

Artikel Penelitian

Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi untuk Analisis Kandungan Alfa Arbutin dan Niasinamid dalam Krim Pemutih Wajah

Jihan Nurrosyidah¹, Aqnes Budiarti^{2*)}, Khoirul Anwar²

¹Program Studi Profesi Apoteker Universitas Wahid Hasyim

²Program Studi S1 Farmasi Universitas Wahid Hasyim

*) E-mail: aqnesbudiarti@unwahas.ac.id

Diterima : Juli 2023

Disetujui : Januari 2024

ABSTRAK

Kombinasi alfa arbutin dan niasinamid sering digunakan dalam krim pemutih wajah pada kadar yang relatif kecil sehingga membutuhkan metode analisis yang valid. Tujuan penelitian ini adalah mengembangkan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) untuk analisis kadar alfa arbutin dan niasinamid dalam tiga merek dagang krim pemutih. Sistem KCKT yang dikembangkan adalah tipe fase terbalik dengan kolom C_{18} dan fase gerak berupa campuran metanol: aquabidest (20:80, v/v) dengan kecepatan alir 1,0 ml/menit dan panjang gelombang deteksi 274 nm. Uji validasi meliputi parameter linearitas, sensitivitas, selektivitas, presisi, dan akurasi. Hasil penelitian menunjukkan semua parameter memenuhi persyaratan. Uji linieritas menghasilkan nilai korelasi alfa arbutin dan niasinamid masing-masing adalah $r = 0,999$. Nilai LOD alfa arbutin 0,405 $\mu\text{g/mL}$ dan LOD niasinamid 0,398 $\mu\text{g/mL}$. Nilai LOQ alfa arbutin 1,351 $\mu\text{g/mL}$ dan LOQ niasinamid 1,327 $\mu\text{g/mL}$ dan selektivitas baik. Uji presisi menghasilkan $\%RSD \leq 2\%$ dan uji akurasi menghasilkan nilai perolehan kembali alfa arbutin dan niasinamid pada rentang 99,04-100,97%. Kandungan alfa arbutin dalam krim pemutih merek A 0,651%, merek B 0,551%, dan merek C 0,878%. Kandungan niasinamid dalam krim pemutih merek A 0,526%; merek B 0,680% dan merek C 1,053%. Hasil analisis kandungan alfa arbutin dan niasinamid dalam ketiga merek dagang krim pemutih memenuhi persyaratan BPOM RI.

Kata kunci: Alfa arbutin, niasinamid, KCKT, krim pemutih, *skincare*.

High Performance Liquid Chromatography Method for Analysis of Alpha Arbutin and Niacinamide in Facial Whitening Creams

ABSTRACT

The combination of alpha arbutin and niacinamide is often used in facial whitening creams at relatively small levels so required valid analysis method. This study aimed to develop HPLC method for analyzing alpha arbutin and niacinamide in three brands of whitening creams. The HPLC system developed was a reverse phase type with a C_{18} column and the mobile phase was a mixture of metanol: aquabidest (20:80, v/v) with a flow rate of 1.0 ml/min and a detection wavelength of 274 nm. The results showed that all parameters met the requirements. The linearity test yielded a correlation value was $r = 0.999$. The LOD value for alpha arbutin was 0.405 $\mu\text{g/mL}$ and the LOD for niacinamide was 0.398 $\mu\text{g/mL}$. The LOQ value of alpha arbutin was 1.351 $\mu\text{g/mL}$, the LOQ for niacinamide was 1.327 $\mu\text{g/mL}$ and the selectivity was good. Precision test results with $\%RSD \leq 2\%$ and accuracy tests yielded values in the 99.04-100.97% range. The content of alpha arbutin in brand A was 0.651%, brand B was 0.551%, and brand C was 0.878%. The content of niacinamide in brand A was 0.526%; brand B was 0.680% and brand C was 1.053%. The results of the analysis meet the requirements.

Keywords: Alpha arbutin, niacinamide, HPLC, whitening cream, *skincare*.

1.PENDAHULUAN

Kombinasi alfa arbutin dan niasinamid dalam sediaan kosmetika merupakan salah satu pilihan yang efektif untuk mencerahkan kulit tanpa efek samping yang signifikan (1). Namun demikian, pemakaian krim pemutih terus menerus melebihi standar pemakaian yang disarankan justru akan

menimbulkan pigmentasi permanen atau ochronosis (2). Alfa arbutin merupakan derivat hidrokuinon yang dapat digunakan sebagai strategi terapi baru anti-pigmentasi (3,4). Batas keamanan alfa arbutin, dalam kosmetik krim adalah 2%, sedangkan untuk losion adalah 0,5% (5). Beberapa studi klinis terapi

hiperpigmentasi menyarankan penggunaan alfa arbutin dikombinasi dengan agen depigmentasi lainnya agar efek terapi lebih baik (6).

