

Analisis Hidrokortison Asetat Dalam Sediaan Krim Pemutih Wajah Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Herdini^{*1}, Dwi Nurmalasari², Veriah Hadi³

^{1,2}Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi

³Program Studi Fisika, Fakultas Sains dan Teknologi Informasi.

Institut Sains dan Teknologi Nasional

Jl. Moh. Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan

*Email: herdinias69@istn.ac.id, nurmalasaridwi92@gmail.com, veriahadi@gmail.com

ABSTRACT

Background Hydrocortisone acetate is an anti-inflammatory compound from the corticosteroid group. This active substance has a tendency to degrade during storage

Aim Given by that, it is necessary to determine the content of hydrocortisone acetate in facial whitening creams

Method In this study we determined by the reverse phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. The HPLC system used was column C18 (4.6 × 250 mm), the mobile phase of the mixture of acetonitrile: aquabides (60:40), using a 252 nm UV detector. The results of the analysis showed good separation conditions with the mobile phase of acetonitrile, aquabides (60:40 v/v) and a flow rate of 1.0 ml/min. All components were separated in an analysis time of less than 2.0 minutes.

Result The results of the method validation show that the method used in this study meets the requirements of accuracy, precision, linearity, LOD and LOQ. The results showed the method had good linearity ($r = 0.9923$). Accuracy results were 98.24% and 98.84%. The precision result is 0.23%. LOD results were 7.2601 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and LOQ results were 24.2004 $\mu\text{g} / \text{mL}$.

Conclusion Based on the results obtained, all four cream samples containing hydrocortisone acetate with levels of each sample A = 1.0583 $\mu\text{g} / \text{g}$, sample B = 0.3316 $\mu\text{g} / \text{g}$, sample C = 0.1513 $\mu\text{g} / \text{g}$, and sample D = 1.1662 $\mu\text{g} / \text{g}$.

Keywords: Hydrocortisone acetate, Facial Whitening Cream, High Performance Liquid Chromatography

1. PENDAHULUAN

Kosmetika dikenal sebagai penunjang penampilan agar tampak lebih menarik. Seiring dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi beragam kosmetika muncul di pasaran. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.1175/MENKES/PER/VIII/2010, kosmetika adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ genital bagian luar) atau gigi dan membran mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, dan memperbaiki bau badan atau memelihara tubuh pada kondisi baik (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2010a; Mohd Zukepli, Zakaria, & Wan Omar, 2015).

Teknosains : Jurnal Sains, Teknologi dan Informatika is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

Banyak pilihan produk kosmetika agar wanita terlihat lebih cantik salah satunya krim pemutih (*whitening cream*). Definisi dari krim pemutih adalah campuran bahan kimia atau bahan kimia lainnya. Krim pemutih dapat mencerahkan atau memutihkan noda-noda hitam dikulit. Suatu produk kosmetik sebelum dipasarkan harus dilakukan pengujian untuk menjamin mutu, keamanan dan kemanfaatannya dengan mencantumkan izin edar BPOM yang diatur dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.1176/MENKES/PER/VIII/2010. Dalam beberapa kasus kandungan berbahaya dari kosmetik ilegal seperti merkuri, hidrokuinon, timbal dan lain-lain dapat menimbulkan berbagai efek seperti iritasi, jerawat, bahkan dapat menyebabkan kanker (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2010b; Mohd Zukepli et al., 2015).

Hidrokortison merupakan senyawa turunan dari kortikosteroid yang berfungsi meredakan reaksi inflamasi seperti dermatitis, jerawat dan psoriasis (radang kulit akibat autoimun). Hidrokortison asetat merupakan obat yang penggunaannya perlu pengawasan dokter dan bahan ini sering disalahgunakan dalam formulasi krim pemutih yang tidak terdaftar izin BPOM. Penggunaan krim pemutih yang mengandung hidrokortison asetat dalam jangka waktu yang lama bisa menimbulkan berbagai efek samping seperti kulit menipis (atrofi), pembuluh darah permukaan kulit tampak lebih jelas (telangiectasia) dan lain-lain (Goldman & Weiss, 2011; Ritter, Lewis, Mant, & Ferro, 1981).

