

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah bagian yang memuat semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi dalam penelitian ini adalah krim pagi anti jerawat dengan berbagai merek lokal yang beredar dipasaran.

Sampel adalah bagian kecil dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 sampel krim wajah anti jerawat yang dibeli pada toko kosmetik dengan kriteria sediaan krim pagi, memiliki nomor BPOM, mencantumkan asam salisilat pada komposisi tetapi tidak mencantumkan persentase kadar asam salisilat pada kemasan sediaan tersebut.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah mutu fisik dan kadar asam salisilat yang terkandung pada krim wajah anti jerawat dengan berbagai merk yang ditetapkan dengan metode Spektrofotometri UV-Vis.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama diklasifikasikan menjadi 3 yaitu variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sampel krim wajah anti jerawat berbagai merk yang beredar di pasaran. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah mutu fisik dan kadar asam salisilat pada krim anti jerawat berbagai merk. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah pelarut, kondisi alat Spektrofotometri UV-Vis, peralatan di laboratorium dan kondisi analisis.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Definisi operasional variabel utama adalah mutu fisik sediaan krim. Mutu fisik sediaan merupakan pengujian untuk mengetahui kualitas fisik dalam sediaan krim. Krim wajah anti jerawat adalah sediaan kosmetik berbentuk krim dengan tujuan pengobatan jerawat pada wajah. Asam salisilat merupakan senyawa

anti bakteri yang terkandung dalam krim wajah anti jerawat yang dimaksudkan untuk pengobatan jerawat. Krim yang digunakan dalam penelitian ini adalah krim wajah anti jerawat dengan 3 merek lokal yang telah diambil secara random atau acak dari toko kosmetik di daerah Kartasura, Kabupaten Sukoharjo. Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui kadar asam salisilat yang terkandung dalam sediaan krim anti jerawat.

C. Bahan dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH meter, viskometer *brookfield*, spektrofotometri UV-Vis, *object glass*, *cover glass*, labu ukur, pipet volume, pipet tetes, tabung reaksi, neraca analitik digital serta peralatan gelas. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel krim pagi anti jerawat yang diambil di toko kosmetik dengan merk X, Y, Z, asam salisilat murni, Etanol p.a, FeCl_3 1% dalam HCl 1%, dan aquadest

D. Jalannya Penelitian

1. Uji Mutu Fisik

1.1. Organoleptis. Pengujian organoleptis dilakukan dengan melihat warna, bentuk, tekstur dan aroma sediaan krim (Elya *et al.*, 2013).

1.2. Pengukuran pH. Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang terkalibrasi. Elektroda dicelupkan hingga ujung elektroda tercelup semua, kemudian ditunggu hingga angka pada layar stabil, skala angka yang terbaca pada pH meter kemudian dicatat. Setelah selesai, elektroda dibersihkan dengan aquades dan dikeringkan menggunakan kain (Meyla *et al.*, 2019).

1.3. Homogenitas. Sampel dikeluarkan sedikit, diletakkan pada *object glass* dan diratakan dengan *cover glass*, lalu diamati hasilnya. Sediaan krim dikatakan homogen bilamana tidak menunjukkan adanya partikel - partikel yang menggumpal atau tidak bercampur (Meyla *et al.*, 2019).

1.4. Viskositas. Sampel dimasukkan dalam pot salep, lalu nomor spindel ditentukan yang sesuai dengan sampel. Spindel yang sesuai dipasang pada alat viskometer *brookfield*, kemudian revolver

diputar untuk menurunkan spindle hingga terendam semua di dalam sampel namun tidak menyentuh dasar wadah. Alat dinyalakan dengan kecepatan 60 RPM lalu ditekan tombol *Run*. Diamati skala yang terlihat, kemudian hasil viskositas dicatat. Setelah selesai, sampel dikeluarkan dari wadah lalu spindle viskometer dibersihkan (Meyla *et al.*, 2019).

