

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini digolongkan dalam penelitian eksperimental yang digunakan untuk analisis logam merkuri (Hg) dengan menggunakan nanopartikel perak dari ekstrak kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai bioreduktor dan membandingkan dengan reagen warna yaitu kalium iodida. Pengujian dilakukan secara kualitatif, untuk mengetahui ada dan tidaknya kandungan logam merkuri (Hg) pada 5 sampel krim pemutih.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Oktober tahun 2023. Tempat pengujian dilakukan di Laboratorium Kimia, Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia, dan Laboratorium Makanan dan Minuman Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Peralatan yang digunakan untuk melakukan penelitian ini adalah timbangan buah, nerca analitik (Ohaus), pisau, loyang, oven (Thermo Scientific), grinder, ayakan mesh 50, gelas ukur 100 mL (Pyrex), toples kaca, erlenmeyer 250 mL (Pyrex), corong gelas (Pyrex), kaca arloji, labu takar 250 mL (Pyrex), takar 50 mL (Pyrex), labu takar 10 mL (Pyrex), pipet ukur 10 mL (Iwaki), beaker glass 150 mL (Pyrex), spatula, pipet tetes, batang pengaduk, bola pump, hotplate (Thermo Scientific), magnetic stirrer, spektrofotometer UV-Vis (BIOBASE), kuvet, labu digestive furnace (NADE), tabung reaksi (Pyrex), rak tabung reaksi, mikropipet 1000 µl (Dragon Lab) dan tube.

3.3.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah sirsak, etanol 96 %, kertas saring, aluminium foil, botol kaca gelap, sampel

krim pemutih, aquadest, KI, HgCl₂ (Smart-Lab), PbCl₂ (Smart-Lab), CdSO₄ (Smart-Lab), AgNO₃ (Merck), dan HNO₃ pekat (Merck)

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel bebas

Variabel bebas (Independent variable) dalam penelitian adalah volume larutan AgNO₃ 2 mM yang digunakan saat pembuatan nanopartikel perak dan krim pemutih yang dijual di Gajah Mada Plaza Kota Malang.

3.4.2. Variabel terikat

Variabel terikat (Dependent variable) dalam penelitian ini adalah panjang gelombang dari nanopartikel perak yang dihasilkan dan logam merkuri (Hg).

3.5. Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Variabel penelitian dan definisi operasional

No	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Volume larutan AgNO ₃ 2 mM	Untuk mengetahui volume larutan AgNO ₃ 2 mM yang maksimum untuk pembuatan nanopartikel perak	Gelas Ukur	Volume larutan AgNO ₃ 2 mM (mL)	Rasio
2	Krim pemutih	Produk krim pemutih yang dijual di Gajah Mada Plaza, Kota	Observasi	Krim pemutih yang dijual di Gajah Mada Plaza,	Nominal

		Malang dengan range harga Rp. 10.000,00 – 15.000,00		Kota Malang	
3	Absorbansi pada panjang gelombang 450 nm	Penentuan absorbansi maksimum ditentukan dilihat pada panjang gelombang 450 nm	Spektrofotometer UV-Vis	Absorbansi maksimum pada panjang gelombang 450 nm	Interval
4	Logam Merkuri (Hg)	Bahan kimia yang terkandung dalam krim pemutih	Nanopartikel Perak	Positif (+): jika teridentifikasi Negatif (-): Jika tidak teridentifikasi	Nominal

3.6. Metode Penelitian

3.6.1. Teknik sampling

Metode pengambilan sampel digunakan untuk memperoleh informasi yang dibutuhkan dalam hal tujuan penelitian. Teknik sampling pada penelitian ini menggunakan metode *purposive sampling*, dimana peneliti melakukan pengambilan sampel berdasarkan ciri-ciri atau kriteria yang telah ditetapkan. Peneliti menggunakan metode ini karena tidak semua sampel memiliki kriteria yang sesuai dengan kriteria yang akan digunakan dalam penelitian. Pada penelitian ini tempat sampling yang diperoleh berdasarkan hasil observasi yang dilakukan langsung dengan menanyakan kepada tetangga yang diduga menggunakan krim pemutih terkait tempat

pembelian krim pemutih yang digunakan. Selain itu observasi dilakukan secara langsung di toko tempat pembelian sampel dengan melihat tekstur dari sampel. Hasil observasi yang telah dilakukan bertujuan untuk memperoleh data-data tentang tempat pembelian krim pemutih, dan harga krim pemutih yang diduga mengandung merkuri. Dari hasil observasi peneliti menetapkan tempat pengambilan sampel krim pemutih di Gajah Mada Plaza, Kota Malang dengan memperhatikan harga krim pemutih yang dijual yaitu antara Rp. 10.000,00 – 15.000,00.