Penggunaan hidrokortison asetat tidak diperkenankan terdapat pada sediaan yang ditujukan untuk perawatan kulit, berdasarkan Peraturan Kepala Badan POM RI Nomor 18 Tahun 2015 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik. Namun menurut laporan Badan POM RI seperti yang tertuang pada *public warning* No.IN.05.03.1.43.06.16.28.48 pada 2016 tentang kosmetik yang mengandung kortikosteroid. Hal ini tentu saja menunjukkan adanya pelanggaran terhadap peraturan yang ada dan menimbulkan kekhawatiran konsumen terhadap keamanan produk krim pemutih wajah yang digunakan (Badan POM RI, 2016; BADAN POM RI, 2015).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan metode analisis yang cepat, peka dan akurat dapat digunakan untuk analisis bahan organik dan anorganik, bersifat volatil dan non-volatil, stabil dan tidak stabil secara *thermal*, pilihan fase diam dan fase geraknya luas. Secara teknis metode ini memiliki keuntungan antara lain mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, dapat dihindari terjadinya kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali, mudah melakukan *recovery* (Harmita, 2004).

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian mengenai analisis hidrokortison asetat dalam sediaan krim pemutih wajah yang beredar di wilayah Bogor secara kromatografi cair kinerja tinggi. Bogor merupakan salah satu kabupaten yang berada di provinsi Jawa Barat. Di wilayah Bogor banyak toko kosmetik yang menjual kosmetik dengan harga murah salah satunya krim pemutih wajah. Krim pemutih wajah teregistrasi dan tidak teregistrasi dapat dijumpai dengan mudah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya

kandungan hidrokortison asetat dan jumlah kadar hidrokortison asetat dalam sediaan krim pemutih wajah yang beredar di wilayah Bogor.

2. METODE

Bahan. Standar Hidrokortison Asetat, bahan krim pemutih wajah, aquabides pro HPLC (*merck*), Asetonitril pro HPLC (Fisher Scientific), Metanol pro analisis (*merck*), asam asetat glasial pro analisis (*merck*). **Metode analisis** adalah metode eksperimen dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Dengan menggunakan metode teknik pemisahan molekul berdasarkan perbedaan pola pergerakan antara fase gerak dan fase diam untuk memisahkan komponen hidrokinon asetat (berupa molekul) yang berada pada sediaan krim.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Perolehan Sampel

Sampel yang dianalisis adalah krim pemutih wajah yang dikumpulkan dari beberapa toko kosmetik yang berada di wilayah Bogor. Sampel dikelompokkan menjadi tiga yaitu krim pemutih wajah yang teregistrasi, registrasi palsu dan tidak teregistrasi. Kriteria krim pemutih wajah teregistrasi adalah krim pemutih wajah yang terdapat nomor registrasi dan penandaan lain yang disyaratkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan dan penandaan tersebut tercantum dalam kemasan produk yang dapat dilihat pada Tabel 1. Sampel diperoleh dari beberapa toko kosmetik di wilayah Bogor, sehingga diambil 2 merk sampel krim pemutih wajah teregistrasi, 1 merk sampel krim pemutih wajah registrasi palsu dan 1 merk sampel krim pemutih wajah tidak teregistrasi. Empat merk sampel yang diperoleh lalu didokumentasikan dan masing-masing kelompok ditandai dengan kode. A dan B merupakan kode krim pemutih yang teregistrasi, C merupakan kode krim pemutih teregistrasi palsu sedangkan D adalah kode krim pemutih yang tidak teregistrasi.

