

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental laboratorium mengenai ada tidaknya dan seberapa besar kadar relatif hidrokuinon pada krim pemutih.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

1. Waktu Penelitian

Waktu pelaksanaan dilakukan pada bulan Juli sampai Desember 2017.

2. Tempat Penelitian

Tempat pengambilan sampel dilakukan di pasar tradisional wilayah Kabupaten Banjarnegara, sedangkan tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

C. Definisi Operasional

Definisi operasional yaitu mendefinisikan variabel yang telah dirumuskan berdasarkan karakteristik variabel tersebut yang dapat di amati (Azwar, 2009).

Definisi operasional pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Larutan standar adalah larutan yang digunakan sebagai standar dalam penelitian untuk menentukan apakah sampel krim pemutih mengandung hidrokuinon atau tidak. Larutan standar

yang digunakan adalah hidrokuinon dengan konsentrasi 0,1 %.

2. Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini adalah Toluena dan asam asetat glasial dengan perbandingan 80:20.
3. Kontrol positif pada penelitian ini adalah Melanox. Melanox yaitu krim yang mengandung hidrokuinon 2%.

D. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian merupakan fasilitas atau alat yang akan digunakan oleh peneliti untuk memperoleh pengumpulan data sehingga hasil yang didapatkan lengkap, cermat dan sistematis serta mempermudah dalam pengolahan data.

Instrumen pada penelitian ini berupa alat dan bahan:

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas ukur 50 ml (Pyrex[®]), labu ukur 25 ml (Pyrex[®]), beaker gelas (Pyrex[®]), pipet ukur 10 ml (Pyrex[®]), pipet volume 2 ml (Pyrex[®]), pipet volume 5 ml (Pyrex[®]), pipet tetes, propipet, sendok pengaduk, kertas saring, timbangan digital, *waterbath*, plat KLT, bejana kromatografi (*chamber*), lampu UV, dan densitometer (Camag TLC Scanner 4).

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Standar hidrokuinon (BPOM), krim pemutih (krim yang digunakan berasal dari beberapa pasar tradisional di Kabupaten

Banjarnegara), HCl 4 N (Merck[®]), etanol (Brataco[®]), natrium sulfat (Merck[®]), fase diam (silika gel GF 254) (Merck[®]), fase gerak toluen (Merck[®]) : asam asetat glasial (Brataco[®]) (80:20) dan aquades (Brataco[®]).

E. Cara Kerja

1. Analisis Kualitatif Krim Pemutih Dengan Metode KLT

a. Pembuatan Larutan Standar Hidrokuinon

Larutan standar hidrokuinon 0,1% diperoleh dari BPOM.

b. Preparasi Sampel Uji

Ditimbang sebanyak 1,25 gram pada masing-masing sampel kemudian dimasukkan kedalam beaker gelas. Ditambahkan 3 tetes HCl 4 N (HCl pekat 16,5 ml diencerkan dengan aquades sampai volume pada gelas ukur 50 ml) dan 5 ml etanol, kemudian dipanaskan di atas *waterbath* dengan suhu 60⁰C selama 10 menit sambil diaduk (Siddique, *et al.*, 2012). Masing-masing sampel yang telah dipanaskan disaring kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml ketika disaring pada kertas saring ditambahkan natrium sulfat untuk mengangkat lemak. Ditambahkan etanol sampai garis tanda pada masing-masing sampel yang telah di saring, selanjutnya dihomogenkan dengan cara dikocok.

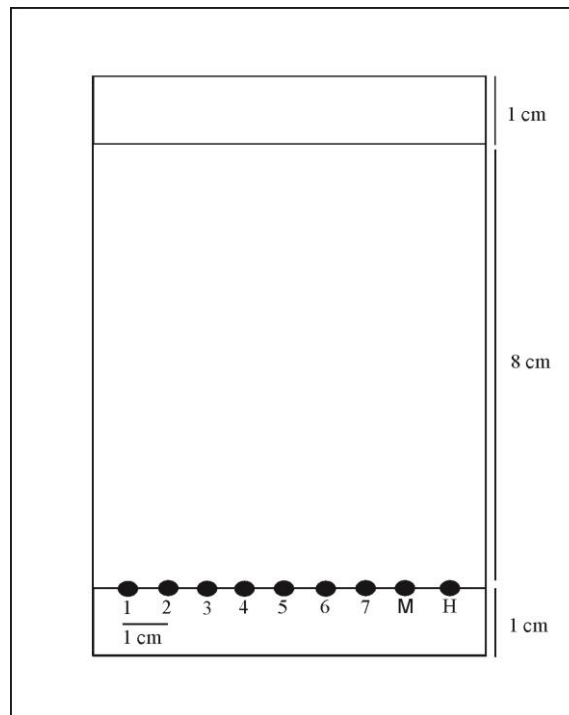
c. Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan adalah fase gerak dari hasil optimasi penelitian sebelumnya (Ningsih, 2009) yaitu toluen : asam asetat glasial dengan perbandingan 80:20.

