

BAB III

METODE ANALISIS

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel jajanan kue basah yang berwarna merah. Pengujian yang dilakukan adalah uji Organoleptik, Uji Kromatografi Lapis Yipis dan Uji Spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui ada tidaknya kandungan Rhodamin B dan mengetahui kadar Rhodamin B pada jajanan. Pengambilan sampel diambil secara Uji Organoleptis yang terlihat berwarna merah, diambil sebanyak 9 sampel dari pedagang di pasar Bandarjo, Karangjati dan Babadan untuk kebutuhan peneliti

B. Waktu Penelitian

1. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2023

2. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Ngudi Waluyo

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jajanan yang berwarna merah di peroleh dari pasar Bandarjo, Pasar Karangjati dan Pasar Babadan

2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah sampel jajanan yang beredar di pasar Tradisional Kabupaten Semarang. Jumlah sampel yang diambil berjumlah 9 sampel berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi

a) Kriteria inklusi

Pedagang yang menjual olahan baik olahan sendiri maupun olahan pabrik yang dicurigai mengandung pewarna Rhodamin B dengan ciri fisik berwarna merah mencolok, terdapat titik-titik warna yang tidak homogen dan rasa sedikit pahit

b) Kriteria eksklusi

Pedagang yang tidak menetap atau berpindah-pindah

D. Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Penjelasan	Cara Ukur	Alat Ukur	Satuan
1	Jajanan kue	Makanan jajanan yang berwarna merah yang di jual di pasar tradisional Kabupaten Semarang	Observasi dan pengambilan sampel	-	Jenis
2	Pemeriksaan Organoleptik	Pemeriksaan makanan jajanan yang meliputi dugaan menggunakan Rhodamin B Dengan cara melihat jajanan yang berwarna mencolok dan tidak mencolok	Uji Organoleptik	Indra Penglihatan	- Warna mencolok - Warna tidak mencolok

3	Analisis Kualitatif	Melihat ada/tidaknya kandungan Rhodamin B	-	Kromatografi Lapis Tapis	Rf
4	Analisis Kuantitatif	Analisis Kuantitatif	Pengukuran analisis kuantitatif	Spektrofotometri UV-Vis	%

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi variabel lain. variabel dalam penelitian ini adalah jajanan tradisional yang dijual di pasar Kabupaten Semarang, sampel diambil sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusif

2. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang berpengaruh akibat adanya variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini adalah melihat kandungan ada atau tidaknya kandungan Rhodamin B pada jajanan menggunakan Kromatografi Lapis tipis dan mengukur kadar Rhodamin B pada jajanan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat, sehingga perlu penetapan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan juga dapat diulang oleh peneliti secara tepat. Variabel terkontrol penelitian ini yaitu Analisis Rhodamin B pada Jajanan yang Dijual Dipasar Tradisional Kabupaten Semarang

F. Pengolahan Data

1. Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, erlenmeyer, beaker glass, gelas ukur 1000 ml, pipet tetes, pipet volume 10 ml, tabung reaksi, cawan porselin, corong, mortar, plat KLT (silika gel GF254), kertas buram, pipet kapiler, *waterbath*, batang pengaduk, *hot plate*, spektrofotometer UV VIS miton Roy 501, labu takar 10 ml dan 50 ml, gelas arloji, spatula, kertas saring.

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah 9 sampel jajanan, Metanol, Etanol 90%, Etanol 70%, Aquadest ad, Asam Asetat 6%, baku pembanding Rhodamin B, dietil eter, natrium hidroksida 10%, asam klorida 0,1 N, ammonia 2% dalam etanol 70%

G. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan sampel

Sampel jajanan diambil di pasar Bandarjo, pasar Babadan dan Pasar Karangjati sebanyak 9 jenis jajanan, selanjutnya dibawa ke Laboratorium Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.

