

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan melakukan analisis kandungan senyawa merkuri dan hidrokuinon pada 5 krim pemutih wajah yang dijual melalui media *e-commerce X* secara kualitatif dan kuantitatif.

B. Lokasi dan waktu penelitian

1. Lokasi

Analisis kualitatif merkuri dan hidrokuinon dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta. Analisis kuantitatif merkuri dilaksanakan di LPPT UGM sedangkan analisis kuantitatif hidrokuinon dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei tahun 2021.

C. Sampel Penelitian

Sampel krim pemutih wajah yang digunakan yaitu krim dengan berlabel (A, C dan E) dan tidak berlabel BPOM (B dan D), dijual dengan kisaran harga mulai dari Rp 15.000 – Rp 35.000 dan masih banyak dibeli oleh masyarakat dengan penjualan produk mulai dari ratusan sampai ribuan pembeli.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah sampel produk krim pemutih wajah.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kandungan dan kadar senyawa merkuri dan hidrokuinon

E. Definisi Operasional

Sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 5 produk krim pemutih wajah yang dibeli melalui media *e-commerce* X. Pengambilan sampel produk krim pemutih wajah dilakukan berdasarkan jumlah produk yang terjual, tidak terdapat komposisi bahan dan izin BPOM serta dijual dengan harga murah.

Metode analisis yang dilakukan pada masing-masing sampel adalah analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif merkuri dilakukan dengan pereaksi NaOH, HCl dan kalium iodide 0,5 N sedangkan hidrokuinon dilakukan dengan pereaksi FeCl₃, Ag-amoniakal dan metode KLT. Untuk analisis kuantitatif merkuri dilakukan menggunakan metode uap dingin dengan peralatan *mercury analyzer* sedangkan hidrokuinon dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 293 nm dengan peralatan spektrofotometer.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam preparasi sampel untuk analisis merkuri dan hidrokuinon yaitu alat gelas, kertas saring dan timbangan analitik. Alat yang digunakan dalam uji kualitatif senyawa merkuri dan hidrokuinon yaitu alat gelas, timbangan analitik, pipa kapiler, pensil, penggaris dan lampu UV. Alat yang digunakan dalam uji kuantitatif senyawa merkuri yaitu *mercury analyzer* dan alat gelas. Alat yang digunakan dalam pembuatan larutan baku hidrokuinon yaitu alat gelas dan timbangan analitik. Alat yang digunakan dalam uji kuantitatif senyawa hidrokuinon yaitu alat gelas, timbangan analitik dan spektrofotometri UV-Vis.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam preparasi sampel untuk analisis merkuri yaitu 5 krim pemutih, asam nitrat pekat, H₂O₂ pekat, etanol 96%, kertas saring dan aquabides. Bahan yang digunakan dalam uji kualitatif senyawa merkuri dan hidrokuinon yaitu pereaksi NaOH, HCl, kalium iodide 0,5 N, FeCl₃, Ag-amoniakal, aseton, plat silika gel GF254, n-heksan dan etanol.

Bahan yang digunakan dalam preparasi sampel untuk analisis hidrokuinon yaitu 5 krim pmutih dan etanol 96%. Bahan yang digunakan dalam uji kuantitatif senyawa merkuri dan hidrokuinon yaitu 5 krim pemutih, etanol 96% dan hidrokuinon murni

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Penyiapan bahan

a. Preparasi sampel uji merkuri (Rahman dkk, 2019)

Sampel krim pemutih dipreparasi menggunakan metode destruksi basah dengan cara ditimbang sampel masing-masing sebanyak 2 g kemudian dimasukkan kedalam gelas beaker dan dicampurkan dengan 10 mL asam nitrat pekat selanjutnya dipanaskan sampel diatas hot plate pada suhu 80°C sampai kering. Ditambahkan 2 mL H_2O_2 pekat kemudian diencerkan bahan sisa dengan air deionisasi sampai volume akhir 100 mL selanjutnya disaring larutan menggunakan kertas saring.

b. Preparasi sampel uji hidrokuinon (Yulia dkk, 2020)

Sampel krim pemutih dipreparasi dengan cara ditimbang sampel sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan dengan 5 ml etanol 96% dan dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml kemudian ditambahkan etanol 96% sampai tanda tera lalu dikocok sampai homogen dan disaring dengan kertas saring.

