

SKRIPSI

**“VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN-B PADA SAUS
TOMAT YANG BEREDAR DI PASAR SEPANJANG
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS”**



**OLEH :
ANA ROIS FATA BIMALA
NIM : 201808005**

**PROGAM STUDI S1 FARMASI
STIKES BHAKTI HUSADA MULIA MADIUN
2022**

SKRIPSI

“VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN-B PADA SAUS TOMAT YANG BEREDAR DI PASAR SEPANJANG MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS”

Diajukan untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam mencapai gelar
Sarjana Farmasi (S.Farm)



OLEH :
ANA ROIS FATA BIMALA
NIM : 201808005

PROGAM STUDI S1 FARMASI
STIKES BHAKTI HUSADA MULIA MADIUN
2022

LEMBAR PERSETUJUAN

**Laporan Skripsi Ini Telah Disetujui Oleh Pembimbing dan Telah
Dinyatakan Layak Mengikuti Ujian Sidang**

SKRIPSI

**"VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN-B PADA SAUS TOMAT
YANG BEREDAR DI PASAR SEPANJANG MENGGUNAKAN
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS"**

Menyetujui,
Pembimbing I



apt. Vevi Maritha, M.Farm
NIS. 20150129

Menyetujui,
Pembimbing II



Tika Indrasari, M.Farm
NIS. 20210171

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Farmasi






apt. Vevi Maritha, M.Farm
NIS. 20150129

LEMBAR PENGESAHAN



**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji Tugas Akhir Skripsi dan
dinyatakan telah memenuhi sebagian syarat memperoleh gelar S.Farm**

Pada Tanggal, 28 Juni 2022

Dewan Penguji

1. apt. Susanti Erikania, M.Farm :
Ketua Dewan Penguji 
2. apt. Vevi Maritha, M.Farm :
Penguji 1 
3. Tika Indrasari, M.Farm :
Penguji 2 

**Mengesahkan
STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun
Ketua,**



Zaenal Abidin, S.KM., M.Kes (Epid)
NIS. 20160130

PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan kemudahan yang diberikan, sehingga dapat terselesaikannya penelitian yang berjudul **“VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN-B PADA SAUS TOMAT YANG BEREDAR DI PASAR SEPANJANG MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS”**, sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan Pendidikan S1 Farmasi di STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun.

Penyusunan Proposal Skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan serta bimbingan dari berbagai pihak. Untuk itu pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Zaenal Abidin, S.KM.,M.Kes (Epid) selaku Ketua STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun, yang telah memberikan kesempatan untuk menyusun Skripsi ini.
2. Ibu apt. Vevi Maritha, M.Farm selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun dan selaku pembimbing 1 yang telah memberikan masukan serta kesempatan untuk menyusun Skripsi ini hingga dapat terselesaikan.
3. Ibu Tika Indrasari, M.Farm selaku dosen pembimbing 2 yang telah memberikan masukan sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Ibu apt. Susanti Erikania, M.Farm selaku dewan penguji yang telah memberikan masukan sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan.
5. Kedua orang tua saya yaitu ayah dan ibuk yang tiada henti-hentinya memberikan doa, semangat, wejangan maupun materi. Terimakasih atas dukunganmu selama ini dalam menyelesaikan Skripsi.
6. Teman-teman Mari Kita Main yang selalu memberikan semangat, kritik, saran dan info info terkini.
7. PO. Sumber Group yang telah mengantarkan saya selama 4 tahun merantau untuk menyelesaikan studi ini.
8. Rekan S1 Farmasi 2018 yang selalu memberikan semangat dan dukungan.
9. Orang-orang spesial yang secara tidak langsung telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.

10. Dan yang terakhir, terimakasih untuk diri sendiri yang telah berjuang hingga saat ini. Kamu hebat!

Saya sadar bahwa skripsi ini pasti ada kekurangan dan kelebihan, sehingga saya memohon kepada pembaca untuk memberi kritik dan saran untuk membantu dalam memperbaiki kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Semoga Allah SWT memberikan balasan pahala atas segala amal baik yang telah diberikan dan semoga penelitian ini berguna bagi semua pihak yang memanfaatkan.

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ana Rois Fata Bimala

NIM : 201808005

Program Studi : S1 Farmasi

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan dalam memperoleh gelar sarjana di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan baik yang sudah maupun belum/tidak dipublikasikan, sumbernya dijelaskan dalam tulisan dan daftar pustaka.

Madiun, 28 Juni 2022

Penulis,



Ana Rois Fata Bimala

NIM : 201808005

DAFTAR RIWAYAT HIUDP

Nama : Ana Rois Fata Bimala

Jenis Kelamin : Perempuan

Tempat dan Tanggal Lahir : Ngawi, 24 Maret 2000

Agama : Islam

Alamat : Jl. Jeruk 2C No.24 17/02 Geluran Taman Sidoarjo

Email : anaroisfatabimala@gmail.com

Riwayat pendidikan : 1) MI Islamiyah : 2006 - 2012

2) SMP Ulul Albab : 2012 - 2015

3) SMK Farmasi Sekesal Surabaya : 2015 - 2018

4) STIKES BHM Madiun : 2018 - 2022

ABSTRAK

Ana Rois Fata Bimala

VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN-B PADA SAOS TOMAT YANG BEREDAR DI PASAR SEPENJANG MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Rhodamin-B adalah bahan pewarna sintetis yang dilarang pemakaiannya dalam makanan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kondisi optimum pada Spektrofotometri UV-Vis, metode validasi yang dilakukan kondisi optimasi sudah memenuhi persyaratan, metode validasi dapat digunakan pada sampel serta mengetahui kadar kadar Rhodamin-B pada sampel saos tomat yang beredar di Pasar Sepanjang.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang di lakukan di Laboratorium Kimia Terpadu STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun menggunakan 3 sampel saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang. Penentuan kondisi optimum dilakukan pada konsentrasi 2 ppm menggunakan 3 pelarut yang berbeda. Persyaratan validasi meliputi linearitas, akurasi dan presisi.

Hasil kondisi optimum Spektrofotometri UV-Vis menggunakan pelarut aquadest. Validasi metode linearitas dengan nilai $r = 0,991$, akurasi pada rentang 80-110% dan %RSD presisi 0,63% <2% yang dinyatakan telah memenuhi persyaratan validasi. Kandungan Rhodamin-B yang terdapat dalam sampel saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang untuk sampel A sebesar 4,90 mg/L , sampel B sebesar 4,71 mg/L dan sampel C sebesar 8,35 mg/L.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah kondisi optimasi menggunakan pelarut aquadest, metode yang digunakan telah memenuhi persyaratan dan bisa di aplikasikan pada sampel serta saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang mengandung Rhodamin-B. Perlu dilakukan penelitian untuk mencari LOD, LOQ dan robustness pada Rhodamin-B.

Kata Kunci : Rhodamin-B, saos tomat, Spektrofotometri UV-Vis, validasi metode

ABSTRACT

Ana Rois Fata Bimala

VALIDATION OF RHODAMINE-B ANALYSIS METHODS ON TOMATO SAUCE IN SEPANJANG MARKET USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY

Rhodamine-B is a synthetic dye that is prohibited from being used in foods. The purpose of this study was to determine the optimum conditions for UV-Vis spectrophotometry, the validation method carried out under optimization conditions had met the requirements, the validation method could be used on the sample and was to determine the levels of Rhodamine-B in tomato sauce samples circulating in the Sepanjang market.

The research is an experimental research conducted at the integrated Chemistry Laboratory of STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun uses 3 samples of tomato sauce circulating in the Sepanjang market. Determination of optimum conditions was carried out at a concentration of 2 ppm using 3 different solvents. Validation requirements include linearity, accuracy and precision.

The results on the optimum conditions of UV-Vis Spectrophotometry using aquadest solvent. Validation of the linearity method with a value of $r = 0,991$, accuracy in the range of 80-110% and %RSD precision $0,63\% < 2\%$ which is declared to have met the validation requirements. The content of Rhodamine-B contained for sample A 4,90 mg/L, sample B of 4,71 mg/L and sample C of 8,35 mg/L.

The conclusion of this study is the optimization conditions using aquadest solvent, the method used has met the requirements and can be applied to samples and tomato sauce circulating in the Sepanjang market as long as it contains Rhodamine-B. it is necessary to do research to find LOD, LOQ and robustness on Rhodamine-B.

Keywords : Rhodamine-B, tomato sauce, UV-Vis Spectrophotometry, method validation.

DAFTAR ISI

Sampul Dalam	i
Lembar Persetujuan	ii
Lembar Pengesahan	iii
Persembahan	iv
Pernyataan Keaslian Penelitian	vi
Daftar Riwayat Hidup	vii
Abstrak	viii
Abstract	ix
Daftar isi.....	x
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Lampiran	xiv
Singkatan.....	xv
Kata Pengantar	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Makanan	6
2.2 Saus Tomat	7
2.3 Rhodamin-B	8
2.4 Spektrofotometri UV-Vis.....	9
2.5 Validasi Metode Analisis	13
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual.....	18
3.2 Hipotesis Penelitian.....	19
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Desain Penelitian	20
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	20
4.2.1 Populasi	20
4.2.2 Sampel.....	20
4.3 Teknik Sampling	20
4.4 Kerangka Kerja Penelitian dan Prosedur Kerja	21
4.4.1 Penentuan Kondisi Optimasi.....	21
4.4.2 Pembuatan Larutan Induk 1000 ppm	21
4.4.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal.....	21
4.4.4 Pembuatan Kurva Baku.....	22
4.4.5 Validasi Metode Analisis	22
4.4.6 Penetapan Kadar Rhodamin-B	23
4.5 Variabel Penelitian dan Definisi Oprasional.....	23

4.5.1	Variabel Penelitian	23
4.5.2	Definisi Operasional.....	24
4.6	Instrumen Penelitian.....	24
4.6.1	Alat	24
4.6.2	Bahan	24
4.7	Lokasi dan Waktu Penelitian	24
4.8	Teknik Analisis Data.....	24
4.8.1	Linearitas	24
4.8.2	Akurasi	25
4.8.3	Presisi	25
4.8.4	Kadar Rhodamin-B pada Sampel.....	26
BAB V	HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1	Hasil	27
5.1.1	Penentuan Kondisi Optimasi.....	27
5.1.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimal.....	28
5.1.3	Pembuatan Kurva Baku.....	29
5.1.4	Linearitas	30
5.1.5	Presisi	31
5.1.6	Akurasi	32
5.1.7	Penetapan Kadar Rhodamin-B	32
5.2	Pembahasan	33
BAB VI	PENUTUP	
6.1	Kesimpulan	39
6.2	Saran.....	40
	Daftar Pustaka	41

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Parameter Validasi	15
Tabel 5.1	Kondisi Optimasi Spektrofotometri UV-Vis	27
Tabel 5.2	Perbandingan antara Konsentrasi dan Absorbansi	30
Tabel 5.3	Hasil Uji Presisi.....	31
Tabel 5.4	Hasil Uji Akurasi.....	32
Tabel 5.5	Hasil Penetapan Kadar Rhodamin-B pada Sampel	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur Kimia Rhodamin-B	8
Gambar 2.2	Pembacaan Spektrofotometri UV-Vis	10
Gambar 2.3	Proses Dispersi Cahaya	11
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual	18
Gambar 5.1	Hasil Kondisi Optimasi	28
Gambar 5.2	Hasil Penentuan Panjang Gelombang	29
Gambar 5.3	Hasil Kurva Kalibrasi Larutan Rhodamin-B.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kondisi Optimasi Spektrofotometri UV-Vis	46
Lampiran 2. Baku Rhodamin-B	47
Lampiran 3. Presisi.....	48
Lampiran 4. Akurasi.....	49
Lampiran 5. Hasil Sampel.....	49
Lampiran 6. Sampel Saos Tomat	50
Lampiran 7. Perhitungan	50

DAFTAR SINGKATAN

BPOM	: Balai Pangan Obat dan Makanan
BTP	: Bahan Tambahan Pangan
CRM	: <i>Certified Reference Material</i>
KEMENKES	: Keputusan Menteri Kesehatan
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
KCKT	: Kromatografi Cair Kerja Tinggi
KV	: Koevisien Variasi
RSD	: Relative Standard Deviation
SD	: Standar Deviasi
UV	: Ultraviolet
Vis	: Visible

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN-B PADA SAUS TOMAT YANG BEREDAR DI PASAR SEPANJANG MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS”. Penulisan skripsi ini sebagai persyaratan tugas akhir dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Prodi Farmasi STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun.

