

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *eksperimental*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Sains, Teknologi dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta pada bulan Mei 2023.

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

##### **3.2.1 Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah *blush on* yang dijual melalui *online shop* daerah Surakarta.

##### **3.2.2 Sampel**

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan metode *purposive sampling*. Metode *purposive sampling* adalah teknik pengambilan sampel dengan pertimbangan tertentu (Hikmawati, 2020).

###### **a. Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi ciri-ciri yang perlu dipenuhi oleh setiap anggota populasi yang dapat diambil sebagai sampel (Notoatmodjo, 2012). Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah:

- 1) *Blush on* yang dijual melalui *online shop* *Shopee*, *Lazada* dan *Tokopedia* daerah *Surakarta*.
- 2) *Blush on* yang di *online shop* berbagai merek dengan kisaran harga Rp. 5.000 – Rp. 30.000.
- 3) *Blush on* dengan warna merah/ *pink* yang mencolok.
- 4) *Blush on* yang teregistrasi BPOM, tidak teregistrasi BPOM, *blush on* belum dialih bahasakan, dan *blush on* yang tidak dicantumkan komposisinya.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) *Blush on* yang dijual diluar daerah *Surakarta* pada *online shop*.
- 2) *Blush on* dengan warna yang tidak mencolok.
- 3) *Blush on* dengan kisaran harga lebih dari Rp. 30.000.

Langkah peneliti untuk mengambil subjek menjadi sampel adalah sebagai berikut:

- 1) Menentukan toko *online* melalui situs belanja *online shop* diantaranya *Shopee*, *Lazada* dan *Tokopedia* dengan kisaran harga mulai Rp. 5.000 – Rp. 30.000.
- 2) Menentukan subjek yang akan dijadikan sampel dalam penelitian ini ialah *blush on* yang dijual melalui *online shop* daerah *Surakarta*. Peneliti melihat deskripsi *blush on* yang telah diberikan oleh masing-masing *online shop*.

Menurut Arikunto (2010) apabila jumlah populasi lebih dari 100 maka pengambilan sampel 10-15% atau 20-25% atau lebih. Apabila jumlah sampel kurang dari 100 maka sampel diambil semuanya. Dalam hal ini peneliti memutuskan untuk mengambil semua sampel yang termasuk dalam kriteria penelitian yaitu *blush on* yang tidak teregistrasi BPOM dan *blush on* yang teregistrasi BPOM, oleh karena itu peneliti akan mengambil 11 merek *blush on*. Sampel *blush on* akan diinisalkan dengan kode A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, dan K.

### **3.3 Instrumen Penelitian**

#### **3.3.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu: batang pengaduk (*Pyrex*), *chamber* (Lokal), labu ukur (*Pyrex*), neraca analitik digital (*AND GF-300*), pipet tetes (Lokal), mikropipet (*Dragon Lab*), rak tabung (Lokal), tabung reaksi (*Pyrex*), oven (*Memmert*), lampu UV 254 dan UV 366 nm, spektrofotometer UV-VIS (*Genesys*), spatula (Lokal), dan sendok tanduk (Lokal).

#### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: *Amonia* (*Brataco*), asam klorida pekat atau *HCl* (Lokal), *aquadest* (Lokal), *etil asetat* (*Merck*), *N-butanol* (*Merck*), *metanol* (*Merck*), *plat silika gel* (Lokal), *Rhodamin B* (*Merck*), kertas saring (Lokal), sampel

*blush on* sampel A, sampel B, sampel C, sampel D, sampel E, sampel F, sampel G, sampel H, sampel I, sampel J dan sampel K.

### 3.4 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah suatu sifat atau nilai dari orang, obyek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Indra dan Cahyaningrum, 2019). Variabel penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah:

a. Variable Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah *blush on* yang dijual melalui *online shop* daerah kota Surakarta.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil uji kualitatif Rhodamin B dan kadar Rhodamin B dalam *blush on*.

### 3.5 Definisi Operasional

- a. *Blush on* adalah kosmetik dekoratif yang digunakan untuk mewarnai pipi dengan tujuan mengkoreksi wajah tampak lebih cantik, segar dan berdimensi. Sampel penelitian ini menggunakan berbagai merek *blush on* yang dijual melalui *online shop* daerah Surakarta.

