

LAPORAN

PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEKS



Uhamka
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA

**OPTIMASI DAN VALIDASI METODE ANALISA BAHAN KIMIA
BERBAHAYA HIDROKUINON DAN NIASINAMID PADA KOSMETIK
SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN PLASMA**

Nomor Surat Kontrak Penelitian: 250/F.03.07/2020

Nilai Kontrak: Rp 15.000.000,-

TIM PENGUSUL

- 1. SUPANDI, M. Si., Apt.(KETUA)0319067801**
- 2. Dra. SRI NEVI GANTINI, M. Si. (ANGGOTA) 0306116401**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA**

2020

**LEMBAR PENGESAHAN
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK (PPI)**

Judul Penelitian

**OPTIMASI DAN VALIDASI METODE ANALISA BAHAN KIMIA
BERBAHAYA HIDROKUINON DAN NIASINAMID PADA KOSMETIK
SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN PLASMA**

Jenis Penelitian : PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK (PPI)

Ketua Peneliti : Dr. Supandi, M.Si., Apt
Link Profil simakip : <http://simakip.uhamka.ac.id/pengguna/profile>
Contoh link : <http://simakip.uhamka.ac.id/pengguna/show/978>
Fakultas : Fakultas Farmasi dan Sains
Anggota Peneliti : Dra. Sri Nevi Gantini, M.Si.
Link Profil simakip : <http://simakip.uhamka.ac.id/pengguna/profile>.
Contoh link : <http://simakip.uhamka.ac.id/pengguna/show/900>
Anggota Peneliti :
Link Profil simakip :
Contoh link :
Waktu Penelitian : 6 Bulan

Luaran Penelitian

Luaran Wajib : Pharmaceutical Sciences and Research
Status Luaran Wajib : **In Review**
Luaran Tambahan : Seminar Internasional
Status Luaran Tambahan: LoA

Mengetahui,
Ketua Program Studi



Kori Yati, M.Farm., Apt
NIDN. 0324067802

Jakarta, 24 Desember 2020
Ketua Peneliti



Dr. Supandi, M.Si., Apt
NIDN.0319067801

Menyetujui,
Dekan Fakultas Farmasi dan Sains



Dr. Hadi Sumaryo, M.Si., Apt.
NIDN.0325067201



Ketua Lemlitbang UHAMKA

Prof. Dr. Suswandari, M.Pd
NIDN. 0020116601



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

Jln. Tanah Merdeka, Pasar Rebo, Jakarta Timur
Telp. 021-8416624, 87781809; Fax. 87781809

**SURAT PERJANJIAN KONTRAK KERJA PENELITIAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR HAMKA**

Nomor : 250 / F.03.07 / 2020
Tanggal : 12 Juni 2020

Bismillahirrahmanirrahim

Pada hari ini, Jum'at, tanggal Dua Belas, bulan Juni, Tahun Dua Ribu Dua Puluh, yang bertanda tangan di bawah ini **Prof. Dr. Suswandari, M.Pd.**, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**; **DR. SUPANDI S.SI., APT., M.SI.**, selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA sepakat untuk mengadakan Perjanjian Kontrak Kerja Penelitian yang didanai oleh RAPB Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA

Pasal 1

PIHAK KEDUA akan melaksanakan kegiatan penelitian dengan judul : **OPTIMASI DAN VALIDASI METODE ANALISA BAHAN KIMIA BERBAHAYA HIDROKUIKON DAN NIASINAMID PADA KOSMETIK SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN PLASMA** dengan luaran wajib dan luaran tambahan sesuai data usulan penelitian Bacth 2 Tahun 2019 melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 2

Bukti luaran penelitian wajib dan tambahan harus sesuai sebagaimana yang dijanjikan dalam Pasal 1, Luaran penelitian yang dimaksud dilampirkan pada saat Monitoring Evaluasi dan laporan penelitian yang diunggah melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 3

Kegiatan tersebut dalam Pasal 1 akan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA mulai tanggal 12 Juni 2020 dan selesai pada tanggal 12 November 2020.

Pasal 4

Berdasarkan kemampuan keuangan lembaga, PIHAK PERTAMA menyediakan dana sebesar Rp.15.000.000,- (Terbilang : *Lima Belas Juta*) kepada PIHAK KEDUA untuk melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1. Sumber biaya yang dimaksud berasal dari RAB pada Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA Tahun Anggaran 2019/2020.

Pasal 5

Pembayaran dana tersebut dalam Pasal 4 akan dilakukan dalam 2 (dua) termin sebagai berikut;
(1) Termin I 70 % : Sebesar 10.500.000, (Terbilang: *Sepuluh Juta Lima Ratus Ribu Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal penelitian yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

(2) Termin II 30 % : Sebesar 4.500.000 (Terbilang: *Empat Juta Lima Ratus Ribu Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA mengunggah laporan akhir penelitian dengan melampirkan bukti luaran penelitian wajib dan tambahan sesuai Pasal 1 ke simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 6

(1) PIHAK KEDUA wajib melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1 dalam waktu yang ditentukan dalam Pasal 3.

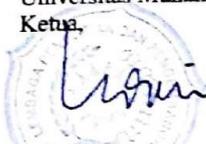
(2) PIHAK PERTAMA akan melakukan monitoring dan evaluasi pelaksanaan kegiatan tersebut sebagaimana yang disebutkan dalam Pasal 1. Bila PIHAK KEDUA tidak mengikuti Monitoring dan Evaluasi sesuai dengan jadwal yang ditentukan, tidak bisa melanjutkan penyelesaian penelitian dan harus mengikuti proses Monitoring dan Evaluasi pada periode berikutnya.

(3) PIHAK PERTAMA akan mendenda PIHAK KEDUA setiap hari keterlambatan penyerahan laporan hasil kegiatan sebesar 0,5 % (setengah persen) maksimal 20% (dua puluh persen) dari jumlah dana tersebut dalam Pasal 4.

(4) Dana Penelitian dikenakan Pajak Pertambahan Nilai (PPN) dari keseluruhan dana yang diterima oleh PIHAK PERTAMA sebesar 5 % (lima persen)

Jakarta, 12 Juni 2020

PIHAK PERTAMA
Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA
Ketua,



Prof. Dr. Suswandari, M.Pd

PIHAK KEDUA
Peneliti,



DR. SUPANDI S.SI., APT., M.SI.

Mengetahui
Wakil Rektor II UHAMKA



Dr. ZAMAH SARI M.Ag.

ABSTRAK

Hidrokuinon dan niasinamid adalah salah senyawa organik yang di gunakan dalam produk krim pemutih wajah, penggunaanya dalam sediaan krim dilarang karena dapat menyebabkan karsinogenik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa kadar hidrokuinon dan niasinamid, apakah sesuai dengan keputusan Badan Pengawas Obat dan Makanan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV Multivariat. Berdasarkan hasil Validasi yang di lakukan dalam plasma di ketahui linearitas yang ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar Hidrokuinon $r = 0,9998$ dengan persamaan $y = 0,0215x + 0,0356$ danniasinamid $r = 0,9996$, dengan persamaan $y = 0,2623x + 0,0036$, batas deteksi $0,3906 \mu\text{g/mL}$, $0,0457 \mu\text{g/mL}$ dan batas kuantifikasi $1,3023 \mu\text{g/mL}$, $0,1524 \mu\text{g/mL}$. Nilai % recovery yang di dapat sebesar hidrokuinon 96-100% dan niasinamid 106-109% dengan tiga konsentrasi yang berbeda, dan nilai RSD sebesar 0,0636% dan 0,384 %. Kesimpulan bahwa optimasi dan validasi penetapan kadar hidrokuinon dan niasinamid dalam plasma menggunakan spektrofotometri UV multivariat memenuhi persyaratan.

Kata Kunci: Hidrokuinon, Niasinamid, Validasi, Spketrofotometri uv vis.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
IDENTITAS USULAN PENELITIAN	iv
RINGKASAN	vi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Rumusan Masalah	2
Tujuan Penelitian	2
Manfaat Penelitian	3
Urgensi Penelitian	3
BAB 2 KAJIAN PUSTAKA	4
<i>State of The Art</i>	5
Hidrokuinon	5
Niasinamid	5
Kosmetik	7
Kromatografi Cair Kinerja Tinggi	9
Road Map Penelitian	10
BAB 3 METODE PENELITIAN	11
Alur Penelitian	12
Alat dan Bahan	12
Cara Penelitian	13
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	16
Optimasi Metode Analisis.....	16
Validasi Metode Analisis	18
Penetapan Kadar Sampel.....	24
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	26
BAB 6 LUARAN YANG DICAPAI	27
BAB 7 RENCANA TINDAK LANJUT DAN ROYEKSI HILIRISASI	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	30

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hidrokuinon adalah zat aktif yang dapat mengendalikan pigmentasi kulit yang berwarna gelap kecoklatan, sehingga muncul bercak atau bintik hitam pada kulit. Hidrokuinon ini digunakan untuk mencerahkan kulit yang terlihat gelap akibat bintik dan titik-titik penuaan. Selain itu hidrokuinon juga dapat menimbulkan efek samping yang dapat merugikan bagi pengguna krim hidrokuinon tersebut. Efek samping yang ringan yaitu jika terlalu banyak penggunaan hidrokuinon menyebabkan kemerahan pada kulit wajah begitupun jika terkena sinar matahari. (Irnawati dkk., 2016)

Niasinamid adalah salah satu vitamin B yang dapat digunakan untuk mengobati gangguan pada kulit wajah. Niasinamid ini memiliki indikasi sebagai antiinflamasi dan selain itu niasinamid diindikasikan sebagai *antiacne* (anti jerawat). Niasinamid juga dapat membantu memperkuat pertahanan lapisan kulit yang paling luar. Karena kemampuan tersebut, vitamin B3 ini dapat mengencangkan kulit dan mempunyai sifat antiinflamasi yang bagus untuk menghilangkan kemerahan yang disebabkan oleh jerawat dan meredakan jerawat yang meradang (Aini & retno, 2016).

