

## NARRATIVE REVIEW: PARAMETER DALAM METODE ANALISIS UNTUK IDENTIFIKASI RHODAMIN B DALAM LIPSTIK

Nurlita Dwi Putri Prihasti<sup>1</sup>, Munir Alinu Mulki<sup>1</sup>, Muhammad Naufal Nurhadi Hidayat<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Singaperbangsa Karawang, Jawa Barat, Indonesia, 41361)

\*Email: [munir.alinu@fikes.unsika](mailto:munir.alinu@fikes.unsika)

### Abstract

*Rhodamine B is a synthetic dye used in the paper and textile industries, attracting attention due to its potential health hazards. It is used in various cosmetic products, although the Regulation of the Minister of Health of Indonesia No. 445/MENKES/PER/V/1998 prohibits its use in cosmetics due to risks of irritation, liver damage, and cancer. This article reviews the parameters of analytical methods for identifying Rhodamine B in lipstick. A narrative review was conducted using Google Scholar as a database over the past 10 years. The KLT method was found to be more widely used than HPLC or UV-Vis Spectrophotometry. Differences in Rf values in KLT are due to variations in the stationary phase. Parameter variations in HPLC system suitability tests are caused by operational conditions, sample conditions, and instrument performance. Analytical methods for identifying Rhodamine B in lipstick include KLT, HPLC/KCKT, and UV-Vis Spectrophotometry. It is concluded that each method has specific parameters that must be met: KLT is qualified if the Rf value comparison (standard vs. sample) is  $\leq 0.2$ ; HPLC/KCKT requires system suitability and validation tests; UV-Vis Spectrophotometry needs validation test parameters. KLT is preferred due to easy sample preparation and lower costs compared to HPLC and UV-Vis Spectrophotometry. It is recommended to consider necessary components when using these methods to maximize test results.*

**Keywords:** rhodamine B; lipstick; methods; parameters

### Abstrak

*Rhodamin B adalah pewarna sintesis yang digunakan dalam industri kertas dan tekstil, yang menarik perhatian karena potensi bahayanya bagi kesehatan. Rhodamin B digunakan dalam berbagai produk kosmetik, meskipun Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 445/MENKES/PER/V/1998 melarang penggunaannya dalam kosmetik karena risiko iritasi, kerusakan hati, dan kanker. Artikel ini mengulas parameter metode analisis untuk identifikasi Rhodamin B dalam lipstik. Tinjauan naratif dilakukan dengan menggunakan Google Scholar sebagai basis data selama 10 tahun terakhir. Metode KLT ditemukan lebih banyak digunakan daripada HPLC atau Spektrofotometri UV-Vis. Perbedaan nilai Rf pada KLT disebabkan oleh variasi fase diam. Variasi parameter dalam uji kesesuaian sistem HPLC disebabkan oleh kondisi operasional, kondisi sampel, dan kinerja instrumen. Metode analisis untuk mengidentifikasi Rhodamin B dalam lipstik meliputi KLT, KCKT/HPLC, dan Spektrofotometri UV-Vis. Dapat disimpulkan bahwa setiap metode memiliki parameter spesifik yang harus dipenuhi: KLT memenuhi syarat jika perbandingan nilai Rf (standar vs sampel)  $\leq 0,2$ ; HPLC/KCKT membutuhkan kesesuaian sistem dan uji validasi; Spektrofotometri UV-Vis membutuhkan parameter uji validasi. KLT lebih disukai karena persiapan sampel yang mudah dan biaya yang lebih rendah dibandingkan dengan HPLC dan Spektrofotometri UV-Vis. Disarankan untuk mempertimbangkan komponen yang diperlukan saat menggunakan metode ini untuk memaksimalkan hasil pengujian.*

**Kata Kunci:** rhodamin B; lipstik; metode; parameter

## **PENDAHULUAN**

Lipstik adalah kosmetik penting untuk meningkatkan penampilan, mewarnai bibir, dan memberikan efek artistik serta estetika pada wajah. Formulanya terdiri dari minyak, lemak, lilin, asetogliserida, zat pewarna, surfaktan, pengawet, pewangi, dan antioksidan<sup>1</sup>. Pewarna dalam lipstik penting karena menarik konsumen. Sumber pewarna lipstik ada dua: alami dari akar, buah, dan daun tanaman, serta sintetis dari reaksi senyawa kimia. Produsen kadang menggunakan pewarna berbahaya. Rhodamin B, pewarna sintetis yang dilarang untuk makanan dan kosmetik, biasanya digunakan untuk kertas, tekstil, atau tinta. Rhodamin B berbentuk serbuk kristal tak berbau berwarna merah keunguan dan berpendar di bawah UV.

Berdasarkan Peraturan MenKes RI No.445/MENKES/PER/V/1998 tentang bahan, zat warna, substratum, zat pengawet dan tabir surya pada kosmetik dan Keputusan Kepala BPOM No.HK.00.05.4.1745 tentang kosmetik, penggunaan Rhodamin B dalam kosmetik dilarang karena membahayakan kesehatan<sup>2</sup>. Dilansir dari<sup>3</sup>, tahun 2014 BPOM menemukan 9.817 produk kosmetik tidak standar, termasuk lipstik dengan kandungan Rhodamin B. Tahun 2023, dirilis daftar kosmetik berbahaya berjumlah 181 produk yang 3,86% diantaranya mengandung Rhodamin B<sup>4</sup>. Rhodamin B dapat menyebabkan iritasi saluran napas, bersifat karsinogenik, dan menyebabkan kerusakan hati jika terakumulasi<sup>5</sup>. Oleh karena itu, penting dilakukan analisis zat kimia dalam produk kosmetik, khususnya lipstik.

