

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental dimana penelitian dilakukan dengan cara sampel diberi perlakuan atau uji coba kemudian hasilnya dilakukan pengukuran atau observasi. Ditinjau dari jenis penelitian berdasarkan tempat, penelitian ini adalah penelitian laboratorium, dimana perlakuan atau pengujian prosesnya dilakukan di laboratorium.

B. Lokasi Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat pengambilan Sampel diperoleh secara online dibeli di toko online. Penelitian ini dilakukan di laboratorium instrumen Universitas Ngudi Waluyo

2. Waktu penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan September-Januari 2022.

C. Subjek Penelitian

1. Kriteria inklusi

- a. Sabun mandi cair yang dipasarkan lewat *online*.
- b. Pembelian tidak melihat label produk .

2. Kriteria eksklusi
 - a. Sabun mandi cair tidak mengandung methylparaben
 - b. Sabun mandi mempunyai ijin edar BPOM

D. Definisi Operasional

1. Sabun mandi cair adalah sediaan berbentuk cair yang digunakan untuk membersihkan kulit yang dijual secara online dan tidak mempunyai ijin edar BPOM.
2. Toko online adalah tempat penjual belian barang atau jasa melalui internet (tidak langsung) dimana barang ditawarkan melalui sebuah gambar.
3. Bahan pengawet adalah bahan kimia yang ditambahkan untuk mencegah pertumbuhan mikroba atau oleh perubahan kimiawi.
4. Nipagin atau methyl paraben adalah serbuk hablur halus; putih; hampir tidak berbau; tidak mempunyai rasa, kemudian agak membakar diikuti rasa tebal digunakan sebagai zat pengawet.
5. Kromatografi lapis tipis adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan komponen menggunakan fase diam berupa plat dengan lapisan bahan adsorben inet.
6. Spektrofotometer UV-Vis adalah alat untuk pengukuran serapan cahaya di daerah ultraviolet atau sinar tampak oleh suatu senyawa.

7. Kadar methylparaben adalah banyaknya zat yang terkandung didalam sampel yang terukur dengan metode spektrofotometri UV-Vis dengan hasil berupa % kadar dengan skala rasio.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menyebabkan terjadinya perubahan. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah 5 sampel sabun mandi cair yang dibeli dari toko online yang belum memiliki izin edar. Sampel yang dipilih merupakan produksi rumahan (*homemade*).

2. Variabel tergantung/variabel terikat

Variabel tergantung adalah variabel penelitian yang diukur untuk mengetahui besarnya efek atau pengaruh dari variabel lain. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah identifikasi methylparaben pada sabun mandi cair yang dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif.

F. Pengumpulan Data

1. Alat Penelitian

Erlenmeyer 250 ml, Beaker glass 250 ml, Magnetic stirrer, Pipa kapiler, Kertas saring, Batang pengaduk, *Chamber* dan tutup *chamber*, labu ukur 10 ml, Lampu UV 254 nm, Spektrofotometer UV-Vis Specord 200, Kuvet, Pipet volume 1 ml, Pipet volume 2 ml, dan Pipet volume 5 ml.

2. Bahan

Nipagin (methylparaben), Metanol, Silika gel GF 254, Asam asetat glasial, dan Toluena .

G. Prosedur kerja penelitian

a. Preparasi sampel

1). Larutan uji

Sejumlah 0,50 gram cuplikan ditimbang seksama, Ditambah 5 ml metanol dihomogenkan menggunakan magnetic stirrer selama 10 menit. Kemudian masukkan kedalam gelas ukur 10 ml add kan hingga tanda batas dengan metanol setelah itu saring larutan tersebut. (A)

2). Larutan baku

Sejumlah 25 mg Nipagin (methylparaben) ditimbang dengan seksama kemudian dilarutkan dalam 25 ml metanol (B).

3). Larutan uji ditambah larutan baku

Sejumlah 0,50 gram cuplikan ditimbang seksama ditambah 0.05 gram nipagin Tambahkan 5 ml metanol. Selanjutnya homogenkan larutan di magnetic stirrer selama 10 menit, kemudian pindahkan larutan ke gelas ukur 10 ml dan add kan dengan metanol.

b. Analisis kualitatif dengan KLT

Larutan A dan B ditotolkan terpisah dan dilakukan kromatografi lapis tipis sebagai berikut :

- a. Fase diam : silika gel GF 254
 - b. Fase gerak : toluen –asam asetat glasial (80 : 20)
 - c. Penjenuhan : dengan kertas saring
 - d. Volume penotolan : larutan A dan B masing- masing ditotolkan 25 μ l
 - e. Jarak rambat : 5 cm
 - f. Penampakan bercak cahaya Ultraviolet 254 nm
- c. Preparasi sampel analisis kuantitatif dengan metode spektrofotometri Uv-vis

Metode preparasi larutan standar dan larutan sampel

1). Penyiapan larutan baku

100 mg methyl paraben ditimbang secara akurat dan dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml dan dilarutkan dengan metanol sampai batas tera (1000 ppm). Selanjutnya 10 ml dari larutan stok methylparaben dipindahkan kedalam 100 ml labu ukur dan diencerkan sampai tanda batas dengan metanol (100 ppm), kemudian siapkan larutan 1,2,3,4,dan 5 ppm encerkan kedalam 10 ml labu sampai tanda batas dengan metanol.

