

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian yang akan digunakan termasuk jenis deskriptif. Dilakukan memakai 8 sampel krim anti-jerawat terdaftar maupun tidak terdaftar di halaman BPOM, yang didapatkan melalui salah satu *marketplace* besar di Indonesia (*marketplace X*). Metode penelitian untuk mengetahui kandungan senyawa asam salisilat dalam sampel menggunakan analisis kualitatif dengan uji tabung dan KLT, serta kuantitatif dengan metode densitometri.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

1. Lokasi penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Laboratorium Bahan Alam, Program Studi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei sampai Juni tahun 2025.

#### **C. Sampel Penelitian**

Penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* yang mengacu pada persyaratan inklusi dan eksklusi. Sampel dievaluasi berdasarkan kedua kriteria tersebut. Kriteria inklusi menyatakan bahwa objek penelitian dapat digunakan jika dipenuhi, sedangkan objek penelitian yang tidak dapat digunakan termasuk dalam kriteria eksklusi. Kriteria inklusi dan eksklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kriteria inklusi

- a. Krim anti-jerawat berlabel dan tidak berlabel BPOM yang terdaftar maupun tidak terdaftar di halaman *website* BPOM.
- b. Krim anti-jerawat dengan harga kisaran sekitar Rp 20.000 – Rp 50.000.
- c. Krim anti-jerawat yang memiliki jumlah pembelian lebih dari 50.

- d. Merek label yang bervariasi satu sama lain.
  - e. Krim anti-jerawat yang hanya dipasarkan dalam negeri.
2. Kriteria eksklusi
    - a. Krim anti-jerawat yang telah melewati tanggal kadaluarsa.
    - b. Krim anti-jerawat yang tidak diperoleh dari *online shop* yang sama.
    - c. Krim anti-jerawat yang didapatkan dengan keadaan cacat.

Perhitungan jumlah sampel diambil berdasarkan survei di *marketplace X*, untuk mengetahui jumlah total populasi produk yang beredar. Berdasarkan hasil survei diperoleh sejumlah 40 sampel memenuhi kriteria inklusi. Jumlah total populasi yang masuk dalam daftar survei, serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dapat dilihat pada lampiran 5. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah sampel menggunakan rumus  $\sqrt{n} + 1$ .  $\sqrt{n}$  menggambarkan total populasi yang diambil sehingga jumlah sampel yang digunakan  $\sqrt{40} + 1$  yaitu 8 sampel. Sampel terdiri dari 3 sampel tidak berlabel BPOM pada kemasan, 3 sampel berlabel BPOM pada kemasan yang terdaftar di *website* BPOM dan 2 sampel berlabel BPOM pada kemasan, namun tidak terdaftar di *website* BPOM (klaim palsu).

#### **D. Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas  
Produk sampel krim anti-jerawat yang didapatkan melalui media *marketplace X*.
2. Variabel terikat  
Kadar senyawa asam salisilat pada krim anti-jerawat.
3. Variabel terkendali  
Lokasi pengambilan sampel melalui salah satu *marketplace* besar di Indonesia (*marketplace X*), kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

#### **E. Definisi Operasional**

1. Sampel krim anti-jerawat diperoleh pada salah satu *marketplace* besar di Indonesia.

2. Keberadaan asam salisilat secara kualitatif dapat diamati dengan uji tabung (adanya perubahan warna) dan uji Kromatografi Lapis Tipis (nilai Rf).
3. Keberadaan kadar asam salisilat pada krim anti-jerawat dapat dianalisis secara kuantitatif menggunakan metode KLT-Densitometri dengan mengamati parameter nilai AUC dan nilai kadar dihitung dalam % b/b.

## F. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Alat gelas (Iwaki Pyrex), chamber KLT (Camag), densitometer (Camag *TLC Scanner 4*), lampu UV 254 nm, mikropipet, oven (Memmert), penggaris, pensil, pipa kapiler 1  $\mu$ L, rak tabung reaksi, tabung reaksi, dan timbangan analitik (Ohaus), *waterbath* (Memmert).

### 2. Bahan

8 sampel krim anti-jerawat, akuades (Teknis), asam asetat glasial (Merck *p.a*), etanol 70% (Teknis), etanol (*p.a*),  $\text{FeCl}_3$  (Merck *p.a*), kertas saring *Whatman* No.41 (Teknis), metanol (*p.a*), plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> (Merck), standar asam salisilat BPFL, dan toluen (Mallinckrodt *p.a*).