Sesuai dengan keputusan BPOM HK.00.05.42.1018 penggunaan hidrokuinon dilarang pada sediaan kosmetik, namun masih diperbolehkan penggunaannya oleh tenaga profesional dengan prasyarat kadar yang diperbolehkan tidak lebih dari 2%. Namun diduga sediaan krim yang beredar masih mengandung hidrokuinon dan penggunaan oleh profesional lebih dari 2%. Sedangkan niasinamid tidak diperuntukan sebagai sediaan krim sehingga keberadaannya dalam sediaan kosmetik tidak diperbolehkan.

Berdasarkan data penelitian yang telah dilakukan oleh Sofia (2017), Lailul (2015), dan Irnawati (2016) pada analisis hidrokuinon dengan menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan secara kalorimetri menghasilkan kadar hidrokuinon rata-rata kurang dari 2%, Analisis

dilakukan tunggal maupun secara kombinasi, namun analisis hidrokuinon dan niasinamida secara simultan menggunakan spektrofotometer uv-vis dengan multivarian belum dilaporkan, penggunaan metode spektrofotometer uv-vis dengan multivarian yang dapat menganalisis secara simultan senyawa pada sediaan kosmetik diperlukan untuk pengembangan metode analisa yang lebih singkat, sederhana dan hemat biaya. Maka perlu dilakukan penelitian ini untuk memperoleh metode yang valid pada analisis hidrokuinon dan niasinamid secara simultan pada sediaan krim dan dapat diaplikasikan pada identifikasi sediaan yang beredar

B. Urgensi Penelitian

Hidrokuinon merupakan senyawa yang dapat mencerahkan kulit karena mampu menghambat proses pembentukan pigmen hitam pada kulit, sehingga hidrokuinon banyak digunakan pada kosmetik terutama dalam sediaan krim pemutih. Namun penggunaan hidrokuinon dalam jangka panjang dapat menyebabkan karsinogenik (pemicu kanker), sehingga penggunaannya dilarang atau diijinkan dibawah pengawasan dokter (tenaga profesional) dengan kadar tidak melebihi 2%. Niasinamida memiliki indikasi sebagai antiinflamasi, namun pada kosmetik sering digunakan sebagai *antiacne* (anti jerawat). Kombinasi 2 senyawa ini sering diformulasikan pada sediaan krim pemutih, terutama pada sediaan racikan dokter di klinik kecantikan.

Keberadaan senyawa tersebut saat ini dilarang dalam sediaan pemutih, atau diperbolehkan dengan pengawasan dokter pada kadar $< 2\%$, sehingga diperlukan suatu metode analisis untuk mengidentifikasi dan menetapkan kadar senyawa tersebut pada sediaan krim yang beredar/racikan dokter. Saat ini belum ada metode yang sederhana, secara simultan untuk menganalisis 2 senyawa tersebut dalam sediaan krim pemutih, maka diperlukan metode yang valid untuk menganalisis hidrokuinon dan niasinamid secara simultan pada sediaan krim pemutih. Penelitian ini bertujuan memperoleh metode yang valid untuk menganalisis secara simultan hidrokuinon dan niasinamid pada sediaan krim pemutih menggunakan spektrofotometer uv-vis dengan multivarian. Sehingga didapatkan metode analisis yang singkat, sederhana dan hemat biaya untuk

mendukung pemberian informasi kepada masyarakat tentang kandungan dan batasan hidrokuinon dan niasinamid pada krim pemutih yang beredar/racikan dokter.

BAB 2

KAJIAN PUSTAKA

A. *State of The Art*

Hidrokuinon adalah zat aktif yang dapat mengendalikan pigmentasi kulit yang berwarna gelap kecoklatan, sehingga muncul bercak atau bintik hitam pada kulit. Hidrokuinon ini digunakan untuk mencerahkan kulit yang terlihat gelap akibat bintik dan titik-titik penuaan. Efek samping yang ringan yaitu jika terlalu banyak penggunaan hidrokuinon menyebabkan kemerahan pada kulit wajah begitupun jika terkena sinar matahari (Irnawati dkk., 2016).

Niasinamid adalah salah satu vitamin B yang dapat digunakan untuk mengobati gangguan pada kulit wajah. Niasinamid ini memiliki indikasi sebagai antiinflamasi dan selain itu niasinamid diindikasikan sebagai *antiacne* (anti jerawat). Niasinamid juga dapat membantu memperkuat pertahanan lapisan kulit yang paling luar. Karena kemampuan tersebut, vitamin B3 ini dapat mengencangkan kulit dan mempunyai sifat antiinflamasi yang bagus untuk menghilangkan kemerahan yang disebabkan oleh jerawat dan meredakan jerawat yang meradang (Aini & retno, 2016).

Berdasarkan data penelitian yang telah dilakukan oleh Sofia (2017), Lailul (2015), dan Irnawati (2016) pada analisis hidrokuinon dengan menggunakan metode spektrofotometri uv-vis, kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dan secara kalorimetri menghasilkan kadar hidrokuinon rata-rata kurang dari 2%, namun belum adanya metode secara simultan analisis hidrokuinon dan niasinamid maka perlu dilakukan penelitian ini memperoleh metode yang valid pada analisis hidrokuinon dan niasinamid dan dapat diaplikasikan untuk identifikasi dan penetapan kadarnya pada sediaan krim menggunakan KCKT.

B. Hidrokuinon

Hidrokuinon atau quinol atau 1,4-diol benzen merupakan senyawa aromatik organik jenis fenol, memiliki rumus kimia $C_6H_4(OH)_2$. Hidrokuinon

mudah mengalami oksidasi untuk mengkonversi ke benzoquinone. Penguraian dari reaksi ini, kuinon berbalik kembali ke hidrokuinon. Beberapa senyawa biokimia di alam memiliki semacam kuinon, seperti koenzim Q, dapat menjalani reaksi serupa redoks *interconversions*. Adapun struktur hidrokuinon dapat dilihat di bawah ini (BPOM RI, 2011):



Gambar 2.1. Struktur Hidrokuinon

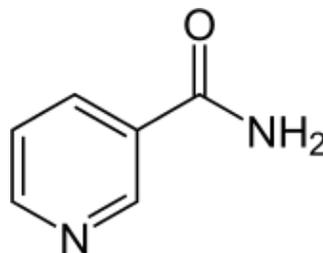
Hidrokuinon memiliki berbagai kegunaan terutama terkait dengan tindakan sebagai agen pereduksi yang larut dalam air. Ini adalah komponen utama dalam kebanyakan pengembang fotografi. Hidrokuinon dan monobenzen, eter monobenzil Hidrokuinon, digunakan untuk mengurangi hiperpigmentasi kulit. Hidrokuinon topikal biasanya menyebabkan kulit berkilap untuk sementara waktu, sedangkan monobenzon menyebabkan depigmentasi yang irreversibel. Mekanisme kerja senyawa ini tampaknya melibatkan biosintesis melanin. Tambahan lagi monobenzon bersifat toksik terhadap melanosit yang menimbulkan depigmentasi menetap. Kedua obat ini dapat menyebabkan iritasi lokal. Sensitisasi alergi dari kedua obat ini dapat timbul, serta dianjurkan untuk melakukan uji *patch* pada sedikit daerah sebelum penggunaan obat ini didaerah wajah (Katzung, 2012).

Cara kerja hidrokinon dalam mencerahkan kulit adalah melalui mekanisme efek toksik hidrokuinon terhadap melanosit (sel tempat sintesis melanin/pigmen hitam pada kulit) dan melalui penghambatan melanogenesis (proses pembentukan melanin). Efek toksik hidrokuinon terjadi karena hidrokuinon berkompetisi dengan tirosin sebagai substrat untuk tirosinase (enzim yang berperan dalam pembentukan melanin), sehingga tirosinase mengoksidasi hidrokinon dan menghasilkan benzokinon yang toksik terhadap melanosit (Rahmi S, 2017).

Bentuk padat, kristal berbentuk seperti jarum atau serbuk, tidak berwarna hingga putih, bila terpapar cahaya dan udara dapat mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap, tidak berbau, berasa manis; Berat molekul 110,11; Rumus molekul $C_6H_6O_2$; Titik didih $285 - 287\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($545-549\text{ }^{\circ}\text{F}$); Titik leleh $173-174\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($343-345\text{ }^{\circ}\text{F}$); Tekanan uap 1 mmHg pada $132\text{ }^{\circ}\text{C}$; Kerapatan uap $1,328$ pada $15\text{ }^{\circ}\text{C}$; Kelarutan dalam air 7% pada $25\text{ }^{\circ}\text{C}$; Larut dalam alkohol, eter, aseton, dimetil sulfoksida, karbon tetraklorida; Sedikit larut dalam benzen (BPOM RI, 2011).

