

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian eksperimen ini menerapkan cara deskriptif baik secara kuantitatif maupun kualitatif untuk menilai konsentrasi Rhodamin B dalam produk liptint yang ada di Kota Kupang. Data kualitatif diperoleh melalui Kromatografi Lapis Tipis (KLT), sementara data kuantitatif didapatkan dengan memakai Spektrofotometri UV-Vis.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Instrumen dan Laboratorium Kimia Prodi Farmasi, Poltekkes Kemenkes Kupang.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga bulan April, Tahun 2026.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Produk liptint yang berada di pasaran Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur.

2. Sampel dan Teknik Sampling

a. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah produk liptint yang dijual pada beberapa lokasi di pasaran Kota Kupang.

b. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah *purposive sampling*, dengan kriteria produk lipint yang tidak teregistrasi BPOM dan memiliki sediaan berwarna cerah.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah produk lipint yang dijual di Kota Kupang.

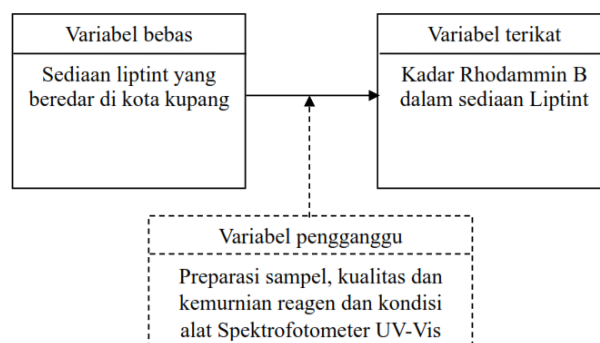
2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar Rhodamin B yang terdapat dalam produk lipint.

3. Variabel Pengganggu

Prosedur persiapan sampel, kemurnian bahan kimia, dan kondisi alat spektrofotometer UV-Vis adalah faktor pengganggu dalam penelitian ini.

E. Kerangka Konsep



Gambar 3. Hubungan antar variabel

Keterangan _____ : yang diteliti
 - - - - - : tidak diteliti

F. Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Skala
1.	Liptint	Produk kosmetik untuk mewarnai bibir dalam bentuk cair atau semi cair dengan warna yang mencolok.	Nominal
2.	Rhodamin B	Salah satu jenis pewarna buatan yang dikenal sebagai Rhodamin B berupa serbuk kristal berwarna hijau atau merah muda yang tidak memiliki bau dan mampu bercahaya.	Nominal
3.	Kadar Rhodamin B	Dalam sampel lip tint, kadar pewarna buatan Rhodamin B dinyatakan dalam satuan bagian part per juta (ppm) atau mg/L.	Rasio
4.	Spektrofotometer UV-Vis	Metode analisis kuantitatif mengacu pada penyerapan (absorbansi) radiasi elektromagnetik oleh pewarna Rhodamin B pada panjang gelombang optimal yang berkisar antara 540 hingga 560 nm.	Rasio
5.	Kromatografi Lapis Tipis	Metode pemisahan fisikokimia yang digunakan untuk analisis kualitatif berdasarkan pada perbedaan polaritasnya menggunakan fase diam (gel silika) dan eluennya (cairan pelarut)	Nominal

G. Prosedur Penelitian

Metode eksperimen yang telah dimodifikasi diterapkan dalam penelitian ini (Herdini *et al.*, 2025).

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini mencakup lempeng silika gel 60 F254 (Merck), lampu ultraviolet 254 nm atau 366 nm,

Spektrofotometer Shimadzu UV-Vis, *chamber*, timbangan analitik, kaca arloji, labu ukur berkapasitas 50 dan 10 mL (Pyrex), pipet volumetrik (Pyrex), mikropipet, kuvet berbahan kaca, batang pengaduk, erlenmeyer (Iwaki), kertas saring, gelas beaker (Iwaki), pipa kapiler, tabung reaksi (Iwaki), rak untuk tabung, dan corong kaca (Pyrex).

b. Bahan

Dalam penelitian ini, bahan yang digunakan meliputi Baku Rhodamin B (Merck), sampel lip tint, metanol PA (Emsure), n-heksan, etil asetat, n-butanol, amonia 25%, n-propanol, amonia, HCl 4 M, dan aquadest.

2. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan mengambil produk lipint dengan 8 merek yang berbeda pada beberapa lokasi di Kota Kupang. Dengan kriteria sampel, tidak teregistrasi BPOM dan memiliki warna mencolok.

3. Analisis Kualitatif dengan Metode KLT

a. Penyiapan Larutan Baku

Untuk mempersiapkan larutan baku standar Rhodamin B, sebanyak 2 mg Rhodamin B ditimbang. Setelah itu, sebanyak 10 mL metanol p.a ditambahkan, dan campuran tersebut diaduk agar warna Rhodamin B larut sepenuhnya. Proses ini diulang dua kali untuk setiap jenis eluen yang digunakan.

b. Preparasi Sampel

Menggunakan kaca arloji, ditimbang sampel uji seberat 0,1 gram, lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia dan dilarutkan dengan 2 mL metanol

p.a. Selanjutnya, 5 mL n-heksan disiapkan untuk proses ekstraksi lemak. Ekstraksi lemak dilakukan untuk memisahkan lemak berdasarkan perbedaan kelarutannya dalam dua jenis pelarut. Campuran tersebut kemudian dikocok secara manual dan dibiarkan sehingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas terdiri dari n-heksan, sementara lapisan bawah adalah metanol. Lapisan atas dibuang, sedangkan lapisan bawah dikumpulkan. Kemudian, ekstrak tersebut dipindahkan ke dalam tabung reaksi.

