

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian deskriptif, yakni menggambarkan *kosmetik eyeshadow* di Pasar Krian Sidoarjo yang mengandung Rhodamin B. Penelitian deskriptif dilakukan dengan tujuan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan fakta-fakta mengenai populasi secara sistematis, dan akurat. Dalam penelitian deskriptif fakta-fakta hasil penelitian disajikan apa adanya (Rinaldi & Mujianto, 2017). Data yang digunakan diperoleh dari pengujian laboratorium pada *eyeshadow* yang dicurigai mengandung Rhodamin B yang dilarang penggunaannya dalam kosmetik jenis pemerah mata dengan melakukan analisis metode kromatografi lapis tipis.

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

##### **3.2.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah kosmetik sediaan *eyeshadow* yang dijual di pasar Krian, Kabupaten Sidoarjo.

##### **3.2.2 Sampel**

Sebanyak 4 merek *eyeshadow* digunakan untuk penelitian ini, namun ketika di uji memakai sampel sebanyak 9 dari 3 merek *eyeshadow*, dikarenakan tiap sampel *eyeshadow* memiliki pallet yang berisi macam-macam warna merah muda hingga merah tua. Lalu 1 merek *eyeshadow* memiliki nomor registrasi BPOM dijadikan sebagai Kontrol Negatif, sampel ini berwarna merah muda. Sampel menggunakan *eyeshadow* yang berwarna merah muda sampai merah tua yang dijual di pasar Krian. Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini purposive sampling dengan kriteria berwarna merah muda dan merah tua cerah mengkilap dan lebih mencolok, pada kemasan produk tidak tertulis nomor registrasi dan izin edar BPOM, nama brand *eyeshadow* yang kurang terkenal, dan harganya murah.

### **3.3 Tempat dan Waktu**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi, Universitas Machung, Malang pada bulan Januari 2023.

### **3.4 Alat dan Bahan**

#### **3.4.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah lempeng KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> siap pakai ukuran 10x17 cm tebal 0,25 mm, pipa kapiler micropipet (1-5  $\mu$ L); lampu UV 254 nm dan 366 nm, kertas saring, spatula, mortal dan alu, neraca analitik, oven, ultrasonik, vial, botol reagen gelap, corong, gunting, *cutter*, labu ukur 25 ml, gelas beaker 50 ml, chamber, pipet tetes, batang pengaduk, gelas ukur 25 mL, pipet ukur 10 mL, bola hisap

#### **3.4.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Aquades, Sampel *eyeshadow* yang diambil di pasar Krian Sidoarjo, Amonia 25%, n-butanol, HCL 4 N, Etil asetat, Metanol, Aquadest, Rhodamin B.

### **3.5 Variabel Penelitian**

Variabel terikat pada penelitian ini adalah Rhodamin B (merah K10) yang terkandung dalam kosmetik sediaan *eyeshadow*. Sedangkan variabel bebasnya yaitu sampel kosmetik sediaan *eyeshadow* yang dijual di pasar Krian, Kabupaten Sidoarjo.

### 3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
<i>Eyeshadow</i>	<i>Eyeshadow</i> yang tidak dicantumkan bahan-bahan yang digunakan, tulisan dalam kemasannya menggunakan bahasa selain bahasa Indonesia, dalam kemasannya tidak terdapat nomor ijin edar dari BPOM.	-	-	-
Kandungan zat pewarna Rhodamin B	Ada tidaknya Rhodamin B dalam sampel yang diidentifikasi dengan metode kromatografi lapis tipis.	Rf	Apabila menunjukkan hasil (+) maka terdapat kandungan Rhodamin B dan apabila (-) maka tidak terdapat kandungan Rhodamin B	Rasio

### 3.7 Metode Penelitian

Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011, Rhodamin B merupakan bahan pewarna yang dilarang pemakaiannya dalam semua jenis kosmetik. Untuk proses preparasi larutan uji menggunakan penelitian dari Arfina yang berjudul “Analisi Kandungan Rhodamin B pada Kosmetik Perona Pipi yang Beredar Di Pasar Tradisional Kota Makassar”

#### 3.7.1 Pengambilan Sampel

Metode pengambilan sampel yang dilakukan merupakan purposive sampling. Purposive sampling adalah metode sampling yang digunakan oleh peneliti bila peneliti memiliki pertimbangan-pertimbangan tertentu dalam mengambil sampelnya. Sampel yang digunakan diambil dari populasi berdasarkan tiga parameter yaitu *eyeshadow* yang tidak dicantumkan bahan-bahan yang digunakan, tulisan dalam kemasannya menggunakan bahasa asing, dalam kemasannya tidak terdapat nomor registrasi dari BPOM.

### **3.7.2 Preparasi Sampel**

Sampel *eyeshadow* diambil dari pallet, kemudian dimasukkan didalam mortal dan alu, lalu dihancurkan hingga homogen. Fokus warna yang akan diteliti adalah warna merah muda, merah cerah, merah tua.

### **3.7.3 Pembuatan Larutan Baku Rhodamin B**

Ditimbang dengan teliti Rhodamin B sebanyak 1,5 gram, lalu dilarutkan dan diencerkan dengan metanol hingga kadar 20 mL.

### **3.7.4 Penyiapan Larutan Uji Sampel *Eyeshadow***

Sampel *eyeshadow* ditimbang  $\pm$  500 mg dimasukkan kedalam beaker glass, kemudian ditambahkan 4 tetes asam klorida 4 N, dan ditambahkan 2 ml metanol, dan dihomogenkan selanjutnya dicukupkan dengan metanol sampai 10 ml. Kemudian sampel dipisahkan dari residu dengan disentrifugasi selama 5 menit (kecepatan 5000 rpm). kemudian diaduk hingga tercampur rata dan disaring dengan menggunakan kertas saring (Arfina, 2013).

