



Analysis of Oxybenzone in Sunscreen Lotions Using Validated Reversed Phase TLC-Densitometry

Regina Andayani^{*1}, Retno P. Andira¹, Fithriani Armin¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang, Sumatra Barat, Indonesia

Submitted 14 December 2022; Revised 27 February 2023; Accepted 20 March 2023; Published 28 October 2024

*Corresponding author: reginaandayani@phar.unand.ac.id

Abstract

Sunscreen serves to protect the skin from sun exposure. One of the active ingredients in sunscreen, oxybenzone, has the potential to cause skin allergies, redness, dryness, and acne. This study is focused on optimizing and validating the thin layer chromatography (TLC)-densitometry method in reversed-phase to analyse oxybenzone in sunscreen lotions. The stationary phase used was the TLC silica gel 60 RP-18 F254. The acetonitrile and aquabidest were mixed in a ratio of 18:3 for the mobile phase. The R_f values for oxybenzone in lotions A and B were both 0.63. In lotions A and B, the resolutions of oxybenzone were 2.53 and 3.2, respectively. In the 50–250 $\mu\text{g/mL}$ range, oxybenzone showed a correlation coefficient (r) of 0.999, a limit of detection of 16.37 $\mu\text{g/mL}$, and a limit of quantitation of 49.39 $\mu\text{g/mL}$. The precisions of lotions A and B were $\leq 2\%$. Lotions A and B had oxybenzone recovery rates ranging from 99.33% to 99.63%. The examination showed that lotion A contained 3.4% oxybenzone while lotion B contained 2.59% oxybenzone. The TLC-densitometry method in reversed phase is a reliable technique for assessing oxybenzone in sunscreen lotions.

Keywords: Oxybenzone, Reversed phase, Sunscreen lotion, Thin layer chromatography-densitometry, Validated

Analisis Oksibenzon dalam Losion Tabir Surya Menggunakan KLT-Densitometri Fase Terbalik Tervalidasi

Abstrak

Tabir surya bermanfaat untuk melindungi kulit dari paparan sinar matahari. Salah satu bahan aktif dalam tabir surya, yaitu oksibenzon, berpotensi menimbulkan alergi kulit, kulit kemerahan, kulit kering, dan jerawat. Penelitian ini difokuskan pada analisis oksibenzon dalam losion tabir surya dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) densitometri fase terbalik yang dioptimasi dan tervalidasi. Silika gel KLT 60 RP-18 F254 digunakan sebagai fase diam. Sedangkan fase geraknya adalah asetonitril dan akuabides dengan perbandingan 18:3. Losion A dan B mempunyai nilai R_f oksibenzon masing-masing adalah 0,63. Pada losion A dan B, resolusi oksibenzon masing-masing adalah 2,53 dan 3,2. Dalam kisaran 50 – 250 $\mu\text{g/mL}$, oksibenzon menunjukkan koefisien korelasi (r) sebesar 0,999, dengan batas deteksi sebesar 16,37 $\mu\text{g/mL}$ dan batas kuantisasi sebesar 49,39 $\mu\text{g/mL}$. Presisi losion A dan B adalah $\leq 2\%$. Persen perolehan kembali oksibenzon dalam losion A dan B berkisar antara 99,33% hingga 99,63%. Analisis menunjukkan bahwa losion A dan B mengandung oksibenzon sebesar 3,4% dan 2,59%. Metode KLT-Densitometri fase terbalik adalah metode yang tervalidasi untuk menganalisis kandungan oksibenzon dalam losion tabir surya.

Kata Kunci: Oksibenzon, Fase terbalik, Losion tabir surya, Kromatografi lapis tipis-densitometri, Validasi

1. Pendahuluan

Tabir surya adalah salah satu cara untuk melindungi kulit dari sinar matahari. Salah satu bahan aktif tabir surya adalah oxybenzone.¹

Oksibenzon atau benzofenon-3 merupakan benzofenon tersubstitusi yang digunakan secara topikal sebagai tabir surya. Senyawa ini secara efektif menyerap sinar ultraviolet A (UV-A) dan ultraviolet (UV-B).² Kandungan oksibenzon pada tabir surya dilaporkan dapat menyebabkan efek samping dermatitis kontak, dermatitis foto kontak alergi, psoriasis, *polymorphic light eruption*, dan *persistent light reactivity*.^{2,3}

