

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi, Sampel dan Teknik sampling Penelitian

1. Populasi

Populasi merujuk pada keseluruhan unit analisis, yang dapat mencakup individu, objek atau peristiwa yang menjadi pusat perhatian suatu penelitian (Mushofa *et al.*, 2024). Populasi pada penelitian ini adalah sediaan *lip tint* yang beredar di area Kecamatan Tawangharjo.

2. Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang sengaja dipilih oleh peneliti untuk diteliti (Mushofa *et al.*, 2024). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 sediaan *lip tint* dengan merek berbeda di area Kecamatan Tawangharjo.

3. Teknik Sampling

Teknik sampling adalah cara untuk menentukan sampel yang akurat dan representatif dari populasi, dengan memperhatikan sifat dan penyebaran populasi (Mushofa *et al.*, 2024). Teknik *sampling* yang digunakan dalam pengambilan sampel adalah *purposive sampling* yaitu pengambilam sampel dari populasi yang dilakukan dengan kriteria warna merah,, merek asal, tidak terdaftar BPOM serta harganya berkisar Rp5000-Rp10.000.

B. Variabel penelitian

1. Variabel Utama

Variabel utama merupakan variabel pokok yang menjadi fokus utama dalam suatu penelitian serta berperan penting dalam menggambarkan hubungan antara variabel-variabel lain yang diteliti (Haifa *et al.*, 2025). Variabel utama dalam penelitian ini adalah zat warna Rhodamin B dan sediaan *lip tint*.

2. Klasifikasi Variabel

a. Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi penyebab munculnya pada variabel terikat (Haifa *et al.*, 2025). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah merek dan jenis *lip tint*.

b. Variabel terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang mengalami dampak dari variabel bebas atau suatu titik pusat yang merupakan kriteria penelitian (Haifa *et al.*, 2025). Variabel terikat dalam penelitian ini adalah keberadaan dan kadar Rhodamin B.

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang secara sengaja tetap dijaga atau dikendalikan agar tidak berpengaruh pada hubungan antara variabel bebas dan terikat (Haifa *et al.*, 2025). Variabel control dalam penelitian ini adalah Rhodamin B, jenis pelarut, eluen, konsentrasi larutan, panjang gelombang, serta metode yang digunakan yaitu secara kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan secara kuantitatif menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.

3. Definisi Operasional Variabel

- a. Sediaan *lip tint* adalah salah satu produk kosmetik yang dirancang khusus untuk memberikan warna pada bibir dengan tekstur yang cair.
- b. Rhodamin B adalah zat pewarna yang tidak diizinkan penggunaannya dalam kosmetik maupun makanan. Meski demikian, karena mampu menghasilkan warna yang cerah dengan biaya murah, zat ini sering disalahgunakan oleh pihak tidak bertanggung jawab dalam pembuatan produk kosmetik dan makanan.
- c. Jenis pelarut adalah bahan yang digunakan untuk melarutkan sampel *lip tint*, yang dimana pelarut yang digunakan adalah etanol 96 % dan methanol yang berfungsi untuk mengekstraksi zat warna Rhodamin B dari sediaan *lip tint*.

- d. Konsentrasi larutan adalah banyaknya Rhodamin B yang dilarutkan dalam pelarut tertentu, meliputi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm untuk metode kuantitatif.
- e. Fase diam untuk Kromatografi Lapis Tipis (KLT) mengandung substansi yang dapat berpendar fluoresensi dalam sinar UV, yang dimana dapat menggunakan plat KLT (*silica gel* Gf 254).
- f. Fase gerak merupakan pelarut atau campuran pelarut yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen sampel dalam KLT, meliputi etil asetat, methanol dan ammonia.
- g. Evaluasi secara kualitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk memisahkan serta mengidentifikasi keberadaan zat warna Rhodamin B dalam sampel. Bercak hasil pemisahan pada lempeng KLT dapat diamati secara langsung maupun dibawah sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Identifikasi Rhodamin B dilakukan dengan menghitung nilai R_f yang menunjukkan jarak pergerakan bercak pada lempeng KLT.
- h. Evaluasi secara kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk mengukur nilai serapan maksimum zat warna Rhodamin B pada rentang panjang gelombang 300 – 800 nm.

C. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan analitik, labu ukur, *beaker glass*, spatula, sendok tanduk, *chamber*, pipet, *mikro pipet*, penggaris, oven, *hot plate*, pipa kapiler, gelas ukur, Plat KLT (*Silica gel* GF 254), lampu ultraviolet 254 nm, lampu ultraviolet 366 nm dan spektrofotometri UV-Vis.

2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah 10 sampel *lip tint* berbeda merek, etanol 96 %, HCl 4 M, etil asetat, n-butanol, n-heksan, ammonia, methanol, kertas saring dan Rhodamin B.

D. Jalannya Penelitian

1. Analisis Kualitatif

a. Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 0,1 g masing-masing sampel R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 ditambahkan 2 ml methanol, kemudian dilakukan ekstraksi lemak dengan menggunakan 5 ml n-heksan dengan cara dikocok hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan atas merupakan n-heksan, kemudian lapisan bagian atas tersebut dibuang, sedangkan bagian bawah merupakan sampel (Herdini *et al.*, 2025).

b. Pembuatan Baku Pembanding Rhodamin B

Sebanyak 2 mg pewarna Rhodamin B dilarutkan dalam 10 ml methanol (Herdini *et al.*, 2025).

c. Aktivasi Fase Diam

Lempeng KLT yang sudah ditandai batas atas bawah 1 cm dan batas penotolan 1 cm diaktifkan terlebih dahulu dengan cara dipanaskan dalam oven suhu 105°C selama 30 menit (Hangin *et al.*, 2022).

d. Pembuatan Fase Gerak (eluen)

Fase gerak yang digunakan yaitu n-butanol : etil asetat : ammonia dengan perbandingan konsentrasi 10 : 4 : 5 penjenjuran dilakukan dengan cara kertas saring yang dimasukkan ke dalam eluen tersebut (Fajriani *et al.*, 2022).

e. Identifikasi

Larutan sampel dan larutan pembanding Rhodamin B ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler, kemudian dibiarkan hingga kering. Setelah itu, plat yang sudah diberi totolan dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah diisi fase gerak dan dijenuhkan sebelumnya. Setelah proses elusi selesai, plat diangkat dan dikeringkan pada suhu kamar. Plat yang telah kering kemudian diamati secara visual maupun dibawah sinar ultraviolet. Jika secara visual muncul noda berwarna merah jambu dan dibawah sinar UV

tampak fluoresensi merah muda atau jingga, maka hal tersebut menandakan bahwa sampel positif mengandung Rhodamin B. Selanjutnya, dilakukan perhitungan nilai Rf dari sampel tersebut lalu dibandingkan dengan nilai Rf pembanding Rhodamin B (Elfasyari *et al.*, 2020).

$$\text{Perhitungan Nilai Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (cm)}}$$

2. Analisis Kuantitatif

a. Preparasi Sampel

Sebanyak 0,5 g masing-masing sampel R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 ditambahkan dengan 4 tetes HCl 4 M dan 5 ml etanol 96 %. Campuran tersebut kemudian dipanaskan diatas *hot plate* hingga meleleh, lalu disaring menggunakan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan dimasukkan kedalam labu ukur 25 ml, ditambahkan etanol 96 % hingga mencapai tanda batas dan kocok hingga homogen. Selanjutnya, dilakukan proses pengenceran dengan cara memipet 2 ml larutan sampel tersebut ke dalam labu ukur 10 ml, menambahkan etanol 96 % hingga tanda batas dan kocok supaya tercampur secara merata (Hangin *et al.*, 2022).

b. Pembuatan Larutan Baku Pembanding Rhodamin (100 ppm)

Sebanyak 10 mg Rhodamin B ditimbang dan dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml. Kemudian ditambahkan etanol 96 % sampai tanda batas. Larutan tersebut dikocok hingga Rhodamin B larut sempurna (Eliasa, 2024).