Tabel 1. Penandaan pada kemasan krim pemutih wajah

Keterangan	A	B	C	D
Nama Produk	+	+	+	+
Nama dan Alamat Produsen	+	+	-	-
Ukuran Bersih (g)	+	+	-	+
Komposisi	+	+	-	+
Penandaan dalam Bahasa Indonesia	+	+	-	+
No. Bets	+	+	-	-
No. Registrasi	+	+	+	-
Tanggal kadaluarsa	+	+	-	-

A, B, C dan D = kode sampel

Teknosains : Jurnal Sains, Teknologi dan Informatika *is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.*

Analisis Hidrokortison Asetat Dalam Sediaan Krim Pemutih Wajah Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Vol.7, No1) Januari 2020

3.2 Hasil Organoleptik Sampel

Pemeriksaan organoleptik dilakukan secara pengamatan *visual* untuk mengetahui karakteristik pada sampel yang meliputi bentuk, warna, dan bau. Organoleptik dilakukan sebelum preparasi sampel, dengan tujuan agar diketahui karakteristik awal sampel krim pemutih wajah yang akan digunakan. Hasil pemeriksaan organoleptik yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data organoleptik sampel “A”, “B”, “C”, dan “D”

Keterangan	Sampel A	Sampel B	Sampel C	Sampel D
Bentuk	Setengah padat	Setengah padat	Setengah padat	Setengah padat
Bau	Khas	Khas	Khas	Khas
Warna	Putih	Coklat muda	Kuning	Kuning

Berdasarkan hasil pengamatan warna, dapat diketahui bahwa bahan uji A memiliki warna putih sedangkan bahan uji lainnya menggunakan penambahan zat warna supaya lebih menarik. Semua sampel memenuhi persyaratan dengan hasil bentuk setengah padat dan beraroma khas.

3.3 Hasil Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Linearitas

Uji linearitas dilakukan dengan membuat lima konsentrasi yang berbeda yaitu 0.313 bpj; 0.625 bpj; 1.25 bpj; 2.5 bpj dan 5 bpj yang masing-masing konsentrasinya disuntikan sebanyak 20 µl ke dalam alat KCKT. Kemudian kurva kalibrasi dibuat antara konsentrasi terhadap luas area larutan baku pembandingan dan ditentukan dengan persamaan garis liniernya.

Parameter hubungan kelinieran yang digunakan yaitu koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linier $y = bx + a$ (b adalah *slope*, a adalah *intersep*, x adalah konsentrasi analit dan y adalah respon instrumen). Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $a=0$ dan $r= +1$ atau -1 (Badan POM RI, 2011; Riyanto, 2015).

Berdasarkan perhitungan diperoleh persamaan kurva kalibrasi adalah $y = 467,3396x + 18.0716$. Diperoleh hubungan yang linier antara luas puncak dan konsentrasi dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0.9923. Hasil pengujian yang diperoleh memenuhi persyaratan berdasarkan ketentuan umum, yakni harga koefisien korelasi yang baik adalah mendekati 1.000 atau sama dengan 1.000 (Harmita, 2004).

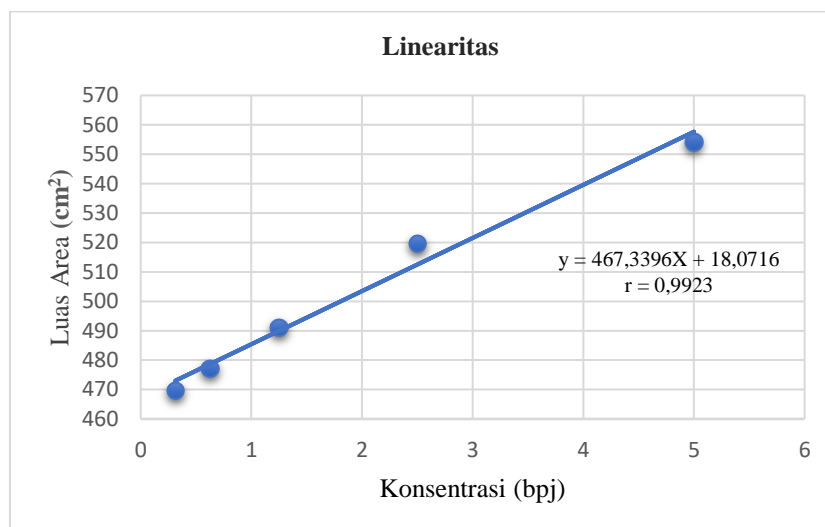
Hasil uji linearitas yang dinyatakan dalam persamaan garis linier dan nilai r dari kurva kalibrasi dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Tabel 3. Data hubungan konsentrasi dengan luas area