Untuk menyelesaikan skripsi ini adalah suatu hal yang mustahil apabila penulis tidak mendapat bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada kedua orang tua yang selalu mendukung secara materil dan ketulusan doanya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dengan baik, serta teman-teman seperjuangan yang selalu memberikan dukungannya.

Skripsi ini belum sempurna, oleh sebab itu kritik dan saran yang dapat mengembangkan skripsi sangat penulis harapkan guna menambah pengetahuan dan manfaat bagi perkembangan ilmu kesehatan.

Madiun, 28 Juni 2022

Penulis,

Ana Rois Fata Bimala
NIM : 201808005

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Makanan adalah hal yang sangat penting dalam kehidupan, maka dari itu makanan yang kita makan harus memenuhi gizi dan memiliki bentuk yang menarik, akan tetapi juga harus aman yang diartikan tidak terdapat mikroorganisme maupun bahan kimia yang bisa mengakibatkan beberapa keracunan penyakit. Industri makanan ataupun minuman kemasan yang ada di Indonesia sekarang berkembang dengan sangatlah pesat. Semakin banyak bahan makanan maka akan semakin banyak cita rasa pada makanan itu sendiri. Salah satu bahan makanan yang masih banyak digemari dan dikonsumsi di kalangan masyarakat adalah saus (Geovani dkk, 2017).

Saus merupakan sediaan berbentuk pasta yang terbuat dari beberapa bahan-bahan yang seperti buah atau sayuran yang memiliki bau dan cita rasa khas. Di dalam komposisi saus selain air, asam dan gula juga ditambahkan bahan pengawet dan pewarna. Warna adalah salah satu tolak ukur yang dapat menunjukkan mutu makanan, antara lain warna mampu memberikan indikasi perihal perubahan kimia pada makanan, mempengaruhi rasa, menyebabkan dampak terhadap masyarakat dalam menentukan makanan dan minuman (Giovani dkk, 2017).

Zat pewarna secara luas dibagi menjadi dua kategori yaitu zat pewarna alami dan zat pewarna sintesis. Zat pewarna alami berasal dari tumbuhan

atau buah-buahan. Zat warna sintesis adalah zat warna yang berasal dari reaksi antara dua atau lebih senyawa kimia (Prawanti dkk, 2020). Saat ini masih banyak dijumpai penggunaan pewarna sintetis yang disalahgunakan sebagai bahan makanan misalnya zat pewarna tekstil untuk mewarnai bahan makanan. Salah satu bahan tambahan makanan nan sangat berbahaya bagi kesehatan adalah Rhodamin-B (Winarti, 2019).

Dari hasil pengamatan yang dilakukan oleh BPOM bahwa ada 4 jenis bahan berbahaya yang ditambahkan pada bahan makanan, meliputi Formaldehida, Methanyl yellow, Natrium Biborat dan Rhodamin-B (Kemenkes, 2011). Dan hasil riset melaporkan bahwa temuan terbesar pada jajanan yaitu Rhodamin-B (BPOM, 2013). Rhodamin-B ialah bahan pewarna imitasi yang dilarang pemakaiannya dalam makanan berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 239/MenKes/Per/V/85 tentang zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya. Bentuk dari Rhodamin-B yaitu kristal berwarna ungu kemerahan, coklat atau hijau. Sangat larut air yang akan menghasilkan warna merah kebiruan dan berfluorensi kuat. Kelarutan dari Rhodamin-B yaitu larut dalam alkohol, HCl dan NaOH (Amir dkk, 2017).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Giovani dkk (2017) melaporkan bahwa terdapat Rhodamin-B pada saos bakso tusuk yang beredar di sekitar kampus Universitas SAM Ratulangi Manado dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan hasil rata – rata 4,188 µg/mL. Penelitian yang dilakukan Hikma Nur dkk (2020) bahwa

terdapat Rhodamin-B pada saos yang beredar di kantin kampus Universitas Halu Oleo Kendari tahun 2019 menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan kadar rata-rata 30,46842 ppm. Penelitian yang dilakukan oleh Muji Rahayu (2016) bahwa dari hasil uji laboratorium dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) terhadap 19 sampel geplak berwarna merah muda menunjukkan bahwa 1 sampel geplak positif yang mengandung zat perwarna Rhodamin-B (5,3%). Kekurangannya yaitu butuh sistem untuk menentukan eluen yang cocok. Dan juga penelitian dari Herdini & Wahyudiana (2019) melaporkan bahwa terdapat Rhodamin-B dalam perona mata yang diperoleh di Kabupaten Bekasi dengan metode Kromatografi Cair Kerja Tinggi (KCKT) dengan hasil uji keempat perona mata terdapat 3 perona mata yang mengandung Rhodamin-B dengan kadar rata – rata merk EYR1 23,5791 bpj ; merk EYR2 74,5073 bpj dan merk ETR2 21,3514 bpj. Kekurangan dari menggunakan metode Kromatografi Cair Kerja Tinggi (KCKT) yaitu harga yang cukup mahal.

Berdasarkan uraian diatas, belum ada penelitian tentang validasi metode analisis Rhodamin-B pada saus tomat yang beredar di Pasar Sepanjang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode pengujian Rhodamin-B yang dapat dilakukan dengan mudah dan murah. Spektrofotometri UV-Vis memiliki keunggulan antara lain dapat digunakan untuk menganalisis zat organik dan anorganik, selektif, mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif sebesar 1% – 3%, dapat dilakukan secara cepat dan tepat, hasil yang

diperoleh cukup akurat serta bisa digunakan untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Elliawati, 2015). Parameter pengukuran validasi antara lain adalah presisi, akurasi dan linearitas. Tujuan dari memvalidasi metode untuk memastikan bahwa metode yang digunakan sudah memenuhi syarat untuk aplikasi analisis dan dapat dipertanggung jawabkan (Cicik dkk, 2017).

1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah ini antara lain :

1. Bagaimana kondisi optimum analisis Rhodamin-B pada saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis ?
2. Apakah kondisi yang optimum analisis Rhodamin-B yang terkandung dalam saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis memenuhi persyaratan validasi (linearitas, akurasi dan presisi) ?
3. Apakah metode yang tervalidasi dapat digunakan untuk analisis pada saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis ?
4. Berapa kadar Rhodamin-B yang terkandung dalam saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang ?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui kondisi optimum analisis Rhodamin-B pada saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.
2. Untuk mengetahui kondisi yang optimum analisis Rhodamin-B yang terkandung dalam saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis memenuhi persyaratan validasi (linearitas, akurasi dan presisi).
3. Untuk mengetahui apakah metode tervalidasi dapat digunakan pada saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.
4. Untuk mengetahui kadar Rhodamin-B yang terkandung dalam saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang.

1.4. Manfaat Penelitian

Adanya metode tervalidasi untuk analisis Rhodamin-B pada saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Makanan

Makanan adalah hal yang sangat penting dalam kehidupan, maka dari itu makanan yang kita makan harus memenuhi gizi dan memiliki bentuk yang menarik, akan tetapi juga harus aman yang diartikan tidak mengandung mikroorganisme dan bahan kimia yang bisa mengakibatkan keracunan penyakit. Industri makanan dan minuman kemasan yang ada di Indonesia saat ini sangat berkembang dengan pesat. Semakin banyak bahan makanan maka akan semakin banyak cita rasa pada makanan itu sendiri (Geovani dkk, 2017).

Bahan tambahan pangan (BTP) secara umum dapat diartikan yaitu bahan yang biasanya tidak digunakan pada makanan, memiliki atau tidak nilai gizi yang sengaja dimasukkan ke dalam makanan guna untuk pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, pengemasan dan penyimpanan. Tujuan dari penggunaan bahan tambahan pangan ditambahkan ke dalam makanan adalah untuk meningkatkan atau mempertahankan nilai gizi, kualitas daya simpan, membuat lebih mudah dihidangkan dan mempermudah peraparasi bahan pangan (Nuraini, 2016).

Pada umumnya bahan tambahan pangan dibagi menjadi 2 golongan besar meliputi :

1. Bahan Tambahan Pangan yang ditambahkan dengan sengaja ke dalam makanan dengan mengetahui komposisi bahan dan dengan maksud

penambahan itu digunakan sebagai mempertahankan kesegaran, cita rasa dan pengolahan. Contohnya yaitu pengawet, pewarna dan pengeras.

2. Bahan Tambahan Pangan yang tidak sengaja ditambahkan merupakan bahan yang tidak memiliki manfaat dalam makanan tersebut, secara tidak sengaja maupun dalam jumlah sedikit akibat perlakuan selama proses produksi, pengolahan dan pengemasan. Contoh : residu pestisida dan antibiotic (Norman dalam Malaningsih , 2017).

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 033 Tahun 2012 ada beberapa Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang dilarang ada di dalam makanan yaitu Asam Borat dan senyawanya, Asam Salisilat dan senyawanya, Dietilpirokarbonat, Dulsin, Kalium Klorat, Kloramfenikol, Minyak Nabati yang di brominasi, Nitrofurazon, Formalin, Kalium Bromat, Rhodamin B dan Methanyl yellow.

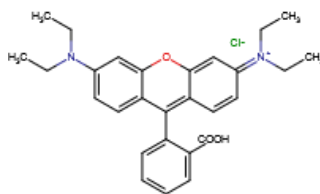
2.2. Saus Tomat

Saus merupakan sediaan berbentuk pasta yang terbuat dari bahan baku seperti buah atau sayuran yang memiliki aroma dan rasa yang khas. Salah satu bahan makanan yang masih banyak digemari dan dikonsumsi di kalangan masyarakat adalah saus. Di dalam komposisi saus selain air, asam dan gula juga ditambahkan bahan pengawet dan pewarna (Rahmi, 2017). Saus tomat merupakan produk yang umumnya terbuat dari pasta tomat yang dapat larut. Saus tomat dibumbui dengan gula, garam, cuka,

rempah, ekstrak lada merah dan bahan lainnya seperti bawang merah, ekstrak herbal lainnya (Bhowmik dkk, 2012).

2.3. Rhodamin-B

Rhodamin-B adalah bahan pewarna sintetis yang dilarang pemakaiannya dalam makanan berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 239/MenKes/Per/V/85 tentang zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya. Bentuk dari Rhodamin-B adalah kristal dengan warna ungu kemerahan, coklat atau hijau. Sangat larut dalam air yang akan menghasilkan warna merah kebiruan dan berfluorensi kuat. Kelarutan dari Rhodamin-B yaitu larut dalam alkohol, HCl dan NaOH (Amir dkk, 2017). Rhodamin-B memiliki titik lebur 165°C. Rhodamin-B digunakan untuk zat pewarna kertas, tekstil, wool, sutra, dan reagen untuk analisis antimon, kobalt, bismut dan lain-lain (BPOM, 2013).



Gambar 2.1 Struktur Kimia Rhodamin-B (Pribadi, 2022)

Penggunaan Rhodamin-B tentunya berbahaya bagi kesehatan. Penumpukan Rhodamin-B di lemak dalam jangka waktu yang lama dengan jumlah yang terus-menerus bertambah di dalam tubuh dapat menimbulkan kerusakan pada organ tubuh sampai mengakibatkan

kematian (Mamoto dan citraningtyas dalam Amelia dkk, 2018). Hasil analisis histologi ginjal mencit pada penelitian (Riska dalam Agustin, 2016) Rhodamin-B adalah zat kimia beracun yang bilamana tertelan dapat mengakibatkan iritasi mukosa lambung, iritasi mata, iritasi kulit, iritasi saluran pernapasan, mual muntah, mulas, kanker hati yang dapat mengakibatkan kematian (Agustina & Sulistryarsi, 2016).

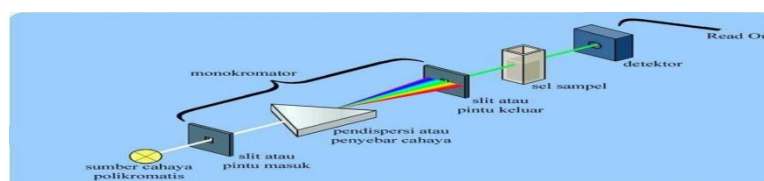
Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Pohanish, 2008) menyatakan bahwa penelitian terhadap Rhodamin-B yang dilakukan pada hewan mencit, diketahui bahwa Rhodamin-B mengakibatkan terjadinya perubahan sel hati dari normal menjadi nekrosis dan jaringan di sekitarnya mengalami disintegrasi. Kerusakan pada jaringan hati ditandai dengan adanya piknotik (sel yang melakukan pinositosis) dan hiperkromatik dari nukleus, degenerasi lemak dan sitolisis dari sitoplasma (Saputri dkk, 2018). Terdapat penelitian lain menunjukkan bahwa Rhodamin-B dengan dosis 150 ppm, 200 ppm dan 600 ppm berpengaruh signifikan dapat memperlambat panjang siklus estrus pada mencit betina dewasa. Zat pewarna sintetis dalam makanan dapat mengganggu fungsional tubuh (Febrina dkk dalam Amelia Rizky, 2020).

