

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode non-eksperimental dengan pendekatan analisis deskriptif yang bertujuan untuk menganalisis kandungan senyawa berbahaya yakni hidrokuinon dalam 10 jenis krim malam dengan merek yang berbeda-beda yang berasal dari klinik kecantikan di Indramayu.

B. Lokasi Dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Laboratorium Biofarmakologi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta merupakan lokasi untuk melakukan analisis secara kualitatif dan kuantitatif hidrokuinon.

2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2024 – Juli 2024.

C. Populasi

Populasi merupakan semua obyek dari sasaran penelitian yang digunakan yaitu 10 klinik kecantikan di wilayah Indramayu yang dipilih berdasarkan arah mata angin dan penilaian rating terbaik berdasarkan ulasan di internet melalui *google review*.

D. Sampel penelitian



Gambar 6. Lokasi Pengambilan Sampel

Keterangan : Indramayu timur (A), Indramayu barat (D dan G), indramayu tengah (E, H dan I) Indramayu Utara (B) dan Indramayu selatan (C, F, dan J).

Sampel yang digunakan dalam analisis sebanyak 10 sampel krim malam. Teknik yang dipilih untuk pengambilan sampel yaitu *purposive sampling*, di mana peneliti memilih sampel dari keseluruhan populasi berdasarkan kriteria yang relevan dengan tujuan penelitian. Teknik ini memudahkan pemilihan sampel yang tepat sesuai dengan keperluan penelitian (Masturoh & Anggita, 2018). Pemilihan sampel yang akan dilakukan berdasarkan pada kriteria inklusi dan eksklusi.

1. Kriteria inklusi

- a. Krim malam dari 10 klinik kecantikan di Indramayu yang dijual secara *offline*.
- b. Krim malam klinik kecantikan dengan kisaran harga produk Rp 30.000 – Rp 90.000.
- c. Krim malam yang mempunyai klaim mencerahkan/*brightening*.
- d. Krim malam pemutih wajah dari klinik yang mendapatkan rating terbaik berdasarkan ulasan di internet melalui *google review* yang menunjukkan reputasi dan kualitas layanan yang unggul (dilakukan ketika ada beberapa klinik kecantikan yang berada di suatu area).
- e. Krim malam yang mempunyai izin edar BPOM dan tidak mempunyai izin edar BPOM.

2. Kriteria eksklusi
 - a. Krim malam berasal dari satu klinik kecantikan yang sama.
 - b. Krim malam klinik kecantikan yang melewati masa *expired date*.
 - c. Krim malam racikan yang diberikan secara individu.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Krim malam dari 10 lokasi klinik kecantikan yang berbeda-beda di Indramayu merupakan variabel bebas yang akan digunakan dalam penelitian ini.
2. Variabel terikat

Panjang gelombang (kualitatif) dan kadar hidrokuinon dalam sampel krim malam merupakan variabel terikat yang akan digunakan dalam penelitian ini.
3. Variabel terkontrol

Kriteria pemilihan sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi.

F. Definisi Operasional

1. Terdiri dari 10 jenis sampel krim malam yang berbeda merek yaitu 9 sampel krim berizin edar BPOM (A, B, C, D, E, F, G, H, dan I) dan 1 sampel krim tanpa izin edar BPOM (J) yang diambil dari 10 klinik kecantikan di Indramayu yang sesuai berdasarkan kriteria inklusi.
2. Analisis kualitatif dan kuantitatif merupakan metode yang akan digunakan pada setiap sampel. Pereaksi $\text{FeCl}_3 1\%$, reagen Benedict dan *scanning* panjang gelombang maksimum digunakan dalam analisis kualitatif hidrokuinon, sedangkan analisis kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.
3. Kadar hidrokuinon pada sampel yang dianalisis dinyatakan dalam persen (%) b/b.

G. Alat dan Bahan

1. Alat

Penelitian ini menggunakan alat untuk penelitian berupa alat gelas (Pyrex), timbangan analitik (Ohaus PA 2202), sonikator (*Cole Palmer*), dan spektrofotometer UV-VIS (Thermo Scientific Genesys 10S).

2. Bahan

Bahan dalam penelitian ini menggunakan 10 sampel krim malam dari klinik kecantikan, metanol *p.a* (Merck), kertas saring, pereaksi FeCl_3 1% (Merck), pereaksi Benedict (Merck), hidrokuinon murni (BPFI).

H. Pelaksanaan Penelitian

1. Pembuatan larutan baku.

Pembuatan larutan baku mengacu pada cara kerja menurut Depkes RI (2020) dengan modifikasi pada jumlah hidrokuinon yang diambil dan pengenceran yang dilakukan. Pembuatan dilakukan dengan cara ditimbang seksama hidrokuinon BPFI sejumlah 100 mg, dilarutkan dengan metanol *p.a* hingga 100 ml, sehingga diperoleh 1000 ppm. Kemudian diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara dipipet 10 ml dan dituangkan kedalam labu ukur berukuran 100 ml, hingga mencapai tanda batas menggunakan metanol *p.a*.