Niasinamid atau nikotinamida dapat memutihkan kulit dengan mekanisme kerja menghambat transfer melanosom dari melanosit ke keratinosit (7). Niasinamid mengurangi lesi hiperpigmentasi (8,9), melalui reaksi oksidatif sel (10). Efektivitas niasinamid dalam mencerahkan kulit dapat dimaksimalkan dengan kombinasi bahan aktif lain yang memiliki peran berbeda (11). Beberapa hasil uji klinis menunjukkan niasinamid bermanfaat dalam kesehatan dan kecantikan kulit tanpa efek samping yang parah (8). Kadar niasinamid yang diperbolehkan dalam penggunaan sediaan kosmetik menurut BPOM RI adalah maksimal 10% (12).

Analisis alfa arbutin dan niasinamid membutuhkan metode yang bersifat sensitif agar kadar kedua zat yang relatif kecil dalam sediaan dapat terdeteksi. Analisis alfa arbutin dan niasinamid dapat menggunakan detektor Uv-Vis karena struktur kimia alfa arbutin dan niasinamid mengandung gugus kromofor. Metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) memiliki beberapa kelebihan yaitu sederhana, praktis, dan sensitif (13). Dengan demikian, metode KCKT dengan detektor Uv-Vis cocok untuk analisis alfa arbutin dan niasinamid dalam sediaan krim pemutih karena kadar kedua zat yang relatif kecil dan memungkinkan analisis kedua zat secara simultan.

Validasi metode analisis dibutuhkan untuk memastikan agar metode yang akan digunakan benar-benar sesuai untuk menganalisis suatu sampel. Parameter kinerja metode yang divalidasi tergantung pada tujuan metode tersebut. Metode analisis untuk menetapkan kadar bahan aktif dan pengawet dalam produk jadi termasuk dalam kategori 2 dengan parameter uji meliputi linieritas, akurasi, presisi, kisaran, selektivitas, dan sensitivitas (14).

Jeon et al. (2014) (15) telah melakukan validasi metode KCKT untuk menetapkan kadar arbutin, niasinamid dan adenosine dalam produk kosmetik. Sistem KCKT menggunakan fase diam C_{18} (150 mm x 4,6 mm) dan fase gerak berupa campuran air deionisasi dan metanol dengan laju alir 1,0 mL/menit. Detektor adalah UV-Vis pada panjang gelombang 260 nm. Hasil penelitian menunjukkan semua parameter validasi memenuhi syarat namun parameter akurasi memperoleh nilai rekoveri mendekati batas atas yaitu 107,5%. Jeon et al. (2016) (16) juga memvalidasi metode KCKT untuk

analisis kadar alfa arbutin, niasinamid, adenosin, hidrokinon, gkusida askorba, dan etil askorbat menggunakan fase gerak yang berbeda yaitu campuran metanol dan dapar pospat serta detektor yang berbeda yakni dioda array. Fase diam yang digunakan adalah C_{18} . Metode tervalidasi pada parameter linieritas dan presisi. Metode analisis dapat diaplikasikan secara mudah pada sediaan kosmetik buatan Korea.

Permana et al. (2022) (17) mengembangkan metode analisis KCKT untuk menetapkan kadar arbutin, niasinamid, dan 3-O-etil asam askorbat dalam sediaan krim pemutih wajah. Fase diam yang digunakan adalah C_{18} dan fase gerak berupa campuran air, metanol, dan asetonitril dengan tipe elusi gradien. Deteksi UV pada 220 nm. Metode tervalidasi pada parameter linieritas, akurasi, presisi, dan selektivitas yakni analisis tidak terganggu oleh adanya pengawet paraben.