## G. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Uji kualitatif asam salisilat

#### a. Pembuatan larutan uji sampel

Ditimbang setiap sampel krim anti-jerawat yang didapat dari *marketplace* X sebanyak 2 gram menggunakan cawan porselin 125 ml. Lalu dilarutkan dengan etanol (*p.a*) sebanyak 10 ml, selanjutnya dipanaskan pada suhu 60°C diatas *waterbath* hanya sampai terlarut. Larutan dimasukkan ke dalam lemari pendingin selama 15 menit dan disaring memakai kertas saring. Filtrat yang dihasilkan ditampung dengan labu ukur 10 ml lalu etanol (*p.a*) ditambahkan hingga mencapai tanda batas. Kemudian dilakukan pengenceran dengan mengambil sebanyak 1 mL larutan sampel, dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml lalu etanol (*p.a*) ditambahkan sampai tanda batas (Wardana *et al.*, 2022).

b. Pembuatan larutan standar asam salisilat konsentrasi 5000 ppm

Ditimbang standar asam salisilat BPHI dengan berat 50 mg dan dimasukkan pada labu ukur 10 ml lalu ditambahkan etanol (*p.a*) sampai tanda batas (Mustarsyida *et al.*, 2024).

c. Uji tabung

Dibuat larutan  $\text{FeCl}_3$  1% dengan menimbang 0,1 gram pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan dilarutkan dengan akuades sampai tanda batas (Tamin, 2021). Diambil larutan standar asam salisilat sebanyak 1 ml pada larutan induk asam salisilat konsentrasi 5000 ppm sebagai kontrol positif. Sedangkan untuk larutan kontrol negatif yang digunakan yaitu larutan  $\text{FeCl}_3$  1% sebanyak 1 ml dimasukkan ke tabung reaksi. Kemudian untuk masing-masing sampel krim klaim anti-jerawat, diambil dari larutan uji sampel sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke tabung reaksi. Masing-masing larutan standar asam salisilat (kontrol positif) dan sampel pada tabung reaksi ditambahkan 20 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%, kemudian digojog hingga homogen. Bila terjadi perubahan warna biru-ungu, sampel menunjukkan positif mengandung asam salisilat (Moffat *et al.*, 2011).

d. Pembuatan fase gerak

Dimasukkan fase gerak ke dalam chamber yaitu toluen:asam asetat glasial dengan perbandingan 4:1, dalam jumlah 15 mL untuk chamber ukuran 10 cm x 10 cm dan 150 mL untuk chamber ukuran 20 cm x 20 cm. Diletakkan kertas saring pada fase gerak tersebut untuk mengetahui waktu chamber tersebut sudah dalam kondisi jenuh. Fase gerak dinyatakan jenuh ketika kertas saring sudah terbasahi seluruhnya pada bagian paling atas chamber (Rahmasari & Astuti, 2022).

e. Pembuatan fase diam

Dipersiapkan fase diam berupa plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> ukuran 10 cm x 10 cm dan 20 cm x 20 cm. Dibuat tanda batas atas lempeng 1 cm dan bagian bawah 1 cm. Sebelum larutan ditotolkan, diaktifkan lempeng plat

KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> dengan cara dipanaskan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 30 menit (Rahmasari & Astuti, 2022).

f. Identifikasi dengan plat KLT

Ditotolkan larutan standar asam salisilat BPF1 dari larutan induk konsentrasi 5000 ppm dan sampel krim anti-jerawat pada plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> menggunakan pipa kapiler secara berurutan dengan volume penotolan 5 µL. Jarak antar totolan adalah 1 cm menggunakan plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> ukuran 10 cm x 10 cm, untuk identifikasi awal. Plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> yang sudah ditotolkan didiamkan pada suhu ruang hingga totolan kering. Dimasukkan plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> ke dalam chamber yang sudah berisi fase gerak yang telah dijenuhkan. Plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> yang telah terelusi sampai tanda batas atas diangkat dan dikering anginkan. Bercak noda yang timbul pada plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> dapat dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm. Jika hasil bercak sampel dan standar sejajar maka dinyatakan bahwa sampel tersebut positif mengandung asam salisilat. Kemudian dilakukan perhitungan nilai R<sub>f</sub> pada setiap sampel dengan cara membandingkan nilai R<sub>f</sub> sampel dan nilai R<sub>f</sub> baku pembanding (Rahmasari & Astuti, 2022).