C. Niasinamid

Niasinamid (nicotinamide) atau vitamin B3, merupakan suatu amide larut air dari *nicotinic acid* yang dirujuk sebagai vitamin PP karena kemampuannya mencegah pellagra. Niasinamid diketahui juga dapat memberikan manfaat anti aging. Niasinamid merupakan prekursor untuk kofaktor NAD(H) dan NADP(H) yang penting dalam berbagai jalur seluler yang mempengaruhi fisiologi kulit, serta NADH dan NADPH menurun dengan penuaan. Dalam bentuk tereduksi, NADH dan NADPH bekerja sebagai antioksidan yang dapat mengurangi stres oksidatif yang dikaitkan dengan penuaan intrinsik dan photoaging. Selain itu, Niasinamid menstimulasi diferensiasi keratinosit, yang dipercaya sebagai akibat peningkatan NADPH intraseluler. Adapun struktur Niasinamid dapat dilihat di bawah ini (BPOM RI, 2011):



Gambar 2.2. Struktur Niasinamid

Cara Kerja Niasinamid sebagai berikut (Katzung, 2012):

1. Merangsang Produksi Ceramide

Ketika mengoleskan produk yang mengandung Niasinamid pada wajah. Maka senyawa Niasinamid akan merangsang produksi ceramide. Yakni suatu lapisan lipid yang berperan dalam menjaga kadar air dalam kulit dan melindungi wajah dari infeksi bakteri. Apabila lapisan ceramide terbentuk optimal maka kulit pun juga tampak lebih lembab, kenyal dan elastis. Perlu diketahui bahwa seiring bertambahnya usia maka lapisan ceramide cenderung menurun. Sehingga wajah pun rentan keriput. Pemakaian skincare dengan kandungan Niasinamid memang penting guna mencegah terjadinya penuaan dini.

2. Memperlambat Pigmentasi

Selain meningkatkan kelembaban wajah, Niasinamid juga bekerja dalam menghambat produksi melanin berlebihan. Setiap orang pasti memiliki melanin di lapisan kulitnya. Ada yang kadarnya banyak dan adapula yang sedikit. Nah, melanin ini bisa saja muncul ke lapisan epidermis kulit apabila terpapar sinar UV terus-menerus atau mungkin sebab efek hormonal. Sehingga akibatnya kulit mengalami penggelapan. Senyawa Niasinamid memiliki kemampuan menghambat proses hiperpigmentasi. Caranya dengan memblokir interaksi antara sel keratinocyte (sel pada lapisan kulit epidermis) dengan sel melanocyte (sel yang mengandung melanin). Dengan demikian, proses ini bisa menjadi tips agar wajah putih sebab pigmentasi berjalan lebih lambat.

Niasinamid mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% $C_6H_6N_2O$. Pemerian serbuk hablur, putih, tidak berbau, rasa pahit. Kelarutan dah larut dalam air dan dalam etanol (95%), larut dalam gliserol. Jarak Lebur antara 128° dan 131° . Logam berat tidak lebih dari 30 bpj. Susut pengeringan tidak lebih dari 0,5% (Lestari, 2018). Niasinamid merupakan salah satu senyawa kimia yang aman digunakan untuk kulit. Faktor risiko dari penggunaan Niasinamid cukup rendah. Kecuali untuk kulit yang sensitif atau memiliki masalah tertentu. Selain itu, penggunaan

Niasinamid yang berlebihan (overdosis) juga bisa memicu gangguan seperti rambut rontok, mulas, muntah dan toksisitas hati.

D. Kosmetik

Definisi Kosmetik

Kosmetik adalah sediaan atau paduan bahan yang digunakan pada bagian luar badan (kulit, rambut, kuku, bibir dan organ kelamin bagian luar), gigi dan rongga mulut untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, memperbaiki bau badan, melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik (BPOM RI, 2011).

Penggolongan Kosmetik

Dalam Surat Keputusan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.05.4.1745 tahun 2003 menyebutkan penggolongan kosmetik berdasarkan penggunaannya menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor dibagi 2 (dua) golongan:

1. Kosmetik golongan I adalah :

- 1) Kosmetik yang digunakan untuk bayi;
- 2) Kosmetik yang digunakan disekitar mata, rongga mulut dan mukosa lainnya;
- 3) Kosmetik yang mengandung bahan dengan persyaratan kadar dan penandaan;
- 4) Kosmetik yang mengandung bahan dan fungsinya belum lazim serta belum diketahui keamanan dan kemanfaatannya.

2. Kosmetik golongan II adalah kosmetik yang tidak termasuk golongan

Definisi Kulit

Kulit adalah suatu sel yang fleksibel, mudah melentur dan protektif yang melindungi sistem hidup manusia (Anief, 2002). Kulit merupakan bagian tubuh yang bersentuhan langsung dengan kosmetik, khususnya kulit muka menjadi fokus perhatian utama. Kulit juga merupakan lapisan terluar dari tubuh manusia. Ia menjadi bagian tubuh yang bersentuhan langsung dengan

lingkungan, sehingga fungsi utama kulit tidak lain adalah sebagai perlindungan (Tranggono, 2014).

Struktur Kulit

Kulit tersusun oleh berbagai macam jaringan, termasuk pembuluh darah, kelenjar lemak, kelenjar keringat, organ pembuluh perasa dan urat saraf, jaringan pengikat, otot polos dan lemak. Kulit terdiri dari tiga lapis yaitu epidermis, dermis, lapisan subkutan berlemak (Anief, 2002).

- a. Epidermis yaitu lapisan pada kulit yang paling luar, terdiri atas berbagai lapisan yaitu stratum korneum, stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum dan stratum germinativum. Berbagai lapisan ini mempunyai ketebalan yang bervariasi mulai sekitar 0,006 mm pada kelopak mata. (Anief, 2002).
- b. Dermis Dermis adalah lapisan kulit yang berada dibawah epidermis. Lapisan ini bertanggung jawab terhadap elastisitas dan kehalusan kulit. Selain itu, lapisan dermis juga berperan menyuplai nutrisi bagi epidermis (Tranggono, 2014).
- c. Jaringan lemak subkutis (hypodermis) berfungsi sebagai bantalan mekanis dengan sawar termal dapat mensintesis dan menyimpan senyawa kimia yang berenergi tinggi dan siap digunakan (Anief, 2002).

Fungsi Kulit

Kulit memiliki berbagai fungsi bagi tubuh, di antaranya adalah :

- a. Proteksi (perlindungan), kulit berfungsi untuk melindungi organ-organ tubuh dari pengaruh lingkungan luar.
- b. Termoregulasi (menjaga keseimbangan temperatur tubuh), kulit akan menjaga suhu tubuh agar tetap optimal. Keringat yang keluar saat suhu udara panas berfungsi untuk mendinginkan tubuh. Keluarnya keringat adalah salah satu mekanisme tubuh untuk menjaga stabilitas temperatur.
- c. Organ sekresi Kulit juga berfungsi sebagai organ untuk melepaskan kelebihan air dan zat-zat lainnya seperti NaCL, ammonia dan lain-lain.
- d. Presepsi sensoris (menerima ransangan), sebagai alat perasa, kulit akan bereaksi pada perbedaan suhu, sentuhan, rasa sakit dan tekanan.

- e. Absorpsi (penyerapan), beberapa zat tertentu bisa diserap masuk kedalam tubuh melalui kulit.
- f. Hal yang lainnya seperti menggambarkan status emosional seseorang yaitu memerah ketika marah, memucat ketika takut, dan merona ketika bahagia. Penyakit kulit yang dapat menyerang wajah yaitu jerawat, komedo, papula dan nodus, dermatitis, utikaria dan kanker kulit (Anief, 2002).

Definisi Krim

Dari sudut pandang teknis, krim adalah emulsi. Untuk tujuan praktis, emulsi diartikan sebagai system heterogen dari disperse cair didalam droplet cairan lain. Krim paling sederhana adalah campuran dari fase air dan non air. Emulsifier adalah molekul yang dapat menggabungkan zat yang tidak bercampur menjadi droplet. Tipe krim dibagi menjadi 2 yaitu disperse air dalam minyak A/M dan minyak dalam air M/A tergantung formula perbandingan antara kedua fase tersebut. (Harry, 2000)

Formula Krim

Contoh dari formula krim (Sharma, 2018)

Formula krim tipe A/M formula untuk 100 g

R/ <i>Mineral oil</i>	80 g
<i>Petrolatum</i>	15 g
<i>Ozokerite wax</i>	5 g
<i>Preservative</i>	qs
<i>Perfume</i>	qs

Formula krim tipe M/A formula untuk 100 g

R/ <i>Stearic acid</i>	24 g
<i>Potassium hydroxide</i>	1 g
<i>Aquadest</i>	64 g
<i>Glycerin</i>	10.5 g
<i>Perfume</i>	0.5 g

E. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

1. Hidrokuinon

1. Definisi Hidrokuinon

Hidrokuinon atau quinol atau 1,4-diol benzen merupakan senyawa aromatik organik jenis fenol, memiliki rumus kimia $C_6H_4(OH)_2$. Hidrokuinon mudah mengalami oksidasi untuk mengkonversi ke benzoquinone. Penguraian dari reaksi ini, kuinon berbalik kembali ke hidrokuinon. Beberapa senyawa biokimia di alam memiliki semacam kuinon, seperti koenzim Q, dapat menjalani reaksi serupa redoks *interconversions*. Adapun struktur hidrokuinon dapat dilihat di bawah ini:



Gambar 1. Struktur Hidrokuinon

Hidrokuinon memiliki berbagai kegunaan terutama terkait dengan tindakan sebagai agen pereduksi yang larut dalam air. Ini adalah komponen utama dalam kebanyakan pengembang fotografi. Hidrokuinon dan monobenzen, eter monobenzil Hidrokuinon, digunakan untuk mengurangi hiperpigmentasi kulit. Hidrokuinon topikal biasanya menyebabkan kulit berkilap untuk sementara waktu, sedangkan monobenzon menyebabkan depigmentasi yang irreversibel. Mekanisme kerja senyawa ini tampaknya melibatkan biosintesis melanin. Tambahan lagi monobenzon bersifat toksik terhadap melanosit yang menimbulkan depigmentasi menetap. Kedua obat ini dapat menyebabkan iritasi lokal. Sensitisasi alergi dari kedua obat ini dapat timbul, serta dianjurkan untuk melakukan uji *patch* pada sedikit daerah sebelum penggunaan obat ini didaerah wajah.