Pada tahun 2014 *American Contact Dermatitis Society* mendaftarkan benzofenon sebagai salah satu alergen yang menyebabkan reaktivitas alergi dan fotoalergi, dimana oksibenzon (benzofenon-3) merupakan penyebab terjadinya alergi yang ditemukan di 68% dari 201 produk tabir surya yang diuji.⁴ Dilihat dari beberapa efek samping yang ditimbulkan oleh oksibenzon Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, melalui Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 23 Tahun 2019 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika memaparkan bahwa batas penggunaan maksimum oksibenzon dalam tabir surya adalah 6%.⁵ Karena hal tersebut, diperlukan suatu metode penelitian yang tervalidasi untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi kadar zat oksibenzon yang terkandung di dalam produk tabir surya.^{6,7}

Analisis oksibenzon telah dilakukan dengan berbagai cara. Beberapa di antaranya adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) fase terbalik oleh Bhuva, *et al.*, (2012) dan kromatografi lapis tipis kinerja tinggi fase terbalik-densitometri oleh Westgate dan Sherma (2000)^{8,9} dan Kale *et al.* (2014).¹⁰

Westgate dan Sherma (2000) menggunakan etanol absolut sebagai pelarut, plat KLTKT silika gel RP-18 F254S sebagai fase diam, dan metanol:tetrahidrofur:air (50:35:15) sebagai fase gerak. Nilai Rf yang didapatkan sebesar 0,58.

Kale, *et al.*, (2014) telah melakukan

analisis oksibenzon dalam sediaan krim tabir surya menggunakan metanol sebagai pelarut, KLT silika gel 60 RP-18 F254 sebagai fase diam, asetonitril:air (18:2) v/v sebagai fase gerak, dan sistem kromatografi lapis tipis kinerja tinggi (KLTKT) yang terdiri dari aplikator sampel otomatis CAMAG linomat IV sebagai alat pengaplikasian sampel. Nilai Rf yang didapatkan sebesar 0,63. Namun, masih sedikit informasi yang dikumpulkan tentang penelitian yang menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) densitometri sebagai metode alternatif untuk mengidentifikasi dan menentukan kadar oksibenzon dalam losion tabir surya. Metode KLT-Densitometri memiliki keunggulan dibandingkan metode lain, yaitu lebih efisien, lebih mudah dalam memilih fase gerak yang digunakan, dan tersedia berbagai cara untuk mengoptimalkan teknik pemisahan yang mampu mendeteksi seluruh komponen dalam sampel, memiliki ketepatan dalam penentuan kadar, dan dapat digunakan secara universal untuk analisis senyawa yang sangat kecil, sehingga ideal bagi laboratorium.¹⁰

Optimasi dan validasi metode analisis adalah fokus pada penelitian ini yang belum dilakukan oleh Kale, *et al.*, (2014). Optimasi fase gerak pada penelitian ini perlu dilakukan agar keadaan yang dihasilkan tetap akurat dan ideal selama proses analisis. Validasi metode analisis perlu dilakukan karena pada penelitian ini terdapat modifikasi dari metode yang dilakukan peneliti sebelumnya yang berupa perbedaan jenis pelarut, proses penyiapan sampel, dan teknik pengaplikasian sampel. Metode KLT fase terbalik dan densitometri yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan etanol sebagai pelarut, sebagai fase diam adalah KLT silika gel 60 RP-18 F254S, fase geraknya adalah aseton; asetonitril; dan aquabidest serta CAMAG nanomat 4 sebagai alat pengaplikasian sampel.^{11,12} KLT fase terbalik digunakan karena oksibenzon bersifat hidrofob, sifat fase diam yang non polar dan sifat fase gerak yang polar dapat menyebabkan pemisahan komponen yang terkandung dalam larutan uji.¹³

2. Metode

2.1. Alat

TLC-Scanner 4 (Camag®), *chamber*, Nanomat 4 (Camag®), pipa kapiler 1 µL, *Spektrofotometer UV-Vis* (Shimadzu UV 1900), timbangan analitik, oven, sonikator, erlenmeyer, spatel, batang pengaduk, labu ukur, pipet ukur, mikropipet (SCILOGEX), dan alat-alat gelas lainnya.

