

Studi Literatur Metode Analisis Penetapan Kadar Asam Traneksamat dalam Kosmetik

Tiara Az-zahra Choerunisa*, Bertha Rusdi

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

*tiaraazahra51@gmail.com, bertha.rusdi@unisba.ac.id

Abstract. Tranexamic acid (TA) is an important active substance in pharmaceutical formulations as a fibrinolytic agent. Some researchers have found that tranexamic acid is a relatively new therapeutic agent for melasma. Topical agents containing tranexamic acid are considered safer because there is no systemic absorption. This research is a literature study or systematic literature review. This research uses a systematic literature review approach regarding the analysis of determining levels of tranexamic acid in cosmetics published in journals using various analytical methods such as HPLC, HPLC-UV and HPLC-SM/SM. Based on the results of the review of these 6 journals, the linearity parameter range is 0.993-0.9993%; linearity parameters, namely 0.71-104.85%; accuracy parameters, namely 99.789-101.8%; RSD value 0.24-11.35%; and RE values are lower than 2.62% and 4.96%. The most appropriate, fast, efficient and accurate method according to the objectives is to use the HPLC method.

Keywords: *Tranexamic acid in cosmetics, determination of tranexamic acid in cosmetics.*

Abstrak. Asam traneksamat (TA) merupakan zat aktif penting dalam formulasi sediaan farmasi sebagai agen fibrinolitik. Beberapa peneliti menemukan bahwa asam traneksamat merupakan agen terapi yang relatif baru untuk melasma. Agen topikal yang mengandung asam traneksamat dianggap lebih aman karena tidak terdapat penyerapan sistemik. Penelitian ini adalah penelitian studi kepustakaan atau systematic literature review. Penelitian ini menggunakan pendekatan systematic literature review mengenai analisis penetapan kadar asam traneksamat dalam kosmetik yang dipublikasikan dalam jurnal dengan menggunakan berbagai macam metode analisis seperti KCKT, KCKT-UV dan KCKT-SM/SM. Berdasarkan hasil dari review 6 jurnal tersebut, rentang parameter linearitas yaitu 0,993-0,9993%; parameter linearitas yaitu 0,71-104,85%; parameter akurasi yaitu 99,789-101,8%; nilai RSD 0,24-11,35%; dan nilai RE lebih rendah dari 2,62% dan 4,96%. Metode yang paling tepat, cepat, efisien dan akurat sesuai dengan tujuan adalah dengan menggunakan metode KCKT.

Kata Kunci: *Tranexamic acid in cosmetics, determination of tranexamic acid in cosmetics.*

A. Pendahuluan

Indonesia terletak di daerah khatulistiwa dengan paparan sinar matahari yang terus bersinar sepanjang tahun, sehingga resiko munculnya melasma menjadi besar (Yamaguchi, 2007). Daerah yang terpapar sinar matahari akan muncul berupa melasma berwarna coklat muda hingga coklat tua merupakan gambaran klinis pasien penderita melasma (Wolff et al., 2008). Melasma banyak ditemukan di daerah muka seperti pada bibir atas, dagu, kedua pipi, dan dapat pula meluas sampai ke leher. Selain efek paparan matahari yang mengandung UV-A dan B, faktor lain yang dapat menyebabkan timbulnya melasma diantaranya yaitu genetik, kekurangan gizi, disfungsi tiroid, kehamilan, penggunaan alat kontrasepsi hormonal, gangguan fungsi hati, dan defisiensi B12, penggunaan hormon eksogen seperti progesteron dan estrogen, menggunakan jenis kosmetika misalnya pemutih, juga dapat terjadi disebabkan karena seseorang mengkonsumsi obat tertentu misalnya klorpromazin serta defenil hidrantoin (Mohan, et al., 2016; Melyawati dkk., 2014).