- b. Uji kualitatif Rhodamin B adalah hasil uji yang menunjukkan adanya Rhodamin B pada hasil uji dengan metode KLT yang ditunjukkan nilai  $R_f$  sampel sama dengan baku Rhodamin B.
- c. Kadar Rhodamin B adalah kandungan Rhodamin B yang ada di dalam *blush on* yang dinyatakan dalam satuan  $\mu\text{g/mL}$ .
- d. *Online shop* adalah proses pembelian barang atau jasa yang dilakukan tanpa perantara melalui internet. *Online shop* dalam penelitian ini adalah *Shopee*, *Lazada* dan *Tokopedia*.

### 3.6 Jalannya Penelitian

#### 3.6.1 Pengambilan Sampel

Tahap ini dilakukan dengan pengajuan dan penyusunan proposal penelitian skripsi yang sesuai dengan judul kepada pembimbing dan dilanjutkan dengan seminar proposal. Kemudian peneliti mengurus ijin penelitian ke Fakultas, Sains, Teknologi dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta, selanjutnya peneliti mengambil sampel *blush on* melalui situs *online shop* daerah Surakarta dan dilanjutkan penelitian di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Sains, Teknologi dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta.

### 3.6.2 Tahap Pelaksanaan

#### a. Uji Kualitatif Rhodamin B

##### 1) Pembuatan Larutan Uji (Larutan A)

Timbang masing-masing sampel *blush on* yang akan diuji sebanyak 500 mg lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi ukuran 10 mL, tambahkan 3 tetes HCl 4 N lalu masukkan 2 mL metanol gojog hingga homogen kemudian tambahkan kembali metanol sampai batas 10 mL, aduk hingga tercampur rata dan disaring dengan kertas saring (Arfina, 2012).

##### 2) Pembuatan Larutan baku (Larutan B)

Timbang 50 mg Rhodamin B masukkan kedalam labu takar 50 mL larutkan dengan pelarut metanol tambahkan hingga batas 50 mL (batas labu takar) gojog sampai homogen (Arfina, 2012).

##### 3) Identifikasi Sampel

Pada plat KLT diaktifkan dengan cara dipanaskan di dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Larutan A dan B ditotolkan pada plat dengan menggunakan pipa kapiler dengan jarak 0,6 cm dari bagian bawah plat, setelah itu diamkan beberapa saat sampai mengering. Plat KLT yang telah mengandung cuplikan dimasukkan kedalam chamber yang terlebih dahulu telah dijenuhkan dengan eluen dengan

fase gerak berupa *N-butanol*, *etil asetat*, dan *amoniak* (50: 20: 25), lalu biarkan eluen bergerak naik sampai hampir mendekati batas atas plat. Kemudian plat KLT diangkat dan dikeringkan diudara. Kemudian diamati noda secara visual dan dibawah sinar *UV 254 nm* dan *UV 366 nm* jika noda berflourosensi kuning/orange dengan lampu *UV* menunjukkan adanya Rhodamin B. Selanjutnya dihitung nilai *Rf* hasil dinyatakan positif bila warna bercak antara sampel dengan baku sama atau saling mendekati dengan selisih harga  $\leq 0,2$  (Depkes, 1988).

#### b. Verifikasi Metode

Pengertian verifikasi metode analisis adalah suatu tindakan penelitian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan dari laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Verifikasi metode bertujuan untuk mengkonfirmasi bahwa metode analisis tersebut dapat sesuai untuk peruntukannya. Verifikasi metode dilakukan dengan parameter linearitas, akurasi, presisi, dan batas deteksi (*LOD*) dan batas kuantifikasi (*LOQ*) (Ananda, *et al.*, 2014).

##### 1) Penentuan Linearitas Rhodamin B

Linearitas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai



dengan konsentrasi analit yang terdapat pada sampel pada kisaran konsentrasi tertentu (Taufik, *et al.*, 2021). Uji linearitas dilakukan dengan membuat 6 seri konsentrasi yaitu 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm; 3 ppm dan masing-masing seri konsentrasi dilakukan 3 kali pengulangan.

