

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif. Metode penelitian deskriptif yaitu suatu metode penelitian yang dilakukan dengan tujuan mendeskripsikan atau menggambarkan tentang suatu keadaan secara objektif (Notoatmodjo, 2014:36). Pada penelitian ini rancangan penelitian yang dilakukan adalah mendeskripsikan atau menggambarkan tentang penggunaan Rhodamin B pada sediaan perona pipi yang beredar di *marketplace* X yang diujikan secara kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), lalu sampel yang positif mengandung Rhodamin B dilakukan uji penegasan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

#### **B. Subjek Penelitian**

##### 1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian atau objek yang akan diteliti. Populasi penelitian ini adalah seluruh perona pipi yang beredar di *marketplace* X.

##### 2. Sampel

Sampel adalah objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi. Sampel penelitian ini adalah seluruh populasi yang dibeli pada bulan Januari 2021 yang memenuhi kriteria-kriteria sebagai berikut:

##### a. Kriteria *inklusi*

- 1) Perona pipi yang diperjualbelikan di *marketplace* Shopee dengan kata kunci pencariannya pada aplikasi belanja online yaitu "*blush on*".
- 2) Perona pipi dengan penjual yang beredar di dalam negeri.
- 3) Tipe penjual *star seller*.
- 4) Perona pipi berwarna merah muda.
- 5) Perona pipi yang berbentuk padat (*compact powder*).

- 6) Perona pipi dengan tingkat penilain pembeli sebanyak bintang empat atau lebih.
  - 7) Perona pipi yang terdiri dari satu *pallet* dan satu warna.
  - 8) *Merk* perona pipi yang berbeda-beda.
  - 9) Harga kurang dari Rp 20.000,-.
- b. Kriteria *eksklusi*
- 1) Perona pipi yang sudah *expired date*.

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*, yang dimaksudkan dalam teknik pengambilan sampel ini berdasarkan pada suatu pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti sendiri, berdasarkan ciri atau sifat populasi yang diketahui sebelumnya (Notoatmodjo, 2014:124).

### **C. Lokasi dan Waktu Penelitian**

#### 1. Tempat Penelitian

Tempat penelitian dibedakan menjadi dua yaitu tempat pengambilan sampel dan tempat analisis sampel. Pengambilan sampel dilakukan secara transaksi *online* menggunakan aplikasi belanja *online* Shopee. Preparasi zat baku dan identifikasi zat uji menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) serta uji penegasan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Farmasi Poltekkes Tanjungkarang.

#### 2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari-Mei 2021.

### **D. Pengumpulan Data**

#### 1. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara transaksi *online* menggunakan aplikasi belanja *online* Shopee dengan sampel perona pipi berwarna merah muda. Sampel yang diambil adalah sampel yang memenuhi kriteria *inklusi*. Pada aplikasi belanja *online* Shopee dilakukan pencarian di aplikasi dengan kata kunci

*blush on*, kemudian dilakukan tahap *filter* dengan kriteria lokasi dalam negeri, kategori *blush on*, batas harga Rp.1.000 sampai Rp.20.000, tipe penjual *star seller*, dan tingkat penilaian bintang empat atau lebih.

## 2. Alat dan Bahan Penelitian

- a. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah lempeng silika gel 60 F<sub>254</sub>, lampu UV panjang gelombang 366 nm, spektrofotometer UV-Vis *probe* 600, kuvet kaca, neraca analitik, corong pisah, statif dan klem, kertas saring, batang pengaduk, *chamber*, Erlenmeyer 250 mL, gelas *beaker* 100 mL, pipet volume 5 mL, pipet ukur 1 mL, pipet tetes, pipa kapiler, tabung reaksi, rak tabung, corong kaca, cawan penguap, spatula, kaca arloji, bulb, gunting, penggaris.
- b. Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah baku Rhodamin B, n-heksan, metanol, amonia 25%, etil asetat, n-butanol, HCl 0,1 N, NaOH 0,5%, NaOH 2%, eter, aquadest, sampel perona pipi.

## 3. Prosedur Penelitian

### a. Pembuatan reagen

#### 1) HCl 0,1 N

Diencerkan 4,2 mL HCl 37% dengan aquadest secukupnya sampai 500,0 mL.

#### 2) Pembuatan Pereaksi NaOH 2%

- a) Ditimbang 10 gram Kristal NaOH.
- b) Dilarutkan dengan aquadest secukupnya dalam *beaker glass*.
- c) Dimasukkan ke dalam labu ukur 500,0 mL, tambahkan dengan aquadest sampai tanda batas.

