

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian bersifat deskriptif yaitu mengidentifikasi Rhodamin B yang ada pada kerupuk berwarna merah mencolok yang di jual di Pasar Kepanjen. Metode deskriptif adalah metode yang bertujuan mendiskripsikan atau menjelaskan pengambilan dan pengujian sehingga memberikan informasi mengenai kandungan Rhodamin B pada kerupuk secara fakta. Tahap pelaksanaannya meliputi tahap persiapan, tahap pelaksanaan, dan tahap akhir.

Tahap persiapan dimulai dengan survey penjual kerupuk berwarna merah mencolok yang dijual di Pasar Kepanjen lalu mempersiapkan sampel yaitu membeli sampel kerupuk berwarna merah mencolok yang dicurigai mengandung Rhodamin B, menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.

Tahap pelaksanaan yaitu tahap memulai penelitian. Langkah pertama yaitu preparasi sampel, menyiapkan larutan uji, melakukan penjuhan eluen, melakukan penotolan sampel, dan melakukan prosedur pengujian.

Tahap akhir meliputi tahap analisa data, membahas, dan mengambil kesimpulan dari hasil pengujian menggunakan metode KLT.

3.2 Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kerupuk berwarna merah mencolok yang dijual di pasar kepanjen dengan hasil survey terdapat 2 toko yang menjual kerupuk berwarna merah mencolok

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini dari hasil survey penjual kerupuk di pasar terdapat 10 pedagang kerupuk tetapi hanya didapatkan 2 toko yang menjual kerupuk berwarna merah mencolok dengan kriteria sampel berwarna merah mencolok (berpendar) hampir pink mencolok dan terdapat bintik berwarna merah, tidak ada etiket, dan tidak ada nomor BPOM.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Instrumen kampus AKAFARMA.

Penelitian ini dilakukan mulai bulan November 2020 -Mei 2021.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Sub-Variabel	DOV	Indikator/ Hasil Ukur	Alat Ukur	Skala Ukur
Identifikasi	-	Menghitung	Uji	KLT	Nominal
Rhodamin B pada kerupuk berwarna merah mencolok menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang dijual di Pasar Kepanjen		nilai Rf dan mengamati warna noda antara sampel dengan pembanding menggunakan metode KLT	Uji kualitatif	KLT (membandingkan warna noda dan menghitung nilai Rf antara sampel dengan pembanding)	

3.5 Instrumen Penelitian

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu : Chamber, Plat KLT, pipa kapiler, mortar dan alu, waterbath, beaker glass, cawan porselen, benang wol, hot plate, kertas whatman, corong gelas, Erlenmeyer, oven, hot plate, labu ukur, sinar UV.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : 2 sampel kerupuk berwarna merah, ammonia 2%, etanol 70%, aquades, asam asetat 10%, standart Rhodamin B, Larutan elusi (N-Butanol- Etil asetat- Ammonia;10:4:5)

3.6 Prosedur Peneltiaian

3.6.1 Preparasi sampel

Prosedur ini berdasarkan penelitian dari Dawile et al., 2013 sebagai berikut:

1. Sampel kerupuk merah seberat 10 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer.
2. Direndam selama 24 jam dalam 20 ml larutan amonia 2% yang dilarutkan dalam etanol 70%.
3. Filtrat disaring menggunakan kertas saring Whatman.
4. Larutan dipindahkan ke dalam gelas beker dan dipanaskan di atas hot plate.
5. Larutan dilarutkan dalam 10 ml larutan asam yang dibuat dengan mencampurkan 5 ml air dan 5 ml asam asetat 10%.
6. Benang wol dengan panjang 15 cm dimasukkan ke dalam larutan asam dan dididihkan hingga 10 menit, dan pewarna akan mewarnai benang wol, kemudian benang diangkat.
7. Benang wol dicuci dengan air. Kemudian benang dimasukkan ke dalam larutan basa 10 ml amonia 10% yang dilarutkan dalam 70% etanol dan direbus.
8. Benang wol melepaskan warna dan warnanya akan memasuki larutan basa. Larutan basa yang diperoleh kemudian digunakan sebagai sampel dalam analisis kromatografi lapis tipis.

3.6.2 Larutan Standart Rhodamin B menurut Rohman, 2011

1. Ditimbang 10 mg serbuk Rhodamin B
2. Dilarutkan dalam cawan penguap menggunakan aquades

3.6.3 Larutan Kontrol

1. Diambil filtrat pada preparasi sampel.
2. Ditambahkan sedikit serbuk Rhodamin B.

3.6.4 Identifikasi sampel menggunakan KLT

Prosedur ini berdasarkan penelitian dari Dawile et al., 2013 untuk mengidentifikasi Rhodamin B menggunakan KLT yaitu :

1. Chamber dijenuhkan dengan eluen N-Butanol:Etil Asetat:Ammonia dengan perbandingan 10:4:5.
2. Plat KLT berukuran 20 x 20 cm diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit.
3. Lalu digaris menggunakan pensil batas bawah 1cm dan batas atas 0,5 cm.
4. Ditotolkan standart Rhodamin B menggunakan pipa kapiler yang bersih dan sudah dibilas dengan aquades dari jarak tepi 2 cm .
5. Sampel dan pembanding ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler yang berjarak 2 cm dari tepi plat KLT.
6. Kemudian dibiarkan beberapa saat hingga mengering.
7. Plat KLT yang telah mengandung cuplikan dimasukkan ke dalam chamber yang lebih terdahulu telah dijenuhkan dengan fase gerak berupa N-butanol : etil asetat : ammonia (10:4:5).

8. Dibiarkan hingga lempeng terelusi sempurna, kemudian plat KLT diangkat dan dikeringkan.
9. Diamati warna secara visual dan dibawah sinar UV, jika secara visual noda berwarna merah jambu dan dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm berfluoresensi kuning atau orange, hal ini menunjukkan adanya Rhodamin B

3.7 Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini adalah hasil perolehan nilai Rf pada sampel dan disajikan dalam bentuk tabel, diamati warna secara visual dan dibawah sinar UV. Jika secara visual noda berwarna merah jambu dan dibawah sinar UV 254nm berfluoresensi kuning (Dawile et al., 2013) dan nilai Rf berada pada range Rf optimum Rhodamin B 0,5-0,8 (Samosair, 2018).