3.6.2. Pembuatan ekstrak

3.6.2.1. Pembuatan simplisia kulit buah sirsak

Sebanyak 3 kg buah sirsak dicuci bersih kemudian di kupas kulitnya. Kemudian kulit buah sirsak yang sudah bersih dipotong kecil-kecil dan ditiriskan. Kulit sirsak hasil kupasan selanjutnya dimasukkan oven hingga kering dengan suhu 60°C. Setelah kering, dilakukan sortasi kering, dihaluskan menggunakan grinder, dan serbuk simplisia yang didapatkan selanjutnya diayak menggunakan ayakan mesh 50 kemudian ditimbang (Asworo et al., 2022). Simplisia disimpan dalam wadah kedap udara.

3.6.2.2. Ekstraksi maserasi simplisia kulit buah sirsak

Serbuk simplisia kulit buah sirsak yang sudah diayak menggunakan ayakan mesh 50 ditimbang sebanyak 5 gram kemudian ditambahkan sebanyak 50 mL etanol 96 % dan dilakukan maserasi ditempat gelap selama 36 jam. Setelah 36 jam dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Filtrat ditampung dalam botol kaca gelap.

3.6.3. Pembuatan nanopartikel perak

3.6.3.1. Pembuatan larutan AgNO₃ 2 mM

Perak nitrat ditimbang sebanyak 0,085 gram dilarutkan dengan aquadest dalam beaker glass kemudian dimasukkan labu takar 250 mL dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas. Gojog hingga homogen. Simpan larutan dalam botol kaca gelap.

3.6.3.2. Sintesis dan karakterisasi nanopartikel perak

Larutan AgNO_3 konsentrasi 2 mM diambil sebanyak 20 mL, 30 mL, dan 40 mL masing-masing dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan dengan 1 mL ekstrak etanol kulit buah sirsak kemudian campuran diaduk menggunakan pengaduk magnetik pada suhu 60°C hingga terjadi perubahan warna dan disimpan dalam botol kaca gelap. Karakteristik larutan diamati dengan perubahan warna, dan spektrum serapan UV-Vis (Asworo et al., 2023). Pembacaan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan pada hari ke 1,3,5,7 dan 9. Pembuatan nanopartikel perak dilakukan dengan tiga kali replikasi.

3.6.3.3. Validasi metode (Spesifisitas)

Validasi metode digunakan parameter uji spesifisitas menggunakan larutan HgCl_2 , PbCl_2 dan CdSO_4 konsentrasi 1000 ppm sebanyak 2 tetes masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 tetes nanopartikel perak yang maksimum. Diamati perubahan warna menjadi putih keruh jika beraksi dengan ion merkuri yang menandakan bahwa nanopartikel perak memiliki spesifisitas yang baik.

3.6.4. Pembuatan reagen dan larutan standart

3.6.4.1. Pembuatan larutan kalium iodida 0,5 N

Kalium iodida ditimbang sebanyak 0,83 gram kemudian dilarutkan dalam beaker glass menggunakan aquadest. Selanjutnya dimasukkan dalam labu takar 10 mL tambahkan dengan aquadest hingga tanda batas. Gojog hingga homogen. Simpan larutan dalam botol kaca gelap.

3.6.4.2. Pembuatan larutan standart Merkuri 1000 ppm

Serbuk HgCl_2 ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam beaker glass menggunakan aquadest. Selanjutnya dimasukkan dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan aquadest

hingga tanda batas. Gojog hingga homogen. Simpan larutan dalam botol kaca gelap.

3.6.4.3. Pembuatan larutan standart PbCl_2 1000 ppm

Serbuk PbCl_2 ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam beaker glass menggunakan aquadest. Selanjutnya dimasukkan dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas. Gojog hingga homogen. Simpan larutan dalam botol kaca gelap.

3.6.4.4. Pembuatan larutan standart CdSO_4 1000 ppm

Serbuk CdSO_4 ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam beaker glass menggunakan aquadest. Selanjutnya dimasukkan dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan aquadest hingga tanda batas. Gojog hingga homogen. Simpan larutan dalam botol kaca gelap.

3.6.5. Analisis sampel

3.6.5.1. Uji organoleptis

Pada uji organoleptis peneliti melakukan secara manual dengan merasakan tekstur, melihat warna, dan aroma krim pemutih.

3.6.5.2. Destruksi sampel krim pemutih

Sebanyak 0,5 gram sampel krim pemutih dimasukkan dalam tabung digesti tertutup dan ditambahkan 7 mL asam nitrat pekat. Panaskan diatas lempeng pemanasa pada suhu maksimum 60°C selama tidak kurang dari 3 jam. Masukkan hasil destruksi dalam labu takar 50 mL dan tambahkan aquadest hingga tanda batas. Biarkan selama 24 jam dalam lemari pendingin. Setelah 24 jam saring dengan kertas saring (BPOM RI, 2011).

