

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

jenis penelitian ini adalah eksperimental yang dilakukan di laboratorium dari bulan Maret sampai Juni 2023 di Laboratorium Instrumen Prodi Farmasi di Universitas Ngudi Waluyo Semarang. Analisis dilakukan dengan menggunakan Instrumen Spektrometer UV-Vis untuk mengetahui berapa besar kandungan timbal yang terdapat pada sampel lipstik stik dan liquid yang beredar di Pasar Banjarharjo Kabupaten Brebes.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Instrumen Prodi Farmasi di Universitas Ngudi Waluyo Semarang.

C. Subjek Penelitian

Penelitian ini menggunakan populasi sampel Lipstik yang beredar di Pasar Banjarharjo Kabupaten Brebes. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode insidental sampling. Teknik insidental sampling yaitu penentuan sampel berdasarkan kebetulan. Di pasar bagian selatan diambil 3 sampel dari pedagang kosmetik yang ditemui, di bagian barat pasar 3 sampel sehingga ada 6 dari 2 jenis lipstik yang digunakan sebagai sampel.

Adapun kriteria dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi adalah karakteristik umum subjek penelitian pada populasi. Adapun kriteria inklusi dalam penelitian ini yaitu:

- a. Lipstik yang berbentuk stik dan liquid yang tidak terdaftar nomor

registrasi BPOM yang beredar di Pasar Banjarharjo Kabupaten Brebes.

2. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah kriteria anggota populasi yang tidak dapat atau tidak terpenuhi sebagai sampel. Adapun kriteria eksklusi dalam penelitian ini yaitu:

- b. Lipstik yang berbentuk stik dan liquid yang di iklan kan di tv atau termmodern dan diproduksi dipabrik besar.

D. Definisi Oprasional

Definisi operasional adalah definisi yang membuat variabel-variabel yang akan atau yang sedang diteliti menjadi memiliki sifat operasional Pada kaitannya dengan proses pengukuran variabel-variabel tersebut.

1. Lipstik merupakan produk kosmetik yang diaplikasikan pada bibir untuk memberikan warna, pelembab, dan perlindungan.
2. Timbal (Pb) adalah unsur kimia berbentuk logam, dengan kandungan racun yang cukup tinggi. Racun ini dapat memengaruhi fungsi organ dan sistem tubuh manusia.
3. Spektrofotometer UV-Vis merupakan sebuah alat atau instrumen di laboratorium penelitian yang digunakan untuk mengetahui kadar timbal(Pb) dalam Lipstik stik dan liquid pada panjang gelombang tertentu.
4. Validasi metode adalah proses untuk memastikan bahwa prosedur yang atau alat yang digunakan memenuhi standar untuk penetapan kadar kadar timbal (Pb) pada jamu lipstik stik dan liquid.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang menjadi sebab perubahan atau yang mempengaruhi atau menjadi sebab timbulnya suatu variabel terikat (dependen). Variabel bebas dalam penelitian yaitu 6 sampel dari 2 jenis lipstik stik dan liquid yang di jual di Pasar Banjarharjo Kabupaten Brebes.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas atau menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kadar timbal dalam lipstik jenis stik dan liquid ,serta validasi metode.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali merupakan variabel yang mempengaruhi hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat. Variabel terkendali pada penlitian ini adalah *operating time*, panjang gelombang maksimum.

F. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan Penelitian

a. Bahan Uji

Bahan-bahan yang digunakan adalah 3 sampel lipstik padat dan 3 sampel lipstik cair dengan harga tidak masuk akal atau sangat murah yang diperoleh dari beberapa toko kosmetik yang beredar di Pasar Banjarharjo Kabupaten Brebes.