Konsentrasi (bpj)	Luas Area (cm ²)
0,313	469,71368
0,625	477,17242

Teknosains : Jurnal Sains, Teknologi dan Informatika *is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.*

1,25	491,04224
2,5	519,64142
5	554,20636



Gambar 1. Kurva kalibrasi standar Hidrokortison Asetat hubungan linier antara Luas area (cm²) terhadap konsentrasi (bpj).

Berdasarkan perhitungan diperoleh persamaan kurva kalibrasi adalah $y = 467,3396x + 18,0716$. Diperoleh hubungan yang linier antara luas area (cm²) dan konsentrasi (bpj) dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0.9923. Hasil pengujian memenuhi persyaratan berdasarkan ketentuan umum yaitu harga koefisien korelasi yang baik adalah mendekati 1 atau sama dengan 1 yang dijelaskan pada tabel 4 (Harmita, 2004).

3.4 Hasil Penentuan Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitatif (LOQ)

Penentuan batas deteksi dan kuantitasi dihitung secara statistik melalui garis regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai b pada persamaan garis linier $y = a + bx$, sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual (Sy/x) (Harmita, 2004; Riyanto, 2015).

Berdasarkan hasil pengukuran didapatkan nilai batas deteksi (LOD) sebesar 72601 μ g/mL pada panjang gelombang 252 nm dan batas kuantitasi (LOQ) sebesar 24,2004 μ g/mL pada panjang gelombang 252 nm, yang berarti jumlah dan konsentrasi terkecil kadar hidrokortison asetat dalam sampel dapat dideteksi dengan respon yang signifikan pada analisis menggunakan KCKT (Harmita, 2004).

3.5 Hasil Uji Presisi

Uji presisi ini diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). *Precision* dapat dinyatakan sebagai *repeatability* (keterulangan) atau *reproducibility* (ketertiruan) (Harmita, 2004; Riyanto, 2015). Analisis terhadap parameter keseksamaan ini

dilakukan dengan menginjeksi ke alat KCKT larutan hidrokortison asetat 2.5 bpj dengan 5 kali replikasi. Hasil pengukuran uji presisi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji rata-rata presisi

Keterangan	Luas Area (cm ²)
Replikasi 1	516,38
Replikasi 2	518,09
Replikasi 3	517,18
Replikasi 4	519,09
Replikasi 5	516,27
Rata-rata	517,402
SD	1,194
RSD	0,23 %

Berdasarkan data pada Tabel 4, diperoleh nilai RSD sebesar 0.23% menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memenuhi kriteria untuk suatu metode analisis yang seksama dan teliti. Kriteria ketelitian diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif $\leq 2\%$. Makin kecil simpangan baku relatif yang diberikan suatu metode analisis maka kesahihan metode tersebut lebih terjamin (Harmita, 2004).

3.6 Hasil Uji Perolehan Kembali (*Recovery*).

Uji akurasi dilakukan dengan menggunakan metode penambahan baku (*the method of standard additives*), yakni ke dalam sampel krim pemutih wajah dengan kode sampel A ditambahkan hidrokortison asetat baku sebanyak 100 % dari rerata kadar hidrokortison asetat yang terdapat pada sampel, kemudian dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Hasil dinyatakan dalam persen perolehan kembali (% *recovery*) (Harmita, 2004; Riyanto, 2015).

Uji akurasi perolehan kembali ini dilakukan penetapan dengan penambahan dua konsentrasi standar yang berbeda yaitu standar dengan konsentrasi 0,313 dan 1.25 bpj. Masing-masing standar diambil sebanyak 1.0 mL, kemudian dicampur dengan 1.0 mL larutan sampel yang diperiksa. Hasil percobaan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji akurasi perolehan kembali.

