

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian.**

Dalam penelitian ini dilakukan identifikasi rhodamin B pada lipstik yang akan diteliti. Adapun kualifikasi pemilihan lipstik adalah tanpa merek, paling banyak terjual, harganya terjangkau, yang ditawarkan di online shop dari satu marketplace. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif yaitu dengan menggambarkan keadaan subjek atau objek dalam penelitian berdasarkan fakta-fakta yang tampak atau apa adanya.

#### **3.2 Populasi dan Sampel.**

Populasi yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan lipstik tanpa merek, yang paling banyak terjual, harganya terjangkau, yang ditawarkan di online shop pada satu marketplace yaitu paling banyak diminati, memiliki rating tertinggi yaitu yang mempunyai tanda bintang lima dan penjualan paling banyak yaitu diatas 100 biji, serta lipstik yang memiliki warna merah mencolok.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagian dari populasi yang digunakan.

#### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian.**

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Putra Indonesia Malang. Penelitian dilaksanakan pada Februari – Mei 2021.

#### **3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel.**

3.4.1 Identifikasi Variabel Penelitian sebagai berikut.

1. Variabel Bebas (Independen).

Variabel bebas (independen) dalam penelitian ini adalah pewarna sintesis yaitu Rhodamin B dalam sediaan lipstik yang berwarna mencolok.

## 2. Variabel Terikat (Dependen).

Variabel terikat (dependen) dalam penelitian ini adalah hasil test Rhodamin B positif atau negatif pada sediaan lipstik yang berwarna mencolok yang dijual di Online Shop.

### 3.4.2 Definisi Operasional Variabel.

Tabel 3.1.  
Definisi Operasional Variabel.

Variabel	Sub Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur/ Indikator	Alat Ukur	Skala Ukur
Hasil Identifikasi Rhodamin B.	Hasil identifikasi sampel lipstik menggunakan metode KLT dengan baku pembanding standart rhodamin B.	Sediaan lipstik tanpa merek, berwarna mencolok, yang diidentifikasi ada atau tidaknya kandungan pewarna sintesis Rhodamin B.	Warna noda dan Harga Rf yang sama.	Visual	Nominal.

### 3.5 Instrumen Penelitian.

Instrumen penelitian ini adalah alat dan bahan yang akan digunakan untuk pengumpulan data antara lain sebagai berikut :

#### 3.5.1 Alat dan Bahan.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah botol semprot, timbangan analitik, cawan penguap, gelas kimia, penangas air, batang pengaduk, mistar,

pensil, lampu UV 366 nm, labu ukur, erlenmeyer, pipet tetes, oven, desikator, gelas ukur, chamber, pipa kapiler, corong gelas, plat KLT silika gel GF 254.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel lipstik yang akan diteliti, kertas whatman, zat warna pembanding (Rhodamin B) Merck, aquades, HCl 37% Smart-lab, natrium sulfat anhidrat Merck, methanol pa Merck, amoniak 25% Merck, etil asetat Merck, dan n-butanol Merck.

### **3.6 Prosedur Penelitian.**

Prosedur penelitian merujuk pada langkah-langkah penelitian dari awal hingga akhir. Prosedur penelitian meliputi tahapan yang akan dilakukan selama penelitian berlangsung. Dimulai dari tahapan persiapan yaitu membuat larutan asam klorida, membuat larutan uji, larutan baku, tahapan pelaksanaan yaitu mengidentifikasi sampel untuk mendapatkan data yang dibutuhkan dan mengidentifikasi pustaka dan acuan yang dibutuhkan. Tahapan yang dilakukan selama penelitian adalah sebagai berikut.

#### **3.6.1 Tahapan Persiapan (Ketut dkk, 2015).**

Pada tahap ini dilakukan persiapan alat, bahan dan larutan yang akan digunakan.

##### **3.6.1.1 Pembuatan Larutan Asam Klorida 4M (Ketut dkk, 2015).**

- a. Diencerkan 12,06 mL HCl 37% dengan air aquadest secukupnya  
100 mL.

