BAB III
METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian laboratorium non eksperimental yang menggunakan analisis deskriptif. Sampel berupa *blush on* yang diambil dari pasar Tradisional Kecamatan Ketapang Lampung Selatan, dan penelitian ini melibatkan analisis kualitatif dan kuantitatif dengan menerapkan metode spektrofotometri UV-Vis.

B. Lokasi dan Waktu

1. Lokasi

   Tempat pengambilan sampel dilakukan di Pasar Tradisional Kecamatan Ketapang, Lampung Selatan dan penelitian dilakukan di Laboratorium Biofarmakologi Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu

   Waktu pelaksaanaan dari April sampai Mei tahun 2024.

C. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel *blush on* yang diambil dari pasar Tradisional Kecamatan Ketapang Lampung Selatan secara *pusposive sampling*. Sampel diambil dari 3 Pasar Tradisional, dengan sampel yang diambil berjumlah 8 sampel, dengan 2 sampel yang memiliki tipe *duo blush* dengan *shade* yang berbeda.

1. Kriteria inklusi
   a. *Blush on* tanpa nomor registrasi dan tertera nomor registrasi BPOM.
   b. *Blush on* dengan bentuk padat dengan harga <Rp 35.000,-.
   c. *Blush on* dengan warna merah mencolok atau merah muda.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

2. Kriteria eksklusi
   a. *Blush on* dengan harga >Rp 35.000,-.
   b. *Blush on* dengan warna yang tidak mencolok.
   c. *Blush on* yang sudah masuk waktu kadaluarsa.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

   Pada penelitian ini merk sampel *blush on,* jumlah sampel yang dianalisa dan lokasi pengambilan sampel sebagai variabel bebas.

2. Variabel terikat

   Pada penelitian ini hasil identifikasi serta kadar rhodamin-B sebagai variabel terikat

3. Variabel terkendali

   Pada penelitian ini jenis bentuk *blush on*, legalitas produk dan harga *blush on* sebagai variabel terkendali.

E. Definisi Operasional

1. *Blush on*

   Blush on yang diteliti harus memenuhi kriteria inklusi.

2. Kadar rhodamin-B

   Dengan spektrofotometri UV-Vis analisis kuantitatif dilakukan untuk mendapatkan absorbansi pada panjang gelombang maksimal rhodamin-B. Hasil absorbansi kemudian dihitung untuk menentukan kadar rhodamin-B yang berada dalam *blush on* yang dinyatakan dalam satuan milligram/gram (mg/g).

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat yang digunakan

   Blue tip, cawan, corong kaca, drop pipet, gelas beaker 100 mL, gelas ukur 100 mL, kaca arloji, labu ukur 5, 10, 50 mL, mikro pipet, timbangan analitik, pipet ukur, spektrofotometer UV-Vis (Thermo scientific Genesys 10S UV-Vis), spatula, tabung reaksi.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

2. Bahan yang digunakan

   Aquadest, HCl 4 M (*p.a*), kertas saring, metanol (*p.a*), Na_2SO_4 (*p.a*), rhodamin-B BPL, sampel *blush on*.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Analisis kualitatif rhodamin-B

   Ditimbang sampel masing-masing sebanyak 0,5 gram yang dianalisis diatas kaca arloji, lalu dimasukkan pada gelas beaker, ditambahkan 10 mL metanol aduk rata, selanjutnya diteteskan HCl 4 M sebanyak 4 tetes. Selanjutnya larutan di saring dengan kertas saring yang mengandung Na_2SO_4, selanjutnya filtrat yang sudah bening ditampung didalam tabung reaksi. Filtrat yang terdapat pada tabung reaksi di pipet sebanyak 200 µ*l*, selanjutnya masukkan pada labu ukur 5 mL dan ditambah metanol sampai garis, selanjutnya di gojog homogen. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum 400-600 nm. Selanjutnya dibandingkan panjang gelombang sampel dan standar (Puspita, 2018).

