

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian non-eksperimental yang bersifat deskriptif karena hanya menggambarkan keadaan yang ada berupa kadar hidrokuinon pada *handbody lotion* tanpa label BPOM yang dijual di *e-commerce*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jendral Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Mei - Juli 2023.

C. Sampel Penelitian

Pada penelitian ini teknik sampling yang akan digunakan adalah *purposive sampling*. Kriteria sampel inklusi yang digunakan adalah *handbody lotion whitening* tanpa label BPOM yang dijual secara *E-Commerce* (X dan Y), dengan harga Rp 25.000 - Rp 75.000, sebanyak 5 sampel. Kriteria eksklusinya yaitu wadah *handbody lotion* yang diterima dalam kondisi rusak, *handbody lotion* yang sudah kadaluwarsa, *handbody lotion* yang berasal dari toko yang sama.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variable bebas dalam penelitian ini adalah *handbody lotion*

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai t_R serta kadar hidrokuinon pada *handbody lotion*

3. Variabel terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah *handbody lotion* tanpa label BPOM, jenis pelarut fase gerak metanol:*aquadest* (45:55), suhu 60°C selama 15 menit untuk memisahkan fase air dan minyak dalam sampel serta kecepatan laju alir 1,0 ml/menit dan volume injeksi 20 µL.

E. Definisi Operasional Variabel

Penelitian ini menggunakan sampel *handbody lotion* tanpa label BPOM yang didapatkan dari media penjualan *online*. Dilakukan uji kualitatif hidrokuinon menggunakan FeCl₃ dan nilai t_R. Uji kuantitatif penetapan kadar hidrokuinon dengan metode HPLC menggunakan fase gerak *aquadest*:metanol (55:45) dengan kecepatan laju alirnya 1,0 ml/menit. Sampel *handbody lotion* yang sudah dipreparasi kemudian disuntikkan kedalam HPLC dengan panjang gelombang maksimum hidrokuinon.

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan adalah HPLC (*Shimadzu*) dengan *detector* UV-Vis, kolom ODS/C18, sonikator (*Cole parmer*), vortex (*Ohaus*), labu takar (*Iwaki*), sentrifugasi (*EBA 200 Hettich*), timbangan analitik (*Ohaus*), pipet tetes, sendok tanduk, kaca arloji, corong, spatula, batang pengaduk, mikropipet (*Ohaus*), tabung reaksi (*Iwaki*), dan peralatan gelas laboratorium.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah *handbody lotion whitening* tanpa label BPOM, *aquadest* pi : metanol *for* HPLC, etanol 96% teknis, FeCl₃, milipore 0,2 µm dan 0,45 µm, serta larutan standar hidrokuinon (BPFI).

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Analisis kualitatif

a. Pereaksi FeCl₃

Dimasukkan 100 mg sampel *handbody lotion whitening* kedalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 5 mL dan dihomogenkan. Ditambahkan beberapa tetes pereaksi FeCl₃. Hasil positif mengandung hidrokuinon ditunjukkan dengan perubahan warna hijau hingga hitam (Chakti *et al.*, 2019).

b. Nilai t_R

Dilakukan perbandingan antara nilai t_R standar dengan nilai t_R sampel (Lestari & Prasasti, 2018).

2. Analisis kuantitatif

a. Pembuatan fase gerak

Dicampurkan metanol *for HPLC* 135 mL dengan 165 mL *aquadest* pi sehingga diperoleh 300 mL fase gerak methanol:*aquadest* (45:55), disaring terlebih dahulu fase gerak dengan *syringe milipore* 0,45 µm dan dilakukan *degassing* (Siddique *et al.*, 2012).

b. Pembuatan standar

Dibuat berdasarkan penelitian Siddique *et al* (2012) dengan modifikasi. Larutan induk 1000 ppm dibuat dengan cara ditimbang seksama standar hidrokuinon sebanyak 50,0 mg, dimasukkan ke labu takar 50,0 mL, dilarutkan dengan 25,0 mL *aquadest*:metanol (55:45) lalu digojog dan ditambahkan lagi dengan *aquadest*:metanol (55:45) hingga tanda garis batas. Dibuat seri larutan standar dengan konsentrasi 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5; 5; dan 5,5 ppm.

c. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan standar hidrokuinon konsentrasi 5 ppm, dibaca serapannya dari panjang gelombang 200-400 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

d. Preparasi sampel

Ditimbang seksama sampel 1,0 gram lalu dilarutkan dengan 25,0 mL fase gerak, divorteks selama 1 menit, kemudian di sonikasi selama 15 menit

dalam suhu 60°C untuk memisahkan fase minyak dan air kemudian didinginkan pada suhu ruang. Lalu dilakukan sentrifugasi selama 10 menit kemudian disaring dengan kertas saring. Dimasukkan larutan fase air ke labu ukur 50,0 mL, ditambahkan fase gerak hingga batas tanda maka akan didapatkan konsentrasi 20.000 ppm. Kemudian disaring dengan *milipore* 0,2 μm . Disuntikkan sampel pada *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan panjang gelombang maksimum yang diperoleh dalam kondisi kecepatan laju alir 1 mL/menit serta volume injeksi 20 μL selama 7 menit (Siddique *et al.*, 2012).

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Analisis data

a. Analisis penetapan kadar hidrokuinon

Untuk menetapkan kadar hidrokuinon dapat menggunakan persamaan sebagai berikut (Lestari & Prasasti, 2018):

$$\text{Nilai } x \text{ diperoleh dari } y = bx + a \text{ atau } x = \frac{y-a}{b}$$

Yang merupakan hubungan antara nilai konsentrasi vs nilai AUC (*Area Under Curve*)

$$\% \text{ kadar} = \frac{\text{Konsentrasi} \times \text{Volume}}{\text{Bobot Sampel}} \times F_p \times 100\%$$

b. Nilai rata-rata

Nilai rata-rata adalah nilai yang mewakili kumpulan data. Mean atau rata-rata didapatkan dengan menjumlahkan keseluruhan data dibagi dengan banyaknya data (Fitria *et al.*, 2018).

$$\bar{x} = \frac{\text{Jumlah seluruh data}}{\text{Banyak data}}$$

c. SD (standar deviasi)

Simpangan baku atau standar deviasi adalah nilai yang digunakan untuk menentukan seberapa dekat nilai data dengan nilai rata-rata (Yusniyanti & Kurniati, 2017).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

d. CV (*coefficient variation*)

Koefisien variasi atau *variation coefficient* adalah nilai perbandingan antara deviasi standar dengan nilai rata-rata hitung (Yusniyanti & Kurniati, 2017).

$$CV = \frac{SD}{\text{Rata - rata}} \times 100\%$$

e. LE (*limit of error*)

LE (*limit of error*) atau CI (*confidence interval*) adalah perkiraan rentang nilai yang mencakup nilai populasi sebenarnya (Hazra, 2017)

$$LE = t \text{ tabel} \times \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
PERPUSTAKAAN
YOGYAKARTA