#### 3) Pembuatan Pereaksi NaOH 0,5%

- a) Ditimbang 2,5 gram kristal NaOH.
- b) Dilarutkan dengan aquadest secukupnya dalam *beaker glass*.
- c) Dimasukkan ke dalam labu ukur 500,0 mL, tambahkan dengan aquadest sampai tanda batas.

b. Penyiapan Larutan Standar

- 1) Pembuatan larutan baku standar Rhodamin B dengan cara menimbang 2 mg baku standar Rhodamin B.
- 2) Ditambahkan larutan metanol sebanyak 10 mL dikocok terus hingga larut yang bertujuan untuk melarutkan zat warna Rhodamin B (Badan POM RI Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 tahun 2011:65)

c. Penyiapan Larutan Uji

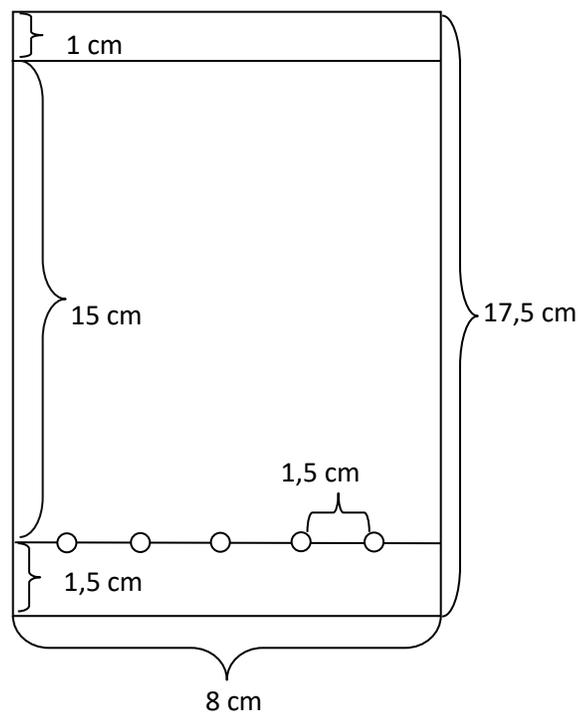
- 1) Sampel uji ditimbang sebanyak 0,1 gram menggunakan kaca arloji.
- 2) Sampel yang sudah ditimbang dimasukkan gelas *beaker*, lalu dilarutkan dengan 2 mL pelarut metanol.
- 3) Larutan disaring dan ditampung ke dalam Erlenmeyer.
- 4) Kemudian dilakukan proses ekstraksi lemak dengan menggunakan 5 mL n-heksan. Ekstraksi lemak adalah proses pemisahan lemak berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua pelarut. Caranya dikocok manual kemudian biarkan larutan membentuk dua lapisan. Lapisan atas yaitu n-heksan dan bawah yaitu metanol. Lapisan bagian atas dibuang sedangkan, lapisan bawah ditampung.
- 5) Ekstrak yang dihasilkan kemudian dipindahkan ke tabung reaksi (Badan POM RI nomor HK.03.1.23.08.11.07331 tahun 2011:65).

d. Prosedur Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

- 1) Bejana KLT dilapisi dengan kertas saring dan dijenuhkan dengan larutan eluen campuran etil asetat, n-butanol, dan amonia 25% dengan perbandingan (20:55:25).
- 2) Plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> berukuran 20 x 20 cm dipotong menjadi 8 x 17,5 cm lalu diaktifkan dengan cara dipanaskan di dalam oven pada suhu 100 °C selama 30 menit.
- 3) Kemudian plat KLT dibuat jarak antar titik sampel 1,5 cm dan batas elusi 15 cm.
- 4) Kemudian secara terpisah dititikkan masing-masing 1 µL sampai 5 µL baku pembanding dan larutan uji dengan jumlah yang sama (tergantung

dari tingkat kepekatan warna) pada batas penitikan dilakukan tiga kali pengulangan dalam satu plat.

- 5) Dilakukan pengembangan lempeng KLT dalam *chamber* yang berisi eluen sistem F yaitu campuran etil asetat, n-butanol, dan amonia 25% dengan perbandingan (20:55:25) hingga batas elusi (Badan POM RI, 2011:65). Lempeng diangkat dan dikeringkan pada suhu ruangan. Lakukan pengulangan sebanyak dua kali menggunakan plat yang berbeda.