2.4. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut yang di absorpsi, direfleksikan dan diemisikan sebagai fungsi dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer merupakan alat pengukur intensitas cahaya yang di

absorpsi (Alwi, 2017). Sinar ultraviolet jauh mempunyai panjang gelombang $\pm 10\text{--}200$ nm sedangkan sinar ultraviolet dekat mempunyai panjang gelombang $\pm 200\text{--}400$ nm. Sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang $400\text{--}750$ nm. Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Pada spektrofotometri UV-Vis terdapat beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul adalah kromofor. Kromofor merupakan molekul yang mengabsorpsi sinar dengan kuat di daerah UV-Vis misalnya Rhodamin-B.

Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis menurut Pescok et al ; Skoog and West dalam Afifah (2016) berdasarkan penyerapan cahaya oleh suatu larutan. Jumlah cahaya radiasi yang diserap memungkinkan pengukuran jumlah zat penyerap dalam larutan secara kuantitatif. Cahaya yaitu bentuk energi radiasi yang memiliki sifat sebagai gelombang dan partikel dapat dilihat atas terjadinya pembiasan dan pemantulan cahaya. Instrumen spektrofotometri UV-Vis yaitu suatu sumber cahaya yang akan dipancarkan melewati monokromator. Monokromator menguraikan sinar yang masuk dari sumber cahaya menjadi pita panjang gelombang untuk pengukuran zat tertentu dan menunjukkan bahwa seriap gugus kromofor mempunyai panjang gelombang maksimum yang berbeda.



Gambar 2.2 Pembacaan Spektrofotometri UV-Vis (Yahya, 2013)

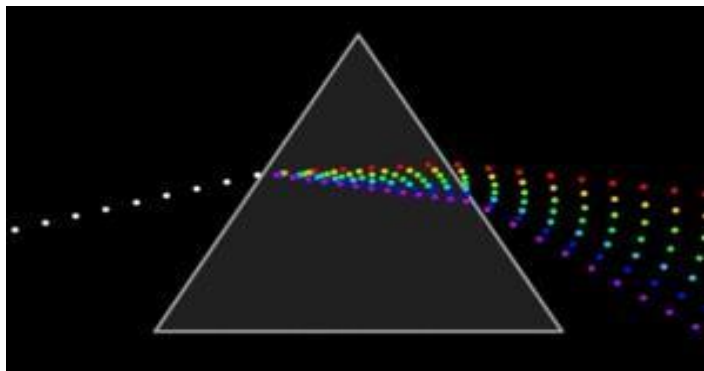
Menurut (Afifah, 2016) komponen spektrofotometri UV-Vis terdiri atas :

1. Sumber lampu

Sumber lampu deuterium digunakan untuk di daerah UV pada panjang gelombang 190-380 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten dipergunakan untuk daerah visibel.

2. Monokromator

Digunakan untuk mendispersikan sinar ke dalam komponen panjang gelombang yang selanjutnya akan dipilih oleh celah. Monokromator akan memisahkan radiasi cahaya putih yang polikromatis menjadi cahaya monokromatis.



Gambar 2.3 Proses Dispersi Cahaya (Gandjar, 2007)

3. Kuvet

Wadah untuk menempatkan larutan yang akan di analisis. Dilihat dari bahan yang digunakan, kuvet terdapat dua macam yaitu kuvet leburan silika dan kuvet dari gelas. Kuvet leburan silika dapat digunakan dalam daerah pengukuran 190-1100 nm. Kuvet dari gelas dapat

digunakan dalam daerah pengukuran 380-1100 nm karena bahan yang digunakan terbuat dari gelas yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet.

4. Detektor

Digunakan untuk menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan berubah menjadi arus listrik.

5. Read Out

Yaitu suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detektor.

Persyaratan suatu sampel dapat di analisa menggunakan spektrofotometri UV-Vis adalah bahan yang mempunyai gugus kromofor, bahan tidak mempunyai gugus kromofor tapi berwarna, bahan tidak memiliki gugus kromofor dan tidak berwarna maka ditambahkan pereaksi warna (Vis) dan bahan tidak mempunyai gugus kromofor dibuat turunannya yang mempunyai gugus kromofor (UV) (Afifah, 2016). Spektrofotometri UV-Vis bisa dipakai untuk penentuan sampel berupa larutan, gas dan uap. Pada umumnya sampel wajib diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan terdapat beberapa persyaratan yang harus dipakai, berupa :

1. Melarutkan sampel dengan sempurna.
2. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi yang terdapat di dalam struktur molekul dan tidak berwarna.
3. Tidak terjadinya interaksi dengan senyawa molekul yang di analisis.
4. Kemurnian harus tinggi.

2.5. Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis yaitu suatu proses yang ditetapkan melalui penilaian kajian laboratorium sehingga karakteristik prosedur kerja tersebut sudah memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaan. Macam-macam karakteristik prosedur kerja analisis yang digunakan dalam validasi metode yaitu meliputi akurasi, presisi, spesifisitas, batas deteksi, batas kuantitasi, linearitas, rentang dan ketegaran (Depkes RI, 2014). Validasi metode analisis adalah sebuah tahapan yang penting dalam jaminan mutu analisis kuantitatif dan ditujukan untuk menjamin metode analisis tersebut memenuhi spesifikasi yang dapat diterima sesuai dengan tujuan (Gandjar dan Rohman, 2014).

Menurut Gandjar dan Rochman (2014) metode analisis harus di validasi untuk melakukan verifikasi sehingga parameter kerjanya cukup mampu untuk mengatasi permasalahan analisis, karena suatu metode harus di validasi disaat :

1. Metode yang baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu.
2. Metode yang sudah baku diperbaiki untuk menyesuaikan perkembangan karena muncul suatu permasalahan yang mengarah bahwa metode baku tersebut harus diperbaiki kembali.
3. Jaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku yang sudah berubah seiring berjalannya waktu.

4. Metode baku digunakan di laboratorium berbeda, dikerjakan oleh analisis yang berbeda pula atau dikerjakan dengan alat yang berbeda.
5. Untuk mendemonstrasikan kesamaan antar 2 metode seperti contohnya metode baru dan metode baku.

Syarat utama dari penelitian yang dapat diterima dan untuk dipublikasikan terutama penelitian bersifat kuantitatif harus memperoleh data yang valid dan dapat dipertanggung jawabkan kebenarannya. Manfaat dari validasi metode analisis yaitu untuk mengevaluasi suatu kerja metode analisis, menjamin suatu prosedur analisis, menjamin keakuratan dan mengurangi resiko penyimpangan yang mungkin terjadi (Wulandari dalam Afifah 2016). Menurut (Depkes RI, 2014) kategori pengujian validasi metode analisis yang mensyaratkan data validasi dibagi menjadi 4, yaitu :

1. Kategori I

Metode analisis ini digunakan untuk penetapan kadar komponen utama dalam bahan baku obat atau bahan aktif seperti pengawet dalam sediaan obat jadi.

2. Kategori II

Metode analisis ini digunakan untuk penetapan cemaran yang terdapat dalam bahan baku obat atau hasil degradasi dalam sediaan obat jadi.

Metode ini terdiri dari penetapan kuantitatif dan uji batas.

3. Kategori III

Metode analisis ini digunakan untuk penetapan kinerja dan kualitas sediaan obat jadi. Contoh : uji disolusi dan uji pelepasan obat.

4. Kategori IV

Metode analisis ini digunakan untuk uji identifikasi.

Tabel 2.1 Parameter Validasi

Karakteristik kinerja analitik	Kategori I	Kategori II		Kategori III	Kategori IV
		Kuantitatif	Uji batas		
Akurasi	Ya	Ya	*	*	Tidak
Presisi	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak
Spesifisitas	Ya	Ya	Ya	*	Ya
Batas deteksi	Tidak	Tidak	Ya	*	Tidak
Batas kuantitasi	Tidak	Ya	Tidak	*	Tidak
Linearitas	Ya	Ya	Tidak	*	Tidak
Rentang	Ya	Ya	*	*	Tidak

*Mungkin dipesyaratkan tergantung pada sifat khusus dari uji Sumber : (Depkes RI, 2014)

Menurut Harmita dalam Afifah (2016) ada beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis, meliputi :

1. Linearitas

Linearitas merupakan kemampuan metode analisis yang memberikan respon secara langsung dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrsai analit dalam sampel. Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah hubungan linier antara konsentrasi dan hasil pengukuran pengujian (Depkes RI, 2014). Linearitas ditetapkan menggunakan minimal 5 konsentrasi yang digunakan secara normal (ICH dalam Helwandi, 2016). Larutan baku didapat dari pengenceran baku induk untuk menghindari kesalahan acak yang mungkin terjadi bila dilakukan penimbangan secara individual (AOAC dalam Helwandi, 2016). Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linier $y = a + bx$. Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$

dan $r = 1$ atau -1 tergantung pada arah garis. Data dari garis regresi dapat menunjukkan perkiraan derajat linieritas seperti koefisien korelasi, perpotongan sumbu y, arah garis regresi dan jumlah kuadrat residu garis regresi yang dapat diterima (Gandjar dan Rohman, 2012).

2. Akurasi

Akurasi merupakan ukuran yang menunjukkan kedekatan hasil yang diperoleh dari hasil pengamatan dengan hasil yang sebenarnya. Untuk mencapai akurasi yang tinggi dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematis seperti menggunakan peralatan yang telah di kalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu dan pelaksanaan yang cermat, taat dan sesuai prosedur (Depkes RI, 2014).

Menurut Gandjar dan Rohman (2014) akurasi adalah ketepatan metode analisis nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya atau nilai rujukan. Akurasi diukur banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan spiking dalam suatu sampel. Untuk pengujian senyawa obat, akurasi diperbolehkan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar. Terdapat tiga cara yang bisa digunakan untuk menentukan akurasi untuk suatu metode analisis yaitu :

1. Membandingkan hasil analisis dengan CRM (*Certified Reference Material*) dari organisasi internasional.

2. Uji perolehan kembali atau perolehan kembali dengan memasukkan analit ke dalam matriks blanko.
3. Penambahan baku pada matriks sampel yang mengandung analit (Gandjar dan Rohman, 2014).
4. Presisi

