

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penetapan kadar timbal yang terkandung dalam bedak tabur dan bedak padat yang dijual secara *online* dilakukan dengan metode eksperimental laboratorium secara deskriptif menggambarkan hasil penelitian berdasarkan data yang ditetapkan. Metode penelitian terdiri dari pemisahan analit (timbal) dari senyawa-senyawa organik dalam sampel bedak dengan cara destruksi basah, analisis kualitatif, dan analisis kuantitatif.

B. Lokasi Penelitian

1. Uji organoleptik, dan preparasi sampel bedak padat dan bedak tabur dilakukan di Laboratorium Farmasetika Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
2. Uji kualitatif sampel bedak padat dan bedak tabur yang telah di preparasi dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
3. Uji kuantitatif bedak padat dan bedak tabur yang telah dipreparasi dilakukan di Laboratorium Instrumen Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

C. Subyek Penelitian

1. Populasi

Penelitian ini menggunakan populasi sampel bedak tabur dan bedak padat yang dibeli dari toko *online* Lazada.

2. Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *non probability sampling* berupa *accidental sampling*, yaitu suatu metode penentuan sampel dengan mengambil sampel yang kebetulan ada atau tersedia di suatu tempat sesuai dengan konteks penelitian (Notoatmodjo, 2010). Jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 6 sampel, 3 sampel bedak padat dan 3 sampel bedak tabur dengan menggunakan teknik *accidental sampling*, sampel ini diambil sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang sudah ditetapkan oleh peneliti. Syarat kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan adalah sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

Bedak padat dan bedak tabur yang dijual *online* di *platform* Lazada dengan kriteria berwarna coklat, merek belum memiliki nomor registrasi dan belum terdaftar di BPOM RI. Sampel yang diambil dengan kriteria berwarna coklat dan belum teregistrasi BPOM karena marak terjual bedak padat dan bedak tabur mengandung timbal yang dijual *online* tanpa registrasi. Berwarna coklat dikarenakan timbal banyak digunakan sebagai penambah pigmen warna pada bedak (Arifiyana & Ermayulis, 2019).

b. Kriteria Eksklusi

Bedak padat dan bedak tabur yang dijual secara *online* dengan registrasi BPOM RI tanpa warna dan teregistrasi BPOM.

D. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini yaitu:

1. Bedak padat dan bedak tabur yang menjadi sampel merupakan kosmetik dekoratif atau *make-up* yang banyak digunakan oleh masyarakat dan hampir setiap hari penggunaannya, sampel didapat secara *online* di Toko *online* Lazada.
2. Toko *online* atau *online shop* adalah sebuah wadah atau lokasi jual beli produk, dimana penjual dan konsumen bertemu di suatu *platform digital* Lazada.
3. Timbal merupakan logam berat yang sering digunakan sebagai pigmen/zat warna dalam industri kosmetik. Pada kosmetik sesuai dengan peraturan BPOM RI Nomor 17 Tahun 2014 persyaratan cemaran timbal/timah hitam (Pb) tidak lebih dari 20 mg/kg atau 20 mg/L (20 bpj)
4. Analisis kualitatif dilakukan dengan reaksi pengendapan dengan menambahkan larutan KCN dan K_2CrO_4 .
5. Analisis kuantitatif dilakukan dengan metode Spektrofotometri *Visible* dengan menggunakan panjang gelombang maksimum (λ_{max}) di daerah sinar tampak (*visible*) yaitu dengan rentang panjang gelombang kompleks Pb-Alizarin Sulfonat yang dapat dibaca oleh spektrofotometer UV-Vis dari 400-600 nm (Selpiana *et al.*, 2016).

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan adalah bedak tabur dan bedak padat dengan masing-masing merek A, B, C yang dijual secara *online*.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan adalah kadar timbal dan validasi metode analisis yaitu dengan parameter linearitas, LOD & LOQ, presisi, dan akurasi.

3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol yang digunakan adalah banyaknya sampel, bahan dengan kualitas dan *grade* yang bagus, pH buffer, panjang gelombang Spektrofotometer UV-Vis dan *Operating Time*, waktu destruksi basah (15-20 menit).

