# BABIII

**METODEPENELITIAN**

# RancanganPenelitian

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan tujuan untuk mengetahuiada tidaknya kandungan Rhodamin B dan untuk menentukan kadar Rhodamin BpadaSediaanbedaktaburdanperonawajah.Rancanganpenelitianinimeliputicarapengumpulandanpembuatanlarutansampel,pembuatanlarutanstandarRhodaminB,pengujianadatidaknyakandunganRhodaminBdanpenetapankadarRhodaminBdengan metodeKromatografiCairKinerjaTinggi.

# VariabelPenelitian

VariabelbebasdalampenelitianiniadalahsampelEyeShadowyangTerdaftar dan Tidak Terdaftar dalam BPOM, sampel Blush On yang Terdaftar danTidak Terdaftar dalam BPOM, dan sampel Bedak Tabur yang Terdaftar dan TidakTerdaftar dalam BPOM sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalahkandungan Rhodamin B dan kadar Rhodamin B secara Kromatografi Cair KinerjaTinggi.

# ParameterPenelitian

ParameterpenelitianinimenggunakanujilaboratoriumsecaraKromatografiCairKinerjaTinggimeliputicarapreparasisampel,pengujiankandungan Rhodamin B, pembuatan kurva kalibrasi Rhodamin B dan penetapankadarRhodamin B.

37

# JadwaldanLokasiPenelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai bulan Mei 2024 diLaboratoriumFarmasiTerpaduUniversitasMuslimNusantaraAl-WashliyahMedan

# BahandanPeralatan

* + 1. **BahanPenelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah standart Rhodamin B(Merck), sampel blush on powder ( Yang terdaftar dan tidak terdaftar BPOM ),sampel bedak powder ( Yang terdaftar dan tidak terdaftar BPOM ), sampel eyeshadow powder ( Yang terdaftar dan tidak terdaftar BPOM ), Amoniak pro analisis(Merck), Metanol pro analisis (Sigma-Aldrick), Etil asetat pro analisis (J.T.baker),Aquades (WIDA WITM Unicap), Acetonitril pro analisis (Merck), Butan-1-ol proanalisis(Merck).

# PeralatanPenelitian

Alat yang digunakan adalah HPLC (Rigol), perangkat komputer, softwareImagej, timbangan analitik, corong ( pyrex ), labu ukur ( Iwaki Pyrex ), pipet ukur( Iwaki Pyrex ), beaker glass ( Iwaki Pyrex), bejana camag, lempeng KLT SilikaGelGF254, kertassaring (Whatman)

# PersiapanSampel

Sampel yang digunakan yaitu bedak tabur, perona pipi danperona matayang terdaftar dan tidak terdaftar dalam BPOM yang beredar dalam via online dandipasaran.Berdasarkan dengan tingkat penjualan yang tinggi.

# ProsedurPenelitian

* + 1. **AnalisisKualitatifKromatografiLapisTipis**

# PembuatanLarutanSampel

Timbang 500 mg eye shadow, blush on dan bedak tabur menggunakantimbangananalitik,kemudiandimasukkankedalamlabuukur5mldanditambahkansampaitandabatasmenggunakanmetanolproanalisis(Komarudinetal., 2019)

# PembuatanBakuPembandingRhodaminB

Timbang 50 mg pewarna Rhodamin B menggunakan timbangan analitik,kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml dan ditambahkan sampai tandabatasmenggunakan metanol pro analisis(Rahmanet al., 2023)

# PembuatanFaseGerak(Eluen)

MasukkandalambejanaKromatografiberupaetilasetat:n-butanol:amonia25%denganperbandingan(20:55:25).Dibiarkaneluensampaijenuhdengancaradicelupkankertassaringpadafasegerak.Bejanaditutuprapat,lalufasegerakdibiarkanmenguapataunaikhinggamembasahikertassaring(Rahmanetal.,2023)

# Identifikasianalisiskualitatifmenggunakan KromatografiLapisTipis

Tahap identifikasi sampel dengan metode KLT yaitu menggunakan silikagelGF254yangberukuran20cmx20cm.Kemudiansampeleyeshadow,blush on, dan bedak tabur dan Rhodamin B ditotolkan menggunakan pipa kaliperdi plat KLT dengan jarak pada jarak 1 cm dari bagian bawah plat. Kemudianmasukkankedalamchamberyangberisifasegeraketilasetat:N-butanol:ammonia 25% dengan perbandingan (20:55:25) v/v/v. Setelah eluen sampai tandabatas, angkat dan keringkan. Kemudian diamati menggunakan sinar UV 254 nm.ApabilasecaravisualnodaberwarnamerahmudadandibawahsinarUVkuning

atauorange,halinimenunjukkanadanyaRhodaminB,makahitunghargaRf(Rahmanet al., 2023)

# AnalisisKuantitatifKromatografiCairKinerjaTinggiPembuatanFaseGerak

Buat campuran pelarut asetonitril – metanol – air dengan perbandingan(47:47:6),homogenkandenganultrasonicvibratorselama15menit.Larutankemudian di saring dengan milipore 0,45 µm. Injeksikan ke dalam sistem KCKTdengan panjang gelombang 554 nm, laju alir 1 ml/menit, volume injeksi 20 µL (Tentukanwakturetensi,tailingfactor,fronting)(Rachmawatietal.,2014)

# PembuatanLIBIRhodaminB

Timbang seksama Rhodamin B sebanyak 50 mg, masukkan ke dalam labuukur 50 ml, larutkan dengan metanol pro analisis sampai tanda batas kemudianhomogenkan( 1000 ppm) (Komarudinet al.,2019)

# PembuatanLIBIIRhodamin B

Dipipet sebanyak 5 ml larutan standar 1000 ppm masukkan ke dalam labuukur 50 ml, larutkan dengan metanol pro analisis sampai tanda batas kemudianhomogenkan(100ppm) (Komarudin et al., 2019)

# PembuatanLarutanUji

Larutanujidibuatdenganmelarutkanlarutanstandar(LIBII)sebanyak0,6ml kedalam labu ukur 10 ml tambahkan metanol pro analisis sampai tanda batas,kocok sampai homogen. Larutan kemudian di saring dengan milipore 0,45 µm.Injeksikan ke dalam sistem KCKT dengan panjang gelombang 554 nm, laju alir 1ml/menit,volumeinjeksi20µL.Tentukanwakturetensiyangdiperoleh(Rachmawatiet al., 2014)

# PembuatanKurvaKalibrasi

Buat larutan untuk kurva kalibrasi dari larutan standart (100 ppm) denganmembuat 6 konsentrasi yaitu konsentrasi larutan 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10ppm, 12 ppm, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml tambahkandengan metanol pro analisis sampai tanda batas, kocok sampai homogen. Larutankemudian di saring dengan milipore 0,45 µm. Injeksikan ke dalam sistem KCKTdengan panjang gelombang 554 nm, laju alir 1 ml/menit, volume injeksi 20 µL(Rachmawatiet al., 2014)

# PembuatanLarutanSampel

Sampel eye shadow, blush on, bedak tabur di timbang sebanyak 500 mgmenggunakantimbangananalitik,laludimasukkanke dalamlabu ukur 5ml,ditambahkan metanol pro analisis sampai tanda batas dan dihomogenkan. Larutankemudian di saring dengan milipore 0,45 µm. Injeksikan ke dalam sistem KCKTdengan panjang gelombang 554 nm, laju alir 1 ml/menit, volume injeksi 20 µL(Komarudinet al., 2019)