

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian observasi deskriptif, dimana peneliti akan melakukan pengamatan apakah krim malam yang beredar di Pasar Tanggulangin Sidoarjo terdapat kandungan asam retinoat. Kandungan asam retinoat diidentifikasi dengan uji Laboratorium.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat penelitian

Sampel penelitian diperoleh dari Pasar Tanggulangin Sidoarjo, penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Ma Chung.

3.2.2 Waktu penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2023.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini yaitu sediaan krim malam yang beredar atau diperjual belikan secara bebas yang diperoleh dari berbagai merk krim malam di Pasar Tanggulangin Sidoarjo.

3.3.2 Sampel

Jumlah sampel pada penelitian menggunakan teknik sampling dimana sampel krim malam diambil dari merek yang berbeda yang beredar di Pasar Tanggulangin Sidoarjo. Kriteria sampel yang akan diteliti pada penelitian ini adalah krim malam yang dijual berdasarkan merek berbeda yang tidak teregistrasi BPOM. Teknik sampling yang digunakan yaitu *nonprobability sampling* dengan teknik *purposive sampling*. Terdapat 4 toko kosmetik, serta terdapat 3 sampel krim malam yang tidak teregistrasi BPOM.

3.4 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini yaitu:

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu bejana kromatografi (TLC chamber with stainless steel lid camag), lampu UV 254 nm (WFH 204B), oven (Binder), timbangan analitik (Ohaus), pipa kapiler (Brand gmbh), gelas ukur (Pyrex), beaker glass (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), pipet tetes (Pyrex), labu ukur (Pyrex), corong (Pyrex), spatula, batang pengaduk (Pyrex), sonikasi (Mosinix USA), alat tulis.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel krim malam, plat kromatografi lapis tipis silika gel 60F 254 (Merck), baku asam retinoat (HMJ), aseton (Merck ACS), n-heksan (Merck ACS), metanol (Merck ACS), kertas saring Whatman N0.41(Whatman grade 41), aluminium foil (Klinpak).

3.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diteliti dalam penelitian ini yaitu:

3.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas (*independent variable*) adalah variabel yang tidak tergantung pada variabel lainnya, atau variabel yang menjadi penyebab atau memiliki kemungkinan teoritis berdampak pada variabel lain (Ulfa, 2021). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sediaan krim malam yang dijual di Pasar Tanggulangin Sidoarjo berdasarkan merek berbeda dan tidak teregistrasi BPOM.

3.5.2 Variabel terikat

Variabel terikat (*dependent variable*) adalah variabel yang tergantung pada variabel lainnya, atau variabel yang dipengaruhi yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Ulfa, 2021). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kandungan asam retinoat pada krim malam yang beredar di Pasar Tanggulangin Sidoarjo.

3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Penelitian

Variabel	Definisi Operasional	Metode	Alat Ukur	Skala Ukur
Krim Malam	Krim malam yang beredar di Pasar Tanggulangin Sidoarjo berdasarkan merek yang berbeda dan tidak teregistrasi BPOM.	Penimbangan	Neraca analitik	Gram
Asam Retinoat	Asam retinoat yang terkandung pada krim malam yang beredar di pasar Tanggulangin Sidoarjo	Analisis kualitatif dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis	Nilai Rf pada noda Plat Kromatografi Lapis Tipis diukur menggunakan penggaris	-

3.7 Metode Penelitian

Metode penelitian ini merujuk pada Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia pada Tahun 2011 tentang metode analisis kosmetika (BPOM, 2011) dan merujuk pada Jurnal (Wardana dkk., 2022).

3.7.1 Pembuatan fase gerak

Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini yaitu n-heksan:aseton (6:4). Langkah pertama yang dilakukan yaitu melakukan perhitungan fase gerak yang dibutuhkan. Kemudian pembuatan fase gerak ini dilakukan di dalam lemari asam. Fase gerak yang digunakan yaitu 30 ml. Dimana dari 18 mL larutan n-heksan dan 12 mL larutan aseton. Pengambilannya Dengan cara larutan n-heksan diambil sebanyak 18 mL dimasukkan ke dalam beaker glass 100 ml. Kemudian mengambil larutan aseton sebanyak 12 mL lalu campurkan larutan aseton tersebut ke dalam

beaker glass 100 mL. kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam bejana kromatografi dan dijenuhkan.

3.7.2 Pembuatan larutan baku

Langkah pertama yang harus dilakukan dalam pembuatan larutan baku ini yaitu dengan menimbang asam retinoat sebanyak 0,01 gram. Kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 10 mL. Kemudian ditambahkan 5 mL methanol aduk ad larut. Kemudian pindahkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Penimbangan maupun pipetasi pada saat pembuatan larutan baku harus dilakukan secara cepat dan terlindung cahaya supaya meminimalkan penguraian asam retinoat.