Hal yang dapat dilakukan untuk mencegah dan mengurangi keparahan melasma yaitu dengan cara menghindari secara langsung paparan sinar ultraviolet (UV) dengan menggunakan tabir surya. Melasma yang sudah terbentuk dapat diatasi dengan pemberian agen depigmentasi yang dapat mengurangi aktivitas melanosit dengan cara topikal (Menaldi dkk., 2015). Agen depigmentasi menghambat pembentukan melanosit pada jalur melanogenik, transfer melanosom serta degradasi melasma (Ebanks, Wickett et al. 2009). Dalam beberapa waktu terakhir, beberapa peneliti menemukan bahwa asam traneksamat merupakan agen terapi yang relatif baru untuk melasma (Zhang L, 2008).

Asam traneksamat (asam trans-4-aminomethyl cyclohexane carboxyl) adalah salah satu agen yang memiliki sifat anti fibrinolitik. Mekanisme kerjanya terjadi melalui pengikatan pada Lysine-binding site pada molekul plasminogen, yang menghambat aktivitas plasmin dan dengan demikian mencegah pemecahan polimer fibrin, meningkatkan efektivitas hemostasis (Rossaint R, 2016). Asam traneksamat diserap dengan cepat setelah diberikan melalui oral atau intravena. Konsentrasi puncak dalam plasma biasanya terjadi dalam waktu 2-3 jam setelah pemberian. Penyerapan asam traneksamat tidak dipengaruhi oleh asupan makanan, sehingga dapat diberikan tanpa memperhitungkan waktu makan (Jerath A, 2018). Selain itu, asam traneksamat juga digunakan untuk menjadi agen yang dapat mencerahkan kulit dalam pengobatan melasma, baik secara sistemik melalui oral dan injeksi intradermal maupun secara topikal (Malathi and Thappa 2013). Mekanisme asam traneksamat sebagai pencerah kulit yaitu iradiasi sinar ultraviolet (UV) dapat menginduksi pembentukan aktivator plasminogen serta dapat meningkatkan aktivitas plasmin pada keratinosit yang menjadi penstimulasi pengeluaran asam arakidonat (AA) melalui fosfolipase A2. Melalui metabolitnya yaitu prostaglandin E2, asam arakidonat bebas menstimulasi melanogenesis. Plasmin berfungsi untuk meningkatkan pengeluaran asam arakidonat pada sel endothelial. Selain itu, plasmin juga dapat meningkatkan hormon stimulasi-melanosit-d, yang mengaktifasi pembentukan melanin dalam melanosit, serta berperan dalam produksi faktor pertumbuhan fibroblas (FPF), yang merupakan agen kuat faktor pertumbuhan melanosit. Dari proses-proses tersebut dapat menghasilkan produksi melanin lebih banyak lagi pada kulit. Plasmin juga berperan penting pada angiogenesis (Kapu, 2020). Asam traneksamat adalah salah satu plasmin inhibitor yang menekan angiogenesis serta menghambat induksi pembuluh darah baru oleh faktor pertumbuhan dasar fibroblas (FPdF) (Poojary S, 2015). Asam traneksamat mencegah pigmentasi yang diinduksi sinar UV dengan mengacaukan struktur plasminogen dan menghalangi ikatan plasminogen ke bagian pengikatan-lysin dari keratinosit, sehingga dapat berkontribusi dalam mekanisme pengobatan melasma dengan memblokir jalur APU-IT (Soundarha, 2020)

Agen topikal yang mengandung asam traneksamat yang tidak diserap secara sistemik sehingga dianggap lebih aman (Tamarina, 2018). Menurut Poojary dan Minni konsentrasi asam traneksamat pada kosmetik yaitu 2% untuk emulsi, 3% untuk krim, larutan 5% dan formulasi liposomal (serum) (Poojary and Minni, 2015). Dimana efikasi dari formulasi asam traneksamat liposomal sebesar 5% menunjukkan hasil yang signifikan (Banihashemi dkk, 2015). Menurut BPOM, kadar maksimum asam traneksamat yang diperbolehkan terdapat

dalam sediaan kosmetika siap pakai di Indonesia yaitu sebesar 3% dan tidak boleh digunakan pada produk yang memiliki kontak langsung dengan membran mukosa.

