

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian deskriptif laboratorium secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan metode KLT-densitometri dan teknik pengambilan sampel *purposive sampling*. Sampel krim anti jerawat dipilih dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Sampel diuji secara acak dalam lingkungan laboratorium yang terkontrol untuk mengetahui kandungan asam retinoat pada sampel.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa asam retinoat berlokasi di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan april-mei 2025

C. Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini mencakup seluruh produk krim anti jerawat yang dipasarkan di Indonesia dan tersedia pada *e-commerce* x. Populasi tersebut terdiri dari berbagai merek yang menawarkan klaim efektivitas dalam mengatasi jerawat dalam bentuk sediaan krim dan dijual melalui *e-commerce* x serta mencakup kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi digunakan untuk menentukan kelayakan sampel dalam penelitian, sedangkan kriteria eksklusi digunakan untuk menyaring sampel yang tidak memenuhi persyaratan.

1. Kriteria inklusi

- a. Krim anti jerawat yang dijual melalui *e-commerce* x dengan *keyword* krim anti jerawat.

- b. Krim anti jerawat yang mencantumkan izin BPOM dan tidak mencantumkan izin BPOM.
 - c. Krim anti jerawat yang memiliki harga di bawah Rp 100.000.
 - d. Krim anti jerawat dengan merek yang berbeda-beda.
 - e. Krim anti jerawat yang dijual di *starseller*.
 - f. Krim anti jerawat dengan penilaian diatas 4.
 - g. Krim anti jerawat yang terjual >200 unit.
 - h. Krim anti jerawat yang diedarkan di Indonesia.
2. Kriteria eksklusi
- a. Krim anti jerawat yang melebihi masa kadaluwarsa.
 - b. Krim anti jerawat berasal dari merek dan toko yang sama.
 - c. Krim anti jerawat dalam kemasan rusak.
 - d. Krim anti jerawat dalam kemasan generik dan *repack*.

Populasi yang memenuhi kriteria inklusi sejumlah 36 sampel kemudian dihitung dengan rumus $\sqrt{n} + 1$ dimana n sebagai populasi. Populasi yang didapatkan setelah perhitungan adalah sejumlah 7 sampel.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas
Variabel bebas dalam penelitian ini adalah merk sampel krim anti jerawat dan jenis akun penjual di platform *e-commerce* x.
2. Variabel terikat
Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar asam retinoat pada sampel krim anti jerawat.
3. Variabel terkontrol
Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah bentuk sediaan sampel, harga sampel, tempat pembelian sampel, status registrasi BPOM dan metode analisis.

E. Definisi Operasional

1. Sampel merupakan 7 buah krim anti jerawat yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusif.
2. Metode analisis adalah metode KLT-Densitometri yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur kandungan asam retinoat pada sampel.
3. Kadar merupakan kadar asam retinoat pada sampel yang diukur dengan metode KLT-Densitometri dan dinyatakan dalam satuan % b/b.
4. Bentuk sediaan yang dimaksud adalah sediaan berbentuk krim.
5. Status registrasi BPOM diperiksa dengan menggunakan *platform* situs cek BPOM (<https://cekbpom.pom.go.id>).

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Berikut adalah alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, benjana kromatografi, lampu UV 254 nm & 366 nm, kertas saring *whatman no.41*, TLC *Scanner* CAMAG, pipet ukur 10 mL, neraca analitik, labu ukur 5mL, labu ukur 10 mL, labu ukur 50 mL, pipet tetes, pro pipet, gelas beaker 50 mL dan 100 mL, sonikator, kaca arloji dan oven.

2. Bahan

Berikut adalah alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, baku asam retinoat BPFI, 7 buah sampel krim anti jerawat yang beredar di *e-commerce*, plat KLT silika gel 60 F₂₅₄, aseton *p.a*, n-heksan *p.a* dan metanol *p.a*.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Uji organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati warna, bau dan perubahan bentuk pada sampel untuk mengetahui karakteristik krim yang mengandung dan tidak mengandung asam retinoat.

