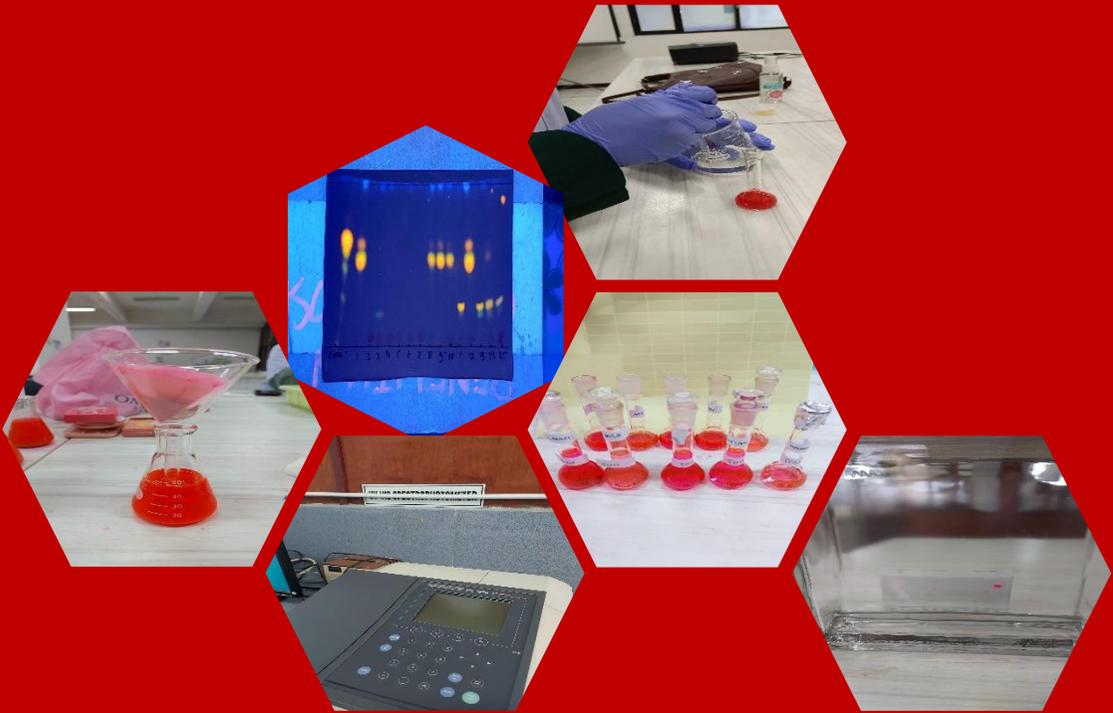


**ANALISIS PEWARNA RHODAMIN B PADA *BLUSH ON* YANG DIPEROLEH
DARI PASAR TRADISIONAL DAN PASAR MODERN KOTA MAKASSAR
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



**ARDINI KAMAL
N011201008**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ANALISIS PEWARNA RHODAMIN B PADA *BLUSH ON* YANG DIPEROLEH
DARI PASAR TRADISIONAL DAN PASAR MODERN KOTA MAKASSAR
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**ARDINI KAMAL
N011201008**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**ANALISIS PEWARNA RHODAMIN B PADA *BLUSH ON* YANG DIPEROLEH
DARI PASAR TRADISIONAL DAN PASAR MODERN KOTA MAKASSAR
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

ARDINI KAMAL
N011201008

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada

**PROGRAM STUDI FARMASI
DEPARTEMEN FARMASI SAINS DAN TEKNOLOGI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI

**ANALISIS PEWARNA RHODAMIN B PADA *BLUSH ON* YANG DIPEROLEH
DARI PASAR TRADISIONAL DAN PASAR MODERN KOTA MAKASSAR
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

ARDINI KAMAL

N011201008

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi
pada 07 Oktober 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada



Program Studi Farmasi
Departemen Farmasi Sains dan Teknologi
Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing utama,



Aminullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt
NIP. 19820210 200912 1 004

Mengetahui:
Pembimbing pendamping,



Dr. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt
NIP. 19630801 199003 1 001