Analisis bahan kimia pada kosmetik dapat dilakukan secara kualitatif ataupun kuantitatif. Kromatografi Lapis Tipis, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), dan Spektrofotometri UV-Vis adalah beberapa teknik yang umum untuk analisis Rhodamin B dalam lipstik. Pada setiap metode yang digunakan terdapat parameter yang berguna untuk memastikan analisis dilakukan dengan akurat dan sesuai dengan standar kualitas yang ditetapkan<sup>6</sup>. Penulisan artikel *review* ditujukan untuk menelaah parameter pada metode analisis identifikasi keberadaan Rhodamin B dalam lipstik.

## **METODE PENELITIAN**

Desain studi artikel *review* ini adalah *narrative review*, yang merupakan tinjauan pustaka dari hasil penelitian sebelumnya dalam bentuk narasi. Sumber artikel diambil dari *database* elektronik *Google Scholar*, mencakup bahasan tentang parameter metode analisis untuk identifikasi kontaminan Rhodamin B dalam lipstik. Data dikumpulkan dengan kata kunci "Parameter Metode analisis Rhodamin B dalam lipstik" pada periode 10 tahun terakhir (2014-2024) dan diteukan 13 artikel yang memenuhi kriteria inklusi. Penilaian artikel dilakukan dengan menyaring judul, abstrak, dan isi yang sesuai kriteria inklusi. Artikel yang sesuai kriteria inklusi yaitu artikel-artikel yang memuat parameter metode analisis Rhodamin B dalam lipstik, sementara artikel yang tidak memuat parameter metode analisis Rhodamin B dalam lipstik dikecualikan.

**HASIL PENELITIAN**

Bahaya Rhodamin B untuk kesehatan seperti dapat menyebabkan kanker. Identifikasi perlu dilakukan dengan teknik yang sesuai. Dalam menentukan teknik analisis yang akan digunakan diperlukan pengetahuan tentang parameter, keunggulan, serta kelemahan masing-masing teknik.

**Tabel 1. Metode Analisis**

Referensi	Zat Berbahaya	Metode Analisa
7	Rhodamin B	Kromatografi Lapis Tipis
8	Rhodamin B	Kromatografi Lapis Tipis
9	Rhodamin B	Kromatografi Lapis Tipis
10	Rhodamin B	Kromatografi Lapis Tipis
11	Rhodamin B	Kromatografi Lapis Tipis
12	Rhodamin B	Kromatografi Lapis Tipis
13	Rhodamin B	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
14	Rhodamin B	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
15	Rhodamin B	Kromatografi Cair Kinerja Tinggi
16	Rhodamin B	Spektrofotometri UV-Vis
17	Rhodamin B	Spektrofotometri UV-Vis
18	Rhodamin B	Spektrofotometri UV-Vis
19	Rhodamin B	Spektrofotometri UV-Vis

Literatur di atas memperlihatkan hasil tentang penerapan teknik analisis yang dipilih untuk identifikasi kandungan Rhodamin B dan tersaji dalam Tabel 1.

**Tabel 2. Data Fase Diam**

Referensi	Fase Gerak	Fase Diam	Nilai Rf baku Rhodamin B
9	n-Butanol, Etil	Plat KLT (7 x 5 cm)	0,9
8	Asetat, dan Amonia	Plat silica gel GF 254 nm (20 x 20 cm)	0,68
12	(55:20:25)	kertas saring whatman no. 42 (8 x 4 cm)	0,72

Pada analisis artikel metode KLT, didapatkan perbandingan fase diam yang digunakan yang menyebabkan perbedaan nilai Rf (tersaji dalam Tabel 2).

**Tabel 3. Uji Kesesuaian Sistem Pada Instrumen HPLC**

Referensi	Kolom	Fase Gerak	Laju Alir	Volume Injeksi	Detektor
13	C18	Asetonitril 95%:dapar diamonium hidrogen posfat 10 nM pH 6,0 (80:20)	0,71 ml/menit	20 µL	PDA 300-800 nm, UV Vis 480 nm dan 548 nm
14	C18	Asetonitril:(NH4)2HPO 4 (80:20)	0,71 ml/menit	20 µL	PDA 300-800 nm; Rhodamin B 548 nm
15	C18	Methanol:Air:Asetonitril (25:75:0)	1 ml/menit	20 µL	Visible, Rhodamin B 554 nm

Tabel 3 menyajikan komponen-komponen yang digunakan pada uji kesesuaian sistem instrumen HPLC.

**Tabel 4. Data Hasil Uji Kesesuaian Sistem Pada HPLC**

Referensi	Waktu retensi (menit)	Luas area	Tailing factor ( $\leq 2\%$ )	Theoretical plate ( $\geq 1000$ )	% RSD RT ( $\leq 2\%$ )	% RSD area ( $\leq 2\%$ )
<sup>13</sup>	5,611	1826564,28	1,374%	3648	0,088%	0,050%
<sup>14</sup>	6,02	1633701,63	1,17%	8444,71	0,04%	1,42%
<sup>15</sup>	2,050	-	-	-	-	-

Uji kesesuaian sistem yang dilakukan pada instrumen HPLC akan menghasilkan data parameter, pada jurnal referensi data parameter yang dihasilkan tersaji dalam table 4.

