

VALIDASI METODE DAN PENENTUAN KADAR ASAM SALISILAT BEDAK TABUR DARI PASAR MAJALAYA

Fenti Fatmawati¹, Lina Herlina¹.

¹ Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl. Soekarno Hatta no 754 Bandung

*E-mail: fentisabian@gmail.com

Diterima: 20 Februari 2017. Disetujui: 19 Juli 2017. Dipublikasikan: 30 Juli 2017

Abstract: Salicyl powder is a powder containing salicylic acid as the active ingredient. This powder is generally used to relieve complaints of itching caused by prickly heat, and other skin disorders. The present of salicylic acid in talcum is 2% maximum based on BPOM regulation. The purpose of this study was to validate the method and determine the level of salicylic acid in the labeled and non labeled powder cosmetics using UV spectrophotometric method. The results showed a linear calibration curve with regression equation $y=0.029x + 0.038$ and coefficient of correlation as 0.999. The recovery of salicylic acid in this sample simulation in range 91.28% - 96.71%. The intraday relative standard deviation (RSD) was 0.26%. The interday relative standard deviation (RSD) were 0.25%, 0.33% and 0.26%. The results showed that the validity test performed indicates that the uv vis spectrophotometric method has met the validation requirements. The sixth samples of talcum cosmetics contain salicylic acid. The results showed that salicylic acid levels in cosmetic products did not exceed the maximum and safe to use. The measurement in three branded samples were 1,66%, 0,50% and 0,19%. The results in non branded samples were 0,15%, 0,19% and 0,009%.

Keywords: Salicylic acid, talcum, Ultraviolet-Visible Spectrophotometry

Abstrak: Bedak Salisil adalah bedak yang mengandung asam salisilat sebagai zat aktifnya. Bedak ini pada umumnya digunakan untuk menghilangkan keluhan gatal-gatal yang disebabkan oleh biang keringat, dan gangguan kulit lainnya. Kadar asam salisilat dalam bedak tidak boleh lebih dari 2% berdasarkan peraturan Badan POM. Tujuan penelitian ini adalah melakukan validasi metode dan menentukan kadar asam salisilat dalam sediaan kosmetika bedak tabur berlabel (bermerk) dan non label (tanpa merk) menggunakan metode spektrofotometri UV. Hasil penelitian menunjukkan kurva kalibrasi linier dengan persamaan regresi $y=0,029x + 0,038$ dan koefisien korelasi (r) sebesar 0,999. Persen perolehan kembali asam salisilat dalam sampel simulasi mempunyai rentang 91,28% - 96,71%. Koefisien variasi dalam hari sebesar 0,26%, sedangkan dalam antar hari nilai koefisien variasi adalah 0,25%, 0,33% and 0,26%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji validitas yang dilakukan menunjukkan bahwa metode spektrofotometri uv vis telah memenuhi persyaratan validasi. Enam sampel kosmetik bedak tabur yang dianalisis mengandung asam salisilat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar asam salisilat dalam produk kosmetik tidak melebihi batas maksimal dan aman untuk digunakan. Kadar asam salisilat yang diperoleh pada tiga sampel berlabel adalah 1,66%, 0,50% dan 0,19%. Kadar asam salisilat pada tiga sampel non label adalah 0,15%, 0,19% dan 0,09%.

Kata kunci: Asam salisilat, bedak, spektrofotometri UV

PENDAHULUAN

Kosmetik Menurut Permenkes RI No: 1175/MenKes/PER/VIII/2010 adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ 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. Bedak tabur (*Loose powder*) merupakan produk kosmetik bedak yang memiliki bentuk bubuk halus.

Asam salisilat dikenal juga dengan Asam 2, hidroksi-benzoat merupakan senyawa golongan fenol (Warrier, 2013). Pemerian hablur, biasanya berbentuk jarum halus atau serbuk halus; putih; rasa agak manis, tajam dan stabil di udara. Bentuk sintetis warna putih dan tidak berbau. Kelarutannya sukar larut dalam air dan dalam benzena. Mudah larut dalam etanol dan dalam eter. Larut dalam air mendidih dan agak sukar larut dalam kloroform. Khasiat dan penggunaan sebagai keratolitikum (menipiskan selaput kulit/meratakan kulit) dan anti fungi. Asam salisilat merupakan senyawa

yang berkhasiat sebagai fungisidal dan bakteriostatik lemah. Asam salisilat bekerja keratolitik sehingga digunakan dalam sediaan obat luar terhadap infeksi jamur yang ringan (Astuti, 2007).

Asam salisilat sebagai zat aktif utama maupun tambahan tersedia dalam berbagai produk dengan beragam vehikulum. Penggunaan asam salisilat harus tetap berhati-hati dan tidak boleh diberikan pada area yang luas dalam jangka panjang (Sulistyaningrum, 2012).

Asam salisilat merupakan zat yang sering ditambahkan pada produk perawatan kulit untuk jerawat dan psoriasis. Dalam Peraturan Kepala Badan POM RI Nomor Hk.03.1.23.08.11.07517 Tahun 2011 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika, kadar asam salisilat dibatasi 3% untuk produksi bilas dan 2% untuk produk lainnya.

Asam salisilat adalah obat topikal murah yang digunakan sebagai bahan penting dalam banyak produk perawatan kulit yaitu untuk pengobatan jerawat, psoriasis, kapalan, kutil, ketombe, dan masalah kulit lainnya (Choi, 2012). Asam salisilat bekerja sebagai keratolitik, komedolitik dan sebagai bakteriostatik,

membuka pori-pori yang tersumbat, juga digunakan dalam beberapa produk sampo untuk mengobati ketombe (Patil, 2015).

METODE

Penelitian ini dimulai dengan pengambilan sampel secara acak yang beredar di daerah Majalaya, Kabupaten Bandung dimana popularitas produk kosmetik bedak tabur yang diambil sudah mewakili sampel yang beredar. Sampel bedak tabur kemudian di ambil sebanyak 6 sampel yaitu 3 sampel bedak tabur yang berlabel dan 3 sampel bedak tabur tanpa label.

Penyiapan Reagen Untuk Uji Kualitatif

Sejumlah 1 g FeCl_3 dimasukan kedalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas, sehingga diperoleh FeCl_3 1%.

Optimasi Pelarut

Optimasi pelarut dilakukan pada beberapa pelarut organik yaitu aseton, etanol dan methanol.

Pembuatan Larutan Standar 100 bpj

Dipipet 2,5 mL dari larutan induk 1000 bpj, dimasukkan kedalam labu ukur 25 mL, ditambahkan 10 mL metanol (hasil yang optimal). Dikocok homogen,

kemudian ditambahkan kembali pelarut tersebut sampai tanda batas.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang (λ) maksimum ditentukan dengan cara memindai serapan standar dalam spektro UV-Vis pada kisaran panjang gelombang 200-400 nm.

Persiapan kurva kalibrasi

Absorbansi larutan standar diukur pada λ maksimum yang telah ditentukan yang kemudian dibuat persamaan garis kurva kalibrasinya. Kurva kalibrasi dibuat melalui hubungan serapan panjang gelombang (absorpsi) terhadap konsentrasi dari beberapa larutan standar yang dibuat satu seri larutan baku asam salisilat dengan konsentrasi bertingkat. Diukur serapan konsentrasi pada panjang gelombang masing-masing. Dibuat larutan standar dengan 7 konsentrasi yaitu ; 7 bpj, 10 bpj, 13 bpj, 16 bpj, 19 bpj, 22 bpj dan 25 bpj.

Penentuan Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi

Dari kurva kalibrasi dapat dilakukan penentuan batas deteksi dan batas kuantisasi dengan menggunakan rumus:

$$S_{y/x} = \frac{\sqrt{\sum(y-y')^2}}{n-2}$$

Batas deteksi (BD):

$$BD = \frac{3 S_{y/x}}{\text{Slope}(b)}$$

Batas kuantisasi (BK):

$$BK = \frac{10 S_{y/x}}{\text{Slope}(b)}$$

Uji Linieritas

Dari data tersebut juga dapat dilakukan perhitungan linieritas dengan rumus dibawah ini:

$$S_{x0} = \frac{S_{y/x}}{b} \quad V_{x0} = \frac{s_{x0}}{x} \times 100\%$$

Keterangan:

X= rata-rata konsentrasi larutan standar.

Pembuatan Bedak Tabur Simulasi

Bedak tabur tanpa asam salisilat (talkum) ditimbang sebanyak 5 gram kemudian dimasukkan kedalam mortir dan ditambahkan asam salisilat dengan konsentrasi yang berbeda. 80% dengan penambahan asam salisilat sebanyak 80 mg, 100% dengan penambahan asam salisilat sebanyak 100 mg dan 120% dengan penambahan asam salisilat sebanyak 120 mg. Aduk sampai homogen. Masukkan kedalam wadah bedak untuk kemudian ditimbang pada proses preparasi dan akurasi menggunakan bedak tabur simulasi.

Penentuan Akurasi dan Presisi

Sebanyak 500 mg bedak simulasi ditimbang dari masing-masing konsentrasi 80%, 100%, dan 120% dalam gelas kimia 25 mL, ditambahkan 10 mL pelarut pengekstraksi kemudian lakukan sonikasi selama 15 menit, hasil ekstraksi di sentrifuga selama 20 menit sampai menjadi larutan bening dan ada endapan. Untuk memisahkan larutan dengan endapan, larutan disaring menggunakan kertas saring, masukkan kedalam labu ukur 10 mL, ditambahkan metanol sampai tanda batas. Dipipet 2 mL larutan sampel simulasi, kemudian masukkan kedalam labu ukur 10 mL ditambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian dipipet kembali 1 mL kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan pelarut sampai tanda batas. Diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV pada panjang gelombang 302 nm.

Akurasi (% Recovery)

Recovery dapat dihitung dengan cara penentuan nilai perolehan kembali seperti dibawah ini:

$$\%Akurasi = \frac{\text{Nilai Pengukuran}}{\text{Nilai Sebenarnya}} \times 100\%$$

Presisi

Presisi dapat di ukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif

(koefesian variasi). Dapat dihitung dengan cara berikut:

$$\text{Simpangan baku (SD)} = \frac{\sqrt{\sum(y-y')^2}}{n-2}$$

Atau sebagai koefesian variasi (KV)

$$\text{KV} = \frac{\text{SD}}{x'} \times 100\%$$

Analisis Sampel

Sejumlah 500 mg sampel bedak tabur ditimbang dari masing-masing sampel dalam gelas kimia 25 mL dan dilarutkan dengan 10 mL pelarut pengestraksi kemudian dilakukan sonikasi selama 15 menit. Larutan dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian hasil ekstraksi disentrifuga selama 20 menit hingga tidak berwarna dan ada endapan, Kemudian larutan disaring menggunakan kertas saring, dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, ditambahkan dengan metanol sampai tanda batas. Filtrat dikumpulkan sebagai larutan sampel untuk ditentukan kadarnya.

Pengukuran Kadar

Sejumlah 2 mL larutan sampel dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan larutan metanol sampai tanda batas. Kemudian dipipet lagi 1 mL kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan pelarut sampai tanda batas, kemudian diukur absorbansinya

menggunakan Spektrofotometri UV pada panjang gelombang 302 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar asam salisilat dalam sediaan bedak tabur. Adapun sampel bedak tabur yang digunakan dalam penelitian ini adalah bedak tabur yang beredar di pasaran sekitar daerah Majalaya, Kabupaten Bandung. Bedak tabur tersebut meliputi bedak tabur yang dijual dengan label dan tanpa label. Analisis asam salisilat ini menggunakan alat Spektrofotometri UV.

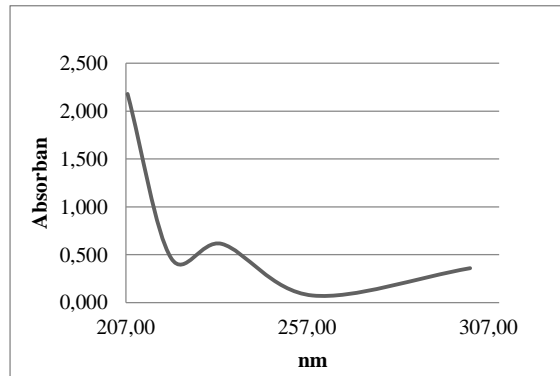
Penggunaan Spektrofotometri UV untuk penetapan kadar asam salisilat dalam bedak ini karena asam salisilat selain mempunyai gugus hidroksi juga mempunyai gugus kromofor sehingga dapat ditentukan menggunakan alat spektrofotometri UV. Selain itu waktu analisis relatif cepat, mempunyai ketelitian yang tinggi dan cukup mudah. Dengan menggunakan detektor UV.

Optimasi pelarut dilakukan terhadap beberapa pelarut organik yaitu: aseton, etanol dan metanol. Optimasi pelarut dilakukan dalam hal memilih pelarut apa yang paling optimal dalam menyerap panjang gelombang. Pada panjang gelombang maksimum, nilai absorbansinya adalah nilai yang paling

besar. Hal ini berarti kapasitas sinar radiasi yang diserap paling banyak pada panjang gelombang tersebut. Dari hasil optimasi pelarut, menunjukkan hasil yang baik pada pelarut metanol. Nilai absorbansi asam salisilat dalam pelarut methanol diberikan pada Tabel 1 dan Gambar 1. Pada optimasi pelarut metanol didapatkan hasil yang baik diperoleh pada panjang gelombang 302 nm.

Tabel 1. Nilai Absorban Asam Salisilat dalam Pelarut Metanol

N0	Wavelength	Abs
1.	302.00	0.35892
2.	233.50	0.61295
3.	207.50	2.17984
4.	258.50	0.07378
5.	219.50	0.46500



Gambar 1. Hasil Optimasi Asam Salisilat dalam Pelarut Metanol

Uji Kualitatif

Uji kualitatif adalah untuk mengidentifikasi senyawa pada fenol pada asam salisilat. Sebelum dilakukan uji kuantitatif asam salisilat dilakukan uji kualitatif terlebih dahulu. Berdasarkan

percobaan bahwa saat dilakukan dengan cara penambahan FeCl_3 kedalam larutan sampel sehingga menghasilkan warna ungu, sehingga menunjukkan hasil yang positif. Fenol yang bereaksi dengan FeCl_3 akan memberikan warna ungu, karena asam salisilat adalah senyawa yang mengandung fenol maka reaksi FeCl_3 dengan asam salisilat juga akan memberikan warna ungu (Auterhoff, 1987).

Tabel 2. Hasil Uji Kualitatif

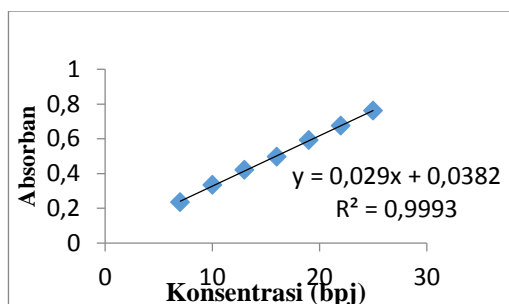
Sampel berlabel		Sampel tanpa label	
Sampel	Hasil	Sampel	Hasil
1.	Positif (ungu)	1.	Positif (ungu)
2.	Positif (ungu)	2.	Positif (ungu)
3.	Positif (ungu)	3.	Positif (ungu)

Penentuan Panjang Gelombang Standar Asam Salisilat

Berdasarkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum asam salisilat diperoleh panjang gelombang 302 nm dengan konsentrasi 10 b/pj dalam pelarut methanol.

Kurva Kalibrasi Asam Salisilat

Berdasarkan hasil kurva kalibrasi dari seri konsentrasi yang berbeda maka didapat nilai $a=0,03826$, nilai $b=0,02898$, dan nilai $r= 0,99928$.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Standar Asam Salisilat

Uji parameter BD (Batas Deteksi) dan BK (Batas Kuantisasi)

Dari data kurva kalibrasi diperoleh nilai $r=0,99928$ dengan menggunakan persamaan regresi linier $y=0,02898x+0,03826$. Nilai $r = 0,99928$ menunjukkan bahwa nilai koefisien korelasi lebih besar dari 0,999 atau mendekati 1 sehingga kurva kalibrasi asam salisilat memberikan nilai linearitas yang baik dan penetapan kadar dengan kurva kalibrasi terjamin kebenarannya.