Mengetahui
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan,



Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.
NIP. 19771111 200812 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Analisis Pewarna Rhodamin B Pada *Blush on* Yang Diperoleh Dari Pasar Tradisional dan Pasar Modern Kota Makassar Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing (Aminullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. dan Dr. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt.). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, Oktober 2024



Ardini Kamal
N011201008

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabbil 'Alamin, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wata'ala, atas segala rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Analisis Pewarna Rhodamin B Pada *Blush on* Yang Diperoleh Dari Pasar Tradisional dan Pasar Modern Kota Makassar Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis”. Shalawat serta salam selalu tercurahkan pada junjungan Nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi wassalam yang telah menuntun umat manusia ke zaman penuh peradaban dan keberkahan.

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana hingga selesai dan skripsi ini dapat dirampungkan atas bimbingan, diskusi, dan arahan Bapak Aminnullah, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. sebagai pembimbing utama dan Bapak Dr. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. sebagai pembimbing pendamping. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada bapak atas bimbingan dan dukungan yang luar biasa dalam menyelesaikan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada Dekan Fakultas Farmasi, Prof. Dr. rer.nat Marianti A. Manggau, Apt yang memberikan fasilitas yang memadai untuk pelaksanaan penelitian.

Saya juga menyampaikan terima kasih kepada Mutmainnah, Nur Ilmi Ilham, dan Dwi Darul Nurul Annisa yang telah menemani dan membantu selama proses penelitian saya. Terima kasih juga kepada sahabat saya Mimi, Nurul, Aisyah, Asyilah, Arsyah dan Claudio. Rasa terima kasih juga saya sampaikan kepada seluruh teman-teman angkatan 2020 atas dukungannya.

Terakhir, saya ingin berterima kasih yang sebesar-besarnya kepada almarhum bapak dan almarhumah ibu, adik saya, serta segenap keluarga yang selalu ada untuk memberikan dukungan moral dan material selama masa kuliah hingga tugas akhir. Terima kasih telah mempercayai saya selama berproses dan tidak menuntut apapun, membuat saya bisa bertahan dan melangkah dengan lebih ringan. Terima kasih banyak atas segala doa dan pengorbanan yang takkan pernah bisa saya gantikan.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan masukan dan saran dari berbagai pihak yang bersifat membangun. Penulis juga berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan dan masyarakat.

Penulis,

Ardini Kamal

ABSTRAK

ARDINI KAMAL. **Analisis Pewarna Rhodamin B Pada *Blush on* Yang Diperoleh Dari Pasar Tradisional Dan Pasar Modern Kota Makassar Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS** (dibimbing oleh Aminullah dan Syaharuddin Kasim).

Latar Belakang. Rhodamin B merupakan salah satu zat pewarna yang dilarang penggunaannya dalam kosmetik. Hal ini disebabkan karena fungsi utama Rhodamin B sebagai pewarna tekstil dan dapat memberikan dampak berbahaya bagi konsumen jika terakumulasi dalam tubuh. Namun, seringkali ditemukan kasus penyalahgunaan pewarna Rhodamin B pada kosmetik dengan alasan relatif murah dan menghasilkan warna cerah. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan Rhodamin B pada *Blush on* dan mengetahui kadar Rhodamin B pada *Blush on* yang diperoleh dari pasar tradisional dan pasar modern kota Makassar. **Metode.** Penelitian ini menggunakan sebanyak 15 produk *Blush on* yang diperoleh dari pasar tradisional dan pasar modern kota Makassar dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan Spektrofotometri UV-Vis. **Hasil.** Uji kualitatif menggunakan metode KLT, diduga ada 5 sampel *Blush on* yang mengandung Rhodamin B dengan nilai R_f yang sama yaitu 0,66. Hasil verifikasi metode analisis dengan panjang gelombang 544,50 nm menunjukkan uji akurasi pada konsentrasi 0,5 ppm, 1,5 ppm, dan 2,5 ppm dengan %*recovery* berturut – turut adalah 101,725%; 100,927% dan 102,281%. Hasil uji presisi pada konsentrasi 0,5 ppm 1,5 ppm dan 2,5 ppm diperoleh %RSD secara berturut-turut adalah 0,0977%; 0,1243%; dan 0,1185%; Uji linearitas diperoleh nilai koefisien korelasi sebesar 0,9984. Nilai LOD sebesar 0,1196 ppm dan LOQ sebesar 0,3624 ppm. Hasil penetapan kadar Rhodamin B yang terkandung dalam sampel *blush on* KB 1 sebesar 0,731%; sampel ML sebesar 1,046%; sampel HN sebesar 1,621%; sampel AN sebesar 0,772%; dan sampel KB 2 sebesar 0,752%. **Kesimpulan.** Pengukuran metode analisis yang dilakukan menunjukkan sampel *Blush on* yang beredar di pasar tradisional dan pasar modern kota Makassar diduga kandungan Rhodamin B.

