

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis penelitian ekperimental laboratorik mengenai ada tidaknya kandungan hidrokinon dalam krim pemutih wajah.

B. Tempat dan Waktu

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung dari bulan April 2018 hingga bulan Juli 2018.

2. Tempat Penelitian

Tempat Pengambilan sampel dilakukan di Kecamatan Slawi, Kabupaten Tegal, untuk tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

C. Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan suatu variable yang didapatkan secara operasional menurut karakteristik yang diamati dimana memungkinkan peneliti untuk melakukan observasi atau pengukuran secara teliti terhadap suatu objek atau fenomena (Aziz, 2007).

1. larutan standar yang digunakan dalam penelitian ini adalah hidrokinon dengan konsentrasi 0,1%. Larutan standar tersebut digunakan untuk menentukan krim sampel yang diuji mengandung hidrokinon atau tidak.

2. Krim pemutih yang diuji merupakan krim pemutih yang tidak memiliki nomor registrasi BPOM yang beredar di Kecamatan Slawi, Kabupaten Tegal.
3. Kromatografi Lapis Tipis dan Densitometri merupakan metode yang digunakan dalam penelitian ini untuk mengidentifikasi senyawa hidrokinon dalam krim pemutih.

D. Bahan dan Alat

1. Bahan

Terdapat tiga fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Kloroform : Metanol (5:5), Toluena : Asam asetat glasial (8:2), N-heksana : Aseton (3:2), semua eluen yang digunakan pada penelitian ini menggunakan Merck®. Untuk fase diamnya menggunakan Silika gel F 254 nm (Merck®), Hidrokinon (BPOM), Etanol (Brataco®), HCl 4N (Merck®), Natrium sulfat (Merck®) dan Aquadest (Brataco®).

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Beaker Glass (Pyrex®), Timbangan analitik (Mettler Toledo®), Pipet Tetes, Spatula, Hot Plate (Cimarec®), Kertas Saring, Labu Ukur 25 ml (Pyrex®), Plat Tipis, Jarum Suntik, Bejana Kromatografi (Camag®), Lampu UV, Gelas Ukur 50 ml (Pyrex®), dan Densitometer (Camag TLC Scanner 4).

E. Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan Bahan

Sampel pengambilan krim kosmetik yang digunakan diambil 12 sampel dari krim pemutih wajah yang tidak terdaftar BPOM. Sampel diambil dari beberapa toko yang berada di kecamatan Slawi, kabupaten Tegal. Sampel yang dianalisis dalam bentuk ekstrak etanol yang kemudian dianalisis dengan KLT-Densitometri.

2. Metode Kromatografi Lapis Tipis

a. Pembuatan Larutan Uji

Preparasi sampel dilakukan dengan cara menimbang secara seksama krim pemutih wajah sebanyak 1,25 g, kemudian ditambahkan 3 tetes HCl 4N yang telah diencerkan dan ditambahkan 5 ml etanol. Ketiga bahan tersebut kemudian dipanaskan sambil diaduk. Kemudian bahan tersebut disaring dengan penambahan natrium sulfat dalam kertas saring dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25ml. Selanjutnya ditambahkan dengan etanol hingga garis tanda dan dihomogenkan.

b. Pembuatan Larutan Baku

Untuk larutan baku hidrokinon diambil dari standar baku hidrokinon 0,1 %.

c. Identifikasi Sampel dengan KLT

1) Penjenuhan bejana

Penjenuhan bejana kromatografi yang akan digunakan untuk pengembangan harus dijenuhkan terlebih dahulu dengan cara

memasukkan eluen yang telah dibuat ke dalam bejana yang diberi kertas saring sebagai parameter jika bejana tersebut telah jenuh oleh eluen, bejana tersebut kemudian ditutup rapat. Eluen yang digunakan mengacu pada peraturan BPOM tahun 2011 mengenai identifikasi dan penetapan hidrokinon dalam kosmetik dengan metode KLT yakni N-heksan : Aseton (3:2), Toluena : Asam asetat glasial (8:2) dan Kloroform : Metanol (1:1).

