

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini bersifat non eksperimental dengan pendekatan analisis deskriptif, di mana sampel dianalisis dilakukan tanpa adanya intervensi perubahan pada kondisi yang ada. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah *liptint* yang beredar via *online shop* T, kemudian dianalisis secara kualitatif dengan KLT, serta kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis.

#### **B. Lokasi dan Waktu**

##### 1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biofarmakologi Program Studi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

##### 2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei – Juni 2025.

#### **C. Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel *liptint* yang beredar via *online shop* T menggunakan teknik *purposive sampling* dengan kriteria sebagai berikut:

1. Kriteria inklusi : *liptint* berwarna merah yang tidak berlabel BPOM, beredar via *online shop* T, produk dengan harga Rp4.000 – 35.000, warna *liptint* merah, dan produk sudah terjual lebih dari 100 pcs.
2. Kriteria eksklusi : produk yang sudah melewati masa kadaluarsa, kemasan yang diterima dalam kondisi rusak, *liptint* yang diperoleh memiliki merek yang sama dari penjual yang berbeda.

Berdasarkan kriteria yang telah ditentukan, proses pencarian sampel diawali dengan kata kunci “ *liptint* dengan harga Rp4.000-35.000”. Berdasarkan pencarian tersebut, diperoleh jumlah total penjual *liptint* yang ditemukan melalui *platform online shop*

T sebanyak 30 penjual. Penentuan jumlah sampel dilakukan dengan menggunakan rumus  $\sqrt{N} + 1$ , sehingga diperoleh 6 penjual yang akan digunakan sebagai sampel. Dari masing-masing penjual tersebut, diambil satu produk *liptint* sebagai sampel, sehingga total sampel yang digunakan berjumlah 6.

#### D. Variabel Penelitian

##### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *liptint* yang beredar via *online shop* T.

##### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai Rf dan kadar rhodamin B.

##### 3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah pelarut etanol *p.a*, warna *liptint*, harga produk, dan produk yang sudah terjual lebih dari 100 pcs.

#### E. Definisi Operasional Variabel

Penelitian ini menggunakan sampel *liptint* tidak berlabel BPOM yang didapatkan via *online shop* T sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Sampel yang diperoleh dilakukan proses preparasi sampel dan dilanjutkan dengan melarutkannya dalam etanol *p.a*. Sampel *liptint* dilakukan uji kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan uji kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Kadar rhodamin B dinyatakan dalam satuan persentase (%b/b).

#### F. Alat dan Bahan

##### 1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik (*Ohaus*), set alat gelas (*Pyrex*), pipet ukur (*Iwaki*), seperangkat spektrofotometer UV-Vis (*Thermo Scientific Genesys 10*), lampu UV, dan *chamber* KLT (*Camag*).

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah *blue tip*, pembanding rhodamin B (BPL), pipa kapiler (*Camag*), etanol *p.a* (*SMART- LAB*), etil asetat *p.a* (*Merck*), amoniak *p.a* (*Merck*), HCl 4M (teknis), natrium sulfat anhidrat *p.a* (*Merck*), *n*-butanol *p.a* (*Merck*), lempeng silika gel F254 (*Merck*), kertas saring *Whatman* No.41, *yellow tip*, serta sampel *liptint* yang diperoleh via *online shop* T.

## G. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Analisis Organoleptis

Sediaan *liptint* dideskripsikan masing-masing meliputi bentuk, warna, dan bau (Puspitasari *et al.*, 2023).

### 2. Pembuatan Larutan Baku Rhodamin B

Pembuatan larutan baku rhodamin B 1000 ppm dilakukan dengan cara ditimbang secara seksama 100,0 mg, dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan ditambahkan etanol *p.a* secukupnya, kemudian diaduk hingga larut. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL, kemudian di dalam labu ukur dicukupkan dengan etanol *p.a* hingga garis tanda. Larutan rhodamin B 1000 ppm dipipet sebanyak 5,0 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 mL, lalu ditambahkan etanol *p.a* sampai garis tanda sehingga diperoleh konsentrasi rhodamin B 100 ppm (Asmawati *et al.*, 2019).