1.5. Daya Sebar. Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu diletakkan di antara 2 lempeng gelas. Lempeng gelas pada bagian atas sebelumnya ditimbang terlebih dahulu kemudian diletakkan di atas sampel. Setelah 1 menit diameter sampel yang menyebar diukur pada berbagai sisi kemudian dirata-rata. Penambahan beban sebesar 50 gram dilakukan setiap 1 menit dilakukan setelah pengukuran diameter penyebaran sampel hingga beban total mencapai 100 gram (Wiweka, 2015)

1.6. Daya Lekat. Sampel ditimbang sebanyak 100 mg dan diletakkan di antara 2 buah gelas objek yang telah ditandai luasnya $4 \times 2,5$ cm. Gelas objek kemudian ditindih dengan beban seberat 1 kg selama 5 menit. Beban diangkat lalu ditarik dengan beban 80 gram dan dicatat waktu yang dibutuhkan hingga kedua gelas objek terpisah.

2. Uji Kualitatif Asam Salisilat

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian dilarutkan dengan 2 mL etanol pada tabung reaksi. Setelah larut dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan ditambahkan aquadest sampai 5 mL dalam labu takar. Larutan standar dan sampel masing-masing diambil 1 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL FeCl_3 1%. Hasil positif akan menghasilkan warna ungu. (Fatmawati, Anisa *et al.*, 2022)

3. Penetapan Kadar Asam Salisilat

3.1. Pembuatan Reagen HCl 1 %. HCl pekat dipipet sebanyak 2,7 mL, dimasukkan dalam beaker glass 100 mL. Aquades ditambahkan sampai tanda batas, diaduk hingga homogen.

3.2. Pembuatan Reagen FeCl_3 1% dalam HCl 1 %. Serbuk FeCl_3 ditimbang sebanyak 1 gram dengan menggunakan neraca analitik. Serbuk kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL, ditambah dengan HCl 1% sampai tanda batas diaduk sampai homogen.

3.3. Pembuatan Larutan Baku Asam Salisilat (400 ppm).

Standar asam salisilat ditimbang sebanyak 10 mg, dimasukkan dalam labu tentukur 25 mL. Etanol ditambahkan sebanyak 2,5 mL, kemudian aquades ditambahkan sampai tanda batas (Niken, 2019).

3.4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.

Larutan baku dipipet sebanyak 1,0 mL, dimasukkan dalam labu tentukur 10 mL. Reagen FeCl_3 ditambahkan sebanyak 1 mL kemudian aquades ditambahkan sampai tanda batas. Diukur serapan pada rentang panjang gelombang antara 400 - 600 nm hingga didapatkan panjang gelombang maksimum asam salisilat (Niken, 2019). Pada pengukuran panjang gelombang, larutan standar asam salisilat memberikan serapan tertinggi pada panjang gelombang 533 nm (Novita *et al.*, 2018).

3.5. Penentuan *Operating Time*.

Larutan baku dipipet sebanyak 1,0 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL. Reagen FeCl_3 ditambahkan sebanyak 1 mL kemudian aquades ditambahkan sampai tanda batas. Diukur absorbansi larutan setiap rentang waktu 1 menit sampai 30 menit pada panjang gelombang maksimum terpilih. (Niken, 2019). Etanol dipipet sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml kemudian aquades ditambahkan hingga tanda batas (larutan blanko) (Fendi *et al.*, 2022).

3.6. Pembuatan Kurva Kalibrasi.

Kurva baku diperoleh dari larutan baku 400 ppm. Disiapkan 6 buah labu tentukur 10 mL. Dipipet larutan baku asam salisilat masing-masing 0,5 mL, 0,7 mL, 0,9 mL, 1,1 mL, 1,3 mL dan 1,5 mL ke dalam labu tentukur 10 mL sehingga didapatkan larutan seri standar dengan konsentrasi 20 ppm, 28 ppm, 36 ppm, 44 ppm, 52 ppm dan 60 ppm. Ke dalam labu takar masing masing labu takar ditambah 1,0 mL FeCl_3 1% dalam HCl 1% kemudian ditambah aquades sampai tanda. Diukur serapannya masing-masing dengan menggunakan data panjang gelombang maksimum dan operating time yang telah ditentukan.

4. Validasi Metode

4.1. Linieritas.

Kurva baku diperoleh dari pengenceran larutan induk asam salisilat 400 ppm. Seri pengenceran asam salisilat diperoleh dengan membuat 6 seri konsentrasi 20 ppm, 28 ppm, 36 ppm, 44 ppm, 52 ppm dan 60 ppm dengan cara dipipet

larutan baku asam salisilat 400 ppm sebanyak masing-masing 0,5 mL, 0,7 mL, 0,9 mL, 1,1 mL, 1,3 mL dan 1,5 mL kemudian masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, Ke dalam labu takar masing-masing labu takar ditambah 1,0 mL FeCl_3 1% dalam HCl 1% kemudian ditambah aquades sampai tanda. Diukur serapannya masing-masing dengan menggunakan data panjang gelombang maksimum dan operating time yang telah ditentukan.