2. Validasi Metode

   a. Linearitas

      Uji linearitas dilakukan dengan membuat seri konsentrasi 1 ppm; 2 ppm; 3 ppm; 4 ppm dan 5 ppm dengan cara dipipet 200 µ*l*, 400 µ*l*, 600 µ*l*, 800 µ*l* dan 1000 µ*l* pada larutan induk rhodamin-B 50 ppm. Tahap selanjutnya dimasukkan setiap konsentrasi secara berturut-turut ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan metanol sampai batas lalu digojog hingga tercampur rata. Selanjutnya masing-masing seri konsentrasi dilakukan pengukuran 3 kali pada panjang gelombang maksimum.

   b. Presisi

      Uji presisi dilakukan dengan membuat seri konsentrasi 3 ppm yaitu dipipet 600 µ*l* larutan induk rhodamin-B 50 ppm kemudian dimasukkan pada labu ukur 10 mL di tambahkan dengan metanol sampai tanda batas, lalu digojog homogen dan dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum dengan 6 kali pengukuran.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

c. Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan membuat seri konsentrasi 3 ppm dengan cara dipipet 600 µ*l* dari larutan sampel dimasukkan dalam labu ukur 10 mL ditambahkan dengan konsentrasi 1 ppm dengan cara dipipet 200 µ*l* larutan rhodamin-B 50 ppm, kemudian ditambahkan dengan metanol sampai tanda batas lalu digojog homogen. Selanjutnya dilakukan pengukuran pada panjang gelombang maksimum sebanyak 6 kali pengulangan.

d. LOD dan LOQ

Untuk mendapatkan LOD yaitu berdasarkan perhitungan statistik dengan rumus LOD yaitu 3 dikali SD presisi selanjutnya dibagi dengan x dari linearitas. Sementara LOQ yaitu dari perhitungan statistik yaitu 10 dikali SD presisi selanjutnya dibagi dengan x dari linearitas (Putri *et al.,* 2024).

3. Analisis kuantitatif Rhodamin-B

a. Pembuatan larutan induk rhodamin-B 1000 ppm

Ditimbang zat warna rhodamin-B sebanyak 50 mg dimasukkan pada labu ukur berukuran 50 mL, kemudian dilarutkan dengan metanol secukupnya hingga terlarut. Selanjutnya larutan dicukupkan dengan metanol sampai batas dan dihomogenkan dengan cara di gojog.

b. Pembuatan larutan rhodamin-B 50 ppm

Diambil sebanyak 2,5 mL larutan rhodamin-B konsentrasi 1000 ppm, selanjutnya dimasukkan pada labu ukur berukuran 50 mL, ditambah metanol *p.a* hingga batas, lalu digojog homogen.

c. Penentuan panjang gelombang maksimum larutan rhodamin-B

Diambil 1 mL dari baku rhodamin-B 50 ppm selanjutnya dimasukkan ke labu ukur 10 mL sehingga dihasilkan konsentrasi 5 ppm, kemudian ditambah metanol hingga batas tanda lalu dihomogenkan. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 400-800 nm, menggunakan blanko yaitu metanol *p.a*.

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

d. Penentuan kurva baku

Diambil larutan rhodamin-B 50 ppm secara berurutan 200 µ*l*, 400 µ*l*, 600 µ*l*, 800 µ*l* dan 1000 µ*l*. Ditambah metanol pada setiap volume secara berurutan hingga batas pada labu ukur 10 mL dan dihomogenkan dengan cara digojog, sehingga dihasilkan seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5 ppm, kemudian absorbansi diukur dengan panjang gelombang maksimum, dengan metanol sebagai blanko.

e. Pengujian sampel

Ditimbang dengan seksama 0,5 g sampel *blush on* dimasukkan ke dalam gelas beaker, selanjutnya 10 mL metanol ditambahkan, diteteskan HCl 4M sebanyak 2 tetes dan kemudian dihomogenkan dengan cara diaduk. Selanjutnya disaring, penyaringan dilakukan hingga larutan sampel bening. Kemudian filtratnya ditadahkan dalam tabung reaksi. selanjutnya diambil 0,2 mL filtrat selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur berukuran 5 mL, ditambah metanol hingga garis digojog homogen, absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum (Taupik *et al.,* 2021).

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

Metode pengolahan data pada penelitian ini yaitu melibatkan proses pengolahan serta analisis data dengan cara penentuan kadar rhodamin-B. Data dianalisis sebagai penentu kadar rhodamin-B dilakukan dengan menarik kurva baku versus konsentrasi pembanding dengan absorbansi yang didapatkan menggunakan program Microsoft Excel. Hasil yang didapat akan berupa regresi linear yang ditulis dengan persamaan y = bx+a, selanjutnya kadar rhodamin B yang terkandung diketahui dengan cara dihitung menggunakan rumus:

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

Keterangan :

K : kadar yang terkandung pada *sample* (mg/g)

X : kadar sesudah pengenceran

V : Volume *sample* (mL)

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

Fp : Faktor pengenceran

Bs : Bobot *sample*

hasil pengujian sampel yang telah direplikasi kemudian dihitung rata-rata, standar deviasi (SD), *coefficient variance* (CV), dan *Limit of Error* (LE). Kandungan rhodamin-B dalam sampel dinyatakan mg/g sampel ± LE.

