

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian observasi deskriptif. Penelitian observasi deskriptif yaitu penelitian yang menggambarkan suatu keadaan atau masalah yang digali melalui pengamatan yang terjadi di lapangan (Mulyadi, 2012). Pada Penelitian ini, peneliti melakukan pengamatan untuk mengetahui adakah kandungan asam retinoat pada krim pemutih yang beredar di Pasar Singosari Kabupaten Malang dengan menggunakan metode KLT.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Ma Chung.

##### **3.2.2 Waktu Penelitian**

Waktu penelitian dilaksanakan pada tanggal 28 Februari - 4 Maret 2024.

#### **3.3 Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **3.3.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini yaitu sediaan krim pemutih tanpa nomor registrasi BPOM yang beredar dan dijual bebas di Pasar Singosari Kabupaten Malang.

##### **3.3.2 Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan teknik *nonprobability sampling* jenis *purposive sampling*. *Nonprobability sampling* adalah teknik pengambilan sampel yang tidak memberi peluang atau kesempatan sama bagi setiap unsur atau anggota populasi yang dipilih menjadi sampel. Sedangkan yang dimaksud dengan jenis *purposive sampling* merupakan teknik penentuan sampel berdasarkan dengan pertimbangan tertentu (Amin dkk., 2023). Dalam penelitian ini, dipilih populasi pengambilan sampel berada di Pasar Singosari Kabupaten Malang. Sampel yang diambil yaitu krim pemutih tanpa nomor registrasi BPOM. Peneliti menggunakan 11 sampel dari 3 (tiga) toko kosmetik yang berbeda di Pasar Singosari Kabupaten Malang.

### **3.4 Alat dan Bahan**

#### **3.4.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu bejana kromatografi (TLC chamber with stainless steel lid camag), lampu UV 254 nm (Camag UV Cabinet 4), oven (Memmert), timbangan analitik (Ohaus), pipa kapiler (NRIS), gelas ukur (DURAN), gelas piala (DURAN), cawan porselen, pipet tetes (PYREX), pipet ukur (PYREX), labu takar (DURAN), spatula, batang pengaduk (PYREX), tabung sentrifus bertutup 15 ml (NEST), Sonikator (VGT), lemari es (Kirsch) dan alat tulis.

#### **3.4.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel krim pemutih, asam retinoat (Green & healthy), Antimon (III) klorida ( $SbCl_3$ ) p.a (Merck ACS), Kloroform p.a (Merck ACS), Aseton p.a (Merck ACS), n-heksan p.a (Merck ACS), Metanol p.a (Merck ACS), Etanol p.a (Merck ACS), kertas saring (Whatman no. 41) dan aluminium foil (Klin pak).

### **3.5 Variabel Penelitian**

#### **3.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen (terikat) (Ridha, 2017). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sediaan krim pemutih yang beredar di Pasar Singosari Kabupaten Malang berdasarkan merek berbeda dan tidak teregistrasi BPOM.

#### **3.5.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Ridha, 2017). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kandungan asam retinoat pada sediaan kosmetik krim pemutih yang beredar di Pasar Singosari Kabupaten Malang.

### 3.6 Definisi Operasional Variabel

**Tabel 3. 1** Definisi operasional penelitian

Variabel	Definisi Operasional	Metode	Alat Ukur	Skala
Kosmetik krim pemutih	Kosmetik krim pemutih tanpa izin BPOM dan nomor registrasi BPOM palsu yang beredar di Pasar Singosari Kabupaten Malang	Penimbangan	Timbangan analitik	Rasio
Asam retinoat	Asam retinoat yang terkandung dalam kosmetik krim pemutih tanpa nomor registrasi BPOM yang beredar di Pasar Singosari Kabupaten Malang	Uji Organoleptik (warna, tekstur, bau)	Penilaian dari sampel mencakup warna, tekstur dan bau dengan menggunakan indera manusia.	Nominal
		Uji Warna	Perubahan warna sampel menjadi kompleks biru	Nominal
		Analisis kualitatif dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT)	Nilai $R_f$ pada noda plat KLT yang diukur dengan penggaris	Rasio

### **3.7 Metode Penelitian**

#### **3.7.1 Uji Organoleptik**

Petunjuk pengujian organoleptik dan atau sensori, untuk pengujian organoleptik pada sediaan krim meliputi warna, tekstur dan bau. Pengujian dilakukan dengan mengambil sejumlah sampel krim pemutih kemudian diletakkan pada cawan porselen dan diamati secara visual dari warna, tekstur, dan bau dari sampel krim pemutih (Choiril & Maylita, 2019).

