

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasi deskriptif untuk mengetahui keberadaan kandungan rhodamin B pada sampel lip cream yang beredar di Pasar Wage Kota Blitar secara kualitatif.

1.2 Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga Februari tahun 2021 mulai dari pengambilan sampel, pelaksanaan penelitian, hingga analisis data. Pengambilan sampel lip cream dilakukan di Pasar Wage Kota Blitar. Sementara preparasi sampel dan analisis rhodamin B menggunakan kromatografi lapis tipis dilakukan di Laboratorium Kimia-Farmasi Universitas Machung.

1.3 Alat dan Bahan

1.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik (Ohaus), beaker glass (IWAKI), labu ukur (IWAKI), batang pengaduk, corong pisah (IWAKI), statif dan klem, pipet tetes, pipet ukur (IWAKI), mikropipet (DRAGON LAB), tip mikropipet, chamber (CAMAG), pipa kapiler, syringe, membran filter PTFE, botol vial, dan lampu UV 366 nm.

1.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel lip cream, N,N-dimetilformamida (DMF), asam ortofosfat, n-heksan, methanol, n-butanol, etil asetat, ammonia 25%, lempeng KLT silica gel Gf 254.

1.4 Variabel Penelitian

1.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lip cream yang beredar di Pasar Wage Kota Blitar.

1.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kandungan zat pewarna rhodamin B pada sampel lip cream.

1.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Skala Data
1.	Kandungan zat pewarna rhodamin B pada sampel lip cream	Keberadaan zat pewarna sintesis yang memberikan warna merah yang dicurigai terdapat dalam sampel lip cream	Uji Kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	Nominal

1.6 Metode Penelitian (Perka BPOM Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011)

1.6.1 Pengambilan Sampel Lip Cream

Pengambilan sampel lip cream menggunakan metode purposive sampling dengan kriteria lip cream berwarna merah dan berharga murah dibawah Rp 35.000 yang dijual di Pasar Wage Kota Blitar. Sampel lip cream yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 4 sampel dan diberi kode yaitu A, B, C, dan D

1.6.2 Pembuatan Larutan Eluen Etil Asetat : Methanol : Ammonia 25% (20 : 55 : 25)

Larutan etil asetat dipipet sebanyak 20 ml kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan 55 ml larutan methanol dan 25 ml larutan ammonia 25% kedalam labu ukur lalu dikocok hingga homogen.

1.6.3 Pembuatan Larutan Campur N,N-Dimetilformamida (DMF) : Asam Ortofosfat (95:5)

Larutan N,N dimetilformamida (DMF) dipipet sebanyak 95 ml kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan 5 ml larutan asam ortofosfat kedalam labu ukur lalu dikocok hingga homogen.

1.6.4 Preparasi Larutan Uji

Sampel lip cream ditimbang 200 mg, dilarutkan dengan 2 ml pelarut campuran N,N-dimetilformamida (DMF) : asam ortofosfat (95:5). Dilakukan ekstraksi cair-cair sebanyak 2 kali, setiap kali dengan 5 ml n-heksan. Dikumpulkan ekstrak n-heksan. Jika ekstrak berwarna, diekstraksi kembali dengan 2 ml pelarut campuran DMF : asam ortofosfat (95:5) dan dibuang lapisan n-heksan. Disaring lapisan pelarut campuran dengan membrane filter PTFE. Digunakan filtrate sebagai larutan uji.

1.6.5 Preparasi Larutan Baku Rhodamin B

Sejumlah 2 mg Rhodamin B dilarutkan dengan 10 ml metanol, kemudian dikocok hingga homogen.

1.6.6 Analisis Rhodamin B

Dijenuhkan chamber dengan larutan fasa gerak etil asetat : methanol : ammonia 25% (20 : 55 : 25). Plat KLT diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Selanjutnya, ditotolkan larutan uji dan larutan baku pada plat KLT secara terpisah masing-masing 1µL hingga 5µL pada batas penotolan. Plat yang telah mengandung cuplikan dimasukkan kedalam chamber yang telah dijenuhkan. Ditunggu hingga elusi mencapai batas atas lalu diangkat plat dan dikeringkan pada suhu ruang. Dilakukan identifikasi dengan menghitung nilai Rf dari masing-masing bercak kemudian dibandingkan nilai Rf, warna bercak pada pengamatan secara visual, dan warna bercak pada pengamatan lampu UV yang diperoleh dari larutan uji dan larutan baku.

1.7 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

1.7.1 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa warna bercak secara visual, warna bercak dibawah sinar UV 366 nm, dan nilai Rf dari masing-masing sampel lip cream.

1.7.2 Penyajian Data

Data hasil penelitian yang telah diperoleh disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut,

Tabel 3.2 Penyajian Data Hasil Analisis Rhodamin B

Kode Sampel	Replikasi	Visual	UV 366	Nilai Rf	Hasil
Sampel A	Standart				
	A1				
	A2				
	A3				
Sampel B	Standart				
	B1				
	B2				
	B3				
Sampel C	Standart				
	C1				
	C2				
	C3				
Sampel D	Standart				
	D1				
	D2				
	D3				

1.7.3 Analisis Data

Data berupa warna bercak secara visual, warna bercak dibawah sinar UV 366 nm, dan nilai Rf dari masing-masing sampel dianalisis dengan cara membandingkannya dengan standart Rhodamin B. Sampel dapat dinyatakan positif mengandung Rhodamin B apabila memiliki warna bercak yang sama dan nilai Rf yang saling mendekati dengan selisih $\leq 0,2$. Perhitungan nilai Rf dapat menggunakan rumus sebagai berikut.

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat terlarut (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (cm)}}$$