

PENGEMBANGAN SPEKTROFOTOMETER DERIVATIF DAN KEMOMETRIK MULTIVARIAT PADA SEDIAAN KOSMETIK YANG MENGANDUNG NIACINAMIDE DAN VITAMIN C PADA KOSMETIKA PENCERAH

DEVELOPMENT OF VALIDATION OF MULTIVARIATE DERIVATIVE AND CHEMOMETRIC SPECTROPHOTOMETER METHODS IN COSMETIC PREPARATIONS CONTAINING NIACINAMIDE AND VITAMIN C IN BRIGHTENING COSMETICS

¹Rollando Rollando*, ¹Maria Claudya, ¹Chresiani Destianita Yoedistira, ¹Eva Monica,

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted:2023-03-29

Accepted: 2023-12-08

Publish Online:2023-12-23

Kata Kunci:

niacinamide, vitamin C, spektrofotometer derivatif, kemometrik, *partial least square*.

Keywords:

niacinamide, vitamin C, derivative spectrophotometer, chemometrics, *partial least square*

Abstrak

Penelitian ini menggunakan metode spektrofotometer derivatif dan kemometrik multivariat untuk menganalisis senyawa niacinamide dan vitamin C dalam kosmetika pencerah. Tujuannya adalah untuk mengevaluasi validitas metode analisis dan kadar kedua senyawa tersebut sesuai dengan batas penggunaan yang ditetapkan. Metode kemometrik menggunakan model *Partial Least Square* (PLS) dengan 25 set kalibrasi pada raw spektra dan derivatif 1 sampai 4. Hasil menunjukkan bahwa validasi metode analisis memenuhi persyaratan ketika menggunakan data raw spektra, tetapi tidak memenuhi persyaratan ketika menggunakan data derivatif. Parameter linieritas untuk niacinamide dan vitamin C masing-masing adalah 0,9976 dan 0,9993. Nilai *Limit of Detection* (LOD) untuk niacinamide dan vitamin C adalah 0,6674 dan 0,1716, sedangkan nilai *Limit of Quantification* (LOQ) untuk niacinamide dan vitamin C adalah 2,2247 dan 0,5720. Dalam hal akurasi, niacinamide dan vitamin C menunjukkan rentang nilai antara 96,9045%-102,6530% dan 101,2216%-104,3396%. Sementara itu, nilai presisi niacinamide dan vitamin C berkisar antara 0,6281%-3,8099% dan 0,2649%-2,5829%. Kadar niacinamide dalam produk kosmetik berada dalam rentang 1,1275%-1,7441%, memenuhi batas penggunaan yang diizinkan. Namun, kadar vitamin C (1,5075%-1,8203%) melebihi batas penggunaan yang diperbolehkan, kemungkinan karena sifatnya yang sensitif terhadap cahaya dan cenderung teroksidasi dengan cepat dalam larutan.

Abstract

The study assessed niacinamide and vitamin C in brightening cosmetics using derivative spectrophotometry and multivariate chemometric analysis. Its goal was to verify the analytical method's validity and adherence to established usage limits. Employing the *Partial Least Square* (PLS) model with 25 calibration sets, the research found that the method validation was satisfactory for raw spectral data but not for derivative data. The linearity parameters for niacinamide and vitamin C were 0.9976 and 0.9993, respectively. Notably, the *Limit of Detection* (LOD) for niacinamide and vitamin C was 0.6674 and 0.1716, while the *Limit of Quantification* (LOQ) was 2.2247 and 0.5720, respectively. Niacinamide's content complied with usage limits at 1.1275% to 1.7441%, whereas vitamin C exceeded limits at 1.5075% to 1.8203%, possibly due to its light sensitivity and rapid oxidation in solution. Accuracy values ranged from 96.9045% to 102.6530% for niacinamide and 101.2216% to 104.3396% for vitamin C, while precision values were between 0.6281% to 3.8099% for niacinamide and 0.2649% to 2.5829% for vitamin C.

PENDAHULUAN

Rangsangan radiasi oleh paparan sinar ultra violet dapat mempengaruhi warna kulit, dimana jika berlebih dapat menimbulkan bercak-bercak hitam, kulit menjadi kering, dan membuat warna kulit tidak merata. Banyak orang menginginkan kulit yang lebih cerah dan bersih. Oleh karena itu, digunakan produk kosmetik pencerah kulit (Kembuan dkk., 2012). Kosmetik pada dasarnya adalah sediaan yang diaplikasikan pada tubuh dengan tujuan untuk membersihkan dan memperbaiki penampilan. Pada umumnya kosmetik digunakan pada bagian luar tubuh manusia seperti epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ genital bagian luar, serta pada gigi dan membran mukosa mulut. Adanya keinginan untuk membuat kulit tampak lebih cerah, sehingga digunakan kosmetika pencerah untuk mengatasi hal tersebut (Retno dkk., 2018).

Senyawa yang banyak terkandung dalam kosmetika pencerah yaitu niacinamide dan vitamin C. Kedua senyawa tersebut dapat memberikan efek yang baik bagi kulit, diantaranya yaitu dapat mencerahkan dan meratakan warna kulit, mengurangi tanda-tanda penuaan, dan memudahkan flek hitam pada kulit. Niacinamide atau vitamin B3 merupakan bentuk amida asam karboksilat piridin 3 dari niasin. Niacinamide dikenal efektif menghilangkan kerutan dan bintik-bintik hiperpigmentasi pada penuaan kulit. Penggunaan niacinamide yang direkomendasikan yaitu antara 1% hingga 20% (Herlambang, 2021). Vitamin C adalah antioksidan non-enzimatik yang larut dalam air yang dapat mencerahkan kulit. Fungsi utama vitamin C pada kulit adalah sebagai antioksidan yang melindungi kulit dari pengaruh negatif faktor luar (polusi, sinar matahari, iklim, dan asap rokok), merangsang pembentukan dan meningkatkan produksi kolagen kulit, menjaga elastisitas dan kehalusan kulit, serta mencerahkan kulit (Kembuan dkk., 2012). Vitamin C ditemukan dalam kosmetik dengan konsentrasi mulai dari 4% hingga 20% (Couteau and Coiffard, 2016).