Replikasi	Luas Area Larutan sampel(cm ²)	Luas area sampel + standar 0,313 bpj (cm ²)	% <i>Recovery</i>	Rata-rata % <i>Recovery</i>
1	42,12537	48,053125	97,74883	98,24 %
2	42,58399	49,002365	98,87699	
3	42,15271	47,502351	98,10939	

Replikasi	Luas Area Larutan sampel(cm ²)	Luas area sampel + standar 1,25 bpj (cm ²)	% Recovery	Rata-rata % Recovery
1	42,12537	49,747522	98,70687	
2	42,12537	49,754892	99,20076	98,84 %
3	42,15271	49,678253	98,60611	

Berdasarkan data pada Tabel 5, diperoleh nilai akurasi % *recovery* sebesar 98,24 % dan 98,84 %, yang berarti bahwa metode yang digunakan cukup akurat untuk menganalisis, sebab nilai rentang rata-rata % *recovery* yang dihasilkan berada pada rentang yang diijinkan, yaitu 80-120 % (Harmita, 2004).

3.7 Hasil Uji Kualitatif Waktu Retensi dan Kuantitatif Luas Area Kromatogram Sampel

Penelitian ini menggunakan data luas area yang diperoleh untuk menghitung kadar, sebab luas area kromatogram sangat proposional dengan konsentrasi analit. Setelah dipastikan terdapat luas area pada sampel yang diuji berdasarkan waktu retensi dari standar analit, maka dilakukan penentuan kadar. Kurva baku yang telah dibuat dapat digunakan dalam mengukur kadar dari Hidrokortison Asetat dengan membuat hubungan antara luas area kromatogram dengan konsentrasi.

Pada hasil pengujian dengan metode KCKT didapat waktu retensi yang diperoleh untuk senyawa Hidrokortison Asetat adalah 1,668 menit. Pada percobaan sampel krim pemutih wajah merek A, B, C dan D terdapat puncak atau nilai luas area pada waktu retensi 1,668 menit. Hasil analisis data secara kualitatif dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Data hasil analisis kualitatif waktu retensi baku hidrokortison asetat dan sampel

Kode Sampel	Waktu retensi rata-rata baku hidrokortison asetat (menit)	Waktu retensi Sampel (menit)	RSD (%)
A	1,668	1,657	0,06
		1,656	
		1,658	
B	1,668	1,658	0,09
		1,657	
		1,655	
		1,649	

C	1,652	0,18
	1,655	
	1,659	
D	1,658	0,06
	1,657	

Sampel dinyatakan mengandung hidrokortison asetat jika puncak pada kromatogram sampel dan puncak pada kromatogram bahan pembanding memiliki waktu retensi yang tidak jauh berbeda yaitu $\pm 5\%$ dari waktu retensi puncak hidrokortison asetat (Badan POM RI, 2011). Hasil kromatogram dapat dilihat pada Gambar 2, 3, 4 dan 5.

Data luas area yang diperoleh untuk menghitung kadar, sebab luas area kromatogram sangat proporsional dengan konsentrasi analit. Setelah dipastikan terdapat luas area pada sampel yang diuji berdasarkan waktu retensi dari standar analit, maka dilakukan penentuan kadar. Kurva baku yang telah dibuat dapat digunakan dalam mengukur kadar dari hidrokortison asetat dengan membuat hubungan antara luas area kromatogram dengan konsentrasi.