F. Pengumpulan Data

Data yang digunakan diperoleh dengan menganalisis timbal dalam bedak tabur dan bedak padat yang dilakukan di laboratorium dengan analisis kualitatif logam timbal dan kuantitatif. Prinsip yang digunakan adalah analisis kualitatif kadar timbal dengan cara reaksi pengendapan menggunakan KCN dan K_2CrO_4 serta larutan timbal asetat dilihat endapan yang terbentuk dan analisis kuantitatif berdasar panjang gelombang maksimum dan pengukuran kurva kalibrasi dengan rumus $y = bx + a$.

G. Pengolahan Data

1. Alat dan Bahan

a. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, neraca analitik (OHAUS), *beaker glass*, *hot plate* (MASPION), labu ukur (10 ml, 50ml, 100), kertas saring *whattman* no 42, vial, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, batang pengaduk, gelas ukur (10 ml, 25 ml), spatula, Spektrofotometer UV-Vis (SHIMADZU UV-1900i), kuvet, pH meter (OHAUS, ST3100), pipet ukur (1 ml dan 2 ml), corong, kaca arloji, cawan porselen (Wardani et al., 2020).

b. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah 3 jenis sampel bedak padat dan 3 jenis sampel bedak tabur, asam klorida (HCl) 37% (*Analytical Grade*), asam nitrat (HNO₃) 65% (*Analytical Grade*), kalium kromat (K₂CrO₄), kalium sianida (KCN), aquadest, aquabidest, Aqua DM (Aqua Demineralisata), Alizarin Sulfonat (*Analysis and Indicator*), timbal (II) nitrat (Pb(NO₃)₂) (*Analytical Grade*), larutan buffer pH asetat terbuat dari natrium asetat (CH₃COONa) (*Analytical Reagent, AR*), dan asam asetat glasial (CH₃COOH) (*Analytical Reagent, AR*).

2. Prosedur Penelitian

a. Uji Organoleptik Sampel

Sampel bedak tabur dan bedak padat dilakukan uji organoleptik, uji organoleptik meliputi pengamatan warna, bau dan tekstur (Arianingsih *et al.*, 2021).

b. Preparasi Sampel

Preparasi sampel ini dilakukan dengan metode destruksi basah. Sampel ditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 ml untuk dilakukan destruksi basah dengan campuran asam HNO₃ 65% dan HCl 37% (1:3) atau larutan aqua regia. Destruksi basah dilakukan dengan penambahan HNO₃ 65% sebanyak 5 ml dan HCl 37% 15 ml, kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dipanaskan dengan *hotplate* sampai mendidih. Proses destruksi dilakukan sampai hilangnya asap berwarna coklat. Destruksi basah dihentikan hingga larutan jernih dan aquaregia menguap, yang menandakan bahwa proses destruksi sempurna. Larutan didiamkan sampai dingin, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50ml, ditambahkan aquabides sampai batas labu ukur. Larutan dihomogenkan, disaring dengan kertas saring *whattman* no 42 dan dimasukkan ke dalam vial 50ml (Wardani *et al.*, 2020).

c. Analisis Kualitatif Timbal (Fatmawati *et al.*, 2021)

- 1) Sebanyak 1 ml sampel hasil destruksi basah dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan KCN sebanyak 0,5ml jika terbentuk endapan putih maka larutan positif mengandung logam timbal (Pb).
- 2) Sebanyak 1 ml sampel hasil destruksi basah dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan K_2CrO_4 sebanyak 0,5ml. jika terbentuk endapan kuning, sampel positif mengandung logam timbal (Pb).

d. Analisis Kuantitatif (Fatmawati *et al.*, 2021)

1) Pembuatan Pereaksi Alizarin Sulfonat

Sebanyak 100mg Alizarin sulfonat dilarutkan dengan aqua DM dalam *beaker glass*, kemudian larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100ml, ditambahkan Aqua DM sampai tanda batas 100ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

2) Pembuatan Larutan Standar Timbal (II) Nitrat

Sebanyak 159 mg timbal nitrat yang telah disetarakan dengan bobot molekul Pb (II) dilarutkan dengan Aqua DM dengan *beaker glass* kemudian larutan dipindahkan kedalam labu ukur 100ml, tambahkan aqua DM sampai batas 100ml sehingga diperoleh konsentrasi 1000ppm.