2. Pembuatan larutan sampel

Pembuatan larutan sampel mengacu pada cara kerja menurut Arifiyana dkk (2019) modifikasi pada berat sampel yang ditimbang dengan mempertimbangkan nilai absorbansi yang memasuki rentang nilai absorbansi 0,2–0,8. Preparasi sampel dilakukan dengan menimbang masing-masing sampel krim malam dengan kode I dan J sebanyak 20 mg, ditimbang masing-masing sampel dengan kode B, C, D, F, G, dan H sebanyak 25 mg dan ditimbang masing-masing sampel krim malam dengan kode A dan E sebanyak 50mg dan dilarutkan dengan metanol hingga 50 ml dalam labu takar, kemudian disonikator selama 5 menit lalu disaring dengan kertas saring (Arifiyana *et al.*, 2019).

3. Uji kualitatif

a. Reaksi warna

Disiapkan sampel krim malam sebanyak 1 gram dan dilarutkan dengan metanol *p.a* sebanyak 5 ml kemudian dalam uji reaksi warna pertama diteteskan sekitar 4 tetes FeCl_3 1%, sementara pada uji reaksi warna kedua diteteskan 4 tetes larutan benedict ke setiap sampel (Jauria *et al.*, 2022). Hasil positif hidrokuinon ditunjukkan dengan pembentukan warna hijau atau kuning saat ditambahkan FeCl_3 1% (Carissa, 2015). Sedangkan penggunaan reagen benedict menghasilkan warna coklat kemerahan jika sampel positif mengandung hidrokuinon (Pisacha *et al.*, 2024)

b. Panjang gelombang hidrokuinon

Penentuan panjang gelombang hidrokuinon mengacu pada cara kerja menurut Irnawati dkk (2016) dengan modifikasi pada volume larutan yang diambil. Penentuan panjang gelombang hidrokuinon dilakukan dengan cara diambil sebanyak 0,5 ml dari larutan baku 1000 ppm tersebut menggunakan pipet ukur lalu dituangkan ke dalam labu ukur berukuran 25ml dan diencerkan hingga mencapai tanda batas menggunakan metanol *p.a* Sampel dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian λ maksimum dari sampel dianalisa dengan melakukan *scanning* panjang gelombang pada λ 250-350 nm. Hasil λ dari sampel dibandingkan dengan λ standar hidrokuinon BPFI.

4. Uji kuantitatif

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum mengacu pada cara kerja menurut Depkes RI (2020) dengan modifikasi pada volume larutan yang diambil dan pengenceran yang dilakukan. Penentuan dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 ml larutan baku 1000 ppm diambil dengan pipet, lalu dituangkan ke dalam labu ukur berukuran 25 ml, diencerkan hingga mencapai tanda batas menggunakan metanol *p.a*, kemudian diaduk hingga homogen. Setelah proses tersebut, diperoleh konsentrasi sebesar 20ppm.

Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 250-350 nm.

b. Pembuatan kurva baku

Pembuatan kurva baku mengacu pada cara kerja menurut Arifiyana dkk (2019) dengan modifikasi pada konsentrasi larutan yang dibuat. Pembuatan kurva baku dilakukan dengan cara diambil masing-masing 2,5 ml; 5 ml; 7,5 ml; 10 ml; dan 12,5 ml dari larutan baku 100 ppm, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml dan ditambahkan metanol *p.a* hingga mencapai tanda batas. Larutan yang dihasilkan memiliki konsentrasi berturut-turut 5; 10; 15; 20; dan 25 ppm. Selanjutnya, larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang serapan maksimum yang telah ditentukan sebelumnya.

c. Penetapan kadar hidrokuinon pada sampel

Absorbansi larutan uji yang telah disiapkan pada poin 2 diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah ditetapkan sebelumnya. Konsentrasi sampel kemudian dihitung menggunakan persamaan regresi linear ($y = bx + a$) yang diperoleh dari pembuatan kurva standar. Dari konsentrasi sampel yang diperoleh, dilakukan perhitungan untuk menentukan kadar yang sebenarnya (Depkes RI, 2020).