2. Pembuatan larutan sampel krim anti jerawat (Styawan dkk, 2020, dengan modifikasi)

Pembuatan sampel krim anti jerawat dengan cara menimbang dengan seksama 5 g sampel krim anti jerawat dalam gelas beaker 50 mL lalu dilarutkan dengan menggunakan 10 mL metanol *p.a* kemudian digojog hingga homogen lalu diultrasonikasi selama 5 menit kemudian dinginkan selama 15 menit dalam es. Setelah larutan sampel dingin disaring menggunakan kertas saring *Whatman* No. 41. Dimasukkan filtrat kedalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan metanol hingga tanda batas.

3. Optimasi fase gerak

Optimasi fase gerak dilakukan dengan mencampurkan n-heksan:aseton dengan perbandingan 7:4 dalam *chamber* 20 cm x 20 cm lalu dijenuhkan. Setelah fase gerak jenuh dimasukan plat yang telah ditotolkan standar asam retinoat dan sampel lalu dielusikan hingga tanda batas.

4. Analisis kualitatif

Ditotolkan sebanyak 10 μ L larutan sampel serta larutan baku asam retinoat dan direplikasi sebanyak 3x pada plat KLT berbeda yang telah diaktivasi dengan pemanasan pada oven disuhu 105°C selama 30 menit kemudian dielusikan. Analisis dilakukan dengan mengamati bercak larutan baku asam retinoat serta larutan sampel di bawah sinar UV lalu dihitung nilai R_f nya.

5. Analisis kuantitatif

- a. Penyiapan larutan baku asam retinoat 500 ppm (Pramudia, 2023, dengan modifikasi)

Ditimbang baku asam retinoat sebanyak 50 mg menggunakan kaca arloji lalu dilarutkan dengan menggunakan sedikit metanol *p.a* kemudian dimasukan kedalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan metanol *p.a* hingga tanda batas. Selanjutnya dilarutkan menggunakan sonikasi selama 5 menit. Larutan baku induk disimpan dalam wadah tertutup menggunakan alumunium foil untuk meminimalisir degradasi.

b. Penentuan λ maksimum (Pramudia, 2023, dengan modifikasi)

Larutan baku 500 ppm disiapkan kemudian sebanyak 10 μ L larutan ditotolkan secara hati-hati pada plat KLT dan dikeringkan. plat KLT kemudian dipindai menggunakan densitometer pada λ 200–400 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum serapan asam retinoat.

c. Penyiapan kurva baku (Pramudia, 2023, dengan modifikasi)

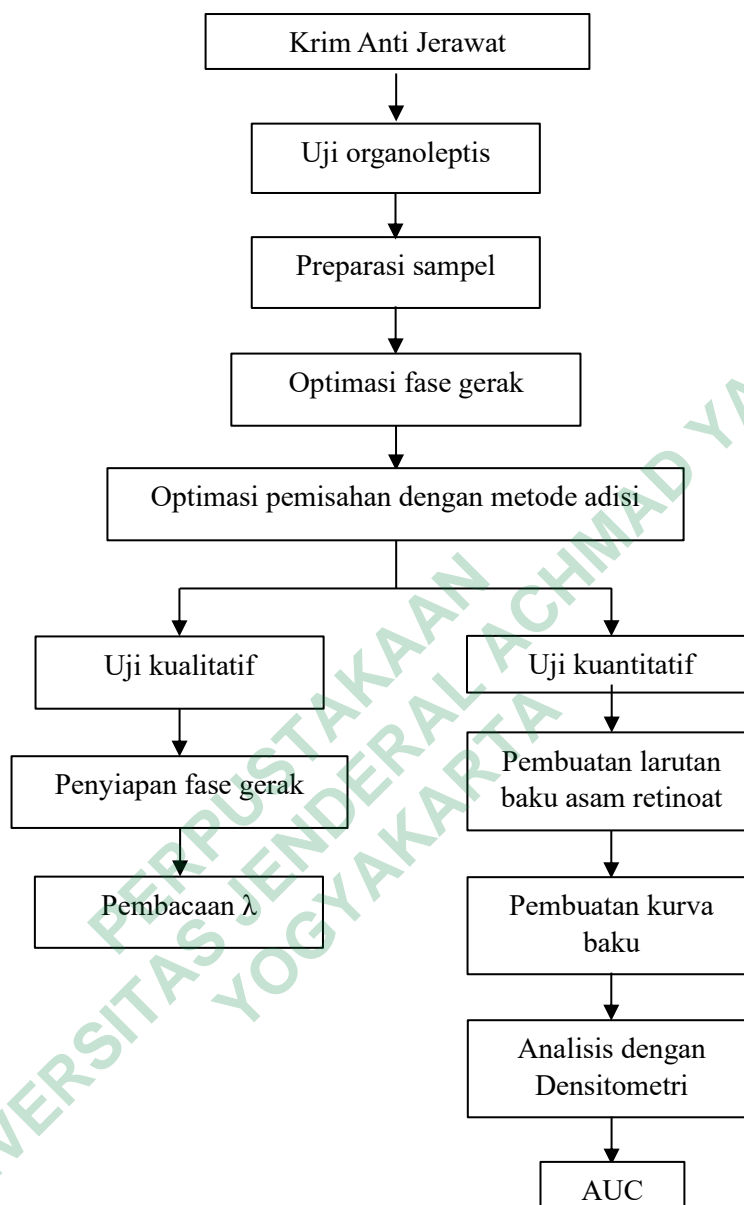
Larutan asam retinoat dengan konsentrasi 500 ppm dipipet masing-masing sebanyak 100; 200; 300; 400; 500 μ L ke dalam labu ukur 5 mL yang terpisah. Masing-masing larutan kemudian diencerkan hingga volume 5 mL dengan metanol p.a dan disonikasi hingga homogen, sehingga diperoleh larutan standar dengan konsentrasi berturut-turut 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm. Sebanyak 10 μ L dari masing-masing larutan standar ditotolkan pada plat KLT, kemudian dikeringkan dan dipindai menggunakan densitometer pada λ yang telah ditentukan sebelumnya.