2. Preparasi sampel

Sampel kue digerus sampai halus, timbang sampel jajanan sebanyak 5 gram. Lakukan hal yang sama pada semua sampel. Ekstraksi dan homogenkan dengan menggunakan metanol sebanyak 50 ml. Dikocok sampai terjadi pemisahan yaitu perubahan warna pelarut. Dipisahkan hasil ekstraksi

menggunakan kertas saring kemudian diambil filtratnya. Dilakukan pengulangan terhadap sampel yang sudah diekstraksi sebanyak 3 kali dengan masing-masing 10 ml larutan metanol, kemudian pisahkan hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam beaker glass, dipanaskan diatas *eaterbath* selama 30 menit, dilakukan hal yang sama pada sampel berikutnya.

3. Metode Penelitian

a. Uji Organoleptik

Dalam penilaian bahan pangan sifat yang menentukan diterima atau tidak suatu produk adalah sifat indrawinya. Penilaian indrawi ini ada enam tahap yaitu pertama menerima bahan, mengenali bahan, mengadakan klarifikasi sifat-sifat bahan, mengingat kembali bahan yang telah diamati, dan menguraikan kembali sifat indrawi produk tersebut. Indra yang digunakan dalam menilai sifat indrawi suatu Produk adalah: Penglihatan yang berhubungan dengan warna kilap, viskositas, ukuran dan bentuk, volume kerapatan dan berat jenis, panjang lebar dan diameter serta bentuk bahan; Indra peraba yang berkaitan dengan struktur, tekstur dan konsistensi. Uji Organoleptis dalam jajanan dapat dilakukan dengan melihat warna mencolok, rasa dan bau dari sampel

b. Analisis kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Dilakukan pembuatan Bahan eluen yang digunakan yaitu dengan perbandingan 12:6:7

Larutan etanol 90% : 48 ml

Asam asetat 6% : 24 ml

Aquadest : 28 ml

Timbang 0,1 gram Rhodamin B dan ambil 10 ml etanol, masukkan ke dalam tabung reaksi. Dipanaskan diatas waterbath 30 menit. Larutkan Rhodamin B ke dalam etanol di tutup dengan kertas alumunium foil. Bejana diisi eluen, kemudian lakukan pemeriksaan kejenuhan dengan kertas buram. Plat KLT diberi tanda 1 cm dari tepi bawah tanpa digaris disebut garis mula. Bagian atas digaris dengan jarak 8 cm dari garis mula disebut garis akhir. Pada garis mula di totolkan standar warna Rhodamin B dengan bantuan pipa kapiker (diameter noda tidak boleh lebih dari 0,5cm)

Kemudian dengan jarak 1 cm, ditotolkan sampel yang lain. Plat KLT dimasukkan kedalam bejana kromatografi ($\pm 0,5$ cm) yang sudah diberikan larutan eluen. Kertas harus mengenai larutan eluen agar larutan eluen mengenai sampel yang telah ditotolkan. Ditunggu hingga elusi mencapai tanda batas, lempeng KLT dikeluarkan dan diangin-anginkan. Setelah itu divisualisasi dengan penyinaran UV. Ditunggu hasilnya jika pada sampel berwarna sama dengan standar Rhodamin B dan merambat keatas sejajar dengan warna standar Rhodamin B, maka sampel tersebut mengandung Rhodamin B, dihitung Rf dengan rumus berikut:

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

Analisis Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan analisis secara deskriptif yang dijabarkan secara naratif yaitu

menguraikan dan menjelaskan mengenai hasil dari proses pengamatan yang dilakukan secara kualitatif

c. Analisis kualitatif dengan Spektrofotometri UV-Vis

1) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku 1000ppm diencerkan konsentrasi 20 ppm dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml diencerkan dengan aquadest sampai tanda batas. Pada penentuan Panjang gelombang maksimum larutan Rhodamin B pada konsentrasi 20 ppm dengan rentang Panjang gelombang 400-800 nm. Hal itu dilakukan karena Rhodamin B merupakan larutan berwarna (Kumalasari,2015)