2. Mekanisme Kerja Hidrokuinon

Cara kerja hidrokinon dalam mencerahkan kulit adalah melalui mekanisme efek toksik hidrokinon terhadap melanosit (sel tempat sintesis melanin/pigmen hitam pada kulit) dan melalui penghambatan melanogenesis (proses pembentukan melanin). Efek toksik hidrokinon terjadi karena hidrokinon berkompetisi dengan tirosin sebagai substrat untuk tirosinase (enzim yang berperan dalam pembentukan melanin), sehingga tirosinase mengoksidasi hidrokinon dan menghasilkan benzokinon yang toksik terhadap melanosit.

3. Sifat Fisika Kimia

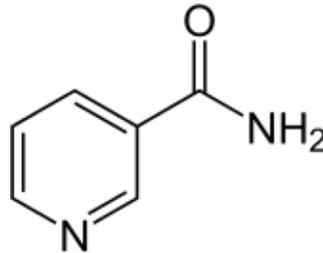
Bentuk padat, kristal berbentuk seperti jarum atau serbuk, tidak berwarna hingga putih, bila terpapar cahaya dan udara dapat mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap, tidak berbau, berasa manis; Berat molekul 110,11; Rumus molekul $C_6H_6O_2$; Titik didih 285 – 287 °C (545-549 F); Titik leleh 173-174 °C (343-345 F); Tekanan uap 1 mmHg pada 132 °C; Kerapatan uap 1,328 pada 15 °C; Kelarutan dalam air 7% pada 25 °C; Larut dalam alkohol, eter, aseton, dimetil sulfoksida, karbon tetraklorida; Sedikit larut dalam benzen (BPOM RI, 2011).

F. Niasinamid

1. Definisi Niasinamid

Niasinamid (nicotinamide) atau vitamin B3, merupakan suatu amide larut air dari *nicotinic acid* yang dirujuk sebagai vitamin PP karena kemampuannya mencegah pellagra. Niasinamid diketahui juga dapat memberikan manfaat anti aging. Niasinamid merupakan prekursor untuk kofaktor NAD(H) dan NADP(H) yang penting dalam berbagai jalur seluler yang mempengaruhi fisiologi kulit, serta NADH dan NADPH menurun dengan penuaan. Dalam bentuk tereduksi, NADH dan NADPH bekerja sebagai antioksidan yang dapat mengurangi stres oksidatif yang dikaitkan dengan penuaan intrinsik dan photoaging. Selain itu, Niasinamid

menstimulasi diferensiasi keratinosit, yang dipercaya sebagai akibat peningkatan NADPH intraseluler. Adapun struktur Niasinamid dapat dilihat di bawah ini:



Gambar 2. Struktur Niasinamid

2. Cara Kerja Niasinamid

1) Merangsang Produksi Ceramide

Ketika mengoleskan produk yang mengandung Niasinamid pada wajah. Maka senyawa Niasinamid akan merangsang produksi ceramide. Yakni suatu lapisan lipid yang berperan dalam menjaga kadar air dalam kulit dan melindungi wajah dari infeksi bakteri. Apabila lapisan ceramide terbentuk optimal maka kulit pun juga tampak lebih lembab, kenyal dan elastis. Perlu diketahui bahwa seiring bertambahnya usia maka lapisan ceramide cenderung menurun. Sehingga wajah pun rentan keriput. Pemakaian skincare dengan kandungan Niasinamid memang penting guna mencegah terjadinya penuaan dini.

2) Memperlambat Pigmentasi

Selain meningkatkan kelembaban wajah, Niasinamid juga bekerja dalam menghambat produksi melanin berlebihan. Setiap orang pasti memiliki melanin di lapisan kulitnya. Ada yang kadarnya banyak dan adapula yang sedikit. Nah, melanin ini bisa saja muncul ke lapisan epidermis kulit apabila terpapar sinar UV terus-menerus atau mungkin sebab efek hormonal. Sehingga akibatnya kulit mengalami penggelapan. Senyawa Niasinamid memiliki kemampuan menghambat proses hiperpigmentasi. Caranya dengan memblokir interaksi antara sel keratinocyte (sel pada

laipisan kulit epidermis) dengan sel melanocyte (sel yang mengandung melanin). Dengan demikian, proses ini bisa menjadi tips agar wajah putih sebab pigmentasi berjalan lebih lambat.

3. Sifat Fisika Kimia

Niasinamid mengandung tidak kurang dari 98,5% dan tidak lebih dari 101,0% $C_6H_6N_2O$. Pemerian serbuk hablur, putih, tidak berbau, rasa pahit. Kelarutan mudah larut dalam air dan dalam etanol (95%), larut dalam gliserol. Jarak Lebur antara 128° dan 131° . Logam berat tidak lebih dari 30 bpj. Susut pengeringan tidak lebih dari 0,5% (FI edisi 3, 1979).

4. Efek Samping Niasinamid

Niasinamid merupakan salah satu senyawa kimia yang aman digunakan untuk kulit. Faktor risiko dari penggunaan Niasinamid cukup rendah. Kecuali untuk kulit yang sensitif atau memiliki masalah tertentu. Selain itu, penggunaan Niasinamid yang berlebihan (overdosis) juga bisa memicu gangguan seperti rambut rontok, mulas, muntah dan toksisitas hati.

G. Kosmetik

Istilah kosmetik berasal dari bahasa Yunani yakni “kosmetikos” yang berarti “keterampilan menghias atau mengatur”. Definisi kosmetik dalam keputusan kepala BPOM RI Nomor HK.00.05.4.17458 Tahun 2004 adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ genital bagian luar) atau gigi dan membran mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan/atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik.

Ilmu yang mempelajari tentang kosmetika disebut kosmetologi. Kosmetologi adalah ilmu pengetahuan yang mempelajari hukum-hukum kimia, fisika, biologi dan mikrobiologi tentang pembuatan, penyimpanan dan penggunaan bahan kosmetika (Retno dan Fatma, 2014)

1. Efek samping Kosmetika

Penggunaan kosmetika akan menimbulkan reaksi yang tidak diinginkan karena pengaruh faktor-faktor antara lain:

- a. Intensitas/ lama kontak dengan kulit, dengan demikian maka pelembab, dasar bedak akan lebih banyak mengakibatkan efek samping dibandingkan dengan kosmetika yang sebentar menempel di kulit misalnya shampo.
- b. Lokasi pemakaian. Daerah sekitar mata kulitnya lebih tipis dan lebih sensitif, oleh karena itu tata rias mata diharapkan lebih banyak memberikan reaksi daripada kosmetika untuk daerah kulit lainnya.
- c. pH kosmetika. Kosmetika dengan pH alkali misalnya pelurus atau perontok rambut akan lebih mudah memberikan efek samping.
- d. Kandungan bahan yang mudah menguap misalnya alkohol, bila bahan tersebut sudah menguap akan mempertinggi konsentrasi bahan aktif sehingga dapat menimbulkan efek samping.

2. Kelainan Pada Kulit

Setiap bahan yang ditempelkan pada kulit dapat menyebabkan kelainan kulit. Bahan yang dapat memberikan kelainan pada aplikasi pertama disebut iritan, sedangkan bahan yang dapat menimbulkan kelainan setelah pemakaian berulang-ulang disebut *sensitizer*. Dan berikut ini adalah bentuk-bentuk reaksi kulit akibat kosmetika, yaitu:

1) Reaksi iritasi

Reaksi ini dapat disebabkan oleh kosmetika yang mengandung asam atau basa. Pada umumnya kelainan berbatas tegas dan dapat berupa eritematodeskuamasi sampai vesikobulosa. Sebagai contoh adalah tioglikolat dengan pH 12,5 yang terdapat perontok rambut.

2) Reaksi alergi

Reaksi ini pada umumnya berupa dermatitis eksematosa. Kelainan yang terjadi tidak selalu pada lokasi aplikasi kosmetika; hal ini terlihat pada dermatitis kelopak mata yang lebih sering disebabkan karena kosmetika rambut, muka atau kuku daripada karena rias mata sendiri.

3) Reaksi foto sensitivitas

Reaksi ini terjadi oleh karena aplikasi kosmetika yang mengandung *fotosensitizer* dan terpapar cahaya. Kelainan dapat eritema, eksematosia atau hiperpigmentasi yang biasanya disebabkan oleh parfum. Dapat bersifat fototoksik maupun foto alergik.

4) Kelainan pigmentasi

Suatu bentuk kelainan pigmentasi pada kulit dikenal sebagai *pigmented cosmetic dermatitis*: kelainan ini sebenarnya merupakan akibat dermatitis kontak alergik atau fotoalergik karena bahan pewangi atau zat pewarna yang terdapat dalam kosmetika. Manifestasi kulit berupa bercak/difus/retikuler kecoklatan, kadang-kadang hitam atau biru hitam.

5) Akne

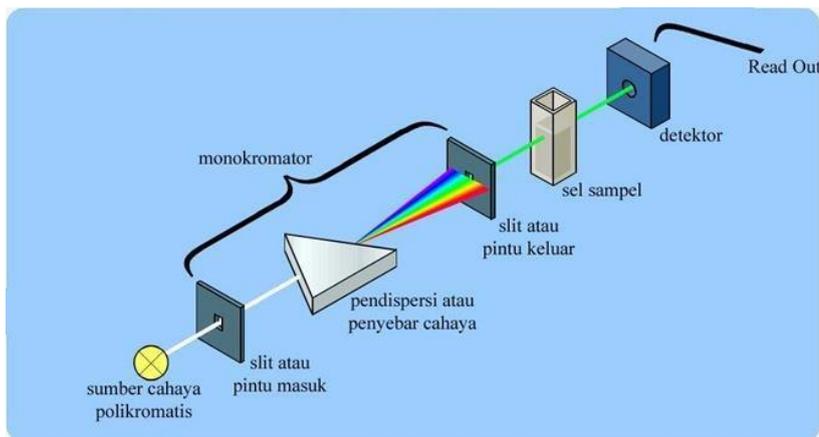
Lesi terutama berbentuk komedo yang ditemukan pada wanita dewasa yang terutama disebabkan oleh kosmetika krim muka. Bahan-bahan yang bersifat komedogenik antara lain: lanolin, petrolatum, butil stearat, lauril alkohol, asam oleat dan zat warna D & Red-dyes yang terdapat dalam pemerah pipi. (Lies. 1986)

H. Spektrofotometer ultra violet-visible (Uv-Vis)

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah UV-Vis (FI edisi V, 2015).