Dilakukan perhitungan menggunakan persamaan garis $y = 467,3396x + 18.0716$ (y = luas area yang didapat dan x = konsentrasi analit) untuk menentukan kadar sampel krim pemutih wajah merek A, B, C dan D berdasarkan nilai luas area yang diperoleh. Hasil perhitungan kadar sampel krim pemutih wajah merek A, B, C dan D dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji kuantitatif senyawa hidrokortison asetat

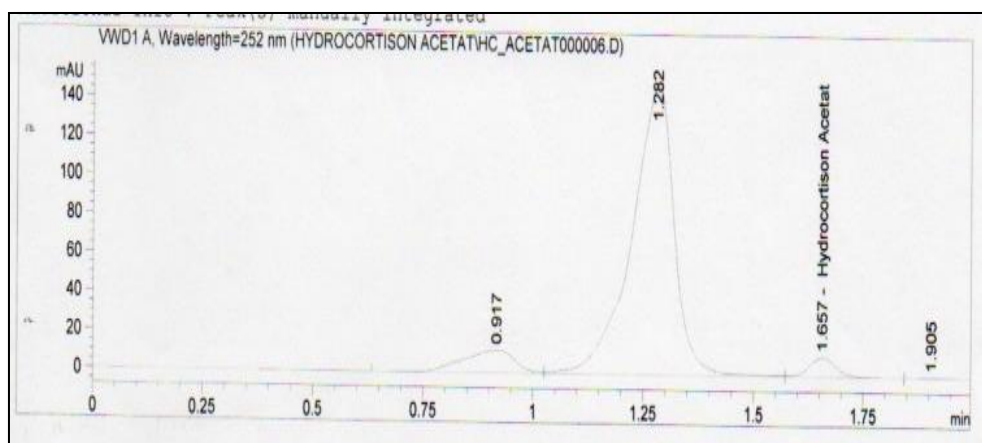
Kode Sampel	Replikasi	Luas area (cm^2)	Kadar ($\mu\text{g/g}$)	Rata- rata kadar ($\mu\text{g/g}$)
A	1	42,12537	1,0465	1,0583
	2	42,58399	1,0658	
	3	42,49782	1,0627	
B	1	24,08646	0,2641	0,3316
	2	26,27606	0,3583	
	3	26,58736	0,3726	
C	1	22,27606	0,1869	0,1513
	2	21,17060	0,1378	
	3	20,98065	0,1293	
D	1	44,46941	1,1619	1,1662
	2	41,55397	1,0336	
	3	47,67854	1,3032	

Teknosains : Jurnal Sains, Teknologi dan Informatika *is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.*

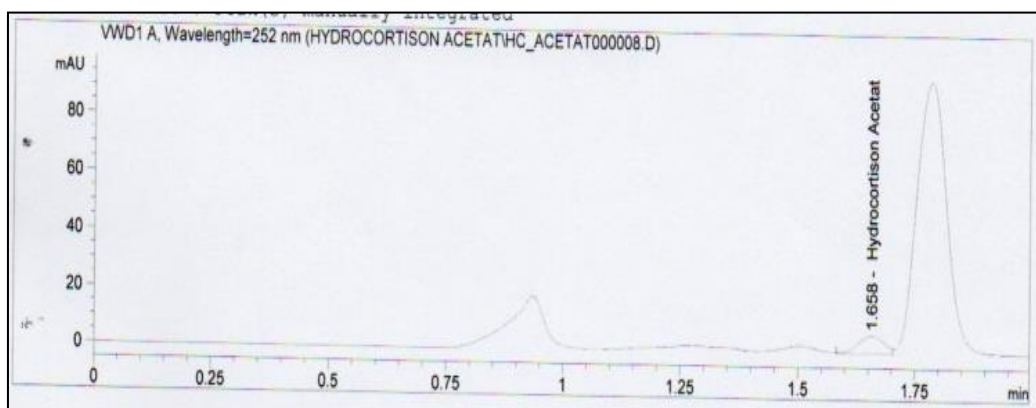
Analisis Hidrokortison Asetat Dalam Sediaan Krim Pemutih Wajah Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Vol.7, No1) Januari 2020

Berdasarkan data pada Tabel 7, didapatkan kadar rata-rata sampel krim pemutih wajah merk A sebesar 1,0583 $\mu\text{g/g}$; merek B sebesar 0,3316 $\mu\text{g/g}$; merek C sebesar 0,1513 $\mu\text{g/g}$; dan merek D sebesar 1,1662 $\mu\text{g/g}$. Hasil pengujian kuantitatif secara KCKT ini membuktikan bahwa krim pemutih wajah yang teregistrasi, registrasi palsu dan tidak teregistrasi mengandung Hidrokortison Asetat.