**Tabel 5. Perbandingan Metode Analisis**

Metode Analisis	KLT	HPLC/KCKT	Spektrofotometri UV-Vis
Prinsip Dasar	Perbedaan mobilitas relatif komponen sampel di atas fase diam	Pemisahan komponen analit berdasarkan tingkat kepolarannya	Perbedaan penyerapan cahaya oleh senyawa dalam sampel pada panjang gelombang tertentu
Kuantifikasi	Mengukur luas spot atau intensitas warna di bawah cahaya UV	Kurva kalibrasi larutan baku	Respon intensitas cahaya pada panjang gelombang tertentu
Aplikasi	Analisis kualitatif	Analisis kualitatif dan kuantitatif	Analisis kualitatif dan kuantitatif
Parameter Pengujian	Perbandingan nilai Rf standar dan sampel $\leq 0,2$	Uji Kesesuaian Sistem dan Uji Validasi	Uji Validasi
Kelebihan	Biaya relatif rendah, sederhana dalam pelaksanaan	Resolusi tinggi, sensitivitas yang baik, dapat diotomatisasi	Analisis cepat, kuantitatif, dan sensitif
Kekurangan	Reprodusibilitas nilai RF bergantung pada kondisi lingkungan	Biaya peralatan dan perawatan yang tinggi	Terbatas pada senyawa-senyawa yang memiliki gugus kromofor

Tabel 5 menyajikan kesimpulan yang didapatkan setelah dilakukan analisis perbandingan pada masing-masing metode.

**PEMBAHASAN**

Dari review 13 artikel jurnal, diperoleh informasi tentang teknik analisa Rhodamin B pada lipstik. Ramainya kasus penyalahgunaan Rhodamin B dalam lipstik menjadi alasan untuk menganalisis zat dengan teknik yang sesuai. Beberapa teknik analisa yang dapat digunakan meliputi Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), dan Spektrofotometri UV-Vis.

**Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi adalah teknik analisis cepat dan sederhana yang memisahkan senyawa dengan struktur serupa secara selektif, dengan menyerapnya pada media absorben yang berbeda <sup>20</sup>. Kromatografi memiliki dua fase: fase gerak (cairan atau gas) yang membawa

sampel dan fase diam (padatan atau cairan) yang menahan sampel. Pemisahan zat kimia pada kromatografi didasarkan pada perbedaan distribusi zat kimia pada fase diam akibat pengaruh fase gerak.

Tahapan KLT meliputi pembuatan larutan standar untuk identifikasi Rhodamin B, pembuatan larutan uji dari lipstik, dan pembuatan eluen. Fase diam (plat KLT) diaktivasi dengan pemanasan oven untuk meningkatkan efisiensi pemisahan dan resolusi spot senyawa. Kemudian dilakukan penotolan larutan baku dan uji, elusi, serta perhitungan nilai  $R_f$  untuk identifikasi sampel. Eluen dibuat sesuai dengan kepolaran zat yang diteliti. Berdasarkan hasil *review*, eluen terdiri dari campuran pelarut, n-Butanol, Etil Asetat, dan Amonia (55: 20:25) digunakan pada penelitian<sup>9 8 dan 12</sup>. Semakin dekat kepolaran eluen dengan sampel, semakin mudah sampel terbawa oleh fase gerak<sup>12</sup>. Penotolan menghasilkan spot yang terbawa oleh eluen dan terpisah sesuai dengan kepolarannya. Noda pada fase diam dapat diamati secara visual dan di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Jika terdapat Rhodamin B, noda secara visual berwarna merah muda dan dibawah sinar UV berpendar oranye<sup>7</sup>.

Nilai  $R_f$  pada KLT adalah parameter analisis kualitatif yang membandingkan jarak tempuh sampel dengan jarak tempuh fase gerak<sup>21</sup>. Nilai  $R_f$  berkisar antara 0 dan 1 dan nilai  $R_f$  terbaik antara 0,2- 0,8<sup>22</sup>. Nilai  $R_f < 0,2$  menandakan komponen senyawa belum mencapai kesetimbangan antara fase diam dan fase gerak, menghasilkan noda tidak simetris. Nilai  $R_f > 0,8$  dapat menyebabkan noda analit terganggu oleh kontaminan pada lempeng fase diam, terlihat dengan lampu UV untuk visualisasi<sup>23</sup>. Nilai  $R_f$  Rhodamin B tidak dapat disimpulkan secara pasti karena pada hasil penelitian<sup>10</sup>, nilai  $R_f$  baku Rhodamin B adalah 0,8. Nilai  $R_f$  baku<sup>9 0,9; 8 0,68; 11 0,92; dan 12 0,72</sup>. Berdasarkan PerMenKes RI 1998, sampel tetap dianggap positif jika selisih antara  $R_f$  baku dengan sampel  $\leq 0,2$ . Variasi nilai  $R_f$  dapat terjadi karena perbedaan komponen fase gerak saat elusi. Ini didukung pernyataan Wulandari bahwa penyebab nilai  $R_f$  bervariasi yaitu volume dan komponen fase gerak. Komponen yang sama juga tidak menjamin nilai  $R_f$  akan serupa (Tabel 2).

Ketiga penelitian pada tabel 2 menggunakan campuran eluen dan perbandingan yang sama, tetapi harga  $R_f$  baku standar yang dihasilkan berbeda. Ini dapat disebabkan oleh perbedaan fase diam meliputi jenis, ukuran, dan cara aktivasinya. Berbeda jenis berbeda juga sifatnya. Menurut Wulandari, variasi nilai  $R_f$  dipengaruhi oleh dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan metode persiapan sampel KLT<sup>23</sup>. Selain itu, kondisi *chamber* (jenuh atau tidak jenuh) juga mempengaruhi nilai  $R_f$ , dengan *chamber* jenuh memiliki nilai  $R_f$  lebih rendah dibandingkan *chamber* tak jenuh dalam kondisi yang sama<sup>23</sup>.

