

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat non eksperimental laboratorium dengan analisis deskriptif, dimana dilakukan perlakuan pada sampel dengan keadaan apa adanya, tanpa adanya pengaruh apapun. Analisis sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *rapid test kit* dan spektrofotometri UV-Vis.

B. Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jendral Achmad Yani Yogyakarta. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan April 2023- Juli 2023.

C. Sampel

Sampel yang dipergunakan untuk penelitian adalah 7 sampel *liptint* yang beredar di *e-commerce* S dengan kriteria sebagai berikut:

1. Kriteria Inklusi: *liptint* berwarna merah, beredar di *e-commerce* S, produk yang dapat dan tidak dapat dilacak pada *website/aplikasi* cek BPOM, produk dengan harga < Rp 50.000, dan produk sudah terjual > 300 pcs.
2. Kriteria Eksklusi: produk yang sudah kadaluwarsa.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas
Tujuh merk sampel *liptint*.
2. Variabel terikat
Hasil identifikasi dan kadar rhodamin-B.
3. Variabel terkendali
Warna *liptint*, sumber sampel, legalitas produk, harga produk, dan jumlah pembeli.

E. Definisi Operasional Variabel

1. *Liptint*

Liptint yang diteliti harus memenuhi kriteria yang telah ditetapkan.

2. *Rapid test kit*

Alat yang digunakan bermerk *lab test reagen* yang berisi reagen 1 dan reagen 2, hasil *rapid test kit* dinyatakan dalam positif/negatif, dikatakan positif jika ditunjukkan dengan berubahnya warna menjadi ungu kemerahan.

3. Kadar Rhodamin-B

Pengujian kuantitatif memakai spektrofotometri UV-Vis dengan mengukur absorbansi larutan sampel *liptint* pada panjang gelombang maksimal 545 nm menggunakan metanol sebagai blanko (Fatkhurohmat et al., 2022). Kemudian, hasil absorbansi dihitung untuk menentukan kandungan kadar rhodamin-B, hasil kadar dinyatakan dalam satuan miligram/gram (mg/g).

F. Alat dan Bahan

1. Alat

- a. Analisis kualitatif: batang pengaduk, neraca analitik (OHAUS), tabung reaksi (iwaki), *rapid test kit* rhodamin-B (*lab test reagen*).
- b. Analisis kuantitatif: *blue tip*, cawan, corong kaca (pyrex), kuvet, labu ukur 5 mL, 10 mL, 100 mL (pyrex), mikropipet, neraca analitik (OHAUS), penangas air, pipet tetes, pipet ukur (iwaki), sendok tanduk, spektrofotometri UV-Vis (Thermo Scientific), *yellow tip*.

2. Bahan

- a. Analisis kualitatif: akuadest, *liptint*.
- b. Analisis kuantitatif: akuadest, HCl 4 M (teknis), kertas saring, *liptint*, metanol (p.a), natrium sulfat anhidrat (p.a), pewarna rhodamin-B (p.a).

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Analisis Kualitatif Rhodamin-B

a. *Rapid test kit*

Ditimbang 2 gram sampel *liptint* yang akan diuji dalam cawan penguap, lalu tambahkan 10 mL air mendidih dan diaduk hingga tercampur homogen. Sampel uji didiamkan hingga dingin (massa 1). Setelah dingin, tambahkan 3 mL (massa 1) kedalam tabung reaksi dengan dipipet. 1 tetes reagen 1 dan 3 tetes reagen 2 dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi cairan yang akan diuji (massa 1), kocok sampai homogen. Biarkan selama 10-20 menit dan periksa perubahannya. Apabila terjadi perubahan pada warna larutan uji menjadi ungu kemerahan, berarti sampel uji positif mengandung rhodamin-B (Yuniarto, 2019).

b. Spektrofotometri UV-Vis

Ditimbang sampel sebanyak 0,4 gram *liptint* yang akan diuji diatas cawan, tambahkan 4 tetes HCl 4 M, lalu dimasukkan 6 mL metanol dan diletakkan diatas penangas air, diaduk rata. Disaring dengan kertas saring yang mengandung natrium sulfat anhidrat, kemudian dibuang filtrat pertama sebanyak 1-3 mL dan disaring kembali hingga jernih. Filtrat yang telah jernih ditampung didalam labu ukur 10 mL selanjutnya dimasukkan metanol sampai tanda batas dan dikocok homogen. Filtrat pada labu ukur 10 mL dipipet sebanyak 400 μ L, dimasukkan ke labu ukur 5 mL. Metanol ditambahkan sampai garis meniskus dan diaduk homogen. Dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum 400-600 nm (Puspita, 2018).