Kata kunci: *Blush on*; KLT; Kosmetik; Rhodamin B; Spektrofotometri UV-Vis

ABSTRACT

ARDINI KAMAL. **Analysis of Rhodamine B Dyes in Blush Obtained from Traditional Markets and Modern Markets in Makassar City Using UV-VIS Spectrophotometric Method** (supervised by Aminullah and Syaharuddin Kasim).

Background. Rhodamine B is one of the coloring substances that cannot be used in cosmetics. This is due to the main function of Rhodamin B as a textile dye and can have a harmful impact on consumers if accumulated in the body. However, there are often cases of misuse of Rhodamin B dye in cosmetics on the grounds that it is relatively cheap and produces bright colors. **Aims.** This study aims to determine the presence of Rhodamin B content in Blush and determine the level of Rhodamin B in Blush obtained from traditional markets and modern markets in Makassar city. **Methods.** This study used 15 Blush products obtained from traditional markets and modern markets in Makassar city using thin layer chromatography (KLT) and UV-Vis Spectrophotometry methods. **Results.** Qualitative test using TLC method, it is suspected that there are 5 Blush on samples containing Rhodamine B with the same Rf value of 0.66. The results of the verification of the analysis method with a wavelength of 544.50 nm showed an accuracy test at a concentration of 0.5 ppm, 1.5 ppm and 2.5 ppm with % recovery respectively of 101,725%; 100,927% and 102,281%. The results of the precision test at a concentration of 0.5 ppm, 1.5 ppm and 2.5 ppm obtained % RSD respectively of 0,0977%; 0.1243% and 0.1185%. The linearity test obtained a correlation coefficient value of 0.9984. The LOD value is 0.1196 ppm and the LOQ is 0,3624 ppm. The results of the determination of Rhodamine B levels contained in the KB 1 blush on sample were 0.731%; the ML sample was 1.046%; the HN sample was 1.621%; the AN sample was 0.772%; and the KB 2 sample was 0.752%. **Conclusion.** The measurement of analytical methods carried out showed that Blush samples circulating in traditional markets and modern markets in Makassar city contained Rhodamin B.

Keywords: Blush on; Cosmetics; KLT; Rhodamine B; UV-Vis Spectrophotometry

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
BAB II. METODE PENELITIAN	3
2.1 Alat dan Bahan	3
2.2 Metode Penelitian	3
2.2.1 Pengambilan sampel	3
2.2.2 Preparasi sampel	3
2.2.3 Pembuatan larutan Sampel	3
2.2.4 Analisis kualitatif	3
2.2.4.1 Analisis Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis	3
2.2.4.2 Analisis Kualitatif dengan <i>Rapid Test Kit</i>	3
2.2.5 Validasi Metode Analisis	3
2.2.5.1 Pembuatan Larutan Stok Baku	3
2.2.5.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	4
2.2.5.3 Pembuatan Larutan Baku dan Uji Linearitas	4
2.2.5.4 Akurasi	4
2.2.5.5 Presisi	4
2.2.5.6 <i>Limit of Detection</i> (LOD) dan <i>Limit of Quantification</i> (LOQ)	5
2.2.5.7 Selektivitas	5
2.2.6 Penetapan Kadar Rhodamin B dalam Produk Blush on	5
2.2.7 Analisis Data dan Penarikan Kesimpulan	5
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN	7
3.1 Analisis kualitatif	7
3.1.1 Analisis Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis	7
3.1.2 Analisis Kualitatif dengan <i>Rapid Test Kit</i>	8
3.2 Validasi Metode Analisis	10
3.2.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum	10
3.2.2 Penentuan Kurva Baku dan Uji Linearitas	10
3.2.3 Akurasi	11
3.2.4 Presisi	11