Kelebihan yang dimiliki teknik KLT ini adalah sederhana, mudah dalam preparasi sampel, tidak diperlukan biaya yang besar karena semua komponen sampel dan standar diujikan

dalam waktu yang sama, selain itu volume pelarut yang digunakan cenderung sedikit, selektif, dan sensitif, juga kromatogramnya dapat diamati secara visual. Di samping itu terdapat kekurangan teknik KLT berupa reproduibilitas nilai RF bergantung pada kondisi lingkungan<sup>23</sup>.

Berdasarkan pembahasan yang telah dijabarkan dapat diasumsikan bahwa perbedaan fase gerak maupun fase diam yang digunakan pada KLT dapat menyebabkan perbedaan nilai Rf yang dihasilkan. Hal ini didukung oleh pernyataan<sup>23</sup> bahwa perbedaan fase gerak dapat menyebabkan perbedaan nilai Rf. Dengan demikian, maka perlu optimasi pada fase gerak dan fase diam untuk hasil yang optimal.

### **Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

KCKT atau HPLC adalah perkembangan dari kromatografi kolom, bekerja memisahkan komponen analit berdasarkan kepolarannya. Pada HPLC, tekanan tinggi berguna agar fase gerak terkirim ke dalam kolom, meningkatkan laju, dan efisiensi pemisahan. Setiap campuran yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah komponen analit dinyatakan dalam jumlah peak dan konsentrasi komponen dalam campuran dinyatakan oleh luas peak<sup>24</sup>.

Puspitasari dkk<sup>14</sup> menjelaskan bahwa sebelum analisis sampel, dilakukan uji kesesuaian sistem HPLC untuk verifikasi. Larutan baku Rhodamin B diinjeksikan ke HPLC sebanyak 6x<sup>13</sup> atau 7x ulangan<sup>14</sup>. lalu akan didapatkan %RSD (nilai standar deviasi), waktu retensi, dan luas area dari baku Rhodamin B. Penyuntikan berulang dilakukan agar peneliti dapat mengevaluasi variabilitas hasil dan memeriksa konsistensi sistem dari satu penyuntikan ke penyuntikan berikutnya<sup>25</sup>. Pada setiap uji kesesuaian sistem yang dilakukan, data parameter yang dihasilkan berbeda-beda. Seperti data-data yang tersaji dalam tabel 3.

Kolom memisahkan komponen sampel berdasarkan interaksi dengan fase diam di dalamnya. Pada<sup>13 14</sup> dan<sup>15</sup> menggunakan jenis kolom C18 yang memungkinkan pemisahan berkecepatan tinggi dan resolusi tinggi pada instrumen HPLC. Fase gerak berfungsi untuk mengalirkan dan melarutkan sampel, menstabilkan suhu, dan membuang sampel setelah melewati detektor. Interaksi antara fase gerak dan fase diam mempengaruhi pemisahan komponen. Fase gerak yang digunakan oleh<sup>13 14</sup> dan<sup>15</sup> berbeda-beda, memungkinkan terjadinya variasi data yang dihasilkan.

Laju alir (*flow rate*) pada uji kesesuaian HPLC adalah kecepatan fase gerak mengalir melalui kolom kromatografi. Laju alir tinggi menghasilkan elusi cepat, sedangkan laju alir rendah menghasilkan elusi lambat. Tingginya elusi akan mempercepat waktu yang dibutuhkan untuk sampai ke detektor. Elusi yang rendah cenderung meningkatkan resolusi karena memberikan lebih banyak waktu untuk pemisahan antara puncak-puncak. Laju alir yang umum digunakan di HPLC berkisar pada 1,0 – 2,0 mL/menit<sup>26</sup>.

Volume sampel yang diinjeksikan oleh penelitian <sup>13</sup> <sup>14</sup> dan <sup>15</sup> adalah 20  $\mu$ L. Sama seperti penelitian <sup>25,27</sup>. Volume injeksi umum untuk HPLC yaitu 1-100  $\mu$ L, volume yang kecil dapat membuat luas area maksimum tidak tercapai, sementara volume besar akan membuat puncak melebar. Detektor untuk mendeteksi komponen sampel dalam aliran yang keluar dari kolom. <sup>13</sup> dan <sup>14</sup> menggunakan panjang gelombang 548 nm, sementara <sup>28</sup> panjang gelombang 554 nm. Berdasarkan referensi pendukung, pengukuran panjang gelombang Rhodamin B dilakukan diantara 545-557 nm <sup>29</sup> <sup>28</sup>. Uji kesesuaian sistem yang dilakukan pada instrumen HPLC akan menghasilkan data parameter, pada jurnal referensi data parameter yang dihasilkan tersaji dalam tabel 4.

Waktu retensi adalah waktu yang diperlukan bagi suatu zat untuk melewati kolom kromatografi dan muncul pada detektor. Dalam HPLC, waktu retensi Rhodamin B adalah waktu yang dibutuhkan Rhodamin B untuk melewati kolom dan muncul pada detektor. Seperti waktu retensi hasil dari uji kesesuaian oleh <sup>13</sup> menunjukkan waktu 5,661 menit yang berarti Rhodamin B dalam larutan baku membutuhkan waktu 5,611 menit untuk melewati kolom dan muncul pada detektor. Begitu juga hasil data waktu retensi oleh <sup>14</sup> menunjukkan 6,02 menit dan <sup>15</sup> menunjukkan 2,050 menit. Luas area pada kromatogram mencerminkan konsentrasi Rhodamin B pada sampel. Semakin besar luas area di bawah puncak, semakin banyak senyawa dalam sampel <sup>30</sup>. *Tailing factor* mengukur simetri puncak kromatografi. Nilai *tailing factor* yang ideal adalah mendekati 1, menunjukkan bahwa puncak kromatografi simetris dan semakin besar nilai T maka semakin asimetris puncak yang dihasilkan <sup>31</sup>.