Toluen diambil dengan menggunakan pipet ukur sebanyak 8 ml kemudian dimasukkan pada beaker gelas. Asam asetat glasial diambil sebanyak 2 ml dimasukkan pada beaker gelas yang berisi toluen. Dihomogenkan dan kemudian dimasukkan dalam *Chamber*. Kertas saring dimasukkan kedalam *chamber* untuk mengetahui fase gerak telah jenuh dilihat dari fase gerak telah naik ke atas kertas saring.

d. Penotolan pada plat KLT

Ditotolkan larutan standar, larutan kontrol positif (melanox) dan larutan uji diatas plat KLT dengan volume penotolan 25 µl menggunakan mikro *syringe*. Diberi jarak 1 cm dari bawah plat dan jarak masing-masing penotolan 1 cm (Gambar 3). Kemudian plat KLT yang telah ditotol dengan larutan dimasukkan kedalam *chamber* yang telah berisi fase gerak (toluen : asam asetat glasial dengan perbandingan 8:2). Setelah larutan naik ke atas *chamber* kemudian plat diangkat dan dikeringkan. Untuk mengetahui noda yang terbentuk pada plat KLT dapat dilihat pada sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm. Kemudian dihitung nilai Rf nya.



Gambar 3. Cara Penotolan pada Plat KLT. (1) Sampel 1; (2) Sampel 2 ; (3) Sampel 3; (4) Sampel 4; (5) Sampel 5; (6) Sampel 6; (M) Melanox; dan (H) Hidrokuinon.

Nilai Rf dapat dihitung dengan menggunakan persamaan (1).

e. Evaluasi Keberadaan Hidrokuinon dalam Sampel.

Penentuan Rf hidrokuinon pada penelitian ini didasarkan pada penelitian terdahulu oleh Ningsih (2009). Setelah itu, membandingkan dengan standar hidrokuinon dari BPOM.

2. Analisis Kuantitatif Krim Pemutih Dengan Metode Densitometer

Plat KLT yang telah dibaca pada sinar ultraviolet dan terdapat sampel yang mengandung hidrokuinon dimasukan pada alat densitometer. Bercak yang terbentuk dilihat dengan panjang gelombang 254 nm. Dilihat *peak* yang terbentuk pada diagram dan tabel *peak* untuk melihat luas area yang terbentuk pada masing-masih larutan yang ditotolkan. Konsentrasi hidrokuinon yang

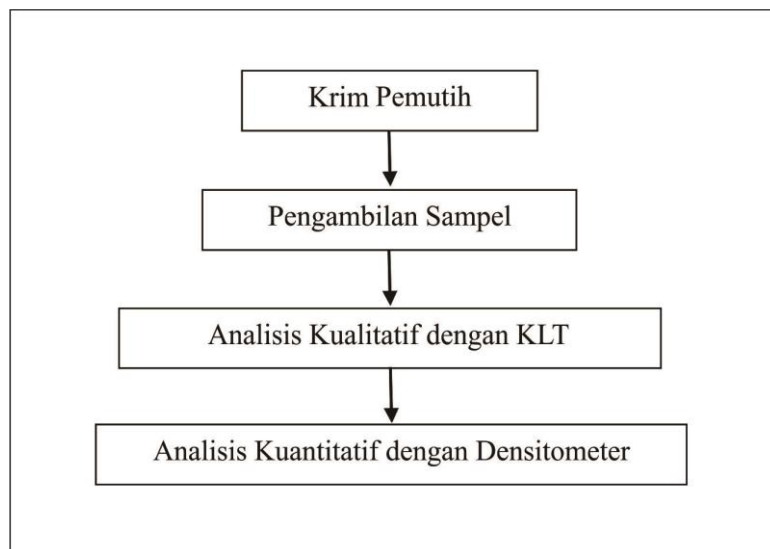
terkandung dalam sampel dapat dihitung menggunakan persamaan

(2) sebagai berikut:

$$\frac{\text{Konsentrasi Melanox}}{\text{Luas Area Melanox}} = \frac{\text{Konsentrasi Sampel}}{\text{Luas Area Sampel}} \quad (2)$$

Kemudian data yang diperoleh dicatat.

F. Skema Analisis



Gambar 4. Skema Langkah Kerja

G. Analisa Data

Data hasil uji laboratorium yang telah diperoleh kemudian diolah dan dideskripsikan dengan jelas.