,90%	

Selanjutnya, Tabel 5 mengungkapkan kadar asam salisilat lebih tinggi, yaitu berkisar antara 0.81-0.92% dibanding asam glikolat, namun masih memenuhi persyaratan BPOM (<2%). Temuan ini sejalan dengan Rahmasari & Astuti (6) yang menemukan kadar 0.87-2.75% pada produk sejenis. Sampel D menunjukkan kadar tertinggi yaitu sebesar 0.92%, nilai tersebut tidak melebihi batas maksimal.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, kondisi optimum High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk analisis simultan asam glikolat dan asam salisilat dalam sediaan toner tercapai pada laju alir 1 mL/menit, volume injeksi 20 µL, panjang gelombang 230 nm, dengan fase gerak buffer fosfat dan metanol (70:30)

serta fase diam kolom C18. Dari lima sampel toner yang diambil dari toko kosmetik di Kota Madiun, tiga sampel (A, B, dan D) terbukti mengandung asam glikolat dengan kadar rata-rata berturut-turut sebesar 0,77%, 0,78%, dan 0,79%. Sementara itu, kandungan asam salisilat pada ketiga sampel tersebut masing-masing sebesar 0,86%, 0,84%, dan 0,88%, dengan sampel D menunjukkan kadar tertinggi. Seluruh sampel yang positif mengandung kedua senyawa tersebut memenuhi persyaratan keamanan menurut regulasi BPOM, dimana kadar asam glikolat masih di bawah batas maksimal 10% dan asam salisilat di bawah 2%, sehingga dinyatakan aman untuk penggunaan kosmetik (1).

#### DAFTAR PUSTAKA

1. BPOM. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 23 Tahun 2019 Tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik. Bpom Ri. 2019;2010:1–258.
2. Putri N, Dzakiyyah H. Pengaruh Chemical Exfoliator AHA pada Skincare. *J Cendekia Kim.* 2023;01(02):65–71.
3. Fatmawati A. Analisis Kualitatif & Kuantitatif Kandungan Asam Salisilat Pada Sediaan Kosmetika Semi Padat Yang Beredar Di Pasar Beringharjo, Yogyakarta. *INPHARNMED J (Indonesian Pharm Nat Med Journal).* 2023;6(2):47.
4. Wardana FY, Fadila N, Siwi MAA. Identifikasi Kandungan Asam Salisilat dalam Produk Krim Anti Jerawat di Pasar Tajinan Kabupaten Malang. *PHARMADEMICA J Kefarmasian dan Gizi.* 2022;1(2):69–79.
5. Fertiasari R, Leni L, Kristiandi K. Analisis Hidrokuinon Pada Kosmetik Cair Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Kckt). *Media Ilm Kesehat Indones.* 2023;1(1):6–11.
6. Rahmasari K, Astuti I. Analyzing the Salicylic Acid Content of Anti-Acne Products Circulating in Pekalongan Regency. *Pros 16th Urecol Seri MIPA dan Kesehat.* 2022;868–77.
7. Siswanto A, Fudholi A, Nugroho AK, Martono S. Validasi Metode HPLC untuk Penetapan Aspirin dan Asam Salisilat dalam Plasma Kelinci ( *Lepus curpaeums* ) secara Simultan Validation of A High Performance Liquid Chromatography Method for The Simultaneous Determination of Aspirin and Salisylic Acid In Rabb. *J Kefarmasian Indones.* 2016;6:68–78.
8. Wulandari D, Gusrizal G, Zaharah TA. Optimasi dan Validasi Metode Penentuan Kadar Asam Glikolat dan Asam Laktat Dalam Krim Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *ALCHEMY J Penelit Kim.* 2020;16(1):10.
9. Salamah N, Guntarti A. Analisis Instrumen: Kromatografi dan Elektroforesis. *Uad Press.* 2023;viii–42.
10. Kishore G, Karthik A, Gopal SV, Ranjith A, Bhat M, Udupa N. Development of RP-HPLC method for simultaneous estimation of lactic acid and glycolic

acid. Der Pharma Chem. 2013;5(4):335–40.