Lempeng teoritis mengukur efisiensi pemisahan kolom. Semakin banyak lempeng teoritis, semakin baik pemisahannya. Nilai standar deviasi adalah ukuran variabilitas atau dispersi data dari rerata. Dalam konteks HPLC, %RSD (*Relative Standard Deviation*) mengukur seberapa konsisten hasil yang diperoleh dari beberapa pengulangan penyuntikan baku Rhodamin B. Semakin rendah %RSD, semakin konsisten hasilnya. %RSD RT mengukur variasi dalam waktu retensi suatu senyawa pada percobaan berulang. %RSD Area mengukur variasi dalam luas area puncak kromatografi dari percobaan berulang. Persyaratan %RSD dari USP adalah tidak lebih dari 2% <sup>25</sup>.

Variasi pada data parameter hasil uji kesesuaian sistem dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu variasi kondisi operasional misalnya perbedaan aliran pelarut, komposisi fase gerak, suhu kolom, kondisi sampel, dan kinerja instrumen meliputi kalibrasi detektor, penggantian kolom, atau perubahan dalam kondisi perangkat lunak <sup>32</sup>. Seperti variasi kesesuaian sistem yang tertera pada table 3. Ketiga referensi menggunakan komposisi pelarut dan perbandingan pelarut serta laju alir yang berbeda. Sehingga memungkinkan terjadinya variasi data yang dihasilkan.

Selain melakukan uji kesesuaian sistem, diperlukan juga uji validasi. Uji kesesuaian sistem mengevaluasi kinerja instrumen HPLC dalam menghasilkan hasil yang sesuai

dengan parameter tertentu. Uji validasi bertujuan untuk memastikan bahwa metode analisis secara keseluruhan dapat memberikan hasil yang akurat, konsisten, dan dapat diandalkan dalam aplikasi tertentu, biasanya mencakup tahap selektifitas, linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (LOD) dan batas kuantifikasi (LOQ).

Uji selektifitas dilakukan dengan menginjeksikan larutan baku Rhodamin B dan blanko masing-masing 3 kali. Parameter uji selektifitas yaitu dipastikan bahwa *peak* yang keluar pada waktu retensi tertentu memang merupakan *peak* Rhodamin B karena tidak ada *peak* yang sama pada blanko. Pada uji linearitas akan diperoleh persamaan regresi linear  $y=bx+a$  dengan nilai koefisien korelasi yang memenuhi yaitu  $>0,99$ <sup>25</sup>.

Keunggulan HPLC adalah memberikan pemisahan yang optimal antara kompone sampel. Ini dicapai melalui penggunaan kolom diameter kecil dari bahan gelas yang memungkinkan pemisahan yang lebih baik. HPLC juga dikenal karena proses analisis yang cepat dan efisien, menyesuaikan laju aliran dan memberikan tekanan yang tinggi oleh fase gerak, yang semuanya berkontribusi pada hasil analisis yang akurat dan dapat diandalkan<sup>33</sup>. Keuntungan HPLC termasuk penggunaan sampel minimal, memungkinkan analisis dilakukan dengan sampel yang terbatas. Pengujian sesuai dengan tingkat kuantifikasi yang diinginkan, sehingga memberikan fleksibilitas yang besar dalam analisis. Salah satu kelemahan HPLC yaitu masa pakai kolom yang terbatas yang dapat mempengaruhi konsistensi hasil analisis. Laju alir tinggi dalam HPLC dapat meningkatkan biaya untuk membeli dan membuang pelarut berkualitas tinggi, memerlukan investasi yang lebih besar<sup>33</sup>. Pada KCKT dapat diasumsikan terjadinya variasi data parameter yang dihasilkan disebabkan karena perbedaan komponen pada uji kesesuaian sistem. Astles memaparkan perbedaan aliran pelarut, komposisi fase gerak, suhu kolom, kondisi sampel, dan kinerja instrument dapat menyebabkan perbedaan data hasil uji<sup>32</sup>.

### **Spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometri UV-Vis adalah instrumen analitik yang digunakan untuk mengukur daya absorbansi suatu cairan yang memiliki gugus kromofor terhadap panjang gelombang cahaya tertentu<sup>19</sup>. Instrumen ini mengukur jumlah cahaya yang diserap oleh sampel pada panjang gelombang tertentu, sehingga memberikan informasi tentang keberadaan atau konsentrasi senyawa tertentu dalam sampel. Perbandingan antara intensitas cahaya yang melewati sampel dan referensi membantu dalam menentukan seberapa banyak cahaya yang diserap atau dilewatkan oleh sampel, yang kemudian digunakan untuk menghitung konsentrasi atau karakteristik lain dari sampel. Panjang gelombang pada daerah ultraviolet adalah 180 nm–380 nm, sedangkan pada daerah visible adalah 380 nm–780 nm<sup>34</sup>.