- 1) Lipstik stik
- 2) Lipstik liquid

b. Bahan Kimia

- 1) Aquqdest
- 2) HNO₃
- 3) HCL

- 4) KCN
- 5) K₂CrO₄
- 6) Pb (Timbal)
- 7) Alizarin Sulfonat
- 8) Buffer Asetat

2. Alat Penelitian

- a. Spektrofotometer Uv-Vis
- b. *Beaker Glass*
- c. *Hotplate*
- d. Labu ukur 10,50,100 ml
- e. Kertas Whatman no.42
- f. Vial 10 ml
- g. Tabung Reaksi
- h. Pipet Volume
- i. Timbangan Analitik

G. Prosedur Penelitian

1. Preparasi Sampel

Preparasi sampel dengan menggunakan metode destruksi basah. Sampel ditimbang $\pm 2,00$ gram. Lalu dimasukkan ke dalam baker glass 250 ml untuk dilakukan destruksi basah dengan menggunakan campuran asam HNO₃65% dan HCl 37% (1 : 3) atau larutan akuaregia. Destruksi dilakukan dengan HNO₃ 65 % sebanyak 5 ml dan HCl 37% 15 ml, dimasukkan ke dalam beaker glass dan sambil dipanaskan di hotplate sampai mendidih. Proses ini dilakukan sampai hilangnya asap berwarna coklat. Proses destruksi dihentikan sampai larutan jernih, yang menandakan bahwa proses destruksi telah sempurna. Setelah proses destruksi selesai, larutan didiamkan sampai dingin, lalu larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. Tambahkan aquabides sampai tanda batas labu

ukur. Kemudian larutan dihomogenkan. Lalu disaring dengan menggunakan kertas saring whattman no 42 dan dimasukkan ke dalam *vial* (Wardani et al., 2020).

2. Uji kualitatif Timbal dalam Sampel Lipstik

- a. Sampel hasil destruksi di masukan ke dalam tabung reaksi di tambahkan KCN sebanyak 0,5 mL. Jika terbentuk endapan putih, maka positif mengandung logam Pb.
- b. Sampel hasil destruksi di masukan ke dalam tabung reaksi ditambahkan K_2CrO_4 sebanyak 0,5 mL. Jika terbentuk endapan kuning, maka positif mengandung logam Pb (Wardani et al., 2020).

3. Pembuatan Pereaksi Alizarin Sulfonat

Sebanyak 100 mg alizarin sulfonate dilarutkan dengan aqua DM dalam beaker glass, kemudian larutan dipindahkan kedalam labu ukur 100 mL, tambahkan aqua DM sampai tanda batas 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (Wardani et al., 2020).

4. Pembuatan Larutan Standar Timbal (II) nitrat

Sebanyak 100 mg timbal dilarutkan dengan aqua DM dalam beaker glass, kemudian larutan dipindahkan kedalam labu ukur 100 mL, tambahkan aqua DM sampai tanda batas 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm (Wardani et al., 2020).

5. Pembuatan buffer asetat Ph 3,5 dan 6

a. Pembuatan buffer asetat pH 3

Larutan buffer asetat pH 3 dibuat dengan melarutkan 0,66 g asam asetat (CH_3COOH) dan 0,738 g natrium asetat (CH_3COONa) ke dalam 160 mL akuades steril. Kemudian pH larutan diatur dengan menambahkan HCl

atau NaOH dan akuades ditambahkan hingga volume 200 mL.

b. Pembuatan buffer asetat pH 5

Larutan buffer asetat pH 5 dibuat dengan melarutkan 1,732 g natrium asetat (CH_3COONa) 0.07 M dan 0,533 g asam asetat (CH_3COOH) 0,03 M ke dalam 160 mL akuades steril. Kemudian pH diatur dengan menambahkan 10M HCl hingga mendapatkan pH 5 dan akuades ditambahkan hingga volume larutan menjadi 300 mL.

c. Pembuatan buffer asetat pH 6

Larutan buffer asetat pH 6 dibuat dengan melarutkan 2,726 g natrium asetat (CH_3COONa) 0.08 M dan 0,66 g asam asetat (CH_3COOH) 0,04 M ke dalam 160 mL akuades steril. Kemudian pH diatur dengan menambahkan 11 M HCl hingga mendapatkan pH 6 dan akuades ditambahkan hingga volume larutan menjadi 300 mL (Base & Hcl, 2018).