##### **3.6.1.2 Pembuatan Larutan Uji (A) (Ketut dkk, 2015).**

- a. Sebanyak 2 gram cuplikan lipstik diletakkan dalam gelas kimia 50 mL.
- b. Ditambahkan 16 tetes asam klorida 4M dan 20 mL methanol lalu dilebur diatas penangas listrik sampai mencair.

- c. Setelah sampel lipstik melebur, selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring yang telah berisi dengan natrium sulfat anhidrat dan diambil filtratnya.
- d. Filtrat yang diambil kemudian dipekatkan kembali diatas penangas lalu filtrat diangkat dan dimasukkan ke dalam vial.

#### 3.6.1.3 Pembuatan Larutan Baku (B) (Ketut dkk, 2015).

- a. Sejumlah Rhodamin B dilarutkan dengan 10 mL methanol kemudian dikocok hingga larut.

#### 3.6.1.4 Pembuatan Larutan Kontrol

- a. Sebanyak 2 gram cuplikan lipstik diletakkan dalam gelas kimia 50 mL.
- b. Ditambahkan 16 tetes asam klorida 4M dan 20 mL methanol lalu dilebur diatas penangas listrik sampai mencair.
- c. Setelah sampel lipstik melebur, selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring yang telah berisi dengan natrium sulfat anhidrat dan diambil filtratnya.
- d. Filtrat yang diambil kemudian dipekatkan kembali diatas penangas lalu filtrat diangkat dan dimasukkan ke dalam vial.
- e. Ditambahkan serbuk rhodamin B kedalam larutan dan di homogenkan.

#### 3.6.2 Tahapan Pelaksanaan (Ketut dkk, 2015).

Pada tahap ini dilakukan identifikasi sampel mulai plat KLT sudah siap digunakan sampai hasil akhir nilai Rf yang didapatkan.

##### 3.6.2.1 Identifikasi Sampel (Ketut dkk, 2015).

- a. Plat KLT berukuran 8 x 4 cm dengan batas atas 1 cm dan bawah 0,5 cm diaktifkan dengan cara dipanaskan di dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit.
- b. Plat yang telah dipanaskan kemudian ditotolkan dengan larutan uji (A) dan larutan baku (B) dengan menggunakan pipa kapiler pada jarak 1 cm dari bagian bawah plat. Jarak antar noda adalah 1 cm.
- c. Plat yang telah ditotolkan dibiarkan beberapa saat hingga mengering.
- d. Setelah plat KLT yang telah mengandung cuplikan mengering lalu dimasukkan ke dalam chamber yang terlebih dahulu telah dijenuhkan dengan fase gerak berupa n-butanol, etil asetat dan amoniak dengan perbandingan (55 : 20 : 25).
- e. Fase bergerak dibiarkan naik sampai hampir mendekati batas atas plat.
- f. Plat KLT diangkat dan dibiarkan kering diudara.
- g. Diamati noda secara visual dan dibawah sinar UV.
- h. Jika secara visual noda berwarna merah jambu dan di bawah sinar UV 366 nm berflouresensi orange, menunjukkan adanya rhodamin B.
- i. Nilai Rf dihitung dengan menggunakan rumus :

$$R_f = \frac{\text{jarak (cm) dari garis awal ke pusat noda}}{\text{jarak (cm) dari garis awal ke depan pelarut}}$$

### 3.7 Analisis Data.

Data akan disuguhkan dalam bentuk tabel, narasi. Pembahasan meliputi warna noda yang dilihat secara visual berwarna merah jambu dan diamati dibawah sinar UV 366 nm berflouresensi orange yang menunjukkan adanya Rhodamin B. Analisis data dilakukan dengan cara sampel direplikasi tiga kali. Data sampel dan

baku akan dibandingkan dengan harga Rf atau saling mendekati dengan selisih  $\leq 0,2$ . Perhitungan harga Rf dapat menggunakan rumus berikut :

$$R_f = \frac{\text{jarak (cm) dari garis awal ke pusat noda}}{\text{jarak (cm) dari garis awal ke depan pelarut}}$$