1. Rata-rata = $\frac{X1+X2+X3+\cdots+Xn}{n}$

   Keterangan :

   X : jumlah nilai

   N : banyak data

2. Standar deviasi (SD) dapat dilakukan menggunakan Microsoft excel. Jika variasi data jauh lebih besar daripada rata-ratanya, maka nilai SD juga akan besar. Sebaliknya, jika variasi data lebih kecil daripada rata-ratanya, maka nilai SD juga akan kecil. Menurut Soewarno, (1995) rumus perhitungan nilai SD ialah sebagai berikut:

   SD = $\sqrt{\frac{\sum_{1-n}^{n} Xi-Xrata)2}{n-1}}$

   Keterangan:

   SD : Standar deviasi

   Xi : nilai varians

   Xrata : rata-rata hitung

3. Koefisien variasi (CV)

   Koefisien variasi (CV) ialah ukuran statistik yang menunjukkan tingkat penyebaran data dalam suatu distribusi. CV dihitung dengan membagi standar deviasi dengan nilai rata-rata distribusi, dan sering kali ditampilkan sebagai presentase. Menurut Soewarno, (1995) untuk mencari koefisien variasi (CV) ialah sebagai berikut:

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

   Keterangan :

   CV : ketetapan variasi

   SD : standar deviasi

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA PERPUSTAKAAN

X : Rata-rata hitung

4. *Limit of Error* (LE)

Limit of Error (LE) ialah ukuran statistik deskriptif, dapat dianggap sebagai rentang nilai, yang dihitung dari pengamatan sampel, yang mungkin mengandung nilai populasi sebenarnya dengan tingkat ketidakpastian tertentu. Selain itu dapat digunakan untuk menarik kesimpulan terkait populasi yang mendasarinya (Hazra, 2017).

LE= t tabel $\frac{SD}{\sqrt{n}}$

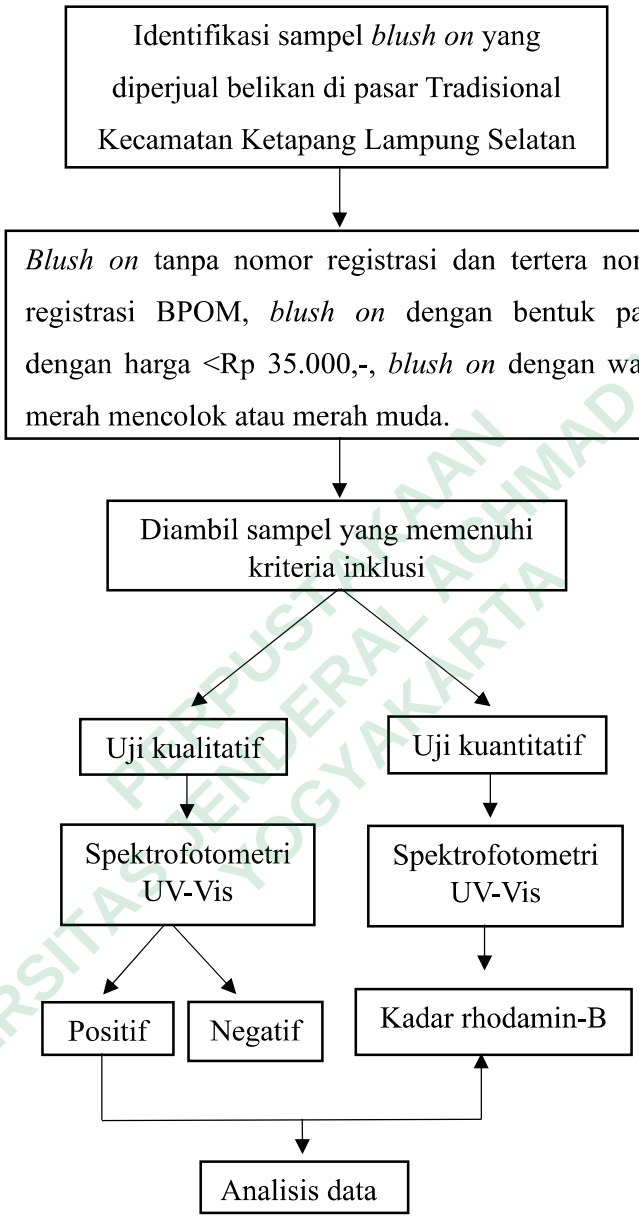
Keterangan :

SD : nilai standar deviasi

n : jumlah sampel

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

I. Skema Pelaksanaan Penelitian



Gambar 4. Skema Pelaksanaan Penelitian

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA