

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis penelitian deskriptif dengan metode analisis kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan pewarna sintetik Rhodamin B pada kerupuk berwarna merah dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Waktu yang digunakan peneliti untuk penelitian ini dilaksanakan sejak tanggal dikeluarkannya izin penelitian dalam kurun waktu kurang lebih 3 bulan yaitu pada bulan januari sampai bulan maret 2022.

3.2.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah kerupuk berwarna merah yang dijual di Pasar Blimbing Kota Malang. Pengambilan sampel pada bulan februari tanggal 6 dengan metode *probability sampling* atau metode pengambilan sampel secara acak. Sampel terdiri dari 5 sampel kerupuk pasir berwarna merah. Sampel dilakukan pengujian dengan 5 kali pengulangan.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Gelas Ukur 10 mL dan 50 mL (*iwaki*), Neraca Analitik (*ohaus*), Plat KLT silika gel (*Machery-Nagel*), Penangas air

(*Thermos scientific cimorec*) , Pipet Tetes, pipet ukur 10 mL (*iwaki*) , Batang Pengaduk, Kertas Saring, labu ukur (*pyrex*).Gelas Kimia 50 mL dan 100 mL (*iwaki*) , Cember, Erlenmeyer 250 mL (*iwaki*), Pipa Kapiler (*Nesko*), pinset, oven, cawan porselen, mortar dan alu, gunting *joyko*).

3.4.2 Bahan

Sampel kerupuk Berwarna Merah yang dijual di Pasar Blimbing, Rhodamin B, NaOH1% (*merck*), Asam Asetat 10% (*merck*), Aquadest, kloroform, Benang Wol(*Polycherry*), asam Asetat(*merck*), Ammonia 2% dalam etanol 70% , Asam Asetat 10%, Ammonia 10%, Alkohol 50%, NaCL 2%, Alluminium Foil, Etanol.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang nilainya mempengaruhi variabel lainnya. Pada penelitian ini variabel bebasnya adalah sampel kerupuk berwarna merah.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pewarna Rhodamin B yang terdapat pada kerupuk berwarna merah yang dijual di Pasar Blimbing Kota Malang.

3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Metode	Hasil ukur
Rhodamin B	Pewarna sintetik yang terkandung	Cara Uji Pewarna Tambahan	Uji kualitatif dengan metode	Jika nilai Rf sampel sama dengan nilai

	<p>pada seluruh jenis kerupuk pasir berwarna merah yang dijual di pasar Blimbing kota Malang pada tanggal sampling yaitu 6 februari 2023</p>	<p>Makanan SNI 01-2895-1992</p>	<p>Kromatografi Lapis Tipis</p>	<p>Rf standar Rhodamin B maka dinyatakan sampel positif mengandung Rhodamin B</p>
--	--	---------------------------------	---------------------------------	---

3.7 Prosedur Analisis

Prosedur analisis pada penelitian ini mengacu pada SNI 01-2895-1992 tentang cara uji tambahan pewarna makanan dengan modifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

3.7.1 Preparasi Benang Wol Bebas Lemak

1. Disiapkan benang wol sepanjang 25 cm.
2. Dididihkan dengan aquadest pada hot plate selama 10 menit.
3. Benang wol dikeringkan menggunakan oven pada suhu 100°C.
4. Dicuci benang wol menggunakan kloroform selama 10 menit.
5. Dipindahkan benang wol kedalam NaOH yang sudah mendidih selama 10 menit lalu bilas dengan aquadest.
6. Dikeringkan benang wol pada oven.

3.7.2 Preparasi Sampel

1. Sampel kerupuk masing-masing dihaluskan dan ditimbang sebanyak 10 gram menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan ke dalam erlemeyer dan diberi label. Kemudian dipipet 20 ml larutan ammonia 2% (yang dilarutkan dalam etanol 70%) dan ditambahkan kedalam sampel, sampel dan 20ml ammonia 2% diaduk hingga bercampur dan didiamkan selama 30 menit.
2. Larutan didekantasi kedalam cawan porselen.
3. Diuapkan larutan pada waterbath dengan suhu 78°C hingga menguap.
4. Larutan hasil penguapan ditambah dengan 5 mL asam asetat 10% kedalam residu.
5. Dimasukkan benang wol kedalam larutan, kemudian panaskan kembali hingga mendidih.
6. Dicuti benang wol dengan aquadest hingga bersih
7. Diltakkan dalam gelas beker 100 mL tambahkan dengan 25 mL ammonia 10%.
8. Dipanaskan kembali hingga warna dari benang wol luntur kedalam larutan.
9. Ambil benang wol dengan dekantasi.
10. Pekatkan kembali larutan dengan cara dipanaskan dalam waterbath dengan suhu 78°C.

3.7.3 Uji kualitatif Rhodamin B Dengan Kromatografi Lapis Tipis

1. Menyiapkan plat KLT dengan ukuran 5 x 10 cm, lalu beri garis batas atas, bawah yaitu 1 cm dan jarak totoal 1,5 cm.
2. Penjenuhan Chamber Chamber dilapisi dengan kertas saring lalu dituang eluen (NaCL 2% dan pelarut alkohol 50% sebanyak 15 mL) kemudian ditutup rapat dan dibiarkan sampai jenuh yang ditandai dengan eluen naik sampai bagian atas kertas saring.

3. Larutan sampel ditotolkan pada garis penotolan plat KLT yang berjarak 1 cm dari tepi plat menggunakan pipa kapiler yang telah dibilas dengan Aquades, penotolan dilakukan dengan tegak lurus.
4. Plat KLT yang telah ditotolkan dengan sampel dimasukkan ke dalam chamber yang telah jenuh dengan eluen, kemudian chamber ditutup dan dibiarkan beberapa saat sampai eluen naik sampai batas atas plat pra lapis. Angkat plat KLT kemudian keringkan dengan alat pengering.

3.7.4 Identifikasi bercak

a) Sinar UV

Diletakkan plat KLT dibawah lampu Sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm, kemudian ditandai bercak.

3.7.5 Menghitung Nilai Rf

Dari bercak yang diperoleh dapat dihitung harga Rf. Tiap bercak dibandingkan dengan nilai Rf. Sampel yang mempunyai nilai Rf sama atau mendekati Rf rhodamin B diindikasikan mengandung rhodamin B. Menghitung nilai Rf dengan rumus :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

3.8 Penyajian Data

Tabel 3.2 Penyajian data Identifikasi Awal

No	Sampel	Warna	Rasa	Bau
1				
2				
dst				

Tabel 3.3 Penyajian Data Hasil Analisis Pewarna Rhodamin B Pada
Sampel Menggunakan Metode KLT

Sampel	Nilai Rf	Hasil Uji
Rhodamin B		
1		
2		
dst		