Prosedur penelitian yang pertama kali dilakukan yaitu preparasi sampel uji. Proses preparasi sampel pada setiap artikel referensi berbeda. Namun jika dapat disimpulkan yaitu sampel dilarutkan dengan pelarut sesuai dan dilakukan pengenceran,<sup>17</sup> dan<sup>18</sup>

menggunakan metanol dan beberapa tetes HCl, <sup>16</sup> menggunakan NaOH 2% dengan beberapa tetes HCl, dan <sup>19</sup> menggunakan etanol 96% dengan beberapa tetes HCl. Penggunaan asam dimaksudkan untuk menghilangkan logam dalam sampel dan HCl terbukti efektif dalam menghilangkan logam <sup>35</sup>. Selanjutnya dibuat larutan baku Rhodamin B dan proses identifikasi yang meliputi pengukuran panjang gelombang maksimum baku Rhodamin B, validasi metode, pengukuran absorbansi sampel, dan perhitungan kadar zat Rhodamin B. Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengidentifikasi panjang gelombang optimal dalam pengukuran absorbansi larutan lipstik yang mengandung Rhodamin B dengan spektrofotometer UV-Vis<sup>19</sup>. Pada <sup>17</sup> panjang gelombang 545 nm digunakan sebagai nilai maksimum untuk mengukur absorbansi sampel.

Validasi metode analisis adalah proses evaluasi terhadap sejumlah parameter untuk verifikasi bahwa parameter-parameter tersebut sesuai dengan persyaratan yang telah ditetapkan. Validasi metode analisis dilaksanakan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan dalam analisis dapat memberikan hasil yang akurat, spesifik, dan konsisten, serta mampu menangani berbagai variasi atau kisaran dari analit yang dianalisis. Beberapa parameter yang dinilai dalam validasi metode analisis meliputi linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (*Limit Of Detection*), dan batas kuantifikasi (*Limit Of Quantification*).

Uji linearitas dilakukan dengan menentukan kurva kalibrasi dan persamaan regresi linier dari larutan baku. Penentuan kurva kalibrasi larutan standar bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansinya. Pembuatan kurva larutan standar melibatkan penggunaan deret standar larutan Rhodamin B dengan berbagai variasi konsentrasi sebagai contoh <sup>16</sup> menggunakan deret standar 2, 4, 6, dan 8 ppm, lalu masing-masing diukur pada panjang gelombang yang telah ditentukan. Deret standar ini disusun dari larutan awal dengan konsentrasi tinggi, yaitu 200 ppm yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi yang lebih rendah. Pengenceran dilakukan untuk memperkecil konsentrasi larutan sehingga pembacaan nilai absorbansi menjadi lebih akurat <sup>16</sup>.

Dari kurva kalibrasi akan didapatkan persamaan regresi linear  $y=bx+a$  dengan koefisien relasi R yang baik adalah  $R^2 \geq 0,9970$  <sup>36</sup>. Dengan koefisien relasi yang baik dapat dinyatakan bahwa terdapat hubungan positif antara konsentrasi dan absorbansi, yang berarti bahwa dengan meningkatnya konsentrasi, nilai absorbansi juga meningkat <sup>17</sup>. Akurasi adalah kedekatan antara nilai yang diukur dan nilai standar, mencerminkan ketepatan metode analisis <sup>37</sup>. Akurasi dapat dinilai dengan cara mengukur jumlah analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan *spiking* pada suatu sampel.

Presisi adalah indikator seberapa konsisten suatu metode analisis dalam menghasilkan hasil yang serupa dari sejumlah sampel yang berbeda secara signifikan secara statistik, dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif. Presisi dinyatakan dalam nilai simpangan baku relatif (SBR) dengan syarat penerimaannya adalah  $SBR < 2\%$  <sup>38</sup>. Batas

deteksi atau LOD adalah konsentrasi terendah dari suatu analit yang masih dapat dideteksi, walaupun tidak selalu dapat diukur secara kuantitatif<sup>39</sup>.

$$LOD = \frac{3,3\sigma}{S}$$

Batas kuantifikasi atau LOQ merupakan konsentrasi terendah dari suatu analit dalam sampel yang dapat memenuhi kriteria presisi dan akurasi<sup>39</sup>.

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S}$$

$\sigma$  = nilai standar deviasi

S = slope dari kuva kalibrasi

Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi sampel lipstik menggunakan spektrofotometri uv-vis dan perhitungan kadar Rhodamin B dalam sampel menggunakan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi.

Spektrofotometri UV-Vis memiliki kemampuan analisis beragam senyawa organik dan anorganik, selektivitasnya, tingkat ketelitiannya yang tinggi dengan kesalahan relatif sekitar 1%-3%, Teknik ini memungkinkan analisis yang cepat dan akurat, serta dapat menentukan kuantitas zat dalam jumlah yang sangat kecil. Hasil analisis memiliki tingkat akurasi yang memadai, data hasil langsung direkam oleh detektor dan tersaji dalam bentuk angka digital atau grafik yang telah diregresikan<sup>40</sup>. Kekurangannya adalah senyawa yang dianalisis harus memiliki gugus kromofor, pH larutan, suhu, adanya zat pengganggu dan kebersihan dari kuvet dapat mempengaruhi hasil absorbansi<sup>40</sup>.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

Berdasarkan *review*, identifikasi Rhodamin B dalam lipstik menggunakan KLT, HPLC/KCKT, dan Spektrofotometri UV-Vis memiliki parameter pengujian masing-masing. Dari 13 artikel yang terpilih, 6 diantaranya menggunakan metode KLT. Perbedaan nilai  $r_f$  pada KLT dapat disebabkan oleh perbedaan fase gerak. KLT tetap dianggap positif jika perbandingan nilai RF standar dan sampel  $\leq 0,2$ . Komponen dalam uji kesesuaian sistem HPLC yaitu kolom, fase gerak, laju air, volume injeksi, dan detektor menghasilkan data waktu retensi, luas area, tailing faktor, plate, dan % RSD. Spektrofotometri UV-Vis membutuhkan uji validasi yang terdiri dari linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (Limit Of Detection), dan batas kuantifikasi (Limit Of Quantification).