2) Penempatan cuplikan

Penempatan cuplikan dilakukan pada lapisan tipis plat KLT gel F 254 yang sebelumnya telah diberi tanda 1 cm dari tepi bawah dimana garis ini merupakan garis awal tempat sampel ditotolkan. Pada bagian atas garis diberi jarak 8 cm dari garis awal dimana garis ini merupakan garis akhir yang menandakan pengembangan telah berakhir. Penotolan dilakukan dengan menotolkan 20 µl larutan uji dan larutan baku pada plat KLT gel F 254. Garis awal yang telah kering pada plat KLT gel F 254 kemudian dimasukkan ke dalam bejana pengembang yang telah dijenuhkan oleh fase gerak dan bejana harus tertutup rapat. Eluen yang telah mencapai garis akhir kemudian plat dikeluarkan dari bejana dan dibiarkan hingga kering.

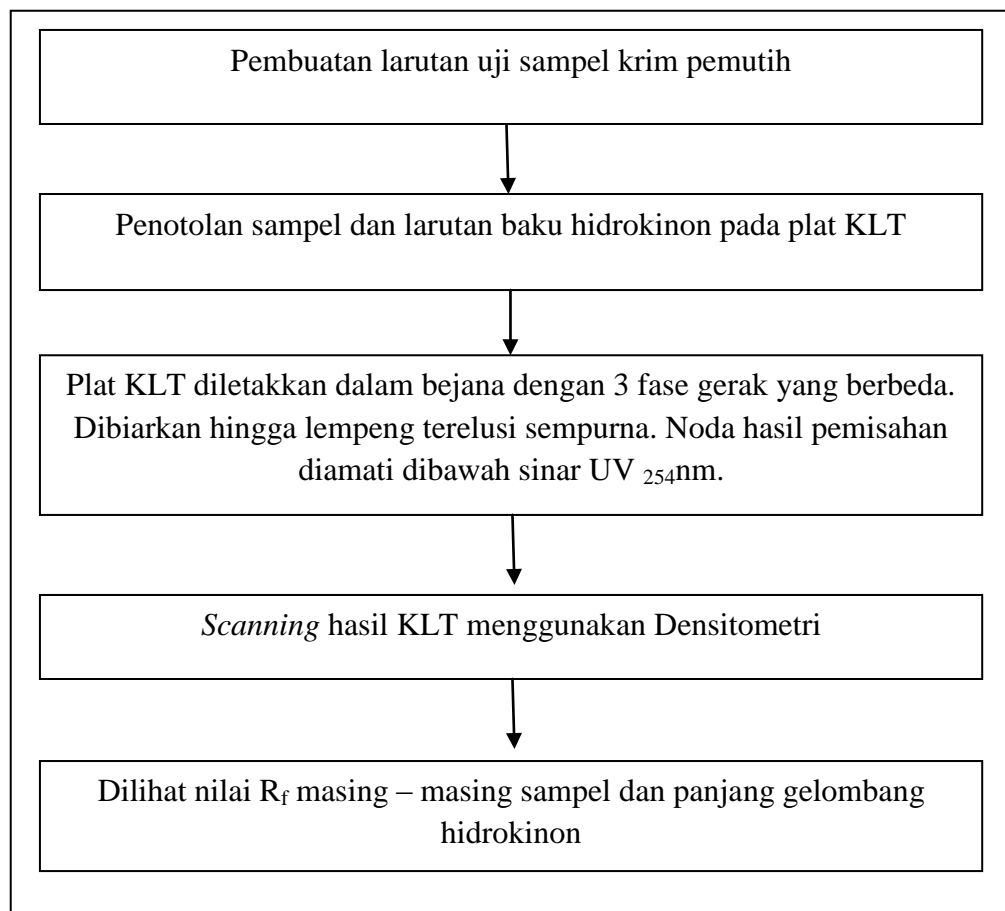
d. Analisis dengan metode Kromatografi Lapis Tipis

1) Deteksi bercak

Plat yang telah kering tersebut kemudian dideteksi di bawah sinar lampu ultraviolet untuk dapat mengetahui ada tidaknya bercak. Panjang gelombang yang digunakan dalam mendeteksi bercak pada plat yaitu 254 nm ini mendeteksi adanya cincin aromatis dan ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat mengabsorpsi sinar UV (Sherma, 2003).

2) Penentuan nilai Rf

Untuk dapat mengetahui nilai Rf, dan panjang gelombang maka dilakukan analisis menggunakan KLT–Densitometri. Tujuan dari *scanning* tersebut adalah untuk mengubah spot pada lapisan ke dalam kromatogram yang terdiri dari rangkaian *peak* yang sama.

F. Skema Kerja**Gambar 3.** Skema Kerja