c. Prosedur KLT

Plat KLT ukuran 5×8 cm dipanaskan di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Kemudian sampel ditotolkan pada plat menggunakan pipa kapiler pada jarak 1 cm dari bagian bawah plat, dengan jarak antar noda juga 1 cm. Pengujian dilakukan dalam dua perlakuan terpisah menggunakan pelat dan ruang pengembangan yang berbeda. Pada fase gerak I, pelat dimasukkan ke dalam ruang pengembangan yang telah dijenuhkan uapnya dan berisi fase gerak campuran etil asetat : n-butanol: amonia 25% dengan perbandingan (2:5,5:2,5), sedangkan pada Fase gerak II digunakan fase gerak campuran n-propanol dan amonia dengan perbandingan (9:1). Setelah itu, plat dibiarkan terelusi, lalu diangkat dan dikeringkan pada suhu ruang. Warna noda diamati secara visual noda tampak berwarna merah muda dan dibawah sinar 366 nm menunjukkan fluoresensi kuning, serta nilai R_f -nya dihitung. Nilai R_f

dari sampel kemudian dibandingkan dengan nilai R_f dari baku Rhodamin B.

4. Analisis Kuantitatif dengan Spektrofotometer UV-Vis

a. Pembuatan larutan standar Rhodamin B 1000 ppm.

Sebanyak 50 mg Rhodamin B, ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 50 mL, kemudian dilarutkan dengan 50 mL metanol p.a, aduk hingga merata.

b. Pembuatan larutan standar Rhodamin B 100 ppm

Menggunakan pipet, ambil 5 mL larutan Rhodamin B dari larutan 1000 ppm, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan selanjutnya ditambahkan metanol p.a hingga batas tanda yang ditentukan.

c. Penentuan Panjang Gelombang Tertinggi Larutan Rhodamin B.

Ambil 0,5 mL larutan Rhodamin B dari 100 ppm dengan pipet mikro dan masukkan ke dalam gelas ukur 25 mL (konsentrasi 2,0 ppm). Tambahkan metanol p.a hingga mencapai batas garis dan aduk campuran tersebut sampai homogen. Ukur serapan maksimumnya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan blangko metanol.

d. Penetapan Kurva Kalibrasi.

Dari larutan Rhodamin B dengan konsentrasi 100 ppm, diambil 0,40; 0,50; 0,60; 0,70 dan 0,80 mL menggunakan pipet mikro, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL (dengan setiap larutan memiliki konsentrasi 1,6 ; 2,0; 2,4; 2,8; 3,2 mg/L). Setelah itu, dilakukan

pengukuran serapan pada panjang gelombang maksimum, dan metanol digunakan sebagai blanko untuk menghasilkan kurva kalibrasi.

e. Preparasi Sampel.

Sebanyak 0,2 gram, sampel ditimbang menggunakan kaca arloji, dimasukkan ke dalam gelas kimia, lalu dilarutkan ke dalam 4 mL metanol p.a. Proses pemisahan lemak dilakukan dengan penambahan 10 mL n-heksan. Campuran dikocok secara manual dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dibuang sementara itu, lapisan bawah ditampung dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi sebagai larutan uji. Hasil ekstraksi kemudian dipipet 0,5 ml dan dimasukkan ke labu ukur 25 ml, tambahkan metanol hingga tanda batas.

f. Penetapan Kadar.

Larutan analisis yang diperoleh dari proses persiapan sebelumnya, diambil secukupnya dan dimasukkan ke dalam kuvet. Pengukuran absorbansi diukur pada panjang gelombang tertinggi yang telah ditentukan, menggunakan metanol p.a sebagai larutan acuan. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam rumus regresi linier untuk menghitung konsentrasi Rhodamin B dalam sampel.

H. Analisis Data

Penetapan Rhodamin B dihitung secara kualitatif dan kuantitatif

1. Identifikasi (Kualitatif)

Menghitung nilai R_f (Rasio Retardasi) untuk noda sampel dan standar.

$$R_f = \frac{\text{Jarak noda yang ditempuh sampel}}{\text{Jarak fase gerak dari titik awal}}$$

Suatu sampel dianggap positif jika terdapat kandungan pewarna Rhodamin B ketika nilai R_f yang diperoleh sesuai dengan standar Rhodamin B, yaitu berkisar 0,2 hingga 0,8 (Ariska, 2025).

2. Penetapan Kadar (Kuantitatif)

Kadar Rhodamin B dihitung menggunakan persamaan regresi linier atau metode perhitungan kadar ekivalen Rhodamin B.

$$Y = a + bX$$

Keterangan :

Y = Absorbansi larutan sampel yang diukur.

X = Konsentrasi Rhodamin B dalam larutan sampel

a = Intercept (titik potong) dari kurva baku standar

$$a = \frac{(\sum y)(\sum x^2) - (\sum x)(\sum xy)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

b = Slope (kemiringan) dari kurva baku standar

$$b = \frac{n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{n(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

Dilanjutkan dengan menghitung kadar total Rhodamin B menggunakan

rumus:
$$\text{Kadar Total} = \frac{X \times V}{Bs \times 1000} \times Fp$$

Keterangan :

X = Konsentrasi Rhodamin B dalam sampel (mg/L)

V = Volume larutan sampel (mL)

Fp = Faktor pengenceran

Bs = Berat sampel (gr)