Jangkauan panjang gelombang yang tersedia untuk pengukuran membentang dari panjang gelombang pendek ultraviolet sampai ke garis inframerah. Penggunaan utama spektroskopi ultraviolet-sinar tampak adalah dalam analisis kuantitatif. Penentuan kadar senyawa organik yang mempunyai struktur kromofor atau mengandung gugus kromofor, serta mengabsorpsi radiasi ultraviolet-sinar tampak penggunaannya cukup luas. Penentuan kadar dilakukan dengan mengukur absorpsi pada panjang gelombang maksimum (puncak kurva), agar dapat memberikan absorpsi tertinggi untuk setiap konsentrasi (Watson, 2007) .

Kromofor yaitu, berasal dari kata *Chromophorus* yang berarti pembawa warna. Dalam pengertian yang dikembangkan, kromofor merupakan suatu gugus fungsi yang menyerap radiasi elektromagnetik apakah gugus itu berwarna atau tidak. Dan kromofor digunakan untuk menyatakan gugus tidak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah- daerah ultraviolet dan terlihat.



Gambar 2.1 Contoh skema kerja alat spektroskopi

Spektrofotometri sederhana terdiri dari:

1. Sumber radiasi

Sumber radiasi monokromator kuvet detektor amplifier rekorder 21
 Sumber cahaya berasal dari lampu Deutrium (HO) untuk UV dengan panjang gelombang 180- 400nm dan lampu Tungsten (wolfran) untuk Vis dengan panjang gelombang 400- 800nm.
2. Monokromator

Monokromator merupakan alat yang berfungsi sebagai penyeleksi cahaya dengan panjang gelombang tertentu. Monokromator akan memisahkan radiasi cahaya putih yang polikromatis menjadi cahaya monokromatis (mendekati monokromatis).
3. Kuvet

Pada umumnya spektrofotometri melibatkan larutan, dengan demikian diperlukan wadah / *cell* untuk menempatkan larutan.
4. Detektor

Fungsinya mengubah energi radiasi yang jatuh mengenainya menjadi suatu besaran yang dapat diukur.

5. Amplifier

Fungsinya untuk memperkuat sinyal listrik.

6. Recorder

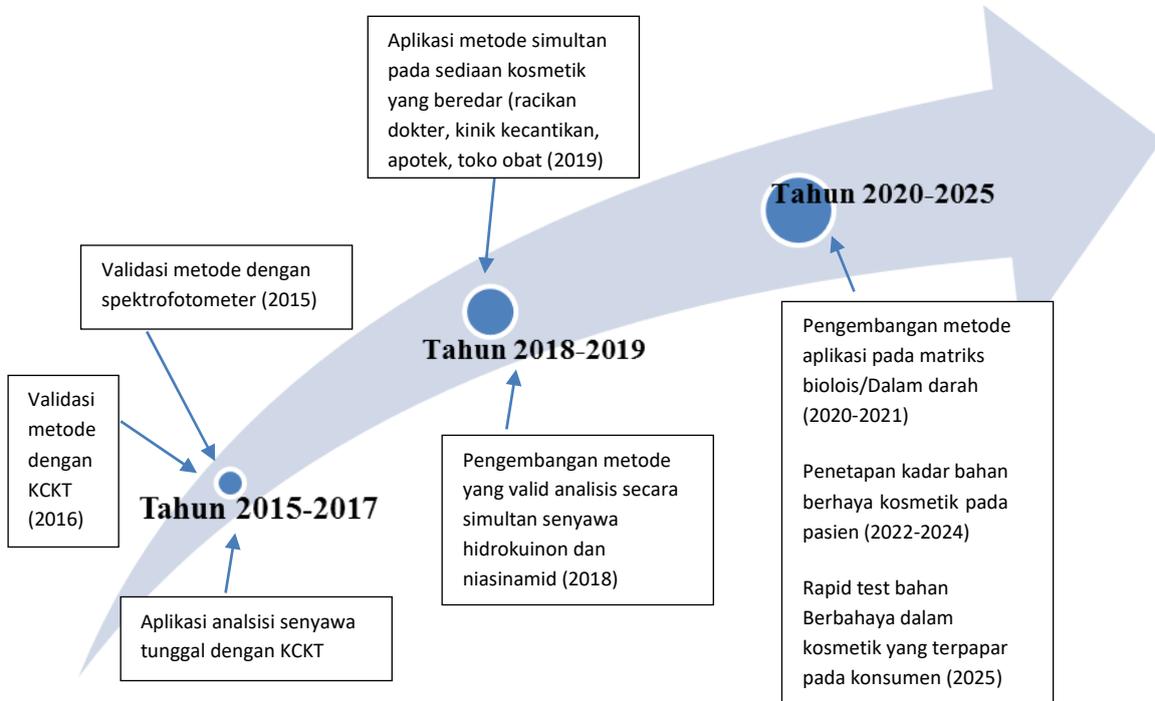
Alat untuk mencatat, dapat berupa gambar/ angka- angka.

Tipe instrumentasi dari spektrofotometri UV-Vis (Harmita, 2006):

Sampel yang sering dianalisis dengan metode spektrofotometer UV-Vis adalah senyawa organik. Senyawa organik yang dapat memberikan serapan adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor dan aoksokrom. Gugus kromofor adalah gugus fungsional tidak jenuh yang memberikan serapan pada daerah ultraviolet atau cahaya tampak. Hampir semua kromofor mempunyai ikatan rangkap seperti alkena (C=C), C=O, -NO₂, benzene, dan lain- lain.

Sedangkan aoksokrom adalah gugus fungsional seperti -OH, -NH₂, -X, yaitu gugus yang mempunyai elektron nonbonding dan tidak mengabsorpsi radiasi pada λ di atas 200nm, akan tetapi mengabsorpsi radiasi UV jauh (Harmita, 2006).

I. Road Map Penelitian



Gambar 2.3. Road map penelitian

BAB 3

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat

Instrumentasi Spektrofotometer uv-vis, waterbath dengan temperatur 600 C, vortex, membran filter 0,45 μm , syringe filter 0,2 μm , sentrifuge, spatula, pipet ukur, pipet tetes, spuit, mikro pipet, batang pengaduk, timbangan analitik dan alat-alat gelas.

2. Bahan

Standar hidrokuinon, standar niasinamid, As.stearat, TEA, cera alba, vaselin album, PG, aquades, aquabides, metanol, sampel krim racikan dokter.

B. Cara Penelitian

1. Optimasi Metode Analisis

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan standar hidroquinon dan Niasinamid dengan konsentrasi 10 ppm, dibuat spektrum serapan dari panjang gelombang 200-400 nm dengan spektrofotometri UV-VIS. Diperoleh panjang gelombang maksimumnya.

b. Penentuan absorbtivitas molar pada masing masing panjang gelombang

Ditentukan absorbtivitas molar hidroquinon dan niasinamid pada panjang gelombangnya masing-masing dan panjang gelombang antaranya pada tiga konsentrasi.

c. Preparasi Krim/kosmetik

Sebanyak 12,5 mg krim ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 25 ml, dibilas dengan fase gerak hingga tidak ada basis krim yang tersisa. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, divorteks selama 1 menit, diletakkan di atas waterbath dengan suhu 60 °C selama 15 menit, didinginkan dalam tempratur ruangan. Ditambah fase gerak hingga batas tanda 50 ml dalam labu ukur, dikocok hingga

homogen. Larutan disentrifuge dan disaring dengan membran filter 0,2 μm kemudian diukur menggunakan spektrofotometer. Hasil yang diperoleh dianalisa dan dihitung persen perolehan kembali.

2. Validasi Metode Analisis

a. Pembuatan Kurva Kalibrasi (linearitas, LOD, LOQ)

Sebanyak 50 mg standar hidroquinon dan Niasinamid ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml, ditambahkan dengan 25 ml fase gerak, lalu dikocok dan dicukupkan volumenya hingga batas tanda. Dipipet 5 ml dari larutan induk dan dimasukkan dalam 50 ml labu ukur dan ditambahkan fase gerak hingga batas tanda. Dibuat standar dengan konsentrasi 20 ppm, 30 ppm, 40ppm, 50 ppm dan 60 ppm. Dianalisis dengan spektrofotometri UV-VIS. Ditentukan linearitas dengan memplot peak area vs konsentrasi. Dihitung nilai LOD dan LOQ (BPOM, 2011).

b. Penentuan Nilai Akurasi

Sampel krim ditimbang secara duplo sebanyak 0,5 gram. Pada penimbangan yang pertama ditambahkan hidroquinon baku dan niasinamid baku sebanyak 1 mL dengan konsentrasi 50 ppm, sedangkan pada penimbangan kedua tidak ditambahkan baku hidroquinon dan niasinamid baku. Masing-masing krim yang telah ditimbang disuspensikan dalam 5 mL etanol 95% lalu disaring dengan kertas saring kedalam labu takar 5 mL dan ditambahkan etanol sampai tanda. Selanjutnya larutan tersebut dipindahkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan 1 mL pereaksi floroglusinol 1% dan 1mL NaOH 0,5 N, panaskan diatas tangas air pada suhu 70 °C selama 50 menit lalu dinginkan pada air dengan suhu 25 °C. Selanjutnya campuran larutan tersebut ditambahkan etanol 95% hingga volumenya 10 mL lalu diinjeksikan.