Berdasarkan hal diatas dapat disimpulkan bahwa setiap metode memiliki parameter spesifik yang harus dipenuhi: KLT memenuhi syarat jika perbandingan nilai  $R_f$  (standar vs sampel)  $\leq 0,2$ ; HPLC/KCKT membutuhkan kesesuaian sistem dan uji validasi; Spektrofotometri UV-Vis membutuhkan parameter uji validasi. KLT lebih disukai karena persiapan sampel yang mudah dan biaya yang lebih rendah dibandingkan dengan HPLC

dan Spektrofotometri UV-Vis. Disarankan untuk mempertimbangkan komponen yang diperlukan saat menggunakan metode ini untuk memaksimalkan hasil pengujian.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

1. Sulastina NA, Fitri M. Analisis Rhodamin B Pada Lipstik Yang Di Jual Di Beberapa Pasar Tradisional. *Babul Ilimi J Ilm Multi Sci Kesehat*. 2022;14(1):88–99.
2. PERMENKES RI. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor:445/Menkes/Per/V/1998 Tentang Bahan Kosmetika dan Zat Warna Kosmetika. Dep Kesehat Republik Indones Jakarta. 1998;1–56.
3. Rambli EGS, Dorchichylhia Mangune G, Masontik R, Syalomitha Ceasaria Kaawoan G, Natanael Moningka G, Assa L. Review Artikel : Analisis Kandungan Berbahaya pada Lipstik yang Beredar di Masyarakat dengan Berbagai Metode. *J Lentera Farma*. 2023;66(1).
4. Putri DL, Pratiwi IE. BPOM Ungkap 181 Kosmetik Merkuri dan Non-merkuri 2023, Ini Daftarnya. *Kompas.com* [Internet]. 2023; Available from: <https://www.kompas.com/tren/read/2023/12/11/081500565/bpom-ungkap-181-kosmetik-merkuri-dan-non-merkuri-2023-ini-daftarnya?page=all#page2>
5. Masyulani F, Thristy I. Identifikasi Zat Pewarna Rhodamin B Pada Lipstik Yang Beredar Di Kalangan Mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Angkatan 2013. *Anat Med J*. 2019;2(3):1–8.
6. Harmono HD. Validasi Metode Analisis Logam Merkuri (Hg) Terlarutn pada Air Permukaan dengan Automatic Mercury Analyzer. *Indones J Lab*. 2020;2(3):11.
7. Afriyeni H, Utari NW. Identifikasi zat warna rhodamin b pada lipstik berwarna merah yang beredar di pasar raya padang. *J Farm Higea*. 2016;8(1):59–64.
8. Adriani A, Andalia R, Rinaldi R, Ulya N. Analisa Zat Warna Rhodamin B Pada Lipstik Gloss Dan Matte Yang Dijual Dikota Banda Aceh Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *J Pharm Sci*. 2023;6(1):90–4.
9. Biasa A, Maarisit W, Pareta D, Lengkey KY. Analisis Rhodamin B Pada Lipstik Yang Beredar Di Pasar Lirung Kabupaten Kepulauan Talaud. *Trop J Biopharm*. 2021;4(1):53–7.
10. Jusnita N, Nandu LSS. Identifikasi Rhodamin B pada Sediaan Lipstik yang Beredar di Pasar Jakarta Utara dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Indones Nat Res Pharm J*. 2017;1(2):1–6.
11. Pujiati L, Sugiyanto S, Hasana AR. Uji Identifikasi Rhodamin B Pada Liptint Di Toko Kosmetik Kota X Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *SENTRI J Ris Ilim*. 2023;2(11):4554–64.
12. Mursyidah, Purwanti R, Christiandari H. Analisa Kualitatif Zat Warna Rhodamin B pada