Dari data hasil diperoleh batas deteksi dan batas kuantisasi untuk asam salisilat masing-masing sebesar 0,56 $\mu\text{g/mL}$ dan 1,85 $\mu\text{g/mL}$. Perhitungan dilakukan secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Batas deteksi yang menyatakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat terdeteksi, sedangkan batas kuantisasi menyatakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat

ditentukan secara kuantitatif pada tingkat ketelitian dan ketepatan yang baik.

Uji Perolehan Kembali (Akurasi) dan Presisi

Penentuan akurasi dan presisi dapat ditentukan dengan uji perolehan kembali menggunakan talkum yang ditambahkan dengan standar asam salisilat yang telah diketahui kadarnya, yaitu 80% 100% dan 120%. Sampel dibuat 3 replikat dengan perlakuan yang sama untuk akurasi dengan 3 konsentrasi yaitu 80%, 100% dan 120% dan sampel dibuat 6 replikat untuk presisi dengan 1 konsentrasi saja yaitu 100%.

Lalu uji perolehan kembali ditentukan dengan membandingkan kadar hasil analisis dengan kadar asam salisilat sebenarnya. Pengukuran akurasi dengan metode sampel simulasi secara *intraday*. Sedangkan pengukuran presisi dengan metode sampel simulasi secara *intraday* dan *interday*. *Intraday* merupakan pengulangan yang dilakukan tiap jam tertentu dalam satu hari, sedangkan *interday* merupakan pengulangan yang dilakukan tiap hari pada jam tertentu dalam beberapa hari. Serta dihitung nilai presentase perolehan kembali (presentase recovery), presentase simpangan baku relatifnya (SBR) atau koefisien variasi (KV).

Berdasarkan hasil perhitungan untuk akurasi dari ketiga konsentrasi yang berbeda yaitu (80%, 100% dan 120%), didapatkan nilai % *recovery* rata-rata untuk masing-masing konsentrasinya yaitu 96,71%, 91,28% dan 92,89%. Hasil uji akurasi diberikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Akurasi

Akurasi	
Sampel Simulasi	%Recovery
80%	96,71
100%	91,28
120%	92,89

Pengukuran untuk nilai presisi dilihat dari presentase koefisien variasi. Diperoleh data koefisien variasi pengerjaan dalam hari yaitu 0,25 pada waktu pagi; 0,27 pada waktu siang; dan 0,28 pada waktu sore hari. Kemudian data koefisien variasi pengerjaan antar hari yaitu 0,25 untuk hari pertama; 0,33 untuk hari kedua; dan 0,26 untuk hari ketiga. Hasil uji presisi diberikan pada Tabel 4.

Berdasarkan nilai presentase koefisien variasi yang diperoleh sudah memenuhi syarat yang ditentukan dimana nilai presentase koefisien variasinya kurang dari 2% (Harmita, 2004). Nilai koefisien variasi pada pengerjaan dalam hari yang paling baik yaitu pada waktu pagi hari sebesar 0,25 dan nilai koefisien

variasi pada pengerjaan antar hari yang paling baik yaitu pada hari pertama sebesar 0,25. Karena semakin kecil nilai koefisien variasi akan semakin presisi.

Tabel 4. Hasil Uji Presisi

Sampel Simulasi	Presisi		
	<i>Intraday</i>		
100%	KV Pagi	KV siang	KV sore
	0,25	0,27	0,28
100%	<i>Interday</i>		
	KV hari ke-1	KV hari ke-2	KV hari ke-3
	0,25	0,33	0,26

Kriteria ini sudah masuk rentang yang diperbolehkan karena kriteria penerimaan untuk akurasi pada penetapan kadar komponen dalam sediaan farmasi yaitu 80-120%. Kriteria penerimaan koefisien variasi untuk presisi yaitu kurang dari 2%. Hasil uji perolehan kembali yang dilakukan sudah memenuhi syarat.

Penentuan Kadar Sampel

Penentuan kadar pada sampel untuk mengetahui berapa kadar asam salisilat yang terdapat pada bedak tabur, perlakuannya hampir sama dengan uji akurasi dan presisi. Hasil penentuan kadar sampel diberikan pada Tabel 5. Berdasarkan hasil pengukuran kadar

asam salisilat pada bedak tabur yang berlabel diperoleh sebesar 1,66%, 0,50% dan 0,19%. Sedangkan hasil pengukuran kadar asam salisilat pada bedak tabur yang nonlabel diperoleh sebesar 0,15%, 0,19% dan 0,09%. Keenam sampel bedak tabur yang berlabel dan non label yang diuji semua sampel tidak ada yang melebihi batas yang telah di tentukan yang diperbolehkan dijual di pasar yaitu dengan kadar 2%.

Tabel 5. Hasil Penentuan Kadar

Sampel yang Berlabel	
Sampel Bedak	%Kadar
Sampel A	1,66
Sampel B	0,50
Sampel C	0,19
Sampel tanpa Label	
Sampel Bedak	%Kadar
Sampel A	0,15
Sampel B	0,19
Sampel C	0,09

DAFTAR RUJUKAN

Permenkes RI Nomor.
1175/MenKes/PER/VIII/2010.
Tentang Izin Produksi Kosmetika
Peraturan Kepala Badan POM Republik
Indonesia Nomor:
Hk.03.1.23.08.11.07517 Tahun 2011
Tentang Persyaratan Teknis Bahan
Kosmetika.

KESIMPULAN

Hasil validasi yang telah dilakukan, metode spektrofotometri dapat digunakan untuk menganalisis asam salisilat di dalam sediaan kosmetik bedak tabur.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada enam (6) sampel kosmetik bedak tabur yang di analisis mengandung asam salisilat dan hasil penetapan kadar asam salisilat pada tiga (3) sampel bedak tabur yang berlabel (bermerk) diperoleh sebesar 1,66%, 0,50% dan 0,19%.

Hasil pengukuran kadar asam salisilat pada tiga (3) sampel bedak tabur yang dijual yang non label (tanpa merk) diperoleh sebesar 0,15%, 0,19% dan 0,09%. Keenam sampel bedak tabur yang sampel berlabel (bermerk) dan non label (tanpa merk) yang diuji semua sampel tidak ada yang melebihi batas yang telah ditentukan yang diperbolehkan dijual di pasar yaitu dengan kadar 2% .

Astuti, Y.I., Sudirman, I., dan Hidayati, U. (2007): Pengaruh Konsentrasi Adaps Lanae Dalam Dasar Salep Cold Cream Terhadap Pelepasan Asam Salisilat, Pharmacy, Vol. 05, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

- Choi, J.M., Kim, K., Cho, E., dan Jung, S. (2012): Solubility Enhancement of Salicylic Acid by Complexation with Succinoglycan Monomers Isolated from *Sinorhizobium meliloti*, *Bull. Korean Chem. Soc.* 2012, Vol. 33, No. 6.
- Patil, A.S., Khairnar, J.B., Mane, V.D., dan Chaudhari, R.B. (2015): A validated stability-indicating HPLC related substances method for salicylic acid in bulk drug and dosage form, *World J Pharm Sci* 2015; 3(6): 1184-1190.
- Sulistyaningrum, K.S., Nilasari, H., dan Effendi, H.E. (2012): Penggunaan Asam Salisilat dalam Dermatologi, *J Indon Med Assoc*, Volum: 62, Nomor: 7.

Penetapan Kadar Asam Salisilat pada Krim Anti Jerawat yang Beredar di Kota Bandung dengan Metode Spektrotometri Ultra Violet

Determination of Salicylic Acid in Anti Acne Cream which Circulated Around Bandung City Using Ultra Violet Spectrophotometry Method

Ginayati Hadisoebroto^{1,*} dan Senadi Budiman²

¹Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Al-Ghifari, Bandung

²Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Informatika, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi

*E-mail : gina.hs11@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.26874/jkk.v2i1.20>

Received:, Revised:, Accepted:, Online:

Abstrak

Asam salisilat merupakan zat anti jerawat sekaligus keratolitik yang lazim diberikan secara topikal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar asam salisilat pada krim anti jerawat yang beredar di pasar tradisional, swalayan, dan *skin care* Kota Bandung, dan membandingkan kadar asam salisilat dalam sampel dengan batas kandungan asam salisilat maksimum yang ditentukan oleh Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) yaitu < 2%. Analisis kualitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase gerak toluen : asam asetat (4:1) dan uji warna menggunakan pereaksi FeCl₃. Sedangkan analisis kuantitatif asam salisilat pada krim anti jerawat menggunakan pelarut etanol dan diukur dengan spektrofotometer UV. Validasi metode dilakukan untuk membuktikan bahwa metode yang digunakan telah memenuhi persyaratan. Kadar asam salisilat dalam sampel G adalah 2,33% , C 1,54 % , B 0,71% , R 0,85 % , dan I 0,82%. Sampel C, B , R dan I memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan oleh Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) yaitu tidak lebih dari 2%, sedangkan sampel G tidak memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan karena kadarnya lebih dari 2%.

Kata kunci: asam salisilat, kromatografi lapis tipis, spektrofotometer ultraviolet

Abstract

Salicylic acid is an anti-acne as well as keratolytic which is commonly given topically. The purpose of this study was to determine the levels of salicylic acid in anti-acne creams circulating in traditional markets, supermarkets, and skin care in Bandung, and to compare the levels of salicylic acid in samples with the maximum salicylic acid content limit determined by the Center for Drug and Food Control (BPOM). Qualitative analysis using the thin layer chromatography (TLC) method with the toluene mobile phase: acetic acid (4: 1) and color test using FeCl₃ reagent. While the quantitative analysis of salicylic acid in anti-acne cream using ethanol solvent and measured by a UV spectrophotometer. Method validation to prove that the method used has reached the requirement. Salicylic acid levels in sample G were 2.33%, C 1.54%, B 0.71%, R 0.85%, and I 0.82%. Samples C, B, R and standard sample set by BPOM which is no more than 2%. Sample G does not unqualified because the level is more than 2%.

Keywords: salicylic acid, thin layer chromatography, UV spectrophotometry

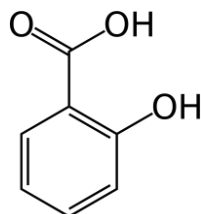
1 Pendahuluan

Kosmetika merupakan campuran bahan obat untuk digosokkan, dilekatkan, dituangkan, dipercikan, atau disemprotkan, dimasukkan ke dalam, bagian badan manusia dengan maksud untuk membersihkan, memelihara, menambah daya, dan tidak termasuk golongan obat. Kosmetika dapat mempengaruhi struktur dan faal kulit. Bahan tersebut misalnya anti jerawat (sulfur, resorsin), anti jasad renik (heksaklorofen), anti pengeluaran keringat (aluminium klorida), plasenta, atau hormon (estrogen) [1].

Campuran bahan kosmetika yang berlebihan merugikan jika, pengolahan yang kurang baik, penggunaan bahan yang tidak tepat dan penyimpanan yang tidak higienis. Reaksi kulit terhadap kosmetik terjadi jika kita peka terhadap salah satu bahan baku kosmetik. Reaksi kulit tersebut akan menimbulkan kelainan. Salah satu kelainan pada kulit yang terjadi adalah iritasi kulit. Kulit akan mengalami iritasi, biasanya setelah pemakaian kosmetik. Kelainan yang terjadi berupa kulit kemerahan, biasanya terasa panas, perih, dan kadang-kadang permukannya berair [2].

Pemilihan sediaan yang tepat memiliki peran penting terhadap efektivitas terapi. Terapi jerawat, krim merupakan sediaan yang tepat karena lebih mudah dioleskan dan tidak berlemak layaknya sediaan salep. Bahan pembawa pada formulasi suatu sediaan akan mempengaruhi jumlah dan kecepatan difusi zat aktif hingga dapat diabsorpsi memberikan efek [3].

Asam salisilat merupakan zat anti jerawat sekaligus keratolitik yang lazim diberikan secara topikal adapun struktur molekulnya pada gambar 1. Bekerjanya dengan memecah struktur desmosom pada korneosit dengan cara menghilangkan ikatan kovalen lipid intraselular disekitar keratinosit. Pemakaian asam salisilat pada konsentrasi tinggi juga sering mengakibatkan iritasi lokal dan peradangan akut.



Gambar 1. Struktur molekul asam salisilat

Untuk mengurangi absorpsinya pada penggunaan topikal maka asam salisilat tidak digunakan dalam penggunaan jangka lama dalam

konsentrasi tinggi, pada daerah yang luas pada kulit dan pada kulit rusak. Kadar Asam salisilat yang boleh digunakan tidak lebih dari 2% [4].

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat diidentifikasi beberapa masalah yaitu Berapakah kadar asam salisilat yang terdapat dalam sediaan kosmetika krim anti jerawat yang beredar di pasar tradisional, swalayan dan *Skin Care* di Kota Bandung. Apakah kadar asam salisilat dalam sampel kosmetika krim anti jerawat memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar asam salisilat pada krim anti jerawat yang beredar di pasar tradisional, swalayan dan *Skin Care* Kota Bandung [5].

Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan keamanan kosmetika krim anti jerawat yang beredar di Bandung lolos uji keamanan dan menambah pengetahuan tentang identifikasi asam salisilat dalam krim anti jerawat.

2 Metode Penelitian

2.1 Pengambilan Sampel

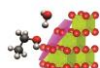
Pengambilan sampel secara acak didasarkan pada produk krim anti jerawat yang beredar di pasar tradisional, swalayan dan *Skin Care* di Kota Bandung, yaitu Pasar Ujung Berung, Pasar Andir, Pasar Sukajadi, Yogya Grand Kepatihan, *Skin Care X*, *Skin Care Y*, dan *Beauty Seeker*.

2.2 Larutan Uji Sampel Krim

Sampel yang mengandung asam salisilat ditimbang 1,00 g, dimasukkan ke dalam gelas kimia, dilarutkan dalam 10 mL etanol sambil dipanaskan diatas penangas air, diaduk hingga homogen, tutup dengan aluminium foil. Dinginkan dalam es selama 15 menit dan saring melalui kertas saring. Filtrat ditampung dalam labu ukur, Tambahkan etanol hingga tanda batas dan homogenkan [5].

2.3 Larutan Standar Asam Salisilat

Sebanyak 50 mg standar asam salisilat ditimbang, dimasukkan ke dalam labu ukur. dilarutkan dalam etanol sampai tanda batas sehingga diperoleh larutan standar asam salisilat 1000 ppm.



2.4 Analisis Kualitatif Asam Salisilat

Uji Warna

Sampel yang telah dilarutkan ditetaskan sebanyak 2 tetes pada plat tetes, ditambahkan pereaksi FeCl₃, diamati perubahan yang terjadi. Reaksi positif memberikan warna ungu.

Kromatografi Lapis Tipis

Dimasukan toluen – asam asetat glasial (4:1) ke dalam chamber, tutup dengan plat kaca, di jenuhkan selama 45 menit. Identifikasi Sampel dengan KLT. Lempeng KLT di panaskan di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, di buat batas penotolan dan batas elusi 10 cm. Larutan uji ditotolkan secara terpisah dengan menggunakan pipa kapiler dengan jarak 1,5 cm dari bagian bawah lempeng. Lempeng KLT yang telah mengandung cuplikan dimasukan kedalam bejana KLT yang terlebih dahulu dijenuhkan dengan fase gerak berupa toluene dan asam asetat (4:1). Dibiarkan fasa bergerak naik sampai mendekati batas elusi. Lempeng KLT diangkat dan dibiarkan kering diudara. Diamati di bawah sinar UV₂₅₄ berfluoresensi memberikan bercak gelap [5].

1.1. Analisis Kuantitatif Asam Salisilat

Penentuan Linearitas

Dipipet larutan asam salisilat 100 ppm ke dalam labu ukur 10 mL berturut-turut 0,3; 0,6; 0,9; 1,2; 1,5 dan 1,8 mL (3; 6; 9; 12; 15 dan 18 ppm). Ditambahkan etanol sampai tanda batas ke dalam masing-masing labu ukur tersebut. Dikocok hingga homogen, diukur serapannya pada λ_{maks} yang diperoleh menggunakan larutan blanko.

