

BAB III BAHAN DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan April sampai dengan Juni 2014 di Balai Laboratorium Kesehatan Medan Sumatera Utara.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini Labu takar 100 ml, Pemanas Listrik, Chamber, Pipet volum, Kertas Kromatografi, Pipet mikro.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel sirup yang bermerk dan tidak bermerk berwarna merah, Asam asetat 10 %, Amoniak 10 %, Tri-natrium citrate, Bulu domba, Larutan baku Rhodamin B, dan akuades.

3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan bersifat deskriptif Kualitatif Dengan menggunakan Kromatografi Kertas. Pada penelitian ini akan menggambarkan keberadaan senyawa Rhodamin B pada Sirup berwarna merah yang beredar di Kota Medan Sumatera utara. Secara Laboratorium yaitu dengan melakukan observasi pada Sirup yang dicurigai mengandung Rhodamin B dan dilanjutkan dengan melakukan analisis sampel di laboratorium (Sherly, dkk, 2013).

Sebanyak 10 sampel sirup yang dicurigai mengandung senyawa Rhodamin B terdiri dari sirup A,B,C,D,E,F,G,H,I,J. Selanjutnya sampel dikemas dan dibawa ke Balai Laboratorium Kesehatan Kota Medan dan dianalisis secara kualitatif.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1 Penyediaan Larutan Uji

Larutan uji yang digunakan untuk mengidentifikasi Rhodamin B pada sirup berwarna merah yang beredar di Kota Medan terdiri dari larutan asam asetat 10 %, larutan amoniak 10 %, larutan baku Rhodamin B, dan larutan eluen yang terdiri dari larutan ammoniak pekat 5 ml yang diencerkan dan ditambahkan dengan 2 gr Trinatrium Citrat.

3.4.1.1 Penyediaan Larutan Asam Asetat, (CH₃COOH 10 %)

Penyediaan larutan asam asetat 10 % yaitu, sebanyak 10 ml larutan asam asetat dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

3.4.1.2 Penyediaan Larutan Amoniak, (NH₄OH 10 %)

Penyediaan larutan amoniak 10 % yaitu, sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

3.4.1.3 Penyediaan Larutan Amoniak, (NH₄OH 5 %)

Penyediaan larutan amoniak 5 %, sebanyak 5 ml amoniak p.a dimasukkan kedalam labu takar 100 ml, kemudian ditambahkan ditambahkan akuades hingga tanda batas dan dihomogenkan.

3.4.1.4 Penyediaan Larutan Eluen

Penyediaan larutan eluen yaitu, larutan amoniak 5 % dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, kemudian ditambahkan dengan 2 gr Trinatrium Citrat.

3.4.1.5 Penyediaan Larutan Baku Rhodamin B

5 mg pewarna Rhodamin B ditimbang dan dilarutkan dengan 10 ml metanol.

3.4.2 Pemeriksaan Rhodamin B Secara Kualitatif dengan Metode Kromatografi Kertas

Ambil 50 ml sampel sirup menggunakan pipet volum, kemudian masukkan ke dalam labu takar 100 ml, tambahkan 10 ml Asam asetat 10 % kemudian masukkan bulu domba bebas lemak sepanjang 20 cm lalu didihkan selama 10 menit diatas pemanas Listrik. Bulu domba dipisahkan dari larutan dan dicuci dengan air dingin berulang-ulang hingga bersih, kemudian masukkan bulu domba ke dalam gelas kimia yang bersih lalu tambahkan larutan amoniak 10 % sebanyak 25 ml, kemudian didihkan selama 10 menit diatas pemanas Listrik. Pisahkan bulu domba dan larutan. Kemudian larutan warna ditotolkan pada kertas kromatografi, serta totolkan juga larutan baku Rhodamin B sebagai pembanding dengan menggunakan pipet mikro.

Setelah sampel ditotol dengan menggunakan pipet mikro kemudian kertas kromatografi dikeringkan dengan suhu kamar. Setelah kering kertas kromatografi digantungkan kedalam *chamber* yang berisi larutan eluen amoniak pekat 5 % lalu ditambahkan 2 gr Trinatrium citrat, lalu ditutup. Setelah pelarut merambat naik sampai jarak tertentu, keluarkan kertas dari *chamber* dikeringkan diudara, lalu diukur harga R_f. Kemudian dilihat dibawah sinar Lampu UV, jika berfluorensi berwarna merah jambu terang, maka hal ini menunjukkan adanya Rhodamin B. perhitungan nilai R_f dilakukan dengan persamaan sebagai berikut.

$$R_f = \frac{\text{jarak bercak sampel}}{\text{jarak pelarut}}$$