Wang et al. (2015) (18) mengembangkan metode KCKT untuk analisis α -arbutin, β -arbutin, asam kojic, nikotinamid, hidrokuinon, resorsinol, 4-metoksifenol, 4-etoksifenol, dan asam askorbat dalam produk pemutih kulit. Fase diam yang digunakan adalah C_{18} dan fase gerak berupa campuran metanol dan air yang mengandung 0,1% asam asetat pada pH 2,3. Metode analisis yang dihasilkan memenuhi persyaratan validasi pada parameter akurasi, presisi, dan sensitivitas. Metode dapat diaplikasikan untuk menetapkan kadar 59 produk pemutih kulit.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan pengembangan metode KCKT untuk analisis kadar alfa arbutin dan niasinamid dalam krim pemutih. Pengembangan dilakukan melalui dua tahap yaitu optimasi komposisi fase gerak dilanjutkan validasi metode yang meliputi parameter linieritas, sensitivitas, presisi, akurasi, dan selektivitas. Metode tervalidasi diaplikasikan pada tiga merek dagang krim pemutih serta memastikan mutu krim sesuai dengan persyaratan BPOM.

2.METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah seperangkat KCKT (Jasco LC-Nett II/ADC) dilengkapi detektor UV-Vis, Kolom C_{18} (LiChroCART) (125 mm x 4 μ m), Spektrofotometer UV/Vis (1800 Shimadzu), membran filter 0,45 μ m, digital ultrasonic cleaner (Jeken), mikropipet (Socorex), timbangan analitik (Ohaus), dan alat-alat gelas. Bahan yang digunakan adalah zat standar alfa arbutin (Xi'an Aogu Biotech Co. Ltd.), zat standar niasinamid (Supelco),

aquabidest, metanol, dan tiga merek dagang krim pemutih.

2.2 Pengumpulan sampel

Sampel krim pemutih diambil dari toko kosmetik menggunakan teknik *purposive random sampling* dengan kriteria inklusi meliputi tiga merek dagang yang berbeda, label produk mencantumkan kandungan alfa arbutin dan niasinamid tanpa mencantumkan kadar dan banyak peminatnya.

2.3 Pembuatan larutan induk alfa arbutin dan niasinamid

Standar alfa arbutin dan niasinamid masing-masing ditimbang 10,0 mg dengan seksama, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL yang berbeda lalu ditambahkan aquabidest sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi 200 µg/mL.

2.4 Penentuan panjang gelombang operasional

Larutan induk alfa arbutin dan niasinamid diambil dan diencerkan dengan fase gerak hingga diperoleh konsentrasi masing-masing 6 µg/mL. Larutan discanning menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm. Titik potong kedua panjang gelombang ditentukan dan digunakan sebagai panjang gelombang operasional (19).

2.5 Optimasi fase gerak

Fase gerak berupa campuran metanol dan aquabidest dengan perbandingan (20:80, 25:75, dan 30:70, v/v). Laju alir yang digunakan adalah 1,0 mL/menit. Komposisi fase gerak pada pengembangan metode KCKT dipilih berdasarkan luas area puncak kromatogram dan nilai resolusi antar puncak (20)

2.6 Kurva baku

Larutan seri konsentrasi campuran alfa arbutin dan niasinamid masing-masing 2, 4, 6, 8 dan 10 µg/mL disuntikkan dengan volume 20 µL ke dalam sistem KCKT. Data luas area kromatogram dibuat persamaan regresi linier $y = bx + a$, dimana y = luas area kromatogram dan x = konsentrasi. Replikasi sebanyak 3 kali. Persamaan regresi linier yang memiliki nilai r terbesar dipilih sebagai kurva baku

2.7 Validasi metode analisis

3.1 Linearitas

Uji linieritas menggunakan data kurva baku yang telah dilakukan replikasi tiga kali. Nilai korelasi (r) ketiga persamaan regresi dibandingkan dengan persyaratan uji. Persamaan regresi linier yang memiliki nilai r terbesar juga digunakan untuk uji sensitivitas.

3.2 Sensitivitas

Uji sensitivitas atau kepekaan menggunakan persamaan linier terpilih dari uji linieritas. Nilai Y dan slope dihitung lalu nilai batas deteksi atau LOD ditentukan berdasarkan persamaan $Y = YB + 3SB$ dan nilai batas kuantitasi atau LOQ ditentukan berdasarkan persamaan $Y = YB + 10SB$.

3.3 Selektivitas

Larutan sampel krim pemutih yang mengandung alfa arbutin dan niasinamid disaring menggunakan membran ukuran 0,45 µm kemudian disuntikkan sebanyak 20 µL ke alat KCKT. Kromatogram diamati pemisahan antar puncaknya. Puncak alfa arbutin dan niasinamid dihitung daya resolusinya (R).