3.2.5	Limit of Detection (LOD) dan Limit of Quantification (LOQ)	13
3.2.6	Selektivitas	13
3.3	Penetapan Kadar Rhodamin B dalam Masing-Masing Produk <i>Blush on.</i>	14
BAB IV. PENUTUP		15
4.1	Kesimpulan	15
4.2	Saran	15
DAFTAR PUSTAKA		16
LAMPIRAN		18

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil uji kualitatif dengan KLT	8
2. Hasil uji kualitatif dengan <i>Rapid Test Kit</i>	9
3. Hasil uji linearitas	11
4. Hasil uji akurasi	12
5. Hasil uji presisi	12
6. Hasil perhitungan LOD dan LOQ	.13
7. Hasil penetapan kadar Rhodamin B dalam sampel <i>Blush on</i>	14

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Hasil uji kualitatif dengan lempeng KLT pada standar Rhodamin B dan 15 sampel Rhodamin B	7
2. Spektrum panjang gelombang maksimum Rhodamin B	10
3. Kurva kalibrasi larutan standar Rhodamin B	11
4. Spektrum A) Baku; B) KB1 spike; C) ML spike; D) HN spike; E) AN+spike; F) KB2+ sampel; G) KB1; H) ML; I) HN; J) AN; dan K) KB2	27
5. Proses penimbangan baku Rhodamin B	27
6. Proses penimbangan sampel <i>Blush on</i>	27
7. Preparasi sampel	27
8. Proses penyaringan sampel	27
9. Uji kualitatif dengan KLT	27
10. Proses kurva baku, linearitas, LOD dan LOQ	27
11. Pembuatan stok larutan baku	28
12. Pengujian akurasi, presisi dan selektivitas	28
13. Alat spektrofotometri UV-Vis	28
14. Analisis spektrofotometri UV-Vis	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja	18
2. Perhitungan Data	19
3. Hasil analisis Spektrofotometri UV-Vis	23
4. Dokumentasi	25
5. <i>Curriculum Vintae</i>	31

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kosmetik adalah sediaan atau paduan bahan yang siap untuk digunakan pada bagian luar badan (epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ kelamin bagian luar), gigi dan rongga mulut. Penggunaan kosmetik untuk membersihkan, menambahkan daya tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksud untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit. Salah satu sediaan kosmetik rias yang sering digunakan adalah perona pipi (*Blush on*). *Blush on* digunakan untuk mewarnai pipi dengan sentuhan artistik sehingga dapat meningkatkan estetika dalam tata rias wajah. *Blush on* diminati karena dapat menimbulkan kesan segar dan cantik pada wajah (Tranggono & Latifah, 2007).

Blush on yang ada di pasaran menawarkan jenis *Blush on* yang berbeda-beda dengan menggunakan bahan sintetik (Iskandar et al., 2021). Namun, saat ini para produsen kini lebih memilih menggunakan warna sintesis untuk bahan tambahan karena relatif lebih murah dan dapat menghasilkan warna cerah. Salah satu pewarna yang paling umum digunakan adalah Rhodamin B (K10 Merah) (Nanda & darayani, 2018). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sylvia et al., (2021) menunjukkan bahwa dari 5 sampel lipstik yang di uji terdapat 4 sampel lipstik yang positif mengandung pewarna sintetik Rhodamin B.

Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.07.4.42.01.16.84 (BPOM RI, 2016) menyatakan Rhodamin B merupakan salah satu zat pewarna yang tidak dapat digunakan dalam kosmetik. Rhodamin B merupakan pewarna tekstil dan memberikan dampak berbahaya bagi konsumen jika terakumulasi dalam tubuh (Khasanah et al., 2022).

