

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil

#### 1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk mengamati karakteristik fisik *liptint*, yang meliputi bentuk, warna, dan bau. Hasil pengamatan tersebut dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2. Hasil Uji Organoleptis**

Sampel	Bentuk	Warna	Bau
A	Cairan kental	Merah	Khas <i>strawberry</i>
B	Cairan kental	Merah	Khas <i>strawberry</i>
C	Cairan kental	Merah	Khas <i>strawberry</i>
D	Cairan kental	Merah	Khas <i>strawberry</i>
E	Cairan kental	Merah kecoklatan	Khas <i>strawberry</i> dan menyengat
F	Cairan kental	Merah	Khas <i>strawberry</i>

#### 2. Analisis Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

##### a. Optimasi fase gerak

Analisis kualitatif pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sebelum dilakukan analisis KLT pada sampel terlebih dahulu dilakukan optimasi terhadap fase gerak. Hasil optimasi dapat dilihat pada **Tabel 3** dan **Lampiran 6**.

**Tabel 3. Hasil Optimasi Fase Gerak**

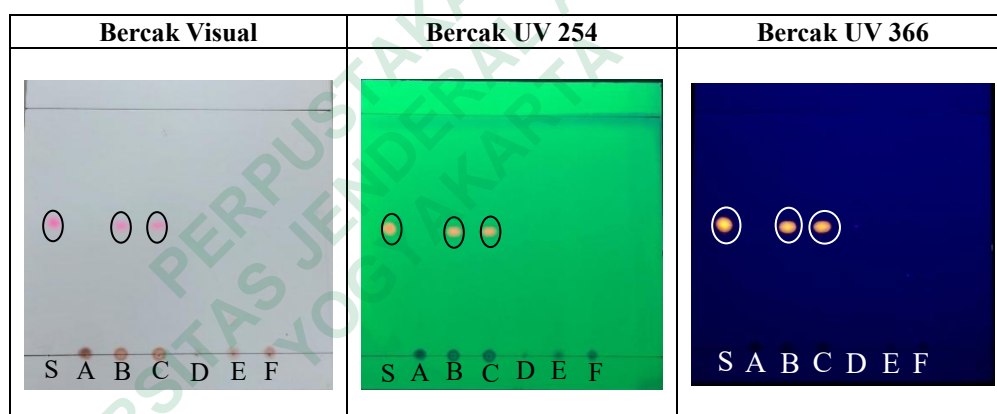
Fase gerak	Hasil
etil asetat : metanol : amonia (15:3:3)	Spot yang terbentuk pada standar dan sampel terlihat jelas tetapi berekor serta memiliki nilai $R_f$ standar dan sampel = 0,75
<i>n</i> -butanol : etil asetat : amonia (10:4:5)	Spot yang terbentuk jelas dan beraturan, memiliki nilai $R_f$ = 0,587 pada standar dan sampel

Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini dipilih campuran fase gerak *n*-butanol : etil asetat : amonia (10:4:5) karena memberikan hasil spot

yang jelas dan beraturan serta memiliki nilai  $R_f = 0,587$  pada standar dan sampel. Dari hasil optimasi, campuran fase gerak *n*-butanol : etil asetat : amonia (10:4:5) dapat memberikan bercak senyawa yang jelas dan dapat memberikan nilai  $R_f$  pada rentang 0,2-0,8 (Husna & Mita, 2020). Setelah mendapatkan fase gerak yang optimal dilakukan uji KLT pada sampel dan baku rhodamin-B.

b. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Uji kualitatif dengan KLT menggunakan fase gerak *n*-butanol : etil asetat : amonia (10:4:5) dan fase diamnya yaitu silika gel F254 nm. Sampel dapat dikatakan positif apabila bercak yang dihasilkan sejajar dengan bercak yang dihasilkan oleh pembanding. Hasil uji kualitatif dapat dilihat pada **Gambar 5**.