c. Penentuan Nilai Presisi

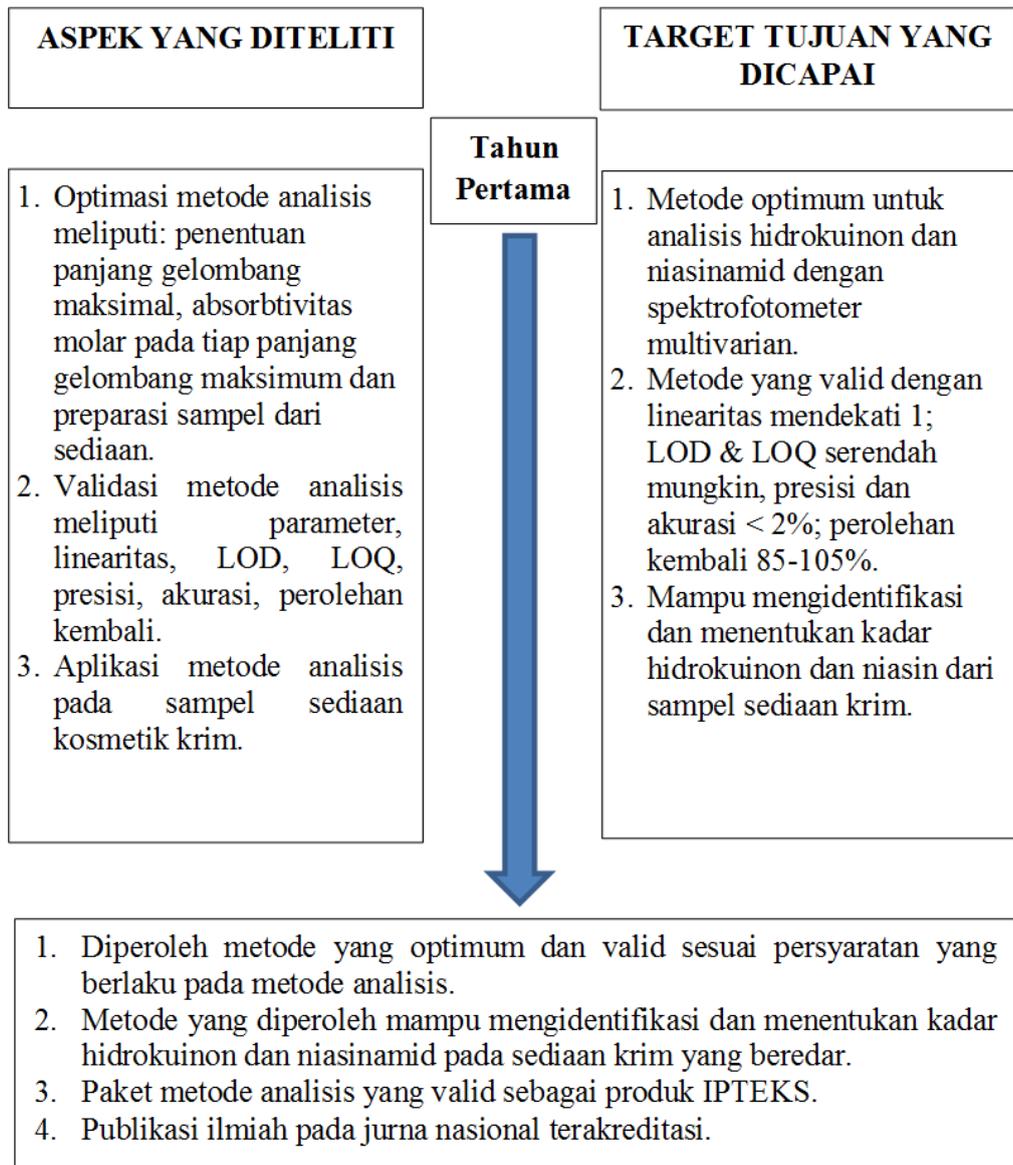
Larutan baku hidrokuinon dan baku niasinamid dengan konsentrasi 8 ppm sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Disiapkan dengan cara yang sama untuk 6 tabung reaksi. Kemudian masing-masing tabung ditambahkan dengan 1 mL pereaksi floroglusinol 1% dan 1 mL larutan NaOH 0,5 N, lalu dipanaskan dalam penangas air pada suhu 70 °C selama 50 menit. Tabung reaksi kemudian didinginkan dalam air bersuhu 25 °C, selanjutnya campuran larutan ditambahkan etanol 95% hingga volumenya 10 mL lalu diinjeksikan.

Analisa tersebut mengikuti standar pedoman Badan Pengawas Obat dan Makanan tahun 2011 mengenai Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika. No. HK.03.1.23.08.11.07517

3. Analisis Sampel

Sampel dipreparasi sesuai prosedur, kemudian dianalisis sesuai metode yang sudah valid, kemudian diidentifikasi dan ditentukan kadar hidrokuinon dan niasinamid yang terdapat di dalam sampel.

C. Diagram Alir Penelitian

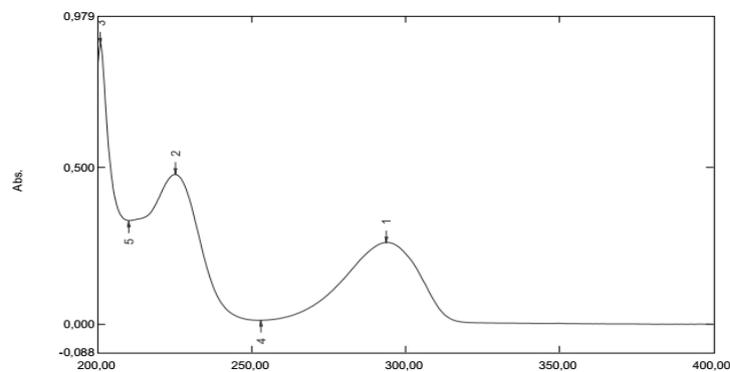


BAB 4

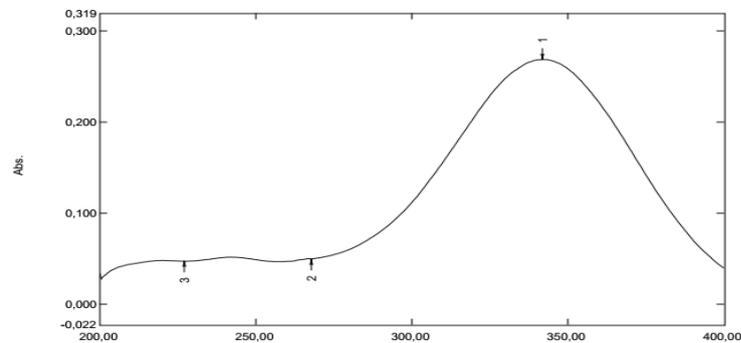
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan bahan baku pembanding dianalisa menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 200-400 nm. Hasil pengukuran bahwa hidrokuinon mempunyai panjang gelombang maksimum 293,80 nm dengan absorban 0,260 (gambar 1) dan niasinamid mempunyai panjang gelombang maksimum 342 nm dengan absorban 0,269 (gambar 2). Pada literatur panjang gelombang maksimum hidrokuinon 293 ± 2 dan niasinamid 352 nm berbeda tidak lebih dari 3% (Depkes 2014). Berdasarkan hal tersebut maka panjang gelombang yang diperoleh sama dengan panjang gelombang yang tertera di literatur. Dan serapannya masuk rentan 0,2-0,8 sesuai pada hukum Lambert Beer.



Gambar 1. Spektrum Hidrokuinon



Gambar 2. Spektrum Asam retinoat

B. Validasi Metode

1. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematika yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Penentuan linearitas kurva standar hidrokuinon dan niasinamid berdasarkan nilai serapan pada rentang hidrokuinon 8 sampai 32 µg/mL dan niasinamid 0,8 sampai 2,8 µg/mL dalam larutan metanol pada panjang gelombang maksimum. Persamaan garis kurva baku dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data linearitas hidrokuinon dan niasinamid

No	Hidrokuinon		Niasinamid	
	Konsentrasi (ppm)	Abs	Konsentrasi (ppm)	Abs
1	8	0,2090	0,8	0,2132
2	14	0,3326	1,4	0,3417
3	20	0,4676	1,8	0,4824
4	26	0,5909	2,3	0,6032
5	32	0,7236	2,8	0,7382

Persamaan regresi yang di dapat dari kurva standar yaitu hidrokuinon $y = 0,0215x + 0,0356$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9998 dan niasinamid $y = 0,2623x + 0,0036$ dengan koefisien korelasi $r = 0,9996$. Nilai kemiringan atau slope pada kurva baku dapat digunakan untuk melihat sensitifitas suatu metode analisis (Gandjar dan Abdul 2012). Harga koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 menyatakan hubungan yang linier antara konsentrasi dengan serapan yang dihasilkan, dengan kata lain peningkatan nilai serapan analit berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasinya yang sesuai dengan kriteria penerimaan koefisien korelasi (r) yang baik yaitu $r \geq 0,999$ (miller and miller 2010).

2. Batas Deteksi (LOD) dan batas Kuantitasi (LOQ)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko.

Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (Harmita 2004).

