

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode dekskriptif eksperimental. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Sains, Teknologi dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta pada bulan Mei 2023.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah krim malam yang beredar di toko *online* kota Surakarta.

3.2.2 Sampel

Pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode *purposive sampling*. metode *purposive sampling* yaitu teknik pengambilan sampel dengan pertimbangan tertentu.

a. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah :

- 1) Krim malam yang beredar di toko *online* seperti lazada, tokopedia, dan shopee.
- 2) Krim malam dengan berbagai merek.

- 3) Krim malam dengan kategori harga termurah dimulai dari Rp. 10.000 – Rp. 50.000.
- 4) Krim malam dengan *rate* bintang satu sampai lima.
- 5) Krim malam yang teregistrasi dan tidak teregistrasi BPOM

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah krim malam bermerek yang telah di registrasi BPOM dan yang beredar di toko *online* kota surakarta.

- 1) Krim malam dengan kategori harga termahal lebih dari Rp 50.000 - Rp 75.000.
- 2) Krim malam yang dijual diluar daerah Surakarta.

3.3 Instrumen Penelitian

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini alat gelas (*pyrex*), Timbangan analitik (AND GF – 300), Lampu *UV 254*, Bejana Kromatografi, Plat KLT, Spektrofotometer *UV-Vis* (*Genesys*), dan kuvet.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kertas saring (*Whatman No.41*), Aluminium foil, Metanol p.a, Asam

asetat glasial (*Merck*), Aseton (*Merck*), Etanol p.a (*Merck*), n-heksana (*Merck*), Asam retinoat, dan 10 Sampel krim malam.

3.4 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah krim malam yang beredar di toko *online* kota Surakarta.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil analisis kualitatif dan kuantitatif asam retinoat dalam krim malam dan kadar asam retinoat yang dinyatakan dalam satuan $\mu\text{g/mL}$.

3.5 Definisi Operasional

- a. Krim malam adalah sediaan krim yang berbentuk kosmetik dan merupakan campuran bahan kimia atau bahan lainnya yang digunakan untuk memutihkan kulit dan dibeli di toko *online*.
- b. Asam Retinoat adalah bentuk asam dan bentuk aktif dari vitamin A atau retinol atau dapat disebut dengan tretinoin yang digunakan sebagai terapi jerawat.
- c. Uji kualitatif adalah suatu uji untuk mengetahui adanya kandungan zat asam retinoat yang terkandung dalam sampel krim malam wajah dengan metode KLT.

- d. Uji kuantitatif adalah suatu uji untuk menentukan besarnya kadar zat asam retinoat yang terkandung dalam sampel krim malam wajah dengan metode spektrofotometri *UV-Vis*.
- e. Spektrofotometri *UV-Vis* adalah suatu instrumen yang digunakan untuk mengukur absorban suatu sampel pada panjang gelombang .
- f. Toko *Online* adalah proses dimana konsumen secara langsung membeli barang-barang, jasa dan lain lain dari seorang penjual interaktif dan *real-time* tanpa suatu media perantara melalui Internet, kemudian seorang pembeli bisa melihat terlebih dahulu barang dan jasa yang hendak dibelanjakan melalui *web* aplikasi seperti lazada, tokopedia, dan shopee yang dipromosikan oleh penjual.

3.6 Rencana Jalannya Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan

Tahapan dilakukan dengan pengajuan dan penyusunan proposal penelitian skripsi yang sesuai dengan judul yang telah disetujui oleh dosen pembimbing, kemudian dilanjutkan dengan seminar proposal. Peneliti ijin untuk mengurus surat penelitian ke Fakultas Sains, Teknologi dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta dilanjutkan peneliti mengambil sampel krim malam yang beredar di toko *online* Kota Surakarta dan kemudian

penelitian di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Sains, Teknologi dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta.

3.6.2 Tahap Pelaksanaan

a. Analisis Kualitatif dengan KLT

1) Pembuatan Larutan Baku Pembanding Asam Retinoat (0,1%) Sebanyak 0,01 gram asam retinoat dilarutkan dengan 10 mL metanol (Fendi yoga, 2022).

2) Penyiapan Larutan Uji

Sebanyak 3 gram krim malam dilarutkan dengan 10 mL metanol dan diaduk sampai homogen. Kemudian dinginkan selama 15 menit pada suhu 4°C dan disaring menggunakan kertas saring *Whatman* no.41 (Fendi yoga, 2022).

3) Identifikasi Sampel Dengan KLT

Lempeng KLT silika gel 60F₂₅₄ berukuran 20 x 20 Cm yang telah diaktifkan dengan cara pemanasan pada suhu 105°C selama 30 menit. Lempeng KLT yang telah mengandung cuplikan dimasukkan kedalam bejana KLT yang terlebih dahulu telah dijenuhkan dengan fase gerak berupa n-heksana dan aseton (6:4). Noda pada lempeng KLT diamati di bawah sinar *UV* 254 nm dan 365 nm (Fendi yoga, 2022).

b. Verifikasi Metode

1) Uji Presisi

Presisi adalah simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Biasanya replikasi 6 - 15 dilakukan pada sampel untuk tiap-tiap konsentrasi (Gandjar dan Abdul, 2012).

Uji presisi dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan baku asam retinoat dengan konsentrasi 4,5 ppm yang mana dilakukan sebanyak 6 kali replikasi kemudian diukur dengan panjang gelombang.

2) Uji akurasi

Akurasi adalah kedekatan hasil uji antara hasil yang diperoleh dengan nilai sebenarnya (*true value*) atau nilai referensinya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) (Chan, 2004).

