BAB III
METODOLOGI

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan merupakan penelitian deskriptif kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan zat berbahaya hidrokuinon dalam sediaan *handbody lotion* yang beredar di Pasar Larangan Kabupaten Sidoarjo menggunakan metode kromatografi lapis tipis.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah *handbody lotion* yang beredar di Pasar Larangan Kabupaten Sidoarjo.

3.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *handbody lotion* yang diperoleh dari beberapa toko kosmetik yang ada di Pasar Larangan Kabupaten Sidoarjo yang tidak memiliki nomor izin edar BPOM RI.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1 Waktu

Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai Mei 2025. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Februari 2025 dan pengujian sampel dilakukan pada bulan Maret 2025.

3.3.2 Tempat

Sampel diperoleh dari beberapa toko di Pasar Larangan Kabupaten Sidoarjo, dan penelitian dilakukan di Laboratorium kimia,Jurusan Analisis Farmasi dan Makanan, Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang dibutuhkan yaitu neraca analitik (OHAUS® PR series), labu ukur 10 mL (IWAKI), labu ukur 25 mL (IWAKI), labu ukur 5 mL (IWAKI), *beaker glass* 50 mL (IWAKI), *beaker glass* 100 mL (IWAKI), kaca arloji, corong kaca (PYREX), spatula, batang pengaduk, pipet ukur 1 mL (PYREX), bola hisap, oven (MEMMERT), pipa kapiler, chamber kromatografi, lampu UV 254 nm

(INTRALAB INSTRUMENT UV-82), tangas ultrasonik (GT SONIC VGT-1730QTD), pipet tetes, gelas ukur 25 mL (PYREX), gelas ukur 100 mL (IWAKI), gunting, dan penggaris.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan yaitu sampel *handbody lotion*, Hidrokuinon BP (HIMEDIA), etanol 96% (v/v) (MERCK), n-heksan(MERCK), aseton (MERCK), aquades, perak nitrat (MERCK), lempeng KLT silika gel GF 254 (MERCK), kertas saring, dan aluminium foil.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Dependen (variabel terikat)

Variabel terikat merupakan variabel yang nilainya tergantung dari nilai variabel lainnya. Pada penelitian ini variabel terikat adalah zat berbahaya hidrokuinon yang terkandung dalam *handbody lotion*.

3.5.2 Variabel Independen (variabel bebas)

Variabel bebas adalah variabel yang nilainya memengaruhi variabel lainnya, yaitu variabel terikat. Pada penelitian ini variabel bebasnya yaitu *handbody lotion* yang dijual di berbagai toko kosmetik Pasar Larangan, Kabupaten Sidoarjo.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	*Handbody Lotion* (Independen)	Produk kosmetik berbentuk losion yang digunakan untuk merawat dan melembabkan kulit, diperoleh dari pedagang di Pasar Larangan	Observasi	Didapatkan label identitas sampel	Nominal

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
		yang tidak memiliki nomor izin edar BPOM RI.			
2.	Hidrokuinon (Dependen)	Senyawa kimia pencerah kulit yang dilarang digunakan dalam kosmetik oleh BPOM karena efek sampingnya berbahaya.	Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	Nilai Rf	Rasio

3.7 Metode Penelitian

3.7.1 Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive sampling*. *Purposive sampling* adalah pengambilan sampel dengan menggunakan beberapa pertimbangan sesuai dengan kriteria untuk dapat menentukan jumlah sampel yang diteliti (Sugiyono, 2018). Kriteria sampel yang diteliti adalah *handbody lotion* yang tidak memiliki nomor BPOM dari tiga toko kosmetik di Pasar Larangan Kabupaten Sidoarjo.

3.7.2 Identifikasi Hidrokuinon dengan Kromatografi Lapis Tipis

3.2.7.1 Pembuatan Larutan Baku Hidrokuinon

Hidrokuinoon BP ditiimbang seksama lebih kurang 0,02 gram, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, ditambahkan dengan 5 mL etanol 96% (v/v), lalu dikocok sampai larut, kemudian diencerkan dengan etanol 96% (v/v) sampai tanda (BPOM RI, 2011).