**Gambar 5.** Hasil KLT dari standar dan sampel *Liptint*

Keterangan:

S = standar rhodamin- B

A-F = Sampel *Liptint*

Berdasarkan hasil yang diperoleh, 2 dari 6 sampel *liptint* positif mengandung bahan berbahaya rhodamin-B, yaitu sampel B dan C. Kedua sampel rhodamin-B menunjukkan bercak berwarna merah muda secara visual, serta di bawah sinar UV 254 nm terlihat bercak berwarna orange, sedangkan pada UV 366 nm terlihat bercak berfluoresensi orange kemerahan. Selanjutnya dilakukan perhitungan nilai  $R_f$  pada sampel dan standar. Nilai  $R_f$  standar sebesar 0,587, sedangkan nilai  $R_f$  sampel sebesar 0,578. Menurut Khasanah *et al.* (2022), rentang nilai  $R_f$  yang baik yaitu

antara 0,2–0,8. Selain itu, menurut Sophieyati *et al.* (2024), suatu sampel dapat dikatakan positif mengandung rhodamin-B jika selisih nilai Rf antara standar dan sampel  $\leq 0,05$ . Nilai Rf sampel dan standar dapat dilihat pada **Tabel 4.**

**Tabel 4. Hasil Analisis Kualitatif Rhodamin-B Dengan KLT**

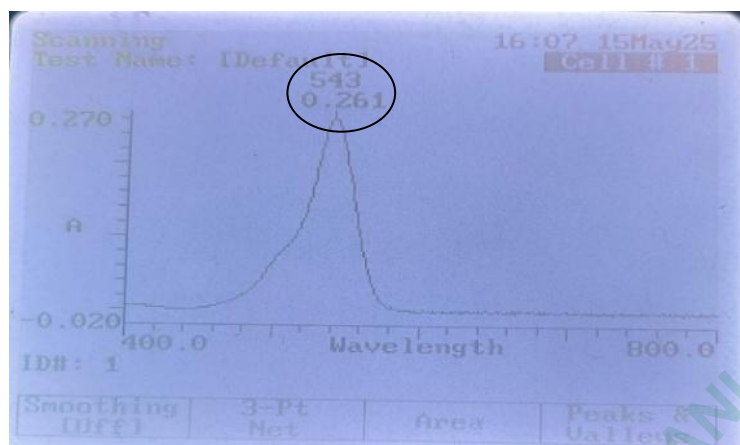
No	Larutan	Bercak UV Visual	Bercak UV 254 nm	Bercak UV 366 nm	Nilai Rf	Keterangan
1	Standar rhodamin-B	Merah muda	Orange	Fluoresensi orange	0,587	+
2	Sampel A	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
3	Sampel B	Merah muda	Orange	Fluoresensi orange	0,587	+
4	Sampel C	Merah muda	Orange	Fluoresensi orange	0,587	+
5	Sampel D	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
6	Sampel E	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
7	Sampel F	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-

Keterangan: (+) = positif mengandung rhodamin-B, (-) = negatif mengandung rhodamin-B

### 3. Analisis Kuantitatif

#### a. Penentuan panjang gelombang maksimum

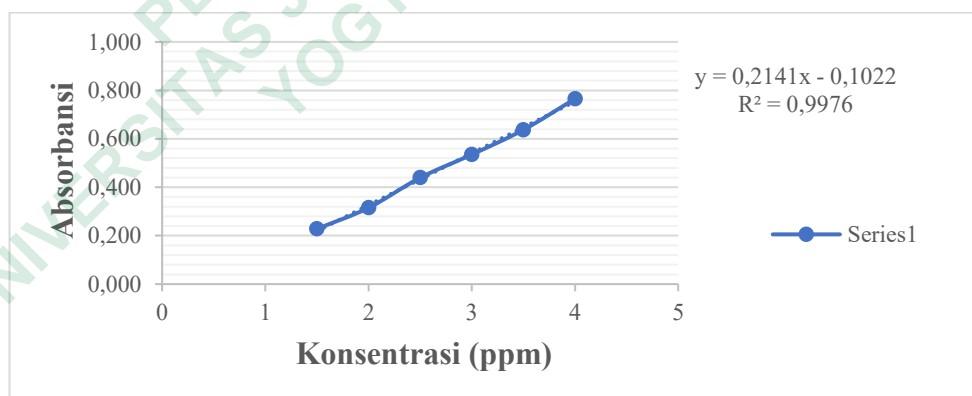
Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum menggunakan standar rhodamin-B dengan konsentrasi 2 ppm. *Scanning* panjang gelombang maksimum dilakukan pada 400-800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Visible dan diperoleh panjang gelombang maksimum rhodamin-B adalah 543 nm dengan nilai absorbansi 0,261. Panjang gelombang tersebut sesuai dengan penelitian Fitriani (2024) diperoleh panjang gelombang 543 nm. Panjang gelombang yang diperoleh dapat dilihat pada **Gambar 5.**