### 3. Pembuatan Larutan Sampel *Liptint*

Pembuatan larutan sampel mengacu pada Riyanti *et al.* (2018) dengan modifikasi pelarut. Masing-masing sampel *liptint* ditimbang seksama sebesar 3 gr, kemudian ditambahkan 4 tetes HCl 4 M dan 5 mL etanol *p.a*, lalu panaskan di atas *hot plate* selama 10 menit pada suhu 60°C. Selanjutnya, ditambahkan etanol *p.a* sebanyak 1,0 mL, kemudian saring dengan kertas saring *whatman* yang berisi natrium sulfat anhidrat, dan dicukupkan hingga 10,0 mL dalam pelarut yang sama.

#### 4. Analisis Kualitatif Rhodamin B dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

##### a. Optimasi fase gerak

Larutan standar rhodamin-B serta larutan sampel *liptint* yang telah dipreparasi, selanjutnya dilakukan uji coba terhadap beberapa kombinasi fase gerak, yaitu etil asetat : metanol : amonia (15:3:3) dan *n*-butanol : etil asetat : amonia (10:4:5). Larutan standar dan sampel ditotolkan sebanyak 5  $\mu$ L pada plat KLT silika gel F254, kemudian dielusi dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak selama kurang lebih 15 menit. Setelah elusi selesai, plat diamati secara visual dan di bawah sinar UV 254 nm, dan 366 nm untuk melihat posisi spot. Suatu fase gerak dikatakan optimal apabila mampu memberikan pemisahan bercak yang jelas, tidak menyatu, serta memiliki nilai Rf yang terpisah secara signifikan antara senyawa dan pengotor (Suharyani *et al.*, 2021).

##### b. Pembuatan larutan fase gerak

Fase gerak dibuat dari campuran *n*-butanol : etil asetat : amoniak (10:4:5) dalam 10,0 mL, kemudian dimasukkan dalam *chamber* dan ditutup, lalu didiamkan eluen hingga *chamber* terjenuhi yang dapat dilihat dari kertas saring telah terbasahi oleh fase gerak (Maulinda *et al.*, 2024).

##### c. Identifikasi sampel *liptint* dengan KLT

Plat KLT berukuran 10 x 10 cm diaktifkan dengan cara dipanaskan di dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Selanjutnya, ditandai tempat penotolan/garis batas bawah dan atas plat KLT berjarak 1 cm, lalu dibuat batas untuk penotolan dengan jarak antar noda adalah 1 cm. Setelah itu, larutan pembanding dan larutan uji ditotolkan pada plat KLT dengan pipa kapiler, dan dibiarkan beberapa saat hingga mengering. Plat KLT yang telah ditotolkan, dimasukkan ke dalam *chamber* yang sudah berisi fase gerak yang telah dijenuhkan, kemudian dilakukan proses elusi. Setelah proses elusi berakhir, plat KLT dikeringkan dan diamati secara visual serta di bawah sinar UV 254 dan 366 nm (Elfasyari *et al.*, 2020). Jika secara visual noda berwarna merah jambu dan di bawah sinar lampu ultraviolet berfluorosensi kuning atau orange, hal ini menunjukkan bahwa sampel

positif mengandung zat warna rhodamin B. Selanjutnya, dihitung nilai Rf pada masing-masing sampel dan standar. Nilai Rf sampel dibandingkan dengan nilai Rf standar Rhodamin B (Yuniarto *et al.*, 2019).

#### 5. Analisis Kuantitatif

##### a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan rhodamin B 100 ppm dipipet sebanyak 200  $\mu\text{L}$  dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL. Selanjutnya, ditambahkan etanol *p.a* sampai garis tanda dan dihomogenkan. Setelah itu, diukur serapan maksimumnya pada panjang gelombang 400 – 800 nm dengan menggunakan etanol *p.a* sebagai blangko (Asmawati *et al.*, 2019).