3) Pembuatan Larutan Buffer Asetat

Larutan asam asetat dibuat dengan disiapkan labu ukur 1 L kemudian dipipet larutan asam asetat glasial sebanyak 12 ml ditepatkan dengan aquadest hingga tanda tera, kemudian

homogenkan. Selanjutnya dibuat larutan natrium asetat dengan disiapkan labu ukur 1 L kemudian ditimbang natrium asetat sebanyak 27 gram. Larutkan dengan aquadest dan tepatkan dengan aquadest pada labu ukur hingga batas tera, homogenkan larutan. Pembuatan buffer asetat dengan penambahan larutan asam asetat dan natrium asetat dengan masing masing pH sebagai berikut (Kuswendi, 2017):

a) Pembuatan buffer pH asetat 3

Larutan buffer pH asetat 3 dibuat dengan menambahkan 60 ml larutan asam asetat dan 2 ml larutan natrium asetat, larutan dihomogenkan kemudian pH diukur dengan pH meter.

b) Pembuatan buffer pH asetat 4

Larutan buffer pH asetat 4 dibuat dengan menambahkan 40 ml larutan asam asetat dan 10 ml larutan natrium asetat, larutan dihomogenkan kemudian pH diukur dengan pH meter.

c) Pembuatan buffer pH asetat 5

Larutan buffer pH asetat 4 dibuat dengan menambahkan 15 ml larutan asam asetat dan 35 ml larutan natrium asetat, larutan dihomogenkan kemudian pH diukur dengan pH meter.

4) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dibuat dengan menyiapkan labu ukur 10ml, labu ukur dimasukkan larutan standar timbal sebanyak 0,5 ml. Buffer asetat pH stabilitas pH 4 ditambahkan sebanyak 2 ml, ditambahkan alizarin sulfonat 1 ml, kemudian ad kan

dengan hingga batas tera labu ukur 10 ml dan ditentukan panjang gelombang maksimum.

5) Penentuan Stabilitas Kompleks Pb-Alizarin Sulfonat

Penentuan *operating time* dibuat dengan menyiapkan labu ukur 10ml, pada labu ukur dimasukkan larutan standar timbal sebanyak 500 μ l, ditambahkan buffer asetat pH 4 sebanyak 2 ml, ditambahkan alizarin sulfonat 1 ml ad kan dengan aqua DM hingga batas tera labu ukur 10 ml sehingga menghasilkan kompleks alizarin berwarna *orange*. Selanjutnya dibaca absorbansi pada panjang gelombang maksimum 515,50 nm pada menit ke 0-30 dan ditentukan *operating time*. *Operating time* merupakan waktu yang diperlukan untuk mencapai kestabilan kompleks antara timbal dan alizarin sulfonate, *Operating Time* didapat pada menit ke 21-29.

6) Penetapan Kurva Kalibrasi

Penetapan kurva kalibrasi dibuat dengan disiapkan 6 labu ukur 10 ml, ditambahkan larutan baku seri Pb(NO₃)₂ konsentrasi 30; 40; 50; 60; 70; dan 80 ppm dengan dipipet sebanyak 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, 0,6 ml, 0,7 ml, dan 0,8 ml larutan baku 1000 ppm ke dalam labu ukur, kemudian ditambahkan 2ml buffer asetat pH 4 dan 1 ml alizarin sulfonate kemudian ad kan dengan aqua DM hingga batas tera 10 ml pada labu ukur, didiamkan selama *operating time*-nya 21-29 menit kemudian diukur pada panjang gelombang kompleks Pb-Alizarin sulfonate pH 4 yaitu 515,50 nm.

7) Pembacaan absorbansi Pb(II) di dalam sampel

Pengukuran kadar Pb(II) pada sampel bedak tabur dan bedak padat, sampel yang digunakan merupakan bedak tabur dan bedak padat yang belum teregistrasi BPOM yang dijual di Toko *online* Lazada. Metode yang digunakan adalah metode yang telah divalidasi. Masing-masing sampel bedak padat dan bedak tabur positif diambil sebanyak 0,5 mL, kemudian ditambahkan dengan buffer asetat pH 4 sebanyak 2mL dan Alizarin Sulfonat 1 mL kemudian ad kan dengan aqua DM hingga batas tera 10ml pada labu ukur, diamkan selama *Operating Time* 21-29 menit. Absorban sampel diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 515,50 nm. Dilakukan sebanyak 3 replikasi Kemudian absorbansi dihitung dengan kurva kalibrasi $y = 0,0076x + 0,0314$. Dilakukan perhitungan terhadap kadar timbal pada bedak tabur dan bedak padat.