2). Pembuatan larutan sampel

Sampel sabun mandi cair yang belum teregistrasi BPOM yang dibeli di toko online shop. Tambahkan metanol volume 0,5 ml ke dalam sampel sebanyak (0,50 gr). Homogenkan larutan pada magnetic stirrer selama 10 menit, diencerkan hingga 10 ml dan disaring. Selanjutnya pipet 1 ml dan add kan pada labu ukur 10 ml dengan metanol.

3). Validasi metode

a). Linieritas (n=5)

Larutan disiapkan dengan memipet 1,2,3,4, dan 5 ml dari larutan stok menjadi 10 ml volumetrik labu dan volume disesuaikan untuk menandai dengan metanol untuk menghasilkan 10-50 μ g/ml masing-masing, absorpsi diukur pada 256 nm.

b). Presisi

1. Pengulangan (n=6)

Aliquot dari 3 ml larutan standar methylparaben (100 μ g/ml) dipindahkan ke volumetrik 10 ml labu dan volume disesuaikan dengan metanol untuk mendapatkan konsentrasi 30 μ g/ml. Absorpsi larutan dihasilkan spektrofotometer diukur enam kali dari % RSD yang diperoleh.

2. Presisi intraday (n=3)

Aliquot dari 2 ml, 3 ml dan 4 ml larutan standar methylparaben (100 μ g/ml) dipindahkan ke 10ml labu volumetrik dan volume disesuaikan dengan metanol untuk mendapatkan konsentrasi 20, 30, dan 40 μ g/ml. Absorbansi dari larutan diukur spektrometri tiga kali dan % RSD dihitung. Untuk intraday, analisisnya adalah dilakukan pada interval yang berbeda pada hari yang sama.

3. Presisi antar hari (n=3)

Aliquot dari 2, 3, dan 4 ml larutan standar methyl paraben (100 μ g/ml) dipindahkan ke 10 ml labu volumetrik dan volume disesuaikan dengan metanol untuk mendapatkan konsentrasi 20, 30, dan 40 μ g/ml. Absorbansi dari larutan diukur secara spektrofotometri tiga kali pada hari yang berbeda dan %RSD dihitung.

c). Batas deteksi (LOD)

pengukuran LOD digunakan dari 3 konsentrasi rendah sedang dan tinggi yaitu konsentrasi 2,3 dan 4 dari kurva baku.

LOD dihitung sebagai berikut:

$$\text{LOD} + 3,3 \times (\text{SD}/\text{Kemiringan})$$

Dimana, SD + simpangan baku Y-intersep 3 kurva baku.

Kemiringan = kemiringan rata-rata dari 5 kurva kalibrasi.

d). Batas kualitas (LOQ)

LOQ digunakan dari 3 konsentrasi rendah sedang dan tinggi yaitu konsentrasi 2,3 dan 4 dari kurva baku. LOD dihitung sebagai berikut :

$$LOQ = 10 X(SD/Kemiringan)$$

dimana, SD=simpangan baku

Y= intersep dari kurva kalibrasi

Kemiringan = kemiringan rata-rata dari 3 konsentrasi.

H. Pengolahan Data

Identifikasi nipagin (methylparaben) dalam sabun mandi cair menggunakan metode pemisahan kromatografi lapis tipis yang merupakan metode pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya. Dengan menggunakan sinar UV 256 sebagai deteksi pemisahan nipagin. Diperoleh hasil positif nipagin bila terdapat bercak berwarna ungu pada sampel yang sama dengan baku pembanding. Dan jarak rambat atau Rf yang diperoleh pada masing-masing sampel memiliki selisih antara 0,01-0,05%.

Selanjutnya apabila positif nipagin dapat dilakukan penetapan kadar menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan mengerok bercak pada fase diam yang digunakan kemudian dilarutkan dengan metanol dan dilakukan penetapan kadar pada panjang gelombang 225-300 nm. Pengukuran serapan sampel dilakukan dua kali yaitu serapan sampel pertama kemudian pengulangan sampel.

Rumus perhitungan penetapan kadar nipagin

$$C_s = \frac{C \times F_p \times V}{W}$$

Keterangan:

C_s : konsentrasi sampel

C : konsentrasi

F_p : faktor pengenceran

V : volume

W : Berat sampel

I. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan dengan cara mengamati hasil identifikasi dan penetapan kadar methyl paraben pada sediaan sabun mandi cair yang dibeli dari toko online yang belum memiliki izin edar. Dengan menggunakan metode kualitatif dengan kromatografi lapis tipis dan dilanjutkan secara kualitatif penetapan kadar menggunakan spektrofotometri UV-Vis, data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik lalu dideskripsikan.