#### **3.7.2 Uji Warna**

Identifikasi asam retinoat dapat dilakukan dengan uji warna dengan menggunakan cara sebagai berikut (Fahrunnisa, 2022) :

Uji warna diawali dengan preparasi larutan sampel dengan menimbang tiga gram sampel krim pemutih, kemudian dipindahkan ke tabung sentrifus, lalu ditambahkan 10 ml metanol. Selanjutnya homogenkan larutan dengan sonikator selama lima menit dan dinginkan larutan dalam lemari pendingin selama 15 menit lalu saring. Setelah preparasi selesai, dilanjut dengan pembuatan pereaksi antimon (III) klorida ( $\text{SbCl}_3$ ) dengan menimbang empat gram  $\text{SbCl}_3$  dan larutkan dengan kloroform dalam gelas piala. Selanjutnya pindahkan larutan tersebut ke dalam labu takar 20 ml, lalu diencerkan dengan kloroform sampai tanda batas. Setelah pembuatan kedua larutan tersebut selesai, maka dapat dilakukan uji warna dengan meneteskan 1 (satu) tetes larutan sampel dan ditambahkan 10 tetes pereaksi  $\text{SbCl}_3$  pada cawan porselen. Kemudian dihomogenkan kedua campuran tersebut dan diamati perubahan warna larutan yang terjadi. Hasil positif asam retinoat dari uji warna diatas ditunjukkan dengan timbulnya warna tidak mantap lalu berubah menjadi merah coklat. Hasil positif asam retinoat tersebut berbeda dengan uji warna yang dilakukan oleh Kumar dkk (2021), perubahan reaksi yang terjadi antara  $\text{SbCl}_3$  dan asam retinoat menimbulkan kompleks berwarna biru. Namun dalam Farmakope Indonesia Edisi VI tahun 2020, reaksi yang terjadi antara  $\text{SbCl}_3$  dan asam retinoat akan menimbulkan warna biru tidak stabil (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

### **3.7.3 Uji Kromatografi Lapis Tipis**

Metode Kromatografi Lapis Tipis ini merujuk pada Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia pada Tahun 2011 tentang Metode Analisis Kosmetik, yang dilakukan modifikasi.

#### **3.7.3.1 Penanganan Lempeng KLT**

Disiapkan lempeng KLT silika gel 60F<sub>254</sub> dengan ukuran 2x10 cm, kemudian lempeng tersebut diberi penandaan berupa batas atas dan bawah dengan jarak 1 (satu) cm menggunakan pensil. Setelah penandaan selesai, lempeng KLT diaktifkan dengan cara dikeringkan dalam lemari asam selama 10 menit kemudian dikeringkan dalam oven selama 15 menit kurang lebih dengan suhu 110°C (Rosamah, 2019).

#### **3.7.3.2 Pembuatan Fase Gerak**

Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini yaitu fase gerak sistem A, dimana fase gerak sistem A yaitu campuran n-heksan – asam asetat glasial 0,33% dalam etanol mutlak (9:1) v/v (BPOM RI, 2011). Pembuatan fase gerak sistem A untuk kebutuhan larutan 50 ml dilakukan dengan dipipet n-heksan sebanyak 45 ml dan dipindahkan ke dalam labu takar 50 ml kemudian ditambahkan asam asetat glasial 0,33% dalam etanol mutlak hingga tanda batas. Selanjutnya diaduk hingga larutan menjadi homogen dan dipindahkan ke dalam bejana kromatografi (BPOM RI, 2011).

#### **3.7.3.3 Pembuatan Larutan Baku**

Pembuatan larutan baku dilakukan dengan menimbang lebih kurang 0,01 gram asam retinoat, kemudian dimasukkan dalam gelas piala 50 ml dan dilarutkan dengan sejumlah metanol hingga larut. Setelah itu dipindahkan ke labu takar 10 ml dan diencerkan dengan metanol sampai tanda batas lalu dimasukkan larutan tersebut dalam vial coklat 10 ml. Penimbangan maupun pipetasi pada saat pembuatan larutan baku harus dilakukan secara cepat dan terlindung cahaya supaya meminimalkan penguraian asam retinoat (BPOM RI, 2011).