2.2. Bahan

KLT silika gel 60 RP-18 F254 (Merck®), oksibenzon BPFI (BPOM), losion A, losion B, etanol absolut p.a (Merck®), aquabidest, aseton p.a (Merck®), asetonitril p.a (Merck®), kertas saring, kertas saring whatman no. 42, dan kertas perkamen.

2.3. Prosedur Penelitian

2.3.1. Pengambilan Sampel dan Penyiapan larutan Uji

Sampel berupa losion tabir surya kimia SPF 50 mengandung oksibenzon yang didapatkan dari *e-commerce*. Losion A memiliki izin edar BPOM sementara losion B tidak memiliki izin edar BPOM. Pada penelitian ini dilakukan pengujian terhadap lotion A dan lotion B untuk menjadi bahan perbandingan dari kedua lotion, apakah lotion telah memenuhi syarat maksimum penggunaan oksibenzon dalam tabir surya sesuai dengan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 23 Tahun 2019 Tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika.

Metode ini merupakan modifikasi dari metode Kale *et al* (2014). Masing-masing losion ditimbang seksama sebanyak 100 mg untuk losion A dan 200 mg untuk losion B diatas kaca arloji. Ke dalam erlenmeyer dimasukkan losion dan ditambahkan 17 mL etanol absolut dan disonikasi dalam waktu 5 menit pada suhu 35°C. Kertas saring Whatman No. 42 digunakan untuk menyaring campuran ke dalam labu ukur 25 mL. Kemudian, kertas saring dibilas dan ditambahkan etanol absolut hingga tanda batas.^{10,14}

2.3.2. Penyiapan Larutan Baku Oksibenzon

Konsentrasi larutan baku oksibenzon 1000 µg/mL dibuat dengan menimbang

seksama oksibenzon baku sebanyak 50 mg diatas kertas perkamen. Ke dalam labu ukur 50 mL dimasukkan oksibenzon baku dan ditambahkan etanol absolut hingga tanda batas.

Dipipet masing-masing 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25 mL larutan baku oksibenzon 1000 µg/mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan etanol absolut hingga tanda batas. Sehingga diperoleh larutan baku oksibenzon konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250 µg/mL.

Dipipet sebanyak 0,4 mL larutan baku oksibenzon dengan konsentrasi 100 µg/mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL ditambahkan etanol absolut hingga tanda batas. Sehingga diperoleh larutan baku oksibenzon 8 µg/mL.

2.3.3. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Oksibenzon dalam Pelarut Etanol Absolut

Oksibenzon dengan konsentrasi 8 µg/mL ditentukan panjang gelombang serapan maksimumnya dengan *spektrofotometer UV-Vis* pada panjang gelombang 200 – 400 nm.

2.3.4. Penyiapan Sistem Kromatografi Lapis Tipis

Silika gel 60 RP-18 F254 sebagai plat KLT dengan ukuran (20×10)cm. Garis awal dan garis atas plat adalah 1 cm dari tepi plat sehingga jarak elusi adalah 8 cm (15). Jarak penotolan adalah 0,5 cm yang dimulai 0,5 cm dari pinggir plat. Plat KLT diaktifkan dengan cara dipanaskan menggunakan oven selama 10 menit pada suhu 110°C. Sebelum elusi dilakukan, *chamber* dijenuhkan dengan fase gerak yang ditandai dengan kertas saring sudah terbasahkan seluruhnya.

2.3.5. Optimasi Fase Gerak

Optimasi fase gerak dilakukan pemilihan fase gerak dengan komposisi asetonitril: aquabidest 18:2 (v/v), asetonitril: aquabidest 18:3 (v/v), asetonitril: aquabidest 18:4 (v/v), aseton: aquabidest 20:2 (v/v), aseton: aquabidest 20:4,5 (v/v), aseton: aquabidest 20:7 (v/v), dan aseton: aquabidest 20:9,5 (v/v).

