BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif kualitatif. Penelitian ini dilakukan pengamatan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan Rhodamin B pada sampel terasi yang beredar di Pasar Sidokerto, Kecamatan Buduran, Sidoarjo dengan menggunakan metode KLT. Teknik pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu dengan pertimbangan tertentu yang diambil sesuai kriteria yang telah ditetapkan (Chan et al., 2020) lalu dilakukan identifikasi awal meliputi warna dan aroma untuk membedakan antara produsen satu dengan yang lainnya.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2025 dimulai dari kegiatan persiapan, pelaksanaan penelitian, dan analisis data.

3.2.2 Tempat penelitian

Tempat pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan di Pasar Sidokerto, Kecamatan Buduran, Sidoarjo. Sedangkan tempat penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu timbangan analitik (OHAUS), spatula, penangas air, bunsen, chamber (CAMAG), batang pengaduk, corong gelas (IWAKI), pipet volume 10 ml (Merck), pipet ukur 5 ml (Merck), pipet tetes, kaca arloji, pipa kapiler, labu ukur 25 ml (Merck), labu ukur 100 ml (Merck), labu ukur 250 ml (Merck), gelas beaker 250 ml (Merck), gelas beaker 100 ml (Merck), gelas beaker 50ml (Merck), cawan porselin, kertas saring,pinset, bola hisap.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, yaitu sampel terasi, benang wol bebas lemak, aluminium foil, kertas label, plat KLT silica gel GF 254 nm (Merck), baku Rhodamin B ($C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$), akuades$_{(l)}$, N-butanol (C_4H_9OH) p.a (Merck), etil asetat ($CH_3CH_2OCCH_3$) p.a (Merck), ammonia 25% (NH_3) p.a (Merck), metanol (CH_3OH) p.a, kloroform ($CHCl_3$) p.a, natrium hidroksida (NaOH) 1%, asam asetat (CH_3COOH) 99,6% p.a, etanol (C_2H_6O) 96% p.a.

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah sediaan terasi tanpa memiliki nomor registrasi BPOM yang beredar di Pasar Sidokerto,Kecamatan Buduran, Sidoarjo, Jawa Timur.

3.4.2 Sampel

Pengambilan sampel terasi pada penelitian ini dilakukan dengan teknik *purposive sampling*. *Purposive sampling* yaitu teknik pengambilan sampel dengan pertimbangan tertentu yang diambil sesuai kriteria yang meliputi warna dan aroma yang telah ditetapkan untuk membedakan antara produsen satu dengan yang lainnya (Chan et al., 2020). Sediaan terasi yang digunakan sebanyak 6 sampel tanpa memiliki nomor registrasi BPOM. Kemudian diberi tanda kode sampel A hingga F.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel dependen (terikat) (Sapulette et al., 2024). Variabel bebas dari penelitian ini adalah sampel terasi yang beredar di Pasar Sidokerto, Kecamatan Buduran, Sidoarjo.

3.5.2 Variabel terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Sapulette et al., 2024). Variabel terikat dari penelitian ini adalah pada kandungan pewarna Rhodamin-B pada terasi.

3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Metode	Alat ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Terasi	Sampel terasi yang diduga mengandung Rhodamin B	*Purposive sampling*	Visual	-	-
Kandungan pewarna Rhodamin B	Mengidentifikasi ada tidaknya kandungan pewarna Rhodamin B pada sampel.	Metode KLT. Dengan cara membanding kan nilai Rf standard dengan nilai *Rf* sampel.	Penggaris	Nilai *Rf*	Ordinal

3.7 Metode Penelitian Dan Analisis

Prosedur analisis pada penelitian ini mengacu pada jurnal (Mamay et al., 2018)

3.7.1 Pembuatan larutan baku 1000 ppm

1. Ditimbang serbuk Rhodamin B sebanyak 25,00 mg
2. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml
3. Dilarutkan dengan 25 ml metanol dan dikocok hingga larut

3.7.2 Pembuatan fase gerak

1. Menggunakan perbandingan Eluen n-butanol: etil asetat: amonia (10:4:5) dalam 100 ml
2. Dimasukkan ke dalam chamber untuk dijenuhkan terlebih dahulu sebelum dilakukan proses elusi

3.7.3 Preparasi sampel dengan benang wol

1. Benang wol di didihkan dalam air secukupnya hingga terendam,

kemudian dikeringkan. Selanjutnya, benang wol dicuci dengan kloroform untuk menghilangkan kotoran dan lemak. Kemudian dididihkan dengan NaOH 1%, lalu dibilas dengan air dan keringkan kembali.

