

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen komparatif, yaitu penelitian yang digunakan untuk mengetahui dan membandingkan pengaruh variabel independen (bebas) terhadap variabel dependen (terikat) dalam kondisi yang terkendalikan. Dalam penelitian ini yaitu untuk mengetahui dan membandingkan jenis fase gerak yang dapat digunakan untuk mendeteksi hidrokuinon didalam sampel krim yang dapat menghasilkan pemisahan yang paling baik.

Penelitian ini meliputi tiga tahap kerja yaitu tahap persiapan, tahap pelaksanaan penelitian, dan pengumpulan data. Pertama, tahap persiapan meliputi pengumpulan sampel krim wajah, persiapan alat dan bahan. Kedua, tahap pelaksanaan dalam penelitian ini meliputi identifikasi sampel dengan metode KLT menggunakan eluen dari campuran toluen:asam asetat glasial (8:2), n-heksan:aseton (3:2), methanol:kloroform (1:1). Parameter yang diamati adalah kemiripan hasil bercak noda dan nilai R<sub>f</sub> antara sampel dan baku pembanding. Ketiga, tahap pengumpulan data, menganalisa data, dan membuat kesimpulan dari data yang diperoleh.

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

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

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Ma Chung.

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

Penelitian ini dilaksanakan mulai dari penyusunan proposal sampai dalam kurun waktu terselesaikannya karya tulis ilmiah ini.

#### **3.3. Bahan dan Alat**

##### **3.3.1 Bahan:**

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu standar hidrokuinon, sampel krim, etanol 96% v/v, es, larutan pengembang: toluen - asam asetat glasial (8:2), n-heksan:aseton (3:2), methanol:kloroform (1:1).

##### **3.3.2 Alat:**

Adapun alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu lampu uv 254 nm, lempeng klt silika gel f254 siap pakai ukuran 10 cm x 5 cm, sonikator bath, wadah es, labu ukur 25 ml dan

10 ml, beaker glass 25 ml, neraca analitik, pipet tetes, oven, kertas saring, pipa kapiler, tabung reaksi.

### 3.4. Variabel penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang memberikan pengaruh pada variabel yang lain sedangkan variabel terikat adalah variabel yang dikenai pengaruh dari variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu jenis fase gerak sedangkan variabel terikatnya yaitu nilai Rf, bentuk noda dan pemisahan.

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

Variabel		Definisi Operasional	Metode Identifikasi	Hasil
Bebas	Jenis fase gerak	Komposisi fase gerak berdasarkan BPOM dan FI V untuk identifikasi kandungan HQ dalam krim wajah yang ditetapkan dengan KLT	Metode KLT	Fase gerak yang optimal
Terikat	Nilai Rf	Perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak tepi muka pelarut dari titik awal		
	Bercak noda	Bercak hasil elusi yang diamati dibawah lampu UV 254 nm		
	Pemisahan	Pemisahan dengan hasil yang optimal ditandai dengan bercak yang simetris		

### 3.5. Metode Penelitian (Prosedur Penelitian)

#### 3.5.1 Sampling

Sampel dalam penelitian ini adalah 4 krim wajah yang terdiri dari 1 krim wajah yang terdaftar BPOM sebagai kontrol negatif dan 3 krim wajah yang tidak terdaftar BPOM dan dibeli di Kecamatan Sidoarjo sebagai sampel uji. Krim wajah yang digunakan mencakup krim wajah siang, krim wajah malam.

Teknik sampling yang digunakan adalah purposive sampling, yaitu pengambilan sampel dengan alasan tertentu dimana sampel yang digunakan adalah krim wajah yang tidak memiliki nomor registrasi dan banyak peminat yang beredar di Kecamatan Sidoarjo.