d. Penyiapan fase gerak (BPOM, 2011, dengan modifikasi)

Fase gerak disiapkan dengan mencampurkan campuran n-heksan : aseton (7:4) dalam *chamber* kemudian ditutup *chamber* dan diamankan hingga eluen menjadi jenuh.

e. Analisis KLT-densitometri (Harimurti dkk, 2021, dengan modifikasi)

Penentuan kadar dilakukan dengan menggunakan densitometer, dibaca pada λ yang telah didapatkan pada penentuan panjang λ . Densitogram berupa data luas lalu diplot kan pada persamaan regresi linear $y=bx+a$ dan didapat konsentrasi asam retinoat yang terkandung pada sampel.



Gambar 3. Skema penelitian

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Perhitungan Rf (Maulinda dkk, 2024)

Perhitungan nilai Rf senyawa asam retinoat secara kualitatif dengan metode KLT terhadap senyawa pembanding baku asam retinoat yang dihitung dengan menggunakan rumus:

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

R_f memenuhi standar jika R_f 0,2-0,8.

2. Perhitungan kadar (Maulinda dkk, 2024)

Perhitungan kadar asam retinoat secara kuantitatif dengan metode densitometri dihitung dengan menggunakan rumus:

$$y = bx + a$$

y = nilai respon

x = konsentrasi senyawa

b = *slope*

a = *intercept*

Kemudian dihitung kadar sesungguhnya dengan rumus:

$$\% \text{ kadar} = \frac{X \cdot V \cdot FP}{W} \times 100 \%$$

x = konsentrasi hasil regresi

v = volume pelarut

FP = faktor pengenceran

W = berat sampel

3. Parameter statistik (Toisuta dkk, 2024)

a. Standar deviasi (SD):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(X-\bar{x})^2}{n-1}}$$

\sum = notasi penjumlahan

X = nilai individual

\bar{x} = nilai rata-rata % kadar

n = jumlah data

b. Koefisien variasi (CV):

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

SD = hasil standar deviasi

\bar{x} = nilai rata-rata % kadar

CV memenuhi syarat yang baik apabila <5%

- c. Batas kesalahan (*Limit of error* / LE):

$$LE = \left(\frac{t \times SD}{\sqrt{n}} \right)$$

t = nilai t tabel

SD = standar deviasi

n = banyak sampel

- d. SD residual

$$\sqrt{\frac{\sum(y - y')^2}{n - 2}}$$

y = nilai pengamatan

y' = nilai prediksi regresi

n = jumlah data

- e. *Limit of detection* (LOD)

$$LOD = \frac{3 \times SD \text{ residual}}{s}$$

SD = standar deviasi

b = *slope*

- f. *Limit of quantification* (LOQ)

$$LOQ = \frac{10 \times SD \text{ residual}}{s}$$

SD = standar deviasi

b = *slope*