Fase gerak asetonitril dan aquabidest dipilih sesuai dengan penelitian Kale, *et al.*, (2014) yang menggunakan asetonitril:air dengan perbandingan 18:2 v/v sebagai fase gerak.¹⁰ Aseton digunakan sebagai fase gerak alternatif lain karena aseton memiliki indeks polaritas yang mendekati asetonitril dimana, aseton memiliki indeks polaritas sebesar 5,1 dan asetonitril 5,8.¹⁶

Fase gerak yang terbaik adalah fase gerak yang mempunyai nilai resolusi (R_s) $\geq 1,5$; memenuhi kriteria R_f dengan rentang 0,2 – 0,8; nilai N paling besar; nilai JSTP paling kecil.¹⁷

2.3.6. Identifikasi Sampel

Larutan baku oksibenzon dan larutan uji ditotolkan pada plat KLT sebanyak 1 μL dengan nanomat. Plat dielusi dengan fase gerak terpilih dalam chamber hingga fase gerak mencapai garis batas atas pada plat. Bercak yang dihasilkan pada plat diamati dengan lampu UV 254 nm. Losion dinyatakan teridentifikasi oksibenzon jika tinggi bercak dan nilai R_f larutan baku oksibenzon dengan larutan uji sama.

2.3.7. Validasi Metode Analisis

a. Uji Spesifisitas

Larutan baku oksibenzon dan larutan uji ditotolkan pada plat KLT sebanyak 1 μL dengan nanomat. Uji spesifisitas dapat ditentukan oleh nilai resolusi dan nilai kemurnian puncak. Suatu metode dinyatakan spesifik jika nilai resolusi (R_s) $\geq 1,5$ dan koefisien korelasi puncak densitogram (r) $\geq 0,999$.^{7,12}

b. Linearitas

Larutan baku oksibenzon dengan lima deret konsentrasi yaitu 50, 100, 150, 200, 250 $\mu\text{g/mL}$ masing-masing ditotolkan pada plat KLT sebanyak 1 μL dengan nanomat. Kurva kalibrasi dibuat dengan memplot hubungan antara konsentrasi (X) dan luas area (Y) oksibenzon. Persamaan regresi $Y = a + bX$ dan nilai koefisien korelasi (r) $r \geq 0,999$ menyatakan hasilnya linier.^{7,12}

c. Batas Deteksi (BD) dan Batas Kuantitasi

(BK)

Batas deteksi dan batas kuantitasi ditentukan secara statistik melalui persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi yang diperoleh.^{7,12}

d. Presisi

Presisi ditentukan dengan dua jenis yaitu keterulangan dan presisi antara. Penentuan keterulangan dilakukan terhadap larutan baku konsentrasi 100% dari konsentrasi larutan uji yang ditotolkan pada plat KLT sebanyak 1 μL dengan nanomat sebanyak enam kali penotolan. Sedangkan presisi antara dilakukan pada konsentrasi yang sama tetapi dilakukan selama tiga hari secara berturut-turut.¹⁶ Presisi dapat ditentukan oleh nilai simpangan baku (SB) dan simpangan baku relatif (KV). Suatu metode dinyatakan presisi jika nilai SB dan KV sebesar $< 2\%$.^{7,12}

e. Akurasi

Akurasi dilakukan dengan metode standar adisi. Masing-masing losion ditimbang seksama sebanyak 100 mg untuk losion A dan 200 mg untuk losion B di atas kaca arloji. Losion dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian larutan baku oksibenzon dengan konsentrasi 80, 100 dan 120% dari konsentrasi sampel ditambahkan dan disonikasi selama 5 menit pada suhu 35°C . Kertas saring Whatman no. 42 digunakan untuk menyaring campuran ke dalam labu ukur 25 ml, tambahkan sisa etanol absolut untuk membas kertas saring dan mencukupkan hingga tanda batas. Larutan baku oksibenzon, larutan uji, dan larutan baku oksibenzon yang ditambahkan larutan uji ditotolkan pada plat KLT sebanyak 1 μL dengan nanomat. Akurasi dapat ditentukan oleh nilai persen perolehan kembali. Suatu metode dinyatakan akurat jika nilai persen perolehan kembali sebesar 98 – 102%.^{7,12}

2.3.8. Penetapan Kadar Oksibenzon dalam Losion

Larutan baku oksibenzon pada uji linearitas dan larutan uji ditotolkan pada plat KLT sebanyak 1 μL dengan nanomat. Konsentrasi oksibenzon dalam larutan uji dihitung dengan memplot data luas area dari

densitogram yang diperoleh pada persamaan regresi linier ($y = a + bx$).

3. Hasil

Spektrum serapan UV oksibenzon konsentrasi 8 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut etanol absolut ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200 – 400 nm. Terdapat tiga puncak dengan panjang gelombang 243,4; 287,6; dan 324 nm dengan absorban 0,201; 0,327; dan 0,240 secara berturut-turut. Sehingga panjang gelombang serapan maksimum untuk analisis oksibenzon adalah 287,6 nm (Gambar 1).