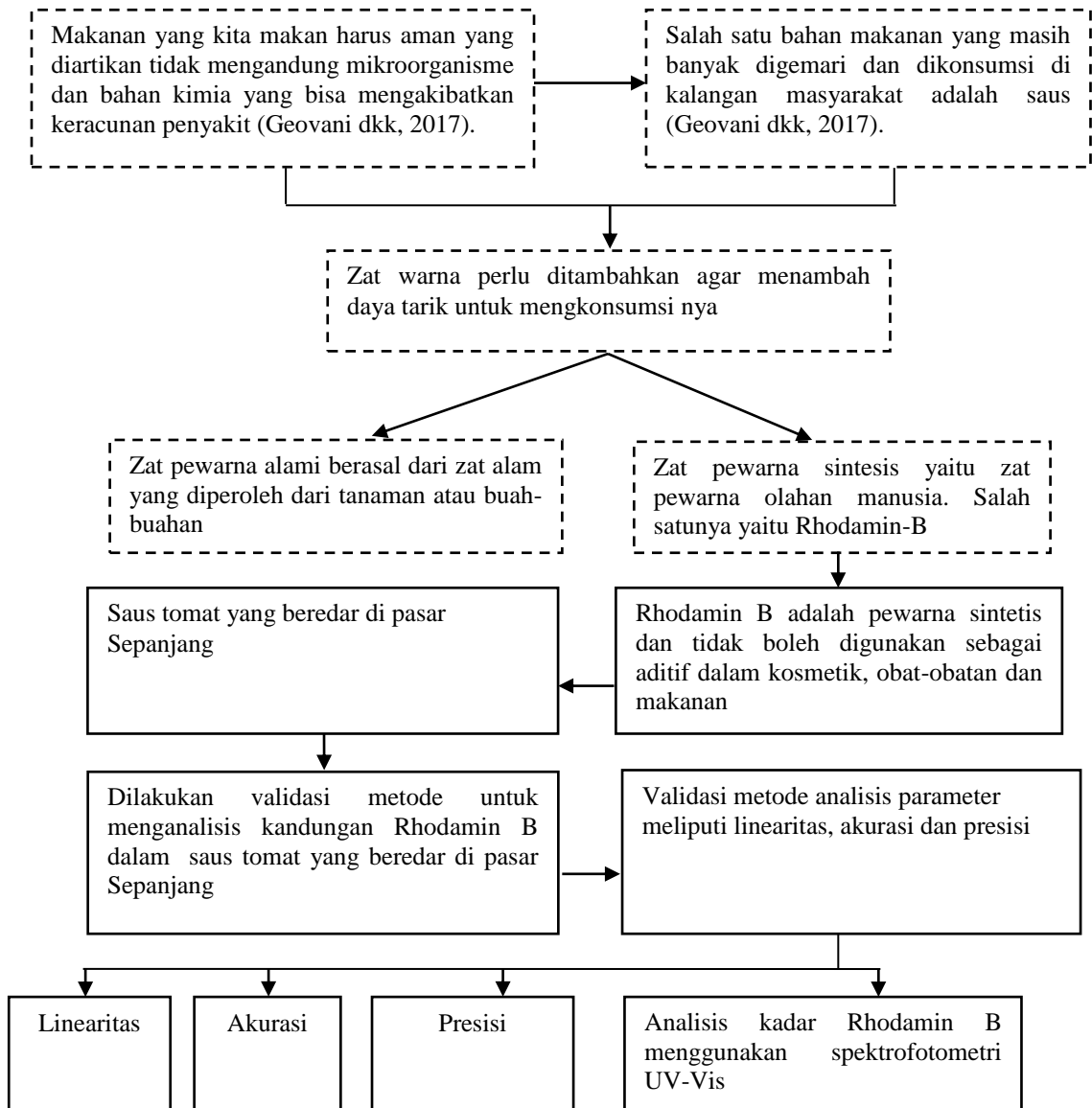
Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi biasanya dinyatakan sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (%RSD) atau koefisien variasi (KV). Presisi dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*).

Penentuan presisi dapat dibagi menjadi tiga kategori yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*Intermediate precision*) dan ketertiruan (*reproducibility*). keterulangan adalah ketepatan yang ditentukan pada laboratorium yang sama oleh satu analis serta menggunakan peralatan dan dilakukan pada hari yang sama. Presisi antara adalah ketepatan pada kondisi percobaan pada laboratorium yang sama oleh analis, peralatan, reagen dan kolom yang berbeda. Kriteria presisi diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV) sebesar $\leq \pm 2\%$ dan standar deviasi (SD) sebesar $\leq \pm 2$ (Harmita dalam Afifah, 2016).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan :

- - - - - : tidak dilakukan penelitian
- : dilakukan penelitian

Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Adanya kondisi yang optimum analisis Rhodamin-B pada saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.
2. Terdapat metode tervalidasi untuk analisis Rhodamin-B pada saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.
3. Metode tervalidasi dapat di aplikasikan pada sampel saos tomat yang beredar di pasar Sepanjang.
4. Diketahui kadar Rhodamin-B pada saos tomat yang beredar beredar di pasar Sepanjang.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental. Metode yang digunakan untuk validasi metode analisis Rhodamin-B dalam saus tomat yaitu metode Spektrofotometri UV-Vis.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi adalah semua objek penelitian yang menjadi sasaran. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah saus tomat yang di beredar di pasar Sepanjang.

4.2.2 Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang dipakai pada validasi metode analisis Rhodamin-B adalah saus tomat yang mempunyai warna merah mencolok, murah dan tidak ber-BPOM yang beredar di pasar Sepanjang.

4.3 Teknik Sampling

Teknik sampling dibuat dengan cara *simple random sampling* adalah pengambilan sampel dari populasi dilakukan secara acak tanpa memperhatikan strata populasi tersebut. Pengambilan sampel berdasarkan

simple random sampling dari populasi yaitu 3 merk saus tomat yang mempunyai warna merah mencolok, harga murah dan tidak ber-BPOM.

4.4 Kerangka Kerja Penelitian

4.4.1 Penentuan Kondisi Optimasi

Kondisi optimasi larutan Rhodamin-B dilakukan pada konsentrasi 2 ppm dengan 3 pelarut yang berbeda yaitu menggunakan pelarut aquadest, etanol PA dan HCl 0,1 N dengan cara mengambil larutan masukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dan diperoleh λ maksimum.

4.4.2 Pembuatan Larutan Induk 1000 ppm

Ditimbang 10 mg standar Rhodamin-B menggunakan timbangan analitik lalu dilarutkan dengan aquadest. Lalu masukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan aquadest sampai batas tanda.

4.4.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Penentuan panjang gelombang maksimal dilakukan dengan konsentrasi 2 ppm sebanyak 10 mL yang di encerkan dari larutan induk 1000 ppm yang sudah dibuat sebelumnya. Ambil 20 μ L dimasukkan ke labu ukur 10 mL lalu tambahkan aquadest sampai tanda batas. Kemudian masukkan ke dalam kuvet dengan menggunakan blanko aquadest. Rentang panjang gelombang yang digunakan yaitu 400-800 nm. Puncak maksimum yang dihasilkan dari Spektrofotometri UV-Vis merupakan panjang gelombang maksimum dari Rhodamin-B.

4.4.4 Pembuatan Kurva Baku

Dibuat larutan baku dari larutan induk 1000 ppm dengan konsentrasi sebesar 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm dan 2,5 ppm dengan dipipet 12,5 μL , 25 μL , 37,5 μL , 50 μL dan 62,5 μL kemudian masukkan ke dalam labu ukur 25 mL lalu ditambahkan aquadest sampai tanda batas. Lalu diukur absorbansinya pada Spektrofotometri UV-Vis dan dibuat persamaan regresi linier $y = bx + a$. Dilakukan replikasi 3 kali.

4.4.5 Validasi Metode Analisis

1. Linearitas

Dibuat larutan baku dari larutan induk 1000 ppm dengan konsentrasi sebesar 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm dan 2,5 ppm dengan dipipet 12,5 μL , 25 μL , 37,5 μL , 50 μL dan 62,5 μL kemudian masukkan ke dalam labu ukur 25 mL lalu ditambahkan aquadest sampai tanda batas. Dilakukan replikasi 3 kali. Kurva kalibrasi yang dibuat lalu ditentukan persamaan regresi linier dan koefisien korelasi untuk mendapatkan nilai linieritas yang baik.

2. Presisi

Presisi dilakukan dengan cara diambil larutan baku dengan konsentrasi 2 ppm dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dan diulangi sebanyak 6 kali (Riyanto, 2017).

3. Akurasi

Akurasi dilakukan dengan cara diambil konsentrasi larutan baku sebesar 1,6 ppm, 2 ppm dan 2,4 ppm dengan dipipet 40 μ L, 50 μ L dan 60 μ L kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL lalu ditambahkan aquadest sampai tanda batas. Lalu di ukur absorbansi nya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Pengujian akurasi dilakukan replikasi 3 kali pada setiap konsentrasi untuk menentukan akurasi.

4.4.6 Penetapan Kadar Rhodamin-B

Ditimbang 2 gram sampel saus dimasukkan ke cawan lalu ditambahkan 16 tetes HCl 4 M dan 20 mL aquadest kemudian di aduk ad homogen. Larutan disaring dengan menggunakan kertas saring dan pada bagian atasnya ditambahkan natrium sulfat anhidrat. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu ukur sampai tanda batas. Larutan di homogenkan lalu di ukur absorbansi nya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 554 nm lalu dilakukan replikasi 3 kali.

4.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.5.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu kandungan Rhodamin-B pada saus tomat. Pada penelitian ini variabel kendali nya yaitu kandungan Rhodamin-B pada sampel. Variabel tergantung pada penelitian ini yaitu validasi metode analisis meliputi linearitas, akurasi dan presisi.

4.5.2 Definisi Operasional

Sampel yang digunakan yaitu saus tomat yang beredar di pasar Sepanjang. Senyawa yang diidentifikasi adalah Rhodamin-B. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah validasi metode analisis menggunakan Spektrofotometri UV-Vis yang memiliki beberapa parameter yaitu linearitas, akurasi dan presisi.

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1 Alat

Spektrofotometri UV-Vis, Kuvet, Timbangan analitik, Beaker glass, Labu ukur, Gelas ukur, Cawan, Corong, Batang pengaduk, Mikropipet, Pipet tetes.

4.6.2 Bahan

Baku Rhodamin-B, sampel saus tomat, HCl, aquadest, etanol PA dan Na-sulfat anhidrat.

4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Husada Mulia Madiun pada bulan Januari sampai dengan Maret Tahun 2022.

4.8 Teknik Analisis Data

4.8.1 Linieritas

Tujuan dari uji linearitas yaitu untuk membuktikan adanya hubungan antara konsentrasi dan nilai absorbansi. Maka dari itu harus membuat

kurva kalibrasi terlebih dahulu. Dari kurva kalibrasi ini kemudian ditemukan regresi linearnya yang berupa persamaan $y=bx+a$. Linearitas yang baik yaitu yang mempunyai nilai koefisien korelasi yang mendekati atau sama dengan 1.

4.8.2 Akurasi

Uji akurasi yaitu ukuran yang menunjukkan bahwa kedekatan hasil yang diperoleh dari hasil pengamatan dengan hasil yang sebenarnya. Uji akurasi dinyatakan dengan persen recovery (*% recovery*). Syarat akurasi yang baik jika nilai *% recovery* pada rentang 80-110%.

Perhitungan untuk menentukan *% recovery* yaitu :

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{Kadar terukur}}{\text{Kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

4.8.3 Presisi

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi dapat dihitung dengan cara :

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

Keterangan

SD : Standar Deviasi

RSD : *Relative Standard Deviation*

\bar{x} : Rerata

4.8.4 Kadar Rhodamin-B pada Sampel

Perhitungan kadar Rhodamin-B pada 3 sampel saus tomat dengan metode validasi metode analisis menggunakan Spektrofotometri yaitu dengan cara membuat persamaan regresi. Regresi linier adalah hubungan antara konsentrasi (sumbu x) dengan nilai absorbansi (sumbu y). Regresi dapat dihitung dengan rumus $y = bx + a$.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

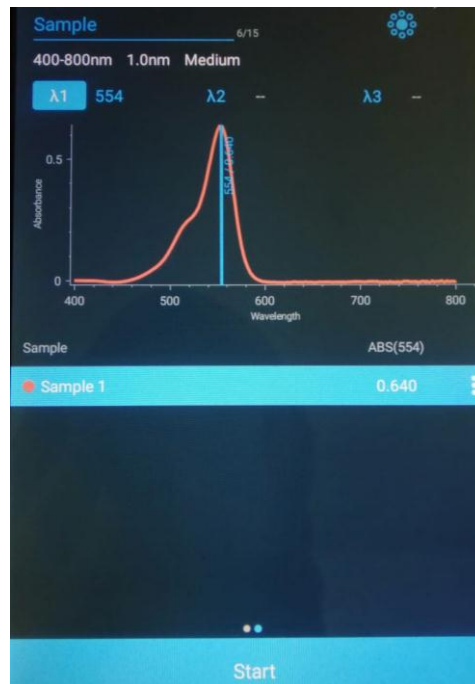
5.1 Hasil

5.1.1 Penentuan Kondisi Optimasi

Kondisi optimasi merupakan kondisi tertinggi atau terbaik tanpa merusak unsur yang terdapat dalam larutan. Parameter yang digunakan yaitu kadar pelarut mencari lamda maksimum menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Pada larutan Rhodamin-B menggunakan pelarut aquadest, HCl 0,1 N dan etanol PA yang dilakukan pada konsentrasi 2 ppm yang dibuat dari larutan induk 1000 ppm pada panjang gelombang 400-800 nm dan dihasilkan lamda maksimum masing-masing sebagai berikut :

Tabel 5.1 Kondisi optimasi Spektrofotometri UV-Vis

Pelarut	Panjang λ Maks (nm)	Absorbansi
Aquadest	554	0,640
Etanol PA	543	0,569
HCl 0,1 N	557	0,518



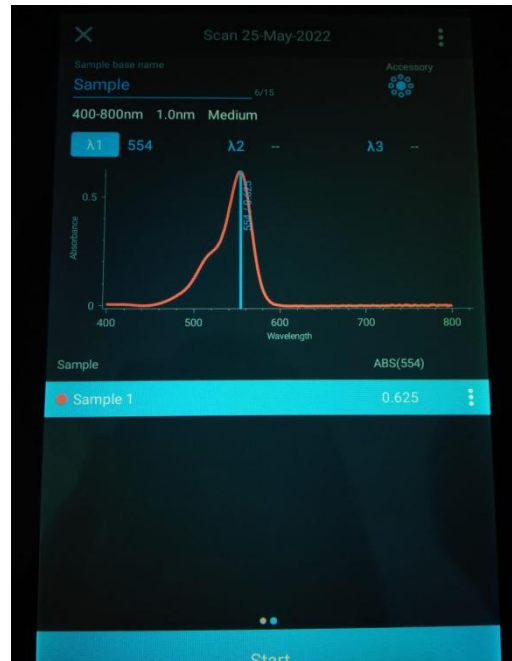
Gambar 5.1 Hasil Kondisi Optimasi

Berdasarkan hasil kondisi optimasi pelarut aquadest, etanol PA dan HCl 0,1 N pelarut yang digunakan adalah aquadest karena pada hukum *Lambert Beer* rentang absorbansi yang digunakan pada Spektrofotometri UV-Vis antara 0,2 - 0,8. Hasil dari ke tiga pelarut yang termasuk dalam hukum *Lambert Beer* dan memiliki absorbansi yang paling tertinggi yaitu aquadest sebesar 0,640 maka dari itu aquadest digunakan untuk pelarut dalam penelitian ini.