3.4 Presisi

Larutan campuran alfa arbutin dan niasinamid konsentrasi masing-masing 2, 6, dan 8 µg/mL disuntikkan dengan volume 20 µL ke dalam sistem KCKT. Replikasi dilakukan sebanyak 6 kali untuk masing-masing kadar lalu dihitung nilai %RSD.

3.5 Akurasi

Uji dilakukan secara metode penambahan baku atau standard addition method. Larutan sampel krim pemutih ditetapkan kadar alfa arbutin dan niasinamid dengan cara sampel krim pemutih sebanyak 1,0 gram ditimbang seksama lalu dilarutkan dengan fase gerak dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas. Larutan sampel disaring menggunakan membran filter 0,45 µm hingga jernih. Larutan sampel ditetapkan Larutan sampel ditambahkan baku alfa arbutin dan niasinamid dengan konsentrasi 80%, 100%, dan 120%. Replikasi sebanyak 3 kali selanjutnya dihitung persen perolehan kembalinya (19).

2.8 Penetapan Kadar Alfa Arbutin dan Niasinamid

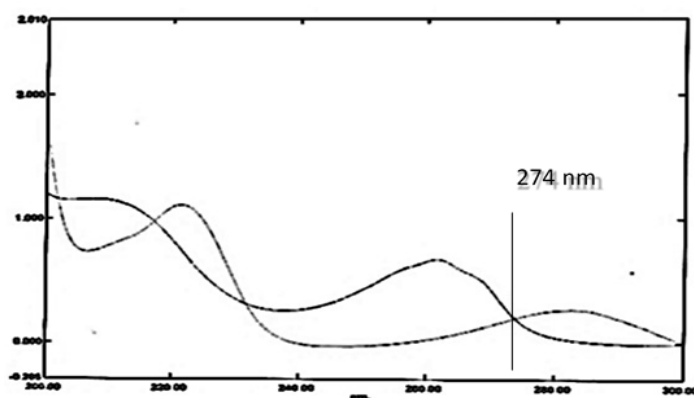
Sampel krim pemutih masing-masing ditimbang 1,0 gram dengan seksama lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml kemudian dilarutkan dengan fase gerak sampai tanda batas. Larutan sampel dihilangkan gasnya dengan ultrasonikator selama 15 menit kemudian disaring dengan membran filter 0,45 µm. Larutan disuntikkan ke dalam sistem KCKT pada panjang gelombang 274 nm dengan laju alir 1,0 mL/menit dan volume injeksi 20 µL. Replikasi 6 kali (19).

3.HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Panjang gelombang operasional.

Panjang gelombang yang digunakan untuk menganalisis alfa arbutin dan niasinamid ditetapkan dari titik potong yang terjadi antara 2 kurva spektrum hasil *scanning* panjang gelombang alfa arbutin dan niasinamid yang tampak pada gambar 1. Hasil *scanning* menunjukkan panjang gelombang maksimal alfa arbutin adalah 282 nm dan panjang

gelombang maksimal niasinamid adalah 261 nm. Hasil ini hampir sama dengan penelitian Jeon et al. (2014) (15) yang menghasilkan panjang gelombang maksimal alfa arbutin pada 280 nm dan niasinamid pada 260 nm. Titik potong terjadi pada panjang gelombang 274 nm yang masuk dalam rentang sinar UV karena struktur kimia alfa arbutin dan niasinamid memiliki cincin aromatis. Senyawa yang memiliki gugus kromofor berupa cincin aromatis dengan sistem konjugasi dan auksokrom dapat menyerap sinar UV (13).



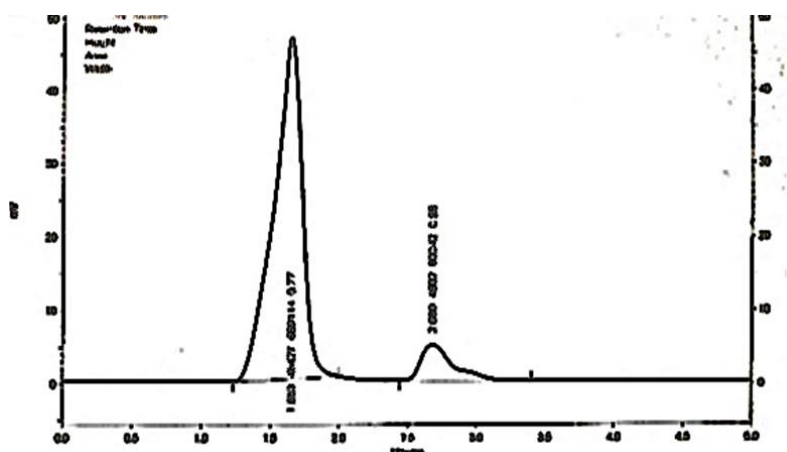
Gambar 1. Hasil scanning panjang gelombang alfa arbutin dan niasinamid.