Analisis kadar asam traneksamat diperlukan untuk memastikan bahwa konsentrasi asam traneksamat telah sesuai untuk mengatasi melasma. Saat ini telah banyak dikembangkan metode analisis asam traneksamat pada berbagai bentuk sediaan kosmetika, seperti dalam bentuk sediaan krim, larutan, emulsi, maupun liposomal. Serta metode yang digunakan diantaranya yaitu Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Spektrofotometri UV-Vis. Metode spektrofotometri UV-Vis adalah teknik analisis yang menggunakan sinar UV pada rentang panjang gelombang 100-400 nm dan sinar tampak pada panjang gelombang 400-750 nm. Prinsip spektrofotometri UV-Vis yaitu sinar yang datang akan diteruskan dan diserap. Sinar yang diserap intensitasnya berbanding lurus dengan besarnya konsentrasi zat yang menyerap sinar (Suhartati, 2017). Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah teknik kromatografi cair yang digunakan untuk memisahkan berbagai komponen dalam suatu campuran. KCKT digunakan untuk identifikasi dan kuantifikasi senyawa dalam proses pengembangan obat dan telah digunakan di seluruh dunia dari beberapa dekade (Chawla, 2016). Karakteristik dari KCKT yaitu efisiensi, kecepatan, peningkatan throughput, serta pengurangan biaya analisis. Sedangkan tujuan utama dari penggunaan KCKT adalah memisahkan molekul dalam waktu yang minimum (Behnoush, 2015). KCKT terdiri dari beberapa komponen diantaranya yaitu fase gerak, pompa, penyuntikan sampel pada KCKT, kolom, fase diam dan detektor (Gandjar dan Rohman, 2007).

Berdasarkan struktur molekulnya, asam traneksamat merupakan suatu senyawa amin primer dan turunan dari asam amino lisin. Senyawa tersebut tidak memiliki gugus kromofor maupun gugus aoksokrom yang cukup sehingga tidak dapat secara langsung ditetapkan kadarnya menggunakan spektrofotometri UV atau vis. Maka dari itu, dibutuhkan metode derivatisasi untuk menghasilkan senyawa turunan asam traneksamat dengan perpanjangan kromofor serta bertambahnya aoksokrom untuk dapat dideteksi menggunakan spektrofotometri UV sehingga dapat ditetapkan kadarnya dengan lebih spesifik dan sensitif (Dunn and Goa, 1999).

B. Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode SLR (Systematic Literature Review) melalui tahapan proses pencarian literatur, seleksi literatur, analisis literatur dan sintesis hipotesis berdasarkan data-data yang disajikan. Proses pencarian artikel literatur dilakukan pada laman Google Scholar dan Science Direct dengan menggunakan kata kunci “Tranexamic acid in cosmetics”, “determination of tranexamic acid in cosmetics”. Secara khusus, penelitian ini mendalami mengenai Metode Analisis Penetapan Kadar Asam Traneksamat dalam Kosmetik.

Artikel literatur akan dipilih melalui kriteria inklusi dan eksklusi yang telah disusun. Kriteria inklusinya adalah artikel berbahasa Inggris; terindeks Scopus dan Sinta; membahas mengenai metode analisis penetapan kadar asam traneksamat dalam kosmetik. Kriteria eksklusinya adalah artikel yang tidak berbahasa Inggris; artikel yang tidak terindeks Scopus dan Sinta; artikel yang tidak membahas mengenai metode analisis penetapan kadar asam traneksamat dalam kosmetik. Selanjutnya, dilakukan proses ekstraksi data mengenai metode apa saja yang dapat digunakan, sehingga diharapkan dapat menjawab rumusan masalah yang telah disusun.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Analisis penetapan kadar asam traneksamat dalam sediaan kosmetik dapat menggunakan metode KCKT serta KCKT-SM/SM. Hasil ekstraksi data dan review artikel dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Review Artikel