- Lipstik dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *J Permata Indones.* 2019;10(November).
13. Komarudin D, Fauziah S, Pramintari R. Analisis Rhodamin B Pada Sediaan Lipstik Dan Perona Mata Secara Kckt. *J Ilm Kesehat.* 2019;18(3):88–92.
  14. Puspitasari L, Azizah K, Thalib A. Analisis Rhodamin B pada Lip Tint Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Sainstech Farma [Internet].* 2023;16(1):28–32. Available from: <https://ejournal.istn.ac.id/index.php/sainstechfarma/article/download/1495/990/>
  15. Fauziyah R, Hariningsih Y, Maritha V. ANALISIS RHODAMIN-B PADA LIP CREAM YANG BEREDAR DI Keywords : Rhodamine-B , lip cream , High Performance Liquid Chromatography ( HPLC ) Pendahuluan. *Duta Pharma J.* 2021;1(1).
  16. Hiola F, Sy Pakaya M, Akuba J. Analisis Kadar Senyawa Rhodamin B Pada Sediaan Lipstik Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *J Syifa Sci Clin Res.* 2022;3(2):98–105.
  17. Hipi D, Malaha A, Dunggio T. Analisis Kadar Zat Pewarna Rhodamin B Pada Pewarna Bibir Yang Beredar Di Pasar Minggu Kabupaten Gorontalo. *J Ilm [Internet].* 2022;2(1):11–21. Available from: <https://journals.ubmg.ac.id/index.php/JIAS/article/download/1074/315>
  18. Juliyanti J, Karimah U, Apriyani L. Deteksi Dan Kuantifikasi Rhodamin B Pada Produk Lipstik Tanpa Nomor Notifikasi Bpom Yang Beredar Di Pasar Malam Kecamatan Palaran Samarinda. *J Sustain Transform.* 2022;1(1):1–8.
  19. Retnowati D, Rahmawati S, Hermansyah O, Slamet S. IDENTIFIKASI RHODAMIN B PADA LIPSTIK YANG BEREDAR DI KOTA BENGKULU DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL Program Studi D3 Farmasi FMIPA Universitas Bengkulu JP : Jurnal Pharmacopoeia PENDAHULUAN Kosmetik merupakan salah satu kebutuhan yang umum diguna. *J Pharmacopoeia.* 2024;3(1):24–32.
  20. Bintang M. *Biokimia Teknik Penelitian.* Jakarta: Penerbit Erlangga; 2010.
  21. Nurhayati R. Pengembangan Dan Validasi Metode Klt – Densitometri Untuk Penetapan Kadar Filantin Dalam Ekstrak Phyllanthus Niruri Menggunakan Desain Plackett - Burman Untuk Uji Robustness. 2020; Available from: <http://lib.unair.ac.id>
  22. Muttaqin FZ, Yuliantini A, Fitriawati A, Asnawi A. PENETAPAN KADAR SENYAWA METAMPIRON DAN DIAZEPAM DALAM SEDIAAN KOMBINASI OBAT MENGGUNAKAN METODE KLT VIDEO DENSITOMETRI. *PHARMACY.* 2016;13(02):127–36.
  23. Wulandari L. *Kromatografi Lapis Tipis.* Cetakan pe. Jember: PT. Taman Kampus Presindo; 2011.
  24. Kusuma ASW, Ismanto RMH. *Penggunaan Instrumen High-Performance Liquid*

- Chromatography Sebagai Metode Penentuan Kadar Kapsaisin Pada Bumbu Masak Kemasan “Bumbu Marinade Ayam Special” Merek Sasa. *J Farmaka*. 2016;14(2):41–6.
25. Yusransyah RC, Maghfiroh, Rochmat A. Uji kesesuaian sistem kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik pada bahan baku parasetamol. *Farmagazine*. 2014;1(2):1–7.
  26. Fajri MI. Validasi metode analisis identifikasi simultan Hidrokuinon dan Asam Retinoat secara UHPLC-PDA dalam sediaan semi solida. *Erud Indones J Food Drug [Internet]*. 2020;1(1):1–10. Available from: <https://eruditio.pom.go.id/index.php/home/article/view/21>
  27. Siswanto A, Fudhol A, Nugroho AK, Martono S. Validasi Metode HPLC untuk Penetapan Aspirin dan Asam Salisilat dalam Plasma Kelinci (*Lepus curpaeums*) secara Simultan. *J Kefarmasian Indones*. 2016;6(2):68–78.
  28. Fauziah S, Komarudin D, Dewi C. Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B pada Eye Shadow secara Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri Ultraviolet-Visible. *J Ilm Kesehatan*. 2020;19(02):81–6.
  29. Hadriyati A, Lestari L, Anggresani L. Analisis Rhodamin B dalam Bolu Kukus yang Beredar di Kota Jambi dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *J Farm Dan Ilmu Kefarmasian Indones*. 2021;8(1):16.
  30. Angraini N, Desmaniar P. Optimasi penggunaan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) untuk analisis asam askorbat guna menunjang kegiatan Praktikum Bioteknologi Kelautan. *J Penelit Sains*. 2020;22(2):69.
  31. Nurhidayati L, Sofiah S, Sumarny R, Caesar K. HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD VALIDATION OF  $\alpha$ -MANGOSTIN ASSAY IN MANGOSTEEN (*Garcinia mangostana* L.) FRUIT RIND EXTRACT FORMULATED IN ORAL SOLUTION. *ALCHEMY J Penelit Kim*. 2015;11(1):38.
  32. Astles G. Solving Common Errors in HPLC [Internet]. 2023. Available from: <https://www.chromatographytoday.com/news/hplc-uhplc/31/international-labmate-ltd/solving-common-errors-in-hplc/59518>
  33. Tumanduk R, Massi MN, Agus R, Sarjana SP, Studi P, Biomedik I, et al. Analisis residu amoksisilin pada hepar dan ventrikulus ayam petelur di Pasar Tradisional Makassar. *J Ilmu Alam dan Lingkungan*. 2023;14(2):20–8.
  34. Warono D, Syamsudin. Unjuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *J Konversi 2*. 2014;
  35. Sari LV. Pengaruh Variasi Konsentrasi HCl Pada Pembuatan Nanosilika Berbasis Batu Apung. *J Tek Kim*. 2019;12:1–23.
  36. Rohman A. *Kromatografi Untuk Analisis*. Cetakan I. Graha Ilmu; 2009.
  37. WHO. *The International Pharmacopeia*. Edisi ke-empat. Electronic Version Geneva; 1992. 98 p.

38. Ramadhan SA, Musfiroh I. Review Artikel: Verifikasi Metode Analisis Obat. *Farmaka*. 2021;19:87–92.
39. Krueve A, Rebane R, Kipper K, Oldekop M, Evard H. Tutorial Review on Validation of Liquid Chromatography–Mass Spectrometry Methods: Part I. *Anal Chim Acta*. 2015;29–44.
40. Tetha E.S DA, Sugiarto K. S RD. Pebandingan Metode Analisa Kadar Besi antara Serimetri dan Spektrofotometer UV-Vis dengan Pengompleks 1,10- Fenantrolin. *Akta Kim Indones*. 2016;1(1):8.