5.1.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

Larutan baku 2 ppm diamati menggunakan Spektrofotometri UV-vis lamda maksimal 400-800 nm dengan menggunakan blanko aquadest. Pada larutan tersebut memiliki puncak serapan dengan nilai 554 nm. Maka dari itu, sesuai dengan penelitian Giovani dkk (2017) dan Rahmadhi (2021)

bahwa panjang gelombang Rhodamin-B bisa di analisis pada rentang panjang gelombang 400-800 nm.



Gambar 5.2 Penentuan Panjang Gelombang

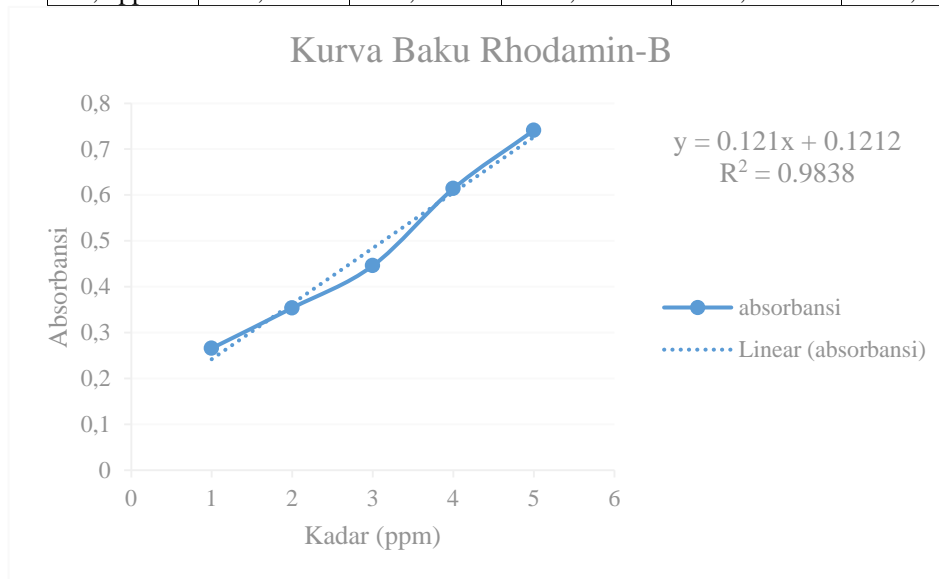
5.1.3 Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku Rhodamin-B diperoleh dari perbandingan konsentrasi standar Rhodamin-B dan absorbansi pada panjang gelombang maksimum sehingga didapatkan persamaan regresi linear dimana konsentrasi yang digunakan yaitu 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm dan 2,5 ppm dengan menggunakan pelarut aquadest. Nilai absorbansi yang didapat ditunjukkan pada Tabel 5.2

Persamaan regresi linear dari perbandingan konsentrasi standar Rhodamin-B dan absorbansi diperoleh hasil yaitu $y = 0,121x + 0,1212$

Tabel 5.2 Perbandingan antara Konsentrasi dengan Absorbansi

Konsentrasi	Absorbansi Replikasi 1	Absorbansi Replikasi 2	Absorbansi Replikasi 3	Absorbansi Replikasi 4	Absorbansi Rata-rata
0,5 ppm	0,267	0,269	0,267	0,264	0,266
1 ppm	0,359	0,355	0,353	0,351	0,354
1,5 ppm	0,450	0,443	0,437	0,454	0,446
2 ppm	0,619	0,612	0,611	0,616	0,614
2,5 ppm	0,747	0,743	0,743	0,731	0,741



Gambar 5.3 Hasil Kuva Kalibrasi Larutan Rhodamin-B

5.1.4 Linearitas

Tujuan dari uji linearitas adalah untuk mengetahui apakah konsentrasi zat yang akan di analisis menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis mempunyai hubungan yang linear atau tidak secara signifikan (Rohmah dkk, 2021). Berdasarkan hasil kurva baku yang dapat dilihat pada gambar 5.1 diperoleh nilai koefisien korelasi (r) = 0,99. Linearitas dapat diterima jika nilai (R^2) mendekati 1 (SNI, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa analisis Rhodamin-B menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis mempunyai linearitas yang baik.

5.1.5 Presisi

Presisi adalah ukuran derajat keterulangan metode analisis yang memberikan hasil sama pada beberapa pengulangan (Dian, 2016). Berdasarkan data pada tabel 5.3 diperoleh *Relative Standard Deviation* (RSD) sebesar 0,63%. *Relative Standard Deviation* (RSD) pada uji presisi ini memenuhi persyaratan karena berdasarkan literatur keterulangan yang baik bila nilai %RSD $\leq 2\%$. Penyimpangan yang terjadi masih dalam rentang yang diizinkan dan dapat dikatakan bahwa metode yang digunakan memiliki keterulangan yang baik. Semakin kecil nilai %RSD yang diperoleh maka semakin tepat analisis yang dilakukan dan semakin baik digunakan untuk analisis suatu senyawa (Rohmah dkk, 2021).

Tabel 5.3 Hasil Uji Presisi

Konsentrasi	Pengulangan	Absorbansi	Kadar (ppm)	Rata-rata (Kadar)	SD	%RSD
2 ppm	1	0,660	4,45	4,40	0,028	0,63%
	2	0,657	4,42			
	3	0,655	4,41			
	4	0,656	4,41			
	5	0,652	4,38			
	6	0,651	4,37			

Keterangan

SD : Standar Deviasi

RSD : *Relative Standard Deviation*

5.1.6 Akurasi

Uji akurasi ialah uji kedekatan hasil analisis dengan hasil analit yang sebenarnya (Rohmah dkk, 2021). Berdasarkan tabel 5.4 dapat dilihat bahwa hasil uji perolehan kembali (*%recovery*) untuk Rhodamin-B masuk pada rentang 80-110%. Hasil uji perolehan kembali (*% recovery*) ini memenuhi syarat akurasi yang telah ditetapkan pada rentang 80 - 110% (Rohmah dkk, 2021).

Tabel 5.4 Hasil Uji Akurasi

Konsentrasi	Kadar Konsentrasi	Absorbansi	Kadar Terukur	Nilai Akurasi	Rata – rata
		0,475	-	-	
80%	1,6 ppm	0,473	2,90 ppm	99,3%	98,2%
		0,469	2,87 ppm	98,2%	
		0,466	2,84 ppm	97,2%	
		0,617	-	-	
100%	2 ppm	0,614	4,07 ppm	99,5%	99,3%
		0,611	4,04 ppm	98,7%	
		0,615	4,08 ppm	99,7%	
		0,673	-	-	
120%	2,4 ppm	0,668	4,51 ppm	98,9%	98,2%
		0,664	4,48 ppm	98,2%	
		0,660	4,45 ppm	97,5%	

5.1.7 Penetapan Kadar Rhodamin-B

Penetapan kadar Rhodamin-B dilakukan pada 3 sampel saus tomat yang dengan cara di timbang 2 gram saus tomat lalu ditambahkan 16 tetes HCl 4 M dan 20 mL aquadest. Kemudian disaring menggunakan kertas saring yang di atasnya telah ditambahkan natrium sulfat anhidrat. Hasil saringan kemudian di analisis dengan Spektrofotometri UV-Vis. Untuk menghitung Rhodamin-B pada sampel saus tomat menggunakan persamaan regresi $y = 0,121x + 0,1212$

Tabel 5.5 Hasil Penetapan Kadar Rhodamin-B pada Sampel

Sampel	Absorbansi	Kadar	Rata-rata
A1	0,723	4,97 ppm	4,90 ppm
A2	0,672	4,55 ppm	
A3	0,728	5,01 ppm	
A4	0,738	5,09 ppm	
B1	0,677	4,59 ppm	4,71 ppm
B2	0,689	4,69 ppm	
B3	0,691	4,70 ppm	
B4	0,711	4,87 ppm	
C1	1.119	8,24 ppm	8,35 ppm
C2	1.131	8,34 ppm	
C3	1.139	8,41 ppm	
C4	1.139	8,41 ppm	

5.2 Pembahasan

Saus merupakan bahan pelengkap untuk makanan yang bertekstur cairan kental yang pada umumnya berfungsi sebagai bahan penyedap dan penambah cita rasa masakan. Begitu banyak yang terjadi pada perkembangan saat ini di bidang industri makanan maupun minuman yang bertujuan untuk menarik perhatian para konsumen. Sehingga diperlukan bahan tambahan pangan seperti zat pewarna tambahan. Peredaran saus tomat yang beredar di pasar pasar tidak terawasi oleh lembaga Badan Pengawas Obat dan Makanan, sehingga banyak produk saus tomat yang beredar tidak diketahui apakah benar-benar aman untuk dikonsumsi. Saus tomat dengan harga murah seringkali ditambahkan dengan pewarna sintetik yang penggunaannya dilarang seperti Rhodamin-B (Rahmadhi,2021).

Pada riset analisis Rhodamin-B pada saus tomat yang menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Pemilihan saus tomat dikarenakan banyak jurnal penelitian yang menyebutkan bahwa saus tomat

mengandung senyawa Rhodamin, sedangkan Rhodamin-B sendiri termasuk bahan berbahaya menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor:472/Menkes/Per/V/1996, dikarenakan pada struktur Rhodamin-B terdapat klorin (senyawa halogen), sifat halogen yang artinya mudah bereaksi atau memiliki reaktivitas tinggi yang akan berusaha mencapai kestabilan dalam tubuh dengan berikatan dengan senyawa-senyawa dalam tubuh kita, kemudian pada akhirnya akan memicu kanker pada dalam tubuh manusia (Dewi Sri, 2013). Metode yang digunakan yaitu Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode pengujian Rhodamin-B yang dapat dilakukan dengan mudah dan murah. Spektrofotometri UV-Vis memiliki keunggulan antara lain dapat digunakan untuk menganalisis zat organik dan anorganik, selektif, mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif sebesar 1% – 3%, dapat dilakukan secara cepat dan tepat, hasil yang diperoleh cukup akurat serta dapat digunakan untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Elliawati, 2015).