Pada penelitian ini dilakukan validasi metode spektrofotometri derivatif dan kemometrik multivariat. Spektrofotometri derivatif merupakan salah satu metode spektrofotometri yang dapat digunakan untuk menganalisis secara langsung campuran beberapa zat tanpa harus memisahkannya terlebih dahulu. Sedangkan kemometrik multivariat merupakan ilmu pengetahuan yang berhubungan dengan pengukuran yang dilakukan dengan proses atau sistem kimiawi melalui penggunaan ilmu matematika dan statistik (Nurhidayati, 2007). Penggunaan metode kemometrik multivariat menjadi solusi yang baik untuk menganalisis senyawa multikomponen yang memiliki gambaran spektra berpotongan. Digunakan metode analisis kuantitatif kemometrik karena senyawa campuran dapat dianalisis tanpa prosedur pemisahan, tekniknya sangat mudah diterapkan, dan sangat murah jika dibandingkan dengan analisis lainnya. Beberapa peneliti mengatakan bahwa spektrofotometer derivatif dan kemometrik multivariat dapat digunakan untuk menentukan kadar zat aktif secara simultan tanpa melakukan tahap pemisahan sebelumnya.

METODE PENELITIAN

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan merupakan penelitian eksperimental yaitu mengembangkan dan melakukan validasi metode spektrofotometer derivatif dan kemometrik multivariat yang digunakan untuk mendeteksi kadar niacinamide dan vitamin C dalam kosmetika pencerah.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik (Ohaus), gelas beker (Schott), labu ukur 100 ml (Iwaki), labu ukur 10 ml (Iwaki), pipet tetes, mikropipet 100-1000 μ l (Dragon Lab), makropipet 0,5-5 ml (Socorex), gelas ukur, dan spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-760). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu niacinamide (Merck), vitamin C (Merck), aquadest, HCl 0,1 M dan sampel kosmetika pencerah A, B, C, D, dan E.

3. Prosedur Kerja

a. Pengumpulan Sampel

Pada penelitian ini, sampel didapatkan dari toko kosmetik di daerah Surabaya. Sampel yang digunakan sebanyak 5 macam sampel kosmetika pencerah.

b. Optimasi Pelarut

Pemilihan pelarut dilakukan dengan cara membuat larutan standar niacinamide dan vitamin C masing-masing 10 mg/L dengan pelarut yang digunakan adalah aquadest dan HCl 0,1M. Semua larutan yang disiapkan akan dibaca menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan dipilih pelarut yang cocok untuk digunakan.

c. Preparasi Larutan Standar

Ditimbang masing-masing 20 mg standart niacinamide dan vitamin C. Kemudian dilarutkan niacinamide dan vitamin C dengan pelarut hingga 100 ml, sehingga didapatkan konsentrasi akhir masing-masing 200 mg/L.

d. Penetapan Panjang Gelombang

Diambil sebanyak 0,5 ml masing-masing larutan standar niacinamide dan vitamin C. Kemudian dilarutkan dengan pelarut hingga 10 ml, sehingga diperoleh konsentrasi akhir dari masing-masing larutan standar niacinamide dan vitamin C yaitu 10 mg/l. Setelah itu diambil 0,5 ml larutan standar niacinamide dan 0,5 ml larutan standart vitamin C, larutan ini menjadi larutan campuran. Setelah itu masing-masing dari larutan tersebut diukur pada panjang gelombang 200-400 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Diukur panjang gelombang spektrum normal dan derivatif. Rentang panjang gelombang dipilih pada saat senyawa memberikan serapan hingga senyawa memberikan serapan yang mendekati nol. Senyawa ditransformasikan menjadi derivatif dengan menggunakan *software spectra analysis - insert* spektra yang akan ditransformasikan - pilih *derivatives* - transformasikan derivatif 1 hingga 4.

e. Metode Kemometrik-Pembuatan Model Kalibrasi

Dibuat larutan model kalibrasi sebanyak 25 dengan cara mengambil sejumlah tertentu pada masing-masing larutan standar 200mg/L niacinamide dan vitamin C. Setelah itu dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan aquadest hingga diperoleh kadar sesuai pada Tabel 3.1 untuk set kalibrasi. Diukur absorbansi untuk masing-masing larutan pada panjang gelombang 200-400 nm dengan interval 2 nm. Data absorbansi dan konsentrasi yang diperoleh digunakan untuk membuat model kalibrasi dengan metode *Partial Least Squares Regression* (PLS).

Tabel 1. Komposisi Campuran Niacinamide dan Vitamin C untuk Model Kalibrasi

No.	Niacinamide (mg/L)	Vitamin C (mg/L)	No.	Niacinamide (mg/L)	Vitamin C (mg/L)
1	2	2	14	10	16
2	2	6	15	10	20
3	2	10	16	16	2
4	2	16	17	16	6
5	2	20	18	16	10
6	6	2	19	16	16
7	6	6	20	16	20
8	6	10	21	20	2
9	6	16	22	20	6
10	6	20	23	20	10
11	10	2	24	20	16
12	10	6	25	20	20
13	10	10			

f. Validasi Metode Analisis

- **Linieritas**

Linieritas dilakukan dengan mengambil 0,1-1 ml dari masing-masing larutan standart niacinamide dan vitamin C. Kemudian dilarutkan dengan pelarut hingga 10 ml, sehingga konsentrasi akhir yang didapatkan yaitu 2-20 mg/L pada masing-masing larutan standart niacinamide dan vitamin C. Linieritas dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Analisis larutan tersebut pada panjang gelombang 200-400 nm dengan metode derivatif.

- **Limit Of Detection (LOD) dan Limit Of Quantitation (LOQ)**

Batas deteksi dan batas kuantitasi untuk niacinamide dan vitamin C dihitung dari data linieritas.

- **Akurasi**

Akurasi dilakukan pada 3 konsentrasi standar yang berbeda yaitu 0,4 mg/L, 0,5 mg/L, dan 0,6 mg/L untuk masing-masing 80%, 100%, dan 120% dan konsentrasi sampel 10 mg/L. Akurasi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi pada tiga konsentrasi yang berbeda.

- **Presisi**

Presisi dilakukan sebanyak 6 kali dari tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 0,4 mg/L, 0,5 mg/L, dan 0,6 mg/L. Presisi dilakukan secara *intraday* (dilakukan pada hari yang sama) dan *interday* (dilakukan pada 3 hari berturut-turut).

g. Penetapan Kadar

Penetapan kadar dilakukan dengan mengambil 0,5 ml dari masing-masing larutan sampel 200 mg/L kemudian ditambahkan aquadest hingga 10 ml. setelah itu dilakukan replikasi sebanyak 3 kali untuk masing-masing sampel. Lakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis metode derivatif.

