

III. METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Metode penelitian ini merupakan deskriptif laboratorium yaitu dengan melakukan observasi pada jajanan yang dicurigai mengandung Rhodamin B dan dilanjutkan dengan melakukan analisis sampel di laboratorium.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di dua tempat yaitu, pada saat pengambilan sampel dan pengujian senyawa Rhodamin B.

a. Tempat pengambilan sampel

1. Pasar Pasir Gintung Bandar Lampung
2. Pasar Way Halim Bandar Lampung

b. Tempat pengujian senyawa Rhodamin B

Pengujian dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2013 – Januari 2014

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian adalah jajanan yang dipasarkan di pasar Pasir Gintung dan pasar Way Halim kota Bandar Lampung.

2. Sampel Penelitian

Dalam penelitian ini pengambilan sampel dilakukan dengan cara *Simple Random Sampling* (Sampel Acak Sederhana) dimana sampel dipilih secara acak dari jumlah yang telah ditentukan.

Dalam penentuan jumlah sampel penulis menggunakan rumus *Perhitungan Slovin*. Digunakan rumus ini karena populasi yang didapatkan kurang dari 500 (Kariyantono. 2006), dihitung dengan rumus:

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

Keterangan :

n = Besarnya sampel.

N = Jumlah sampel

e = Batas toleransi kesalahan 10% (0,1)

Perhitungan jumlah sampel yaitu :

$$\begin{aligned} n &= \frac{N}{1 + Ne^2} \\ &= \frac{43}{1 + 43(0,1)^2} \end{aligned}$$

$n = 30,069 \approx 30$ sampel

Kriteria Inklusi :

- a. Jajanan berwarna merah muda sampai keunguan
- b. Jajanan berupa kerupuk, agar-agar, kue, dan kembang gula.
- c. Jajanan tidak memiliki lisensi dari BPOM

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Terikat (*dependent variable*) yaitu jajanan yang dipasarkan di pasar Pasir Gintung dan pasar Way Halim kota Bandar Lampung
2. Variabel Bebas (*independent variable*) yaitu zat pewarna Rhodamin B

E. Definisi Oprasional

Tabel 6. Definisi Oprasional

Variabel	Definisi	Cara Ukur	Hasil ukur
Zat pewarna Rhodamin B	Rhodamin B adalah zat pewarna merah terang komersial, sering ditemukan di pangan dan kosmetik dan bersifat racun serta karsinogenik (Badan POM, 2004)	- Kromatografi kertas - Spektrofotometri UV-Vis	- Hasil pemeriksaan Rhodamin B: (+) ditemukan (-) tidak - Kadar Rhodamin B dalam sampel

F. Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Erlenmeyer 250 ml, 500 ml, dan 1000 ml
2. Gelas beker 100 ml dan 1000 ml
3. Corong gelas
4. Pipet
5. Batang pengaduk
6. Mortir stamper
7. Gelas ukur
8. Timbangan analitik
9. *Hot plate*
10. Benang wol bebas lemak
11. Kertas saring whatman
12. Spektrofotometri UV-Vis

Bahan/pereksi yang digunakan:

1. Asam asetat
2. Ammonia
3. Etanol 70%
4. Larutan baku zat warna makanan (Rhodamin B)
5. Air aquades
6. Larutan elusi (n butanol : etil asetat : ammonia = 10 : 4 : 5)

G. Prosedur Penelitian

Pembuatan larutan baku Rhodamin B dilakukan dengan membuat larutan baku dengan konsentrasi 20 ppm. Selanjutnya dibuat larutan baku dengan konsentrasi masing-masing 0.5; 1; 1,5; 2; 3; 5; 6; 7,5 ppm. Pelarut yang digunakan adalah larutan HCl 0,1 N (Putri, 2009).

1. Kromatografi

- a. Gerus sampel dengan menggunakan mortir hingga halus
- b. Sampel ditimbang sebanyak 10 gram dimasukkan kedalam gelas beker 100 ml, kemudian direndam dalam 20 ml larutan ammonia 2% (yang dilarutkan menggunakan etanol 70%) selama semalam.
- c. Larutan disaring filtratnya dengan menggunakan kertas saring
- d. Larutan dipindahkan ke dalam gelas beker kemudian dipanaskan di *hot plate*
- e. Residu dari penguapan dilarutkan dalam 10 ml air yang mengandung asam (larutan asam dibuat dengan mencampurkan 10 ml air aquades dan 5 ml asam asetat 10%)
- f. Benang wol dengan panjang 15 cm dimasukkan kedalam larutan asam dan dididihkan hingga 10 menit, pewarna akan mewarnai benang wol, kemudian benang wol diangkat dan dicuci dengan air hingga bersih.
- g. Kemudian benang wol dimasukkan ke dalam larutan basa yaitu 10 ml ammonia 10% (yang dilarutkan dengan etanol 70%) dan dididihkan.
- h. Benang wol akan melepaskan warna, pewarna akan masuk dalam larutan basa.

- i. Larutan basa yang didapat selanjutnya akan digunakan sebagai cuplikan sampel pada analisis kromatografi dan Spektrofotometri UV-Vis.
- j. Totolkan pekatan pada kertas saring (2 cm dari tepi bawah kertas)
- k. Masukkan kertas tersebut kedalam bejana yang telah diberi larutan elusi.
- l. Perhitungan/ penentuan zat warna dengan cara mengukur nilai Rf dari masing-masing bercak tersebut, dengan cara membagi jarak gerak zat terlarut oleh jarak zat pelarut.
- m. Jika $R_f = 1$ berarti zat warna tersebut adalah Rhodamin B.

2. Spektrofotometri UV-Vis

- a. Dari masing masing larutan basa yang telah siap (pada poin i) dimasukkan kedalam kuvet
- b. Kemudian diukur secara spektrofotometri cahaya tampak pada panjang gelombang 500 nm – 600 nm.
- c. Untuk menghitung kadar Rhodamin B dalam sampel dapat digunakan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi $y = bx \pm a$.

H. Pengolahan Data

Data diperoleh dari hasil pemeriksaan jajanan yang dipasarkan di pasar Pasir Gintung dan pasar Way Halim Kota Bandar Lampung. Berdasarkan hasil pemeriksaan tersebut dilakukan analisis deskriptif untuk mengetahui kandungan zat pewarna Rhodamin B. Data hasil penelitian akan disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

I. Etika Penelitian

Penelitian ini menggunakan 30 jajanan yang diambil dari Pasar Pasir Gantung dan Pasar Way Halim Kota Bandar Lampung. Pengambilan sampel diambil setelah dilakukan *informed consen* dan mendapat persetujuan dari pedagang. selanjutnya sampel yang telah terkumpul di ekstraksi dalam suasana asam dengan menggunakan asam asetat 10% serta pada suasana basa menggunakan ammonia 10%, dengan isolasi dan absorpsi oleh benang wol. Setelah itu dilakukan uji kromatografi kertas dan dilanjutkan pembacaan kadar Rhodamin B menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini telah diajukan *ethical clearance* ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.