3.2.7.2 Penyiapan Larutan Uji

Sampel ditimbang seksama lebih kurang 1,5 g di dalam *beaker glass* 25 mL. ditambahkan 15 mL etanol 96% (v/v) sedikit demi sedikit, kemudian dicampur dan dituang ke dalam labu tentukur 25 mL. Dihomogenkan dalam tangas ultrasonic selama 10 menit, dan didinginkan labu hingga suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan etanol 96%(v/v) sampai tanda, lalu campur. Letakkan dalam tangas es hingga terjadi pemisahan lemak selama lebih kurang 10 menit dan disaring melalui kertas saring (BPOM RI, 2011).

3.2.7.3 Pembuatan Larutan Kontrol Positif (*spiked*)

Larutan baku sebanyak 1 mL diambil dan dicampur dengan 1 mL larutan uji, kemudian dihomogenkan (BPOM RI, 2011).

3.2.7.4 Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak dibuat dari campuran n-heksan dan aseton dengan perbandingan 3:2. Diambil sebanyak 30 mL n-heksan dan 20 mL aseton. Kemudian kedua larutan tersebut dicampurkan sehingga diperoleh fase gerak. Campuran larutan tersebut dimasukkan ke dalam bejana kemudian ditutup. Selanjutnya fase gerak tersebut didiamkan hingga bejana terjenuhi oleh fase gerak (BPOM RI, 2011).

3.2.7.5 Pembuatan Larutan Penampak Bercak Perak Nitrat ($AgNO_3$) 5%

Padatan perak nitrat ditimbang sebanyak 0,25 gram dan ditambahkan aquades hingga tanda batas pada labu ukur 5 mL. Kemudian kocok hingga homogen.

3.2.7.6 Analisis Kualitatif Sampel *Handbody Lotion*

Analisis dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam berupa silika gel GF_{254} dengan ukuran 5 cm x 10 cm dengan tebal 0,25 mm, fase gerak n-heksana : aseton (3: 2).

Lempeng KLT diaktifkan pada suhu 100°C selama 10 menit. Dijenuhkan bejana kromatografi dengan masing-masing larutan pengembang. Kemudian, ditotolkan secara terpisah larutan baku, larutan *spiked*/kontrol positif, dan larutan uji pada lempeng. Selanjutnya, dikembangkan lempeng dalam bejana kromatografi di ruang gelap pada suhu ruang hingga jarak rambat mencapai lebih

kurang 8 cm dari titik penotolan. Pindahkan lempeng, dan dikeringkan pada suhu ruang. Diamati lempeng dibawah penyinaran lampu UV 254 nm, dan ditandai posisi bercak. Apabila bercak tidak terlihat dilakukan penyemprotan menggunakan perak nitrat 5%. Hitung nilai Rf untuk masing-masing bercak. Bandingkan nilai Rf bercak yang diperoleh dari larutan uji dengan larutan baku, dan warna bercak setelah dilakukan penyemprotan menggunakan penampak bercak (BPOM RI, 2011).

3.7.3 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Pengolahan data dilakukan setelah mendapatkan data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan mengenai adanya kandungan senyawa hidrokuinon pada *handbody lotion*. Penyajian dan Analisis Data dilakukan dengan melihat hasil pemeriksaan yang dinyatakan positif maupun negatif dan nilai Rf pada masing-masing sampel. Nilai Rf dihitung dengan menggunakan perbandingan sebagaimana dalam persamaan:

$$Rf = \frac{jarak\ yang\ ditempuh\ zat\ terlarut}{jarak\ yang\ ditempuh\ pelarut}$$

Tabel 3. 2 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kode Sampel	Gambar	Nilai Rf			Kesimpulan
		Baku	Kontrol Positif	Sampel	
A					(+)/(-)
B					(+)/(-)
C					(+)/(-)
D					(+)/(-)