c. Pembuatan Larutan Standar Seri Baku Pembanding Rhodamin B

Larutan baku Rhodamin B 100 ppm disiapkan sebagai dasar untuk membuat larutan seri dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Pada pembuatan larutan 1 ppm, sebanyak 1 ml larutan baku dipipet ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian volumenya dicukupkan dengan etanol 96 % hingga tanda batas dan dikocok agar larutan tercampur merata. Proses serupa dilakukan untuk larutan 2 ppm dengan memipet

2 ml larutan baku dan mengencerkan dengan etanol 96 % hingga volume akhir 100 ml. Untuk larutan 3 ppm, sebanyak 3 ml larutan baku dimasukkan ke labu ukur 100 ml dan ditambah etanol 96 % sampai mencapai volume. Pembuatan larutan 4 dan 5 ppm dilakukan dengan cara yang sama, yaitu memipet 4 ml dan 5 ml larutan baku, kemudian masukkan dalam labu ukur 100 ml dan tambahkan etanol 96 % sampai tanda batas lalu kocok hingga homogen. Dengan langkah bertahap ini, diperoleh seri larutan baku Rhodamin B yang siap digunakan untuk analisis, sehingga konsentrasi standar dapat dikontrol secara konsisten (Wulandari *et al.*, 2022).

d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pengukuran serapan maksimum pada spektrofotometri UV-Vis dilakukan pada rentang panjang gelombang 400 – 600 nm menggunakan larutan baku dengan konsentrasi 1 ppm. Sebagai larutan blanko digunakan etanol 96 % (Wulandari *et al.*, 2022).

e. Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* dilakukan dengan memipet 5 ml larutan 100 ppm ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan etanol 96 % sampai tanda batas dan kocok sampai homogen (menghasilkan konsentrasi 1 ppm). Selanjutnya, pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum setiap menit, mulai dari menit ke-0 hingga menit ke-60 (Arisanti, 2019).

f. Penentuan Kurva Kalibrasi

Pada larutan seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5 ppm dilakukan pengukuran serapan pada panjang gelombang maksimum (Wulandari *et al.*, 2022).

g. Penetapan Kadar Sampel

Larutan sampel yang telah diencerkan dimasukkan dalam kuvet kemudian dimasukkan ke alat spektrofotometri UV-Vis dan diukur pada panjang gelombang yang sudah ditentukan (Elfasyari *et al.*, 2020).

E. Analisis Hasil

Data yang diperoleh terdiri atas data kualitatif dan kuantitatif yang disajikan dalam bentuk tabel, seperti hasil pengukuran nilai Rf dan absorbansi serta dalam bentuk grafik, misalnya grafik penyerapan panjang gelombang dan kurva kalibrasi. Data kualitatif Rhodamin B pada sediaan *lip tint* melalui metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan cara membandingkan nilai Rf antara sampel dan baku pembanding. Perhitungan dilakukan menggunakan rumus berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (cm)}}$$

Sementara itu, data kuantitatif diperoleh dari hasil pengukuran kadar Rhodamin B dalam sediaan *lip tint* menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis, dengan perhitungan dilakukan berdasarkan rumus berikut :

1. Menghitung linearitas

$$y = bx + a$$

Keterangan : y = absorbansi

b = kemiringan garis

x = konsentrasi larutan

a = titik potong garis regresi terhadap sumbu y

2. Menghitung kadar total rhodamin B :

$$K = \frac{X \times V \times Fp}{Bs}$$

Keterangan : K = Kadar total rhodamin B dalam sampel (mg/Kg)

x = Konsentrasi Rhodamin B setelah pengenceran (mg/L)

V = Volume sampel (L)

Fp = Faktor pengenceran

Bs = Berat sampel (g)

Data kuantitatif yang diperoleh dari hasil analisis kadar Rhodamin B pada sampel kemudian diolah menggunakan program *Microsoft Excel* dan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Analisis dilakukan dengan

metode uji *one way* ANOVA apabila data terdistribusi normal dan homogen dengan nilai signifikan $> 0,05$. Namun, jika data tidak memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas (nilai signifikan $< 0,05$), maka digunakan uji alternatif *Kruskal-Wallis*.

F. Kerangka Penelitian