Penelitian Fauziah et al., 2020 mengungkapkan bahwa produk kosmetik yang mengandung Rhodamin B dapat menyebabkan iritasi pada kulit dan saluran pernafasan serta merupakan zat yang bersifat karsinogenik dan dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan hati. Selanjutnya, penelitian Hevira et al., (2019) menyatakan bahwa Rhodamin B dapat menyebabkan iritasi saluran pernafasan, kulit, mata, saluran pencernaan, keracunan dan gangguan hati serta dalam jangka panjang bisa menyebabkan kanker dan tumor. Selanjutnya, penelitian Dewi et al., (2021) Menyatakan jika mengonsumsi Rhodamin B dalam jangka panjang dapat menyebabkan pembesaran hati dan ginjal, gangguan fungsi hati, kerusakan hati, gangguan fisiologis tubuh, bahkan meningkatkan risiko kanker hati.

Penelitian yang dilakukan oleh Tessa et al., (2021) mengenai identifikasi kandungan Rhodamin B pada perona pipi yang beredar di kecamatan Lubuk Bengalung kota Padang. Hasilnya dari 13 sampel yang diperiksa, satu di antaranya ditemukan positif mengandung Rhodamin B, dan sampel tersebut terdaftar dalam BPOM. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Rhodamin B masih digunakan sebagai bahan pewarna dalam produksi kosmetik, terutama perona pipi. Tidak dapat dipungkiri bahwa perona pipi yang sudah terdaftar dalam BPOM itu semua aman dan tidak mengandung zat pewarna berbahaya Rhodamin B.

Penentuan kadar Rhodamin B dapat dilakukan dengan berbagai metode antara lain menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dan Spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian Puspitasari et al., 2023, analisis Rhodamin B

dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) diperoleh hasil bahwa sampel yang dianalisis tidak mengandung Rhodamin B, namun tetap diperlukan pengawasan BPOM yang lebih ketat terhadap sediaan kosmetika yang beredar di wilayah Indonesia agar tetap memenuhi standar kualitas yang tinggi, termasuk efek yang ditimbulkan, keamanan, dan legalitasnya.

Penelitian tentang Rhodamin B pada *Blush on* yang di peroleh dari pasar tradisional dan juga pasar modern kota Makassar belum pernah di laporkan. Maka dari itu hal ini memberikan ketertarikan untuk melakukan penelitian analisis pewarna Rhodamin B pada *Blush on* yang di peroleh dari pasar tradisional dan pasar modern kota Makassar menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka masalah yang dapat dirumuskan adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat Rhodamin B pada produk *Blush on* yang diperoleh dari pasar tradisional dan pasar modern kota Makassar?
2. Apakah metode spektrofotometri UV-Vis valid untuk digunakan dalam analisis Rhodamin B pada produk *Blush on* yang diperoleh dari pasar tradisional dan pasar modern kota Makassar?
3. Berapa kadar Rhodamin B yang terdapat pada *Blush on* yang diperoleh di pasar tradisional dan pasar modern kota Makassar?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengidentifikasi kandungan Rhodamin B pada produk *Blush on* yang diperoleh dari pasar tradisional dan pasar modern kota makassar.
2. Untuk validasi metode spektrofotometri UV-Vis dalam penetapan kadar Rhodamin B pada produk *Blush on* yang diperoleh dari pasar tradisional dan pasar modern kota Makassar.
3. Untuk menentukan kadar Rhodamin B yang terdapat pada *Blush on* yang diperoleh dari pasar tradisional dan pasar modern kota Makassar.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas (Pyrex[®]), alat-alat tulis, aluminium foil, cawan porselen, corong, kertas saring, kertas perkamen, mikropipet, spektrofotometer UV-Vis, dan timbangan analitik.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, metanol, sampel *Blush on*.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan sebanyak 15 produk *Blush on* yang diperoleh dari pasar tradisional dan pasar modern kota makassar. Adapun kriteria *Blush on* yang akan digunakan yaitu jenis *compact blush on*, terdaftar maupun tidak terdaftar dalam BPOM dan paling banyak diminati oleh masyarakat.

2.2.2 Preparasi Sampel

Ditimbang sampel sejumlah 500 mg dimasukkan dalam gelas beker kemudian ditambahkan metanol sebanyak 50 mL. Selanjutnya, disonikasi selama 30 menit dan di saring menggunakan kertas saring Whatman dan filtrat diuapkan sampai pada suhu 50°C menggunakan waterbath hingga kering.