Fase gerak yang terpilih setelah dilakukan optimasi adalah asetonitril:aquabidest (18:3) v/v. Losion dinyatakan teridentifikasi oksibenzon yang dapat dilihat pada (Gambar 2) tinggi bercak dan nilai R_f larutan baku oksibenzon sama dengan salah satu bercak yang terdapat pada larutan uji yaitu 0,63.

Nilai resolusi yang diperoleh dari pengujian spesifisitas adalah 2,53 untuk larutan uji losion A dan 3,2 untuk larutan uji losion B. Nilai korelasi spektra pada posisi awal dengan tengah ($r_{S.M}$) dan korelasi spektra pada posisi tengah dengan akhir ($r_{M.E}$) yang didapatkan pada uji kemurnian puncak $\geq 0,999$ (Gambar 3, Tabel 1).

Persamaan regresi $y = 32,096x + 86,603$ menghasilkan linieritas pada rentang konsentrasi antara 50 dan 250 g/mL , dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,999. Batas

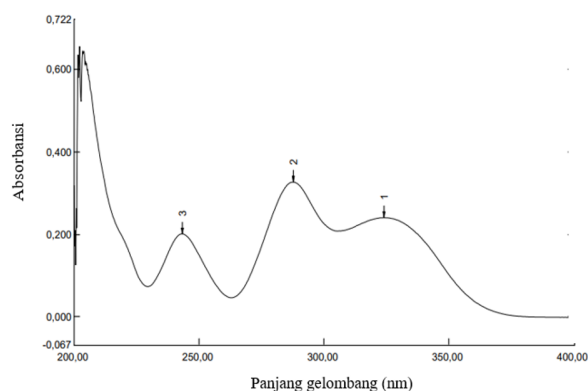
deteksi dan batas kuantisasi metode ini adalah 16,37 $\mu\text{g/mL}$ dan 49,59 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 2). Pada konsentrasi 141,99 $\mu\text{g/mL}$ dan 213,03 $\mu\text{g/mL}$ dilakukan uji presisi. Presisi intrahari didapatkan nilai %KV masing-masing konsentrasi larutan sebesar 1,02% dan 0,77% (Tabel 2). Sedangkan pada presisi antarahari diperoleh nilai %KV rata-rata selama 3 hari masing-masing konsentrasi larutan sebesar 0,39% dan 0,23% (Tabel 2).

Persen perolehan kembali uji akurasi losion A pada setiap penambahan baku sebesar 98,69%; 99,03%; 100,27% dan losion B sebesar 99,57%; 98,93%; 100,41% (Tabel 2).

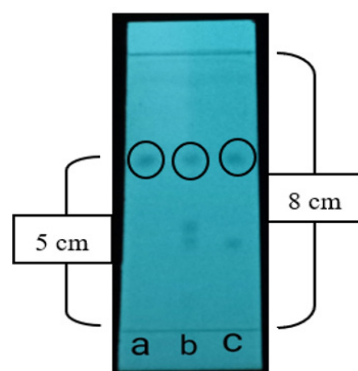
Persentase kadar oksibenzon yang diperoleh dalam losion tabir surya A dan B masing-masing adalah 3,4% dan 2,59% (Tabel 3).