I. Analisis data

1. Hasil analisis kualitatif reaksi warna hidrokuinon berupa hasil positif/negatif disajikan dalam bentuk tabel dan data hasil analisis panjang gelombang hidrokuinon dengan spektrofotometri UV-Vis pada sampel disajikan dalam bentuk tabel.
2. Data kuantitatif hidrokuinon dianalisis menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Nilai absorbansi dibaca untuk menentukan kadar hidrokuinon pada 10 sampel krim malam yang diamati. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linear yang menjelaskan hubungan antara kadar (x) dan absorbansi (y) dalam bentuk persamaan $y = bx + a$. Kemudian kadar hidrokuinon dapat dihitung dengan rumus berikut :

$$K = \frac{X.V.Fp}{Bs} \times 100\%$$

Keterangan :

K : Kadar yang terkandung pada sampel (%)

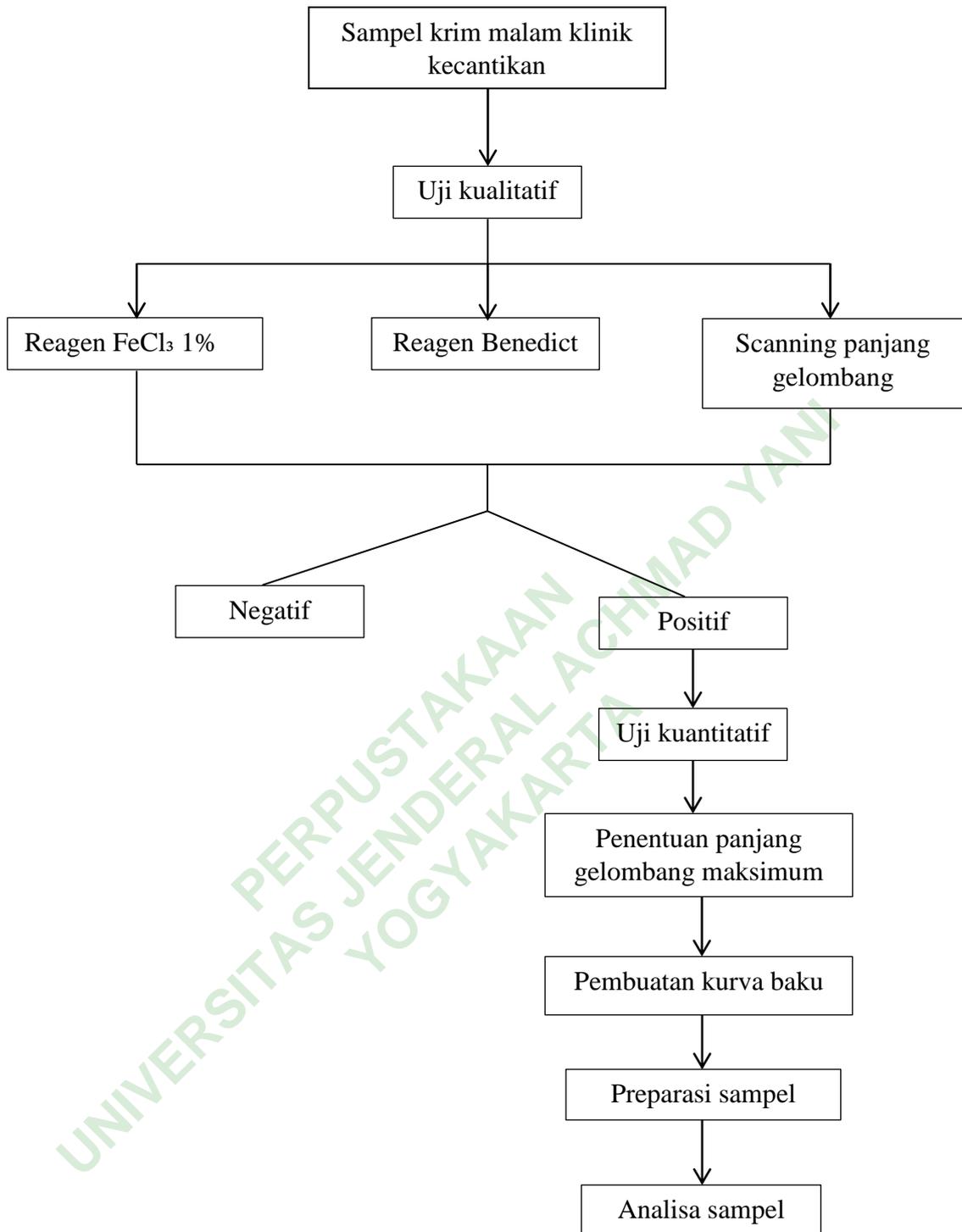
X : Konsentrasi hidrokuinon (mg/mL)

V : Volume sampel (mL)

Fp : Faktor pengenceran

Bs : Bobot sampel (mg)

Kadar hidrokuinon dari setiap sampel yang diukur kemudian diolah untuk menghitung parameter statistik seperti rata-rata kadar, standar deviasi (SD), koefisien variasi (CV), dan kesalahan standard rata-rata (SEM). Hasil akhir dari kandungan tersebut kemudian disajikan dalam format kadar \pm SEM. Pemilihan dari nilai SEM karena untuk menunjukkan seberapa jauh kemungkinan rata-rata sampel turun dari rata-rata populasi.



Gambar 7. Skema Pelaksanaan Penelitian