2.2.3 Pembuatan Larutan Sampel

Ditimbang ekstrak sampel sebanyak 10 mg, Kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL lalu ditambahkan metanol sampai tanda batas lalu gojog hingga homogen dan diperoleh larutan sampel 1000 ppm.

2.2.4 Analisis Kualitatif

2.2.4.1 Analisis Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Disiapkan chamber kemudian dijenuhkan dengan fase gerak berupa n-butanol: etil asetat: amonia (10:4:5). Selanjutnya, ekstrak sampel dan baku Rhodamin B sebagai pembanding ditotolkan pada lempeng KLT menggunakan pipa kapiler. Kemudian, dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan, dibiarkan hingga lempeng terelusi sempurna, kemudian diangkat dan dikeringkan. Diamati warna secara visual di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm.

2.2.4.2 Analisis Kualitatif dengan *Rapid Test Kit*

Ditimbang sebanyak 2 gram sampel *blush on*, kemudian digerus dengan menambahkan aquadest hingga homogen dan memiliki tekstur seperti pasta. Setelah itu dipindahkan ke cawan porselen. Kemudian diteteskan reagen 1 yang berisi larutan pereaksi $SbCl_1$ (*stibium florida*) dalam HCL 5 N yang telah disiapkan pada alat *Rapid Test Kit* sebanyak 1 tetes, lalu aduk. Selanjutnya, diteteskan reagen 2 yang berisi larutan pereaksi *toluene* (*metil benzena*) yang telah disiapkan pada alat *rapid Teset Kit* sebanyak 3 tetes kemudian diaduk. Setelah itu, amati perubahan warna pada sampel.

2.2.5 Validasi Metode Analisis

2.2.5.1 Pembuatan Larutan Stok Baku

Ditimbang Rhodamin B sebanyak 10 mg. Kemudian, dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan metanol sampai tanda batas lalu gojog hingga

homogen dan diperoleh larutan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian, dipipet sebanyak 1 mL kedalam labu tentukur 10 mL. Selanjutnya ditambahkan metanol hingga tanda batas. Kemudian digojog hingga homogen dan diperoleh konsentrasi 100 ppm.

2.2.5.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan stok baku 100 ppm dipipet sebanyak 0,2 mL ke dalam labu tentukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 2 ppm. Selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis dalam rentang 400-800 nm dengan menggunakan blanko berupa metanol.

2.2.5.3 Pembuatan Larutan Baku Rhodamin B dan Uji Linearitas

Larutan baku Rhodamin B dibuat 5 konsentrasi dengan cara dipipet larutan stok Rhodamin B (100 ppm) sebanyak 0,05 mL; 0,1 mL; 0,15 mL; 0,2 mL dan 0,25 mL. Kemudian, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm dan 2,5 ppm. Ditambahkan metanol kedalam larutan hingga mencapai batas yang ditunjukkan pada labu tentukur, larutan kemudian dihomogenkan. Setelah itu setiap larutan dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum

2.2.5.4 Akurasi

Validasi akurasi pengujian dilakukan dengan 9 kali penetapan pada 3 level konsentrasi 0,5 ppm, 1,5 ppm dan 2,5 ppm dengan 3 kali pengukuran setiap level. Dibuat seri larutan baku Rhodamin B dengan cara dipipet baku Rhodamin B sebanyak (100 ppm) sebanyak 0,05 mL, 0,15 mL, dan 0,25 mL dalam labu tentukur 10 mL, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1,5 ppm, dan 2,5 ppm. Kemudian, ditambahkan metanol sampai garis tanda batas lalu dihomogenkan. Analisis dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis menggunakan panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Kemudian, hitung %recovery dengan rumus (Rohman, 2014):

$$\% \text{recovery} = \frac{\text{hasil analisis}}{\text{nilai standar}} \times 100 \%$$