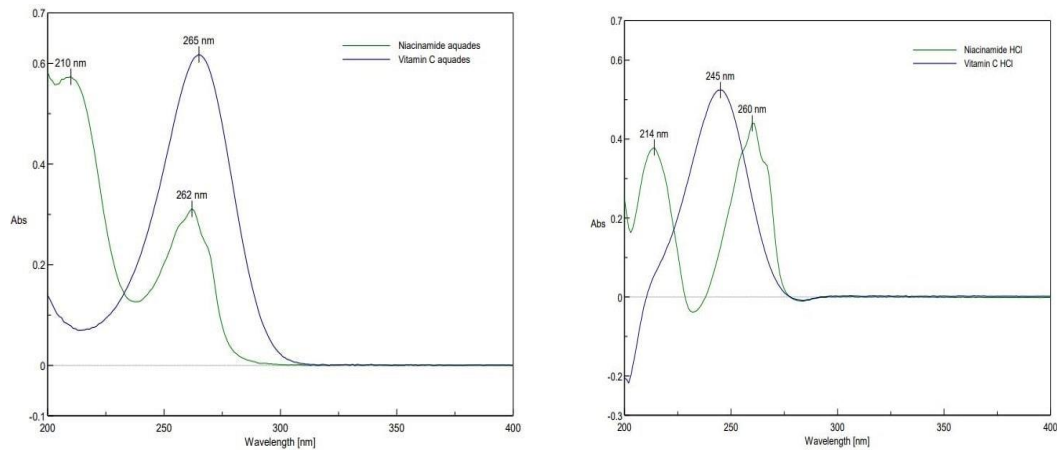
4. Analisis Data

Pada metode kemometrik, dilakukan pengumpulan data spektra dan absorbansi yang didapatkan dengan excel, kemudian dilakukan perhitungan dengan menggunakan kemometrik model *Partial Least Squares* (PLS) pada *software* Unscrambler.

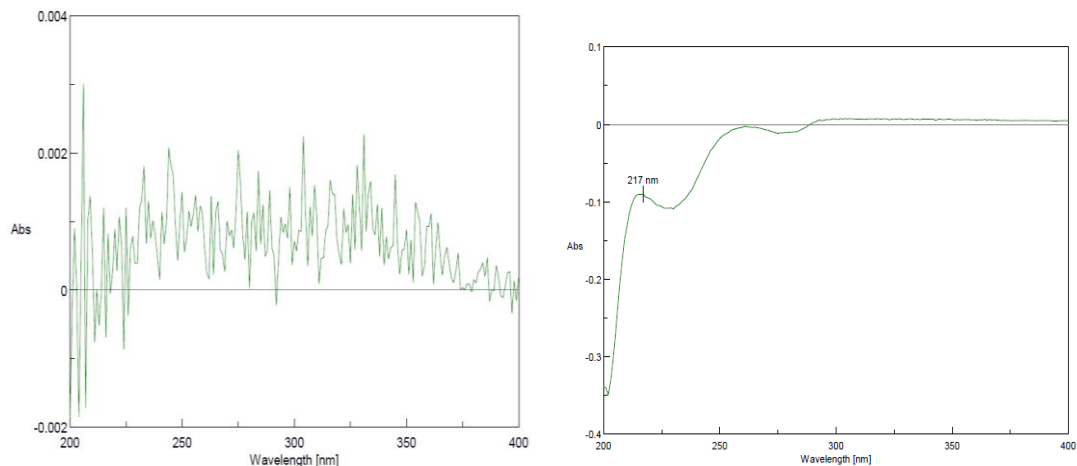
HASIL PENELITIAN

1. Optimasi Pelarut

Optimasi pelarut dilakukan untuk mendapatkan pelarut yang tepat. Dilakukan optimasi pelarut dengan menggunakan standar niacinamide dan vitamin C yang masing-masing dilarutkan dengan pelarut aquadest dan HCl 0,1M.



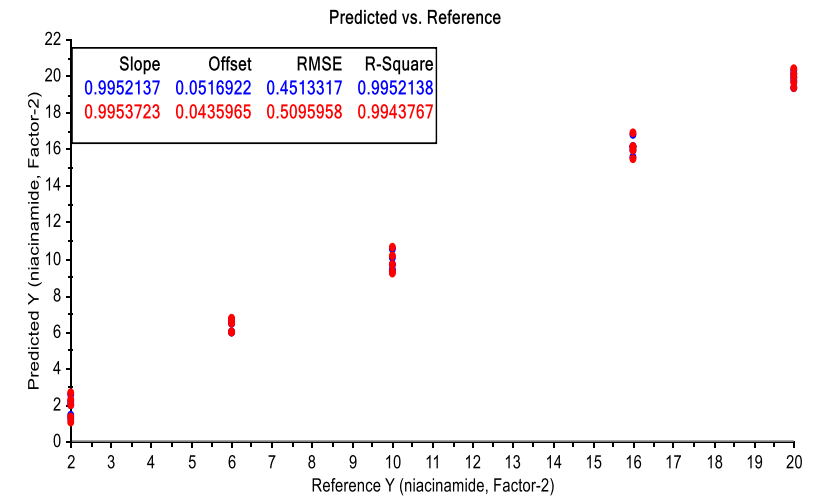
Gambar 1. Niacinamide dan Vitamin C dengan pelarut Aquadest (kiri) dan HCl 0,1 M (kanan)



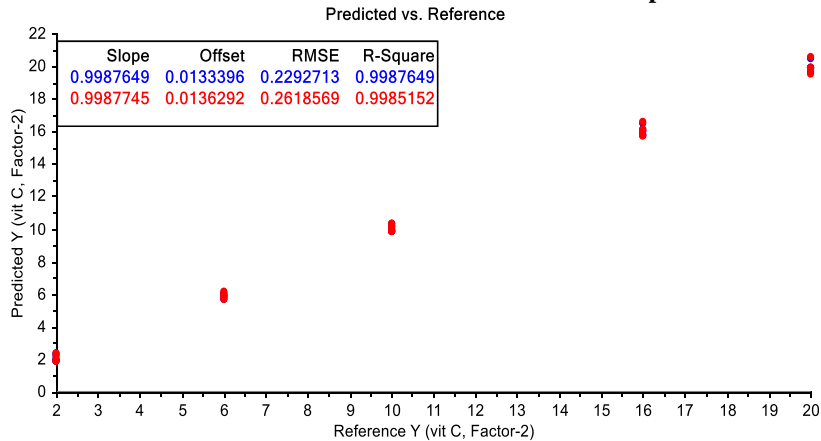
Gambar 2. Pelarut Aquadest (kiri) dan Pelarut Niacinamide (kanan)

2. Model Kalibrasi

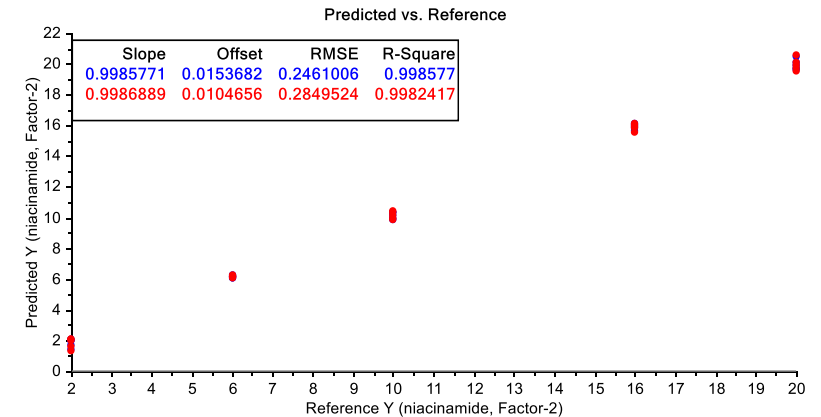
Hasil 25 model set kalibrasi dengan model *raw* spektra, derivatif 1, derivatif 2, derivatif 3, dan derivatif 4 pada niacinamide dan vitamin C.



