

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian ini merupakan studi deskriptif non-eksperiimental yang bertujuan untuk memberikan gambaran mengenai kadar hidrokuinon dalam krim pemutih wajah yang dijual di klinik kecantikan Kota Yogyakarta. Analisis kualitatif dilakukan dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  dan nilai waktu retensi ( $t_R$ ), sedangkan analisis kuantitatif dilakukan menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

#### **B. Lokasi dan Waktu penelitian**

##### 1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi, Program Studi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

##### 2. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan April – Mei 2025.

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

Penelitian menerapkan teknik pengambilan sampel *purposive sampling*, yang didasarkan pada karakteristik tertentu, seperti:

##### 1. Kriteria Inklusi

Semua krim pemutih wajah yang berlabel BPOM dan tanpa label BPOM yang ada maupun tidak ada dihalaman *web*, diperoleh dari klinik kecantikan Kota Yogyakarta secara *online*, kisaran harga Rp60.000 – Rp100.000, dan dalam produk dengan mencantumkan ED maupun tanpa ED.

##### 2. Kriteria Eksklusi

Wadah krim yang diterima dalam kondisi yang rusak dan rating penjualan di bawah 4,8.

Hasil survei ditemukan sebanyak 20 klinik kecantikan yang berlokasi di Kota Yogyakarta. Namun, sebagian besar klinik tidak menyediakan layanan secara

langsung karena produk hanya diperbolehkan bagi konsumen yang telah menjalani perawatan di klinik tersebut. Oleh karena itu, untuk mengatasi keterbatasan akses, sebagian konsumen memilih melakukan pembelian secara *online* melalui media *e-commerce*. Dari seluruh klinik yang disurvei, hanya 6 klinik yang memfasilitasi pembelian produk secara *online*, sementara sisanya tetap mengharuskan pelanggan menjalani perawatan terlebih dahulu sebelum dapat membeli produk. Dengan demikian, dipilih 6 klinik kecantikan sebagai sampel, dengan setiap klinik diwakili oleh satu sampel yang memenuhi kriteria.

#### D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini berupa krim pemutih wajah yang dibeli secara *online* dari klinik kecantikan Kota Yogyakarta.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini mencakup nilai  $t_R$  serta konsentrasi hidrokuinon dalam krim pemutih wajah.

3. Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol dalam penelitian ini berupa pelarut fase gerak metanol : *aqua pro injection* (pi) (30:70), pemanasan sampel dilakukan pada suhu 60°C selama 15 menit guna memisahkan fase air dan minyak, dengan laju alir pada 1,0 mL/menit, dan volume injeksi sebanyak 20  $\mu$ L.

#### E. Definisi Operasional Variabel

1. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel krim pemutih wajah, baik yang berlabel BPOM maupun yang tidak berlabel BPOM yang ada maupun tidak ada di halaman *web*, yang dijual secara *online* di klinik kecantikan Kota Yogyakarta sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan.
2. Sampel krim pemutih yang diperoleh dilarutkan dalam fase gerak metanol *for* HPLC : *aqua pi* untuk uji kualitatif dan kuantitatif.
3. Uji kualitatif hidrokuinon yang digunakan yaitu  $FeCl_3$  dan nilai  $t_R$ .

4. Uji kuantitatif dilakukan dengan metode HPLC menggunakan fase gerak metanol *for* HPLC : *aqua pi* dalam perbandingan (30:70) dengan laju alir 1,0 mL/menit.
5. Konsentrasi hidrokuinon dalam sampel diukur dan dilaporkan dalam satuan % b/b.

#### F. Alat dan Bahan Penelitian

##### 1. Alat

*Drop plate*, HPLC LC – 2030 plus (*shimadzu*) dengan detektor UV – Vis, kolom fase diam ODS/C18, sonikator (*Cole parmer*), vorteks (*Ohaus*), set alat gelas (*Iwaki*), sentrifugasi (*EBA 200 Hettich*), timbangan analitik (*Ohaus*), timbangan semi mikro (*Ohaus EX 225D*), spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific Genesys 10s Vis*), dan mikropipet (*Ohaus*).

##### 2. Bahan

metanol *for* HPLC : *aqua pi*, FeCl<sub>3</sub>, kertas saring milipore 0,2 µm dan 0,45 µm, krim pemutih wajah yang diperoleh dari klinik kecantikan Kota Yogyakarta, serta larutan standar hidrokuinon BPF1.

#### G. Pelaksanaan Penelitian

##### 1. Analisis Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis mencakup pengamatan terhadap bentuk, warna, dan bau (Nealma & Nurkholis, 2020).

##### 2. Analisis Kualitatif

###### a. Pereaksi FeCl<sub>3</sub>

Diambil sampel krim dan pembanding sebanyak 10 tetes, dimasukkan ke dalam *drop plate* lalu dilarutkan menggunakan *aquadest* sebanyak 10 tetes hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 5 tetes pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Pada sampel yang mengandung hidrokuinon akan menyebabkan perubahan warna dari hijau ke hitam (Simaremare, 2019).