3.2 Optimasi fase gerak

Optimasi fase gerak dilakukan dengan merubah-rubah komposisi fase gerak karena komposisi fase gerak yang optimal dapat memperbesar daya pemisahan antar puncak kromatogram sehingga meningkatkan selektivitas metode dan meningkatkan sensitivitas metode (19). Penetapan komposisi fase gerak yang optimum didasarkan pada besarnya waktu retensi, resolusi, dan luas puncak alfa arbutin dan niasinamid.

Fase gerak dengan komposisi metanol dan aquabidest (20:80, v/v) menghasilkan waktu retensi yang relatif lama, namun area puncak kromatogram

lebih luas dibanding komposisi fase gerak lainnya serta memiliki puncak yang simetris. Fase gerak dengan komposisi metanol dan aquabidest (25:75, v/v) menghasilkan waktu retensi yang relatif cepat dan luas area yang lebih kecil, sedangkan komposisi metanol dan aquabidest (30:70, v/v) menghasilkan waktu retensi lebih cepat dengan luas area yang paling kecil. Dengan demikian, fase gerak dengan komposisi metanol dan aquabidest (20:80, v/v) ditetapkan sebagai fase gerak terpilih untuk analisis. Hasil optimasi fase gerak dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Kromatogram dengan fase gerak metanol: aquabidest (20:80, v/v)

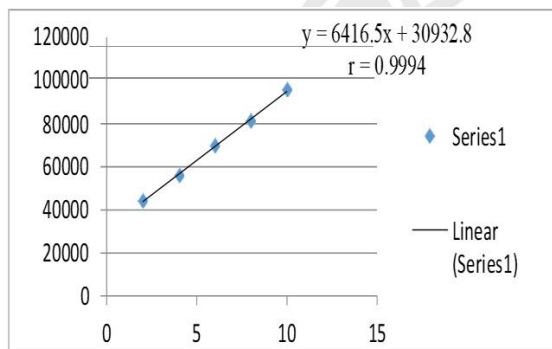
3.3 Kurva baku

Kurva baku diperoleh dari persamaan regresi linier seri konsentrasi larutan alfa arbutin dan niasinamid masing-masing terdiri dari 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL yang terdapat pada Tabel 1 berikut.

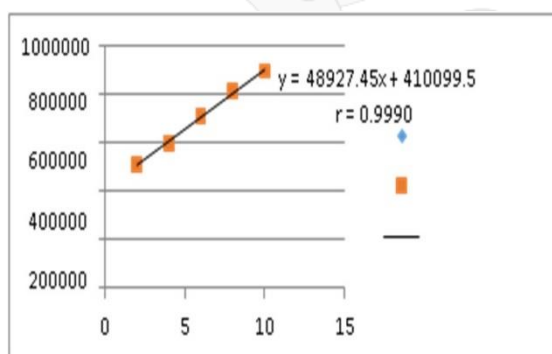
Tabel 1. Persamaan Kurva Baku

No.	Persamaan Kurva Baku	
	Alfa arbutin	Niasinamid
1	$Y = 6416,5x + 30932,8$ $r = 0,9994$	$Y = 48927,45x + 410099,5$ $r = 0,99904$
2	$Y = 3951,5x + 1618$ $r = 0,9881$	$Y = 53771,2x + 154191,2$ $r = 0,9965$
3	$Y = 5885,65x + 40269,9$ $r = 0,9922$	$Y = 48165,4x + 95195,4$ $r = 0,9988$

Berdasarkan Tabel 1 maka dapat dicermati bahwa persamaan regresi linear alfa arbutin dan niasinamid yang terbaik adalah replikasi pertama sehingga terpilih sebagai persamaan kurva baku. Grafik kurva baku pada Gambar 3.