Analisis Rhodamin-B yang pertama kali dilakukan yaitu penentuan kondisi optimum Spektrofotometri UV-Vis dengan cara merubah konsentrasi pelarut yang akan digunakan. Kondisi optimum Spektrofotometri UV-Vis untuk analisis Rhodamin-B yang terpilih yaitu menggunakan pelarut aquadest karena aquadest menghasilkan lamda maksimum yang paling tertinggi dibandingkan etanol PA dan HCl 0,1 N. Hal ini dikarenakan pelarut aquadest adalah pelarut aprotik yang artinya sangat polar sehingga dapat melarutkan Rhodamin-B dengan sempurna

sehingga terjadi interaksi antara molekul pelarut dan molekul Rhodamin-B yang mengakibatkan terjadinya perubahan daerah serapan energi cahaya oleh molekul Rhodamin-B. Menurut Khotimah dkk (2017) aquadest merupakan pelarut yang sangat baik karena berbagai senyawa organik netral yang memiliki gugus fungsional polar cepat larut. Etanol memiliki sifat senyawa polar dan mudah menguap. HCl memiliki sifat senyawa kovalen polar. Sifat dari Rhodamin-b yaitu bersifat polar maka pelarut yang dipilih juga bersifat polar dikarenakan Rhodamin-B memiliki gugus karboksil. Penggunaan pelarut yang bersifat polar ini agar dapat menyerap Rhodamin-B dengan baik. Kondisi terpilih dari Spektrofotometri Uv-Vis dilakukan untuk menentukan λ maksimal dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Penentuan panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis hal ini dikarenakan pada spektrofotometri UV-Vis dapat diperoleh serapan maksimum dengan daya serap yang relatif konstan sehingga diperoleh kurva kalibrasi yang linier (Harmita, 2014). Penentuan λ maksimal Rhodamin-B dilakukan pada konsentrasi 2 ppm dengan range panjang gelombang 400-800 nm. Pemilihan range panjang gelombang pada 400-800 nm dikarenakan larutan Rhodamin-B yaitu larutan yang berwarna dimana larutan warna ini berada pada serapan *visible* (Harmita, 2014).

Dilakukan pembuatan kurva baku lalu dibuat persamaan regresi linear yang menghasilkan $y = 0,121x + 0,1212$ dengan nilai koefisien korelasi 0,99. Kemudian dilakukan validasi metode analisis yang bertujuan untuk

memastikan bahwa metode yang digunakan sudah memenuhi syarat untuk aplikasi analisis dan dapat dipertanggung jawabkan (Cicik dkk, 2017). Parameter yang dilakukan saat validasi metode analisis meliputi uji linearitas, uji presisi dan uji akurasi.

Pada kondisi yang optimum dilakukan uji linearitas yang didasarkan pada konsentrasi zat yang akan di analisis menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis mempunyai hubungan yang linear atau tidak secara signifikan (Rohmah dkk, 2021). Hasil dari uji linearitas sebesar 0,99. Hasil nilai korelasi mendekati 1 yang artinya telah memenuhi persyaratan bahwa analisis Rhodamin-B menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis mempunyai linearitas yang baik.

Uji kesesuaian sistem berdasarkan pada presisi atau penentuan keseksamaan dimana keseksamaan diukur sebagai standar deviasi. Hasil dari uji kesesuaian memiliki standar deviasi 0,028 dengan %RSD (*Relative Standard Deviation*) atau simpangan baku relatif sebesar 0,63%. Dalam hal ini uji presisi telah memenuhi persyaratan dimana persyaratan presisi memiliki %RSD (*Relative Standard Deviation*) atau simpangan baku relatif $\leq 2\%$. Pada kondisi optimum dilakukan uji akurasi dimana didasarkan pada penentuan % perolehan kembali (*% recovery*). Hasil dari uji akurasi memiliki % perolehan kembali masuk pada rentang 80-110% dalam hal ini uji akurasi yang dilakukan telah memenuhi persyaratan dimana persyaratan % perolehan kembali (*%recovery*) pada rentang 80 - 110%.

Pada proses penyiapan larutan uji sampel ditambahkan pelarut HCl 4 M yang berfungsi untuk mendekstruksi atau menghancurkan senyawa yang terdapat di dalam sampel dan menstabilkan Rhodamin-B agar tidak berubah dari bentuk terionisasi menjadi netral. Penambahan natrium sulfat anhidrat untuk menjernihkan larutan sehingga sumber cahaya dari Spektrofotometri UV-Vis dapat menembus larutan dan dapat diterima oleh detektor (Rahmadhi, 2021).

Hasil penelitian yang dilakukan pada 3 merk saus tomat yang beredar di Pasar Sepanjang diberi tanda A, B dan C. Dari ke-3 sampel saus tomat yang beredar di Pasar Sepanjang semuanya positif mengandung Rhodamin-B. Sampel yang paling tinggi mengandung Rhodamin-B adalah sampel C dengan kadar sebesar 8,35 mg/L. Sampel A mengandung Rhodamin-B dengan kadar sebesar 4,90 mg/L dan kadar Rhodamin-B paling kecil yaitu pada sampel B yaitu sebesar 4,71 mg/L. Dalam hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh dimana sampel C memiliki warna yang merah merona sehingga mempunyai kadar lebih tinggi dan sampel B yang memiliki warna oranye yang mempunyai kadar paling kecil.

Kandungan Rhodamin-B pada sampel saus tomat yang ditemukan harus mendapatkan perhatian lebih bagi konsumen, khususnya yang beredar di Pasar Sepanjang. Rhodamin-B adalah pewarna sintetik yang berbahaya bagi tubuh manusia. Rhodamin-B dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernafasan, penyebab kanker (Karsinogenik) dan pada konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada hati (Arfina, 2012).

Jika ingin membeli saus tomat di pasar sebaiknya konsumen memilih saus tomat yang ber-BPOM dan tidak tergiur harga murah, sehingga dapat mengurangi adanya kandungan zat yang berbahaya pada saus tomat seperti zat warna tambahan Rhodamin-B. Menurut BPOM (2008) dan PERMENKES Nomor:239/Men.Kes/Per/V/85 bahwa Rhodamin-B dilarang penggunaannya karena sangat berbahaya untuk dikonsumsi serta tidak ada kadar ambang batas aman untuk dijadikan bahan tambahan pangan. Selain konsumen, penjualan saus tomat memerlukan perhatian khusus dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), karena Rhodamin-B merupakan zat yang dilarang penggunaannya namun masih ada oknum yang menggunakan Rhodamin-B sebagai zat warna tambahan.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Kondisi Optimum Spektrofotometri UV-Vis untuk analisis Rhodamin-B yaitu menggunakan pelarut aquadest.
2. Linearitas dengan nilai korelasi = 0,99 mendekati 1 bahwa memenuhi persyaratan. Presisi dengan nilai %RSD (*Relative Standard Deviation*) atau simpangan baku relatif sebesar 0,63% telah memenuhi persyaratan dimana persyaratan kesesuaian sistem memiliki %RSD (*Relative Standard Deviation*) $\leq 2\%$. Akurasi (*%recovery*) masuk pada rentang 80-110% yang artinya telah memenuhi persyaratan dimana persyaratan (*%recovery*) pada rentang 80 - 110%.
3. Validasi metode analisis dapat digunakan pada saus tomat yang beredar di Pasar Sepanjang menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.
4. Kandungan Rhodamin-B yang terdapat pada sampel saus tomat yang beredar di Pasar Sepanjang untuk sampel A sebesar 4,90 mg/L , sampel B sebesar 4,71 mg/L dan sampel C sebesar 8,35 mg/L dimana sampel C memiliki kadar Rhodamin-B yang paling tinggi dibandingkan dengan sampel A dan B.

6.2 Saran

1. Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan mencari LOD (batas deteksi) dan LOQ (batas kuantitasi) dengan pengujian antar laboratorium.
2. Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan mencari *robustness* dengan pengujian antar laboratorium.
3. Perlu dilakukan uji identifikasi kualitatif terhadap sampel untuk membedakan sampel secara kualitatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, Sani Pradasari. 2016. Validasi Metode Penetapan Kadar Asam Amino Hidroksiprolin Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- Agustin, A., & Sulistryarsi, A.U. 2016. Analisis Rhodamin B pada saus Tomat yang beredar di Kota Madiun dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Florea*, 03,(01).
- Alwi, Heriati. 2017. Validasi Metode Analisa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius L.*) secara Spektrofotometri Uv-Vis. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Amelia. R, Zairinayati. 2020. Analisis Keberadaan Rhodamin-B pada Saus Tomat Yang Beredar Di Pasar Kota Palembang. Palembang: *Jurnal Ruwa Jurai* Volume 14 No. 2, pp, 85-91.
- Amir, N dan Chanif Mahdi. 2017. Evaluasi penggunaan Rhodamin-B pada produk terasi yang dipasarkan di Kota Makassar. *Jurnal IPTEKS PSP*, Vol.4 (8) Oktober 17 : 128-133
- Anonim. 1985. *Permenkes RI No. 239/MenKes/Per/1985 tentang Zat Warna sebagai Bahan Berbahaya*. Departemen Kesehatan, Jakarta.
- AOAC. 2002. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanical. *AOAC Guidelines*. Pp. 5-25
- Arfina. 2012. Analisis Kandungan Rhodamin B Pada Kosmetik Perona Pipi Yang Beredar Di Pasar Tradisional Kota Makassar. Diterbitkan di Ejournal. *Skripsi*: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- Arikalang, Thesalonika Grinifh. Sri Sudewi. Johnli A Rorong. Manado. Optimasi dan Validasi Analisis dalam Penentuan Kandungan Total Fenolik pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot L.*) yang Diukur Dengan Spektrofotometri UV-Vis : *Jurnal Ilmiah Farmasi - UNSRAT* Vol. 7 No. 3 ISSN 2302 - 2493.

- Bhowmik D, K.P. Sampath K, Shrava P, Shweta S. Tomato-a natural medicine and its health benefits. *J Pharmacognosy and Phytochemistry*;2012:1:33-44.
- BPOM RI. 2013. *Bahan Tambahan Pangan yang Diizinkan Penggunaannya*. Edisi Pertama. Info POM Vol. 14 No. 2.
- Cicik, Herliana Y., Vika Ayu D., Hanny, Ferry. 2017. Validasi Metode Spektrofotometri untuk Penentuan Kadar Formaldehid pada Pembalut Wanita yang Beredar Di Pasaran. *Journal Ilmiah Pharmacy of Science*. Surabaya: Akademi Farmasi Surabaya, Universitas Airlangga. Vol. 2, No. 1, Hal. 9-16.
- Departemen Kesehatan RI. 2012. *Peraturan menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012 Mengenai Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta : Direktorat Jendral Pelayanan Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI (Depkes RI). 2014. *Farmakope Indonesia V*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal. 52-54, 1053-1054 dan 1669-1673.
- Dewi Sri, P. 2013. *Pengaruh Rodamine B Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histomorfometri Limpa*. Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro.
- Dian, Septiani. 2016. Kajian Kandungan Logam Berat Mangan (Mn) dan Nikel (Ni) pada Sedimen di Pesisir Teluk Lampung. *Analit : Analytical and Environment Chemistry*. E-ISSN 2540-8267. Volume 1, No 01.
- Febrina, G. A. A. R., Wiratmini, N. I., & Sudatri, N. W. 2013. Pengaruh Pemberian Rhodamin B Terhadap Siklus Estrus Mencit (Mus Musculus L.) Betina Effect Of Rhodamin B On Estrous Cycle In Female Mice (Mus Musculus L.) *jurnal Biologi*, 16(1), 21-23.
- Gandjar, G.I. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Gandjar, G.I. dan Rohman, A. 2012. *Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi*. Yogyakarta. : Pustaka Pelajar, hal 59-93 dan 468-490.

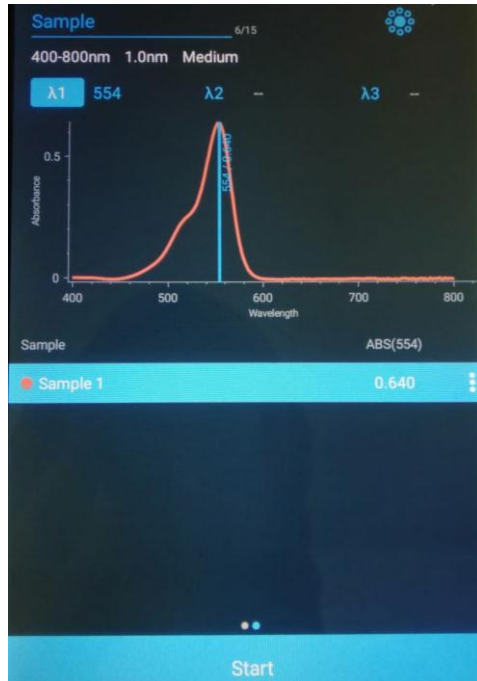
- Gandjar, G. I., dan Rohman, A. 2014. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Belajar. Yogyakarta.
- Giovani, M.B Longdong, Jemmy Abidjulu, Novel S. Kojong. 2017. *Analisis Zat Pewarna Rhodamin-B Pada Saos Bakso Tusuk Yang Beredar Di Sekitar Kampus Universitas Sam Ratulangi Manado*. Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT Vol. 6 No. 4 ISSN 2302-2493.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* Vol. 1 No. 3, pp. 117-135.
- Harmita. 2006. *Analisis Fisikokimia*. Jakarta : UI Press.
- Harmita. 2014. *Analisis Fisikokimia Kromatografi Volume 2*. Jakarta : ECG
- Hasibuan, Elliawati. 2015. Pengenalan Spektrofotometer pada Mahasiswa yang Melakukan Penelitian di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran USU. *Skripsi*. Medan: Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatra Utara.
- Helwandi, Ika Rizki. 2016. Vaidasi Metode Spektrofotometri UV-Vis Analisis Tiga Panjang Gelombang untuk Penetapan Kadar Tablet Prednison yang Mengandung Zat Pewarna. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Herdini, Cecilia Nova Wahyudiana. 2019. Analisis Rhodamin B Pada Sediaan Perona Mata yang diperoleh di Kabupaten Bekasi dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Sainstech Farma* Vol. 12 No. 2, 70-77.
- Hikma, Nur, Asnia Zainuddin, Lisnawaty. 2020. Analisis Zat Rhodamin B pada Saus Tomat yang Beredar di Kantin Kampus Universitas Halu Oleo Kendari Tahun 2019. *The Indonesian Journal Of Nutrition and Health* Vol.1 No.2 Hal. 45-49.
- International Conference on Harmonisation (ICH). 2005. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. *ICH Harmonised Tripartite Guidelines*, pp. 1-13.
- Kementrian Kesehatan RI. 2011. Pedoman Keamanna Pangan di Sekolah Dasar. Jakarta: Direktorat Bina Gizi Ditjen Bina Gizi dan Kesehatan ibu dan Anak.

