

## BAB II

### METODOLOGI PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi asam retinoat dalam sampel krim pemutih wajah. Sampel yang digunakan adalah sampel krim pemutih wajah yang beredar di pasaran kota Bandung. Pengambilan sampel secara acak berdasarkan ketidaklengkapannya informasi atau keterangan yang seharusnya tercantumkan dalam etiket wadah dan atau pembungkus, seperti kode produksi (nomor *batch*), nomor izin edar, bulan dan tahun kadaluarsa, dan lain-lain.

Analisa asam retinoat yang dilakukan pada penelitian ini adalah menggunakan kromatografi lapis tipis yang kemudian dilakukan pengujian lebih lanjut menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi untuk memverifikasi sekaligus mengetahui kadar asam retinoat yang terdapat dalam sampel. Krim pemutih yang akan dianalisis kandungan asam retinoat dilarutkan dengan metanol dengan bantuan vortex, kemudian didinginkan dalam penangas es, setelah itu dilakukan penyaringan dengan kertas penyaring *Whatman* no.41 untuk pengujian dengan KLT dan ekstraksi lanjutan dengan SPE (*Solid Phase Extraction*) dan penyaringan dengan membran PTFE (*Politetraflouroetilen*) untuk pengujian dengan KCKT.

Analisis dengan KLT digunakan larutan pengembang campuran n-heksan dan aseton (6:4). Kemudian bercak gelap diamati di bawah penyinaran lampu UV 254 nm (BPOM, 2011). Analisis selanjutnya digunakan kromatografi cair kinerja tinggi. Langkah awal adalah menyiapkan larutan baku yang dilakukan

pengenceran 1000 kali dengan metanol. Kadar sampel dihitung dengan menggunakan kurva baku standar asam retinoat. Kondisi KCKT yang perlu diperhatikan adalah fase gerak berupa metanol : akuabidestilata : asam asetat glasial (85:15:0,5), fase diam atau kolom n-oktadesil silan C-18, laju alir 1,4 mL/menit, detektor yang digunakan adalah UV dengan panjang gelombang 353 nm dengan volume injeksi 20  $\mu$ L, dan dilakukan pada suhu kamar (20°C).

Kemudian dilakukan verifikasi metode analisis untuk menjamin metode analisis yang digunakan memenuhi persyaratan yang sesuai dengan tujuan penggunaannya. Metode tersebut diuji berdasarkan parameter-parameter utama, yaitu akurasi, presisi, linieritas, batas deteksi, dan batas kuantitasi.