

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah deskriptif laboratorik, yang artinya penelitian dilakukan di Laboratorium untuk mendeteksi kandungan dan kadar bahan kimia berbahaya pada krim pemutih wajah dari 4 klinik kecantikan ternama di Kota Yogyakarta.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2018–Mei 2019 di Laboratorium Penelitian dan Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

C. Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan semua variabel dan istilah yang akan digunakan dalam penelitian, sehingga mempermudah pembaca dalam mengartikan makna penelitian tersebut (Nursalam, 2000).

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Krim pemutih wajah yang digunakan dalam penelitian ini adalah krim pemutih yang diambil dari 4 klinik kecantikan ternama di kota Yogyakarta.
2. Larutan KI 0,5 N dalam penelitian ini digunakan sebagai reagen untuk uji kualitatif kandungan merkuri.
3. Larutan pembanding hidrokuinon dan asam retinoat digunakan untuk menentukan sampel krim yang diuji mengandung hidrokuinon atau tidak.

4. Kromatografi lapis tipis dan HPLC merupakan metode yang digunakan dalam penelitian ini untuk mengidentifikasi senyawa hidrokuinon dan asam retinoat dalam sampel krim pemutih.

D. Instrumen Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

a. Analisis Merkuri

Timbangan analitik (Mettler Tolledo[®]), kompor listrik, kertas saring, corong, Erlenmeyer (Pyrex[®]), gelas beker (Pyrex[®]), pipet volume, pipet tetes, cawan porselin, batang pengaduk, *Mercury Analyzer*.

b. Analisis Asam Retinoat

Timbangan analitik (Mettler Tolledo[®]), bejana kromatografi (Camag[®]), Erlenmeyer (Pyrex[®]), gelas beker (Pyrex[®]), labu ukur (Pyrex[®]), *microsyringe* (Hamilton[®]), pipet volume, kertas saring, corong, lampu UV₂₅₄.

c. Analisis Hidrokuinon

Timbangan analitik (Mettler Tolledo[®]), bejana kromatografi (Camag[®]), Erlenmeyer (Pyrex[®]), gelas beker (Pyrex[®]), labu ukur (Pyrex[®]), penangas air, kertas saring, pipet volume, *microsyringe* (Hamilton[®]), corong, lampu UV₂₅₄, HPLC (Eicom[®]).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

a. Analisis Merkuri

Sampel krim pemutih wajah, aquadest (Brataco[®]), HNO₃ pekat (Bratachem[®]), HCL pekat (Bratachem[®]), larutan KI 0,5 N (Merck[®]).

b. Analisis Asam Retinoat

Sampel krim pemutih, standar asam retinoat, n-heksan (Brataco[®]), aseton (Merck[®]), etanol 96% (Merck[®]), metanol (Merck[®]), asam asetat glasial (Brataco[®]), plat KLT.

c. Analisis Hidrokuinon

Sampel krim pemutih wajah, standar hidrokuinon (Merck[®]), asam asetat glasial (Brataco[®]), toluene (Brataco[®]), aseton (Merck[®]), n-heksan (Brataco[®]), etanol 96% (Merck[®]), metanol (Merck[®]), plat KLT.

E. Cara Kerja

1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan diambil dari 4 klinik kecantikan ternama di kota Yogyakarta. Sampel tersebut harus memenuhi kriteria sebagai berikut:

- a. Sampel adalah sampel krim pemutih wajah (krim malam). Empat sampel yang diambil diberi kode A, B, C dan D
- b. Sampel dijual oleh klinik kecantikan ternama dan terkenal di kota Yogyakarta

2. Uji Kualitatif 4 Sampel Krim A, B, C dan D

Uji keberadaan merkuri, asam retinoat dan hidrokuinon dilakukan dengan metode yang sesuai seperti dibawah ini:

a. Uji Keberadaan Merkuri dalam Sampel A, B, C dan D

1) Pembuatan Larutan KI 0,5 N

Kalium Iodida ditimbang lebih kurang sebanyak 2 g, dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml dan ditambah aquadest sampai tanda batas, dikocok homogen (Puteri, dkk, 2016).

2) Pembuatan Larutan Aqua Regia

HCL pekat diambil sebanyak 75 ml, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 ml dan ditambah HNO₃ pekat sebanyak 25 ml (perbandingan volume 3:1) (Puteri, dkk, 2016).

3) Preparasi Sampel

Masing-masing sampel krim A, B, C dan D ditimbang lebih kurang 1 g sampel. Ditambah air 12,5 ml, kemudian ditambah dengan 5 ml larutan aqua regia dan diuapkan sampai hampir kering diatas kompor listrik. Pada sisa penguapan ditambah 5 ml aquadest, kemudian dipanaskan sebentar, didinginkan dan disaring (Puteri, dkk, 2016).