2. Analisis Kuantitatif Rhodamin-B

a. Pembuatan Larutan Baku Rhodamin-B

Ditimbang 0,1 g zat warna rhodamin-B, dimasukkan ke labu ukur 100

mL, ditambah 30 mL metanol dan kocok homogen. Ditambahkan metanol sampai tanda batas dan dikocok homogen sehingga didapatkan larutan rhodamin-B 1000 ppm. Kemudian larutan rhodamin B 1000 ppm dipipet sebanyak 1 mL memakai pipet ukur ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan metanol sampai tanda batas dan didapatkan larutan baku rhodamin-B 100 ppm (Asmawati et al., 2019).

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Rhodamin-B

Dipipet larutan baku rhodamin-B 100 ppm sebanyak 0,3 ml menjadi 3 ppm, dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, tambahkan metanol hingga tanda batas. Diukur panjang gelombang yang dilakukan pada panjang gelombang 400-800 nm dengan blangko yaitu metanol.

c. Pembuatan kurva kalibrasi

Digunakan larutan baku rhodamin-B 100 ppm untuk membuat seri konsentrasi kurva baku dengan cara dipipet sebanyak 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, dan 0.25 mL. Ditambahkan metanol pada masing-masing volume sampai tanda batas pada labu ukur 5 mL dan diaduk homogen, hingga didapat seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Selanjutnya diukur pada panjang gelombang maksimum yang sudah didapat sebelumnya menggunakan blangko yaitu metanol dan akan diperoleh kurva kalibrasi.

d. Preparasi sampel

Ditimbang sebanyak 0,4 gram *liptint* diatas cawan, ditambahkan 4 tetes HCl 4 M, kemudian dimasukkan 6 mL metanol dan diletakkan diatas penangas air, diaduk homogen. Disaring dengan kertas saring yang mengandung natrium sulfat anhidrat, dibuang filtrat pertama sebanyak 1-3 mL dan disaring kembali hingga jernih.

e. Penetapan kadar sampel

Filtrat yang sudah jernih dimasukkan ke labu ukur 10 mL selanjutnya

dimasukkan metanol hingga tanda batas dan kocok homogen. Filtrat pada labu ukur 10 mL dipipet sebanyak 400 μl dan dimasukkan pada labu ukur 5 mL. Ditambahkan metanol hingga tanda batas dan kocok homogen. Dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat sebelumnya. Ulang sebanyak 3 kali (Puspita, 2018).

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Analisis kualitatif

Data hasil analisis *rapid test kit* rhodamin-B berupa hasil positif/negatif disajikan dalam bentuk tabel dan data hasil analisis spektrofotometri UV-Vis rhodamin-B berupa hasil panjang gelombang pada sampel disajikan dalam bentuk tabel.

2. Analisis data kuantitatif

Dikumpulkan hasil analisis spektrofotometri UV-Vis sebanyak tiga kali pengujian (triplo) dalam bentuk angka. Data yang didapatkan menggunakan spektrofotometri UV-Vis berupa data absorbansi, ditulis dengan persamaan $y = bx + a$, kemudian dihitung kandungan kadar rhodamin-B menurut Puspita, (2018) dapat dihitung dengan rumus :

$$K = \frac{X.V.Fp}{Bs}$$

Keterangan :

K : Kadar yang terkandung pada sampel (mg/g)

X : Konsentrasi rhodamin-B

V : Volume sampel

Fp : Faktor Pengenceran

Bs : Bobot sampel

Hasil replikasi pada sampel dihitung rata-rata, standar deviasi (SD), *coefficient variance* (CV), dan *Standar Error of the Mean* (SEM). Hasil kadar sampel rhodamin-B dinyatakan dengan mg/g sampel \pm SEM.

$$1. \text{ Rata-rata} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + \dots + X_n}{n}$$

Keterangan:

X : Jumlah nilai

n : Banyak data

2. Menghitung Standar Deviasi (SD)

Ketika variabilitas data sangat besar dibandingkan rata-ratanya, maka nilai SD-nya besar, namun apabila variabilitas datanya lebih kecil dibandingkan dengan rata-ratanya, maka nilai SD-nya kecil. Digunakan excel untuk menghitung standar deviasi (SD).