4. Pembahasan

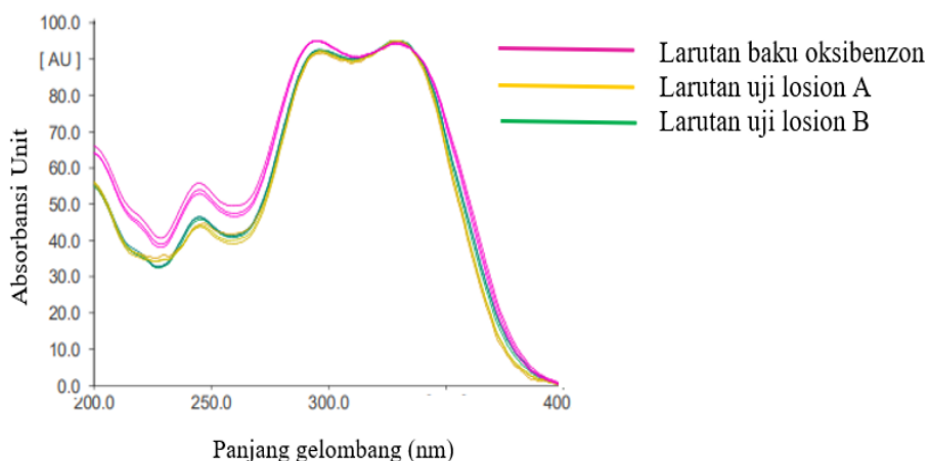
Setiap sampel losion tabir surya dilarutkan menggunakan etanol absolut p.a. Pemilihan etanol absolut sebagai pelarut karena oksibenzon mudah larut dalam etanol absolut dan rendahnya toksisitas dari penggunaan etanol sehingga aman digunakan dalam penyiapan sampel.^{12,18} Losion yang telah dilarutkan disonikasi untuk mempercepat waktu kontak losion dengan pelarut yang memanfaatkan gelombang ultrasonik.¹⁹ Campuran yang telah disonikasi disaring untuk memisahkan bahan yang tidak larut dengan zat yang diuji yaitu oksibenzon.¹⁸



Gambar 1. Spektrum panjang gelombang serapan maksimum oksibenzon dengan konsentrasi 8 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut etanol



Gambar 2. Profil plat KLT yang dielusi dengan fase gerak asetonitril:aquabidest (18:3) v/v dilihat di bawah lampu UV 254 nm (a) larutan baku oksibenzon, (b) larutan uji losion A, dan (c) larutan uji losion B



Gambar 3. Spektra kemurnian puncak oksibenzon

Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum oksibenzon supaya hasil yang didapatkan optimal dan akurat dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200 – 400 nm. Pengukuran panjang gelombang serapan maksimum pada rentang UV dilakukan karena struktur oksibenzon terdiri dari gugus kromofor seperti gugus C=C (karbon), C=O (karbonil) tersusun dari ikatan rangkap terkonjugasi yang memiliki ikatan π dan ikatan n pada atom yang memiliki elektron bebas yang bertanggung jawab dalam absorpsi cahaya.¹⁹ Didapatkan tiga puncak dengan panjang gelombang 243,4; 287,6; dan 324 nm dengan absorbansi 0,201; 0,327; dan 0,240 secara berturut-turut.

Untuk analisis oksibenzon digunakan panjang gelombang serapan maksimum yaitu 287,6 nm dengan absorbansi 0,327 (Gambar 1). Oleh karena sensitivitas pengukuran yang maksimum, dan kurva absorbansi yang datar dapat diperoleh pada panjang gelombang serapan maksimum dan kesalahan yang minimum bila dilakukan pengukuran ulang (Hukum Lambert-Beer akan terpenuhi).

Sesuai penelitian oleh Kale, *et al.*, (2014), fase gerak adalah asetonitril dan aquabidest dengan perbandingan 18:2 v/v.¹⁰ Aseton digunakan sebagai fase gerak

alternatif lain karena aseton memiliki indeks polaritas yang mendekati asetonitril dimana, aseton memiliki indeks polaritas sebesar 5,1 dan asetonitril 5,8.¹⁶ Pada kromatografi fase terbalik, fase diam adalah non polar dan fase gerak adalah polar, maka dipilih fase gerak campuran asetonitril-air dan aseton-air dengan beberapa perbandingan.

Fase gerak yang terpilih setelah dilakukan optimasi adalah asetonitril:aquabidest (18:3) v/v, dimana fase gerak tersebut memenuhi persyaratan fase gerak yang baik dengan memenuhi syarat nilai R_s ; 2-3, R_f : 0,63; N ; 374,8, dan JSPT: 0,0441.¹⁵

Pada penelitian ini diperoleh hasil bahwa dengan peningkatan indeks kepolaran fase gerak yang digunakan, maka semakin rendah nilai R_f oksibenzon. Hal ini disebabkan senyawa oksibenzon bersifat hidrofob. Kromatografi fase terbalik memiliki prinsip jika senyawa yang bersifat hidrofil akan terelusi lebih awal bersama fase gerak yang polar dan senyawa yang hidrofob akan tertambat lebih lama pada fase diam yang non polar.²⁰

Spesifisitas ditentukan melalui uji resolusi dan uji kemurnian puncak. Nilai resolusi yang didapatkan dari pengujian ini memenuhi persyaratan nilai resolusi (R_s) $\geq 1,5$.¹⁵ Spektra larutan baku, larutan uji losion