4) Pengujian Sampel

Larutan uji dari masing-masing sampel diambil sebanyak 1 ml, kemudian ditambah 1-2 tetes KI 0,5 N. Jika sampel positif mengandung merkuri maka akan terbentuk endapan berwarna merah orange (Puteri, dkk, 2016).

b. Uji Keberadaan Asam Retinoat

Metode yang dilakukan untuk uji keberadaan asam retinoat dalam sampel krim A, B, C dan D mengacu pada penelitian sebelumnya oleh Suhartini 2013 seperti dibawah ini:

1) Preparasi Sampel

Ditimbang 1,5 g sampel kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambah 5 ml metanol dan dibungkus dengan alumunium foil, kocok hingga homogen. Didinginkan dalam wadah es selama kurang lebih 15 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh digunakan sebagai larutan uji.

2) Pengujian Sampel

Pengujian sampel dilakukan menggunakan metode KLT dengan fase gerak A (n-heksan-asam asetat glasial 0,33% dalam etanol p.a 9:1) dan fase gerak B (n-heksan-aseton 6:4). Disiapkan plat KLT yang sudah dibuat batas atas dan bawah. Larutan pembanding dan larutan uji ditotolkan secara terpisah menggunakan pipa kapiler, kemudian dimasukkan kedalam eluen dan didiamkan hingga fasa bergerak naik sampai batas atas. Setelah itu, plat dikeringkan dan disinari dibawah lampu UV 254 nm kemudian dihitung nilai Rf nya.

c. Uji Keberadaan Hidrokuinon

Metode yang digunakan untuk uji keberadaan hidroquinon mengacu pada Peraturan BPOM Tentang Metode Analisis Kosmetika Tahun 2011 seperti dibawah ini:

1) Preparasi Sampel

Ditimbang sampel sebanyak 1,5 g dan dimasukkan kedalam gelas beker, ditambahkan 15 ml etanol kemudian dipanaskan diatas penangas air pada suhu 60°C selama kurang lebih 15 menit sambil diaduk. Kemudian didinginkan, tuang kedalam labu ukur 25 ml dan ditambah etanol sampai garis tanda, saring menggunakan kertas saring (BPOM, 2011).

2) Pengujian Sampel

Pengujian sampel dilakukan menggunakan metode KLT dengan fase gerak A (n-heksan-aseton 3:2) dan fase gerak B (toluene-asam asetat glasial 8:2). Disiapkan plat KLT yang sudah diberi batas atas dan bawah. Larutan pembanding dan sampel ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler, kemudian dimasukkan kedalam eluen dan didiamkan hingga fasa bergerak sampai batas atas. Setelah itu, plat dikeringkan dan disinari dibawah lampu UV 254 nm kemudian dihitung nilai Rf nya.

1. Uji Kuantitatif Sampel

a. Penetapan Kadar Hidrokuinon menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

1) Penyiapan Larutan Baku

Ditimbang kurang lebih 50 mg hidrokuinon, dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, dilarutkan dalam 25 ml fase gerak kemudian dikocok dan dilarutkan kembali dengan fase gerak sampai tanda, sehingga didapatkan konsentrasi 1 mg/1ml. Kemudian dibuat larutan standar dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm (Siddique, 2012).

2) Preparasi Sampel

Ditimbang kurang lebih 1 g sampel krim dalam gelas beker, ditambahkan 25 ml fase gerak (metanol:air 55:45) dan campur hingga homogen. Kemudian dipanaskan diatas penangas air pada suhu 60°C selama 15 menit, didinginkan pada suhu ruang. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dan ditambahkan fase gerak sampai tanda kemudian disaring menggunakan kertas saring. Diambil 1 ml dari larutan tersebut kemudain ditambahkan dengan 10 ml fase gerak, saring menggunakan membran penyaring. Larutan sampel di injeksikan pada HPLC dengan laju air 0,5 ml/menit, detektor 295 nm dan volume injeksi 20 µl.

