

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah bagian yang memuat semua obyek yang menjadi sasaran penelitian, sedangkan sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Populasi dari penelitian ini adalah *body lotion* yang pada kemasannya tidak mencantumkan informasi tentang komposisi bahan-bahan yang digunakan (racikan) yang didapat dari toko *online*. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 produk *body lotion* racikan yang tidak mencantumkan komposisi pada kemasannya.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama yaitu bagian yang memuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama dalam penelitian ini adalah kadar nipagin dalam sampel *body lotion* racikan yang ditetapkan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama diklasifikasikan menjadi 3 variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel terikat. Variabel bebas yaitu variabel yang mempengaruhi terjadinya perubahan. Variabel terkontrol yaitu variabel yang dapat dikendalikan oleh peneliti. Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi karena adanya variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu sampel *body lotion*. Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu pelarut, preparasi sampel, kondisi analisis, peralatan yang ada di laboratorium, dan kondisi alat Spektrofotometer UV- Vis. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar nipagin dalam *body lotion*.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Definisi operasional variabel utama yang pertama, nipagin merupakan salah satu golongan pengawet yang sering digunakan dalam kosmetik dan berfungsi untuk mencegah pertumbuhan bakteri dalam produk kosmetik. *Body lotion* merupakan sediaan kosmetik yang ditujukan untuk pelembab pada kulit yang termasuk dalam golongan emolien (pelembut) dan memiliki beberapa sifat yaitu sebagai sumber kelembaban kulit, menjadikan tangan dan badan menjadi lembut tetapi tidak berminyak dan mudah untuk diaplikasikan pada kulit. Definisi operasional variabel utama yang kedua, Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode analisis kualitatif dan kuantitatif yang memanfaatkan sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dan sinar tampak dengan menggunakan spektrofotometer.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan yaitu Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 80550), neraca analitik (Ohaus PA214), kertas saring *Whatman*, chamber KLT, dan alat – alat gelas (Pyrex) yang digunakan untuk penelitian.

2. Bahan

Bahan – bahan yang digunakan yaitu *body lotion* racikan (A, B, C, D, dan E), nipagin p.a, etanol pa (Merck), toluen p.a (Merck), asam asetat glasial (Merck), kertas saring *Whatman*, lempeng silica gel GF₂₅₄, dan lampu UV₂₅₄ nm.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi nipagin

Ditimbang saksama masing-masing sampel *body lotion* sebanyak 3 gram. Ditambah dengan 8 mL etanol, lalu disonikasi selama 10 menit dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL lalu ditambahkan etanol pa hingga tanda batas. Disiapkan fase diam yang berupa

silika gel GF254 dan fase gerak berupa campuran antara toluen dan asam asetat glasial dengan perbandingan 80 : 20. Lempeng KLT diberi garis batas atas 0,5 cm dan batas bawah 1 cm. Diberi identitas larutan pada bagian atas lempeng KLT. Larutan baku dan larutan sampel ditotolkan pada lempeng KLT, kemudian Lempeng KLT yang sudah ditotol dimasukkan ke dalam chamber KLT yang sudah diisi dengan fase gerak yang telah jenuh. Jika proses elusi sudah selesai, lempeng dikeluarkan dari chamber lalu didiamkan hingga kering dan diamati bercak pada lampu UV 254 nm (Mandasari *et al.*, 2016).

2. Pembuatan larutan baku nipagin

Ditimbang saksama 10 mg baku nipagin. Kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 mL. Lalu ditambah dengan etanol pa sedikit untuk melarutkan kemudian ditepatkan volumenya sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan baku (Mandasari *et al.*, 2016).

3. Penetapan kondisi operasional

3.1. Penetapan panjang gelombang maksimum

Larutan baku nipagin dipipet sebanyak 0,5 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Setelah itu ditambahkan dengan etanol pa hingga tanda batas. Diukur serapannya dengan spektrofotometer pada daerah panjang gelombang 200 nm sampai 350 nm (Nofita dan Ulfa, 2017).

3.2. Penetapan *Operating Time*

Dipipet 0,5 mL larutan baku dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Ditambahkan etanol pa hingga tanda batas. Diukur absorbansinya setiap menit (menit ke-1, 2, 3) hingga menit ke-30 pada panjang gelombang terpilih.

4. Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva baku didapatkan dari pengenceran larutan stok nipagin konsentrasi 100 ppm. Larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm diencerkan hingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 10 ppm. Pembuatan seri pengenceran untuk kurva kalibrasi dibuat sebanyak 6 seri konsentrasi dari larutan stok 10 ppm dengan dipipet 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 mL. Masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL dan ditambahkan etanol pa hingga tanda batas lalu dihomogenkan. Masing-masing konsentrasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang

terpilih.

5. Pembuatan larutan sampel

Ditimbang saksama masing – masing sampel *body lotion* racikan sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL. Ditambah dengan 10 mL etanol, lalu disonikasi selama 10 menit dan disaring menggunakan kertas saring. Hasil saringan dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL dan ditambahkan etanol sampai tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi larutan sampel sebesar 40.000 ppm (Tijang *et al*, 2019). Masing – masing sampel dibuat dengan 3 kali replikasi.

6. Validasi metode analisis

6.1. Linearitas

Linearitas ditentukan dengan mengukur nilai absorbansi dari 6 seri konsentrasi. Seri konsentrasi yang dibuat sebesar 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 ppm dengan cara memipet larutan baku nipagin 10 ppm sebanyak 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 mL, kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan etanol hingga tanda batas dan dihomogenkan. Masing – masing konsentrasi dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum terpilih. Hasil absorbansi yang diperoleh dianalisis dengan membuat persamaan garis regresi linear dan ditentukan koefisien korelasinya (r) (Wisudyaningsih, 2012).

6.2. Akurasi

Akurasi ditentukan dengan cara membuat seri konsentrasi 80%, 100%, dan 120% yang diambil dari 3 konsentrasi pada kurva baku yaitu 3, 5, dan 7 ppm. Larutan stok nipagin 10 ppm dipipet 3, 5, dan 7 mL dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL lalu ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas. Masing-masing konsentrasi dibuat sebanyak 3 kali replikasi. Larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang terpilih (Musiam dan Alfian, 2017).

6.3. Presisi

Presisi ditentukan dengan membuat seri konsentrasi 5 ppm sebanyak 6 replikasi. Dipipet sebanyak 5 mL dari konsentrasi larutan stok 10 ppm dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Ditambahkan etanol hingga tanda

batas lalu dihomogenkan. Masing-masing replikasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang terpilih (Musiam dan Alfian, 2017).

6.4. Penentuan batas deteksi *limit of detection* (LOD) dan *limit of quantitation* (LOQ)

LOD dan LOQ dihitung melalui persamaan garis linier dari kurva kalibrasi dengan rumus :

$$Q = \frac{k \times S_b}{S_1}$$

Keterangan :

Q = LOD atau LOQ

k = 3 untuk LOD atau 10 untuk LOQ

S_b = simpangan baku respon analitik dari blanko

S₁ = arah garis linier (kepekaan) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b) pada persamaan garis $y = a + bx$ (Musiam dan Alfian, 2017).

7. Penetapan kadar nipagin

7.1. Orientasi sampel

Larutan hasil preparasi sampel dengan konsentrasi 40.000 ppm dipipet sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL dan ditambahkan etanol hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 4.000 ppm. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang terpilih dan *operating time* yang didapatkan. Dibuat pengenceran larutan sampel nipagin dengan memipet 0,5 mL larutan sampel dengan konsentrasi 40.000 ppm dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL lalu ditambahkan etanol hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 2.000 ppm. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang terpilih dan *operating time* yang didapatkan.

7.2. Penetapan kadar sampel

Dipipet larutan sampel dengan konsentrasi 40.000 ppm sebanyak 0,5 mL,

dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL dan ditambahkan etanol hingga tanda batas sehingga didapatkan larutan sampel dengan konsentrasi 2.000 ppm. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang terpilih dan *operating time* yang didapatkan kemudian dihitung kadarnya.

E. Analisis Hasil

Data penelitian yang diperoleh berupa nilai absorbansi, selanjutnya data tersebut digunakan untuk perhitungan kadar dengan cara dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier kurva baku dengan memperhatikan perlakuan pada saat preparasi sampel berupa berat sampel yang ditimbang, volume sampel yang dibuat dan faktor pengenceran yang digunakan.