**Gambar 6. Panjang Gelombang Maksimum Rhodamin-B**

b. Pembuatan kurva kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan membuat 6 seri konsentrasi yaitu 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; dan 4 ppm menggunakan rhodamin-B BPL, kemudian dibaca pada panjang gelombang 543 nm. Tujuan dari penentuan ini adalah untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansi sehingga konsentrasi sampel dapat diketahui (Mundriyastutik *et al.*, 2020). Hasil dari pengukuran seri konsentrasi dapat dilihat pada **Gambar 7**.



**Gambar 7. Hasil Kurva Kalibrasi Rhodamin-B**

Dari data kurva kalibrasi tersebut dihasilkan nilai  $a = -0,1022$ ,  $b = 0,2141$  dan  $r = 0,9952$  dengan persamaan regresi linier  $y = 0,2141x - 0,1022$ . Selanjutnya, persamaan tersebut digunakan untuk menghitung nilai kadar senyawa rhodamin B dalam 6 sampel *liptint* yang secara kualitatif dinyatakan positif.

c. Penetapan kadar sampel

Penetapan kadar senyawa rhodamin-B ditentukan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang telah didapatkan, yaitu 543 nm. Perhitungan kadar senyawa rhodamin-B menggunakan persamaan regresi linier  $y = 0,2141x - 0,1022$ . Hasil yang didapat dari perhitungan dengan regresi satuannya adalah ppm, namun dikonversi dalam % karena kadar yang dinyatakan dalam bentuk % b/b.

Berdasarkan hasil perhitungan penetapan rata-rata kadar rhodamin-B dapat dilihat pada **Tabel 5** dan **Lampiran 13**.

**Tabel 5. Hasil Perhitungan Kadar Rhodamin-B**

Sampel	$\bar{x} \pm LE(\%)$	SD	CV(%)
Sampel B	$0,0155 \pm 0,0009$	0,0004	2,702
Sampel C	$0,024 \pm 0,0007$	0,0003	1,2396

## B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah dalam sediaan *liptint* yang dicurigai mengandung senyawa rhodamin-B. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara diperoleh dari media *e-commerce* T dengan teknik *purposive sampling*. sampel dipilih sesuai dengan kriteria inklusi yaitu dengan kriteria *liptint* berwarna merah, tidak berlabel BPOM, beredar *via online shop* T dengan harga Rp 4.000 – Rp 35.000 dan produk yang sudah terjual lebih dari 100 pcs. Pencarian sampel dilakukan dengan kata kunci “*liptint* dengan harga Rp 4.000 - Rp 35.000” pada *platform online shop* T. Dari hasil pencarian tersebut ditemukan sebanyak 30 penjual yang menjual produk *liptint* sesuai kriteria. Jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus  $\sqrt{N} + 1$ , sehingga diperoleh 6 penjual yang digunakan sebagai sampel. Dari masing-masing penjual tersebut diambil satu produk *liptint*, sehingga total sampel berjumlah enam. Pemilihan produk sampel dilakukan dengan mempertimbangkan dua kriteria tambahan, yaitu produk dengan jumlah penjualan terbanyak dan warna *liptint* merah dari masing-masing penjual yang berbeda.

Dalam penelitian ini dilakukan analisis kualitatif dengan metode KLT dan kuantitatif dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Tujuan dari analisis kualitatif

yaitu untuk mengetahui apakah dalam sediaan *liptint* yang mengandung senyawa rhodamin-B yang ditandai dengan penandaan bercak dari senyawa pada sampel. Sedangkan tujuan analisis kuantitatif untuk mengetahui banyaknya kadar senyawa pada sampel. Metode KLT dipilih karena mampu mengidentifikasi adanya kandungan Rhodamin B secara cepat dan sederhana, melalui visualisasi bercak serta dapat berfluoresensi di bawah sinar UV 366, sehingga memudahkan dalam mendeteksi keberadaan zat pewarna berbahaya tersebut dalam sampel (Nurdiani, 2018). Sementara itu, metode spektrofotometri UV-Vis dipilih karena memiliki sensitivitas yang tinggi, selektivitas yang baik, serta mampu memberikan hasil kuantitatif yang akurat dan efisien untuk senyawa berwarna seperti Rhodamin B (Priatni & Saripah, 2024).

Setelah dilakukan uji organoleptis, tahap selanjutnya adalah melakukan preparasi sampel sebagai langkah awal analisis laboratorium. Preparasi ini bertujuan untuk mengekstraksi dan memisahkan komponen target, dalam hal ini rhodamin-B, sehingga dapat dianalisis lebih lanjut menggunakan metode KLT dan spektrofotometri UV- Vis. Tahap awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah diidentifikasi rhodamin-B berupa uji organoleptis. Uji organoleptis dilakukan dengan menggunakan panca indera berdasarkan bentuk, warna, dan bau. Pada penelitian ini terlihat bahwa sampel *liptint* A, B, C, D, dan F memiliki bentuk cairan kental, memiliki warna merah, dan memiliki bau khas *strawberry*, sedangkan pada sampel E memiliki bentuk cairan kental, memiliki warna merah kecoklatan, dan memiliki bau khas *strawberry* sedikit menyengat. Berdasarkan hasil uji organoleptis tersebut, langkah selanjutnya adalah melakukan preparasi sampel sebelum dianalisis lebih lanjut.

Preparasi untuk analisis KLT dan spektrofotometri UV-Vis dimulai dengan menimbang sampel secara seksama 3 gr *liptint*, kemudian ditetesi dengan HCl 4M dan 5 mL etanol *p.a*. Penambahan HCl berfungsi untuk pendestruksi senyawa yang terdapat pada sampel serta untuk menstabilkan kandungan rhodamin-B yang terdapat dalam sampel (Nafiq *et al.*, 2020). Penambahan etanol *p.a* sebagai pelarut untuk melarutkan rhodamin-B yang terdapat dalam sediaan *liptint*. Setelah itu, di panaskan di atas *hot plate* selama 10 menit pada suhu 60°C. Pemanasan berfungsi

untuk melarutkan fase minyak dan memecah emulsi, sehingga mempermudah proses ekstraksi senyawa rhodamin-B. Selanjutnya, dilakukan proses penyaringan dengan penambahan natrium sulfat anhidrat. Tujuan disaring menggunakan kertas saring yang mengandung  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  yaitu untuk mengangkat lemak sehingga akan didapatkan filtrat sampel yang jernih dan bebas dari endapan (Kurniawan *et al.*, 2022). Setelah didapatkan filtrat yang jernih, sampel tersebut selanjutnya digunakan untuk analisis kualitatif dengan metode KLT.

Proses selanjutnya yaitu analisis kualitatif menggunakan KLT. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan suatu teknik pemisahan senyawa menggunakan fase gerak dan fase diam. Prinsip kerja KLT yakni melalui tahapan adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi terjadi ketika larutan sampel ditotolkan ke fase diam (plat KLT) menggunakan pipa kapiler, lalu komponen-komponen dalam sampel akan teradsorpsi di dalam fase diam. Desorpsi adalah peristiwa ketika komponen teradsorpsi di fase diam yang didesak oleh fase gerak (eluen). Sedangkan elusi adalah peristiwa ketika komponen ikut terbawa oleh eluen (Husna & Mita, 2020). Sebelum pengujian pada sampel dengan KLT, dilakukan optimasi fase gerak terlebih dahulu untuk menentukan fase gerak yang optimum. Optimasi dilakukan untuk mengetahui fase gerak yang dapat memisahkan rhodamin-B pada sampel dan memiliki nilai  $R_f$  serta spot yang optimal. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel F254 yang bersifat polar. Silika gel F254 adalah plat KLT yang mengandung indikator fluoresensi yang memancarkan cahaya pada panjang gelombang 254 nm. Senyawa dengan gugus kromofor menyerap sinar UV tersebut sehingga menghalangi fluoresensi indikator, menghasilkan bercak gelap pada latar belakang berpendar. Berdasarkan struktur rhodamin-B dapat mengalami fluoresensi sehingga pada panjang gelombang 366 nm akan tampak bercak rhodamin-B yang berfluoresensi orange kemerahan. Selain itu, rhodamin-B dapat dilihat secara visual yang tampak bercak berwarna merah muda (Nafiq *et al.*, 2020).