Gambar 3.1 Batas Penitikan Pada Plat KLT.

e. Cara Identifikasi

- 1) Hitung nilai  $R_f$  untuk masing-masing bercak dengan cara tandai bercak dengan pensil lalu dibuat kotak yang menyentuh garis terluar tanda bercak, kemudian beri tanda silang di tengah kotak tersebut. Tandai bagian tengah tanda silang, lalu hitung jarak rambatnya.

$$\text{Rumus mencari nilai } R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

- 2) Bandingkan nilai  $R_f$  dan warna bercak pada pengamatan secara visual yang diperoleh dari larutan uji dan larutan baku.
- 3) Amati bercak merah Rhodamin B di bawah penyinaran lampu UV panjang gelombang ( $\lambda$ ) 366 nm, bercak berfluoresensi warna kuning hingga oranye menandakan positif mengandung Rhodamin B.
- 4) Nilai  $R_f$  yang tertera dalam tabel di bawah ini, merupakan harga perkiraan yang mungkin diperoleh :

**Tabel 3.1** Perkiraan nilai  $R_f$  sistem larutan pengembang

Nama pewarna	Warna bercak	Perkiraan nilai $R_f$ Pada sistem larutan pengembang					
		A	B	C	D	E	F
Rhodamin B	Merah muda	-	0,8	0,8	0,7	0,4	<b>0,88</b>

(Badan POM RI,2011:67).

Alasan dipilihnya larutan pengembang sistem F yaitu karena disesuaikan dengan sifat Rhodamin B yang polar. Rhodamin B memiliki gugus karboksil dengan pasangan elektron bebas dan gugus amina pada struktur molekulnya. Gugus karboksil dan amina akan membentuk ikatan hidrogen intermolekuler dengan pelarut polar, sehingga akan mudah larut dalam pelarut tersebut. Pemilihan eluen ini juga didasarkan pada beberapa jurnal yang menganalisis Rhodamin B menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Nafiq;Yuniarto; dan Sulistyowati, 2020).

f. Uji Penegasan Menggunakan Spektrofotometer

Pemeriksaan berdasarkan penelitian Hurip Budi Riyanti, Sutyasningsih dan Anggun Wisnu Sarsongko pada tahun 2018. Prinsip pemeriksaan: Rhodamin B diukur panjang gelombang maksimum lebih kurang 558 nm yang menggunakan HCl 0,1 N sebagai blanko.

1) Larutan blanko

Larutan HCl 0,1 N digunakan sebagai blanko

## 2) Pembuatan Larutan Baku

Ditimbang kurang lebih 5 mg pewarna Rhodamin B baku dilarutkan dalam 25 mL metanol. Pipet 1,0 mL, tambahkan dengan 25 mL HCl 0,1 N.

## 3) Pembuatan Larutan Uji

a) Ditimbang 2,5 gram sampel, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, tambahkan 15 mL larutan NaOH 2% kemudian diaduk dan disaring.

b) Lalu cairan dimasukkan ke dalam corong pisah 100 mL.

c) Diekstraksi dengan 15 mL eter, dikocok selama 3 menit dan diamkan hingga memisah (fase air dibuang, fase eter dicuci 2 kali, setiap pencucian dilakukan dengan 10 mL larutan NaOH 0,5%).

d) Fase eter ditambah 5 mL HCl 0,1 N dan dikocok, fase air ditampung.

## 4) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Disiapkan larutan baku dan sampel kemudian diukur serapan maksimumnya dengan panjang gelombang 500-600 nm dengan menggunakan blanko. Blanko yang digunakan adalah HCl 0,1 N.

## 5) Interpretasi Hasil

Positif (+) : jika panjang gelombang maksimum larutan sampel kurang lebih 2 nm dari panjang gelombang yang maksimumnya larutan baku (Depkes RI, 1995:1066).

Negatif (-) : jika panjang gelombang maksimum larutan sampel tidak kurang lebih 2 nm dari panjang gelombang yang maksimumnya larutan baku.

## E. Pengolahan dan Analisis Data

Data diperoleh dari pemeriksaan sampel dengan metode langsung. Kemudian data yang diperoleh dianalisis dengan cara analisis univariat. Analisis univariat bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik setiap variabel penelitian. Pada umumnya dalam analisis ini hanya menghasilkan

distribusi frekuensi dan persentase dari setiap variabel (Notoatmodjo, 2014:182).  
Setelah data diperoleh selanjutnya dapat disimpulkan.

Rumus persentase perona pipi yang mengandung Rhodamin B

$$\text{Persentase} = \frac{\text{Jumlah sampel yang positif}}{\text{Jumlah sampel keseluruhan}} \times 100\%$$