4.2. Presisi. Presisi diperoleh dengan membuat seri konsentrasi 44 ppm dari baku asam salisilat 400 ppm sebanyak 6 replikasi. Disiapkan 6 labu tentukur 10 mL, dipipet sebanyak 1,1 mL larutan baku konsentrasi 400 ppm, dimasukkan dalam labu tentukur 10 mL, ditambahkan 1 mL reagen FeCl_3 1% dan ditepatkan dengan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada Panjang gelombang maksimum.

4.3. Akurasi. Akurasi ditentukan dengan cara membuat seri konsentrasi 80%, 100%, dan 120% dari 3 konsentrasi larutan induk. Disiapkan 9 buah labu tentukur 10 mL Dari baku asam salisilat

400 ppm diencerkan sebanyak 3 konsentrasi 44 ppm, 52 ppm, 60 ppm. Dipipet larutan baku asam salisilat konsentrasi 400 ppm sebanyak 1,1 mL ; 1,3 mL ; 1,5 mL masing-masing dimasukkan pada labu tentukur 10 mL, ditambahkan 1 ml reagen FeCl_3 1% dan ditepatkan dengan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Larutan dibaca serapannya pada Panjang gelombang maksimum sebanyak 3 replikasi pada setiap konsentrasi.

4.4. LOD dan LOQ. Batas deteksi dan batas kuantifikasi ditentukan dengan menggunakan regresi kurva baku yang diperoleh. Nilai $\text{LOD} = 3,3 (\text{SD}/b)$ dan $\text{LOQ} = 10 (\text{SD}/b)$, standar deviasi (SD) ditentukan berdasarkan standar deviasi residual (simpangan baku residual) merupakan nilai kemiringan (slope/b) garis atau regresi linier $y = a+bx$. (Rivai dkk., 2020).

5. Penetapan Kadar Asam Salisilat

5.1. Orientasi Sampel. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL dilarutkan dengan 5 mL etanol dan ditambahkan aquades hingga tanda batas.

Larutan digojog hingga homogen, kemudian disaring dan ditampung filtratnya.

5.2. Penetapan Kadar Sampel. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL dilarutkan dengan 5 mL etanol dan ditambahkan aquades hingga tanda batas. Larutan digojog hingga homogen, kemudian disaring dan ditampung filtratnya. Dilakukan pengenceran dengan pipet 0,4 mL dimasukkan dalam labu takar 10 mL. Pipet 1 mL FeCl_3 1% dalam HCl 1% dan ditambah aquades sampai tanda batas. Disiapkan blanko dan diukur absorbansi sampel dengan *operating time* dan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan. Pembacaan absorbansi setiap sampel dilakukan 3 kali replikasi.

E. Analisis Hasil

Data yang diperoleh dari uji mutu fisik lalu dibandingkan antara ketiga sampel tersebut apakah terdapat perbedaan, jika ada apakah hal tersebut mempengaruhi kadar asam salisilat dalam sampel. Data hasil pengukuran absorbansi krim wajah anti jerawat dibuat kurva kalibrasi. Konsentrasi krim wajah anti jerawat dihitung berdasarkan kurva kalibrasi larutan standar. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometri UV-Vis, sehingga kadar asam salisilat yang terdapat pada krim wajah anti jerawat dihitung dengan persamaan regresi linier sebagai berikut :

$$Y = a + bx$$

Keterangan :

Y = absorbansi yang diperoleh

a = konstanta

b = koefisien regresi (kemiringan)

x = konsentrasi sampel

Kadar sampel yang diperoleh ppm kemudian dikonversikan dalam satuan % (persentase).

$$\text{Kadar asam salisilat (\%)} = \frac{X \times F_p \times V_s}{B} \times 100\%$$

Keterangan :

X = konsentrasi pada sampel (ppm)

V_s = volume larutan sampel (L)

F_p = faktor pengenceran

B = berat sampel (mg)