Metode	Linearitas	Presisi (RSD)	Batas Deteksi	Keuntungan	Keterbatasan
KCKT (tanpa derivatisasi)	$r = 0,9993$	< 20%	-	Cepat, tidak perlu derivatisasi	Hanya diuji pada krim pemutih
KCKT (derivatisasi prakolom)	$r = 0,9993$	Tinggi	1,87 µg/mL	Sensitivitas tinggi	Memerlukan derivatisasi
KCKT (MAD-DLLME)	Tinggi	-	Tinggi	Derivatisasi cepat, DLLME efisien	Memerlukan microwave-assisted derivatization
KCKT (elektroda nikel)	Baik	< 2%	4,44 ppm	Sensitivitas elektrokimia tinggi	Teknik rumit
Spektrofluorometri (NDA/CN)	$R > 0,999$	< 1,85%	-	Sensitivitas dan stabilitas tinggi	Memerlukan derivatisasi
KCKT MS/MS	$R > 0,999$	0,24% - 11,35%	0,10 mg/kg	Cepat, sensitivitas tinggi	Peralatan mahal, kompleksitas tinggi

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah salah satu teknik kromatografi cair yang biasanya digunakan untuk memisahkan berbagai komponen dalam campuran. KCKT dapat juga digunakan untuk identifikasi dan kuantifikasi senyawa dalam proses pengembangan obat dan telah digunakan di seluruh dunia sejak beberapa dekade (Chawla, 2016). Efisiensi, kecepatan, peningkatan throughput, dan pengurangan biaya analisis merupakan karakteristik dari KCKT. Adapun tujuan dari penggunaan KCKT adalah memisahkan molekul dalam waktu minimum (Behnoush, 2015).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Massa Tandem (KCKT-MS/MS) adalah instrumen analisis yang merupakan kombinasi antara kromatografi cair sebagai pemisah komponen analit dalam sampel dan spektrometri massa sebagai detektor. KCKT-MS/MS adalah instrumen analisis dengan kinerja meningkat pada resolusi kromatografi, analisis sensitivitas dan kecepatan. KCKT-MS/MS menggunakan partikel halus, waktu analisis lebih hemat dan mengurangi konsumsi pelarut. KCKT-MS/MS adalah pengembangan dari alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Patil *et al.*, 2011). KCKT ditambah dengan Tandem Mass Spectrometry yang memiliki fungsi untuk menentukan tingkat jejak pestisida dalam air tanah dalam waktu yang cepat (Chawla dan Ranjan, 2016). Terdapat perbedaan pada kolom KCKT dan spektrometri massa, dimana kolom KCKT memiliki peran sebagai pemisah campuran yang bisa dilarutkan, sedangkan spektrometri massa memiliki peran dalam mengionisasi peak yang dipisahkan serta menghasilkan berat molekul untuk setiap komponen dari peak tersebut.

Metode yang dipakai adalah Optimasi yang dilakukan dengan mengevaluasi beberapa

parameter (Linearitas, Akurasi, Presisi, LOD dan LOQ), serta komposisi dan jenis fase gerak. Metode yang optimal harus memenuhi persyaratan kesesuaian dan validasi. Berdasarkan evaluasi dari parameter-parameter tersebut menunjukkan hasil yang linear dan memenuhi syarat. Nilai koefisien korelasi (r) yang mendekati satu dianggap bahwa metode memiliki nilai linearitas yang baik (Beg et al, 2012). Kriteria penerimaan RSD tidak lebih dari 20% dan kriteria penerimaan rata-rata perolehan kembali untuk masing-masing replikasi yaitu 50%-150% (Ahuja dan Dong, 2005).

Penelitian KCKT tanpa derivatisasi digunakan untuk mengembangkan metode analisis TA (tanpa derivatisasi) yang sederhana dan cepat pada sampel krim kosmetik menggunakan KCKT fase terbalik (fase diam kurang polar daripada fase gerak) dan air sebagai pelarut. Dimana kondisi analisis optimal menggunakan detektor ultraviolet pada panjang gelombang 210 nm, asetonitril: air suling ganda: asam fosfat (64:34:2) sebagai fase gerak dan laju alir 0,8 mL/menit. Waktu retensi analit terjadi pada 2 menit yang menunjukkan bahwa metode ini memerlukan waktu yang singkat.