6. Penentuan panjang gelombang maksimum

Disiapkan 3 labu ukur 10 mL, pada masing-masing labu ukur dimasukkan larutan standar timbal sebanyak 500 μL , ditambahkan buffer asetat dengan pH stabilitasnya sebanyak 1 mL, ditambah alizarin sulfonat 1 mL dan ditentukan panjang gelombang maksimum dari masing-masing pH (Wardani et al., 2020).

7. Penentuan Stabilitas Kompleks Pb-Alizarin sulfonate

Disiapkan 3 labu ukur 10 mL, pada masing-masing labu ukur dimasukkan larutan standar timbal sebanyak 500 μL , masing masing ditambahkan buffer asetat pH 3, 5, dan 6 sebanyak 1 mL, ditambah alizarin sulfonat 1 mL sehingga menghasilkan kompleks alizarin berwarna orange. Kemudian

dibaca absorbansinya pada masing-masing panjang gelombang maksimum pada menit ke 0 – 30 dan ditentukan pH yang stabil beserta *operating time* dari masing-masing pH. *Operating time* merupakan waktu yang diperlukan untuk mencapai kestabilan kompleks antara timbal dan alizarin sulfonate (Wardani et al., 2020).

8. Penetapan Kurva Kalibrasi

Larutan standar $Pb(NO_3)_2$ dengan konsentrasi 2,4,6,8,10 dan 12 ml ditambahkan 1 ml buffer asetat hasil optimasi dan 1 ml alizarin sulfonat, kemudian di baca absorbansi pada waktu sesuai *operating time* yang didapatkan dan pada Panjang gelombang maksimum yang didapatkan. (Wardani et al., 2020).

9. Uji Kuantitatif Timbal didalam sampel Lipstik

Larutan sampel hasil destruksi dipipet sebanyak 2 mL dan ditambahkan 1ml buffer asetat dan 1ml alizarin sulfonat dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan aquadest hingga tanda batas, kocok homogen. Larutan sampel kemudian dianalisis menggunakan Spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 519 nm. Hasil kadar yang telah diperoleh dilanjutkan dengan perhitungan kadar untuk mengetahui kadar timbal pada sampel menggunakan persamaan faktor pengenceran (Manaheda et al., 2011).

10. Validasi Metode

a. Linieritas

Masing-masing konsentrasi sampel simulasi yang telah ditambah dengan larutan standar diambil sebanyak 500 μ L, kemudian ditambahkan 1 mL buffer asetat dan 1 mL alizarin sulfonat. Larutan tersebut didiamkan selama *operating time*-nya dan dibaca

absorbansinya pada panjang gelombang maksimum sehingga diperoleh persamaan $y = bx + a$ dan koefisien korelasi (r) (Wardani et al., 2020).

b. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Penentuan batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK) dilakukan dengan perhitungan statistik dari data linieritas. Rumus perhitungan sebagai berikut:

$$BD = \frac{3 \times S_y / x}{slope}$$
$$BK = \frac{10 \times S_y / x}{slope}$$

Keterangan:

S_y = Simpangan Baku Residual

X = Konsentrasi

c. Akurasi

Masing-masing konsentrasi sampel simulasi yang telah ditambah dengan larutan standar $Pb(NO_3)_2$ diambil sebanyak 500 μ L, kemudian ditambahkan buffer asetat pH 4 sebanyak 1 mL dan alizarin sulfonat 1 mL, diamkan selama waktu operating time-nya. Masing-masing konsentrasi dibuat pengulangan sebanyak tiga kali. Absorbansi masing-masing konsentrasi dibaca pada panjang gelombang 493 nm dan dihitung persen perolehan kembali (% recovery) (Wardani et al., 2020).