Optimasi dilakukan untuk mengetahui fase gerak yang dapat memisahkan rhodamin-B pada sampel dan memiliki nilai  $R_f$  serta spot yang optimal. Langkah awal yang dilakukan adalah penjuanan fase gerak dalam *chamber*. Penjuanan eluen dilakukan untuk memastikan partikel fase gerak terdistribusi secara merata

pada seluruh bagian *chamber* sehingga proses pergerakan spot di atas fase diam oleh fase gerak berlangsung optimal dan untuk menghindari *tailing* (pengekoran) pada plat KLT (Nafiq *et al.*, 2020). Berdasarkan optimasi fase gerak yang telah dilakukan, dipilihlah fase gerak yang memiliki pemisahan bercak yang jelas, noda yang tidak terpisah satu sama lain (*tailing*) serta nilai Rf optimal yaitu *n*-butanol : etil asetat : amoniak (10:4:5) dengan nilai Rf berkisar antara 0,587. Nilai Rf ini dianggap optimal karena masuk dalam rentang nilai Rf yang baik yaitu 0,2-0,8 (Khasanah *et al.*, 2022). Suatu fase gerak dikatakan optimal apabila mampu memberikan pemisahan bercak yang jelas, tidak menyatu, serta memiliki nilai Rf yang terpisah secara signifikan antara senyawa dan pengotor (Suharyani *et al.*, 2021).

Setelah fase gerak yang paling sesuai diperoleh, dilakukan analisis KLT untuk mendeteksi keberadaan senyawa rhodamin-B dalam sampel. Plat terlebih dahulu dilakukan aktivasi dalam oven dengan suhu 100°C selama 30 menit. Tujuan dilakukan pengaktifan plat KLT untuk menghilangkan kelembapan dari plat (Munir *et al.*, 2024). Plat KLT silika gel F254 diberi tanda 1 cm batas atas dan 1 cm batas bawah yang berfungsi agar totolan tidak terendam dengan fase gerak, karena jika totolan terendam dengan fase gerak mengakibatkan proses pemisahan dalam totolan tidak merambat dengan sempurna (Khairunnisa *et al.*, 2022). Proses elusi dilakukan hingga tanda batas atas plat KLT. Area noda sampel *liptint* dibandingkan dengan standar dan dihitung nilai Rf. Senyawa dikatakan positif apabila Rf sampel sejajar dengan Rf standar, sedangkan dikatakan negatif apabila nilai Rf sampel  $\leq 0,05$  cm dengan Rf standar (Sophieyati *et al.*, 2024). Berdasarkan hasil penelitian, bercak pada sampel menunjukkan warna merah muda secara visual. Sementara itu, di bawah sinar UV 254 nm terlihat bercak berwarna orange, sedangkan pada UV 366 nm bercak berfluoresensi orange kemerahan. Hal ini sesuai dengan penelitian Nafiq *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa rhodamin-B akan memberikan fluoresensi kuning/orange jika diamati pada sinar UV 254 nm dan 366 nm dan akan memberikan warna merah muda jika diamati secara visual. Identifikasi juga dilakukan dengan membandingkan nilai Rf antara sampel dengan standar rhodamin-B. Pada penelitian ini, nilai Rf untuk standar rhodamin-B yaitu 0,587.