4. Validasi Metode Analisis

a. Pembuatan Larutan Baku

Larutan baku rhodamin B dibuat dengan konsentrasi 1000mg/l. dari larutan baku ini dibuat larutan baku antara dengan kadar 20; 40; 80; 120 µg/ml. selanjutnya dibuat satu seri larutan baku kerja dengan konsentrasi masing masing 0,4; 0,8; 1,6; 2,4 µg/ml. Sebagai Pelarut digunakan larutan HCl 0,1 N.

b. Penentuan *Operating Time*

Penentuan *Operating Time* tujuannya ialah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil dan memiliki daya serap absorbansi yang maksimal. *Operating Time* ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan. Dipipet 1 ml dari larutan baku 20 ppm tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml

diencerkan dengan aquadest sampai tanda batas dan dihomogenkan. Diukur pada Panjang gelombang maksimum yang diperoleh selama 30 menit (Linding *et al.*2017)

c. Linearitas

Penentuan nilai linearitas ditentukan dengan mengukur absorbansi konsentrasi baku yaitu 0,4; 0,8; 1,6; 2,4 ppm pada Panjang gelombang maksimum. Hasil pengukuran absorbansi dihitung dari persamaan garis linar dan perhitungan koefisien korelasinya

$$Y=bx+a$$

Keterangan:

Y = Absorbansi sampel

a = Slope

x = Konsentrasi sampel

b = intersep

d. Presisi

Pengujian presisi yang dilakukan adalah kategori tererulangan (*repeability*). Masing masing diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum. Kemudian dicari rata-rata dari hasil pembacaan absorbansi yang diperoleh. Presisi ditentukan sebagai simpangan baku (SD) dan %RSD

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (Xi - \bar{X})^2}{n-2}}$$

Keterangan :

SD = Standar Deviasi

- Xi = Konsentrasi Sampel
 X = Rata-rata absorbansi sampel
 N = Jumlah sampel

$$\%RSD = \frac{\text{standar deviasi (SD)}}{\text{hara rata-rata (x)}} \times 100$$

Keterangan :

- X = Kadar rata-rata sampel
 SD = standar Deviasi
 RSD = Relatif standar deviasi

e. Akurasi

Uji ketepatan dilakukan dengan metode akurasi baku dengan diekpresikan dengan menghitung persentase recovery. Sampel dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum. Hasil pengukuran dibandingkan dengan baku yang telah dibuat dengan kurva baku yang telah dibuat dan digunakan untuk menghitung persentase recovery. Pengujian akurasi dilakukan dengan 3 kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi. Recovery dihitung dengan rumus:

$$\text{Recovery} = \frac{\text{kadar terukur}}{\text{kadar sebenarnya}} \times 100 \%$$

Hasil persentase recovery untuk keperluan analisis dikatakan memenuhi syarat jika menunjukkan persentase antara 80-110%

f. LOD dan LOQ

Batas deteksi dan batas kuantitasi penentuan kadar Rhodamin B dengan metode spektrofotometri UV-Vis dilakukan dengan membuat 5 konsentrasi dibawah konsentrasi terkecil pada uji linearitas. Nilai pengukuran dapat juga diperoleh dari nilai b (slope) pada persamaan garis linear $y=a+bx$, sedangkan simpangan blanko sama dengan baku residu (Sy/x). Batas deteksi dapat ditentukan dengan persamaan:

$$Q = \frac{3 Sy/x}{Sl}$$

Batas kuantitasi dapat ditentukan dengan persamaan:

$$Q = \frac{10 Sy/x}{Sl}$$

Dengan Q = batas deteksi/kuantitasi suatu sampel; Sl =arah garis linear (kepekaan arah) dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b pada persamaan garis $y=a+bx$); dan Sy/x = simpangan blanko/simpangan baku residu

H. Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan uji Organoleptik dan Uji kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis dan Uji Spektrofotometri UV-is dan larutan cuplikan menjadi titik awal yang menunjukkan adanya zat warna Rhodamin b dalam sampel jajanan. Sedangkan analisis validasi metode untuk memastikan bahwa prosedur sudah memenuhi standar, data yang diperoleh disajikan dalam bentuk angka, gambar, tabel dan dideskripsikan, pembahasan serta kesimpulan.