

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Deskriptif, yaitu melakukan analisis kandungan Rhodamin B pada gula kapas secara Kualitatif dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan prinsip penarikan zat warna dengan benang wol. Sampel yang digunakan yaitu sebanyak 3 sampel dari tempat yang berbeda seperti Pasar, Alun-alun dan Pertokoan. Lokasi pengambilan tersebut dipilih berdasarkan tempat yang strategis dan memiliki banyak pembeli. Setiap sampel dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

#### **3.2 Waktu Dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Ma Chung Malang pada 28 dan 29 Januari 2021. Pengambilan sampel dilakukan pada tanggal 27 Januari 2021.

#### **3.3 Bahan Dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 3 sampel gula kapas berwarna merah yang berasal dari tempat yang berbeda yaitu pasar, alun-alun dan pertokoan, Asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 10% (EMSURE<sup>®</sup>), Ammonia ( $\text{NH}_3$ ) 2% dan 10% (EMSURE<sup>®</sup>), Etanol 70% (EMSURE<sup>®</sup>), Baku pembanding Rhodamin B (Microscopy), Aquades, Larutan elusi (n butanol : etil asetat : ammonia = 10 : 4 : 5), Plat TLC Silica Gel GF 254, Kertas saring Whatman no. 42 (Laborindo), Benang wol bebas lemak, Aluminium foil, Tisu dan Kertas label.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Erlenmeyer 100 ml (IWAKI), Labu ukur 10 ml (IWAKI), Gelas beker 50 ml (IWAKI), 100 ml dan 250 ml (IWAKI), Pipet tetes, Pipet volume 5 ml dan 10 ml (IWAKI), Batang pengaduk,

Corong gelas (IWAKI), Timbangan analitik (OHAUS), Hot plate (Lab Tech), Oven (Memmert), Chamber (CAMAG), Pinset, Pensil dan Penggaris.

### 3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas penelitian ini adalah kandungan Rhodamin B.

3.4.2 Variabel terikat penelitian ini adalah hasil pemeriksaan kualitatif dari Rhodamin B.

### 3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Kandungan Rhodamin B pada makanan gula kapas	Menunjukkan hasil nilai Rf dengan menggunakan plat KLT yang dinyatakan dalam jarak (cm)	Uji kualitatif rhodamin B pada makanan gula kapas dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	Apabila menunjukkan hasil positif mengandung rhodamin B maka ditandai dengan jarak Rf sampel sama dengan jarak Rf Standart.	Rasio

### 3.6 Metode Penelitian

Sampel Gula Kapas diambil dari beberapa tempat di kabupaten Pasuruan seperti pasar, alun-alun, dan pertokoan. Sampel gula kapas dibeli masing-masing diambil 50 gram sampel gula kapas dari masing-masing pedagang gula kapas dengan total 2 pedagang gula kapas dan 1 sampel dari minimarket atau pertokoan di Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur.

#### 3.6.1 Pembuatan Larutan

##### a. Pembuatan Larutan Elusi

- Dipipet larutan n butanol : etil asetat : ammonia dengan perbandingan larutan 10 : 4 : 5, jika dibuat larutan sebanyak 100 ml maka perbandingan larutan sebanyak 55 ml : 20 ml : 25 ml.

- Dimasukkan kedalam chamber dan ditutup
- Dijenuhkan larutan

**b. Pembuatan Larutan Ammonia 2% dan 10%**

**1) Ammonia 2%**

- Dipipet larutan ammonia 25% sebanyak 16 ml dan dimasukkan dalam gelas kimia 250 ml
- Ditambahkan larutan etanol 70% sebanyak 164 ml
- Ditutup menggunakan aluminium foil.

**2) Ammonia 10%**

- Dipipet larutan ammonia 25% sebanyak 80 ml dan dimasukkan dalam gelas kimia 250 ml
- Ditambahkan larutan etanol 70% sebanyak 120 ml
- Ditutup menggunakan aluminium foil.

**c. Pembuatan Larutan Asam Asetat 10%**

- Dipipet larutan asam asetat 25% sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam gelas kimia 50 ml
- Ditambahkan larutan aquades sebanyak 49 ml
- Ditutup menggunakan aluminium foil.