2. Uji kualitatif dan kuantitatif sampel

a. Uji kualitatif merkuri (Rahman dkk, 2019)

1) Reagen KI 0,5 N

Diambil sebanyak 1-2 mL larutan uji. Ditambahkan 1-2 tetes larutan KI 0,5 N lalu diperhatikan dengan seksama. Hasil dinyatakan positif jika terjadi endapan merah *orange*.

2) Reagen NaOH

Diambil sebanyak 1-2 mL larutan uji. Dimasukan kedalam tabung reaksi selanjutnya ditambahkan larutan NaOH 1-2 tetes. Apabila terbentuk endapan kuning maka sampel dapat dikatakan mengandung merkuri berupa merkuri(II) oksida.

3) Reagen HCl

Diambil sebanyak 1-2 mL larutan uji. Ditambahkan 5 tetes larutan HCl, hasil menunjukkan positif Hg jika terbentuk endapan putih.

b. Uji kuantitatif merkuri (Harmono, 2020)

Pengujian merkuri menggunakan alat *mercury analyzer* terlebih dahulu dilakukan pembuatan kurva baku merkuri dengan cara membuat larutan induk konsentrasi 1000 ppm lalu diambil 0,1 ml larutan induk kemudian dilarutkan menggunakan aquadest sampai tanda tera dalam labu takar 100 ml sehingga mendapatkan larutan dengan konsentrasi 1000 ppb. Selanjutnya diambil 0,1 ml larutan induk 1000 ppb kemudian dilarutkan menggunakan aquadest sampai tanda tera dalam labu takar 10 ml sehingga mendapatkan konsentrasi 10 ppb. Selanjutnya dibuat larutan standar dengan seri konsentrasi 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; dan 3,2 ppb dengan cara mengambil masing-masing 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; dan 3,2 ml kemudian dilarutkan menggunakan aquadest sampai tanda tera dalam labu takar 10 ml, selanjutnya dimasukkan dalam vial untuk dibaca menggunakan *mercury analyzer*.

Preparasi sampel untuk pembacaan kadar merkuri dalam sampel krim pemutih wajah menggunakan alat *mercury analyzer* dilakukan dengan cara ditimbang masing-masing sampel sebanyak 1,0867; 1,0539; 1,1649; 1,0833 dan 1,2352 g kemudian dilarutkan menggunakan 10 ml HNO₃ : HClO₄ (1:1) kemudian dipanaskan diatas hoteplate dengan suhu 80 °C hingga jernih dan keluar asap putih. Selanjutnya disaring dan dimasukkan kedalam tabung vial untuk dilakukan pembacaan menggunakan *mercury analyzer*.

c. Uji kualitatif hidrokuinon (Rasyid dkk, 2015)

1) Reagen FeCl₃

Ditimbang sebanyak 0,1 g sampel. dilarutkan dengan etanol sebanyak 5 mL sampai larut kemudian ditambahkan 4 tetes FeCl₃, jika terbentuk endapan kuning positif mengandung hidrokuinon.

2) Reagen Ag-amoniakal

Ditimbang sebanyak 0,1 g sampel. Dilarutkan dengan etanol sebanyak 5 mL sampai larut kemudian ditambahkan 3 tetes Ag-amoniakal lalu dipanaskan sampai terlihat gelembung. Setelah itu ditambahkan dengan 3 tetes NaOH maka terdapat warna cermin perak jika positif mengandung hidrokuinon.

3) Metode KLT (FDA, 2017)

Disiapkan plat silika gel 60 F254 dengan ukuran 10 x 2 cm. Dibuat larutan eluen menggunakan aseton : n-hexsan (2 : 3) kemudian dimasukan ke dalam *chamber* lalu ditutup rapat agar eluen tidak menguap. Dijenuhkan eluen yang telah di masukan kedalam chamber dengan cara memasukan kertas saring ke dalam eluen selama 30 menit. Selanjutnya ditimbang sebanyak 0,1 g sampel dan dilarutkan dengan etanol sebanyak 5 mL. ditimbang pembanding hidrokuinon sebanyak 0,1 g dan dilarutkan dengan etanol sebanyak 8 mL dan di totol kan sampel yang telah di larutkan dengan pembanding yang sudah di larutkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler berujung runcing khusus berskala 1 μ L dan bervolume 1 μ L, ditotolkan dibatas garis yang telah dibuat pada bagian bawah dan atas yang berukuran 1 cm dibagian plat KLT dengan pensil. Plat silika gel GF254 yang telah ditotolkan tersebut dimasukan ke dalam chamber yang berisi eluen sampai pelarut naik ke atas garis yang sudah ditentukan pada plat KLT kemudian plat diangkat dari chamber dan dilihat noda dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm.

d. Uji kuantitatif hidrokuinon (Yulia dkk, 2020)

1) Pembuatan larutan baku hidrokuinon

Ditimbang hidrokuinon murni sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan dalam 5 ml etanol 96% kemudian larutan tersebut dipindahkan kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan etanol 96% sampai tepat 100 ml kemudian larutan dikocok sampai homogen sehingga

diperoleh konsentrasi baku hidrokuinon 1000 ppm dalam etanol 96%. Dipipet 10 ml dari larutan baku 1000 ppm masukkan dalam labu ukur 100 ml tambah dengan larutan etanol 96% sampai tanda 100 ml lalu dikocok hingga homogen dan dihasilkan larutan hidrokuinon dengan konsentrasi 100 ppm.

2) Penentuan panjang gelombang maksimum

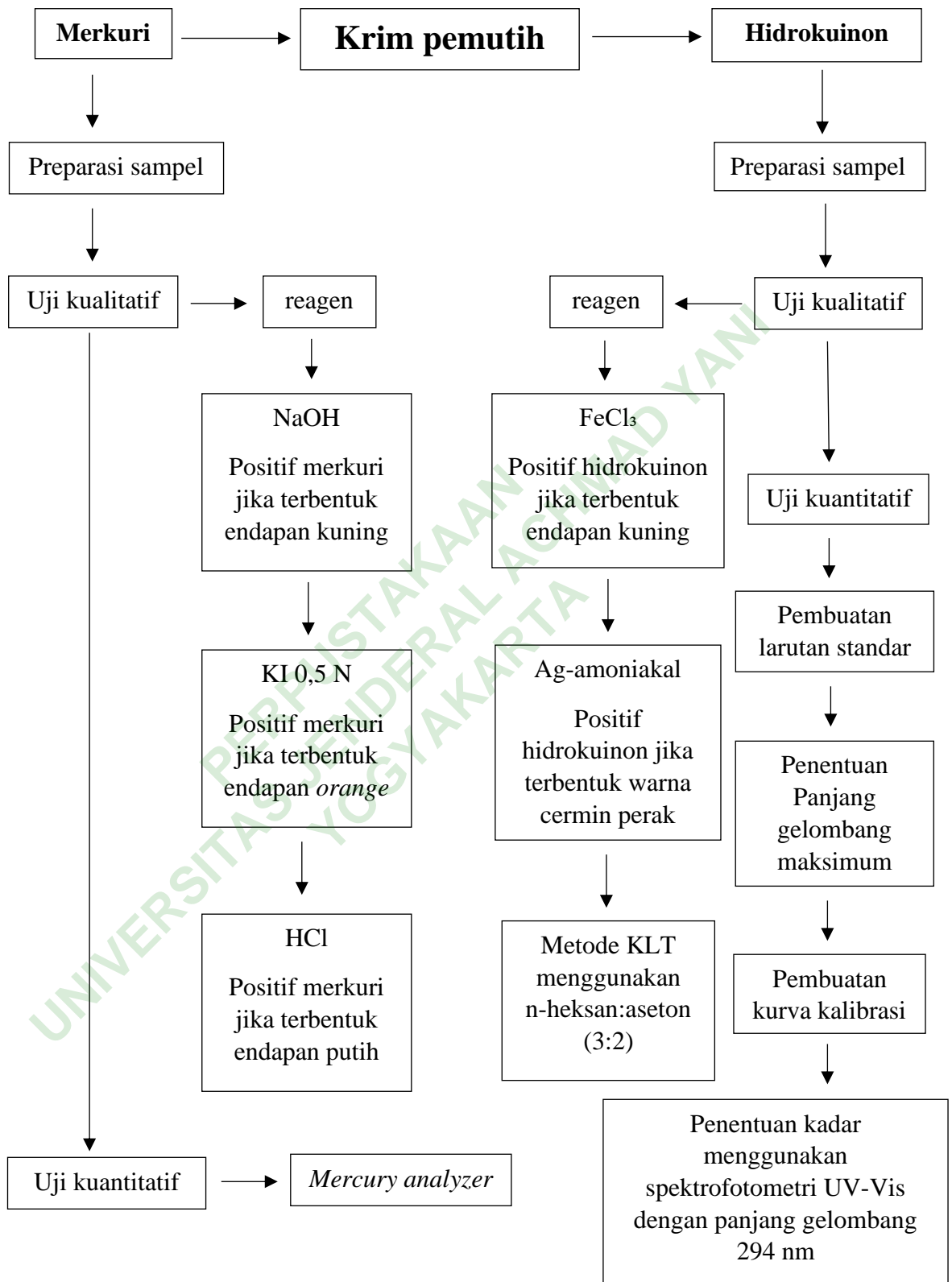
Dipipet 2,8 ml dari larutan baku kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 ml dan diencerkan dengan larutan etanol 96% sampai tanda tera lalu dikocok hingga homogen selanjutnya diukur pada panjang gelombang 250-350 nm.

3) Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan baku 100 ppm kemudian dipipet sebanyak 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 dan 4 ml, masing- masing dimasukkan dalam gelas ukur 10 ml dan ditambahkan dengan larutan etanol 96% sampai tanda tera lalu dikocok hingga homogen. Didapatkan larutan dengan konsentrasi 15, 20, 25, 30, 35 dan 40 $\mu\text{g/ml}$ kemudian diukur pada panjang gelombang serapan maksimum yang didapatkan pada pengukuran panjang gelombang sebelumnya dan etanol 96% sebagai blanko. Cara untuk membuat kurva standar yaitu dengan memplot konsentrasi vs absorbansi.

4) Penentuan kadar hidrokuinon dalam sampel

Masing-masing sampel ditimbang 0,1 gram kemudian diencerkan dalam labu ukur 100 ml dengan etanol 96% selanjutnya disaring menggunakan kertas saring whatmen lalu dipipet 3 ml dalam labu ukur 10 ml sehingga diperoleh konsentrasi 300 ppm kemudian disaring kembali menggunakan kertas saring whatmen yang selanjutnya diukur satu persatu dengan alat spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Pembacaan dilakukan selama lebih kurang 1 menit sehingga didapatkan nilai absorbansi dan konsentrasi dari masing- masing sampel.



Gambar 6. Skema Penelitian

H. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini yaitu :

1. Perhitungan kadar merkuri baca dilakukan menggunakan persamaan regresi linier $y = b x + a$ yang selanjutnya hasil perhitungan kadar merkuri baca digunakan untuk menghitung kadar merkuri total dengan rumus:

$$\text{Hg total (ppb)} = \frac{(\text{Hg baca-Blanko}) \times \text{Volume akhir}}{\text{Berat sampel}}$$

2. Perhitungan nilai R_f dari senyawa hidrokuinon yang dianalisis secara kualitatif menggunakan metode KLT dengan senyawa pembanding baku hidrokuinon. Rumus perhitungan nilai R_f :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang di tempuh oleh senyawa}}{\text{Jarak yang di tempuh oleh pelarut}}$$

3. Perhitungan kadar senyawa hidrokuinon dilakukan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara kadar (x) dengan absorpsi (y) yang dinyatakan sebagai $y = bx + a$, setelah didapatkan hasil kadar hidrokuinon selanjutnya dihitung parameter berupa SD dan CV.