e. Validasi Metode

1) Linearitas

Linearitas dilakukan dengan disiapkan 6 labu ukur 10 ml, ditambahkan larutan baku seri $Pb(NO_3)_2$ konsentrasi 30; 40; 50; 60; 70; dan 80 ppm dengan dipipet sebanyak 0,3 ml, 0,4 ml, 0,5 ml, 0,6 ml, 0,7 ml, dan 0,8 ml larutan baku 1000 ppm ke dalam labu ukur, kemudian ditambahkan 2ml buffer asetat pH 4 dan 1 ml alizarin sulfonate kemudian ad kan dengan aqua DM hingga batas tera 10 ml pada labu ukur,. Larutan tersebut didiamkan selama *operating time-*

nya (21-29 menit) dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 515,50 nm sehingga diperoleh persamaan $y = 0.0076x + 0,0314$ dan koefisien korelasi ($r = 0.9988$).

2) Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ)

Penentuan batas deteksi (LOD) dan Batas Kuantitasi (LOQ) dilakukan dengan perhitungan statistik dari linearitas. Kemudian dihitung dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$LOD = \frac{3SD}{b} \text{ dan } LOQ = \frac{10SD}{b}$$

Keterangan:

SD : Standar deviasi

b : Slope

3) Akurasi

Penetapan akurasi dibuat dengan menyiapkan labu ukur 10 ml kemudian tambahkan 0,5ml sampel positif ditambahkan buffer asetat pH 4 sebanyak 2 ml dan 1 ml alizarin sulfonate ad kan dengan aqua DM hingga batas tera, akurasi dibuat sebanyak 3 kali replikasi. Larutan didiamkan selama *operating time* 21-29 menit dan diukur pada panjang gelombang maksimum buffer pH 4 yaitu 515,50 nm. Untuk perhitungan akurasi dibandingkan dengan disiapkan labu ukur 10 ml ditambah sampel bedak 0,5 ml ditambahkan dengan larutan baku $Pb(NO_3)_2$ pada konsentrasi 40; 50; dan 60 ppm kemudian ditambahkan buffer asetat pH 4 sebanyak 2 ml dan 1 ml alizarin sulfonat ad kan dengan aqua DM hingga batas tera. Masing masing

konsentrasi dibuat pengulangan sebanyak tiga kali. Absorbansi masing-masing konsentrasi dibaca pada panjang gelombang maksimum 515,50 nm dan dihitung persen perolehan kembali (% *recovery*).

4) Presisi

Penentuan parameter presisi dilakukan dengan disiapkan labu ukur 10 ditambahkan larutan baku timbal 0,5 ml (50 ppm), kemudian ditambahkan buffer asetat pH stabil sebanyak 2 mL dan alizarin sulfonat 1 mL ad kan dengan aqua DM hingga batas tera, presisi dibuat sebanyak 6 kali replikasi diamkan selama *operating time* 21-29 menit dan pada panjang gelombang 515,50 nm masing-masing 6 kali. Keterulangan metode analisis dinyatakan sebagai Standar Deviasi (SD) dan Koefisien Variasi (KV).

H. Analisis Data

1. Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif dilakukan secara deskriptif dengan identifikasi timbal dalam bedak tabur dan bedak padat dengan melihat endapat yang terdapat pada penambahan sampel hasil destruksi basah dengan KCN dan K_2CrO_4 . Sampel bedak tabur dan bedak padat dinyatakan mengandung logam berat timbal jika terdapat endapat putih dan kuning pada larutan sampel.

2. Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif dilakukan berdasarkan kurva baku dengan pencarian persamaan regresi linear. Regresi linear yang didapatkan dengan persamaan $y = 0,0076x + 0,0314$ dan koefisien korelasi ($R^2 = 0,9978$). Nilai y merupakan absorbansi, b adalah intersep atau *intercept*, x adalah konsentrasi analit, dan a adalah kemiringan atau *slope*. Kemudian data absorbansi yang diperoleh dimasukkan dalam rumus sehingga didapat nilai x yaitu kadar timbal dalam sampel bedak tabur dan bedak padat.