# BAB III
# METODE PENELITIAN

## 3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk ke dalam penelitian deskriptif secara kualitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan hasil identifikasi *metanil yellow* pada sampel Kerupuk mawar warna-warni mentah yang dijual di Pasar Pagotan Kabupaten Madiun

## 3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

### 3.2.1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2025.

### 3.2.2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Poltekkes Kemenkes Malang

## 3.3. Populasi dan Sampel

### 3.3.1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah semua kerupuk mawar warna-warni mentah yang beredar di Pasar Pagotan Kabupaten Madiun.

### 3.3.2. Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah semua kerupuk mawar warna-warni mentah yang berwarna kuning yang dijual di Pasar Pagotan Kabupaten Madiun yaitu sebanyak empat sampel dari 4 titik.

### 3.3.3. Teknik Sampling

Dari 7 penjual kerupuk yang ada di Pasar Pagotan, yang menjual kerupuk mawar warna-warni hanya 4 penjual sehingga digunakan teknik sampling yaitu total sampling. Dimana teknik tersebut sama dengan jumlah populasi. Alasan mengambil total sampling karena jumlah populasi yang relatif kecil, sehingga memungkinkan semua populasi untuk dianalisis (Arikunto, 2017).

### 3.4. Alat dan Bahan

#### 3.4.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik (Ohaus), beaker glass 250 ml dan 100 ml (Iwaki), gelas ukur 50 ml (Iwaki), erlenmeyer 100 ml (Iwaki), pipet tetes, labu ukur 100 ml dan 1000 ml (Iwaki), spatula, pipa kapiler, pinset, *TLC Silica gel 60 $F_{254}$* (Merck), cawan penguap, pipet ukur 10 ml (Pyrex), penggaris (Butterfly), *cutter* (Joyko), pensil (Joyko), oven (Memmert), grinder (Getra), *UV cabinet*, kertas saring, mortar alu, corong kaca, bulp, batang pengaduk, dan *hot plate* (Taffware).

#### 3.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benang wol, akuades, sampel kerupuk mawar warna-warni mentah, larutan n-butanol (Merck), larutan ammonia 25% (Merck), larutan asam asetat glassial 100% (Merck), padatan baku *metanil yellow* (Merck), larutan petroleum eter 100%, padatan NaOH (Merck), dan larutan etanol 70%.

### 3.5. Variabel Penelitian

Variabel yang ada pada penelitian ini ada dua yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dari penelitian ini yaitu sampel kerupuk mawar warna-warni mentah berwarna kuning yang dijual di pasaran dan variabel terikatnya yaitu keberadaan *metanil yellow*.

### 3.6. Definisi Operasional Variabel

**Tabel 3. 1** Definisi operasional variabel

| Variabel Penelitian | Definisi | Metode | Alat Ukur | Skala Ukur |
|---|---|---|---|---|
| *Metanil yellow* | Kandungan *metanil yellow* yang terdapat pada sampel Kerupuk mawar warna-warni mentah yang dijual di Pasar Pagotan Kabupaten Madiun | Uji Kualitatif dengan metode kromatografi lapis tipis | Kromatografi Lapis Tipis | Rasio |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Kerupuk mawar warna-warni mentah berwarna kuning yang dijual di Pasar Pagotan Kabupaten Madiun | Kerupuk mawar warna-warni mentah yang memiliki warna kuning yang dijual di Pasar Pagotan Kabupaten Madiun | Total sampel | Panca indra | Nominal |

### 3.7. Prosedur Penelitian

#### 3.7.1. Preparasi Sampel dan Benang Wol

Sampel kerupuk dihaluskan menggunakan grinder hingga halus dan ukurannya homogen, selanjutnya sampel ditimbang sebanyak 10 g dengan neraca analitik. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass 100 ml lalu ditambah amonia 2% (v/v) sebanyak 50 mL dan didiamkan sebentar dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya sampel didekantasi ke gelas beaker dan diuapkan menggunakan *hotplate*. Larutan hasil penguapan kemudian ditambahkan 5 ml asam asetat 10% (v/v) yang selanjutnya dilanjutkan pada tahap penarikan warna sampel menggunakan benang wol. Benang wol yang akan digunakan dipotong sepanjang 15 cm kemudian dididihkan di dalam air. Benang wol kemudian dicuci dengan petroleum eter selanjutnya dididihkan dengan NaOH 1% (b/v) dan kembali dibilas dengan air (BSN, 1992).

#### 3.7.2. Pembuatan Larutan Kerja / Reagen

##### 3.7.2.1. Pembuatan Larutan NaOH 1% (b/v)

Padatan NaOH ditimbang sebanyak 1 g ke dalam gelas beaker. Kemudian dilarutkan ke dalam labu ukur 100 ml dengan akuades (BSN, 1992).

##### 3.7.2.2. Pembuatan Larutan Amonia 2% (v/v) dan 10% (v/v)

Larutan amonia 25% diambil sebanyak 80 ml, kemudian dilarutkan ke dalam labu ukur 1000 ml dengan etanol. Dan Larutan amonia 25% diambil sebanyak 40 ml, kemudian dilarutkan ke dalam labu ukur 100 ml dengan akuades (BSN, 1992).