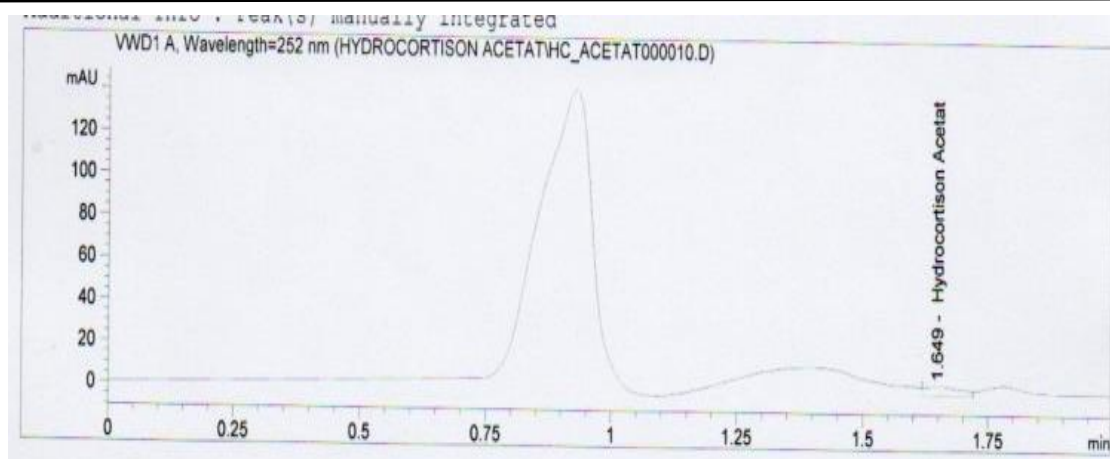
Berdasarkan Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 18 tahun 2015 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik, Hidrokortison Asetat tidak diperkenankan terdapat pada sediaan untuk perawatan kulit, sehingga kadar sekecil apapun dilarang terdapat pada sediaan krim pemutih wajah. Dari hasil penelitian menunjukkan adanya kandungan hidrokortison asetat pada sampel. Oleh karena itu, perlu pengawasan BPOM yang lebih ketat terhadap sediaan krim pemutih wajah yang teregistrasi dan tidak teregistrasi (BADAN POM RI, 2015).



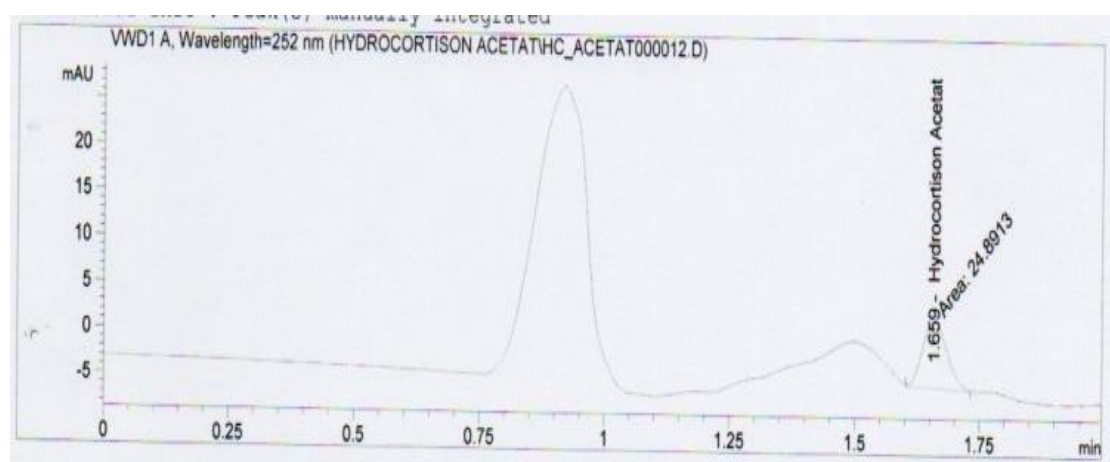
Gambar 2. Hasil kromatogram KCKT sampel krim pemutih yang positif mengandung senyawa hidrokortison asetat (sampel aeregistrasi)