Pada percobaan akurasi digunakan larutan krim malam wajah yang tidak mengandung asam retinoat kemudian ditambahkan larutan standar dengan konsentrasi 4,5; 5,5 dan 6,5 ppm setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 342 nm dengan menggunakan spektrofotometri *UV-Vis*. dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali, Nilai yang didapatkan dihitung sebagai nilai % *recovery*.

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{kadar perolehan}}{\text{kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

3) Uji Lineritas

Uji Linearitas dapat dilakukan dengan menghitung secara statistik melalui koefisien korelasi dari konsentrasi dan absorbansi larutan baku (Gandjar, L.G., dan Rohman, 2007). Sebagai parameter adanya hubungan *linear* digunakan koefisien korelasi r pada analisis *regresi linear* $y = a + bx$. Hubungan linier yang *deal* dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis. Sedangkan nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan. Uji linearitas dilakukan dengan suatu larutan baku yang terdiri atas minimal 5 konsentrasi yaitu 3,5 ppm, 4,5 ppm, 5,5 ppm, 6,5 ppm, 7,5 ppm dengan rentang 50 - 100 % dari rentang komponen uji. Kemudian data diproses dengan menggunakan *regresi linear*, sehingga dapat diperoleh respon linear terhadap konsentrasi larutan baku (Harmita, 2004).

4) Batas Deteksi (*Limit of Detection*, LOD) dan Batas Kuantifikasi (*Limit of Quantification*, LOQ).

Batas deteksi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi walaupun tidak selalu dapat dikuantifikasi. Sedangkan batas kuantifikasi merupakan jumlah terkecil analit dalam sampel yang

dapat dikuantifikasi dengan akurasi dan presisi yang baik (Harmita, 2004). Batas deteksi dan batas kuantifikasi dapat dihitung secara statistik melalui persamaan regresi linier dari kurva standar. Absorbansi larutan baku hasil pengukuran dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear yang diperoleh $y = a + bx$ (Carissa, 2015).

Rumus perhitungan LOD Dan LOQ :

$$\text{LOD} : \frac{3 \cdot SD}{10 \cdot SD}$$

$$\text{LOQ} : \frac{10 \cdot SD}{b}$$

c. Analisis Kuantitatif Dengan Spektrofotometri *UV-Vis*

1) Pembuatan Larutan Baku 1000 ppm Asam Retinoat

Larutan baku Asam Retinoat dibuat dengan cara melarutkan 10 mg asam retinoat murni ke dalam 10 mL Metanol p.a., sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm, kemudian dibuat pengenceran dengan mengambil sebanyak 100 $\mu\text{g/mL}$ dilarutkan dalam 10 mL Metanol.

2) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Retinoat

Larutan baku asam retinoat metanol p.a 1000 ppm dengan mengambil 100 $\mu\text{g/mL}$ larutan baku asam retinoat dan diencerkan dalam 10 mL Metanol. Tahap selanjutnya diukur serapan absorbansi pada rentang

panjang gelombang antara 300 – 400 nm. Blanko yang digunakan adalah metanol yang merupakan larutan jernih.

3) Penentuan Linieritas Kurva Kalibrasi

Larutan baku dibuat dengan beberapa seri konsentrasi yaitu 3,5; 4,5; 5,5; 6,5; 7,5 ppm. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yaitu 342 nm.

4) Penetapan Kadar Sampel

Timbang sampel uji sebanyak 3,0 gram lalu masukkan di gelas kimia, bungkus dengan alumunium foil, dan tambahkan metanol sebanyak 5 mL kemudian dikocok sampai homogen. Dinginkan dalam es selama 15 menit dan saring melalui kertas saring Whatman No. 41. Filtrat yang dihasilkan ditampung di labu ukur 10 mL kemudian tambahkan larutan metanol sampai garis tanda batas dan kocok kembali sampai homogen dan lakukan replikasi sebanyak 3 kali (Suhartini dkk, 2013).

3.6.3 Tahap Penyelesaian

Tahapan dilakukan dan data sudah didapatkan, maka selanjutnya akan dilakukan analisis data dan penyusunan hasil, perhitungan, dan pembahasan dari hasil penelitian yang telah didapatkan.

3.7 Analisis Data

Analisis dengan menggunakan metode spektrofotometri *UV-Vis* dilakukan dengan cara mengukur absorbansi masing-masing larutan sampel. Absorbansi yang didapatkan dari hasil pengukuran sampel dengan spektrofotometri *UV-Vis* dimasukkan dalam persamaan regresi yang diperoleh dari kurva baku yaitu $y = a + bx$ untuk mengetahui kadar Asam retinoat kemudian dihitung menggunakan rumus yaitu:

$$\text{Kadar Asam retinoat } (\mu\text{g/mL}) = \frac{C_{\text{reg}} \times V \text{ (mL)} \times Fp}{\text{Berat Sampel (mg)}} \times 10^6$$

Keterangan:

K : Kadar Asam retinoat

C_{reg} : Konsentrasi absorbansi sampel

V : Konsentrasi stok (mL)

Sampel dalam penelitian ini akan mendapatkan 3 kali perlakuan pada masing masing sampel. Sampel yang diujikan sebanyak 10 merek yang mewakili produk krim malam yang beredar di toko *online* dimana masing masing merek krim malam ini akan dimisalkan dengan huruf A, B, C, D, E, F, G, H, I, J. Data yang telah didapatkan setelah pengujian dengan spektrofotometri *UV-Vis* kemudian dimasukan kedalam tabel untuk dilakukan analisa.