Tabel 1. Uji kemurnian puncak oksibenzon

No	Puncak	Korelasi spektra	Korelasi spektra
		Peak start (s), peak apex (m)	Peak apex (m), peak end (e)
1	Baku oksibenzon	0,999694	0,999322
2	Larutan uji losion A	0,999924	0,999824
3	Larutan uji losion B	0,999916	0,999553

Tabel 2. Data linearitas, batas deteksi, batas kuantisasi, presisi, dan akurasi

No	Parameter	Konsentrasi	Hasil
1	Linearitas	50,05; 100,1; 150,15;	$y = 32,096x + 86,603$
2	Batas deteksi	200,2; 250,25 µg/mL	16,37 µg/mL
3	Batas kuantisasi		49,59 µg/mL
4	Presisi		
	Losion A		KV (%)
	Intrahari	141,99 µg/mL	1,02%
	Antarhari	141,99 µg/mL	0,39%
	Losion B		
	Intrahari	213,03 µg/mL	0,77%
	Antarhari	213,03 µg/mL	0,23%
5	Akurasi		Perolehan kembali (%)
	Losion A	80%	98,69%
		100%	99,03%
		120%	100,27%
			Rata-rata = 99,33%
	Losion B	80%	99,57%
		100%	98,93%
		120%	100,41%
			Rata-rata = 99,63%

A, dan losion B pada posisi awal dan akhir memenuhi syarat korelasi dengan spektra pada posisi tengah dengan nilai korelasi $r_{S.M}$ dan $r_{M.E} \geq 0,999$ sehingga dapat disimpulkan bahwa noda/ puncak kromatogram tersebut adalah murni dan metode ini spesifik.

Persamaan regresi dari kurva kalibrasi diperoleh nilai koefisien korelasi (r) $\geq 0,999$. Hasil ini menunjukkan bahwa persamaan linieritas tersebut memberikan hubungan yang linier pada rentang konsentrasi 50-250 µg/mL, sehingga persamaan linieritas ini dapat digunakan untuk menentukan kadar oksibenzon.

Dari persamaan regresi linear yang diperoleh selanjutnya dapat dihitung batas deteksi dan batas kuantitasi.¹² Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi adalah 16,37 µg/mL dan 49,59 µg/mL. Semakin rendah nilai

batas deteksi dan batas kuantitasi yang di dapat maka semakin sensitif metode analisis yang digunakan.²¹ Konsentrasi oksibenzon yang diperoleh dalam losion A adalah 141,99 µg/mL (3,40%) dan losion B adalah 212,03 µg/mL (2,59%). Konsentrasi oksibenzon dalam losion lebih besar dari nilai batas deteksi dan kuantitasi sehingga dapat disimpulkan bahwa analisis memenuhi kriteria presisi dan akurasi. Kadar oksibenzon dalam yang diperoleh pada losion tidak melebihi kadar maksimum yang diizinkan oleh BPOM yaitu $< 6\%$.⁵ Sampel uji adalah kosmetika yang mengandung tabir surya dan tidak terdapat klaim kadar oksibenzon pada etiket sediaan tersebut. Pada kemasan hanya tertera komposisi bahan dari sampel yang diuji.

Penentuan presisi dilakukan terhadap larutan baku dengan konsentrasi 100% dari

Tabel 3. Penetapan kadar oksibenzon dalam losion

NO	Sampel	AUC rata-rata ± SD	Konsentrasi larutan uji diperoleh (µg/mL)	Kadar Oksibenzon dalam losion (µg/mg)	%
1	Losion A (1 tube)	4643,97 ± 35,99	141,99	34,02	3,4
2	Losion B (1 tube)	6892 ± 65,09	212,03	25,9	2,59

larutan uji yang ditotolkan sebanyak enam kali pengulangan. Konsentrasi larutan baku yang diuji untuk setiap losion A dan B adalah 141,99 µg/mL dan 213,03 µg/mL. Metode ini dapat dinyatakan presisi karena telah memenuhi persyaratan nilai persen koefisien variasi yaitu < 2%.^{7,12} Nilai koefisien variasi dapat beragam tergantung pada jumlah analit yang dianalisis dan kondisi laboratorium yang digunakan.²¹

Metode ini dinyatakan akurat karena telah memenuhi persyaratan persen perolehan kembali yaitu berada dalam rentang 98 – 102%.²¹

5. Kesimpulan

Penelitian ini, menunjukkan bahwa metode KLT-Densitometri fase terbalik dengan KLT silika gel 60 RP-18 F254 sebagai fase diam, dan asetonitril:aquabidest (18:3) v/v sebagai fase gerak memenuhi kriteria validasi metode analisis. Nilai R_f Oksibenzon adalah 0,63 dan kadar oksibenzon pada losion A dan B masing-masing adalah 3,4 % dan 2,59 %.

