

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah non experimental dengan desain komparatif. Pada penelitian ini peneliti membandingkan efektifitas metode KLT, Pereaksi eter dan Test KIT untuk analisis Rhodamin B pada lipint merk X.

#### **3.2. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan pada Maret-April 2021 di Laboratorium Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

#### **3.3. Alat dan Bahan**

##### **3.3.1. Alat yang digunakan**

Beaker Glass, Bejana KLT, Timbangan Analitik, Labu Ukur, Gelas Arloji, Pipet Tetes, Pipet Ukur, Spatula, Batang Pengaduk, Kertas Saring, Plat TLC Silica Gel 60 F254, Corong Pisah, Tabung Reaksi, Pipa Kapiler, gelas ukur, Bunsen dan kakik tiga, Oven

##### **3.3.2. Bahan yang digunakan**

Aquades, amoniak 25% merck, asam posfat Merck, etanol 96%, etil asetat Merck, dimetilformamida Merck, n-heksan Merck, Metanol Merck, Rhodamin B Merck, sampel lip tint, Eter, NaOH 10%, HCl 10%, Reagen (B1, B2).

#### **3.4. Variabel Penelitian**

##### **3.4.1. Variabel Independen (Bebas)**

Pada penelitian ini variabel independen adalah metode KLT, Pereaksi eter dan Test KIT pada Rhodamin B

### 3.4.2. Variabel Dependen (Terikat)

Pada penelitian ini variabel dependen adalah efektivitas metode KLT, Pereaksi eter dan Test KIT secara kualitatif.

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

Variable	Definisi operasional	Cara ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Efektivitas metode KLT, Pereaksi Eter, dan Tes KIT pada liptint	Menunjukkan ada atau tidaknya kandungan rhodamin B pada kosmetik liptint dengan metode KLT, Pereaksi Eter, dan Tes KIT	Uji kualitatif rhodamin B pada kosmetik liptint dengan menggunakan metode KLT, Pereaksi Eter, dan Tes KIT	-Pada Metode KLT Dilihat nilai Rf dan bercak nodanya.  -Pada Metode Pereaksi Eter apabila hasil positif mengandung rhodamin B maka larutan akan berwarna merah.  -Pada Metode Tes KIT apabila hasil positif mengandung Rhodamin B ditandai dengan terjadinya	Nominal

			berubahan warna menjadi ungu.	
--	--	--	-------------------------------------	--

### 3.6. Metode Penelitian

#### 3.6.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel liptint dilakukan pada penjual yang ada di pasar jabung. Sampel yang diambil adalah sampel liptint yang berwarna merah dan memiliki rentang harga Rp. 15.000 sampai dengan Rp. 40.000. Sehingga berdasarkan kriteria tersebut maka diperoleh 3 sampel liptint. Sampel yang telah diambil selanjutnya dibawa ke Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk dilakukan pengujian.

#### 3.6.2 Penyiapan Larutan Uji

Dibuat larutan uji dengan menimbang sampel liptint sebanyak 0,1 gr selanjutnya dilarutkan dalam 2 ml pelarut campur yang dibuat dari campuran (Dimetilformamida : Asam pospat), selanjutnya dilakukan ekstraksi lemak sebanyak 2 kali, setiap kali dengan 5 ml n-heksan. Selanjutnya mengumpulkan ekstrak n-heksan. Apabila hasil dari proses ekstraksi berwarna, maka dilakukan ekstraksi kembali dengan 2 ml pelarut campur dan dibuang lapisan n-heksannya.

#### 3.6.3 Penyiapan Larutan Baku

Dibuat larutan baku Rhodamin B dengan menimbang serbuk Rhodamin B sebanyak 0,1 gr selanjutnya dilarutkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 100 ml didalam labu ukur kemudian dikocok hingga larut.

#### 3.6.4 Penyiapan Larutan Pelarut Campur

Dibuat larutan pelarut campur yang dibuat menggunakan 2 jenis larutan yaitu larutan Dimetilformamida : asam posfat dengan perbandingan (95 : 5) v/v yang dibuat sebanyak 10 ml dengan memipet larutan dimetilformamida sebanyak 9,5 ml dan memipet larutan asam posfat sebanyak 0,5 ml kedalam beaker glass.

### 3.6.5 Penyiapan Larutan Eluen

Dibuat larutan eluen atau fasa gerak untuk KLT dari 3 jenis pelarut yang berbeda yaitu larutan etil asetat : metanol : {amonia 25% - air(3:7)} (15:3:3) yang dibuat sebanyak 30 ml dengan memipet larutan etil asetat sebanyak 21,5 ml, memipet larutan metanol sebanyak 4,3 ml dan memipet larutan amonia 25% : air sebanyak 4,3 ml selanjutnya dimasukkan kedalam bejana KLT untuk dijenuhkan.

### 3.6.6 Pemeriksaan Kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Lempeng KLT berukuran 20 X 20 cm dipotong menjadi 7x9 cm selanjutnya diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 2 jam. Sampel ditotolkan pada lempeng KLT dengan menggunakan pipa kapiler pada jarak 2 cm dari bagian bawah plat, jarak antara noda adalah 1,5 cm. Lempeng KLT yang telah mengandung cuplikan dimasukkan kedalam chamber yang terlebih dahulu dijenuhkan dengan fase gerak berupa etil asetat – metanol - {amonia 25% - air(3:7)} (21,5 : 4,5 : 4,5). Dibiarkan hingga lempeng terelusi sempurna, kemudian lempeng KLT diangkat dan dikeringkan. Diamati warna secara visual noda nampak berwarna merah muda dan dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm berfluoresensi kuning atau orange, hal ini menunjukkan adanya rhodamin B. selanjutnya dihitung nilai Rf nya, hasil dinyatakan positif jika bercak antara sampel dengan baku sama atau saling mendekati dengan selisih harga  $\leq 0,2$ .