3.7.3 Pembuatan kontrol positif dan kontrol negatif

Pada pembuatan kontrol positif. Langkah pertama yang dilakukan yaitu menimbang krim malam yang teregistrasi BPOM sebanyak 3 gram. Kemudian timbang asam retinoat sebanyak 0,01 gram. Lalu campur krim malam yang teregistrasi BPOM dan asam retinoat tersebut ke dalam beaker glass 50 ml. tambahkan dengan 10 mL methanol. Kemudian aduk ad larut. Pengadukan dilakukan dengan sonikasi. Sonikasi ini digunakan untuk mempercepat proses pelarutan. Langkah selanjutnya di dinginkan selama 15 menit dan disaring menggunakan kertas saring whatman no. 41. Kemudian tutup dengan aluminium foil.

Pada pembuatan kontrol negatif. Langkah pertama yang dilakukan yaitu menimbang krim malam yang teregistrasi BPOM sebanyak 3 gram. Kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 50 ml. Tambahkan dengan 10 mL methanol. Kemudian aduk sampai larut. Pengadukan dilakukan dengan sonikasi. Sonikasi ini digunakan untuk mempercepat proses pelarutan. Langkah selanjutnya di dinginkan selama 15 menit dan disaring menggunakan kertas saring whatman no. 41. Kemudian tutup dengan aluminium foil.

3.7.4 Pembuatan larutan uji

Langkah pertama yang harus dilakukan dalam pembuatan larutan uji ini yaitu sampel krim malam ditimbang sebanyak 3 gram. Kemudian dilarutkan dengan 10 mL methanol. Kemudian aduk sampai larut. Pengadukan dilakukan dengan sonikasi. Sonikasi ini digunakan untuk mempercepat proses pelarutan. Langkah

selanjutnya di dinginkan selama 15 menit dan disaring menggunakan kertas saring whatman no. 41. Kemudian tutup dengan aluminium foil. Penimbangan maupun pemipetan pada saat pembuatan larutan uji harus dilakukan secara cepat agar meminimalkan penguraian asam retinoat.

3.7.5 Identifikasi sampel dengan kromatografi lapis tipis

Langkah pertama yang harus dilakukan yaitu disiapkan plat KLT silika gel 60 F254. Kemudian dibuat batas penotolan 1 cm dan batas elusi 10 cm, lalu diaktifkan plat KLT dengan cara di oven selama 30 menit dengan suhu 105°C. Selanjutnya ditotolkan secara terpisah, masing-masing larutan uji, larutan baku, serta kontrol positif negatif pada batas penotolan dari plat KLT. Selanjutnya dimasukkan kedalam bejana KLT yang terlebih dahulu telah dijenuhkan dengan fase gerak n-heksan:aseton (6:4).

Kemudian dilakukan pengangkatan plat KLT dan dibiarkan hingga kering. Selanjutnya diamati bercak gelap di bawah lampu UV 254 nm. Jika positif maka akan tampak bercak gelap yang sejajar dengan noda pada baku asam retinoatnya. Kemudian diukur dan dihitung nilai Rf nya. Jika nilai Rf pada sampel krim malam berdekatan dengan standar baku asam retinoat maka menunjukkan hasil positif adanya asam retinoat. Pada saat proses Penimbangan maupun pemipetan harus dilakukan secara cepat agar meminimalkan penguraian asam retinoat.

3.8 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

3.8.1 Penyajian data

Data yang diolah pada penelitian ini adalah data nilai Rf. Nilai Rf diperoleh dari jarak pada bercak noda. Data hasil penelitian yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel data. Pada tabel data ini berisikan hasil uji masing-masing sampel.

Tabel 3. 1 Hasil Uji Masing-masing sampel

No.	Sampel Krim Malam	Hasil Nilai Rf	Warna bercak	Keterangan (+/-)
1.	Standar Asam Retinoat			
2.	Kontrol Positif			
3.	Kontrol Negatif			
4.	Sampel A (A1)			
5.	Sampel A (A2)			
6.	Sampel A (A3)			
7.	Sampel B (B1)			
8.	Sampel B (B2)			
9.	Sampel B (B3)			
10.	Sampel C (C1)			
11.	Sampel C (C2)			
12.	Sampel C (C3)			

3.8.2 Analisis data

Data yang diperoleh pada penelitian ini adalah jarak rambat standar dan jarak rambat sampel. Dari data tersebut dapat dihitung masing-masing nilai Rf nya. Jika nilai Rf pada sampel krim malam berdekatan dengan standar baku asam retinoat, maka menunjukkan hasil positif adanya asam retinoat. Hasil positif tersebut tampak sebagai bercak gelap yang sejajar dengan noda pada baku asam retinoatnya. Nilai Rf dihitung menggunakan perbandingan dalam persamaan:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh substansi}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$