2. Sampel ditimbang 10 gram, kemudian direndam dalam 10 ml larutan ammonia 2% (yang dilarutkan dalam etanol 70%) didiamkan selama 30 menit.
3. Setelah itu, larutan disaring dengan kertas saring. kemudian filtrat diuapkan diatas penangas air.
4. Larutan hasil penguapan ditambahkan dengan 5 ml asam asetat 10% .
5. Selanjutnya benang wol dimasukkan ke dalam larutan asam dan dididihkan selama 10 menit.
6. Lalu, benang wol diangkat, pewarna akan mewarnai benang wol. Benang wol dicuci dengan air, kemudian dimasukkan ke dalam larutan basa yaitu 10 ml ammonia 10% (yang dilarutkan dalam etanol 70%) dan dididihkan.
7. Benang wol akan melepaskan pewarna, pewarna akan masuk ke larutan basa tersebut.
8. Larutan basa tersebut akan digunakan sebagai cuplikan sampel pada analisis KLT**.**

3.7.4 Identifikasi Rhodamin B pada sampel dengan Kromatografi Lapis Tipis

1. Plat KLT dengan ukuran (10 cm x 6 cm) diaktivasi terlebih dahulu yaitu dimasukkan kedalam oven dengan suhu 100° C selama 10 menit, serta siapkan chamber, dan pelarut yang digunakan.
2. Sampel dan standar Rhodamin B ditotolkan dengan pipa kapiler secukupnya pada plat KLT dengan jarak 1 cm dari bagian atas dan bawah plat dan jarak penotolan 1 cm, biarkan hingga kering.
3. Penjenuhan Chamber dilapisi dengan kertas saring, lalu dituang campuran eluen n-butanol: etil asetat: amonia (10:4:5) kemudian ditutup rapat dan dibiarkan sampai jenuh yang ditandai dengan eluen naik sampai bagian atas kertas saring.

4. Plat KLT dimasukkan ke dalam chamber dan diamati. Pelarut dibiarkan merambat hingga batas jarak elusi.
5. Setelah mencapai jarak elusi, plat KLT dikeluarkan dan didiamkan sesaat.
6. Hasil bercak warna yang timbul pada plat KLT dilihat dibawah sinar ultraviolet.

3.7.5 Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

3.7.6 Pengolahan data

Data diperoleh dari pengujian sampel di laboratorium dengan menggunakan metode KLT. Data hasil pengujian yang berupa nilai *Rf*, baik pada sampel maupun pada larutan standar masing-masing dirata-rata. Hal tersebut dikarenakan pengujian dilakukan dengan replikasi sebanyak 3 kali. Adapun rumus untuk menghitung nilai *Rf* yaitu sebagai berikut:

$$\text{Nilai } Rf = \frac{jarak\ yang\ ditempuh\ senyawa\ terlarut\ (cm)}{jarak\ yang\ ditempuh\ pelarut(cm)}$$

3.7.7 Penyajian data

Penyajian data dilakukan dengan menuliskan jarak noda pada kontrol positif (+), standar dan sampel kemudian menghitung nilai *Rf* pada masing masing tiap kode sampel lalu dibandingkan dengan hasil nilai *Rf* standar.

Tabel 3. 2 Penyajian data hasil replikasi analisis pewarna Rhodamin B pada sampel menggunakan metode KLT

No.	**Kode Sampel**	**Jarak noda**			**Nilai *Rf***	
		Kontrol (cm)	**Standar (cm)**	**Sampel (cm)**	**Sampel**	**Standar**
1.	A1					
	A2					
	A3					
Rata-rata nilai *Rf*						
2.	B1					
	B2					
	B3					
Rata-rata nilai *Rf*						

3.	C1					
	C2					
	C3					
Rata-rata nilai *Rf*						
dst	dst	dst	dst			

3.7.8 Analisis data

Analisis data yang diperoleh disajikan berupa bentuk tabel dan menjelaskan hasil sampel yang positif atau negatif dengan membandingkan nilai *Rf* sampel dengan standar. Sampel dinyatakan positif mengandung Rhodamin B apabila nilai *Rf* sampel sama dengan nilai *Rf* baku atau masih dalam range <0,2 hingga tidak >0,8 (Wulandari, 2011).

Tabel 3. 3 Penyajian data hasil analisis pewarna Rhodamin B pada sampel menggunakan metode KLT

No.	**Kode Sampel**	**Nilai Rf**		**Hasil**
		Sampel	**Standard**	
1.	A			
2.	B			
3.	C			
dst.	dst.			

Keterangan :

\+ = mengandung Rhodamin B

\- = tidak mengandung Rhodamin