##### 3.7.2.3. Pembuatan Larutan Asam Asetat 10% (v/v)

Larutan asam asetat glasial 100% dipipet sebanyak 10 ml dengan pipet ukur, kemudian dilarutkan ke dalam labu ukur 100 ml dengan akuades (BSN, 1992).

**3.7.2.4.Pembuatan Standar *Metanil Yellow* 0,1% (b/v)**

Standar *metanil yellow* ditimbang sebanyak 100 mg ke dalam gelas beaker. Kemudian dilarutkan ke dalam labur ukur 100 ml dengan etanol (Sari dan Andini, 2023).

**3.7.2.5.Pembuatan Fase Gerak n-butanol : asam asetat glasial : akuades (4:5:1)**

Larutan n-butanol, asam asetat glasial, dan akuades diambil masing-masing sebanyak 20 ml, 25 ml, dan 5 ml menggunakan gelas ukur ke dalam gelas beaker 250 ml. Laruan diaduk menggunakan batang pengaduk dan ditutup menggunakan alumunium foil (BSN, 1992).

**3.7.3. Identifikasi *Metanil Yellow* pada Sampel Kerupuk Mawar Warna-Warni Berwarna Kuning dengan Metode KLT**

**3.7.3.1.Penarikan Warna Sampel Menggunakan Benang Wol**

Benang wol yang sudah dipreparasi dimasukkan ke dalam larutan sampel. Kemudian dipanaskan di atas *hotplate* selama 10 menit sambil diaduk. Setelah 10 menit, diambil benang wol yang sudah dipanaskan lalu dicuci berulang-ulang dengan air hingga bersih. Selanjutnya benang wol dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dan ditambahkan ammonia 10% sebanyak 10 ml. Benang wol tersebut selanjutnya dipanaskan diatas penangas air hingga zat warna pada benang wol luntur. Setelah warna luntur, benang wol diambil dan larutan berwarna hasil pemanasan disaring yang kemudian dipekatkan kembali di atas *hotplate* (BSN, 1992).

**3.7.3.2.Preparasi Fase Gerak dan Fase Diam**

Plat KLT yang akan digunakan disiapkan dengan memotong dengan ukuran 2×10 cm, selanjutnya plat KLT diaktifkan dengan cara dioven pada suhu 110ºC selama 30 menit. Plat KLT yang sudah diaktifkan diberi garis batas bawah dan batas atas masing-masing 1 cm. Fase gerak dibuat sebanyak 50 ml dengan larutan yang digunakan yaitu n-butanol : asam asetat glasial : akuades dengan perbandingan 4:5:1. Selanjutnya *chamber* yang akan digunakan dijenuhkan dengan menuangkan eluen yang telah dibuat ke dalam *chamber*. Selanjutnya dimasukkan kertas saring ke dalam *chamber* yang berisi eluen kemudian tutup *chamber* dan biarkan hingga jenuh, yang ditandai dengan eluen naik hingga bagian atas kertas saring (Sari dan Andini, 2023).

#### 3.7.3.3.Pengujian *Metanil Yellow* Menggunakan KLT

Hasil larutan yang sudah pekat sebelumnya ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Selanjutnya plat KLT tersebut dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan eluen, kemudian *chamber* ditutup dan dibiarkan beberapa waktu hingga eluen naik sampai batas atas plat KLT. Plat KLT diangkat dari *chamber* dan selanjutnya dikeringkan. Bercak yang terbentuk pada plat KLT diamati di bawah lampu sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Bercak yang terlihat dicatat dan ditandai dengan pensil (Sari dan Andini, 2023).

### 3.8. Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

#### 3.8.1. Pengolahan Data

Data diperoleh dari hasil uji *metanil yellow* menggunakan metode kromatografi lapis tipis yang memperoleh hasil bercak warna, jarak tempuh solut, dan jarak tempuh eluen. Jarak keduanya kemudian dilakukan perhitungan nilai Rf dengan rumus berikut:

$$Rf = \frac{jarak\ yang\ ditempuh\ solut\ (cm)}{jarak\ yang\ ditempuh\ eluen\ (cm)}$$

Dengan hasil bercak warna dan nilai Rf tersebut nantinya dapat diketahui apakah sampel tersebut positif atau negatif mengandung *metanil yellow*. Sampel yang digunakan sebanyak 4 kerupuk dengan kode sampel A, B, C, dan D dengan kode replikasi 1, 2, dan 3.

#### 3.8.2. Penyajian Data

Dari hasil pengolahan data yang diperoleh selanjutnya dilakukan penyajian data berupa tabel dan dijelaskan secara deskriptif.

**Tabel 3. 2** Penyajian data hasil pengujian *metanil yellow* pada kerupuk

| Kode sampel | Jarak di tempuh eluen (cm) | Jarak tempuh solute (cm) | Nilai Rf | Bercak warna | Kesimpulan |
|---|---|---|---|---|---|
| Standar 1 | | | | | |
| Standar 2 | | | | | |
| Standar 3 | | | | | |
| A1 | | | | | |
| A2 | | | | | |
| ... | | | | | |
| D3 | | | | | |

### 3.8.3. Analisis Data

Analisis data digunakan untuk mengidentifikasi zat pewarna *metanil yellow* pada kerupuk mawar warna-warni yang dijual di Pasar Pagotan Kabupaten Madiun dengan cara membandingkan hasil bercak warna dan nilai Rf antara sampel dan standar baku *metanil yellow*.