(a)



(b)

Gambar 3. Grafik kurva baku (a) alfa arbutin dan (b) niasinamid

Persamaan kurva baku alfa arbutin adalah $y = 6416,5x + 30932,8$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9994. Persamaan kurva baku niasinamid adalah $y = 48927,45x + 410099,5$ dengan nilai (r) sebesar 0,9990

3.3 Validasi metode analisis

a. Linieritas

Linieritas merupakan parameter yang menunjukkan kinerja metode dalam memberikan perubahan respon linier dengan perubahan kadar zat yang dianalisis (21). Uji linieritas menggunakan data yang diperoleh dari pembuatan kurva baku. Persamaan regresi linier replikasi pertama memperoleh nilai koefisien korelasi (r) untuk alfa arbutin sebesar 0,9994 dan koefisien korelasi (r) untuk niasinamid sebesar 0,9990. Replikasi kedua untuk alfa arbutin memperoleh nilai $r = 0,9881$ dan untuk niasinamid nilai $r = 0,9965$. Replikasi ketiga memperoleh alfa arbutin nilai $r = 0,9922$ dan untuk niasinamid nilai $r = 0,9988$. Ketiga persamaan memenuhi persyaratan uji linieritas karena nilai r lebih besar dari 0,999.

b. Sensitivitas

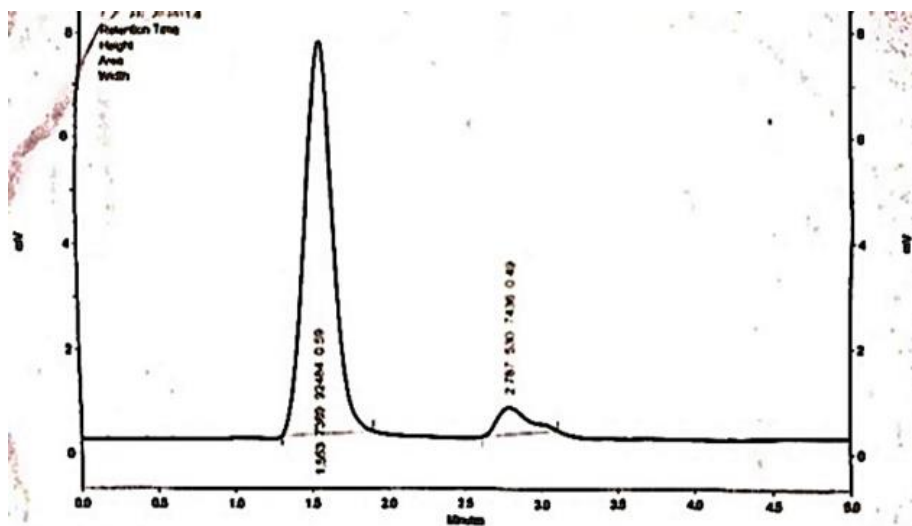
Nilai LOD dan LOQ dalam penelitian ini ditentukan untuk mengetahui batas terkecil konsentrasi analit yang masih diizinkan untuk dilakukannya analisis. Perhitungan LOD dan LOQ menggunakan data persamaan regresi linier kurva baku terpilih. Nilai LOD alfa arbutin yang diperoleh sebesar 0,405 µg/mL dan LOQ sebesar 1,351 µg/mL, sedangkan nilai LOD niasinamid sebesar 0,398 µg/mL dan LOQ sebesar 1,327 µg/mL. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin sensitif suatu metode analisis tersebut (13).

c. Selektivitas

Selektivitas ditetapkan berdasarkan nilai resolusi (R) antara puncak alfa arbutin dan niasinamid yang terkandung dalam krim pemutih. Berdasarkan gambar 4 dapat dilihat bahwa hanya puncak niasinamid dan alfa arbutin yang terlihat sedangkan komponen lain tidak terlihat. Hasil perhitungan nilai R memperoleh nilai 2,285 yang memenuhi persyaratan yaitu $R \geq 1,5$ sehingga metode analisis yang dikembangkan memiliki selektivitas yang baik. Kromatogram alfa arbutin dan niasinamid tampak pada Gambar 4.

d. Presisi

Presisi ditentukan berdasarkan nilai RSD (Relative Standard Deviasi) pada data waktu retensi, luas puncak dan tinggi puncak kromatogram.



Gambar 4. Kromatogram (a) niasinamid dan (b) alfa arbutin

Tabel 2 menunjukkan hasil uji presisi alfa arbutin dan niasinamid dengan konsentrasi 2, 6, dan 8 µg/mL memenuhi persyaratan <2% (22).