Gambar 3. Hasil kromatogram KCKT sampel krim pemutih yang positif mengandung senyawa hidrokortison asetat (sampel B teregistrasi)



Gambar 4. Hasil kromatogram kckt KCKT sampel krim pemutih yang positif mengandung senyawa hidrokortison asetat (sampel C teregistrasi palsu)



Gambar 5. Hasil kromatogram KCKT sampel krim pemutih yang positif mengandung senyawa hidrokortison asetat (sampel D tidak teregistrasi)

4. SIMPULAN

Hasil analisis menunjukkan kondisi pemisahan yang baik menggunakan metode KCKT dengan kolom C₁₈, fase gerak asetonitril: aquabides (60:40 v/v), laju alir 1.0 ml/menit, detektor UV λ 252 nm. Semua komponen terpisah baik dalam waktu analisis kurang dari 2.0 menit. Hasil validasi metode menunjukkan bahwa metode yang digunakan dalam penelitian ini memenuhi persyaratan akurasi, presisi, linieritas, LOD dan LOQ. Hasil penelitian menunjukkan metode memiliki linieritas yang baik ($r = 0.9923$). Hasil akurasi sebesar 98.24% dan 98.84 %. Hasil presisi sebesar 0.23 %. Hasil LOD sebesar 7.2601 $\mu\text{g/mL}$ dan hasil LOQ sebesar 24.2004 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil yang diperoleh keempat sampel krim mengandung hidrokortison

Teknosains : Jurnal Sains, Teknologi dan Informatika *is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.*

asetat dengan kadar masing-masing sampel A= 1.0583 µg/g, sampel B = 0.3316 µg/g, sampel C = 0.1513 µg/g, dan sampel D = 1.1662 µg/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan POM RI. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Tahun 2011 Tentang Metode Analisis Kosmetika, Pub. L. No. HK.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011, 1 (2011). Indonesia.
- Badan POM RI. Perubahan Atas Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 1 Tahun 2016 Tentang Pedoman Teknis Pengawasan Iklan Kosmetika, Pub. L. No. 18 Tahun 2016, 1 (2016). Indonesia.
- BADAN POM RI. Rencana Strategis Biro Umum Badan Pengawas Obat dan Makanan Tahun 2015 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik, Pub. L. No. HK.04.2.24.06.15.04189 Tahun 2015, 1 (2015). Indonesia.
- Goldman, M. P., & Weiss, R. A. (2011). *Sclerotherapy Treatment of Varicose and Telangiectatic Leg Veins* (6th Ed). London: Elsevier.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Penggunaannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117–135.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Tentang Izin Produksi Kosmetika, Pub. L. No. 1175/MENKES/PER/VIII/2010, 1 (2010). Indonesia.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Tentang Notifikasi Kosmetika, Pub. L. No. 1176/MENKES/PER/VIII/2010, 1 (2010). Indonesia.
- Mohd Zukepli, N. W., Zakaria, S. R., & Wan Omar, W. S. A. (2015). Assessment on hydroquinone in selected cosmetic cream and toner via high performance liquid chromatography and ultra-violet visible detector spectrometry. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 19(4), 824–830.
- Ritter, J. M., Lewis, L. D., Mant, T. G., & Ferro, A. (1981). *Clinical Pharmacology and Therapeutics* (5th ed.). Great Britain: Hodder Arnold.
- Riyanto. (2015). *Validasi & Verifikasi Metode Uji Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi* (1st Ed). Sleman, Yogyakarta: deepublish.