Berdasarkan hasil analisis kualitatif dari 6 sampel *liptint* terdapat 2 sampel *liptint* yang mengandung rhodamin-B yaitu sampel B dan C. Selanjutnya sampel yang dikatakan positif secara kualitatif dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

Analisis kuantitatif menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dimulai dengan penentuan panjang gelombang maksimum rhodamin-B. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk menentukan panjang gelombang rhodamin-B yang memiliki absorbansi maksimal. Analisis panjang gelombang maksimum dilakukan pada larutan rhodamin-B dengan konsentrasi 2 ppm dengan rentang 400-800 nm. Hal ini dilakukan karena larutan rhodamin-B adalah larutan berwarna. Pengukuran dilakukan pada rentang tersebut karena pada panjang gelombang maksimum, kepekaannya juga maksimum sehingga akan membentuk kurva absorbansi yang linier dan sesuai dengan hukum *Lambert-Beer* akan terpenuhi (Hangin *et al.*, 2022). Panjang gelombang maksimum pada penelitian ini diperoleh 543 nm dengan nilai absorbansi 0,261. Diperoleh panjang gelombang maksimum rhodamin B adalah 543 nm. Penelitian ini serupa dengan hasil Fitriani (2024).

Tahapan selanjutnya dilakukan pengukuran kurva kalibrasi larutan rhodamin-B dengan membuat larutan berbagai konsentrasi yaitu 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 dan 4 ppm, lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 543 nm dengan menggunakan etanol *p.a* sebagai blangko. Larutan blangko digunakan untuk mengoreksi pembacaan atau spektrum sampel (Sa'ad *et al.*, 2019). Setelah itu dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas kurva kalibrasi larutan baku rhodamin-B dapat dilihat pada **Gambar 7**. Dari hasil perhitungan regresi kurva kalibrasi tersebut diperoleh persamaan garis  $y = 0,214x - 0,102$  dengan koefisien relasi (r) sebesar 0,9952. Selanjutnya dilakukan penetapan kadar rhodamin-B pada sampel *liptint* dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini pembacaan absorbansi pada sampel yang positif dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dengan tujuan meminimalisir terjadinya kesalahan saat analisis sampel. Berdasarkan hasil setelah diperoleh absorbansi dan kadar pada sampel yang positif, selanjutnya dilakukan perhitungan

statistika yang meliputi nilai rata-rata, SD, CV, dan LE. Pada sampel B nilai rata-rata  $\pm$  LE adalah  $0,0155 \pm 0,0009\%$  b/b, SD = 0,0004, dan CV = 2,580%, sedangkan sampel C nilai rata-rata  $\pm$  LE adalah  $0,024 \pm 0,0007\%$  b/b, SD = 0,0003, dan CV = 1,2396%. Data hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa 2 dari 6 sampel produk *liptint* yang beredar via *online shop* T mengandung rhodamin-B.

Pada penelitian ini tidak memenuhi persyaratan. Hal ini dikarenakan, menurut Peraturan Menteri Kesehatan (PerMenKes) dalam aturan No.239/Menkes/Per/V/85 tentang zat warna tertentu yang tidak diperbolehkan dalam kosmetik yaitu, rhodamin-B. Pada penelitian terdahulu terkait analisis rhodamin-B pada *Liptint* dengan metode Spektrofotometri UV-Vis sudah pernah diteliti oleh, Wulandari *et al.* (2022), Suri (2023), Asmawati *et al.* (2019), dan Hangin *et al.* (2022). Berdasarkan penelitian tersebut dapat dikatakan bahwa *liptint* masih banyak dijumpai mengandung rhodamin-B. Penggunaan rhodamin-B dapat mengiritasi saluran pernafasan dan penumpukannya dapat meningkatkan resiko kanker (Devi *et al.*, 2020). Rhodamin B akan menumpuk di lemak, hingga dalam waktu yang lama jumlahnya akan terus menerus bertambah di dalam tubuh hingga mengakibatkan kerusakan pada organ tubuh sampai mengakibatkan kematian (Maulinda *et al.*, 2024). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa masih terdapat produk *liptint* yang mengandung rhodamin-B dan beredar melalui *platform online shop*. Oleh karena itu, konsumen perlu lebih berhati-hati dalam memilih dan membeli produk *liptint*, terutama jika produk tersebut tidak mencantumkan label maupun nomor registrasi dari BPOM. Oleh karena itu, pada penelitian selanjutnya diperlukan uji lebih lanjut menggunakan metode lain yang memiliki sensitivitas dan selektivitas lebih tinggi, seperti Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC), untuk memastikan keberadaan dan kadar Rhodamin B secara lebih akurat.