Penelitian KCKT dengan derivatisasi prakolom merupakan metode analisis yang efisien dan selektif dengan derivatisasi prakolom menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik (RP-HPLC) dikembangkan untuk analisis asam traneksamat dalam krim pemutih. Metode Derivatisasi dilakukan dengan menggunakan larutan ninhidrin 1% dalam metanol sebagai zat derivasi sehingga terbentuk produk Ruhemann yang berwarna ungu. Kondisi analitik termasuk penggunaan kolom C18 sebagai fase diam dan metanol: buffer asetat (20 mM) pada pH 4 (75:25) sebagai fase gerak, dengan laju aliran 0,8 mL/menit dan UV-visibel deteksi pada panjang gelombang 570 nm. Waktu retensi rata-rata turunan asam traneksamat adalah 5,413 menit. Hasil kurva kalibrasi berbentuk linier, dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9993 pada konsentrasi berkisar antara 8 hingga 48 $\mu\text{g/mL}$. Pemulihannya antara 99,26% dan 101,77%. Batas deteksi (LOD) dan kuantifikasi (LOQ) masing-masing adalah 1,87 $\mu\text{g/mL}$ dan 6,25 $\mu\text{g/mL}$.

Tujuan penelitian KCKT dengan metode MAD-DLLME adalah untuk mengembangkan metode mikro-analitik dalam menentukan TA dalam matriks sampel yang sangat bervariasi. Derivatisasi menggunakan DNS-Cl yang diperlukan untuk meningkatkan sensitivitas deteksi TA. Keuntungan penggunaan DNS-Cl antara lain kromofor yang baik, reaktivitas gugus amino yang baik, dan turunan yang stabil. Oleh karena itu, DNS-Cl adalah reagen derivatisasi yang dipilih dalam penelitian ini karena TA memiliki satu gugus amino dan satu gugus karboksil. Dalam penelitian ini, reaksi derivatisasi dipercepat dengan MAD dibandingkan dengan pemanasan konvensional. Karena sistem pelarut reaksi menggunakan larutan asetonitril yang cocok untuk digunakan dalam reaksi berbantuan gelombang mikro. Reaksi berbantuan gelombang mikro digunakan untuk mengurangi waktu derivatisasi TA. Aplikasi baru DLLME digunakan untuk menghilangkan gangguan pada berbagai biosampel. Dalam hal volume sampel dan batas deteksi, perlakuan awal yang dipadukan dengan metode analisis KCKT-UV sebanding atau lebih unggul dari deteksi fluoresensi dan deteksi MS. Metode pengambilan sampel silinder berhasil digunakan untuk menentukan TA.

Pada studi elektrokimia, TA pada logam oksida bisa sangat kompleks dan mungkin melibatkan tahap adsorpsi yang kuat pada reaktan dan/atau produk reaksi. Dalam penelitian ini, interaksi antara NiOOH dan terminal $-\text{NH}_2$ kelompok fungsional TA diyakini penting untuk deteksi. Yang paling penting, ketika menerapkan potensi di sekitar puncak oksidasi (yaitu, +0,45 V) ke Ni-BPE (elektroda nikel pelapis barel), peningkatan arus oksidasi dapat digunakan untuk penentuan amperometri TA. Pelapis barel berfungsi untuk melapisi bagian-bagian manufaktur dengan listrik yang memenuhi persyaratan penyelesaian dengan cara yang ekonomis.

Analisis injeksi aliran Parameter FIA sebagai detektor KCKT pertama kali dioptimalkan untuk tujuan aplikasi analitis. Eksperimen awal berkaitan dengan optimalisasi laju aliran hidrodinamik (HF) dan potensi terapan (aplikasi) dalam penentuan TA oleh FIA (analisis injeksi aliran). Menunjukkan tanggapan khas FIA untuk 100 ppm TA dalam berbagai variasi HF. Seperti yang dapat dilihat pada variasi HF, arus puncak FIA tidak berubah pada laju aliran 0,1-0,3 ml/menit. Di luar itu, terjadi penurunan tajam pada arus puncak.