2.2.5.5 Presisi

Validasi presisi pengujian dilakukan dengan 9 kali penetapan pada 3 level konsentrasi (0,5 ppm, 1,5 ppm dan 2,5 ppm) dengan 3 kali pengukuran setiap level. Kemudian, dibuat seri larutan baku Rhodamin B dengan cara dipipet baku Rhodamin B 100 ppm sebanyak 0,05 mL, 0,15 mL, dan 0,25 mL dalam labu tentukur 10 mL, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1,5 ppm, dan 2,5 ppm. Kemudian, ditambahkan metanol sampai garis tanda batas lalu dihomogenkan. Setelah itu, dilakukan analisis dengan spektrofotometri Uv-Vis. Hasil analisis kemudian digunakan untuk menghitung nilai %RSD dari setiap konsentrasi. Dalam uji presisi harus mempunyai nilai simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi <2%, jika nilai koefisien variasi <2% menunjukkan bahwa metode tersebut memberikan presisi yang baik.

$$\% \text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{x}} \times 100 \%$$

Keterangan:

SD = Standar Deviasi

\bar{x} = slope (b pada persamaan garis $y = bx + a$)

2.2.5.6 Limit of Detection (LOD) dan Limit of Quantification (LOQ)

Untuk menentukan LOD dan LOQ disiapkan 5 seri konsentrasi larutan masing – masing yaitu 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm dan 2,5 ppm. Dibuat seri larutan baku Rhodamin B dengan dipipet baku Rhodamin B sebanyak 0,05 mL, 0,1 mL, 0,15 mL, 0,2 mL dan 0,25 mL ke dalam labu tentukur 10 mL. Kemudian, tambahkan metanol hingga tanda batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm 2 ppm dan 2,5 ppm. Kemudian masing – masing larutan di analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dicatat absorbansi larutan terukur (y). Ditentukan absorbansi larutan yang seharusnya (y') dengan cara diplot konsentrasi larutan pada persamaan regresi yang didapatkan. Setelah itu dicari selisih nilai y dan y' masing-masing seri konsentrasi, kemudian hasilnya dikuadratkan. Kemudian dijumlahkan hasil kuadrat dari selisih y dan y' dari keenam seri konsentrasi. Kemudian dicari simpangan baku blanko atau simpangan baku residual dengan rumus:

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y - y')^2}{N - 2}}$$

Setelah diperoleh simpangan baku, dihitung nilai LOD dan LOQ dengan rumus:
Batas deteksi:

$$\square\square\square = \frac{3,3 \times \square\square/\square}{\square\square}$$

Batas kuantitasi:

$$\square\square\square = \frac{10 \times \square\square/\square}{\square\square}$$

Keterangan:

$S_{y/x}$ = simpangan baku blanko

S_l = slope (b pada persamaan garis $y = bx + a$)

2.2.5.7 Selektivitas

Tahap persiapan selektivitas melibatkan pembuatan tiga larutan : larutan baku Rhodamin B 100 ppm, larutan sampel *Blush on* 100 ppm dan larutan sampel *spike* (larutan sampel yang ditambahkan dengan larutan baku Rhodamin B). Selanjutnya, masing – masing larutan kemudian dianalisis dengan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400 – 800 nm.

2.2.6 Penetapan Kadar Rhodamin B dalam Produk *Blush on*

Dari setiap larutan sampel 100 ppm di pipet sebanyak 4,25 mL dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL, tambahkan metanol hingga mencapai batas yang ditunjukkan pada labu tentukur sehingga menghasilkan larutan dengan konsentrasi 85 ppm kemudian dihomogenkan. Analisis dilakukan dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Hasil analisis kromatogram larutan baku dan sampel harus menunjukkan adanya puncak yang menandakan keberadaan Rhodamin B di sekitar panjang gelombang maksimumnya.

2.2.7 Analisis Data dan Penarikan Kesimpulan

Analisis data dilakukan untuk menentukan kadar Rhodamin B dalam sampel. Nilai absorbansi positif dari setiap sampel yang diperoleh dari analisis kualitatif dimasukkan ke dalam rumus regresi linier $y = bx + a$, dimana y adalah nilai absorbansi (A) dan x adalah konsentrasi larutan Rhodamin B. Persamaan regresi yang dihasilkan dari kurva baku ini digunakan untuk menghitung konsentrasi Rhodamin B dalam sampel *Blush on* dan diakhiri dengan pengambilan kesimpulan dari hasil analisis.