2. Uji kuantitatif asam salisilat

Sampel yang dinyatakan positif kemudian dilanjutkan menggunakan plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> ukuran 20 cm x 20 cm dengan volume penotolan 15 µL. Kemudian dilakukan tahap yang sama seperti pada identifikasi awal. Dilakukan identifikasi pada setiap sampel sebanyak 3 kali replikasi. Adapun tahapan yang dilakukan adalah penetapan panjang gelombang maksimum, penentuan kurva baku, dan penetapan kadar sampel krim anti-jerawat dengan densitometri.

a. Penetapan panjang gelombang maksimum

Bercak pada plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> yang telah dianalisis kualitatif menggunakan sinar UV 254 nm selanjutnya di *scanning* pada panjang gelombang asam salisilat 200-330 nm menggunakan alat densitometer (Camag *TLC Scanner*) (Secoadi, 2012).

b. Penentuan kurva baku

Asam salisilat dengan konsentrasi 5000 ppm dari larutan standar BPHI diambil dengan seri konsentrasi 200 ppm; 400 ppm; 600 ppm; 800 ppm; dan 1000 ppm. Masing-masing dari seri konsentrasi tersebut diambil dari larutan stok dengan dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 200  $\mu$ l; 400  $\mu$ L; 600  $\mu$ L; 800  $\mu$ L dan 100  $\mu$ L dan ditambahkan etanol (*p.a*) ke dalam labu ukur 5 mL hingga mencapai tanda batas. Masing-masing konsentrasi ditotolkan pada plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> menggunakan pipa kapiler sebanyak 15  $\mu$ l. Totolan dielusi dengan fase gerak, setelah elusi selesai kemudian bercak yang ada diuji dengan densitometer untuk mendapatkan nilai AUC dari setiap totolan yang ada (Mustarsyida *et al.*, 2024).

c. Penetapan kadar sampel krim anti-jerawat dengan densitometri

Bercak pada plat KLT<sub>254</sub> yang telah dianalisis kualitatif menggunakan sinar UV 254 nm, lalu dianalisis kuantitatif menggunakan densitometer pada panjang gelombang yang telah ditentukan. Analisis kuantitatif menggunakan densitometer akan mendapatkan nilai AUC untuk setiap noda yang dihasilkan (Harimurti *et al.*, 2021).

## H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Perhitungan R<sub>f</sub>

Asam salisilat yang sudah diidentifikasi dalam krim anti-jerawat dilakukan perhitungan nilai R<sub>f</sub>. Dalam analisis ini, asam salisilat standar BPHI digunakan sebagai pembanding untuk mengevaluasi hasil elusi pada sampel. Nilai R<sub>f</sub> yang diperoleh dari sampel kemudian dibandingkan dengan nilai R<sub>f</sub> standar asam salisilat untuk memastikan keberadaan senyawa tersebut dalam krim anti-jerawat (Harimurti *et al.*, 2021). Rumus perhitungan R<sub>f</sub> memakai persamaan berikut:

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

## 2. Perhitungan kadar asam salisilat

Noda pada plat KLT dianalisis menggunakan densitometer yang bertujuan untuk menentukan nilai luas area (AUC). Nilai luas area (AUC) yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam persamaan kurva kalibrasi linier, yaitu  $y = bx + a$ . Dimana (x) adalah nilai konsentrasi dan (y) menyatakan besarnya nilai AUC. Dari persamaan ini, konsentrasi asam salisilat pada setiap sampel dapat diketahui namun masih dalam satuan ppm, selanjutnya dilakukan konversi satuan dari ppm menjadi mg/ml (Maulinda *et al.*, 2024). Selanjutnya, kadar asam salisilat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar} = \frac{K \text{ (mg/mL)} \times V \text{ (mL)} \times F_p}{W \text{ (mg)}} \times 100\%$$

Keterangan:

K = Konsentrasi senyawa dalam larutan sampel (mg/mL)

V = Volume larutan sampel (mL)

Fp = Faktor pengenceran

W = Berat sampel (mg)

Perolehan hasil kadar asam salisilat pada setiap sampel yang sudah didapatkan kemudian dihitung dengan berbagai parameter yaitu rata-rata, *standard deviation* (SD), *coefficient of variation* (CV) dan nilai LE.