Tabel 2. Uji presisi alfa arbutin dan niasinamid

Kadar (µg/mL)	Alfa arbutin		Niasinamid	
	Kadar rata-rata (µg/mL)	% RSD	Kadar rata-rata (µg/mL)	% RSD
2	2,0230	0,424	2,0491	0,037
6	6,0170	0,050	6,0044	0,032
8	8,0311	0,070	8,0931	0,007

e. Akurasi

Akurasi menunjukkan kedekatan hasil penetapan kadar dengan kadar sebenarnya. Uji akurasi dilakukan secara metode penambahan zat standar. Hasilnya dinyatakan sebagai nilai rekoverti atau perolehan kembali yang tercantum pada Tabel 3 berikut. Hasil uji akurasi metode memperoleh nilai perolehan kembali alfa arbutin dan niasinamid pada rentang 99,04-100,97% sehingga memenuhi persyaratan yakni 98-102% (14).

Tabel 3. Uji akurasi alfa arbutin dan niasinamid

Sampel	Baku (%)	Perolehan kembali (%)	
		Alfa arbutin	Niasinamid
A	80	99,12 – 100,38	100,10 – 100,39
	100	99,20 – 100,14	100,03 – 100,97
	120	99,04 – 99,06	100,37 – 100,70
B	80	99,15 – 100,04	99,73 – 100,03
	100	100,03 – 100,13	99,04 – 100,14
	120	100,18 – 100,50	100,07 – 100,21
C	80	100,58 – 100,83	100,03 – 100,18
	100	99,86 – 100,11	99,31 – 99,35
	120	100,06 – 100,25	99,33 – 99,36

3.4 Penetapan kadar alfa arbutin dan niasinamid

Penetapan kadar alfa arbutin dan niasinamid dalam tiga merek dagang krim pemutih menggunakan data kromatogram KCKT. Luas area puncak alfa arbutin dan niasinamid diekstrapolasikan pada kurva baku masing-masing. Hasil analisis kandungan alfa arbutin dan niasinamid dapat dilihat pada Tabel IV. Semua krim memenuhi persyaratan kadar alfa arbutin yaitu sebesar 2% dalam sediaan kosmetik (5) dan kadar niasinamid yang diperbolehkan oleh BPOM RI niasinamid tidak lebih dari 10% (12).

Tabel IV. Analisis kadar alfa arbutin dan niasinamid

Sampel	Alfa arbutin		Niasinamid	
	Kadar rata-rata (% b/b)	SD	Kadar rata-rata (% b/b)	SD
A	0,651	0,0087	0,526	0,0029
B	0,551	0,0225	0,680	0,0088
C	0,878	0,0201	1,053	0,0074

4.KESIMPULAN

Metode KCKT yang dikembangkan telah tervalidasi dengan semua parameter kinerja metode memenuhi persyaratan. Uji linieritas menghasilkan nilai korelasi alfa arbutin dan niasinamid masing-masing adalah $r = 0,999$. Nilai LOD alfa arbutin 0,405 µg/mL dan LOD niasinamid 0,398 µg/mL. Nilai LOQ alfa arbutin 1,351 µg/mL dan LOQ niasinamid 1,327 µg/mL dan selektivitas baik. Hasil uji presisi menghasilkan %RSD ≤ 2% dan uji akurasi menghasilkan nilai perolehan kembali alfa arbutin dan niasinamid pada rentang 99,04-100,97%. Kandungan alfa arbutin dalam krim pemutih merek A 0,651%, merek B 0,551%, dan

merek C 0,878%. Kandungan niasinamid dalam krim pemutih merek A 0,526%; merek B 0,680% dan merek C 1,053%. Hasil analisis kandungan alfa arbutin dan niasinamid dalam ketiga merek dagang krim pemutih memenuhi persyaratan BPOM.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Wahid Hasyim yang telah memberikan fasilitas berupa laboratorium sehingga penelitian ini terselesaikan dengan baik.