##### b. Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan rhodamin B 100 ppm dipipet sebanyak 150, 200, 250, 300, 350, dan 400  $\mu\text{L}$  dengan menggunakan mikropipet, kemudian dimasukkan ke labu ukur 10,0 mL sehingga akan diperoleh konsentrasi masing-masing larutan adalah 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; dan 4 ppm. Selanjutnya, diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan dan digunakan etanol *p.a* sebagai blangko. Setelah itu, dihitung persamaan hubungan antara kurva konsentrasi vs absorbansi (Asmawati *et al.*, 2019).

##### c. Penetapan kadar sampel

Larutan uji yang telah diekstraksi dengan HCl dilakukan pengenceran dengan cara diambil 0,5 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL dan ditambahkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas. Selanjutnya dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang sudah diperoleh (Asmawati *et al.*, 2019).

## H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

### 1. Perhitungan Nilai Rf

Perhitungan nilai Rf pada senyawa rhodamin B menggunakan metode KLT secara kualitatif terhadap senyawa pembanding baku rhodamin B (Nanda & Darayani, 2018). Nilai Rf dihitung dengan menggunakan rumus :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

## 2. Perhitungan Kadar Rhodamin B pada Sampel *Liptint*

Perhitungan kadar senyawa rhodamin B dapat dihitung menggunakan persamaan regresi linear yang menggambarkan hubungan antara konsentrasi (x) dengan absorbansi (y) (Nanda & Darayani, 2018). Nilai kadar dapat dihitung dengan rumus :

$$y = bx + a$$

Keterangan :

y = Absorbansi

a = *Slope Intercept*

b = *Intersept*

x = Konsentrasi

Selanjutnya dari persamaan regresi linear dihitung kandungan kadar rhodamin B dengan rumus :

$$\%Kadar = \frac{C \times V \times FP}{\text{Bobot sampel (mg)}} \times 100\%$$

Keterangan :

%Kadar = Kadar yang terkandung dalam sampel

C = Konsentrasi rhodamin B (mg/mL)

V = Volume sampel (mL)

FP = Faktor pengenceran

## 3. Nilai Rata-rata ( $\bar{x}$ )

Nilai rata-rata adalah nilai yang mewakili Kumpulan data. Mean atau rata-rata didapatkan dengan menjumlahkan keseluruhan data dibagi dengan banyaknya data (Fitria *et al.*, 2018). Nilai rata-rata dapat dihitung dengan rumus:

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

Keterangan:

$X_1 + X_2$  = Jumlah nilai pengukuran dari suatu sampel

$X_n$  = Jumlah banyaknya sampel yang dihitung

#### 4. Standar Deviasi (SD)

Simpangan baku atau standar deviasi, adalah ukuran yang digunakan untuk menunjukkan sejauh mana data tersebar atau bervariasi dari nilai rata-ratanya (Yusniyanti & Kurniati, 2017).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (xi - \bar{x})^2}{n-1}}$$

#### 5. Coefficient of Variation (CV)

Koefisien variasi atau *variation coefficient* adalah nilai perbandingan antara deviasi standar dengan nilai rata-rata yang dihitung (Yusniyanti & Kurniati, 2017).

$$CV = \frac{SD}{rata-rata} \times 100\%$$

Keterangan:

CV = Koefisien variasi

SD = Standar deviasi

#### 6. Limit of Error (LE)

*Limit of Error* (LE) adalah perkiraan rentang nilai yang mencakup nilai populasi sebenarnya (Hazra, 2017).

$$LE = t \text{ tabel} \times \frac{SD}{\sqrt{N}}$$

Keterangan:

LE = *Limit of Error*

t tabel = Nilai *t-table* untuk menentukan hipotesis dengan nilai ketetapan

SD = Standar deviasi

$\sqrt{N}$  = Akar kuadrat dari jumlah sampel (N)