Referensi

1. Mirsky RS, Prado G, Svoboda RM, Rigel DS. Oxybenzone and sunscreens: a critical review of the evidence and a plan for discussion with patients. *The National Society for Cutaneous Medicine*. 2018;2(5):264.
2. Sweetman. *Martindale the complete drug reference thirty-eighth edition*. J Chem Inf Model. 2014;53(9).
3. Russo JP, Ipiña A, Palazzolo JF, Cannavó AB, Piacentini RD, Niklasson B. Photoallergic contact dermatitis to sunscreens containing oxybenzone in La Plata, Argentina. *Actas Dermosifiliogr (Engl Ed)*. 2018;109(6):521-528.
4. Dinardo JC, Downs CA. Dermatological and environmental toxicological impact of The sunscreen ingredient oxybenzone/benzophenone-3. *J Cosmet Dermatol*. 2017;00:1-5.
5. BPOM RI. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 23 Tahun 2019 Tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik. BPOM RI. 2019.
6. Eserian JK, Lombardo M. Method validation in pharmaceutical analysis: from theory to practical optimization. *Inov Pharm*. 2015;6(1):1-3.
7. Rohman A. Validasi dan penjaminan mutu metode analisis kimia. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press;2022.
8. Bhuvu C, Singh R, Sharma A. Analytical method development for simultaneous estimation of oxybenzone, octocrylene, octinoxate, and avobenzone in sunscreen by high performance liquid chromatography and its validation. *Pharmacophore*. 2012;3 (2):130-55.
9. Westgate E, Sherma J. Determination of the sunscreen oxybenzone in lotions by reversed-phase HPTLC with ultraviolet absorption densitometry. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2007;23(4):609-15.
10. Kale S, Kulkarni K, Ugale P, Jadav K. Application of HPTLC for The qualitative and quantitative analysis of avobenzone, oxybenzone, octinoxate in sunscreen cream. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2014;6(8):391-4.
11. Mohamed AMI, Omar MA, Derayea SM, Hammad MA, Mohamed AA. Validated thin layer chromatographic method for alternative and simultaneous determination of two anti-gout agents in their fixed dose combinations. *Open Chem*. 2018;16(1).
12. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human use. ICH guideline Q2(R2) on validation of analytical procedures. Amsterdam: European Medicines Agency;2022.
13. Rohman A. Kimia Farmasi Analisis untuk Mahasiswa. Yogyakarta: Pustaka Pelajar;2022.
14. Narloch I, Wejnerowska G. An overview of the analytical methods for the determination of organic ultraviolet filters in cosmetic products and human samples. *molecules*. 2021, 26(4780): 1-27.
15. Wulandari L. Thin-layer chromatography. Jember: PT. Presindo Campus Park.

- World Health Organization. Fact Sheet No. 138. 2011; Available on site: <https://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs138/en>. Retrieved 15 April 2019.
16. Rubiyanto D. Teknik dasar kromatografi. Yogyakarta: Deepublish; 2016.
 17. Fayed AS, Hegazy MA, Kamel EB, Eissa MS. HPLC-UV and TLC densitometry methods for simultaneous determination of sofosbuvir and daclatasvir: application to Darvoni® tablet. *Journal of Chromatographic Science*. 2022;60(6):606–12.
 18. Perez RA, Alberio B. Ultrasound-assisted extraction methods for the determination of organic contaminants in solid and liquid samples. *Trends in Analytical Chemistry*. 2023;166:1-13.
 19. Sastrohamidjojo H. Dasar-dasar spektroskopi. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press;2018.
 20. Susanti M, Dachriyanus D. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Padang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi Universitas Andalas;2017.
 21. Riyanto. Validasi & Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi. Yogyakarta: Deepublish; 2014.