Penentuan Akurasi

Sebanyak 0,3, 0,9, dan 1,5 mL standar 100 ppm, ditambahkan etanol pada labu ukur hingga tanda batas. Absorbansi diukur pada λ_{maks}. Absorbansi dimasukkan ke dalam persamaan regresi dari kurva kalibrasi. Konsentrasi perolehan kembali (PK) dibandingkan dengan nilai yang seharusnya [6].

$$PK(\%) = \frac{a}{b} \times 100 \%$$

Keterangan

a= konsentrasi perolehan kembali

b = konsentrasi standar

Penentuan Presisi

Sebanyak 1,5 mL standar 100 ppm ditambahkan etanol pada labu ukur (15 ppm), hingga tanda batas. Absorbansi diukur pada λ_{maks}. Larutan ini dibuat sebanyak enam kali ulangan. Penentuan presisi dinyatakan dengan koefisien variasi atau KV (%) (Gandjar dan Rohman, 2013).

$$\% KV = \frac{S}{X}$$

Keterangan:

KV = Koefisien variasi

S = Standar deviasi

x = Rata-rata

Penentuan Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi (BK)

$$BD = \frac{3 SD}{slope}$$

$$BK = \frac{10 SD}{slope}$$

Penetapan Kadar Asam Salisilat

Dipipet sebanyak 1,00 mL larutan uji dimasukkan ke dalam labu ukur. Tambahkan etanol sampai tanda batas dan homogenkan. Absorbansi diukur pada λ_{maks} (235,6 nm).

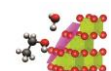
3 Hasil dan Diskusi

3.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel secara acak pada produk krim anti jerawat yang beredar di Bandung, yaitu Pasar Ujung Berung, Pasar Andir, Pasar Sukajadi, Yogya Grand Kapatihan, *Skin Care X*, *Skin Care Y*, dan *Beauty Seeker*. Tujuh sampel digunakan dengan pengkodean.

3.2 Identifikasi dengan Uji Warna

Asam salisilat mengandung fenol maka reaksinya dengan FeCl₃ akan menghasilkan warna ungu. Reaksi positif memberikan perubahan warna ungu setelah ditetesi FeCl₃. Hasil uji warna disajikan dalam Tabel 1.



Tabel 1. Identifikasi Uji Warna Sampel Krim

Sampel	Reaksi
G	+
C	+
B	+
R	+
I	+
Skin Care X	-
Skin Care Y	-

Keterangan : Terjadi reaksi (+)
Tidak terjadi reaksi (-)

Pada sampel *Skin Care X* dan *Y* ketika ditambahkan dengan $FeCl_3$ tidak terjadi perubahan warna. Hal ini menunjukkan sampel tidak mengandung asam salisilat.

3.3. Identifikasi dengan Uji Warna

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluore-sensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet. Hasil identifikasi sampel dengan KLT disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Identifikasi Sampel dengan KLT

Sampel	Tinggi Bercak (cm)	Rf (cm)
Asam salisilat	3,20	0,47
G	3,70	0,52
C	3,50	0,50
B	3,10	0,44
R	3,50	0,50
I	3,40	0,48
Skin Care X	5,10	0,72
Skin Care Y	4,41	0,63

Dari hasil analisis diperoleh bahwa nilai Rf sampel G, C, B, R dan I memiliki nilai Rf saling berdekatan dengan standar asam salisilat, sedangkan sampel *skin care X* dan *Y* memiliki nilai Rf yang tidak saling berdekatan. Dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai Rf yang sama diukur pada kondisi KLT yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa kedua sampel tidak mengandung asam salisilat.

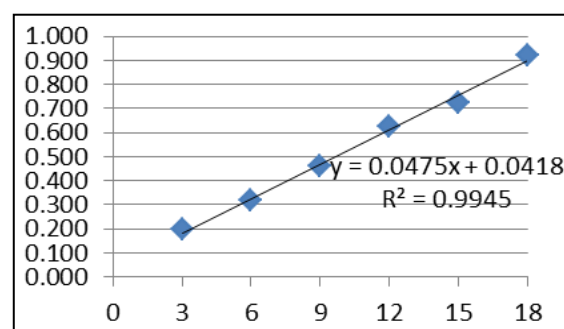
3.4. Analisis kadar asam salisilat

Metode Validasi

Metode validasi analisis merupakan suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya [7].

Hasil Penentuan Linieritas

Linieritas merupakan ukuran yang menunjukkan tingkat kesesuaian antara kadar analit dengan respon detektor (Gandjar dan Rohman, 2007). Hasil pengukuran linieritas yang diperoleh tercantum dalam tabel 4.3. Dari data tersebut dapat dibuat grafik konsentrasi terhadap absorbansi disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Linieritas Konsentrasi terhadap Absorbansi

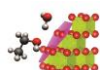
C (ppm)	A 1	A 2	A 3	Rata-rata
3	0,195	0,198	0,199	0,197
6	0,309	0,322	0,324	0,318
9	0,489	0,454	0,443	0,462
12	0,619	0,623	0,631	0,624
15	0,712	0,725	0,732	0,723
18	0,917	0,913	0,931	0,920

Tabel 3. Pengukuran Linieritas Asam Salisilat

Persamaan garis linier berupa $y = 0,0475x + 0,0418$, dengan nilai koefisien korelasi $r^2 = 0,994$. Hal ini menunjukkan bahwa kurva yang diperoleh adalah linier, karena adanya kesesuaian atau korelasi yang baik antara kadar analit dan respon detector. Hal ini sesuai dengan syarat parameter linieritas yaitu lebih besar dari 0,990 (ICH, 1994).

Hasil Penentuan Akurasi

Akurasi merupakan kedekatan hasil uji antara hasil yang diperoleh dengan nilai sebenarnya (*true value*) atau dengan nilai referensinya [8]. Penilaian akurasi berdasarkan perolehan kembali (*recovery*). Nilai *recovery* dihitung dari kadar



yang terukur atau kadar hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya dikalikan 100%. Akurasi dikatakan baik jika *recovery* berada dalam rentang 90-110%. Hasil pengukuran akurasi yang diperoleh tercantum dalam tabel 4.

Konsentrasi (ppm)	Perolehan Kembali (%)
3	106.807
3	105.404
3	104.702
9	93.614
9	94.784
9	95.018
15	99.537
15	99.677
15	99.958

Tabel 4. Hasil Pengukuran Parameter Akurasi

Nilai %PK sebesar 93,61-106,81 %, telah memenuhi batas penerimaan %PK, yaitu 90-110%. Hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan telah memenuhi syarat akurasi dengan memiliki nilai ketepatan dan ketelitian yang baik.

Hasil Penentuan Presisi

Presisi merupakan kedekatan hasil uji dengan cara memperoleh pengukuran dari berbagai contoh yang homogen dalam kondisi yang normal [8]. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Hasil pengukuran presisi yang diperoleh tercantum dalam tabel 5.

KV telah memenuhi syarat nilai keseksamaan yang diterima yaitu kurang dari 2% sehingga metode tersebut memiliki nilai keterulangan yang baik [9].

Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon yang significant dibandingkan dengan blanko. Sedangkan batas kuantitasi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih memenuhi criteria cermat dan seksama dan dapat dikuantifikasi dengan akurasi dan presisi yang baik [10]. Hasil perhitungan didapatkan batas deteksi sebesar 0,632 dan batas kuantitasi sebesar 2,104.

Penetapan Kadar Asam Salisilat

Penetapan kadar asam salisilat dalam krim anti jerawat yang beredar di pasar tradisional, swalayan dan *skin care* di Kota Bandung dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer ultraviolet yang telah dilakukan optimasi dan validasi. Kadar asam salisilat pada krim anti jerawat disajikan pada Tabel 6.

Tabel 5. Pengukuran Parameter Presisi

Konsentrasi (ppm)	Kadar (ppm)
15	14,909
15	14,931
15	14,952
15	14,931
15	14,994
15	14,973
Rata-Rata	14,948
SD	0,031
KV	0,207

Tabel 6 Kadar asam salisilat krim anti Jerawat

Sampel	Konsentrasi Sampel	Kadar Asam Salisilat dalam Sampel (%)
G	9.302	2.325
C	6.173	1.543
B	3.197	0.799
R	3.387	0.846
I	3.260	0.815

Kadar asam salisilat dalam krim anti jerawat yang beredar di pasar tradisional, swalayan dan *Skin Care* Kota Bandung berada pada rentang antara 0,799-2,325%. Sampel C, B, R dan I memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan oleh Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) yaitu tidak lebih dari 2%, sedangkan sampel G tidak memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan karena kadarnya lebih dari 2%.

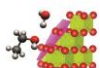
4 Kesimpulan

Kadar asam salisilat dalam krim anti jerawat krim G adalah 2,33% , C 1,54%, B 0,71%, R 0,85%, dan I 0,82% sehingga krim G tidak memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan oleh BPOM karena kadarnya lebih dari 2%.

Daftar Pustaka

- [1] Wasitaatmadja SM. Penuntun Ilmu Kosmetik Medik. Jakarta: Universitas Indonesia; 1997. 3.

- [2] Dwikarya. Merawat Kulit dan Wajah. Jakarta: Kawan Pustaka; 2003. 2.
- [3] Wyatt EL, Sutter SH, Drake L. Dermatological Pharmacology. In: The Pharmacological Basic of Therapeutic. New York: Mc Graw Hill; 2001.
- [4] Katzung BG. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi II. Jakarta: Salemba Medika; 2002. 671, 677–678.
- [5] Badan POM RI. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Tentang Metode Analisis Kosmetika. HK.03.1. 23.08.11. 07331 Indonesia; 2011.
- [6] Gandjar GH, Rohman A. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2012. 463–466.
- [7] Tetrasari H. Validasi Metode Analisis. Jakarta: Pusat Pengkajian Obat dan Makanan BPOM; 2003.
- [8] Chan CC, Lam H, Lee YC, Zhang XM. Analitical Method Validation and Instrument Performance Verification. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.; 2004.
- [9] Harmita H. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Maj Ilmu Kefarmasian*. 2004. 1(3):117–35. <http://dx.doi.org/10.7454/psr.v1i3.3375>
- [10] ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation Of Analytical Procedures. Text and Methodology Q2 (RI). *Int Conf Harmon*. 1994. 2(1):6.



PENETAPAN KADAR ASAM SALISILAT PADA PEMBERSIH WAJAH (*FACIAL FOAM*) YANG DI JUAL DI PASAR TENGAH BANDAR LAMPUNG DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBLE

DETERMINATION OF CONTENT IN CLEANING FACE SALICYLIC ACID (FACIAL FOAM) THE SALE IN THE CENTRAL MARKET BANDAR LAMPUNG USING UV - VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

Nofita¹, Gusti Ayu Rai Saputri¹, Atika Septiani²

ABSTRACT

Facial cleanser (Facial foam) soap texture is smooth . The main function for cleaning dirt (dust , residual cosmetics) other functions depending on the variant and brands (nothing to reduce oil , brightening , anti-acne , and others) . One of the compounds that are often added to the facial foam is salicylic acid . Salicylic acid is an anti acne once keratolytic commonly administered topically . Based on the decision of Chief Regulatory Agency for Drugs and Food of the Republic of Indonesia Year 2010 No.HK.00.05.42.1018 about cosmetics , salicylic acid used in cosmetics with maximum levels of ≤ 2 % . Has done extensive research on the assay of salicylic acid cleanser (facial foam) that are sold at Central Market Bandar Lampung with UV - Vis spectrophotometry method . The number of samples in this study were five samples , with criteria facial cleanser (facial foam) which do not include levels of salicylic acid in cosmetics facial cleanser . Research salicylic acid assay using UV - Vis spectrophotometry at a wavelength of 533 nm . From the results, the average level : A gets an average grade of 0.014 % , the sample B gets the average level of 0.0097 % , the sample C gets the average level of 0.0042 % , the sample D gets the average level 0 , 0058 % , and samples E gets the average level of 0.0016 % . These five samples are still eligible licensing regulations Head of National Agency of Drug and Food of the Republic of Indonesia No.HK.00.05.42.1018 Year 2010.

Keywords : Salicylic Acid , Cleansing (Facial Foam) , UV - VIS spectrophotometry

ABSTRAK

Pembersih wajah (*Facial foam*) adalah sabun muka yang teksturnya halus. Fungsi utama untuk membersihkan kotoran (debu, sisa kosmetik) fungsi lainnya tergantung varian dan merk (ada yang untuk mengurangi minyak, mencerahkan, anti jerawat, dan lain-lain). Salah satu senyawa yang sering ditambahkan ke dalam *facial foam* adalah asam salisilat. Asam salisilat merupakan zat *anti acne* sekaligus keratolitik yang lazim diberikan secara topikal. Berdasarkan keputusan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.HK.00.05.42.1018 Tahun 2010 tentang kosmetik, asam salisilat dipergunakan dalam kosmetik dengan kadar maksimum $\leq 2\%$. Telah dilakukan penelitian penetapan kadar asam salisilat pada pembersih wajah (*facial foam*) yang di jual di Pasar Tengah Bandar Lampung dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah lima sampel, dengan kriteria pembersih wajah (*facial foam*) yang tidak mencantumkan kadar asam salisilat pada produk kosmetika pembersih wajah tersebut. Penelitian penetapan kadar asam salisilat menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 533 nm. Dari hasil penelitian didapatkan kadar rata-rata : A mendapat kadar rata-rata 0,014 % , sampel B mendapat kadar rata-rata 0,0097 % , sampel C mendapat kadar rata-rata 0,0042 % , sampel D mendapat kadar rata-rata 0,0058 % , dan sampel E mendapat kadar rata-rata 0,0016 % . Kelima sampel tersebut masih memenuhi syarat perizinan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.HK.00.05.42.1018 Tahun 2010.

Kata Kunci : Asam Salisilat, Pembersih Wajah (Facial Foam), Spektrofotometri UV-VIS

-
- 1) Dosen Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati
 - 2) Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia Lampung

PENDAHULUAN

Kosmetika berasal dari kata kosmein (Yunani) yang berarti "berhias". Bahan yang dipakai dalam usaha untuk mempercantik diri ini, dahulu diramu dari bahan-bahan alami yang terdapat disekitarnya. Sekarang kosmetik dibuat manusia tidak hanya dari bahan alami tetapi juga bahan buatan untuk maksud meningkatkan kecantikan [18].

Tidak dapat dipungkiri lagi bahwa produk kosmetik sangat diperlukan oleh manusia, baik laki-laki maupun perempuan, sejak lahir hingga saat meninggalkan dunia. Produk-produk itu dipakai secara berulang setiap hari dan di seluruh tubuh, mulai dari rambut sampai ujung kaki. Salah satu contoh produk kosmetika untuk perawatan kulit yang sering digunakan oleh masyarakat untuk membersihkan wajah yaitu sabun pembersih wajah (*facial foam*).

Pembersih wajah adalah sabun pembersih wajah yang merupakan salah satu jenis *skin care* untuk mengangkat sisa kotoran dan debu yang menempel pada kulit. *Pembersih wajah* berfungsi membersihkan, dan menyegarkan. yang sering ditambahkan yaitu asam salisilat [16].

Asam salisilat merupakan zat anti *acne* sekaligus keratolitik yang lazim diberikan secara topikal dan juga dapat digunakan sebagai antiseptik. Penggunaannya dalam kosmetika sebagai anti *acne* atau keratolitik (*peeling*) merupakan usaha untuk meningkatkan kemampuan kosmetik tersebut yaitu akan mengurangi ketebalan interseluler dan menyebabkan desintegrasi dan pengelupasan kulit [18].

Asam salisilat dengan dosis yang tepat dapat memberikan efek terapeutik yang diinginkan, namun pada penggunaannya secara terus-menerus dapat menyebabkan kerusakan pada kulit [1].