d. Presisi

Masing-masing konsentrasi sampel simulasi yang telah ditambah dengan larutan standar, diambil sebanyak 500 μ L, kemudian ditambahkan buffer asetat

pH 4 sebanyak 1 mL dan alizarin sulfonat 1 mL, diamankan selama *operating time* nya. Masing-masing konsentrasi dilakukan tiga kali pengulangan dan diperiksa masing-masing 6 kali. Keterulangan metode analisis dinyatakan sebagai Standar Deviasi (SD) dan Koefisien Variasi (KV) (Wardani et al., 2020).

e. Pengukuran Kadar Pb(II) pada Sampel Lipstik

Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 500 μ L, kemudian ditambahkan buffer asetat dengan pH 4 sebanyak 1 mL dan alizarin sulfonat 1 mL, diamankan selama *operating time* nya. Ukur absorbansi sampel dengan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimal. Kemudian dibuat kurva hubungan antara konsentrasi terhadap absorbansi. Dilakukan perhitungan terhadap kadar timbal pada lipstik nya (Wardani et al., 2020).

H. Analisa Data

a. Analisis Kualitatif

Analisis data dilakukan dengan beberapa tahapan. Pertama analisis data secara deskriptif yang meliputi uji Pemisahan dan pengujian ion di dalam larutan yang mengacu pada prosedur laboratorium merupakan analisis kualitatif. Identifikasi kualitatif adanya kandungan logam berat dalam kosmetik dapat dilakukan dengan menambahkan reagen tertentu pada sampel

kosmetik. Melalui penambahan ini sampel yang telah dipreparasi akan memberikan hasil berupa perubahan warna larutan atau reaksi yang menghasilkan endapan dengan warna tertentu (Arifiyana & Fernanda, 2018).

b. Analisis Kuantitatif

Pengujian secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan reaksi warna serta pengujian secara kuantitatif menggunakan persamaan regresi linear. Penyajian data dilakukan dengan menggunakan tabel, diagram dan kurva kalibrasi. Nilai di peroleh dari logam Timbal (Pb) di peroleh dari perhitungan statistika menggunakan metode kurva kalibrasi (Martines et al., 2019).

DAFTAR PUSTAKA

- Arifiyana, D., & Fernanda, M. a. H. F. (2018). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Cemaran Logam Berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) Pada Produk Kosmetik Pensil Alis Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). *Journal of Research and Technology*, 4(1), 55–62.
- Base, T., & Hcl, T. (2018). library.uns.ac.id digilib.uns.ac.id. *Aktivitas Enzim*, 50(kimia), 1–6.
<https://digilib.uns.ac.id/dokumen/download/88074/NDk3MjM0/Dekolorisasi-Pewarna-Reaktif-Remazol-oleh-Enzim-Lakase-Volvarella-volvacea-Lampiran.pdf>
- Manaheda, N. A., Surabaya, A. F., Arifiyana, D., Surabaya, A. F., Amalia, A. R., & Surabaya, A. F. (2011). *Analisis Logam Berat Timbal (Pb) Pada Kosmetik Lipstik Secara Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS)*. 1–6.
- Martines, S. A., Latief, M., & Rahman, H. (2019). Analisis Logam Timbal (Pb) pada Lipstik yang Beredar di Kecamatan Pasar Jambi. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 69.
<https://doi.org/10.20473/jfiki.v5i22018.69-75>
- Wardani, G. A., Abiya, S. L., & Setiawan, F. (2020). Analysis of the Lead on Lip Tint Cosmetics on the Market Using UV-Vis Spectrophotometry Method. *EduChemia (Jurnal Kimia Dan Pendidikan)*, 5(1), 87.
<https://doi.org/10.30870/educhemia.v5i1.7598>