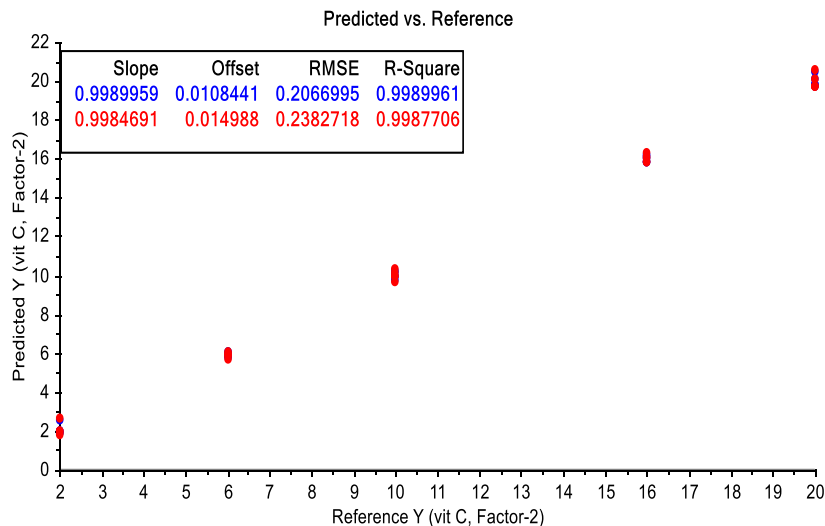
Gambar 2. Model Kalibrasi Niacinamide *Raw* Spektra



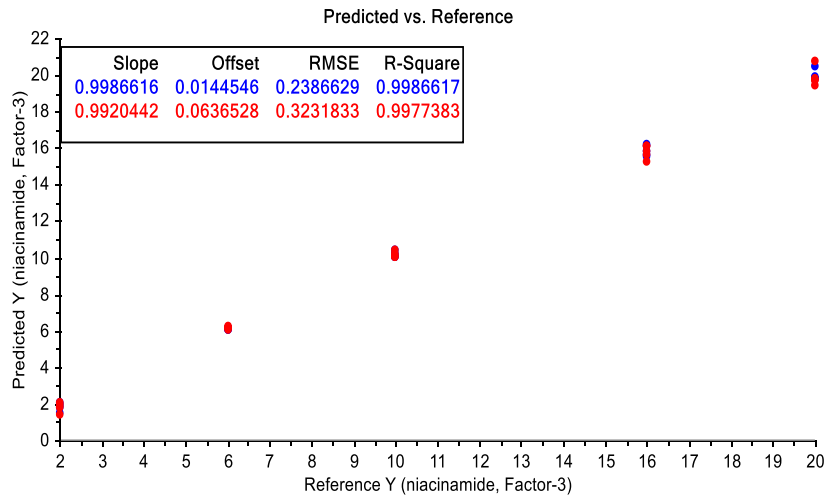
Gambar 3. Model Kalibrasi Vitamin C *Raw* Spektra



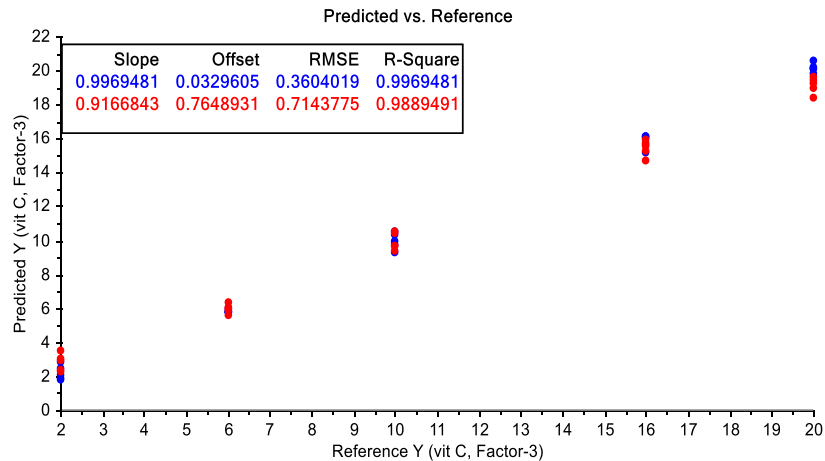
Gambar 4. Model Kalibrasi Niacinamide Derivatif 1



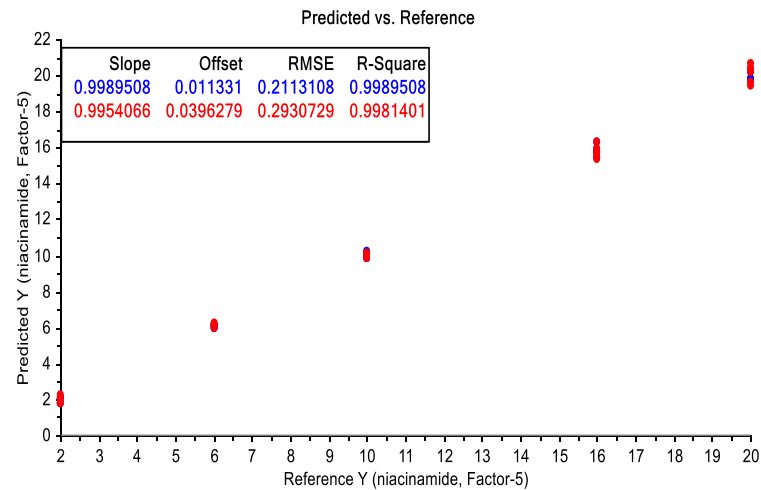
Gambar 5. Model Kalibrasi Vitamin C Derivatif 1