**d. Pembuatan Larutan NaOH 1%**

- Ditimbang padatan NaOH sebanyak 0,5 gram dengan menggunakan timbangan analitik langsung di dalam labu 50 ml
- Ditambahkan aquades hingga tanda batas
- Dipindahkan ke dalam gelas kimia 50 ml.

**e. Pembuatan Larutan Baku Pembanding**

- Ditimbang padatan baku pembanding rhodamin B sebanyak 10 mg dengan menggunakan timbangan analitik langsung di dalam labu ukur 10 ml
- Dilarutkan dengan menggunakan etanol 70%
- Dikocok hingga homogen.

**3.6.2 Cara Kerja**

**a. Penghilangan Lemak Pada Benang Wol**

- Dipotong benang wol sepanjang 30 cm

- Dididihkan benang wol dengan menggunakan aquades sebanyak 50 ml dalam gelas kimia
- Dikeringkan dengan menggunakan tisu
- Dicuci dengan menggunakan larutan Kloroform
- Dididihkan kembali benang wol dengan menggunakan larutan NaOH 1%
- Dibilas dengan menggunakan aquades
- Dikeringkan kembali dengan menggunakan tisu (Julyana, 2013).

**b. Preparasi Sampel**

- Ditimbang sampel gula kapas  $\pm$  1 gram
- Dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- Ditambahkan 20 ml larutan ammonia 2%
- Disaring dengan kertas saring whatman no. 42
- Dipindahkan cairan ke dalam gelas kimia dan diuapkan di atas hot plate
- Dilarutkan residu dalam 10 mL air yang mengandung asam (larutan asam dibuat dengan mencampurkan 10 mL air dan 5 mL asam asetat 10%)
- Dididihkan benang wol sepanjang 15 cm di dalam larutan campuran asam tersebut
- Diambil benang wol dan dicuci berulang - ulang dengan air hingga bersih
- Diletakkan benang wol dalam gelas beaker 100 ml
- Ditambahkan 20 ml larutan ammonia encer 10%
- Dididihkan hingga zat warna pada benang wol luntur
- Diambil larutan berwarna tersebut dan dipekatkan sedikit di atas penangas air.

**c. Analisis Kualitatif Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

- Dibuat plat klt berukuran 10 cm x 10 cm kemudian diberi batas bawah dan batas atas masing – masing sebesar 2 cm dengan menggunakan pensil

- Ditotolkan pekatan dan zat warna pembanding kurang lebih 10  $\mu$ l pada plat KLT menggunakan pipa kapiler
- Dimasukkan dengan hati-hati plat klt ke dalam chamber tertutup yang berisi eluen (n butanol : etil asetat : ammonia = 10 : 4 : 5) yang telah dijenuhkan sebelumnya dengan posisi fase gerak berada di bawah garis
- Diambil plat klt pada saat eluen mendekati garis batas atas dan dibiarkan kering hingga pelarut hilang
- Diamati warna secara visual dan di bawah Lampu UV 366 nm berflouresensi kuning atau orange (Cahyadi, 2012).

### 3.7 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian kemudian dikumpulkan dan diolah data untuk ditulis dalam laporan hasil penelitian. Hasil tersebut berupa uji organoleptik meliputi warna, bau, rasa, tekstur dan nilai Rf dari sampel. Data kemudian akan disajikan menggunakan teknik tabel. Berikut merupakan tabel pengolahan data :

Tabel 3.2 Penyajian Data

NO	Sampel	Uji Organoleptik	Nilai Rf Sampel	Nilai Rf Standart	Keterangan
1.	A				
2.	B				
3.	C				

Sampel dianalisis dengan cara membandingkan hasil yang diperoleh dengan nilai Rf standart Rhodamin B. Sampel dinyatakan positif apabila memiliki bercak warna sama dengan standart dan memliki nilai Rf sama atau mendekati dengan selisih  $\leq 0,2$ . Untuk mengetahui nilai Rf dapat dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh substansi}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}}$$