Berdasarkan perizinan Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI) Nomor HK.00.05.42.1018 tahun 2010 tentang Daftar Bahan Yang Diizinkan Digunakan Dalam Kosmetik dengan Pembatasan dan Persyaratan Penggunaan asam salisilat yang diizinkan dalam produk kosmetika yaitu tidak lebih dari 2%. Apabila kadar asam salisilat yang terkandung dalam *facial foam* lebih dari 2% akan mengakibatkan iritasi lokal, peradangan akut, bahkan ulserasi.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Nasution.A (2012) didapatkan hasil penelitian penetapan kadar asam salisilat dalam produk bedak padat secara Spektrofotometri UV-Vis memenuhi syarat yaitu 0,1033%, 0,2051% dan 0,1840%. Jadi, berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian selanjutnya pada sampel pembersih wajah (*facial foam*) yang dijual di daerah Pasar Tengah Bandar Lampung dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Lokasi ini dipilih karena tempatnya strategis, dilingkungan yang ramai, dan mudah dijangkau serta pada penjualan pembersih wajah (*facial foam*) tersebut tidak mencantumkan kadar asam salisilat yang telah ditetapkan oleh Badan Pengawasan Obat dan Makanan yaitu tidak lebih dari 2% , dikhawatirkan kadar asam salisilat yang terkandung pada sampel lebih dari 2%.

Penggunaan metode Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode penetapan kadar yang memiliki sensitivitas yang tinggi dan dapat memberikan hasil yang akurat. Prinsip kerja dari instrumentasi Spektrofotometri UV-Vis ini adalah pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan yang memiliki gugus kromofor pada panjang gelombang spesifik dengan

monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube [19].

Metode Spektrofotometri UV-Visible termasuk metode *instrument*. Kelebihan dari metode ini adalah memiliki sensitivitas tinggi dan memberikan hasil yang akurat, proses pengerjaannya lebih cepat dan bisa untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Senyawa yang dapat dianalisis yaitu senyawa yang memiliki gugus kromofor [17].

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2016

Penelitian dilakukan di laboratorium Biokimia Universitas Malahayati, Jl. Pramuka No.27, Kemiling, Bandar Lampung 35153. Populasi penelitian ini adalah pada sampel pembersih wajah (*facial foam*) yang dijual di Pasar Tengah Bandar Lampung. Sampel diambil dari 5 merk dagang yang berbeda dari beberapa penjual kaki lima di Pasar Tengah Bandar Lampung. Kriteria sampel yaitu pembersih wajah (*facial foam*) yang terdapat asam salisilat pada komposisinya, tetapi tidak mencantumkan kadar asam salisilat pada produk kosmetika pembersih wajah tersebut. Kosmetika tersebut merupakan kosmetika yang mengandung acne tanpa whitening.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, baku asam salisilat murni, methanol, etanol 96%, FeCl₃ 1% dalam HCl 1%, dan sampel pembersih wajah.

Prosedur Kerja

1. Pembuatan Larutan Stok

- Ditimbang 20,0 mg asam salisilat murni sebagai bahan perbandingan.
- Dimasukkan dalam labu takar 50,0 ml, larutkan dalam 1 ml metanol.

- Ditambah aquadest sampai tanda.

2. Penentuan *Operating Time*

- Dipipet 5,0 ml larutan stok ke dalam labu takar 50 ml.
- Ditambah 5,0 ml FeCl₃ 1% dalam HCl 1%, tambah aquadest sampai tanda.
- Disiapkan blanko.
 - Dipipet 1,0 ml metanol dimasukkan dalam labu takar 50 ml. Ditambah aquadest sampai tanda (larutan blanko)
- Diukur transmittansi setelah 1 menit, 2 menit, 3 menit sampai 30 menit (sampai didapat larutan stabil) dan dikonversikan ke bentuk absorbansi.

3. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

- Masukkan 5,0 ml larutan stok ke dalam labu takar 50 ml, tambahkan FeCl₃ 1% dalam HCl 1%
- Tambah aquadest sampai tanda.
- Dengan menggunakan blanko, ukur transmittansinya dengan panjang gelombang 400 nm sampai 600 nm.
- Dihitung koefisien kelerasannya.
- Buat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang.
- Ditentukan persamaan regresi dan dibuat garis regresinya.

4. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Asam Salisilat

- Disiapkan 5 buah labu takar 50 ml
- Dipipet larutan stok asam salisilat masing-masing 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml; 6,0 ml; ke dalam labu takar 50 ml sehingga didapatkan larutan

- seri standar dengan konsentrasi 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm. Disiapkan blanko
- Kedalam labu takar masing-masing labu takar ditambah 5,0 ml FeCl_3 1% dalam HCl 1% kemudian tambah aquadest sampai tanda,
 - Diukur transmittan masing-masing larutan standar dengan menggunakan data panjang gelombang maksimum dan *operating time* yang telah ditentukan.
 - Diukur transmittan dan dikonversikan ke bentuk absorbansi.

5. Penetapan Kadar Sampel

Disiapkan sampel A,B,C,D dan E dalam pembersih wajah (*facial foam*) dan setiap sampel dilakukan 2 kali penetapan kadar dengan perlakuan sebagai berikut :

- Ditimbang sejumlah cuplikan setara dengan 20,0 mg asam salisilat.
- Dimasukkan dalam labu takar 50 ml dilarutkan dengan 5 ml metanol dan ditambah aquadest sampai tanda.
- Homogenkan, kemudian disaring dan ditampung filtratnya.
- Dipipet 2,0 ml filtrat dimasukkan dalam labu takar 50 ml.
- Dipipet 5,0 ml FeCl_3 1% dalam HCl 1% ditambah aquadest sampai tanda.
- Disiapkan blanko

- Diukur transmittan sampel dengan *operating time* dan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan dan konversikan ke absorbansi.

Analisa Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Untuk menentukan kadar asam salisilat harus dibuat persamaan kurva regresi dari larutan standar, kemudian data absorbansi sampel dimasukkan dalam persamaan sehingga diperoleh kadar sampel.

Dengan menggunakan rumus

$$y = ax + b$$

Dimana

y = absorbansi

a = slope

b = intersep

x = konsentrasi

Kadar sampel yang diperoleh (*ppm*, dikonversikan dalam satuan persentase (%)).

$$\text{Kadar asam salisilat (\%)} = \frac{X \times Fp \times Vs}{Bs} \times 100\%$$

Keterangan :

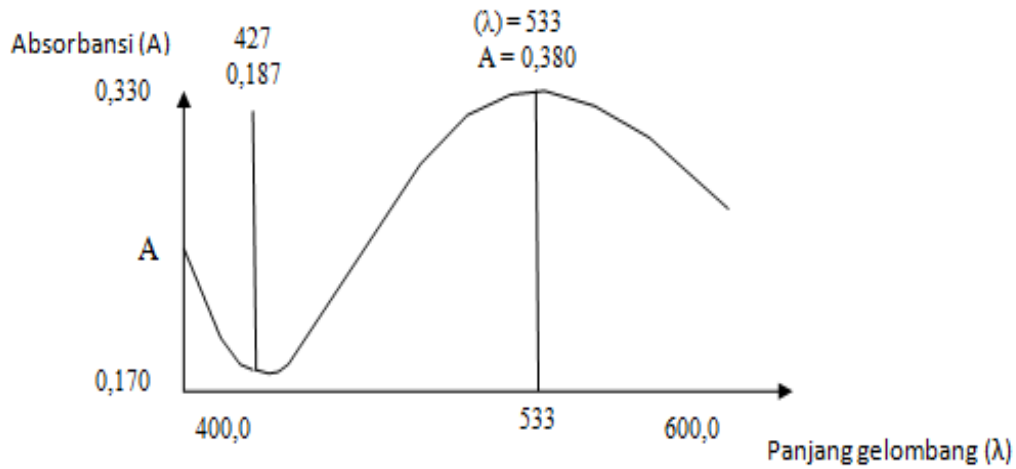
X : Konsentrasi (ppm) = mg/L

Vs : Volume larutan sampel (L)

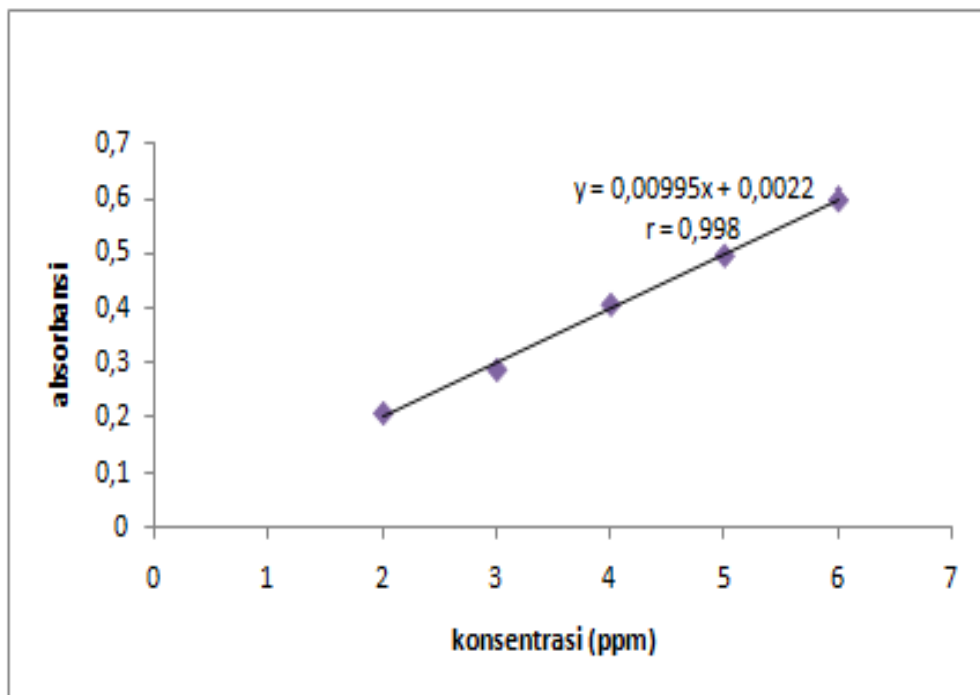
Fp : Faktor pengenceran $\frac{50}{2} = 25$

Bs : Berat sampel (mg)

Hasil Penelitian
a. Uji Kuantitatif



Gambar 4.
 Kurva Panjang Gelombang Maksimum Asam Salisilat



Gambar 5.
 Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Salisilat

Tabel 1
 Data Hasil Konsentrasi Asam Salisilat Pada Sampel

Sampel	Pengulangan	Absorban	Konsentrasi (%)	Konsentrasi ± SD (%)	Standar	Kesimpulan
A	1	0,365	2,7	2,1 %	Peraturan kepala badan	TMS
	2	0,352	2,19			
	3	0,312	1,94			
B	1	0,228	1,41	1,42 %	pengawas obat dan	MS
	2	0,213	1,32			

	3	0,247	1,42		makanan	
	1	0,102	0,62		republic	
C	2	0,109	0,67	0,63 %	indonesia	MS
	3	0,102	0,62		tahun	
	1	0,145	0,89		2010 yaitu	
D	2	0,134	0,82	0,85 %	tidak lebih	MS
	3	0,136	0,84		dari 2%	
	1	0,049	0,29			
E	2	0,051	0,3	0,28 %		MS
	3	0,045	0,26			

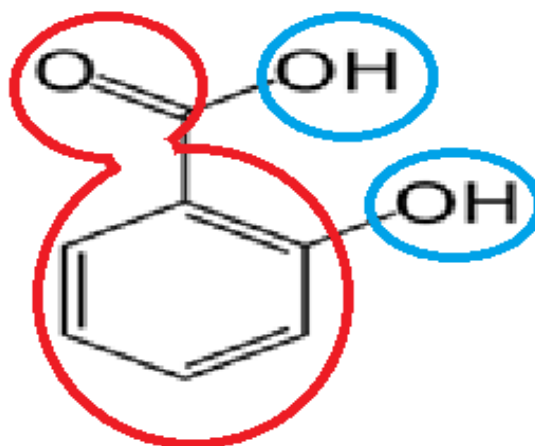
PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari beberapa pedagang kaki lima di Pasar Tengah Bandar Lampung. Sampel yang digunakan ada 5 (lima) merk dagang *facial foam* yang berbeda merk yaitu merk A, B, C, D, dan E, yang diduga mengandung asam salisilat yang melebihi persyaratan yang telah ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan yaitu tidak boleh lebih dari 2%.

Kriteria pengambilan sampel menggunakan teknik sampling yaitu

random samples (*randomsamples* secara acak sederhana) dan tidak mencantumkan berapa % kadar asam salisilat yang terkandung dalam produk *facial foam* pada kemasan.

Penentuan kadar asam salisilat menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis karena asam salisilat memiliki gugus kromofor dan ikatan rangkap sehingga bisa ditentukan kadarnya dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis.



Gambar 6.
Struktur Kimia Asam Salisilat
Sumber : Depkes RI, 1995

keterangan :

garis — : gugus kromofor

garis — : gugus auksokrom

Penetapan Kadar Asam Salisilat Pada Pembersih Wajah (*Facial Foam*) Yang Di Jual Di Pasar Tengah Bandar Lampung Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Visible

Penetapan kadar asam salisilat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Alat yang digunakan untuk mengetahui berapa kadar asam salisilat yang terkandung dalam *facial foam* adalah spektrofotometri *UV-Visible*. Dibandingkan dengan metode yang lain, metode spektrofotometri *UV-Visible* lebih spesifik, karena dapat mengukur kadar dengan skala yang lebih kecil, pengukurannya langsung terhadap contoh, kesalahan dalam pembacaan kecil, kinerjanya cepat dan pembacaannya otomatis.

Untuk menentukan kadar asam salisilat dalam *facial foam* dengan metode spektrofotometri *UV-Visible* terlebih dahulu dilakukan *operating time* karena sifat dari asam salisilat tidak stabil dalam bentuk larutan sehingga perlu dilakukan *operating time*. Penentuan *operating time* untuk menentukan waktu kestabilan reaksi yang terbentuk dalam larutan atau berapa lama reaksi tersebut dapat stabil.

Pada pengukuran *operating time* didapatkan kestabilan asam salisilat pada menit ke 30 dengan absorbansi = 0,377, dikarenakan pada menit tersebut absorbansi tidak berubah lagi sehingga diperoleh kestabilan.

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara pengukuran serapan larutan standar asam salisilat (Gambar 4). Pada pengukuran panjang gelombang, larutan standar asam salisilat memberikan serapan tertinggi pada panjang gelombang (λ) 533 nm dengan absorbansi (A) 0,380. pengukuran konsentrasi asam salisilat pada sampel dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi dapat terbentuk dengan menggunakan larutan standar yang telah dibuat pengenceran dengan konsentrasi 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm,

50 ppm, 60 ppm pada panjang gelombang (λ) 533. Berdasarkan pengukuran larutan seri konsentrasi didapatkan hasil kurva kalibrasi (Gambar 5) dengan persamaan $Y = 0,00995x + 0,0022$. Persamaan tersebut menunjukkan hubungan kelinieran antara absorbansi dengan sampel yang dimana jika semakin besar absorbansi maka semakin besar juga konsentrasinya.

Maka didapatkan nilai r dari kurva kalibrasi larutan standar asam salisilat adalah 0,998 (99,8 %). Hal ini menunjukkan bahwa dengan nilai r yang mendekati 1, hubungan linear antara X (konsentrasi asam salisilat) dan Y (absorbansi standar asam salisilat) sangat kuat dan terbentuk grafik yang linier.

Hasil dari penetapan kadar asam salisilat menunjukkan sampel A mendapat kadar rata-rata 2,1 %, sampel B mendapat kadar rata-rata 1,42 %, sampel C mendapat kadar rata-rata 0,63 %, sampel D mendapat kadar rata-rata 0,85 %, dan sampel E mendapat kadar rata-rata 0,28 %. Dari seluruh sampel kadar asam salisilat yang terkandung dalam kosmetika dalam sediaan *facial foam* memenuhi persyaratan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.HK.00.05.42.1018 tahun 2010 yaitu tidak boleh lebih dari 2 %.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, sampel kosmetik sediaan *facial foam* masih aman dipergunakan namun tidak untuk penggunaan jangka lama untuk mengurangi efek toksik asam salisilat. Karena penggunaan asam salisilat berlebih bisa mengakibatkan iritasi pada permukaan kulit dan menyebabkan efek farmakologi lainnya seperti efek keratoplastik, efek anti-pruritis, efek anti-inflamasi, efek bakteriostatik, efek fungistatik, efek tabir surya. Sehingga konsumen sebaiknya lebih memperhatikan produk kosmetik yang

akan dibeli untuk pemakaian. Terutama memperhatikan kandungan yang ada didalam sediaan kosmetika tersebut dan mencantumkan kadar % dalam komposisi. Agar keamanan dari suatu produk kosmetik tersebut terjamin.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian penetapan kadar asam salisilat pada kosmetika sediaan *facial foam* yang dijual di Pasar Tengah Bandar Lampung dengan menggunakan metode spektrofotometri *UV-Visible* dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Dari semua sampel *facial foam* kadar yang didapat dari hasil penelitian adalah sampel A mendapat kadar rata-rata 2,1%, sampel B mendapat kadar rata-rata 1,42%, sampel C mendapat kadar rata-rata 0,63%, sampel D mendapat kadar rata-rata 0,85 %, dan sampel E mendapat kadar rata-rata 0,28%.
2. Dari semua sampel *facial foam* yang diperiksa memiliki kandungan kadar senyawa asam salisilat yang masih memenuhi persyaratan peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.HK.00.05.42.1018 Tahun 2010.

SARAN

Dari hasil penelitian diatas maka disarankan :

1. Sebaiknya dalam memilih produk *facial foam*, lebih memperhatikan lagi komposisi bahan yang terkandung dalam *facial foam* yaitu kadar asam salisilatnya tidak boleh lebih dari 2 %
2. Bagi peneliti selanjutnya, dapat meneliti tentang bahan aktif lainnya seperti sulfur atau benzoyl peroksida pada sampel *facial foam*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anief, M. 1997. *Formulasi Obat Topikal Dengan Dasar Penyakit Kulit*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
2. Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI. 2010. *Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor : HK.00.05.42.1018 Tentang Daftar Bahan Yang Diizinkan/Digunakan Dalam Kosmetik Dengan Pembatasan Dan Persyaratan Republik Indonesia*. Jakarta.
3. Badan Pengawas Obat Dan Makanan. 1997. *Penetapan Kadar Asam Salisilat Dalam Krim Anti Jerawat Secara Spektrofotometri UV-Vis*. Prosedur kerja Dalam karya tulisilmiah. Dewi, 2013.
4. DepKes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
5. DepKes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
6. Nasution,A .2012. *Penetapan Kadar Asam Salisilat Dalam Kosmetika Bedak Padat Secara SpektrofotometriUV-Visible*. Jurnal Karya Tulis Ilmiah.
7. Notoatmodjo, S. 2010. *Metodelogi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta, Jakarta.
8. Tranggono, R.I.S Dan Latifah, F. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta: 6-8, 11-13, 81-83, 120.
9. Vogel. 1994. *Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Wasitaatmadja, M.S. 1997.
10. Wanibesak. 2010. *Spektrofotometri UV-Vis*
<http://wanibesak.wordpress.com/2010/11/27/Spektrofotometri-uv-/.vis-uv-vis>

Penetapan Kadar Asam Salisilat Pada Pembersih Wajah (*Facial Foam*) Yang Di Jual Di Pasar Tengah Bandar Lampung Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Visible

11. DepKes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
12. Nasution,A .2012. *Penetapan Kadar Asam Salisilat Dalam Kosmetika Bedak Padat Secara SpektrofotometriUV-Visible*. Jurnal Karya Tulis Ilmiah.
13. Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta, Jakarta.
14. Tranggono, R.I.S Dan Latifah, F. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta: 6-8, 11-13, 81-83, 120.
15. Vogel. 1994. *Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Wasitaatmadja, M.S. 1997.
16. Wanibesak. 2010. *Spektrofotometri UV-Vis*
<http://wanibesak.wordpress.com/2010/11/27/Spektrofotometri-uv-/.vis-uv-vis>

DETERMINATION OF SALICYLIC ACID'S LEVEL IN ACNE CREAM WHICH SOLD IN KEMILING USING SPEKTROFOTOMETRY UV VIS**PENETAPAN KADAR ASAM SALISILAT PADA KRIM WAJAH ANTI JERAWAT YANG DIJUAL BEBAS DI DAERAH KEMILING MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS****Niken Feladita¹, Agustina Retnaningsih¹, Puji Susanto¹**

Email : nkn.1202@gmail.com

ABSTRACT

Anti-acne cream was one of the cosmetics that can affect the structure of the skin. One of the compounds that was often added to the anti acne cream is salicylic acid as anti-acne substance and was keratolytic. Based on the Decree of the Regulation of the Regulatory Agency of Drug and Food of the Republic of Indonesia No.HK.00.05.42.1018 of 2010 concerning cosmetics, salicylic acid was allowed to be used in cosmetics provided that not more than 2%. The research has been done to determine the level of salicylic acid in anti acne cream sold in Kemiling Bandar Lampung area by UV-Visible Spectrofotometry method in order to know the level of salicylic acid contained in anti acne cream. The number of samples in this study were three samples with sample criteria was anti acne cream containing salicylic acid, facial cream, cream that does not include salicylic acid levels. Research on determination of salicylic acid level using UV-Visible Spectrophotometric method at 532 nm wavelength. From the research result, the average of salicylic acid level in sample A is 0,05% ± SD 0, sample B is 0,05% ± SD 0, and sample C is 0,04% ± SD 0, in conclusion no one of that samples has salicylic acid's level more than 2%.

Keywords: Salicylic Acid, Anti Acne Cream (Anti Acne), UV-VIS Spectrophotometry

ABSTRAK

Krim anti jerawat merupakan salah satu kosmetik yang dapat mempengaruhi struktur kulit. Salah satu senyawa yang sering ditambahkan ke dalam krim anti jerawat adalah asam salisilat zat anti akne dan bersifat keratolitik. Berdasarkan keputusan Peraturan Kepala Badan pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.HK.00.05.42.1018 Tahun 2010 tentang kosmetik, asam salisilat diizinkan digunakan dalam kosmetik dengan syarat tidak lebih dari 2%. Telah dilakukan penelitian penetapan kadar asam salisilat pada krim anti jerawat yang dijual di daerah Kemiling Bandar Lampung dengan metode Spektrofotometri UV-Visible dengan tujuan untuk mengetahui kadar asam salisilat yang terdapat dalam krim anti jerawat. Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah tiga sampel dengan kriteria sampel yaitu krim anti jerawat yang mengandung asam salisilat, krim wajah, krim yang tidak mencantumkan kadar asam salisilat. Penelitian penetapan kadar asam salisilat menggunakan metode Spektrofotometri UV-Visible pada panjang gelombang 532 nm. Dari hasil penelitian didapatkan rata-rata kadar asam salisilat pada sampel A yaitu 0,05% ± SD 0, sampel B yaitu 0,05% ± SD 0, dan sampel C yaitu 0,04% ± SD 0.

Kata Kunci : Asam Salisilat, Krim Anti Jerawat (Anti Acne), Spektrofotometri UV- VIS

PENDAHULUAN

Kosmetik berasal dari kata kosmein (Yunani) yang berarti "berhias". Bahan yang di pakai dalam usaha untuk mempercantik diri ini, dahulu diramudari bahan-bahan alami yang

terdapat disekitarnya. Sekarang kosmetik dibuat manusia tidak hanya dari bahan alami tetapi juga bahan buatan untuk maksud meningkatkankecantikan ⁽¹¹⁾.

1) Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Lampung

Tidak dapat dipungkiri lagi bahwa produk kosmetik sangat diperlukan oleh manusia, baik laki-laki maupun perempuan, sejak lahir hingga saat meninggalkan dunia. Produk-produk itu dipakai secara berulang setiap hari dan di seluruh tubuh., mulai dari rambut sampai ujung kaki. Salah satu contoh produk kosmetik untuk perawatan kulit yang sering digunakan oleh masyarakat untuk membersihkan wajah yaitu krim anti jerawat (anti acne). Kandungan anti jerawat memiliki bahan aktif yang lazim yaitu tretionin, benzoil peroksida, sulfur, resorsin, adapalene, asam salisilat, dan antibiotik.

Asam salisilat merupakan bahan keratolitik tertua. Memiliki efek keratolitik, bahan ini juga memiliki anti inflamasi, analgesik, bakterostatik, fungistatik, dan tabir surya. Asam salisilat telah teruji dalam terapi berbagai penyakit kulit dan kerusakan kulit akibat sinar matahari⁽⁷⁾.

Dilakukanlah pembatasan untuk kosmetik medik terbatas pada penggunaan zat yang menguntungkan atau memberikan manfaat pada kulit badan si pemakai. Untuk tujuan tersebut dilakukan pemilihan bahan aktif dan pembatasan kadarnya bila dimasukkan dalam kosmetik medik, diantaranya adalah asam salisilat tidak lebih dari 2%, sulfur tidak lebih dari 3%, estrogen tidak lebih dari 1000 iu/ounce. Namun betapapun rendahnya dosis yang dipakai penggunaan kosmetik medik ini masih selalu harus diperhitungkan karena besarnya dosis kumulatif yang di absorpsi kulit pada pemakaian kosmetik yang terus-menerus, tidak dapat diperkirakan. Ada bahan kosmetik yang sudah dapat diterima sebagai bahan yang aman bagi kosmetika, sebagian lagi masih dianggap perlu perhatian dan diberikan pembatasan pemakaiannya dan sebagian lagi dilarang⁽¹¹⁾.

Berdasarkan perizinan Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI) Nomor HK.00.05.42.1018 tahun 2010 tentang Daftar Bahan Yang Diizinkan Digunakan Dalam Kosmetik dengan Pembatasan dan Persyaratan Penggunaan asam salisilat yang diizinkan dalam produk kosmetika yaitu tidak lebih dari 2%.

Apabila kadar asam salisilat yang terkandung dalam krim anti acne lebih dari 2% akan mengakibatkan iritasi lokal, peradangan akut, bahkan ulserasi.

Manfaat dan mekanisme kerja asam salisilat topikal, berbagai penelitian menyimpulkan terdapat tiga faktor yang berperan penting pada mekanisme keratolitik asam salisilat, yaitu menurunkan ikatan korneosit, melarutkan semen interselular, dan melonggarkan serta mendisintegrasi korneosit. Asam salisilat bekerja sebagai pelarut organik dan menghilangkan ikatan kovalen lipid interselular yang berikatan dengan cornified envelope di sekitar keratinosit. Mekanisme kerja zat ini adalah pemecahan struktur desmosom yang menyebabkan disintegrasi ikatan antar sel korneosit⁽⁷⁾.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Septiani (2016) didapatkan hasil penelitian penetapan kadar asam salisilat dalam produk pembersih wajah secara spektrofotometri UV-Vis dari 5 sampel yaitu sampel A 2,1%, B 1,42%, C 0,63%, D 0,85%, dan E 0,28. Sampel yang tidak memenuhi syarat sampel A yaitu 2,1%. Jadi, berdasarkan uraian diatas, penulis tertarik untuk melakukan penelitian selanjutnya pada sampel krim anti jerawat (anti acne) yang dijual bebas di pasaran daerah Kemiling Bandar Lampung namun penulis menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Karena krim anti jerawat yang mudah dijangkau serta penjualan krim anti jerawat (anti acne) tersebut tidak mencantumkan kadar asam salisilat yang telah ditetapkan oleh Badan Pengawasan Obat dan Makanan yaitu tidak lebih dari 2%, dikhawatirkan kadar asam salisilat yang terkandung pada sampel lebih dari 2%⁽⁶⁾.

Penggunaan metode Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode penetapan kadar yang memiliki sensitivitas yang tinggi dan dapat memberikan hasil yang akurat. Prinsip kerjanya instrumentasi Spektrofotometri UV-Vis ini adalah pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu laju larutan yang memiliki gugus kromofor pada panjang gelombang spesifik dengan

monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube.

Metode Spektrofotometri UV-Visible termasuk metode instrument. Kelebihan dari metode ini adalah memiliki sensitivitas tinggi dan memberikan hasil yang akurat, proses pengerjaannya lebih cepat dan bisa untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Senyawa yang dapat dianalisis yaitu senyawa yang memiliki gugus kromofor⁽⁹⁾.

Alasan pengambilan sampel di daerah Kemiling karena dari survei pendahuluan menunjukkan banyak beredar krim wajah anti jerawat dan permintaan akan krim wajah anti jerawat yang meningkat.

METODOLOGI PENELITIAN

Populasi

Populasi penelitian ini adalah pada sampel krim anti jerawat bermerk yang dijual bebas di pasaran daerah Kemiling Bandar Lampung.

Sampel

Sampel diambil dari 3 merk krim yang berbeda dari beberapa penjual bebas di daerah Kemiling Bandar Lampung.

Prosedur Penelitian

Penetapan Kadar Asam Salisilat dalam krim anti jerawat secara Spektrofotometri UV-Vis

1. Pembuatan Larutan Stok (400 ppm)
Ditimbang 10,0 mg asam salisilat sebagai bahan pembanding. Dimasukkan dalam labu takar 25,0 ml, larutkan dalam 2,5 ml metanol. Ditambah aquadest sampai tanda.
2. Penentuan operating time
Dipipet 1,0 ml larutan stok ke dalam labu takar 10 ml. Ditambah 1,0 ml FeCl₃ 1% dalam HCl 1%, tambah aquadest sampai tanda.
 - a. Pembuatan blanko.
 - 1) Dipipet 1,0 ml metanol dimasukkan dalam labu takar 10 ml, ditambah aquadest sampai tanda (larutan blanko).
 - 2) Dipipet 1,0 ml larutan blanko dimasukkan dalam labu takar 10 ml.
 - 3) Ditambah 1,0 ml FeCl₃ 1% dalam HCl 1%.
 - 4) Ditambah aquadest sampai tanda.
 - b. Diukur transmittansi setelah 1 menit, 2 menit, 3 menit sampai 20 menit (sampai didapat larutan stabil) dan dikonversikan ke bentuk absorban.
3. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum (400 ppm)
 - a. Masukkan 1,0 ml larutan stok ke dalam labu takar 10 ml, tambahkan aquadest sampai tanda.
 - b. Dengan menggunakan blanko, ukur transmittansinya dengan panjang gelombang 400 nm sampai 600 nm.
4. Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Asam Salisilat
 - a. Disiapkan 5 buah labu takar 10 ml.
 - b. Dipipet larutan stok asam salisilat masing-masing 0,5 ml; 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml; 2,5 ml; ke dalam labu takar 10 ml sehingga didapatkan larutan seri standar dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm.
 - c. Disiapkan blanko.
 - d. Ke dalam labu takar masing-masing labu takar ditambah 1,0 ml FeCl₃ 1% dalam HCl 1% kemudian tambah aquadest sampai tanda.
 - e. Diukur transmittansi masing-masing dengan menggunakan data panjang gelombang maksimum dan operating time yang telah ditentukan.
 - f. Diukur transmittansi dan dikonversikan ke bentuk absorban.
5. Penetapan Kadar Sampel
Disiapkan sampel A, B, dan C dalam krim anti jerawat (anti acne) dan setiap sampel dilakukan 3 kali penetapan kadar dengan perlakuan sebagai berikut:
 - a. Pengukuran absorban sampel
Ditimbang sejumlah cuplikan 1 gram asam salisilat. Dimasukkan dalam labu takar 50 ml dilarutkan dengan 5 ml metanol dan ditambah aquadest sampai

tanda. Homogenkan, kemudian disaring dan ditampung filtratnya. Dipipet 2,0 ml filtrat dimasukkan dalam labu takar 50 ml. Dipipet 5,0 ml FeCl₃ 1% dalam HCL 1% ditambah aquadest sampai tanda.

b. Pengukuran absorban blangko Diukur transmittan sampel dengan operating time dan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan dan konversikan ke absorban.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Kualitatif

Tabel 1.
Data Hasil Identifikasi Sampel Secara Reaksi Warna

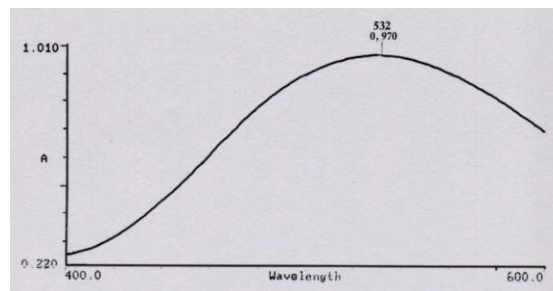
No Sampel	Pereaksi	Hasil pengamatan	Standar	Keterangan
1	A+FeCl ₃	Larutan ungu	Farma kope Indon esia Depkes	Positif
2	B+FeCl ₃	Larutan ungu	RI 1995 terbentuk warna ungu	Positif
3	C+FeCl ₃	Larutan ungu		Positif

Kontrol positif : Asam salisilat yang dilarutkan + FeCl₃ Lp terbentuk larutan ungu

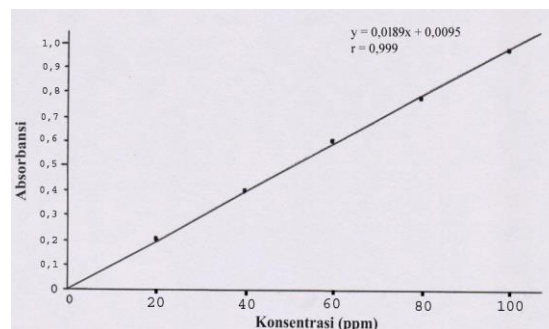
Uji Kuantitatif

Tabel 2.
Data Hasil Operating Time

Menit ke	Absorbansi	Menit ke	Absorbansi
1	0,300	11	0,300
2	0,300	12	0,300
3	0,300	13	0,300
4	0,300	14	0,300
5	0,300	15	0,300
6	0,300	16	0,300
7	0,300	17	0,300
8	0,300	18	0,300
9	0,300	19	0,300
10	0,300	20	0,300



Gambar 1.
Kurva Panjang Gelombang Maksimum Asam Salisilat



Gambar 2.

Kurva Kalibrasi Larutan Standar Asam Salisilat

Tabel 3.
Data Hasil Konsentrasi Asam Salisilat Pada Sampel

Sampel	Pengulangan	Absorban	Kadar (%)	Kadar Rata-rata (%)	Kesimpulan
A	1	0,446	0,05	0,05 ±0	MS
	2	0,444	0,05		
	3	0,443	0,05		
B	1	0,469	0,05	0,05 ±0	MS
	2	0,471	0,05		
	3	0,477	0,05		
C	1	0,350	0,04	0,05 ±0	MS
	2	0,348	0,04		
	3	0,346	0,04		

Keterangan :

MS = Memenuhi Syarat Standar : Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI tahun 2010 yaitu tidak lebih dari 2%.

PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari beberapa pedagang yang berada di daerah Kemiling Bandar Lampung. Sampel yang digunakan ada 3 (tiga) merk dagang anti acne yang berbeda yaitu merk A, B, dan C, yang diduga mengandung asam salisilat melebihi persyaratan yang telah ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan yaitu tidak boleh lebih dari 2%.

Kriteria pengambilan sampel menggunakan teknik sampling yaitu purposive sampling yaitu dengan kriteria yang tidak mencantumkan berapa % kadar asam salisilat yang terkandung dalam produk krim anti jerawat (anti acne) pada kemasan.

Penentuan kadar asam salisilat dapat dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis karena asam salisilat memiliki gugus kromofor dan ikatan rangkap sehingga bisa ditentukan kadarnya dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis.

Penetapan kadar asam salisilat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Alat yang digunakan untuk mengetahui berapa kadar asam salisilat yang terkandung dalam krim anti jerawat (anti acne) adalah spektrofotometri UV-Visible. Dibandingkan dengan metode yang lain, metode spektrofotometri UV-Visible

lebih spesifik, karena dapat mengukur kadar dengan skala yang lebih kecil, pengukurannya langsung terhadap contoh, kesalahan dalam pembacaan kecil, kinerjanya cepat dan pembacaannya otomatis. Untuk menentukan kadar asam salisilat dalam anti acne dengan metode spektrofotometri UV-Visible terlebih dahulu dilakukan operating time karena sifat dari asam salisilat tidak stabil dalam bentuk larutan sehingga perlu dilakukan operating time. Penentuan operating time untuk menentukan waktu kestabilan reaksi yang terbentuk dalam larutan atau berapa lama reaksi tersebut dapat stabil.

Pada pengukuran operating time didapatkan kestabilan asam salisilat pada menit ke 20 dengan absorbansi = 0,300, dikarenakan pada menit tersebut absorbansi tidak berubah lagi sehingga diperoleh kestabilan.

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara pengukuran serapan larutan standar asam salisilat (Gambar 6). Pada pengukuran panjang gelombang, larutan standar asam salisilat memberikan serapan tertinggi pada panjang gelombang (λ) 532 nm dengan absorbansi (A) 0,970.

Alasan mengapa harus menggunakan panjang gelombang maksimum. Pada panjang gelombang maksimal kepekaannya juga maksimal

karena pada panjang gelombang maksimal tersebut, berubah absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar, di sekitar panjang gelombang maksimal bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi, jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali.

Pengukuran konsentrasi asam salisilat pada sampel dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi dapat terbentuk dengan menggunakan larutan standar yang telah dibuat pengenceran dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm pada panjang gelombang (λ) 532. Berdasarkan pengukuran larutan seri konsentrasi didapatkan hasil kurva kalibrasi (Gambar 7) dengan persamaan $Y = 0,0095x + 0,0189$. Persamaan tersebut menunjukkan hubungan kelinieran antara absorbansi dengan sampel yang dimana jika semakin besar absorbansi maka semakin besar juga konsentrasinya.

Maka didapatkan nilai r dari kurva kalibrasi larutan standar asam salisilat adalah 0,999 (99,9%). Hal ini menunjukkan bahwa dengan nilai r yang mendekati 1, hubungan linear antara X (konsentrasi asam salisilat) dan Y (absorbansi standar asam salisilat) sangat kuat dan terbentuk grafik yang linier.

Hasil dari penetapan kadar asam salisilat menunjukkan sampel A mendapat kadar rata-rata 0,05%, sampel B mendapat kadar rata-rata 0,05%, dan sampel C mendapat kadar rata-rata 0,04%. Dari seluruh sampel kadar asam salisilat yang terkandung dalam kosmetika dalam sediaan krim anti jerawat (anti acne) tidak memenuhi persyaratan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.HK.00.05.42.1018 tahun 2010 yaitu tidak boleh lebih dari 2%.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, sampel kosmetik sediaan krim anti jerawat (anti acne) aman digunakan. Efek penggunaan asam salisilat berlebih bisa mengakibatkan iritasi pada permukaan kulit dan menyebabkan efek farmakologi lainnya

seperti efek keratoplastik, efek anti-pruritis, efek anti-inflamasi, efek bakteriostatik, efek fungistatik, efek tabir surya. Sehingga konsumen sebaiknya lebih memperhatikan produk kosmetik yang akan dibeli untuk pemakaian. Terutama memperhatikan kandungan yang ada didalam sediaan kosmetika tersebut dan mencantumkan kadar % dalam komposisi. Agar keamanan dari suatu produk kosmetik tersebut terjamin.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian penetapan kadar asam salisilat pada kosmetika sediaan krim anti jerawat (anti acne) yang dijual bebas di daerah Kemiling Bandar Lampung dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Visible dapat disimpulkan sebagai berikut :

H_0 diterima dan H_a ditolak karena Dari semua sampel krim anti jerawat (anti acne) kadar yang didapat dari hasil penelitian adalah sampel A mendapat kadar rata-rata 0,05% \pm SD 0, sampel B mendapat kadar rata-rata 0,05% \pm SD 0, dan sampel C mendapat kadar rata-rata 0,04% \pm SD 0.

Dari semua sampel krim anti jerawat (anti acne) yang diperiksa memiliki kandungan kadar senyawa asam salisilat yang memenuhi persyaratan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No.HK.00.05.42.1018 Tahun 2010 yaitu tidak lebih dari 2%.

SARAN

Dari hasil penelitian diatas maka disarankan yaitu Sebaiknya dalam memilih produk krim anti jerawat (anti acne), lebih memperhatikan lagi komposisi bahan yang terkandung dalam krim anti jerawat (anti acne) yaitu kadar asam salisilatnya tidak boleh lebih dari 2%. Bagi peneliti selanjutnya, dapat meneliti tentang bahan aktif lainnya seperti sulfur atau benzoyl peroksida pada sampel krim anti jerawat (anti acne).

DAFTAR PUSTAKA

1. Anief, M. 1997. *Formulasi Obat Topikal Dengan Dasar Penyakit Kulit*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

2. Badan Pengawas Obat Dan Makanan RI. 2010. *Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor :HK.00.05.42.1018 Tentang Daftar Bahan Yang Diizinkan/Digunakan Dalam Kosmetik Dengan Pembatasan Dan Persyaratan Republik Indonesia*. Jakarta.
3. Eswin, 2014. Penetapan Kadar Betametason Dalam Krim Betason N Produksi PT. Kimia Persero Tbk. Plant Medan Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Karya Tulis Ilmiah* Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara
4. Gandjar, I.G; Rohman, A, 2012. *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
5. Katzung, B. G. 2004. *Farmakologi Klinik dan Terapi*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
6. Septiani, A. 2012. Penetapan Kadar Asam Salisilat Pada Pembersih Wajah Yang Dijual Bebas Di Pasar Tengah Bandar Lampung Dengan Metode Spektrofotometri Visible. *Karya Tulis Ilmiah* Akafarma Putra Indonesia Lampung
7. Sulistyaningrum, S. K. Hanny, N. Evita, H. Ei. 2012. Penggunaan Asam Salisilat Dalam Dermatologi. *J Indon Med Assoc, Volum: 62, Nomor 7 Juli 2014*.
8. Tranggono, R.I.S Dan Latifah, F. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta: 6-8, 11-13, 81- 83, 120.
9. Vogel. 1994. *Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
10. Watson, GS. 2005. *Analisis Farmasi*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
11. Wasitaatmadja, M.S. 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. UI Press Jakarta DE.

Analysis of salicylic acid, arbutin and corticosteroids in skin whitening creams available in Pakistan using chromatographic techniques

Aima Shams, Islam Ullah Khan and Haffsah Iqbal

Department of Chemistry, Government College University, Lahore 54000, Pakistan

Received 11 October 2015, Accepted 3 February 2016

Keywords: corticosteroids, HPLC-PDA, skin whitening creams

Abstract

BACKGROUND: A simple, new and efficient reversed-phase high-performance liquid chromatography method was developed and validated for the separation of most popular ingredients in skin whitening creams.

METHODS: For RP-HPLC analysis, a Hibar® C₁₈ 250 mm × 4.6 mm, 5 μm column (Merck Millipore, Carolina, USA) as stationary phase with a mobile phase consisting a mixture of acetonitrile, methanol and water 40 : 40 : 20 (pH 7.0), respectively, at flow rate of 0.8 mL min⁻¹ (total run time 10 min) at room temperature was used. Detection was performed at 254 and 280 nm using photodiode array detector. The method was validated in accordance with ICH guidelines with respect to linearity, accuracy, precision, specificity, limit of detection and quantification.

RESULTS: The method results in excellent separation of skin whitening agents in cosmetic creams. The method is specific for salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate. The calibration curve of skin whitening agents was linear with the regression analysis showed $r^2 \geq 0.999$. % RSD for inter- and intraday precision were determined as 0.461 and 0.329 for salicylic acid, 0.427 and 0.317 for arbutin, 0.360 and 0.346 for cortisone, 0.336 and 0.350 for hydrocortisone, 0.463 and 0.339 for betamethasone valerate and 0.385 and 0.372 for betamethasone dipropionate, respectively. LOD and LOQ were calculated as 0.48 and 1.20 μg mL⁻¹ for salicylic acid, 0.09 and 0.22 μg mL⁻¹ for arbutin, 0.07 and 0.18 μg mL⁻¹ for cortisone, 0.06 and 0.24 μg mL⁻¹ for hydrocortisone, 0.07 and 0.20 μg mL⁻¹ for betamethasone valerate and 0.02 and 0.06 μg mL⁻¹ for betamethasone dipropionate. The recovery of skin whitening agents were 97.18% for salicylic acid, 97.99% for arbutin, 98.30% cortisone, 97.63% for hydrocortisone, 98.65% for betamethasone valerate and 98.18% for betamethasone dipropionate, respectively. According to this study, salicylic acid is present in 87.88% skin whitening creams, arbutin in 96.97%, cortisone in 60.60%, hydrocortisone in 48.48%, betamethasone valerate in 15.15% and betamethasone dipropionate present in 12.12% cosmetic creams available in Pakistan.

Résumé

CONTEXTE: Une méthode de chromatographie liquide haute performance en phase inverse simple, nouvelle et efficace a été développée et validée pour la séparation de la plupart des ingrédients populaires dans les crèmes pour blanchir la peau.

METHODES: Pour l'analyse RP-HPLC C₁₈ une colonne Hibar® 250 mm × 4,6 mm, de 5 μm (Merck Millipore, Carolina, États-Unis) en tant que phase stationnaire avec une phase mobile composée d'acétonitrile, de méthanol et d'eau (40 : 40 : 20) pH 7,00 au débit de 0,8 ml/min pendant 9 min à température ambiante a été choisie. La détection a été réalisée à 254 nm et 280 nm en utilisant un détecteur à photodiode matricielle. La méthode a été validée conformément aux directives de l'ICH par rapport à la linéarité, l'exactitude, la précision, la spécificité, la limite de détection et la quantification.

RESULTATS: La méthode résulte en une excellente séparation des agents pour blanchir la peau dans les crèmes cosmétiques. La méthode est spécifique pour l'acide salicylique, l'arbutine, la cortisone, l'hydrocortisone, le valérate de bétaméthasone et le dipropionate de bétaméthasone. Les courbes d'étalonnage d'agents de blanchiment de la peau sont linéaires, l'analyse de régression a montré $r^2 > 0,999$. % RSD pour la précision inter et intra-journalière a été déterminé que 0,461 et 0,329 pour l'acide salicylique, 0,427 et 0,317 pour l'arbutine, 0,360 et 0,346 pour la cortisone, 0,336 et 0,350 pour l'hydrocortisone, 0,463 et 0,339 pour le valérate de bétaméthasone et 0,385 et 0,372 pour le dipropionate de bétaméthasone, respectivement. Les résultats de DSR% ont été satisfaisants. LD et LQ ont été calculés comme 104,4 et 316 de l'acide salicylique, 104,4 et 316,4 pour l'arbutine, 104,4 et 316,3 pour la cortisone, 104,3 et 316,4 pour l'hydrocortisone, 104,4 et 316,3 pour le valérate de bétaméthasone et 104,4 et 316,4 pour le dipropionate de bétaméthasone. La récupération des agents de blanchiment de la peau était à 97,18% pour l'acide salicylique, 97,99% pour l'arbutine, 98,30% de la cortisone, 97,63% pour l'hydrocortisone, 98,65% pour le valérate de bétaméthasone et 98,18% pour le dipropionate de bétaméthasone, respectivement. Les crèmes pour blanchir la peau disponibles au Pakistan contiennent de l'acide salicylique à 28%, 31% arbutine, 20% de la cortisone, 12% d'hydrocortisone, 5% valérate de bétaméthasone et 4% le dipropionate de bétaméthasone.

RESULTATS: La méthode résulte en une excellente séparation des agents pour blanchir la peau dans les crèmes cosmétiques. La méthode est spécifique pour l'acide salicylique, l'arbutine, la cortisone, l'hydrocortisone, le valérate de bétaméthasone et le dipropionate de bétaméthasone. Les courbes d'étalonnage d'agents de blanchiment de la peau sont linéaires, l'analyse de régression a montré $r^2 > 0,999$. % RSD pour la précision inter et intra-journalière a été déterminé que 0,461 et 0,329 pour l'acide salicylique, 0,427 et 0,317 pour l'arbutine, 0,360 et 0,346 pour la cortisone, 0,336 et 0,350 pour l'hydrocortisone, 0,463 et 0,339 pour le valérate de bétaméthasone et 0,385 et 0,372 pour le dipropionate de bétaméthasone, respectivement. Les résultats de DSR% ont été satisfaisants. LD et LQ ont été calculés comme 104,4 et 316 de l'acide salicylique, 104,4 et 316,4 pour l'arbutine, 104,4 et 316,3 pour la cortisone, 104,3 et 316,4 pour l'hydrocortisone, 104,4 et 316,3 pour le valérate de bétaméthasone et 104,4 et 316,4 pour le dipropionate de bétaméthasone. La récupération des agents de blanchiment de la peau était à 97,18% pour l'acide salicylique, 97,99% pour l'arbutine, 98,30% de la cortisone, 97,63% pour l'hydrocortisone, 98,65% pour le valérate de bétaméthasone et 98,18% pour le dipropionate de bétaméthasone, respectivement. Les crèmes pour blanchir la peau disponibles au Pakistan contiennent de l'acide salicylique à 28%, 31% arbutine, 20% de la cortisone, 12% d'hydrocortisone, 5% valérate de bétaméthasone et 4% le dipropionate de bétaméthasone.

Introduction

In past few decades the demand of skin whitening products became inevitable. The main purpose for skin lightening products is to treat pigmentation disorder such as freckles, melisma, pregnancy marks,

Correspondence: Islam Ullah Khan, Department of Chemistry, Government College University, Lahore, 54000, Pakistan. Tel.: +92-333-4046740; e-mail: iukhan@gcu.edu.pk, iuklodhi@yahoo.com

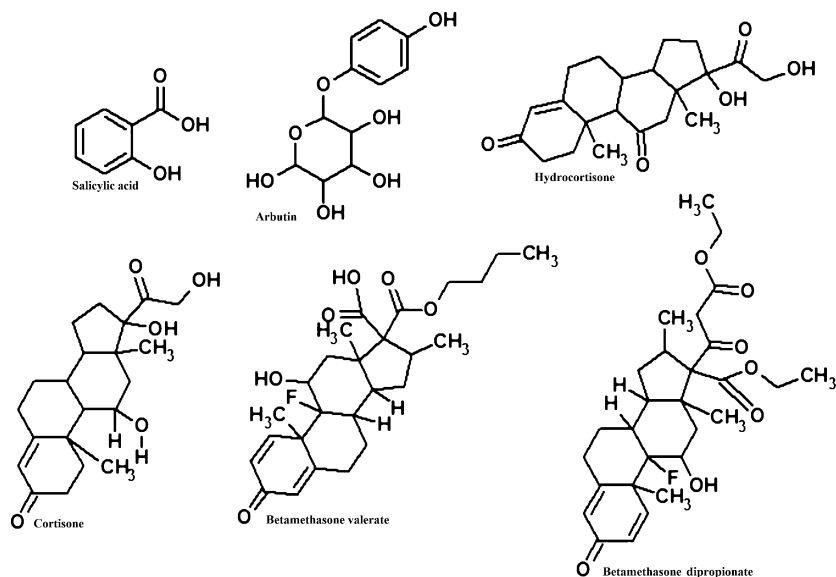


Figure 1 Structures of salicylic acid, arbutin, hydrocortisone, cortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate.

and age spots or to lighten the skin as well as to even out skin tone [1]. The most successful and effective skin whitening agents are arbutin, salicylic acid, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate. These agents are all tyrosinase inhibitors, which inactivate tyrosinase (the enzyme responsible for skin pigmentation) by chelating with its vital copper ion and suppressing atomization from dopachrome to DHICA. Normal skin colour is formed by melanin, a natural pigment that also determines hair and eye colour. In the skin, the enzyme tyrosinase biochemically converts the amino acid tyrosine into melanin. Hyperpigmentation occurs when too much melanin is produced and forms deposits in the skin. Hyperpigmentation is not a medically harmful condition. However, it is always advisable to have new brown spots checked by a dermatologist to make sure they are not skin cancers [2] (Fig. 1).

The use of skin lightening creams has become a common practice among women for cosmetics purposes. They are extensively promoted by the media, online and sometimes even by dermatologic clinics. Many years ago, their use was mainly popular among dark-skinned women in Africa. However, globally white skin has become a trend [3] despite several published studies on its adverse health effects after application for a long duration [4]. Many cases were reported that involve mercury, hydroquinone, and corticosteroids as the main active ingredients in skin lightening cosmetics used in Asia. The authors did not indicate whether this observation was based on chemical analysis of these products. Of course, the use of these products, especially for a long period, can be a significant problem for public health because such use can lead to therapeutic failure and drug resistance and could result in death [5, 6].

Skin whitening products have been employed for decades [7, 8] by photo type IV, V or VI population. Skin-bleaching causes are various and complicated and encompasses cultural, aesthetic, medical, socio-economic such as political matters [7, 9]. No doubt, these products have also found their application to treat skin diseases like

inflammatory hyperpigmentation and melasma [10, 11]. Whitening agents, including corticosteroids, hydroquinone and tretinoin may, however, provoke unwanted local effects (ochronosis, irritant dermatitis, leukoderma, post-inflammatory hyperpigmentation) and systemic toxicity (kidney and liver problems). Therefore in Europe, these substances have been placed in EU, Cosmetics Regulations (1223/2009) and are thus banned from the EU market [12]. Nevertheless regardless of this prohibition, products comprising these ingredients can still be accepted very illegitimate paths. Being aware of the fact these formulations frequently include mixtures of the above mentioned substances in combination with permitted components and penetration elevators. No one can deny the potential risk of these skin whitening agents in case of repeated and long-term exposure on human health. A collection of new agents has been established including arbutin, nicotinamide and kojic acid. Scientific Committee of Consumer Safety has evaluated these substances on committee level and has shown concerns about their safety, for example hydroquinone released by arbutin can cause problem [13, 14]. As stated by Chisvert *et al.* [8], to control market it is highly needed that this type of cosmetic products are efficiently analysed by development of performing analytical methods. Detection and quantification of hydroquinone as a single substituent is not satisfactory [15, 16]. Likewise, the method which detect merely corticosteroids or skin whitening agents such as arbutin, kojic acid, salicylic acid and nicotinamide only is not adequate [17,18].

The objective of this study is to establish and develop a RP-HPLC method to accurately analyse the skin whitening agents frequently incorporated in cosmetic creams available in Pakistan. This work safeguards and is significant for the public safety. Even though there are numerous publications describing the approximation of the bleachers in cosmetic formulations [19, 20], but no report of any simultaneous analysis method of these whiteners is present in literature. This study is associated to an analytical method, which can simultaneously analyse the hydrophilic and hydrophobic whitening agents.

Materials and methods

Standards and reagents

The reference standards such as salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone dipropionate and betamethasone valerate were 99.99% pure and were purchased from Sigma Aldrich, St. Louis, Missouri, United States. For quantitative analysis, HPLC grade acetonitrile, methanol and double distilled water were used.

Sample set of selected whitening creams

The sample set comprised of 33 skin whitening cosmetic creams, available in local market of Pakistan. All samples were taken between 2014 and 2015 from the whole sale units all over Punjab state. Sample codes are used (such as PWC, SWC) in Table VIII to ensure the confidentiality of the respective manufacturers.

Sample preparation

Samples were prepared by the procedure illustrated under: 1.0 g of each sample, accurately measured with the help of weighing balance, was diluted with 15 mL of mobile phase (acetonitrile : methanol : water 40 : 40 : 20, respectively). The samples were homogenized at 60°C for 30 min on PC-620 D Corning digital hot plate and stirred at 230 rpm. The preparations thus formed were stored at 20°C for 1 h. Fats and waxes were precipitated and filtered out through 0.45 µm polytetrafluoroethylene (PTFE) 25 mm syringe filter. Remaining filtrate was then diluted to 25 mL with mobile phase in a measuring flask and used as sample [21].

Reference standard solution

Standard stock solution of salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate (100 µg mL⁻¹) were prepared in the mobile phase. Working standard solution (80 µg mL⁻¹) was made by diluting 20 mL of the stock solution to 25 mL with mobile phase. Stock and working standard solutions were prepared daily.

Instrumental conditions

Method development and validation was performed on Shimadzu (Kyoto, Japan) LC 20A HPLC consisting of LC-20AT pump, DGU-20A5 on line degasser. It was interfaced to SPD-M20A Diode Array Detector for high resolution. The output signal was monitored and processed using LC solution (version 1.227) software, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan. The chromatographic separations were performed using RP C₁₈ (Hibar[®] 250 mm × 4.6 mm, 5 µm column). The mobile phase used was acetonitrile, methanol and double distilled water filtered through 0.45 µm PTFE syringe filter in the ratio of 40 : 40 : 20 (v/v/v), respectively before injection. The isocratic conditions were used for the method having end time <10 min at room temperature. The flow rate for mobile phase was 0.8 mL min⁻¹. PS model 02000A sonicator from Notus-Powersonic, Staničná, Vrāble, Slovakia was used for the sonication of the mobile phase. Analytical balance Sartorius Gottigen Model CP324S was used for accurately weighing of standards and chemicals. Cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone

dipropionate were detected at 254 nm and salicylic acid, arbutin were detected at 280 nm. All the chromatographic experiments were performed at room temperature (25 ± 2°C).

Accuracy

Accuracy of the method is the closeness of agreement between accepted conventional true values (reference values) and the values found. Accuracy of the developed method was determined by the standard addition method. In the standard addition method known quantities (75%, 100% and 125%) of salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate were supplemented to the sample solution previously analysed and then experimental and true values were compared. Each solution was analysed in triplicate to determine the method accuracy.

Specificity

Specificity of the developed method was performed by mixing salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate solution with common excipients (glycerine, palm, stearic, cetearyl alcohol, olive oil, methyl paraben, etc.) of the skin whitening creams to check the interference of analyte with common excipients.

Precision

Repeatability was studied by determination of intraday and interday precision. Intraday precision was determined by injecting five standard solutions of three different concentrations on the same day and interday precision was determined by injecting the same solutions for three consecutive days. Per cent relative standard deviation (%RSD) of the peak area was then calculated to represent precision.

Linearity

Linear calibration plots of the proposed method were obtained over concentration ranges of 20–100 µg mL⁻¹ (20, 40, 60, 80 and

Table I Optimization of mobile phase

Mobile phase component	Composition
Methanol : water	(60 : 40) (70 : 30)
Acetonitrile : water	(50 : 50) (70 : 30) (45 : 55)
Methanol : water : acetonitrile	(17 : 25 : 58) (35 : 35 : 30)

Table II Optimized chromatographic conditions

Stationary phase	Hibar [®] C ₁₈ (250 × 4.6 mm)
Flow rate	0.8 mL min ⁻¹
Detection wavelength	254 nm, 280 nm
Injection volume	20 µL
Mobile phase	Methanol : Water : Acetonitrile (40 : 40 : 20)

100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) for salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate. Each solution was prepared in triplicate.

Limit of detection and limit of quantification

Limit of detection and quantitation values were determined by the signal-to-noise (S/N) ratio approach. To examine the limit of quantitation and limit of detection, solutions of different concentrations were prepared by spiking known amounts of salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate into excipients (glycerine, palm, stearic, cetearyl alcohol, olive oil, methyl paraben, etc.). Each solution was prepared according to the pre-defined procedure and analysed repeatedly to determine the S/N ratio. The average S/N ratio from all the analyses at each concentration level was used to calculate the limit of quantitation and limit of detection. The concentration level that gives a S/N ratio of about 10 : 1 at which analytes can be readily quantified with accuracy and precision was reported as the limit of quantitation. The concentration level that gives a S/N ratio of about 3 : 1 at which analytes can be readily detected was reported as the limit of detection.

Robustness

The dependability of an analytical technique in relation with measured variations in method factors was proved by evaluating robustness. Mobile phase, stationary phase, injection volume, column temperature and flow rate are the determining factors of robustness [22].

Results and discussion

RP-HPLC method development

Photodiode array detector identified λ_{max} at 280 nm for salicylic acid and arbutin and therefore 280 nm was selected, whereas for

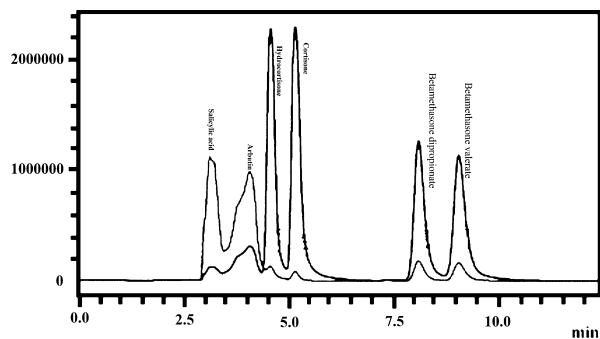


Figure 2 Representative chromatogram of working standard solution of salicylic acid, arbutin, hydrocortisone, cortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate.

cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate, λ_{max} is identified at 254 nm and therefore 254 nm was selected for simultaneous determination of corticosteroids. The literature survey clearly indicated that the use of RP-HPLC for all of the drugs such as salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate over C18 column, resolved the peaks well. Therefore, to obtain optimum resolution simultaneously C18 column was selected. Various preliminary trials were assessed for the selection of mobile phase; all of the mobile phase composition and combinations given in Table I were rejected due to the high or less polarity and compatibility with the mixture. Some of these are tabulated in Table I.

Different flow rates in the range of 0.5–1.5 mL min^{-1} and different injection volumes in the range of 20–100 μL were experimented. Selected mobile phase was composed of methanol:acetonitrile:water (40 : 40 : 20), respectively, which has given optimum results. This mobile phase was compatible with all of the six analyte mixture having hydrophilic and hydrophobic nature.

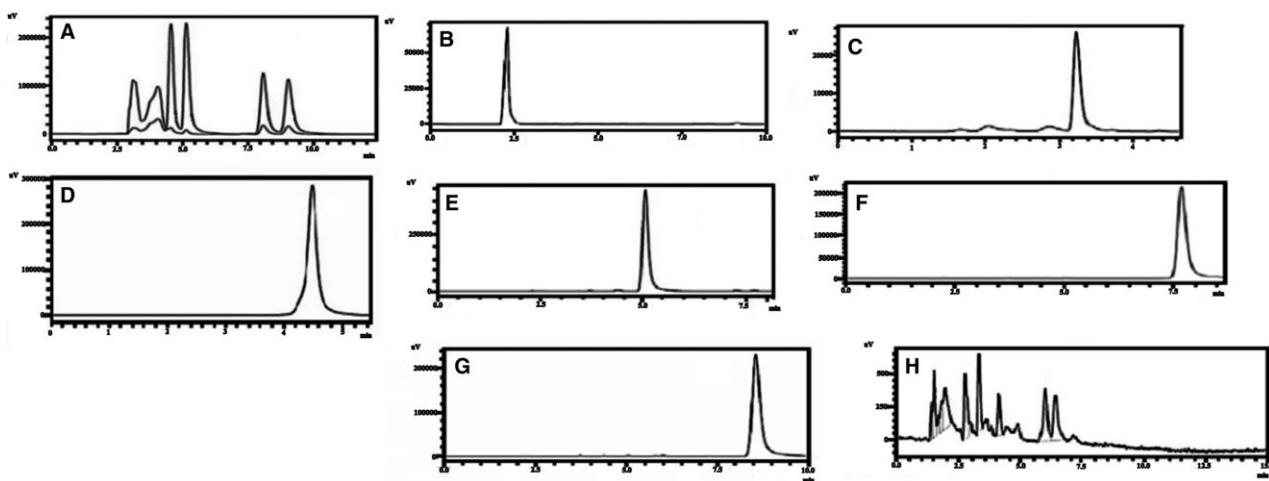


Figure 3 Chromatograms of blank, salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate, betamethasone dipropionate individually and their mixture [(A): mixture of salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate; (B): salicylic acid; (C): arbutin; (D): hydrocortisone; (E): cortisone; (F): betamethasone dipropionate; (G): betamethasone valerate; (H): matrix blank].

Table III Values for linearity

Parameter	RP-HPLC					
	Salicylic acid	Arbutin	Cortisone	Hydrocortisone	Betamethasone dipropionate	Betamethasone valerate
Linearity range ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	20–100	20–100	20–100	20–100	20–100	20–100
Regression line	0.999	0.9997	0.9992	0.9992	0.999	0.9991
y-intercept	7683.1	131 327	5384.2	115 810	541 979.9	80 476
Slope	5007.805	15 289.35	30 920.52	33 548.67	294 367.25	47 076.7

Table IV LOD and LOQ

RP-HPLC	Parameters	
	LOD $\mu\text{g mL}^{-1}$	LOQ $\mu\text{g mL}^{-1}$
Salicylic acid	0.48	1.20
Arbutin	0.09	0.22
Cortisone	0.07	0.18
Hydrocortisone	0.06	0.24
Betamethasone valerate	0.07	0.20
Betamethasone dipropionate	0.02	0.06

salicylic acid, arbutin, hydrocortisone, cortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate were well resolved and retained at 3.1, 4.0, 4.5, 5.1, 8.0 and 9.0 min, respectively. Representative chromatogram is shown in Fig. 2.

The developed method was validated using ICH guidelines [22]. Validation parameters included linearity, accuracy, precision, robustness, specificity, limit of detection and quantitation.

Separate chromatograms were obtained for blank, salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate, betamethasone dipropionate individually and their mixture (Fig. 3). The chromatogram indicated no interfering peak or baseline noise at the respective retention times of all six standards. Thus, it ensures the identity of all six analytes under study and hence proves the specificity of a method.

Table V Accuracy: recovery studies on bulk drug for RP-HPLC

Observations						
Drugs	% level	Conc. before spiking ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Total conc. after spiking ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Amount recovered ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	% recovery	% Mean recovery
Salicylic acid	60	100	160	157.02	98.12	97.18
	80	100	180	176.36	97.97	
	100	100	200	190.90	95.45	
Arbutin	60	100	160	158.35	98.96	97.90
	80	100	180	177.34	98.52	
	100	100	200	193.01	96.51	
Cortisone	60	100	160	156.88	98.05	98.30
	80	100	180	178.44	99.13	
	100	100	200	195.46	97.73	
Hydrocortisone	60	100	160	154.93	96.83	97.63
	80	100	180	176.44	98.02	
	100	100	200	196.09	98.04	
Betamethasone dipropionate	60	100	160	157.05	98.16	98.18
	80	100	180	175.54	97.52	
	100	100	200	197.71	98.86	
Betamethasone valerate	60	100	160	158.91	99.32	98.65
	80	100	180	176.66	98.14	
	100	100	200	196.99	98.50	

Selected mobile phase has suitable polarity to the elution of mixture.

Chromatogram was obtained using these optimized chromatographic conditions that are given in Table II. All of the drugs such as

Standard stock solution was used to prepare the five serial dilutions ($20\text{--}100 \mu\text{g mL}^{-1}$) of salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate. The calibration curve was obtained by plotting peak

Table VI Precision studies of salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate

Observations	Level Conc. ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Level			
		(Interday $n = 5$)		(Intraday $n = 5$)	
		%RSD	Mean% SD	%RSD	Mean% SD
Salicylic acid					
Low	20	0.381		0.271	
Medium	60	0.452	0.461	0.311	0.329
High	100	0.551		0.405	
Arbutin					
Low	20	0.421		0.319	
Medium	60	0.517	0.421	0.283	0.317
High	100	0.325		0.351	
Cortisone					
Low	20	0.256		0.291	
Medium	60	0.374	0.360	0.336	0.346
High	100	0.451		0.410	
Hydrocortisone					
Low	20	0.344		0.290	
Medium	60	0.428	0.336	0.433	0.350
High	100	0.237		0.328	
Betamethasone valerate					
Low	20	0.384		0.460	
Medium	60	0.572	0.463	0.212	0.339
High	100	0.435		0.345	
Betamethasone dipropionate					
Low	20	0.562		0.374	
Medium	60	0.343	0.385	0.280	0.372
High	100	0.251		0.462	

Table VII Robustness studies for salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate

Conditions	%RSD					
	Salicylic acid	Arbutin	Cortisone	Hydrocortisone	Betamethasone valerate	Betamethasone dipropionate
Flow rate (+10%)	0.38	0.31	0.34	0.41	0.52	0.37
Flow rate (-10%)	0.3	0.25	0.29	0.21	0.27	0.18
Wave length (+2)	0.28	0.27	0.28	0.31	0.64	0.51
Wave length (-2)	0.41	0.4	0.18	0.17	0.21	0.22
Organic (+2)	0.16	0.18	0.27	0.21	0.09	0.29
Organic (-2)	0.22	0.24	0.2	0.18	0.12	0.21

area against the concentration. The results were linear across the entire concentration range of 20–100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate, respectively. The values of correlation coefficient, y -intercept and slope of regression line are shown in Table III.

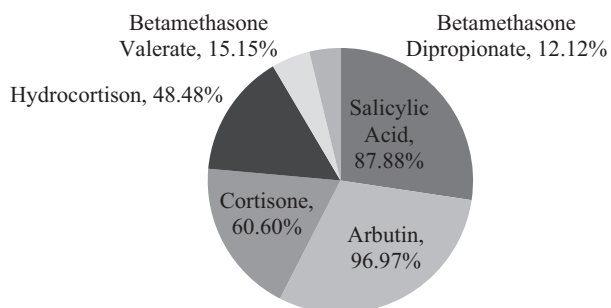
The limit of detection (LOD) and quantitation (LOQ) were determined by making serials of dilutions. LOD (S/N ratio of 3 : 1) and LOQ (S/N ratio of 10 : 1) were calculated as 0.48 and

1.20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for salicylic acid, 0.09 and 0.22 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for arbutin, 0.07 and 0.18 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for cortisone, 0.06 and 0.24 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for hydrocortisone, 0.07 and 0.20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for betamethasone valerate and 0.02 and 0.06 $\mu\text{g mL}^{-1}$ for betamethasone dipropionate (Table IV).

Accuracy of the method is reported as per cent recovery of known added amount of analyte in sample solution previously analysed (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$). The recovery studies were performed in triplicates by spiking 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ solution at three concentration

Table VIII Estimation of salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate in skin whitening cream samples

Concentration of skin whitening agents							
Sr. no.	Sample code	Salicylic acid ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Arbutin ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Cortisone ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Hydrocortisone ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Betamethasone valerate ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Betamethasone dipropionate ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1.	PWC	88.87	82.98	17.33	0.00	0.00	0.00
2.	SLWC	8.51	15.21	21.95	0.00	0.00	0.21
3.	NWC	248.40	726.52	0.00	0.00	8.56	0.00
4.	OWC	81.60	60.50	0.00	0.00	0.00	0.00
5.	N1WC	15.54	21.86	0.00	5.09	0.00	0.00
6.	GCC	2.40	14.85	2.99	9.70	0.00	0.00
7.	ZBC	63.70	96.12	0.00	0.00	0.00	0.00
8.	EWG	54.88	15.44	0.00	0.00	0.00	0.00
9.	FBC	109.06	373.08	4.75	0.00	0.00	0.00
10.	WFWC	250.70	152.82	0.00	0.00	0.00	0.00
11.	SWWC	101.50	144.85	0.00	48.10	0.00	0.00
12.	NFBC	0.00	56.87	5.49	24.22	1.77	1.51
13.	F&LBC	2.16	0.79	1.00	0.84	1.01	0.00
14.	FFBC	100.10	5.98	0.98	9.98	0.00	0.88
15.	GWC	43.78	2.87	0.00	33.90	0.00	0.00
16.	WWC	233.90	185.80	21.86	14.70	0.00	0.00
17.	PBBC	389.80	90.33	63.93	0.00	0.00	0.00
18.	ABC	122.21	298.35	0.00	0.00	0.00	0.00
19.	UWC	22.54	12.90	0.00	0.00	0.00	0.00
20.	ZBC	3.87	35.60	1.75	28.33	0.00	0.00
21.	DÜWC	1.10	730.01	0.00	1.23	0.00	0.00
22.	ZWC	23.98	65.87	0.00	0.00	0.00	0.00
23.	WSBC	17.91	55.84	109.81	19.88	0.00	0.00
24.	WGWC	2.37	141.33	0.23	0.00	2.66	0.00
25.	GPBC	0.00	34.94	12.65	0.92	0.00	0.00
26.	NAAC	55.87	7.65	33.90	1.87	0.00	0.92
27.	FLC	23.44	1.09	2.88	2.51	0.00	0.00
28.	VHWL	11.77	33.34	1.09	0.00	0.00	0.00
29.	GL	0.00	12.09	7.77	0.00	0.00	0.00
30.	BB	7.99	41.91	0.00	0.00	0.00	0.00
31.	SC	22.10	12.44	8.55	0.00	0.00	0.00
32.	LWC	0.00	0.00	13.24	26.20	0.00	0.00
33.	PWBC	99.93	1.44	25.50	15.55	1.10	0.00

**Figure 4** Percentage abundance of detrimental skin whitening agents in 33 skin whitening cream samples.

levels viz. 60%, 80%, 100% of salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate. The per cent recovery was calculated from the data obtained, and the results are tabulated in Table V.

Intraday precision was determined by injecting five standard solutions of three different concentrations on the same day, and interday precision was determined by injecting the same solutions for three consecutive days. Per cent RSD values for both intraday and interday precision were found within acceptable limit. The results of intraday and interday precision studies are tabulated in Table VI.

Robustness of the method was performed by deliberate changes in the chromatographic conditions. The developed method was found to be reliable, and robust as method performance (retention time and response) is not much affected by deliberate variations in mobile phase composition (acetonitrile:methanol:water in 40 : 40 : 20 \pm 2), flow rate (0.7–0.9 mL min⁻¹) and wavelength as shown in Table VII.

Application of method

The developed method is used for the quantitation of salicylic acid, arbutin, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate in 33 skin whitening creams, available

in Pakistan (Table VIII). Chromatograms of all the samples were reviewed and analysed for the evaluation of suspected skin whitening agents.

The percentage abundance of skin whitening agents is given in Fig. 4. It is shown that 32, 29, 20, 16, 5 and 4 of 33 commercially available skin whitening creams contained arbutin, salicylic acid, cortisone, hydrocortisone, betamethasone valerate and betamethasone dipropionate, respectively.

Conclusion

All products sold as cosmetics containing suspected whitening agent are without any clear indication on the label. These products are available in the Pakistani market for personal use without any check and balance. Therefore, the newly developed RP-HPLC method provides an analytical tool for routine analysis of suspected agents in such products. To get an idea about the situation on the

Pakistani market, 33 suspected cosmetic samples were analysed, showing that cosmetic products containing illegal whitening agents are sold in the Pakistani market.

The occurrence of this type of unwanted effects caused by cosmetic products that are freely available particularly in Punjab, and generally, all-over stores in Pakistan market show the need for market control. The analytical tools developed and used during this study may help in identifying and quantifying the problems.

Acknowledgements

The authors thank specially to Howards Pharmaceuticals Lahore Pakistan for providing standards of pharmaceutical active ingredients. Authors acknowledge Ms. Sidra Farid, Lecturer Department of Chemistry, Government College University, Lahore and Syed Naeem Razzaq for their assistance and helpful discussions at all steps of our work.

References

- Zhai, H. and Maibach, H.I. Skin-whitening products. In: *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, 2nd edn. (Paye, M., Barel, A.O. and Maibach, H.I., eds), pp. 457–463. Taylor & Francis, New York (2006).
- Stefania, B., Emanuela, C. and Mauro, P. Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell Res.* **16**, 101 (2003).
- Ladizinski, B., Mistry, N. and Kundu, R.V. Widespread use of toxic skin lightening compounds: medical and psychosocial aspects. *Dermatol. Clin.* **29**, 111–123 (2011).
- Olumide, Y.M., Akinkugbe, A.O., Altraide, D. et al. Complications of chronic use of skin lightening cosmetics. *Int. J. Dermatol.* **47**, 344–353 (2008).
- Kamm, G.L. and Hagemeyer, K.O. Allergic-type reactions to corticosteroids. *Ann. Pharmacother.* **33**, 451–460 (1999).
- Browne, F. and Wilkinson, S.M. Effective prescribing in steroid allergy: controversies and cross-reactions. *Clin. Dermatol.* **29**, 287–294 (2011).
- AlGhamdi, K. The use of topical bleaching agents among women: a cross-sectional study of knowledge, attitude and practices. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **24**, 1214–1219 (2010).
- Chisvert, A., Balaguer, A. and Salvador, A. Tanning and whitening agents in cosmetics. Regulatory aspects and analytical methods. In: *Analysis of Cosmetic Products* (Salvador, A. and Chisvert, A., eds.), p. 128. Elsevier Science, Amsterdam, the Netherlands (2007).
- Mahé, A., Perret, J., Ly, F., Fall, F., Rault, J.P. and Dumont, A. The cosmetic use of skin-lightening products during pregnancy in Dakar, Senegal: a common and potentially hazardous practice. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **101**, 183–187 (2007).
- Briganti, S., Ottaviani, S. and Picardo, M. Chemical, Pharmacologic, and Physical agents causing hypomelanoses. In: *The Pigmentary System* (Nordlund, J., Boissy, R.E. and Hearing, V.J., eds), p. 669. Wiley-Blackwell, Oxford, England, UK (2006).
- Byers, H.R. Melanosome processing in keratinocytes. In: *The Pigmentary System* (Nordlund, J., Boissy, R.E. and Hearing, V.J., eds), p. 183. Wiley-Blackwell, Oxford, England, UK (2006).
- EU, Cosmetics Regulations (1223/2009).
- SCCP, SCCP/1158/08, in: Opinion on arbutin, SCCP/1158/08, Adopted Opinion During the 15th Plenary Meeting of 15 April 2008.
- SCCS, SCCS/1481/12, in: Draft Opinion on Kojic Acid, Adopted Opinion During the 15th Plenary Meeting of 26–27 June 2012.
- Lin, C.H., Sheu, J.Y., Wu, H.L. and Huang, Y.L. Determination of hydroquinone in cosmetic emulsion using micro-dialysis sampling coupled with high-performance liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **38**, 414–419 (2005).
- LópezGarcía, P.M., Rocha Miritello Santoro, M.I., Kedor-Hackman, E.R. and Kumar Singh, A. Development and validation of a HPLC and a UV derivative spectrophotometric methods for determination of hydroquinone in gel and cream preparations. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **39**, 764–768 (2005).
- Gaudiano, M., Lucente, D., Antoniella, E. et al. For export only medicines come back to Europe: a RP-LC method for the screening of six glucocorticoids in illegal and counterfeit anti-inflammatory and lightening creams. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **53**, 158–164 (2010).
- Chisvert, A., Sisternes, J., Balaguer, A. and Salvador, A. A gas chromatography–mass spectrometric method to determine skin-whitening agents in cosmetic products. *Talanta* **81**, 530–536 (2010).
- Shih, Y., Zen, J.M. and Yang, H.H. Determination of codeine in urine and drug formulations using a clay-modified screen-printed carbon electrode. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **29**, 827–833 (2002).
- Masse, M.O., Duvallet, V., Borremans, M. and Goeyens, L. Identification and quantitative analysis of kojic acid and arbutin in skin-whitening cosmetics. *Int. J. Cosmet. Sci.* **23**, 219–232 (2001).
- Desmedt, B., VanHoeck, E., Rogiers, V., Courselle, P., De Beer, J.O., De Paepe, K. and Deconinck, E. Characterization of suspected illegal skin whitening cosmetics. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **90**, 85–91 (2014).
- ICH, Q2 (R1). *Validation of Analytical Procedure, Text and Methodology, ICH Harmonized Tripartite Guidelines*. European Medicines Agency, London, UK (2005).