Karakteristik kromatografi pengukuran dipelajari dengan menganalisis asam traneksamat dengan 30, 100 dan 700 ppm berulang kali selama 10 injeksi terus menerus dan diperoleh nilai deviasi standar relatif (RSD) masing-masing sebesar 3,2%, 0,3% dan 0,3%. Uji antar elektroda dari elektroda yang berbeda dievaluasi lebih lanjut untuk membuktikan penerapan Ni-BPE. Terdapat reproduktifitas yang baik dengan RSD sebesar 1,94% untuk pengukuran yang dilakukan dengan larutan TA 100 ppm. Batas deteksi (LOD) sebesar 4,44 ppm diperoleh nilai rasio signal-to-noise sebesar 3 dari konsentrasi injeksi terendah (30 ppm).

Aplikasi analisis ternilai terukur adalah $181,7 \pm 1,2$ ppm dalam lotion dan $183,0 \pm 1,9$ ppm dalam serum dengan metode ini sangat mendekati nilai pada label (setelah pengenceran) yaitu 182,3 dan 184,9 ppm untuk masing-masing sampel. Hal ini dapat diterapkan pada penentuan TA tidak hanya pada kosmetik tetapi juga pada sampel klinis dan farmasi.

Selanjutnya, penelitian dengan metode spektrofotometri digunakan untuk mengembangkan dan memvalidasi metode spektrofotometri untuk penentuan asam traneksamat dalam formulasi patch hidrogel.

Metode yang dikembangkan terbukti tepat dan akurat dengan persen perolehan kembali berkisar antara 98,0% dan 101,8% pada kisaran konsentrasi 8,4-84,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ($R^2 > 0,999$). Ketepatan intra dan antar hari seperti yang dinyatakan oleh deviasi standar relatif (RSD) berada di bawah 1,85%. Derivatisasi asam traneksamat dengan NDA/CN selesai dalam waktu 5 menit dan stabil setidaknya selama 30 menit.

Intensitas fluoresen, linearitas, dan stabilitas turunan merupakan kunci modifikasi protokol derivatisasi. Metode yang dikembangkan diterapkan untuk mempelajari kandungan obat dan profil pelepasan asam traneksamat dalam formulasi patch hidrogel. Metode ini cocok untuk kuantifikasi asam traneksamat dan kemungkinan digunakan bersamaan dengan pemisahan kromatografi untuk sampel yang mengandung asam traneksamat.

D. Kesimpulan

1. Beberapa metode analisis yang tersedia untuk penetapan kadar asam traneksamat dalam kosmetik meliputi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), KCKT dengan deteksi spektrometri massa tandem (KCKT-MS/MS), dan spektrofotometri. Metode KCKT sering digunakan karena efisiensinya dalam memisahkan komponen campuran dan keakuratannya dalam kuantifikasi senyawa.
2. Komponen lain dalam kosmetik tidak secara signifikan mempengaruhi hasil analisis kadar asam traneksamat menggunakan metode KCKT dan KCKT-MS/MS. Kedua metode ini menunjukkan kemampuan pemisahan dan deteksi yang baik meskipun terdapat interferensi dari komponen kosmetik lainnya.
3. Metode-metode ini menunjukkan hasil yang akurat, presisi tinggi, dan efisiensi waktu, serta dapat diaplikasikan tanpa derivatisasi atau dengan derivatisasi untuk meningkatkan sensitivitas.

Acknowledge

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr. apt. Hilda Aprilia, M.Si selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Apt. Bertha Rusdi, Ph.D selaku dosen pembimbing serta yang telah meluangkan waktu untuk memberikan nasihat, pengarahan serta memberikan bimbingan sehingga bisa terselesaikannya penelitian ini. Kemudian penulis mengucapkan terima kasih kepada keluarga dan sahabat yang selalu memberikan dukungan serta do'a selama penulis melakukan penelitian hingga penelitian ini terselesaikan.