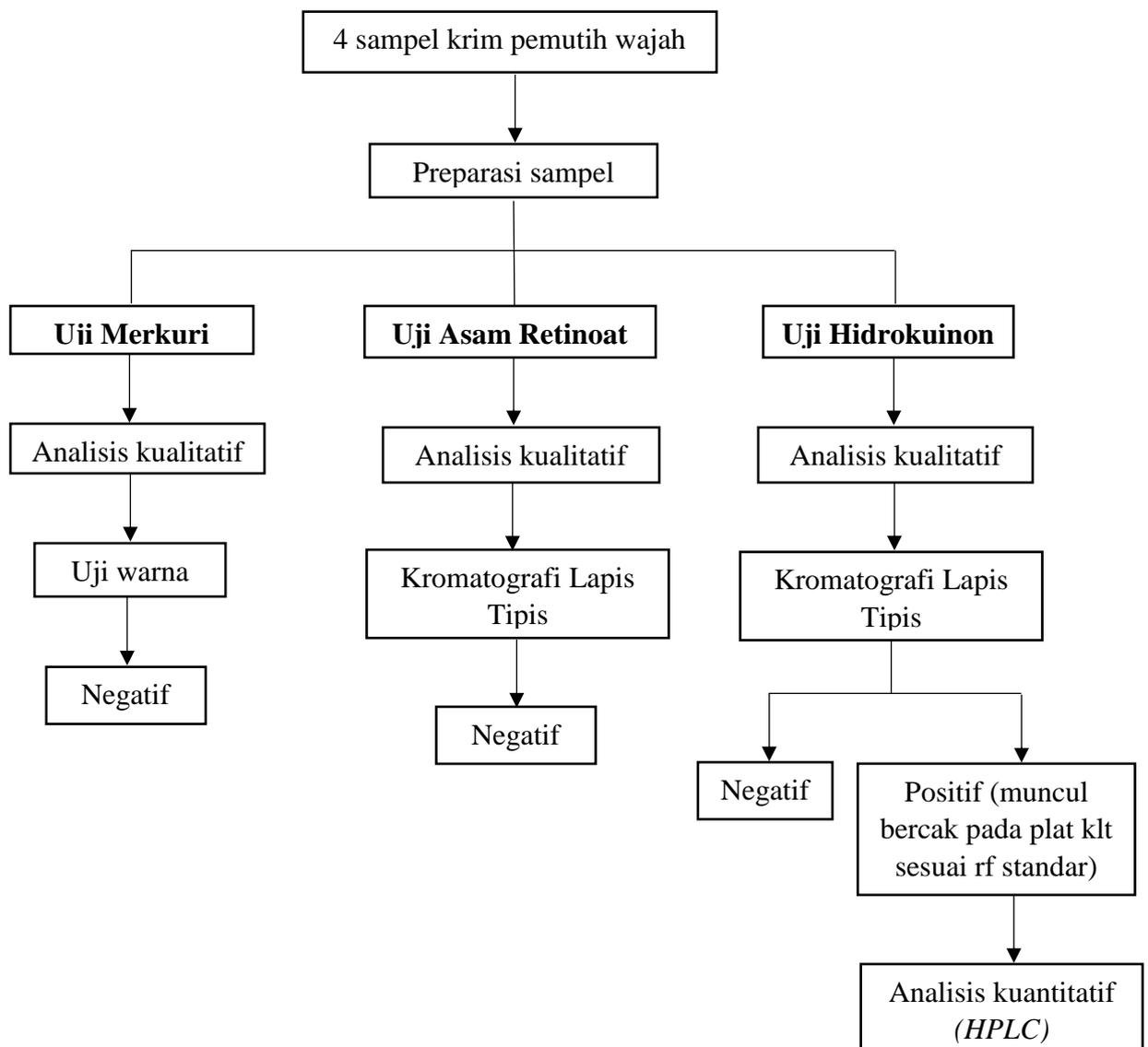
3) Perhitungan Kadar

Untuk menetapkan kadar hidrokuinon dalam sampel, digunakan persamaan sebagai berikut:

$$y = ax + b$$

$$\% \text{ kadar hidrokuinon} = \frac{X \text{ (ppm)} \cdot \text{volume (L)}}{\text{bobot sampel}} \times fp$$

A. Skema Langkah Kerja



Gambar 1. Bagan Skema Langkah Kerja

B. Analisis Data

Hasil data yang diperoleh dari uji kualitatif dan kuantitatif kandungan merkuri, hidrokuinon dan asam retinoat pada krim pemutih wajah kemudian dianalisis dan dideskripsikan dengan jelas. Uji kualitatif meliputi uji warna dan metode kromatografi lapis tipis. Uji warna dideskripsikan dengan terbentuknya endapan berwarna orange pada larutan uji yang menandakan sampel positif mengandung merkuri, sedangkan metode kromatografi lapis tipis dideskripsikan dengan menghitung nilai Rf sampel dibandingkan dengan nilai Rf larutan standar. Uji kuantitatif pada penelitian ini digunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) untuk menghitung kadar hidrokuinon dalam sampel.