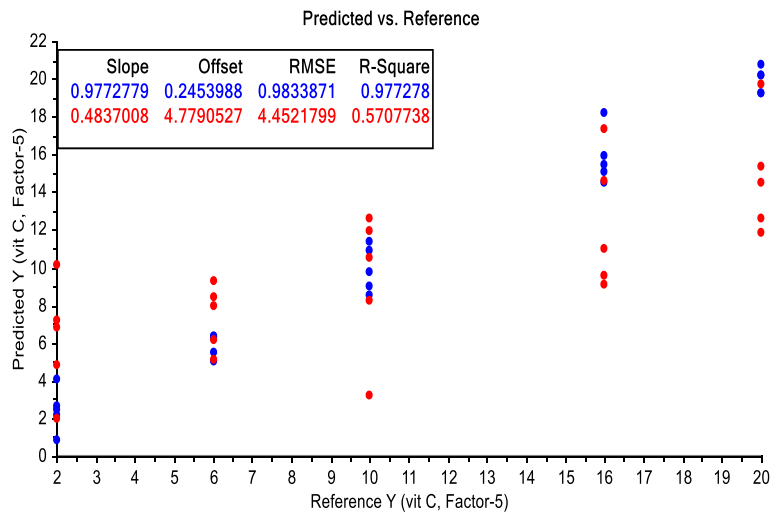
Gambar 6. Model Kalibrasi Niacinamide Derivatif 2



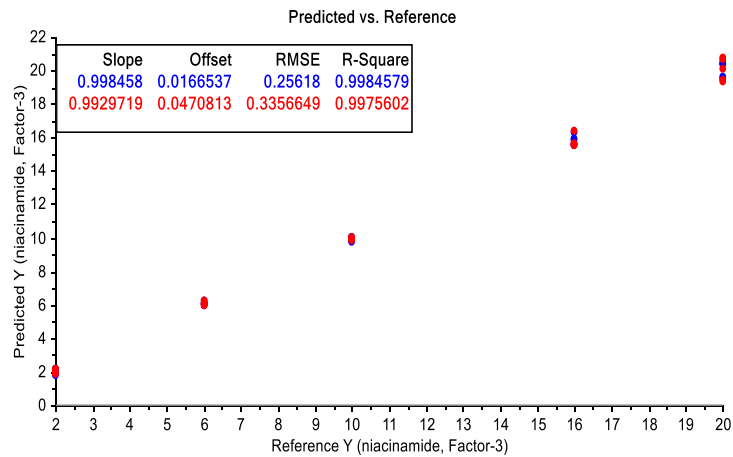
Gambar 7. Model Kalibrasi Vitamin C Derivatif 2



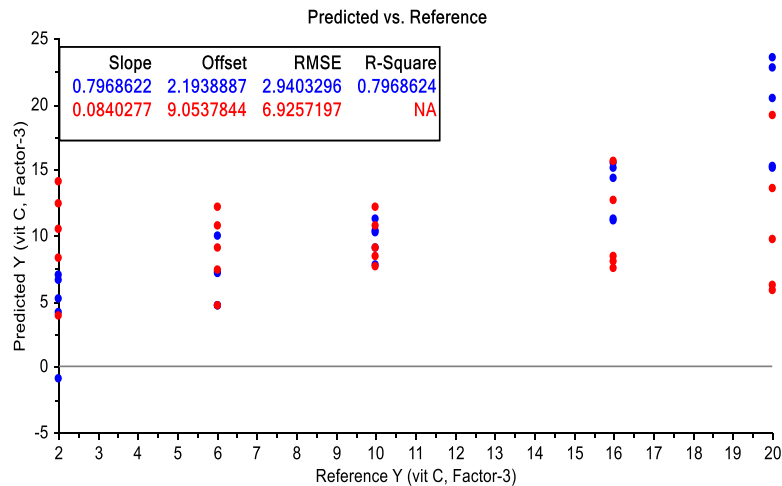
Gambar 8. Model Kalibrasi Niacinamide Derivatif 3



Gambar 9. Model Kalibrasi Vitamin C Derivatif 3



Gambar 10. Model Kalibrasi Niacinamide Derivatif 4



Gambar 11. Model Kalibrasi Vitamin C Derivatif 4

3. Validasi Metode Analisis

a. Linieritas

Tabel 1. Hasil Linieritas Niacinamide

	Raw Spektra	Derivatif 1	Derivatif 2	Derivatif 3	Derivatif 4
Niacinamide					
r	0,9976	0,9992	0,9993	0,9994	0,9992
a	0,0516	0,0153	0,0144	0,0113	0,0166
b	0,9952	0,9985	0,9986	0,9989	0,9984
Persamaan Regresi	$y = 0,0516 + 0,9952x$	$y = 0,0153 + 0,9985x$	$y = 0,0144 + 0,9986x$	$y = 0,0113 + 0,9989x$	$y = 0,0166 + 0,9984x$

Tabel 2. Hasil Linieritas Vitamin C

	Raw Spektra	Derivatif 1	Derivatif 2	Derivatif 3	Derivatif 4
Vitamin C					
r	0,9993	0,9994	0,9984	0,9885	0,8926
a	0,0133	0,0108	0,0329	0,2453	2,1938
b	0,9987	0,9989	0,9969	0,9772	0,7968
Persamaan Regresi	$y = 0,0133 + 0,9987x$	$y = 0,0108 + 0,9989x$	$y = 0,0329 + 0,9969x$	$y = 0,2453 + 0,9772x$	$y = 2,1938 + 0,7968x$

b. LOD dan LOQ

Tabel 3. Hasil LOD dan LOQ

	Niacinamide		Vitamin C	
	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
Raw Spectra	0,6674	2,2247	0,1716	0,5720
Derivatif 1	0,1977	0,6592	0,1394	0,4648
Derivatif 2	0,1859	0,6199	0,4248	1,4161
Derivatif 3	0,1457	0,4858	3,2267	10,7558
Derivatif 4	0,2143	0,7144	35,3787	117,9291