3.6.5.3. Analisis menggunakan nanopartikel perak

Sebanyak 2 tetes sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes nanopartikel perak dan diamati perubahan warna larutan. Pengujian pada larutan spike yaitu dengan 2 tetes

sampel kemudian ditambahkan 2 tetes larutan standart merkuri 1000 ppm dan 2 tetes nanopartikel perak. Pengujian pada kontrol positif menggunakan 2 tetes larutan standart merkuri 1000 ppm ditambahkan 2 tetes nanopartikel perak dan kontrol negatif digunakan nanopartikel perak tanpa ditambahkan larutan apapun. Perubahan warna pada larutan menjadi putih keruh menunjukkan sampel positif mengandung logam merkuri (Notriawan et al., 2023). Sedangkan sampel negatif ditunjukkan dengan tidak terjadinya perubahan warna larutan.

3.6.5.4. Analisis menggunakan reagen Kalium Iodida 0,5 N

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL reagen kalium iodide 0,5 N nanopartikel perak. Pengujian juga dilakukan pada larutan spike yaitu dengan 1 mL sampel kemudian ditambahkan 1 mL larutan standart merkuri 1000 ppm dan 1 mL reagen kalium iodide 0,5 N. Pengujian pada kontrol positif yaitu dengan menambahkan 1 mL larutan standart merkuri 1000 ppm dan kontrol negatif digunakan nanopartikel perak tanpa ditambahkan larutan apapun. Terdapat endapan berwarna merah orange menunjukkan sampel positif mengandung logam merkuri. Sedangkan sampel negatif ditunjukkan dengan tidak terjadinya perubahan warna larutan.

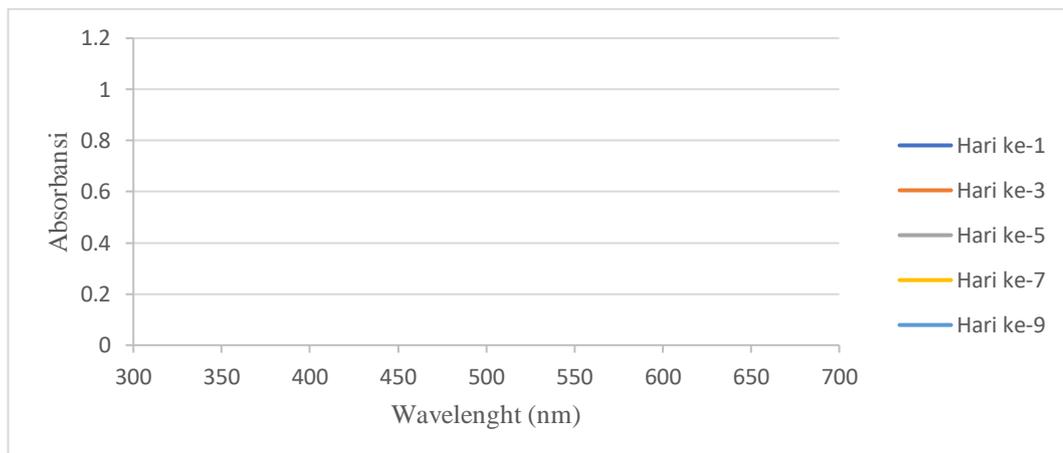
3.7. Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Data yang diperoleh berupa hasil karakterisasi nanopartikel perak dengan variasi volume AgNO_3 2 mM 20 mL, 30 mL dan 40 mL menggunakan spektrofotometer UV-Vis, hasil uji organoleptis sampel krim pemutih, dan hasil positif maupun negatif pada pengujian kualitatif merkuri akan disajikan dalam tabel sebagai berikut:

Tabel 3. 2 Contoh tabel pembacaan absorbansi nanopartikel perak menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Panjang Gelombang	Variasi Volume AgNO ₃ 2 mM	Absorbansi Hari Ke-				
		1	3	5	7	9
400	20 mL					
450						
400	30 mL					
450						
400	40 mL					
450						

Tabel 3.3 Contoh grafik hasil karakterisasi nanopartikel perak menggunakan spektrofotometer uv-vis



Tabel 3. 4 Contoh penyajian data hasil uji organoleptis

Kode sampel	Parameter Fisik		
	Warna	Bau	Tekstur
Sampel A			
Sampel B			
Sampel C			

Sampel D
Sampel E

Tabel 3.5 Contoh penyajian data hasil perbandingan pengujian sampel

Nama Sampel	Hasil Uji Sampel dengan NPP/KI	Keterangan
Kontrol positif		
Kontrol negatif		
A		
B		
C		
D		
E		