Tabel 2. LOD dan LOQ Hidroquinon

Konsentrasi (ppm)	Y	Y''	Y-Y''
8	0,2090	0,1364	0,0726
14	0,3326	0,2654	0,0672
20	0,4676	0,3944	0,0732
26	0,5909	0,5234	0,0675
32	0,7236	0,7236	0,0712
R_a a-rata			0,0703
SD			0,0028
LOD $\mu\text{g/mL}$			0,3906
LOQ $\mu\text{g/mL}$			1,3023

Tabel 3. LOD dan LOQ Niasinamid

Konsentrasi (ppm)	Y	Y''	Y-Y''
0,8	0,2132	0,2062	0,0070
1,4	0,3417	0,3373	0,0044
1,8	0,4824	0,4685	0,0139
2,3	0,6032	0,5996	0,0036
2,8	0,7383	0,7308	0,0074
R_a a-rata			0,0072
SD			0,0040
LOD $\mu\text{g/mL}$			0,0457
LOQ $\mu\text{g/mL}$			0,1524

Berdasarkan hasil pada Tabel 2 dan 3 didapatkan nilai hidrokuinon yaitu LOD= 0,3906 $\mu\text{g/mL}$ dan LOQ= 1,3023 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan nilai untuk niasinamid yaitu LOD= 0,0457 $\mu\text{g/mL}$ dan LOQ= 0,1524 $\mu\text{g/mL}$.

3. Presisi

Uji presisi yaitu derajat keterulangan dari suatu metode analisis. Parameter presisi ditentukan dengan cara mengukur absorbansi dari satu konsentrasi larutan standar hidrokuinon dan asam retinoat sebanyak sepuluh kali pada hari yang sama. Presisi metode dapat diukur dari nilai koefisien variasi dari data tersebut. Penetapan *repeatability* adalah kesalahan acak yang dapat dilihat dari nilai CV

(*Coefficient of Variation*). Nilai ini merupakan hasil bagi dari simpangan baku dengan nilai rata-rata yang terukur dihasilkan dari satu seri kadar. Penetapan bertujuan untuk menentukan koefisien variasi dalam interval waktu pendek yang diperoleh dari %RSD dari luas area. Menurut Harmita (2004) menyatakan untuk “pengujian presisi memiliki persyaratan yang ditentukan adalah $< 2\%$ ”. Data hasil percobaan terdapat pada tabel berikut ini :

Tabel 4. Uji Presisi Retinoat Hidrokuinon dan Niasinamid

Hidrokuinon		Niasinamid	
Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Abs	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Abs
20,2979	0,4711	1,8049	0,5201
20,3029	0,4712	1,8048	0,5201
20,3043	0,4713	1,8050	0,5202
20,3171	0,4715	1,8039	0,5199
20,3235	0,4717	1,8036	0,5200
20,3171	0,4715	1,8043	0,5195
20,3214	0,4716	1,8026	0,5199
20,3235	0,4717	1,8039	0,5199
20,3363	0,4720	1,8039	0,5199
20,3378	0,4720	1,8034	0,5197
\bar{x}	0,4715	\bar{x}	0,5199
SD	0,0003	SD	0,0002
RSD	0,0636%	RSD	0,0384%

Hasil data yang diperoleh RSD dapat diterima karena kurang dari 2%. Data yang diperoleh untuk hidrokuinon yaitu 0,0636%, sedangkan untuk niasinamid yaitu 0,0384%. Hal ini menunjukkan bahwa metode tersebut memiliki presisi yang baik untuk menetapkan kadar hidrokuinon dan asam retinoat pada Krim Pemutih Wajah.

4. Akurasi

Akurasi atau kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi sendiri dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*% recovery*) analit yang ditambahkan.

Pada penelitian ini digunakan metode penambahan standar adisi dan menghitung persen perolehan kembali. Uji ini dilakukan dengan cara menambahkan sejumlah bahan baku pembanding ke dalam sampel. Selanjutnya sampel dianalisis hingga diperoleh nilai persen perolehan kembali. Nilai yang mendekati rentang 80-110% menunjukkan bahwa metode tersebut memiliki ketepatan yang baik dalam menunjukkan tingkat kesesuaian dari rata-rata suatu pengukuran yang sebanding dengan nilai sebenarnya. Pada uji akurasi ini dilakukan analisis terhadap tiga konsentrasi yang berbeda pada masing-masing senyawa yaitu 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Data sebagai berikut:

Tabel 7. Uji Akurasi Hidrokuinon

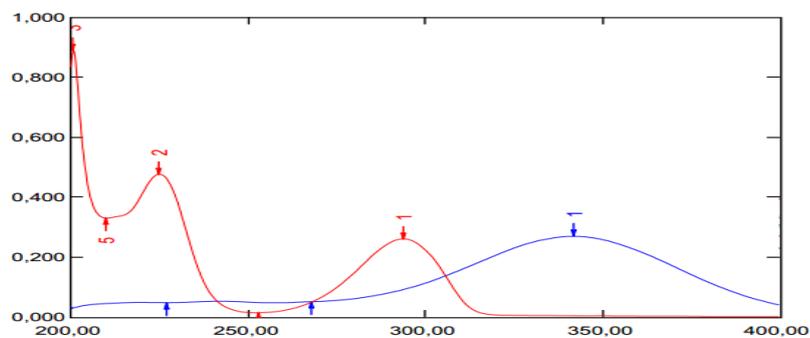
Konsentrasi (ppm)	Abs (Y)	% recovery	%rec. Rata-rata
15	0,5860	99,0322	99,1017
	0,5910	99,0322	
	0,5910	99,2408	
20	0,6970	97,4707	96,8295
	0,7000	96,5090	
	0,7000	96,5090	
25	0,8900	100,9067	100,8861
	0,8890	100,7821	
	0,8900	100,9697	

Tabel 8. Uji Akurasi Niasinamid

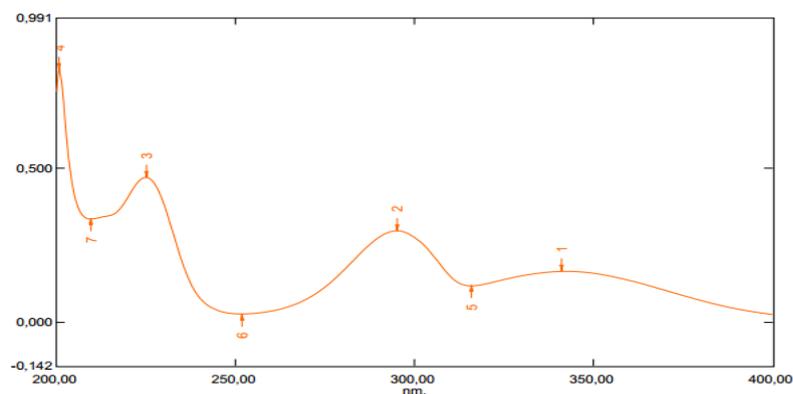
Konsentrasi (ppm)	Abs (Y)	% recovery	%rec. Rata-rata
15	0,4260	106,1681	106,2500
	0,4260	106,1681	
	0,4270	106,4140	
20	0,5870	109,7158	109,5754
	0,5880	109,5052	
	0,6880	109,5052	
25	0,7290	109,0080	108,9049
	0,7280	108,8534	
	0,7280	108,8534	

5. Spesifisitas

Uji spesifitas merupakan kemampuan yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama, dengan adanya komponen lain dalam sampel (Harmita KA dkk 2019). Uji ini bertujuan untuk mengetahui pergeseran panjang gelombang campuran hidroquinon dan asam retinoat. Hidroquinon memiliki panjang gelombang 293 ± 2 nm, sedangkan niasinamid memiliki panjang gelombang 352 nm berbeda tidak lebih dari 3% (Depkes 2014). Berikut spektrum serapan hidroquinon, niasinamid standar dan hidroquinon, niasinamid dalam sampel :



Gambar 8. Spektrum Campuran Baku



Gambar 9. Spektrum Sampel Krim Pemutih Wajah

Berdasarkan hasil spektrum campuran dari sampel hidroquinon dan niasinamid membentuk dua puncak dengan panjang gelombang hidroquinon 295 nm dan asam retinoat 341,20 nm dari kedua puncak yang didapat memiliki

panjang gelombang yang tidak jauh berbeda dari panjang gelombang standar yang didapat.

6. Penetapan Kadar Sampel

Penetapan kadar hidrokuinon dan asam retinoat ini dilakukan untuk mengetahui berapa kadar yang terkandung dalam krim pemutih wajah. Sampel di ambil dari klinik kecantikan yang berada di daerah Duren Sawit Jakarta Timur. Penetapan kadar ini diketahui dari hasil analisis dengan menggunakan Spektrofotometer UV dengan panjang gelombang hidroquinon 293,80 nm dan niaisnamid 342 nm masing-masing sampel diukur sebanyak tiga kali (triplo) dengan tujuan mendapatkan hasil yang lebih akurat.

Dari hasil penelitian ini diperoleh bahwa kadar hidrokuinon melebihi batas yang sudah ditetapkan oleh BPOM. Hidrokuinon krim A dan B memiliki kadar 5,01 % dan 5,02 % kadar yang ditentukan yaitu >2%, sedangkan niaisnamid yang didapat tidak melebihi batas yang sudah ditetapkan oleh BPOM. Niaisnamid memiliki kadar 0,1023 % dan 0,0255% kadar yang diperbolehkan oleh BPOM RI tidak lebih dari 0,001% - 0,4%

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

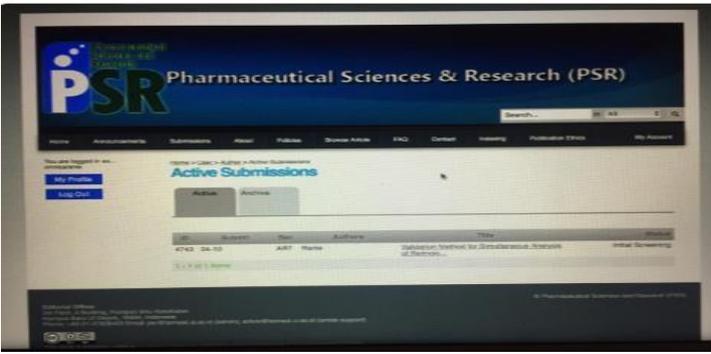
Berdasarkan hasil dari penelitian, dapat disimpulkan bahwa analisis hidrokuinon dan niasinamid pada krim racikan dokter dengan metode analisis Spektrofotometer uv-vis memenuhi persyaratan validasi dan dapat digunakan sebagai metode yang valid untuk menetapkan kadar hidrokuinon dan niasinamid secara simultan dalam sediaan krim racikan dokter.