### **3.5.2 Prosedur Analisis**

#### **3.5.2.1 Persiapan fase gerak**

Ada 3 macam fase gerak yang digunakan, yaitu:

- Fase gerak I : Toluena:asam asetat glasial (8:2) dalam 10 ml, dibuat dengan cara memasukkan 8 ml asam asetat glasial dan 2 ml toluena ke dalam beaker glass, kemudian dimasukkan kertas saring sebagai indikator kejenuhan eluen, kemudian ditutup dengan alumunium foil dan plastik wrap agar tertutup rapat.
- Fase gerak II : N-heksana:aseton (3:2) dalam 10 ml, dibuat dengan cara memasukkan 6 ml N-heksana dan 4 ml aseton ke dalam beaker glass, kemudian dimasukkan kertas saring sebagai indikator kejenuhan eluen, kemudian ditutup dengan alumunium foil dan plastik wrap agar tertutup rapat.
- Fase gerak III : Methanol:kloroform (1:1) dalam 10 ml, dibuat dengan cara memasukkan 5 ml methanol dan 5 ml kloroform ke dalam beaker glass, kemudian dimasukkan kertas saring sebagai indikator kejenuhan eluen, kemudian ditutup dengan alumunium foil dan plastik wrap agar tertutup rapat.

#### **3.5.2.2 Pembuatan larutan baku**

Ditimbang saksama lebih kurang 10 mg Hidrokinon BP, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10-mL dan ditambahkan dengan 5 mL etanol 96% v/v, lalu dikocok sampai larut, kemudian diencerkan dengan etanol 96% v/v sampai tanda. Kemudian diencerkan menjadi 5000 ppm dengan dipipet 5 ml dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan dengan 5 mL etanol 96% v/v dan dikocok sampai larut, kemudian diencerkan dengan etanol 96% v/v sampai tanda.

(Catatan: Larutan ini stabil kurang dari 1 hari pada suhu ruang).

#### **3.5.2.3 Pembuatan larutan uji**

Ditimbang saksama lebih kurang 1,5 g sampel di dalam beaker glass 25 mL. kemudian ditambahkan 15 mL etanol 96% v/v sedikit demi sedikit dan dicampur. Kemudian dituang ke dalam tabung reaksi. Kemudian dihomogenkan dalam tangas ultrasonik selama 10 menit. Kemudian dituang ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol 96% v/v sampai tanda, lalu dicampur. Kemudian diletakkan dalam tangas es selama lebih kurang 10 menit. Kemudian disaring melalui kertas saring dan dimasukkan kedalam botol vial. Pembuatan larutan uji dilakukan secara triplo pada 3 sampel krim dan duplo pada 1 sampel krim yang ber BPOM (sebagai kontrol negatif).

#### **3.5.2.4 Pembuatan larutan kontrol positif (spiked sample)**

Dicampur 1 mL larutan baku dengan 1 mL larutan uji (diambil satu saja dari salah satu larutan uji), kemudian dikocok.

### **3.5.2.5 Optimasi & Pengujian**

Diaktifkan plat pada suhu 100°C selama 30 menit. Kemudian dijenuhkan bejana kromatografi dengan larutan pengembang. Kemudian ditotolkan secara terpisah masing-masing larutan menggunakan pipa kapiler pada plat. Penotolan dapat dilakukan beberapa kali. Kemudian dikembangkan/dielusi plat dalam bejana kromatografi di ruang gelap pada suhu ruang hingga jarak rambat mencapai lebih kurang 8 cm dari titik penotolan. Kemudian dipindahkan plat, dan dikeringkan pada suhu ruang. Deteksi dengan mengamati lempeng di bawah penyinaran lampu UV 254 nm, dan ditandai posisi bercak.

## **3.6. Metode Analisis**

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan pengamatan hasil berupa kemiripan warna bercak Larutan uji dengan Larutan baku dan nilai Rf.

## **3.7. Pengolahan, penyajian, dan analisis data**

Pengolahan dan analisis data dilakukan untuk mengetahui ada atau tidak kandungan hidrokuinon dari keempat sampel krim pemutih dengan melihat warna bercak dan nilai Rf, nilai Rf dapat dihitung menggunakan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Kemudian dihitung rata-rata nilai Rf dari setiap sampel yang dilakukan secara triplo lalu dibandingkan dengan larutan baku.

Penyajian data hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel yang berisi warna bercak dan nilai Rf dari semua larutan.