### 3.6.7 Pemeriksaan Kualitatif dengan Metode Pereaksi Eter / Uji Pewarnaan (Prayoga, 2019)

#### 1) Persiapan Sampel

Ditimbang sampel liptint sebanyak 1 gram kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL, kemudian sampel tersebut di larutkan dengan 15 mL aquadest dan di aduk hingga larut. Selanjutnya dipisahkan antara larutan zat warna dengan filtrate dari sampel dengan cara larutan sampel yang ada di dalam beaker glass yang telah diaduk diambil sisa sampelnya kemudian filtratnya

dibuang dan didapatkan larutan zat warna yang akan digunakan untuk pengujian.

## 2) Cara Uji

### a) Reaksi khusus untuk Rhodamin B

Diambil larutan uji yang telah siap sebanyak 2-5 ml selanjutnya ditambahkan NaOH 10% tetes demi tetes sampai menjadi basa yang bisa dilihat dengan indikator ph universal, kemudian larutan uji dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut Eter sebanyak 15 ml. Selanjutnya larutan digojog dan dipisahkan yang kemudian diambil fase Eternya. Selanjutnya ditambahkan HCl 10% sebanyak 5 ml untuk dilihat perubahannya. Jika larutan uji mengandung Rhodamin B, maka terlihat pada lapisan bawah atau lapisan asam akan berwarna merah.

### b) Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Dibuat larutan kontrol positif dengan memipet Larutan Rhodamin B sebanyak 2-5 mL, selanjutnya ditambahkan NaOH 10% tetes demi tetes sampai menjadi basa yang akan dilihat menggunakan indikator ph universal, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut Eter. Selanjutnya larutan control digojog dan dipisahkan untuk diambil fase Eternya. Selanjutnya ditambahkan HCl 10% sebanyak 5 ml untuk dilihat perubahannya. Jika larutan positif mengandung Rhodamin B, maka akan terlihat pada lapisan bawah atau lapisan asam berwarna merah dan untuk kontrol negatifnya digunakan aquades.

## 3.6.8 Pemeriksaan Kualitatif Menggunakan Rapid Test Kit

Sampel liptint yang akan diuji ditimbang sebanyak 1 gram selanjutnya ditambahkan air mendidih sebanyak 5 mL didalam beaker glass. Selanjutnya diaduk hingga homogen agar Rhodamin B yang ada pada sampel dapat tertarik ke dalam fase air. Selanjutnya larutan uji didiamkan hingga menjadi dingin, setelah larutan sampel dingin selanjutnya ditetesi dengan satu tetes reagen B1 dan 3 tetes reagen B2 ke dalam botol uji atau tabung reaksi. Selanjutnya larutan di dalam tabung reaksi tersebut dikocok selama 1 menit agar larutan sampel dan

larutan test kit dapat tercampur rata kemudian didiamkan larutan campuran tersebut selama 10-20 menit. Dan dapat diketahui hasilnya positif apabila warna cairan uji berubah menjadi ungu, maka larutan sampel tersebut positif mengandung Rhodamin B.

Pembuatan larutan kontrol positif dengan menimbang masing-masing sampel liptint sebanyak 1 gram kemudian masing-masing sampel ditambahkan dengan larutan Rhodamin B masing masing sebanyak 1 ml selanjutnya ditambahkan air mendidih sebanyak 5 mL didalam beaker glass. Selanjutnya diaduk hingga homogen. Selanjutnya larutan uji didiamkan hingga menjadi dingin, setelah larutan sampel dingin selanjutnya ditetesi dengan satu tetes reagen B1 dan 3 tetes reagen B2 ke dalam botol uji atau tabung reaksi. Selanjutnya larutan di dalam tabung reaksi tersebut dikocok selama 1 menit agar larutan sampel dan larutan test kit dapat tercampur rata kemudian didiamkan larutan campuran tersebut selama 10-20 menit. Dan dapat diketahui hasilnya positif apabila warna cairan uji berubah menjadi merah gelap, maka larutan sampel tersebut positif mengandung Rhodamin B.

### **3.7. Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data**

#### **3.7.1 Efektivitas metode KLT analisis rhodamin b pada liptint**

Efektivitas metode KLT dilakukan secara kualitatif dan nanti hasil larutan uji dan larutan pembanding yang diperoleh dibaca pada lampu UV dan dilihat nilai Rf nya.

#### **3.7.2 Efektivitas metode pereaksi eter analisis rhodamin b pada liptint**

Data uji reaksi eter yang dibuat diuji secara kualitatif kemudian disajikan dalam bentuk tabel. Hasil positif ditandai maka terlihat pada lapisan bawah atau lapisan asam berwarna merah.

#### **3.7.3 Efektivitas metode tes KIT analisis rhodamin b pada liptint**

Data uji test kit Rhodamin B diuji secara kualitatif kemudian disajikan dalam bentuk tabel. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna larutan berubah warna menjadi ungu.

### **3.7.4 Menentukan Efektifitas Metode Secara KLT, Pereaksi eter, Tes KIT**

Untuk melihat ke efektifitasan metode pada pengujian sampel liptint merk X dilakukan dengan :

1. Membandingkan waktu yang dibutuhkan untuk melakukan analisis dengan masing masing metode KLT, Pereaksi Eter dan Test KIT
2. Membandingkan biaya yang dibutuhkan untuk analisis dari masing masing metode KLT, Pereaksi Eter dan Test KIT.