3. Menghitung *coefficient variance* (CV)

CV merupakan nilai yang diperoleh dari membandingkan antara standar deviasi dengan rata-rata distribusi, yang dihitung dari perbandingan standar deviasi dan nilai rata-rata distribusi. Untuk mencari koefisien variasi menurut Soewarno, (1995), digunakan rumus berikut:

$$CV = \frac{SD}{X} \times 100\%$$

Keterangan:

CV : koefisien variasi

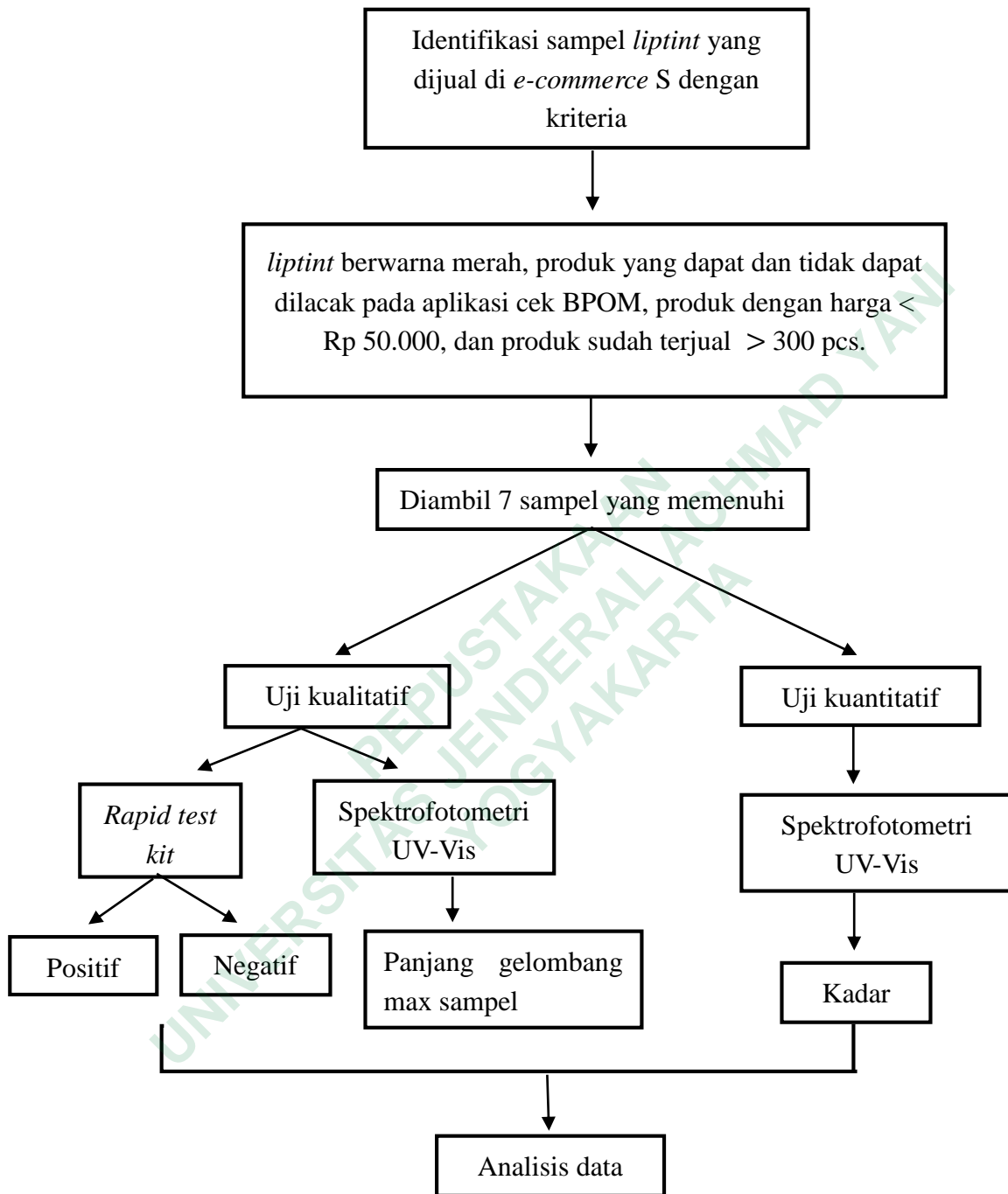
SD : standar deviasi

X : rata-rata hitung

4. Menghitung *Standar Error of the Mean* (SEM)

SEM adalah kekeliruan atau resiko dalam pensampelan. Artinya, semakin besar SEM semakin besar kemungkinan nilai rata-rata dari satu sampel yang dipilih dari suatu populasi maka akan jauh berbeda dari nilai rata-rata pada populasinya. Sebaliknya, makin kecil SEM semakin kecil kemungkinan nilai rata-rata dari satu sampel yang dipilih dari suatu populasi akan jauh berbeda dari nilai rata-rata populasinya (Hazra, 2017).

I. Skema Pelaksanaan Penelitian



Gambar 5. Skema pelaksanaan penelitian