Pembuatan seri konsentrasi 1 ppm (10  $\mu\text{L}$ ), 1,5 ppm (15  $\mu\text{L}$ ), 2 ppm (20  $\mu\text{L}$ ), 2,5 ppm (2,5  $\mu\text{L}$ ) dan 3 ppm (3  $\mu\text{L}$ ) dilakukan dengan menyiapkan 15 labu takar berukuran 10 mL, pelarut metanol dan baku Rhodamin B (1000 ppm). Pembuatan seri konsentrasi dilakukan dengan cara pipet masing-masing seri konsentrasi baku Rhodamin B menggunakan mikropipet lalu masukkan kedalam labu takar kemudian tambahkan metanol sampai 10 mL (batas labu takar) dibaca pada panjang gelombang 545 nm dan catat hasil absorbansi. Lakukan pengulangan yang sama sebanyak 3 kali.

Pada uji linearitas nilai koefisien relasi dapat tercapai bila koefisien korelasi ( $r$ ) semakin mendekati 1, menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang linear antara konsentrasi dan absorbansi (Nanda, 2018).

Rumus:  $y = bx + a$

Keterangan:



y = menyatakan absorbansi

b = koefisien regresi (menyatakan *slope* = kemiringan)

x = konsentrasi

a = tetapan regresi (menyatakan *intersep*).

## 2) Penentuan Presisi

Presisi adalah ukuran kedekatan nilai data satu dengan yang lainnya dalam suatu pengukuran pada kondisi analisis yang sama. Presisi menunjukkan distribusi masing-masing hasil uji di sekitar nilai rata-rata. Presisi biasanya dinyatakan sebagai persen *Relative Standard Deviation (RSD)* atau *Coefficient of Variation (CV)* (Hasanah, et al., 2014).

Uji ini dilakukan dengan membaca absorbansi menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* yang dilakukan 6 kali pengulangan pada panjang gelombang 545 nm (Wulandari, et al., 2022). Nilai yang dapat memenuhi kriteria persyaratan uji presisi yaitu sebesar  $< 2\%$  (Rohyami, et al., 2018).

Penentuan presisi dilakukan dengan cara menyiapkan 6 labu takar ukuran 10 mL masing-masing labu dimasukkan seri konsentrasi 1,5 ppm dan dilarutkan dengan metanol sampai batas 10 mL (batas labu takar) kemudian

dibaca pada panjang gelombang 545 nm dan catat hasil absorbansinya.

$$\text{Standar Deviation (SD)} \quad : SD = \sqrt{\frac{\sum(x-x)^2}{n-1}}$$

$$\text{Relative Standar Deviation} \quad : \% \text{ RSD} = \frac{SD}{x} \times 100 \%$$

### 3) Penentuan Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*). Pada uji ini syarat akurasi yang baik adalah 96-105 % dan beberapa berpendapat antara 80-120 %. Hal ini dikarenakan semakin kompleks penyiapan sampel dan semakin sulit metode analisis yang digunakan maka nilai perolehan kembali yang diperoleh semakin rendah atau kisaran semakin lebar (Harmita, 2004).

Uji akurasi ini menggunakan 3 seri konsentrasi yaitu 1,5 ppm; 2 ppm dan 2,5 ppm. Pembuatan seri konsentrasi 1,5 ppm (15  $\mu\text{L}$ ), 2 ppm (2  $\mu\text{L}$ ), 2,5 ppm (2,5  $\mu\text{L}$ ) dilakukan dengan menyiapkan 9 labu takar berukuran 10 mL, pelarut metanol dan baku Rhodamin B (1000 ppm). Pembuatan seri konsentrasi ini dengan cara pipet masing-masing seri konsentrasi baku Rhodamin B menggunakan mikropipet lalu masukkan kedalam labu takar kemudian tambahkan

metanol sampai 10 mL (batas labu takar) dibaca pada panjang gelombang 545 nm dan catat hasil absorbansi.