###### b. Nilai t<sub>R</sub>

Nilai t<sub>R</sub> standar hidrokuinon dibandingkan dengan nilai t<sub>R</sub> sampel untuk mengidentifikasi hidrokuinon dalam sampel berdasarkan kesesuaian t<sub>R</sub>

yang sama dengan standar sesuai prosedur kuantitatif (Kusbandari & Safitri, 2022).

### 3. Analisis Kuantitatif

#### a. Pembuatan fase gerak

Metanol *for* HPLC sebanyak 150 mL dicampurkan dengan *aqua* pi 350 mL menghasilkan volume total 500 mL dengan perbandingan 70:30 v/v. Fase gerak dilakukan *degassing* untuk menghilangkan gas, kemudian disaring dengan *syringe milipore* 0,45  $\mu\text{m}$ .

#### b. Pembuatan larutan induk hidrokuinon

Ditimbang seksama sebanyak 50,0 mg standar hidrokuinon lalu dimasukkan ke dalam labu takar 50,0 mL. Selanjutnya, larutan dibuat dengan menambahkan 25 mL fase gerak, kemudian digojok hingga larut, lalu larutan ditambahkan kembali dengan fase gerak hingga volume total mencapai tanda batas pada labu takar, sehingga menghasilkan konsentrasi sebesar 1000 ppm (Siddique *et al.*, 2012).

#### c. Pembuatan seri kurva baku hidrokuinon

Larutan dengan konsentrasi 1000 ppm diencerkan untuk memperoleh seri konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm dalam labu takar yang berkapasitas 10 mL.

#### d. Penentuan panjang gelombang maksimum

Diambil sebanyak 0,2 mL dari larutan standar konsentrasi 1000 ppm, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL. Selanjutnya, larutan diencerkan menggunakan fase gerak hingga mencapai tanda batas dan digojok hingga larut, kemudian dilakukan pembacaan dalam kisaran panjang gelombang 250 – 400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Fariha *et al.*, 2023).

#### e. Preparasi sampel

Ditimbang seksama 1,0 g sampel, kemudian dilarutkan dengan 12,5 mL fase gerak. Larutan divorteks selama 1 menit, kemudian disonikasi selama 15 menit dalam suhu 60<sup>0</sup> C, lalu didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Selanjutnya, dilakukan proses santrifugasi selama 10 menit, hasil filtrat

kemudian di saring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL, lalu fase gerak ditambahkan hingga mencapai tanda batas, maka akan didapatkan konsentrasi 40.000 ppm, kemudian larutan disaring dengan *milipore* berukuran 0,2  $\mu\text{m}$ . Selanjutnya larutan diinjeksikan ke dalam HPLC pada panjang gelombang maksimal yang telah ditentukan dengan menggunakan sistem HPLC, yaitu laju alir 1,0 mL/menit dan volume injeksi sebesar 20  $\mu\text{L}$  selama 7 menit (Nurwahyuni, 2023).

## H. Metode Pengelolaan dan Analisis Data

### 1. Analisis Penetapan Kadar Hidrokuinon

Data dari penelitian ini dianalisis dengan menerapkan persamaan regresi linier, yaitu  $y = bx + a$  untuk mengkaji hubungan antara konsentrasi sampel (x) dengan nilai *Area Under Curve* (y) (Lestari & Prasasti, 2018).

Nilai x didapatkan dari persamaan regresi  $y = bx + a$  atau  $x = \frac{y-a}{b}$

Kadar hidrokuinon dihitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ Kadar} = \frac{X \times \text{Volume}}{\text{Bobot sampel (mg)}} \times Fp \times 100 \%$$

Keterangan :

X = Konsentrasi sampel (mg/mL)

V = Volume sampel (mL)

Fp = Faktor pengenceran

### 2. Nilai Rata-rata

Nilai rata-rata atau mean merupakan sekumpulan nilai yang diperoleh dengan cara menjumlahkan semua angka dalam data dan membaginya dengan total jumlah angka tersebut (Rahayu *et al.*, 2024).

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

### 3. Standar Deviasi (SD)

Standar deviasi atau simpangan baku digunakan untuk mengukur sejauh mana nilai-nilai dalam data berbeda dari rata-rata yang dihitung (Yusniyanti & Kurniati, 2017).

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

#### 4. Coefficient Variation (CV)

*Variation coefficient* atau koefisien variasi merupakan rasio antara deviasi standar dan nilai rata-rata dari suatu distribusi (Yusniyanti & Kurniati, 2017).

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

Keterangan :

CV = Koefisien variasi

SD = Deviasi standar

X rata = Rata-rata hitung

#### 5. Limit of Error (LE)

LE (*limit of error*) atau CI (*confidence interval*) merupakan rentang nilai yang diperoleh dari sampel yang kemungkinan besar mencakup nilai parameter populasi sebenarnya dengan tingkat ketidakpastian (Hazra, 2017).

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

Keterangan :

LE = *Limit of Error*

T tabel = Nilai t kritis yang diambil dari tabel distribusi *t-student*

SD = Deviasi standar

N = Jumlah sampel