#### **3.7.3.4 Pembuatan Larutan Sampel**

Pembuatan larutan sampel dilakukan dengan menimbang lebih kurang 3 (tiga) gram sampel, lalu dimasukkan dalam tabung sentrifus 30 ml, kemudian botol sentrifus dibungkus dengan aluminium foil, selanjutnya ditambahkan 10

metanol dan dihomogenkan menggunakan sonikator selama lima menit. Setelah mencapai larutan yang homogen, kemudian larutan sampel didinginkan dalam lemari pendingin selama 15 menit dan disaring menggunakan kertas saring (BPOM RI, 2011).

### 3.7.3.5 Identifikasi Sampel

Langkah pertama yang harus dilakukan yaitu disiapkan lempeng KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> ukuran 2x10 cm, fase gerak, larutan baku dan larutan uji. Selanjutnya dilakukan penjenjuran bejana KLT dengan memasukkan kertas saring kedalam bejana yang berisi fase gerak sistem A yaitu campuran n-heksan – asam asetat glasial 0,33% dalam etanol mutlak (9:1) v/v. Proses penjenjuran ini berlangsung kurang lebih selama 15 menit. Setelah itu, kertas saring diangkat dan lempeng KLT dimasukkan ke dalam bejana berisi fase gerak sistem A yang sudah dijenuhkan. Langkah selanjutnya ditotolkan larutan baku dan larutan uji pada lempeng kromatografi, kemudian lempeng dimasukkan kedalam bejana KLT yang berisi fase gerak sistem A untuk dilakukan elusi. Setelah proses elusi selesai, dilakukan pengangkatan lempeng dan dibiarkan hingga kering. Selanjutnya diamati bercak gelap di bawah lampu UV 254 nm (BPOM RI, 2011).

## 3.8 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

### 3.8.1 Penyajian Data

Data yang digunakan pada penelitian ini ialah data dari nilai *R<sub>f</sub>*. Data hasil penelitian yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel data sebagai berikut :

**Tabel 3. 2** Penyajian data organoleptik

<b>Sampel</b>	<b>Warna</b>	<b>Tekstur</b>	<b>Bau</b>
Sampel A			
Sampel B			
Sampel C			
Sampel D			
Sampel E			
Sampel F			
Sampel G			
Sampel H			
Sampel I			
Sampel J			
Sampel K			

**Tabel 3. 3** Penyajian data uji warna

Reaksi identifikasi	Sampel	Hasil warna	Keterangan (+/-)
Larutan sampel + SbCl <sub>3</sub>	Sampel A		
	Sampel B		
	Sampel C		
	Sampel D		
	Sampel E		
	Sampel F		
	Sampel G		
	Sampel H		
	Sampel I		
	Sampel J		
	Sampel K		

Keterangan :

+ : Positif asam retinoat

- : Negatif asam retinoat

**Tabel 3. 4** Penyajian data kromatografi lapis tipis

No	Pengujian	Jarak elusi	Jarak bercak	Nilai <i>R<sub>f</sub></i>	Selisih nilai <i>R<sub>f</sub></i>	Warna bercak	Keterangan (+/-)
1	Baku asam retinoat						
2	Sampel replikasi 1						
3	Sampel replikasi 2						
4	Sampel replikasi 3						

Keterangan :

+ : Positif asam retinoat

- : Negatif asam retinoat

### 3.8.2 Analisis Data

Nilai *R<sub>f</sub>* digunakan untuk mengetahui hasil dari krim pemutih apakah positif atau negatif mengandung asam retinoat. Hasil positif, tampak berupa bercak gelap sejajar dengan noda pada larutan baku asam retinoat serta nilai *R<sub>f</sub>* yang sama dengan baku asam retinoat. Hasil selisih *R<sub>f</sub>* dinyatakan positif jika  $\leq 0,05$  (Indrayanto, 2011). Nilai *R<sub>f</sub>* didapatkan menggunakan rumus :

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{jarak elusi sampel}}{\text{jarak pelarut}}$$