Daftar Pustaka

- [1] Ahuja, S, and Dong, M.W. Eds. (2005). Handbok of Pharmaceutical Analysis by HPLC. 15 Ed. United Kingdom : Elsevier, Inc., p.191-217, 401-412.
- [2] Banihashemi M, Zabolinejad N, Jaafari MR, Salehi M, Jabari A. (2015). Comparison of therapeutic effects of liposomal tranexamic acid and conventional hydroquinone on melasma. *J Cosmet Dermatol*, 14(3):174–7.
- [3] Beg S, Kohli K, Swain S, ad Hasnain MS. (2012). Development and Validation of RP-

- HPLC Method for Quantitation of Amoxicillin Trihydrate in Bulk and Pharmaceutical Formulations Using Box-Behnken Experimental Design. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2012; 35(3): 393-406.
- [4] Behnouch, B., Sheikazadi, A., Bazmi, E., Fattahi, A., Sheikazadi, E., & Anary, S. H. S. (2015). Comparison of UHPLC and HPLC in Benzodiazepines Analysis of Postmortem Samples: A Case–Control Study. *Medicine*, 94(14) : 1-7.
- [5] BPOM RI. (2020). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor: 8 Tahun 2020 tentang Pengawasan Obat dan Makanan yang Diedarkan secara Darin. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- [6] Chawla, G., & Ranjan, C. (2016). Principle, Instrumentation, And Applications Of UPLC: A Novel Technique of Liquid chromatography. *Open Chemistry Journal*, 3(1) : 1-16.
- [7] Dunn Cj, Goa KL. Asam traneksamat: tinjauan penggunaannya dalam pembedahan dan indikasi lainnya. *Narkoba* . 1999;57(6):1005-1032.
- [8] Ebanks, P. J., Wickett, R. R., Boissy, R. E. (2009). Mechanism Regulating Skin Pigmentation: The Rise and Fall of Complexion Coloration. *International Journal of Molecular Sciences*. ISSN 1422-0067.
- [9] Kim JH, Moon SH, Cho SH, Lee JD, Kim HS. (2017). Efficacy and Safety of Tranexamic Acid in Melasma: A Meta-Analysis and Systematic Review. *Acta Derm Venereol*. 2017; 97(7) : 776-781. doi : 10.2340/00015555-2668.
- [10] Melyawati, Lis S, Irma B, Lili L (2014). Perkembangan terbaru etiopatogenesis melasma. *Media Dermato-Venereologica Indonesiana*, 41 (3), 133-138.
- [11] Menaldi SL, dkk (2015). Ilmu penyakit kulit dan Kelamin edisi Ketujuh. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- [12] Patil, V P, R D Tathe, S J Devdhe, S S Angadi, and S H Kale. (2011). UltraPerformance Liquid Chromatography: A Review. *International Research Journal of Pharmacy* : 39-44.
- [13] Poojary S & Mini K. (2015). Tranexamic Acid in Melasma: A Review. *Pigmentary Disorder*, Vol. 2, No. 12, p. 1-4.
- [14] Soundarha S. Srinivasan MS. Tranexamic acid in dermatology. *Ann Troo Med & Public Health* 2020.23:1-8.
- [15] Tamarina FA, Sawitri, Sukanto H. (2018). Penurunan Skor Melasma Area and Severity Index (MASI) antara Asam Traneksamat Topikal dan Modifikasi Formula Kligman dengan Placebo Topikal dan Modifikasi Formula Kligman pada Pasien. *Berkala Ilmu kesehatan Kulit dan Kelamin*. 2018; 30(3):1-7. doi: <https://doi.org/10.20473/bikk.V30.3.2018.231-239>.
- [16] Wolff K, Lowel AG, Stephen IK, Barbara AG, Amy SP, David JL. (2008). Fitzpatrick's Dermatology in general medicine. Te th d. New York: McGrawHill. 396-401.
- [17] Yamaguchi Y and V. J. Hearing. (2007). Melanocyte Distribution and Function in Human Skin : effect of Ultraviolet Radiation. Dalam *From Melanocyte to Melanoma*. Chapter 6. Totowa, NJ.
- [18] Zhang L (2008). Tranexamic Acid for Adults with Melasma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biomed Research International*. 2018; 2018 : 1683414 . doi : 10.1155/2018/1683414.
- [19] Kapu, D. Anggryani. (2020). Hubungan Efikasi Diri dengan Burnout Pada Perawat di Ruang Instalasi Gawat Darurat (IGD) dan Intensive Care Unit (ICU) RSUD S. K. Lerik Kota Kupang.