B. Saran

Pada penelitian selanjutnya agar dilakukan analisis kembali krim racikan dokter yang berada di daerah sekitar

BAB VI
LUARAN YANG DICAPAI

LUARAN WAJIB

IDENTITAS JURNAL		
1	Nama Jurnal	Pharmaceutical Sciences & Research (PSR)
2	Website Jurnal	http://psr.ui.ac.id/index.php/journal
3	Status Makalah	Initial Screening
4	Jenis Jurnal	Nasional Terakreditasi Sinta 2
5	Bukti Screenshot	

LUARAN TAMBAHAN

IDENTITAS JURNAL		
1	Nama Jurnal	Seminar Internasional ICNSSE 2020
2	Website Jurnal	https://conference.uhamka.ac.id/lic/
3	Status Makalah	Under review
4	Jenis Jurnal	Prosiding Internasional Terindeks WoS
5	Bukti Screenshot	

BAB VII

RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI

Meminta rekomendasi kepada dinas kesehatan Jakarta Timur untuk dapat memperoleh sampel yang berasal dari salon kecantikan di wilayah Jakarta Timur, karena ijin salon kecantikan dikeluarkan oleh PTSP atas rekomendasi dinas kesehatan kota madya Jakarta Timur.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriyani, Vina Budi. 2011. Identifikasi Asam Retinoat Dalam Krim Pemutih Wajah Secara Kromatografi Lapis Tipis. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Badan POM RI. 2007. Kenalilah Kosmetika anda, Sebelum Menggunakannya. In: Info POM, Vol.VIII No.4. Edisi Juli 2007. Jakarta
- Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia. 2011. *Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika*. No. HK.03.1.23.08.11.07517. Jakarta. Hlm. 40.
- Chan, R. A., 2008, Randomized Controlled Trial of the Efficacy and Safety of Fixed Triple Combination (Fluocinolone Acetonide 0.01%, Hydroquinone 4%, Tretinoin 0.05%) Compared with Hydroquinone 4% Cream in Asian Patient with Moderate to Severe Melasma, *Br J Dermatol*, 159:697-703.
- Departemen Kesehatan RI. 2014. *Farmakope Indonesia : Edisi V*. Jakarta Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Hlm : 161-162, 440-529, 800.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol. 1 No. 3, ISSN : 1693-9883.
- Harmita KA, Yahdiana H, Supandi. 2019. *Liquid Chromathography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*. Penerbit PT. ISFI. Jakarta. Hlm : 21-25.
- Menaldi, S.L., 2003, *Peremajaan Kulit*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Miller, J.N., dan Miller J.C., 2010, *Statistics And Chemometrics For Analytical Chemistry*, Sixth Edition, Pearson Education, England.
- Nijhu, R.S., Dewan T.A., dan Yeakuty M.J., 2011, Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Quantitative Estimation of Nitroglycerin In Pharmaceutical Dosage Form, *International Current Pharmaceutical Journal*.
- Purwanto A., Dan Farida E., 2012, Metode Spektrofotometri Uv-Vis Untuk Pengujian Kadar Silika Dalam Natrium Zirkonat , *Prosiding Seminar Penelitian Dan Pengelolaan Perangkat Nuklir, Pusat Teknologi Akselerator Dan Proses Bahan*, Yogyakarta, 26 September 2012.
- Shai, A., Howard, I.M., dan Robert, B., 2009, *Handbook of Cosmetic Skin Care*, Second Edition, Informa Healthcare, UK.
- Suhartini, S., Fatimawali, dan Gayatri, C., 2013, Analisis Asam Retinoat Pada Kosmetik Krim Pemutih Yang Beredar Di Pasaran Kota Manado, *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*

Lampiran

Lampiran 1. Sertifikat Analisis Hidroquinon



BADAN POM RI
SERTIFIKAT PENGUKUAN
No. Sertifikat: PC.03.06. 7.02.125

HYDROQUINONUM
No. Kontrol: 205167

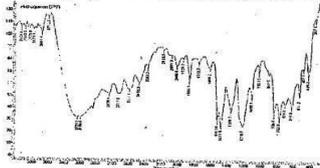
Tujuan Penggunaan :

Baku Pembanding Farmakope Indonesia *Hydroquinonum* no. kontrol 205167 dapat digunakan sebagai baku pembanding dalam identifikasi menggunakan spektrofotometer inframerah dan spektrofotometer ultraviolet; serta uji kemurnian dengan kromatografi lapis tipis dan kromatografi cair kinerja tinggi, seperti yang tercantum pada monografi *Hydroquinonum* dalam Farmakope Indonesia Edisi IV, tahun 1995 halaman 440.

Pemeriksaan : Berbentuk jarum halus, putih; mudah menjadi gelap jika terpapar cahaya dan udara.

Identifikasi :

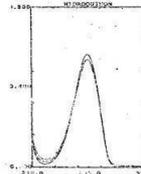
Secara spektrofotometri inframerah : Dispersi ± 2 mg zat dalam cakram kalium bromida (± 200 mg) seperti yang tercantum dalam gambar 1.



Gambar 1. Spektrum IR *Hydroquinonum*

Secara spektrofotometri ultraviolet : Larutan dalam metanol (1 dalam 50.000) menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 294 nm. Serapan jenis ($A_{1\%}^{1cm}$) pada panjang gelombang maksimum 294 nm adalah 266 ($n=6$; RSD=0,96%). Spektrum seperti tercantum dalam gambar 2.

Kadar Air : 0,28 % ($n=2$, RSD= 0,18 %).



Gambar 2. Spektrum UV *Hydroquinonum*

Secara kromatografi lapis tipis : Bercak utama larutan uji sesuai dengan larutan baku seperti tercantum dalam gambar 3. Terdeteksi adanya 2 bercak lain selain bercak utama secara densitometri. Kadar cemaran secara densitometri sebesar 0,80%.

Secara kromatografi cair kinerja tinggi : Terdeteksi 2 puncak lain selain puncak utama. Total cemaran sebesar 0,45%.

Secara *Differential Scanning Calorimetri* : 99,79% ($n=3$; RSD=0,20 %); Titik lebur : 171,42°C

Penetapan kadar :

Secara titrimetrik : 100,11% $C_6H_4O_2$ ($n=6$; RSD=0,33 %) dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Kesimpulan : *Hydroquinonum* no. kontrol 205167 dapat digunakan sebagai Baku Pembanding Farmakope Indonesia sesuai dengan tujuan penggunaan.

Cara penggunaan: Tidak dikeringkan, tetapkan kadar air sebelum digunakan.

Cara penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

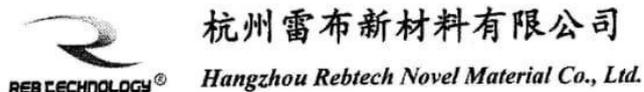
Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.

Wadah penyimpanan: Simpan wadah tertutup rapat dan tidak tembus cahaya.



Koordinator Laboratorium Bahan Baku Pembanding
NIP. 197117015
DAN PENGAJAWAS OBAT DAN MAKANAN REPUBLIK INDONESIA
Pencetakan Negara No. 23 Jakarta Pusat 10560 Telp. 4210075, Fax. 14201427, 424513

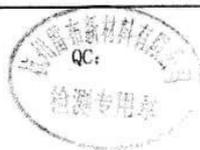
Lampiran 2. Sertifikat Analisis Niasinamid



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	Tretinoin		
M.F.	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	M.W.	300.44
CAS NO.	302-79-4	Quantity	10 kg
Batch No.	20180709VAA	Mfg.Date	2018-07-09

Items	Specification	Results
Appearance	Yellow crystalline powder	Conforms
Identification	The IR absorption spectrum should correspond with reference spectrum	Correspond with reference spectrum
	Should exhibits maximum absorption at 352nm	Exhibits maximum absorption at 352nm
Assay	98.0%~102.0%(Calculated on the dried basis)	99.3%
Heavy metal	≤20ppm	Conforms
Residue on Ignition	≤0.1%	0.06%
Loss on drying	≤0.5%	0.17%
Limit of Isotretinoin	≤5.0%	<2.3%
Conclusion	The result conform with standard USP34	
<p>Package: 15kgs/fabric drums with double PE bags /0.5kg foil bags *30pcs. Storage: stored in room temperature and dry place, keep away from strong light and heat. Shelf time: 2 years</p>		



Lanjutan Lampiran 3. Penetapan Kadar Hidrokuinon dan Niasinamid

A. Kadar hidrokuinon

Sampel yang ditimbang pada krim A (1,0390 g)

$$\frac{52,4476 \text{ mg}}{1039 \text{ mg}} \times 100 \% = 5,01 \%$$

Sampel yang ditimbang pada krim B (1,0200 g)

$$\frac{51,2368 \text{ mg}}{1020 \text{ mg}} \times 100 \% = 5,02 \%$$

B. Kadar Niasinamid

Sampel yang ditimbang pada krim A (1,0390 g)

$$\frac{1,0632 \text{ mg}}{1039 \text{ mg}} \times 100 \% = 1,1023 \%$$

Sampel yang ditimbang pada krim B (1,0200 g)

$$\frac{0,2611 \text{ mg}}{1020 \text{ mg}} \times 100 \% = 0,0255 \%$$