### **3.7.5 Pembuatan Kontrol Positif**

Dihancurkan sampel *eyeshadow* menggunakan mortal dan alu. Kemudian ditimbang sampel *eyeshadow* sebanyak 500 mg lalu ditambahkan Rhodamin B sebanyak 200 mg. Kemudian ditambahkan 4 tetes asam klorida 4 N, dan ditambahkan 2 ml metanol, dan dihomogenkan selanjutnya dicukupkan dengan metanol sampai 10 ml. Kemudian sampel dipisahkan dari residu dengan disentrifugasi selama 5 menit (kecepatan 5000 rpm). Kemudian diaduk hingga tercampur rata dan disaring dengan menggunakan kertas saring (Arfina, 2013).

### 3.7.6 Pembuatan Kontrol Negatif

Dihancurkan sampel *eyeshadow* yang berBpom menggunakan mortal dan alu, kemudian sampel ditimbang sebanyak 500 mg. Kemudian ditambahkan 4 tetes asam klorida 4 N, dan ditambahkan 2 ml metanol, dan dihomogenkan selanjutnya dicukupkan dengan metanol sampai 10 ml. Kemudian sampel dipisahkan dari residu dengan disentrifugasi selama 5 menit (kecepatan 5000 rpm). Kemudian diaduk hingga tercampur rata dan disaring dengan menggunakan kertas saring (Arfina, 2013).

### 3.7.7 Pembuatan Fase Gerak

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.03.1.23.08.11.07.331 Tahun 2011 Tentang Metode Analisis Kosmetika, untuk mengidentifikasi Rhodamin B pada kosmetik dapat dilakukan dengan berbagai fase gerak seperti :

1. Fase gerak A : Diklorometan
2. Fase gerak B : campuran etil asetat-metanol-(amonia+air 25%) (15:3:3)
3. Fase gerak C : campuran etanol-air-isobutanol-amonia 25% (31:32:40:1)
4. Fase gerak D : campuran isopropanol-amonia 25% (100:25)
5. Fase gerak E : campuran n-butanol – etanol – air - asam asetat glasial (60:10:20:0:5)
6. Fase gerak F : campuran etil asetat – n butanol – amonia 25% (20:55:25).

Nilai Rf yang tertera dalam tabel dibawah ini, merupakan harga perkiraan yang mungkin diperoleh :

**Tabel 2. 6 Perkiraan Nilai Rf**

Nomor CI	Nama Pewarna	Warna Bercak	Perkiraan Nilai Rf Pada Sistem Larutan Pengembang					
			A	B	C	D	E	F
CI 12075	Jingga K1	Jingga	0,4	-	-	-	-	-
CI 13065	Kuning Metanil	Kuning	-	0,4	0,9	0,7	0,6	0,65
CI 45170	Merah K10	Pink Cerah	-	0,8	0,8	0,7	0,4	0,88

Sumber : Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI Nomor HK.03.1.23.08.11.07517 tentang persyaratan teknik kosmetik tahun 2011.

Dalam penelitian ini, dipilih fase gerak F campuran dari n-butanol , Amonia 25%, Etil asetat, dengan perbandingan (55:25:20) sebanyak 100 mL fase gerak ini dipilih karena tingkat keberhasilan tinggi, banyak digunakan dari penelitian terdahulu, harganya pelarut yang murah, dan mudah di temukan.

### 3.7.8 Pembuatan Fase Diam

Dipotong lempeng KLT silika gel 60 F<sub>254</sub> dengan ukuran 10x17 cm. Kemudian di aktifkan dengan di oven selama 30 menit menggunakan suhu 105 °C.

## 3.8 Pemeriksaan Sampel

### 3.8.1 Pengujian Dengan KLT

Bejana KLT (chamber) dilapisi menggunakan kertas saring, lalu dijenuhkan dengan etil asetat –n-butanol – amoniak 25% (20:55:25, 20ml/55ml/25ml). Kemudian lempeng KLT dibuat batas penotolan dan batas eluasi lebih kurang 15 cm. Lalu ditotolkan secara terpisah, masing-masing 0,7 cm larutan baku Rhodamin B dan sejumlah volume sama larutan uji (tergantung kepekatan warna) pada batas penotolan. Selanjutnya dikembangkan lempeng dalam masing-masing bejana kromatografi yang berisi larutan pengembang sampai batas elusi pada suhu ruang. Angkat lempeng KLT dan keringkan pada suhu ruang. (jarak penotolan 0,7 cm)

### 3.8.2 Identifikasi Rhodamin B

Dihitung nilai Rf untuk masing-masing bercak. Lalu dibandingkan nilai Rf dan warna bercak pada pengamatan secara visual yang diperoleh dari larutan uji dan larutan baku. Diamati bercak Merah K10 di bawah penyinaran lampu UV, bercak berwarna terang yang menunjukkan adanya pewarna golongan ksanten (xanthene).

### 3.9 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari prosedur klt adalah nilai rf sampel dan nilai rf standart. nilai tersebut kemudian dibandingkan untuk mengetahui sampel positif dan negatif Rhodamin B.

**Tabel 3. 2 Hasil Identifikasi Rhodamin B Pada Sampel *Eyeshadow***

No.	Kode Sampel	Jarak Tempuh Eluen		Warna Bercak Noda		Nilai Rf	
		1	2	1	2	1	2
1	Kontrol Positif						
3	Baku Rhodamin B						
4	A1						
5	A2						
6	A3						
7	A4						
8	B1						
8	B2						
9	B3						
10	B4						
11	C1						
12	Kontrol Negatif (D1)						