c. Akurasi

Tabel 4. Hasil Akurasi

Konsentrasi	Niacinamide			Vitamin C		
	Rata-rata %Recovery	SD	%CV	Rata-rata %Recovery	SD	%CV
Raw Spektra						
80%	102,6530	2,5117	2,4468	101,2216	1,2351	1,2202
100%	99,6805	3,7977	3,8099	103,1217	0,5592	0,5422
120%	96,9045	0,6087	0,6281	104,3396	0,2764	0,2649
Derivatif 1						
80%	-12,7385	0,1240	-0,9736	-13,3966	0,0351	-0,2620
100%	-9,6752	0,1513	-1,5647	-12,0576	0,2892	-2,3990
120%	-7,2999	0,1483	-2,0328	-10,9542	0,0707	-0,6457
Derivatif 2						
80%	-65,0126	1,6529	-0,0254	-55,5889	12,5113	-0,2250
100%	-61,978	2,2890	-0,0369	-40,4751	6,7758	-0,1674
120%	-60,1991	2,0018	-0,0332	-37,4124	6,4589	-0,1726
Derivatif 3						
80%	4,8108	0,8327	0,1730	331,2716	46,2617	0,1396
100%	4,1584	2,7676	0,6655	331,9827	73,6838	0,2219
120%	3,6793	1,3798	0,3750	309,6599	42,8048	0,1382
Derivatif 4						
80%	52,1329	1,1690	0,0224	70,8530	15,5719	0,2197
100%	53,1288	1,4548	0,0273	80,4365	25,0020	0,3108
120%	53,7296	1,1553	0,0215	57,6591	24,0345	0,4168

d. Presisi

Tabel 5. Hasil Presisi Niacinamide

Perlakuan	80%			100%			120%		
	Rata-rata %Recovery	SD	%RSD	Rata-rata %Recovery	SD	%RSD	Rata-rata %Recovery	SD	%RSD
Raw Spektra									
Intraday	102,653	2,511	2,446	99,680	3,797	3,809	96,904	0,608	0,628
Interday Hari 1	101,273	1,242	1,227	100,930	0,871	0,863	102,039	0,673	0,660
Interday Hari 2	101,457	2,489	2,454	103,536	3,554	3,432	102,526	3,613	3,528
Interday Hari 3	99,369	2,701	2,718	101,812	2,037	2,001	101,989	1,452	1,424
Derivatif 1									
Intraday	-12,738	0,124	-0,973	-9,675	0,151	-1,564	-7,299	0,148	-2,032
Interday Hari 1	-13,045	0,122	-0,937	-9,806	0,108	-1,102	-7,702	0,096	-1,255
Interday Hari 2	-12,835	0,454	-3,541	-9,981	0,155	-1,562	-7,870	0,197	-2,514
Interday Hari 3	-16,531	4,642	-28,080	-20,180	0,089	-0,442	-16,788	0,100	-0,599
Derivatif 2									
Intraday	-65,012	1,652	-0,025	-61,978	2,289	-0,036	-60,199	2,001	-0,033
Interday Hari 1	-59,670	1,838	-0,030	-59,143	1,008	-0,017	-58,198	2,170	-0,037
Interday Hari 2	-73,616	3,345	-0,045	-69,750	3,900	-0,055	-65,746	2,116	-0,032
Interday Hari 3	-64,778	6,081	-0,093	-75,323	2,530	-0,033	-72,652	3,137	-0,043

Tabel 5. (Lanjutan)

Perlakuan	80%			100%			120%		
	Rata-rata %Recovery	SD	%RSD	Rata-rata %Recovery	SD	%RSD	Rata-rata %Recovery	SD	%RSD
Derivatif 3									
<i>Intraday</i>	4,810	0,832	0,173	4,158	2,767	0,665	3,679	1,379	0,375
<i>Interday</i> Hari 1	3,445	1,825	0,529	4,076	1,878	0,460	2,982	1,209	0,405
<i>Interday</i> Hari 2	9,817	3,549	0,361	8,075	2,533	0,313	7,368	3,434	0,466
<i>Interday</i> Hari 3	4,312	1,303	0,302	1,927	4,100	2,127	2,663	3,279	1,231
Derivatif 4									
<i>Intraday</i>	52,132	1,169	0,022	53,128	1,454	0,027	53,729	1,155	0,021
<i>Interday</i> Hari 1	58,456	2,735	4,678	68,944	5,225	7,579	69,780	3,813	5,465
<i>Interday</i> Hari 2	71,350	11,447	0,160	72,701	8,435	0,116	69,056	10,106	0,146
<i>Interday</i> Hari 3	63,380	8,778	0,138	72,217	2,632	0,036	71,819	1,994	0,027

Tabel 6. Hasil Presisi Vitamn C

Perlakuan	80%			100%			120%		
	Rata-rata %Recovery	SD	%RSD	Rata-rata %Recovery	SD	%RSD	Rata-rata %Recovery	SD	%RSD
Raw Spektra									
<i>Intraday</i>	101,221	1,235	1,220	103,121	0,559	0,542	104,339	0,276	0,264
<i>Interday</i> Hari 1	98,971	0,532	0,538	98,741	0,991	1,004	101,765	0,455	0,447
<i>Interday</i> Hari 2	101,996	1,638	1,606	102,404	2,542	2,482	103,457	2,634	2,546
<i>Interday</i> Hari 3	98,871	2,579	2,582	104,109	0,985	0,946	103,986	0,549	0,528
Derivatif 1									
<i>Intraday</i>	-13,396	0,035	-0,262	-12,057	0,289	-2,399	-10,954	0,070	-0,645
<i>Interday</i> Hari 1	-13,535	0,041	-0,307	-12,093	0,050	-0,415	-11,299	0,036	-0,325
<i>Interday</i> Hari 2	-13,395	0,341	-2,551	-12,283	0,320	-2,606	-11,246	0,097	-0,863
<i>Interday</i> Hari 3	-11,808	2,083	-17,644	-7,737	0,028	-0,366	-6,44	0,029	-0,465
Derivatif 2									
<i>Intraday</i>	-65,012	1,652	-0,025	-61,978	2,289	-0,036	-60,199	2,001	-0,033
<i>Interday</i> Hari 1	-21,643	16,643	-0,768	-31,126	8,553	-0,274	-24,951	5,044	-0,202
<i>Interday</i> Hari 2	-21,7737	23,607	-1,086	-13,224	14,536	-1,099	-17,175	15,341	-0,893
<i>Interday</i> Hari 3	-20,138	7,144	-0,354	-19,230	25,281	-1,314	-18,772	22,865	-1,218
Derivatif 3									
<i>Intraday</i>	331,271	46,261	0,139	331,982	73,683	0,221	309,659	42,804	0,138
<i>Interday</i> Hari 1	302,774	46,700	0,154	297,517	16,767	0,056	298,831	37,519	0,125
<i>Interday</i> Hari 2	572,439	36,863	0,064	507,240	75,179	0,148	466,260	117,353	0,251
<i>Interday</i> Hari 3	385,458	69,858	0,181	416,070	65,490	0,157	415,295	109,267	0,263
Derivatif 4									
<i>Intraday</i>	70,853	15,57	0,219	80,436	25,002	0,310	57,659	24,034	0,416
<i>Interday</i> Hari 1	-254,892	316,062	-1,239	27,066	195,843	7,236	-152,388	111,672	-0,737
<i>Interday</i> Hari 2	-659,54	427,174	-0,647	-921,754	286,417	-0,310	-740,799	295,925	-0,399
<i>Interday</i> Hari 3	-215,335	252,802	-1,174	-7,324	66,256	-9,046	22,335	87,953	3,937

4. Penetapan Kadar Sampel

Tabel 7. Penetapan Kadar Niacinamide

Sampel	<i>Predicted</i> (mg/L)	<i>Reference</i> (mg/L)	%Kadar	Rata-rata %Kadar
A	56,3800	5000	1,1276	1,1275
	56,3312	5000	1,1266	
	56,4139	5000	1,1282	
B	87,0573	5000	1,7411	1,7426
	87,2042	5000	1,7440	
	87,1300	5000	1,7426	
C	87,0573	5000	1,7411	1,7441
	87,1949	5000	1,7438	
	87,3641	5000	1,7472	
D	77,8439	5000	1,5568	1,5659
	78,1291	5000	1,5625	
	78,9265	5000	1,5785	
E	68,4414	5000	1,3688	1,3723
	68,5943	5000	1,3718	
	68,8118	5000	1,3762	

Tabel 8. Penetapan Kadar Vitamin C

Sampel	<i>Predicted</i> (mg/L)	<i>Reference</i> (mg/L)	%Kadar	Rata-rata %Kadar
A	83,0440	5000	1,6608	1,6608
	82,9803	5000	1,6596	
	83,1026	5000	1,6620	
B	75,2708	5000	1,5054	1,5075
	75,4143	5000	1,5082	
	75,4540	5000	1,5090	
C	75,2708	5000	1,5054	1,5090
	75,3857	5000	1,5077	
	75,6994	5000	1,5139	
D	75,4735	5000	1,5094	1,5136
	75,7739	5000	1,5154	
	75,7977	5000	1,5159	
E	90,9285	5000	1,8185	1,8203
	91,0037	5000	1,8200	
	91,1222	5000	1,8224	

PEMBAHASAN

1. Optimasi Pelarut

Penggunaan aquadest dan HCl 0,1M dikarenakan vitamin C memiliki kelarutan yang sukar larut dengan etanol, selain itu juga dikarenakan menurut Moffat (2011) niacinamide dan vitamin C dapat larut dalam HCl. Berdasarkan data yang diperoleh pada Gambar 1, pelarut yang optimum untuk digunakan yaitu HCl 0,1M. Hal ini dikarenakan HCl 0,1M memiliki spektrum serapan yang hampir sama dengan panjang gelombang teoritis. Menurut Moffat (2011), niacinamide memiliki panjang gelombang 261 nm dalam pelarut *aqueous acid* dan vitamin C memiliki panjang gelombang 243 nm dalam pelarut *aqueous acid*. Selain itu juga, pelarut HCl 0,1M dipilih karena spektrumnya memisah dengan sempurna antara

spektrum niacinamide dan vitamin C yang menggunakan pelarut HCl 0,1M. Pada penggunaan pelarut aquades, spektrumnya saling tumpang tindih.

2. Pembuatan Model

Penentuan panjang gelombang dilakukan sebagai dasar untuk pemilihan rentang panjang gelombang yang dipakai dalam kemometrik. Dalam penetapan panjang gelombang, diambil semua panjang gelombang dari 200-400 nm yang nantinya digunakan sebagai data dalam pembuatan model kalibrasi.

3. Model Kalibrasi

Model kalibrasi dilakukan dengan menggunakan metode *Partial Least Square* (PLS). Pembuatan model dilakukan pada 25 set kalibrasi dengan 5 konsentrasi berbeda dan menggunakan rancangan faktorial *design* dalam *software* minitab. Pada set kalibrasi, faktor yang digunakan yaitu 2 senyawa (niacinamide dan vitamin C) dan level yang digunakan yaitu 5 konsentrasi berbeda. 5 konsentrasi yang berbeda ini yaitu 2 mg/L, 6 mg/L, 10 mg/L, 16 mg/L, dan 20 mg/L. Dilakukan pembacaan pada 25 model set kalibrasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, kemudian data yang diperoleh diubah ke dalam bentuk excel dan didapatkan sebanyak 201 data absorbansi pada masing-masing titik kalibrasi. Setelah data di ubah ke dalam bentuk excel, data dimasukkan ke dalam aplikasi atau software Unscrambler untuk dilakukan pengolahan absorbansi. Setelah data di ubah ke dalam bentuk excel, data dimasukkan ke dalam aplikasi atau software Unscrambler untuk dilakukan pengolahan absorbansi.

Dalam menentukan model yang baik digunakan beberapa parameter yaitu *R-Square*, *Root Mean Square Error of Calibration* (RMSEC) dan *Root Mean Square Error of Cross Validation* (RMSECV). Persyaratan untuk nilai *R-square* yaitu mendekati 1,0 atau $>0,99$. Berdasarkan data yang diperoleh nilai *R-square* kalibrasi pada niacinamide mendekati 1,0 yaitu 0,995 dan pada vitamin C mendekati 1,0 yaitu 0,998. Nilai *R-square* validasi pada niacinamide mendekati 1,0 yaitu 0,994 dan pada vitamin C mendekati 1,0 yaitu 0,998. Persyaratan untuk RMSEC dan RMSECV yaitu mendekati 0,00 lebih bagus. Berdasarkan data yang diperoleh nilai RMSEC pada niacinamide mendekati 0,00 yaitu 0,4513 dan pada vitamin C mendekati 0,00 yaitu 0,0229. Nilai RMSECV pada niacinamide mendekati 0,00 yaitu 0,5095 dan pada vitamin C mendekati 0,00 yaitu 0,2618. Model kemometrik dilakukan dengan menggunakan spektrum *raw* spektra dan spektrum derivatif.

4. Validasi Metode Analisis

a. Linieritas

Persyaratan linieritas yaitu nilai koefisien korelasi (r) yaitu tidak kurang dari 0,99 atau mendekati 1. Berdasarkan hasil yang didapat, nilai r niacinamide semuanya memenuhi persyaratan, sedangkan nilai r vitamin C yang memenuhi persyaratan yaitu *raw* spektra, derivatif 1, dan derivatif 2.

b. *Limit of Detection* (LOD) dan *Limit of Quantitation* (LOQ)

Batas deteksi (LOD) adalah jumlah analit terkecil dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon yang signifikan jika dibandingkan dengan blanko. Batas kuantitas (LOQ) adalah parameter pada analisis renik yang diartikan sebagai kuantitas analit terkecil dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Konsentrasi seri kalibrasi terprediksi dan konsentrasi set kalibrasi terukur digunakan sebagai nilai simpangan baku yang dipakai untuk menghitung LOD dan LOQ.

c. Akurasi

Akurasi dinyatakan dengan persen perolehan kembali atau %*Recovery* analit yang ditambahkan dan %CV (*Coefficient of Variation*). Syarat dari akurasi yaitu %*Recovery* 90-107% dan %CV <3,9%. Akurasi dilakukan pada 3 konsentrasi yang berbeda dan direplikasi sebanyak 6 kali. Berdasarkan data pada Tabel 4.6 dapat dilihat bahwa hasil yang didapatkan pada derivatif 1 tidak sesuai dengan persyaratan, sedangkan pada *raw* spektra didapatkan hasil yang sesuai. Hasil rata-rata %*recovery* pada data *raw* spektra untuk niacinamide yaitu 102,6530%, 99,6805%, dan 96,9045%, sedangkan untuk vitamin C yaitu 101,2216%, 103,1217%, dan 104,3396%. Hasil %CV pada data *raw* spektra untuk niacinamide yaitu 2,4468%; 3,8099%; dan 0,6281%, sedangkan untuk vitamin C yaitu 1,2202%; 0,5422%; dan 0,2649%.

d. Presisi

Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Syarat dari presisi yaitu nilai %RSD <3,9%. Presisi dilakukan secara *intraday* (dilakukan pada hari yang sama) dan *interday* (dilakukan pada 3 hari berturut-turut) dengan 3 konsentrasi berbeda serta direplikasi sebanyak 6 kali. Berdasarkan data pada Tabel 4.7 dan Tabel 4.8 dapat dilihat bahwa hasil yang didapatkan pada derivatif 1 tidak sesuai dengan persyaratan, sedangkan pada *raw* spektra didapatkan hasil yang sesuai. Hasil presisi dengan menggunakan data *raw* spektra untuk niacinamide yaitu nilai %RSD presisi yang dilakukan secara *intraday* yaitu 2,4468%; 3,8099%; dan 0,6281%, sedangkan vitamin C yaitu 1,2202%; 0,5422%; dan 0,2649%. Nilai %RSD presisi yang dilakukan secara *interday* hari ke-1 untuk niacinamide yaitu 1,2273%; 0,8634%; dan 0,6604%, sedangkan pada vitamin C yaitu 0,5382%; 1,0040%; dan 0,4476%. Nilai %RSD presisi yang dilakukan secara *interday* hari ke-2 untuk niacinamide yaitu 2,4540%; 3,4329%; dan 3,5248%, sedangkan untuk vitamin C yaitu 1,6065%; 2,4826%; dan 2,5468%. Nilai %RSD yang dilakukan secara presisi *interday* hari ke-3 untuk niacinamide yaitu 2,7187%; 2,0014%; dan 1,4240%, sedangkan untuk vitamin C yaitu 2,5829%; 0,9463%; dan 0,5284%.

5. Penetapan Kadar

Setelah semua validasi metode tervalidasi, dilakukan penetapan kadar. Penetapan kadar niacinamide dan vitamin C dilakukan dengan menggunakan model PLS data *raw* spektra. Hal dikarenakan hasil validasi metode analisis yang memenuhi persyaratan yaitu dengan menggunakan data *raw* spektra. Sampel yang digunakan sebanyak 5 merek sampel kosmetika pencerah yang memiliki kandungan niacinamide dan vitamin C, namun pada sediaan tidak dituliskan berapa persen kadar pada setiap senyawanya. Penetapan kadar ini dilakukan untuk mengetahui kadar niacinamide dan vitamin C yang terkandung dalam sampel kosmetika pencerah apakah masih dalam batas penggunaannya. Pada masing-masing sampel dibuat sebesar 5.000 mg/L dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Berdasarkan data yang diperoleh dapat dilihat bahwa kadar niacinamide yang diperoleh yaitu 1,1275%-1,7441% telah sesuai dengan batas penggunaannya yaitu 1-20% dan kadar vitamin C yang diperoleh yaitu 1,5075%-1,8203% kurang dari batas penggunaannya yaitu 4-20%. Menurut Farmakope edisi VI vitamin C memiliki sifat sensitif terhadap cahaya dan dalam larutan akan cepat teroksidasi. Oleh karena ini pada tabel diatas diperoleh kadar vitamin C yang kurang dari batas penggunaannya.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada validasi metode analisis menggunakan spektrofotometer derivatif dan kemometrik multivariat telah memenuhi *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH)*. Dimana validasi metode analisis untuk niacinamide dan vitamin C yang dilakukan dengan menggunakan data *raw* spektra telah memenuhi persyaratan, jika menggunakan data derivatif 1 hingga 4 akan menghasilkan data yang tidak terdeteksi. Dimana pada semua parameter validasi metode analisis semuanya memenuhi persyaratan. Pada penetapan kadar, diperoleh kadar niacinamide sebesar 1.1275%-1.74411% dimana kadar tersebut telah sesuai dengan batas penggunaannya. Sedangkan kadar vitamin C yang diperoleh yaitu sebesar 1.5075%-1.8203% dimana kadar tersebut kurang dari batas penggunaannya.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan instrument yang lebih spesifik seperti *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*.

REFERENSI

- Couteau, C., & Coiffard, L. 2016. *Overview of Skin Whitening Agents: Drugs and Cosmetic Products*. *Cosmetics*, 3(3), 6. <https://doi.org/10.3390/cosmetics3030027>
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3). <https://doi.org/10.7454/psr.v1i3.3375>
- Herlambang, C. N. 2021. *Development Body Scrub With Niacinamide and Jojoba Beads As Exfoliator*. *World Journal Of Pharmaceutical Research*, 10(10), 1367–1377. <https://doi.org/10.20959/wjpr202110-21313>
- Kembuan, M. V., Wangko, S., & Tanudjaja, G. N. 2012. Peran Vitamin C Terhadap Pigmentasi Kulit. *Biomedik*, 4, 1–2.
- Nurhidayati, L. 2007. Spektrofotometri Derivatif dan Aplikasinya dalam Bidang Farmasi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5.
- Retno, H., Auliya, S., & Abdassah, M. 2018. Tinjauan Bahan Berbahaya dalam Krim Pencerah Kulit. *Farmaka*, 16(2), 214–224.
- Rohman, A., & Che Man, Y. B. 2011. *Analysis of Lard in Cream Cosmetics Formulations Using FT-IR Spectroscopy and Chemometrics*. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 7(5), 726–727. <https://pdfs.semanticscholar.org/fe0d/16489d5f0612e177a1dc94e6ebdffffc201d.pdf>