6. PENDANAAN

Penelitian ini tidak didanai oleh sumber hibah manapun.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Santoso GL, Anwar AI, Tabri F, Djawad K, Madjid A, Seweng A. The Effectiveness of Combination Serum of Tranexamic Acid, Galactomyces Ferment Filtrate, Niacinamide and Alpha Arbutin in Enhancing Skin Brightness. *International Journal of Medical Reviews and Case Reports*. 2018;2(Reports in Surgery and Dermatolo):1.
2. Chandorkar N, Tambe S, Amin P, Madankar CS. Alpha Arbutin as a Skin Lightening Agent: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Research*. 2021 Mar 2;13(02).
3. García-Martínez J. Chemistry Education: Best Practices, Opportunities and Trends [Internet]. Chemistry Education: Best Practices, Opportunities and Trends. 2015. 1–754 p. Available from: https://api.elsevier.com/content/abstract/scopus_id/85018208773
4. Putri WE, Kurniawati Y, Djauhari T, Kesehatan F, Nahdlatul U, Surabaya U, et al. Depigmenting agent melanotoksik pada pengobatan melasma. *Medical and Health Science Journal*. 2018;23–31.
5. Bernauer U, Chaudry Q, Coenraads P, Degen G, Dusinska M. Opinion on Alpha-Arbutin. Scientific Committee on Consumer Safety: Opinion on Alpha-Arbutin. 2015;48.
6. Saeedi M, Khezri K, Seyed Zakaryaei A, Mohammadamini H. A comprehensive review of the therapeutic potential of α -arbutin. *Phytotherapy Research*. 2021 Aug 1;35(8):4136–54.
7. Hakozaki T, Minwalla L, Zhuang L, Chloa M, Matsubar A, Miyamoto K, et al. The effect of niacinamide on reducing cutaneous pigmentation and suppression of melanosome transfer. *Br J Dermatol*. 2002;
8. Boo YC. Mechanistic basis and clinical evidence for the applications of nicotinamide (Niacinamide) to control skin aging and pigmentation. Vol. 10, Antioxidants. MDPI; 2021.
9. Mi T, Dong Y, Santhanam U, Huang N. Niacinamide and 12-hydroxystearic acid prevented benzo(a) pyrene and squalene peroxides induced hyperpigmentation in skin equivalent. *Exp Dermatol* [Internet]. 2018;23–31. Available from: <http://orcid.org/0000-0002-7873-7294>.
10. Greatens A, Hakozaki T, Koshoffer A, Epstein H, Schwemmer S, Babcock G, et al. Effective inhibition of melanosome transfer to keratinocytes by lectins and niacinamide is reversible. *Exp Dermatol*. 2005.
11. Wohlrab J, Kreft D. Niacinamide-mechanisms of action and its topical use in dermatology. *Skin Pharmacol Physiol*. 2014;27(6):311–5.
12. Badan POM RI. Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika. 2015.
13. Gandjar IG, Rohman A. Kimia Farmasi Analisis.
14. Lister AS. Validation of HPLC Methods in Pharmaceutical in Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC. Ahuja S, Dong MW, editors. New York: Worldwide Research & Development; 2005.
15. Jeon JS, Lee MJ, Yoon MH, Park JA, Yi H, Cho HJ, et al. Determination of Arbutin, Niacinamide, and Adenosine in Functional Cosmetic Products by High-Performance Liquid Chromatography. *Anal Lett*. 2014;47(10):1650–60.
16. Jeon JS, Kim HT, Kim MG, Oh MS, Hong SR, Yoon MH, et al. Simultaneous determination of water-soluble whitening ingredients and adenosine in different cosmetic formulations by high-performance liquid chromatography coupled with photodiode array detection. *Int J Cosmet Sci*. 2016 Jun 1;38(3):286–93.
17. Permana B, Hasanah M, Tursino T. Simultaneous HPLC Determination of Arbutin, Niacinamide and 3-O-Ethyl Ascorbic Acid in Whitening Cream Products in the Presence of Parabens. *Chromatographic Science*. 2023;61(3):241–8.
18. Wang YH, Avonto C, Avula B, Wang M, Rua D, Khan IA. Quantitative determination of α -arbutin, β -arbutin, kojic acid, nicotinamide, hydroquinone, resorcinol, 4-methoxyphenol, 4-ethoxyphenol, and ascorbic acid from skin whitening products by HPLC-UV. *J AOAC Int*. 2015 Jan 1;98(1):5–12.
19. Snyder RL, Kirkland JJ. Introduction to modern liquid chromatography.
20. Husnia FH, Budiarti AB. Pengembangan Metode Analisis Kuersetin dalam Ekstrak Etanol Buah Leunca (*Solanum nigrum* L.) Menggunakan

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Media Farmasi. 2021 Nov 23;17(2):108.

21. Harmita H. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2004 Dec;1(3):117–35.
22. Susanti M, Dachriyanus. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi Universitas Andalas; 2017.