Lakukan pengulangan yang sama sebanyak 3 kali

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{kadar perolehan}}{\text{kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

#### 4) Batas Deteksi (*LOD*) dan Batas Kuantitas (*LOQ*)

Berdasarkan kurva kalibrasi yang di peroleh, dihitung konsentrasi terkecil analit yang masih dapat dideteksi (*LOD*) dan terdeteksi secara kuantitatif (*LOQ*) menggunakan perhitungan statistik sebagai berikut:

Perhitungan:

$$SY/X = \sqrt{\frac{\sum (\hat{y} - yt)^2}{n-2}}$$

$$LOD = 3 \frac{SY/X}{\text{slope}}$$

$$LOQ = 10 \frac{SY/X}{\text{slope}}$$

Keterangan:

LOD = Batas Deteksi

LOQ = Batas Kuantitasi

SY/X = Simpangan Baku Residual

LOD diperoleh dari perhitungan statistik dengan rumus LOD yaitu 3 dikali SD presisi kemudian dibagi x dari linearitas sedangkan LOQ diperoleh dari perhitungan statistik

dengan rumus LOQ yaitu 10 dikali SD presisi kemudian dibagi x dari linearitas.

c. Uji Kuantitatif

1) Pembuatan Larutan Rhodamin B 1000 ppm

Ditimbang 50 mg pewarna Rhodamin B dimasukkan kedalam labu 50 mL lalu tambahkan metanol secukupnya dan dikocok hingga homogen. Kemudian larutan dicukupkan dengan metanol hingga garis tanda kemudian dihomogenkan (Taufik, *et al.*, 2021).

2) Penentuan Panjang Maksimum Larutan Rhodamin B

Larutan Rhodamin B 1000 ppm dipipet 20  $\mu$ L dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL (konsentrasi 2 ppm), lalu ditambahkan metanol sampai garis tanda dan dihomogenkan. Diukur serapan maksimum pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan *blanko*. *Blanko* yang digunakan adalah metanol (Taufik, *et al.*, 2021).

3) Optimasi Waktu Kestabilan (*Operating Time*)

Pipet seri konsentrasi 2 ppm menggunakan mikropipet, masukkan kedalam labu ukur 10 mL tambahkan metanol sampai garis tanda kemudian ukur pada panjang gelombang 545 nm lalu amati dan catat hasil absorbansi dari menit ke 0 sampai menit ke 70 (Arisanti, 2019).

#### 4) Pembuatan Kurva Kalibrasi Rhodamin B

Dilakukan pembuatan larutan Rhodamin B 1000 ppm sebanyak 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm; 3 ppm dengan menggunakan mikropipet. Lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan masing-masing ditambahkan metanol sampai garis tanda (konsentrasi masing-masing larutan 1; 1,5; 2; 2,5; dan 3 ppm). Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 545 nm (Taufik, *et al.*, 2021).

#### 5) Uji Kadar Sampel

Sejumlah 500 mg *blush on* dimasukkan kedalam labu ukur, kemudian ditambahkan 3 tetes HCl 4 N, ditambahkan 30 mL metanol, kemudian dihomogenkan. Disaring, dengan membuang 2 mL filtrat pertama, lalu filtratnya ditampung dalam labu ukur 50 mL. Dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda dan dihomogenkan. Dipipet 2 mL filtrat kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda dan dihomogenkan, diukur serapannya pada panjang gelombang 545 nm (Taufik, *et al.*, 2021).

### 3.7 Analisis Data

Analisis data menggunakan metode spektrofotometri *UV-Vis*, sampel yang diujikan sebanyak 11 merek yang mewakili produk *blush on*

yang dijual melalui *online shop* daerah kota Surakarta dimana masing-masing merek *blush on* akan diinisialkan dengan huruf A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, dan K. Uji ini dilakukan dengan cara mengukur absorbansi masing-masing larutan sampel. Absorbansi yang didapatkan dari hasil pengukuran sampel dengan menggunakan spektrofotometri *UV-Vis* dimasukkan dalam persamaan regresi yang diperoleh dari kurva baku yaitu  $y = bx + a$  untuk mengetahui kadar Rhodamin B kemudian dihitung menggunakan rumus yaitu:

$$\text{Kadar Rhodamin B } (\mu\text{g/mL}) = \frac{C_{\text{reg}} \times V \text{ (mL)} \times F_p}{\text{Berat Sampel (mg)}} \times 10^3$$

Keterangan:

K : Kadar Rhodamin B

$C_{\text{reg}}$  : Konsentrasi absorbansi sampel

V : Konsentrasi stok (mL)

$F_p$  : Faktor Pengenceran