- Khaldun, Ibnu. 2018. *Kimia Analisa Instrumen*. Banda Aceh: Syiah Kuala University Press Darussalam.
- Khotimah H, Anggraeni. E.W, dan Setianingsih A. 2017. *Karakterisasi Hasil Pengolahan Air Menggunakan Alat Destilasi*. *Jurnal Chemurgy* Volume 1 Nomor 2 Desember 2017 : 34 - 39.
- Khopkar, S. M. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta. UI Press 2010.
- Mamoto, L. V. Citraningtyas, F.G. 2013. Analisis Rhodamin-B pada Lipstik yang Beredar di Pasar Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, (2)2.
- N., Ozkantar, M., Soylak, M. T., Uzen, M.T., “Spectrophotometric detection of rhodamine B in tap water, lipstick, rouge and nail polish samples after supramolecular solvent microextraction,” *Turkish Journal of Chemistry*, vol 41, pp. 987-994, 2017.
- Nuraini. Analisis Zat Warna Sintetik Terlarang Untuk Makanan yang Beredar di Pasaran. *J Ilmu Kefarmasian*. 2016;4:7-25.
- Permenkes RI No. 33 tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan, (2012).
- Permenkes RI No. 239 tahun 1985 tentang Zat Warna Tertentu Yang Dinyatakan Sebagai Bahan Berbahaya, (1985).
- Pohanish, R. 2008. *Sittitg's handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens*. USA: Elsevier.
- Rahayu Muji dan Aisyah Wahyuningtyas. 2016. Identifikasi Zat Pewarna Rhodamin B Dan Methanyl Yellow Dalam Geplak Yang Beredar Di Beberapa Toko Oleh-Oleh Di Kota Yogyakarta Tahun 2016. *Jurnal Teknologi Laboratorium* Vol.5, pp. 12-15, ISSN: 2338-5634.
- Rahmadhi, Mohamad Afif. 2021. Analisis Rhodamin-B pada Saos yang Beredar di Sekitar STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi*. STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun.
- Riyanto. 2017. *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*. Jakarta. Deepublish. ISBN 978-Nomor ISBN.

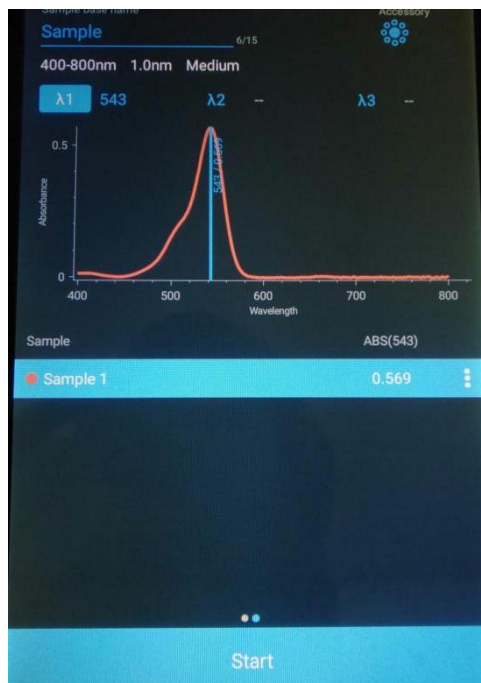
- Rohmah, Siti Awwalul Amanatur. Afidatul Muadifah. Rahma Diyan Martha. 2021. Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Sains Kes 2021 Vol 3 No. 2*
- Rohyami, Yuli, Hartiwi Putri Indah Ratri, Wihyarti. 2018. Validasi Metode Penentuan Rhodamin B dalam Contoh Saos secara Spektrofotometri UV-Vis dengan Dua Variasi Pelarut. *Indonesian Journal of Chemical Analysis*, Vol. 01, No 01, 2018, pp 20-28.
- Saputri, F.A, Bella Puteri Irinda, Rimadani Pratiwi. 2018. (Review) Analisis Rhodamin B dalam Makanan. *JSTFI Vol.VII*.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., and Crouch, S.R. 2007. *Principles of Instrumental Analysis Sixth Edition*. Canada: Thomson Corporation, pp. 367-390.
- SNI (Standar Nasional Indonesia). Cara Uji Bahan Pengawet Makanan dan Bahan Tambahan yang Dilarang untuk Makanan, Pusat Standarisasi Industri Departemen Perindustrian, 01-2894-1992.
- Suhartati. 2017. *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung : AURA.
- Winarti, A. T. 2019. Analisis Kadar Rhodamin-B Pada Saus Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Karya Tulis Ilmiah*. Stikes Bhakti Husada Mulia Madiun.
- Yahya, Sripatundita. 2013. *Spektrofotometri UV-Vis*. Jakarta.

Lampiran 1. Kondisi Optimalisasi Spektrofotometri UV-Vis

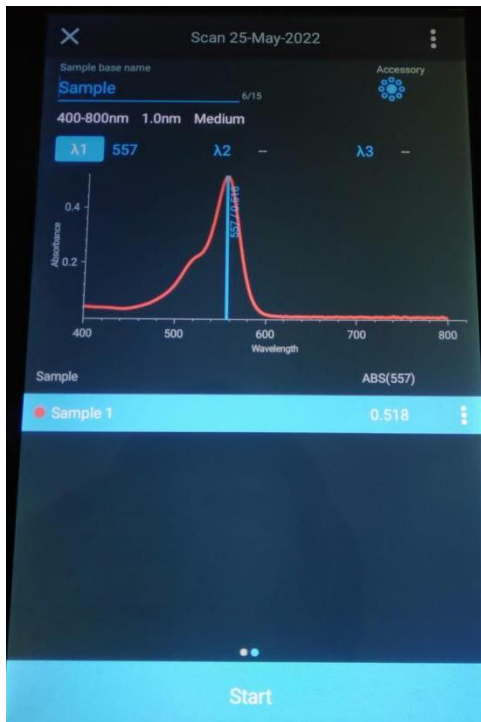
A. Pelarut Aquadest dengan absorbansi 0,640 λ maks 554



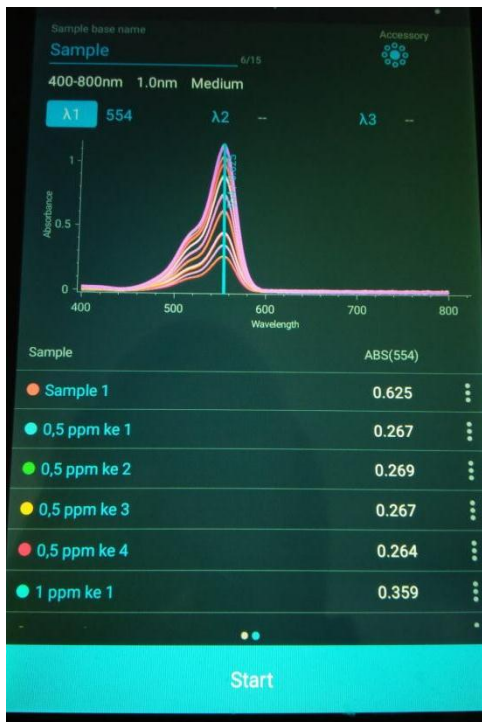
B. Pelarut Etanol PA dengan absorbansi 0,569 λ maks 543

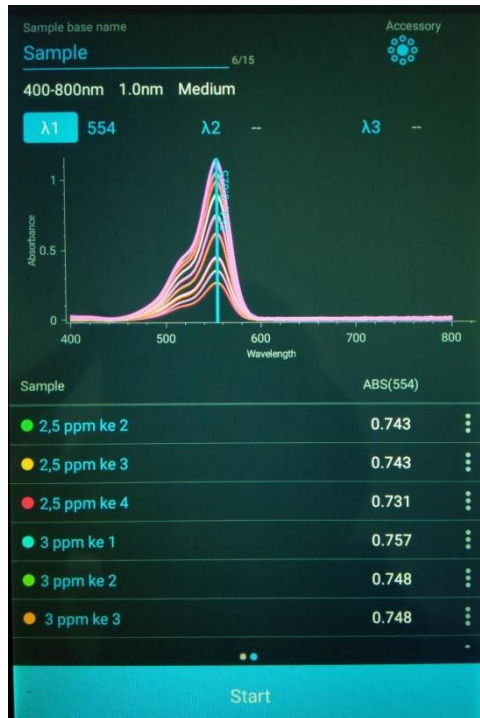
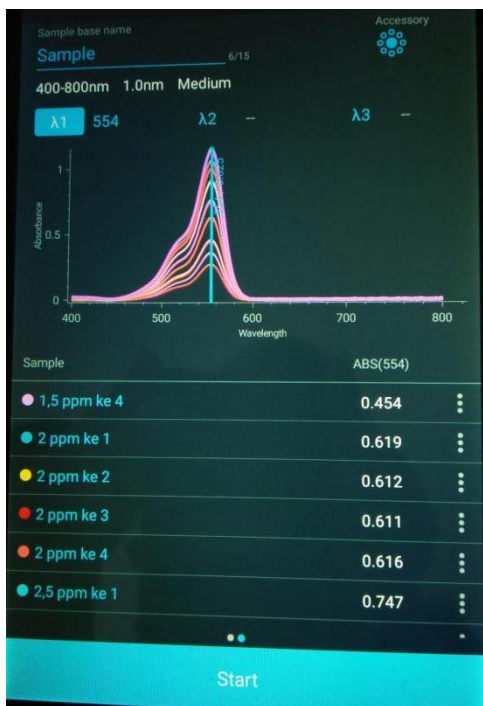


C. Pelarut HCl 0,1 N dengan absorbansi 0,518 λ maks 557

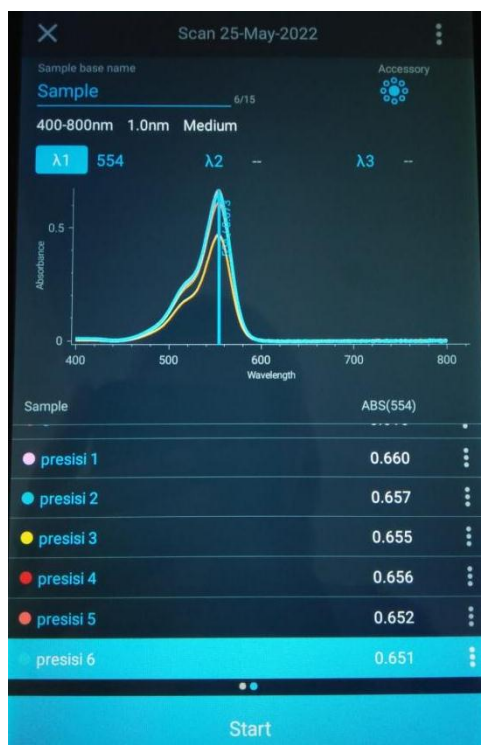


Lampiran 2. Baku Rhodamin-B

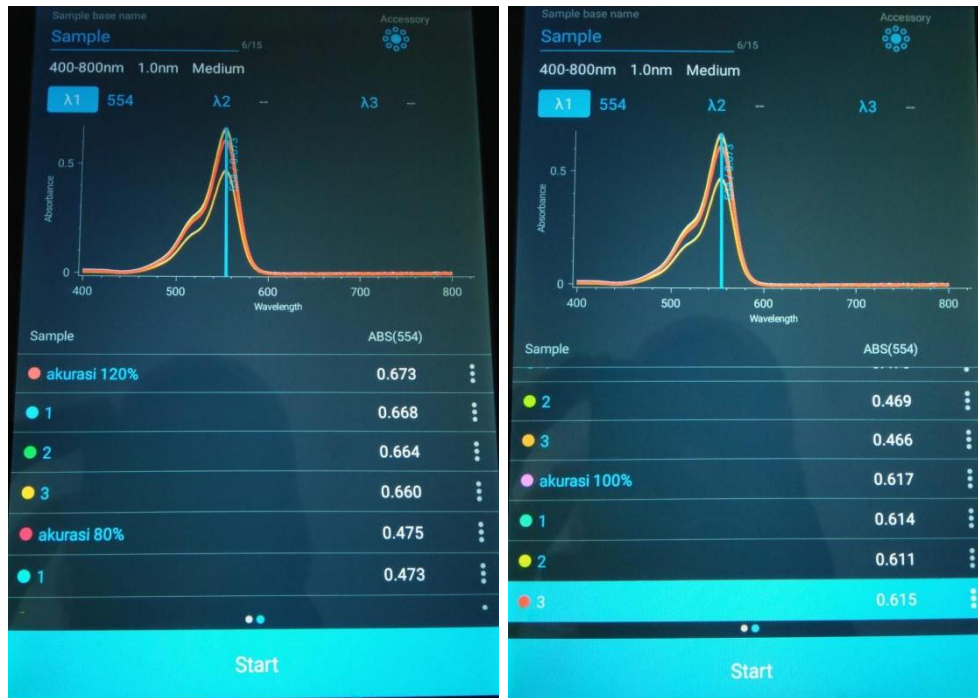




Lampiran 3. Presisi



Lampiran 4. Akurasi



Lampiran 5. Hasil Sampel



Lampiran 6. Sampel Saos Tomat



Lampiran 7. Perhitungan

A. Pembuatan larutan induk 1000 ppm sebanyak 10 mL

$$\text{ppm} = \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$
$$1000 = \frac{\text{mg}}{0,01}$$
$$\text{mg} = 10$$

B. Pembuatan HCl 0,1 N

Yang tersedia 37%

$$\text{HCl } 37\% = \frac{37 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$$

$$N = \frac{((10 \times \% \times \text{berat jenis}) \times \text{valensi})}{BM}$$
$$= \frac{((10 \times 37\% \times 1,19) \times 1)}{36,5}$$
$$= 12,06$$

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 12,06 = 50 \times 0,1$$

$$V2 = 0,41 \text{ mL ad } 50 \text{ mL aquadest}$$

C. Pembuatan HCl 4 M

Yang tersedia 37%

$$\text{HCl } 37\% = \frac{37 \text{ gram}}{100 \text{ mL}}$$

$$\text{Mol} = \frac{37}{36,5}$$

$$= 1,01$$

$$\text{M} = \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

$$= \frac{1,01}{0,1}$$

$$= 10,1$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10,1 = 10 \times 4$$

$$V_2 = 3,96 \text{ mL ad } 10 \text{ mL aquadest}$$

D. Perhitungan seri kadar pengenceran dari baku induk 1000 ppm ad 25 mL

1. Konsentrasi 0,5 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$25 \times 0,5 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$$

$$V_2 = 0,0125 \text{ mL} \rightarrow 12,5 \mu\text{L}$$

2. Konsentrasi 1 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$25 \times 1 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$$

$$V_2 = 0,025 \text{ mL} \rightarrow 25 \mu\text{L}$$

3. Konsentrasi 1,5 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$25 \times 1,5 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$$

$$V_2 = 0,0375 \text{ mL} \rightarrow 37,5 \mu\text{L}$$

4. Konsentrasi 2 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$25 \times 2 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$$

$$V_2 = 0,05 \text{ mL} \rightarrow 50 \mu\text{L}$$

5. Konsentrasi 2,5 ppm

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$25 \times 2,5 \text{ ppm} = V_2 \times 1000$$

$$V_2 = 0,0625 \text{ mL} \rightarrow 62,5 \mu\text{L}$$

E. Perhitungan presisi

$$y = 0,121x + 0,1212$$

1. $y = ax + b$

$$0,660 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,538 = 0,121x$$

$$x = 4,45 \text{ ppm}$$

2. $y = ax + b$

$$0,657 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,535 = 0,121x$$

$$x = 4,42 \text{ ppm}$$

3. $y = ax + b$

$$0,655 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,533 = 0,121x$$

$$x = 4,41 \text{ ppm}$$

4. $y = ax + b$

$$0,656 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,534 = 0,121x$$

$$x = 4,41 \text{ ppm}$$

5. $y = ax + b$

$$0,652 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,530 = 0,121x$$

$$x = 4,38 \text{ ppm}$$

6. $y = ax + b$

$$0,651 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,529 = 0,121x$$

$$x = 4,37 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ RSD} &= \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,028}{4,40} \times 100 \% \\ &= 0,36 \% \end{aligned}$$

F. Perhitungan akurasi

$$2 \text{ ppm} \times 80 \% = 1,6 \text{ ppm}$$

$$1. y = ax + b$$

$$0,475 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,353 = 0,121x$$

$$x = 2,92 \text{ ppm}$$

$$2. y = ax + b$$

$$0,473 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,351 = 0,121x$$

$$x = 2,90 \text{ ppm}$$

$$3. y = ax + b$$

$$0,469 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,347 = 0,121x$$

$$x = 2,87 \text{ ppm}$$

$$4. y = ax + b$$

$$0,466 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,344 = 0,121x$$

$$x = 2,84 \text{ ppm}$$

$$2 \text{ ppm} \times 100\% = 2 \text{ ppm}$$

$$1. y = ax + b$$

$$0,617 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,495 = 0,121x$$

$$x = 4,09 \text{ ppm}$$

$$2. y = ax + b$$

$$0,614 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,492 = 0,121x$$

$$x = 4,07 \text{ ppm}$$

$$3. y = ax + b$$

$$0,611 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,489 = 0,121x$$

$$x = 4,04 \text{ ppm}$$

$$4. y = ax + b$$

$$0,615 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,493 = 0,121x$$

$$x = 4,08 \text{ ppm}$$

$$2 \text{ ppm} \times 120\% = 2,4 \text{ ppm}$$

$$1. y = ax + b$$

$$0,673 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,551 = 0,121x$$

$$x = 4,56 \text{ ppm}$$

$$2. y = ax + b$$

$$0,668 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,546 = 0,121x$$

$$x = 4,51 \text{ ppm}$$

$$3. y = ax + b$$

$$0,664 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,542 = 0,1215x$$

$$x = 4,48 \text{ ppm}$$

$$4. y = ax + b$$

$$660 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,538 = 0,121x$$

$$x = 4,45 \text{ ppm}$$

Konsentrasi 1,6 ppm

$$\text{Replikasi 1} = \frac{2,90}{2,92} \times 100\%$$

$$= 99,3 \%$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{2,87}{2,92} \times 100\%$$

$$= 98,2 \%$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{2,84}{2,92} \times 100\%$$

$$= 97,2 \%$$

$$\text{Rata-rata} = 98,2 \%$$

Konsentrasi 2 ppm

$$\begin{aligned}\text{Replikasi 1} &= \frac{4,07}{4,09} \times 100\% \\ &= 99,5 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Replikasi 2} &= \frac{4,04}{4,09} \times 100\% \\ &= 98,7 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Replikasi 3} &= \frac{4,08}{4,09} \times 100\% \\ &= 99,7 \%\end{aligned}$$

Rata-rata = 99,3 %

Konsentrasi 2,4 ppm

$$\begin{aligned}\text{Replikasi 1} &= \frac{4,51}{4,56} \times 100\% \\ &= 98,9 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Replikasi 2} &= \frac{4,48}{4,56} \times 100\% \\ &= 98,2 \%\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Replikasi 3} &= \frac{4,45}{4,56} \times 100\% \\ &= 97,5 \%\end{aligned}$$

Rata-rata = 98,2 %

G. Perhitungan kadar Rhodamin-B pada sampel

Persamaan regresi linier $y = 0,121x + 0,1212$ dengan koefisien korelasi (r) 0,99

1. Sampel A1 , absorbansi 0,723

$$0,723 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,601 = 0,121x$$

$$x = 4,97 \text{ ppm}$$

2. Sampel A2 , absorbansi 0,672

$$0,672 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,550 = 0,121x$$

$$x = 4,55 \text{ ppm}$$

3. Sampel A3 , absorbansi 0,728

$$0,728 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,606 = 0,121x$$

$$x = 5,01 \text{ ppm}$$

4. Sampel A4 , absorbansi 0,738

$$0,738 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,616 = 0,121x$$

$$x = 5,09 \text{ ppm}$$

5. Sampel B1 , absorbansi 0,677

$$0,677 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,555 = 0,121x$$

$$x = 4,59 \text{ ppm}$$

6. Sampel B2 , absorbansi 0,689

$$0,689 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,567 = 0,121x$$

$$x = 4,69 \text{ ppm}$$

7. Sampel B3 , absorbansi 0,691

$$0,691 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,569 = 0,121x$$

$$x = 4,70 \text{ ppm}$$

8. Sampel B4 , absorbansi 0,711

$$0,711 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,589 = 0,121x$$

$$x = 4,87 \text{ ppm}$$

9. Sampel C1 , absorbansi 1.119

$$1.119 = 0,121x + 0,1212$$

$$0,997 = 0,121x$$

$$x = 8,24 \text{ ppm}$$

10. Sampel C2 , absorbansi 1.131

$$1.131 = 0,121x + 0,1212$$

$$1,00 = 0,121x$$

$$x = 8,34 \text{ ppm}$$

11. Sampel C3 , absorbansi 1.139

$$1.139 = 0,121x + 0,1212$$

$$1,01 = 0,121x$$

$$x = 8,41 \text{ ppm}$$

12. Sampel C4 , absorbansi 1.139

$$1.139 = 0,121x + 0,1212$$

$$1,01 = 0,121x$$

$$x = 8,41 \text{ ppm}$$

LABORATORIUM FARMASI

STIKES BHAKTI HUSADA MULIA MADIUN

Jl. Taman Praja No. 25 Kec. Taman Kota Madiun

Telp/Fax (0351) 491947

Nomor : 080/Lab.Far/BHM/VI/2022

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Farmasi Stikes Bhakti Husada Mulia Madiun menerangkan bahwa :


Nama : Ana Rois Fata Bimala
Nim : 201808005
Program studi : SI Farmasi

Telah Melakukan Penelitian Di laboratorium Farmasi Stikes Bhakti Husada Mulia Madiun Dengan Judul : “ Validasi Metode Analisis Rhodamin-B pada Saus Tomat yang beredar di Pasar Sepanjang Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS”.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Madiun, 27 Juni 2022

Mengetahui,
Kepala Laboratorium Farmasi



Apt. Yetti Hariningsih, M.Farm
NIS: 20170140

Ana Cek Plagiasi 3

ORIGINALITY REPORT

20%

SIMILARITY INDEX

19%

INTERNET SOURCES

7%

PUBLICATIONS

%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

ojs.udb.ac.id

Internet Source

4%

2

repository.stikes-kartrasa.ac.id

Internet Source

2%

3

www.scribd.com

Internet Source

2%

4

www.neliti.com

Internet Source

1%

5

repository.usd.ac.id

Internet Source

1%

6

ejournal.istn.ac.id

Internet Source

1%

7

jurnal.untan.ac.id

Internet Source

1%

8

jsk.farmasi.unmul.ac.id

Internet Source

1%

9

123dok.com

Internet Source

1%

10	adoc.pub Internet Source	1 %
11	repository.stikes-bhm.ac.id Internet Source	<1 %
12	www.teknolabjournal.com Internet Source	<1 %
13	ejurnal.poltekkes-tjk.ac.id Internet Source	<1 %
14	eprints.ukmc.ac.id Internet Source	<1 %
15	es.scribd.com Internet Source	<1 %
16	journal.uwgm.ac.id Internet Source	<1 %
17	repository.stikesbcm.ac.id Internet Source	<1 %
18	Eko Hidayaturrohman Khumaeni, Kristian Ubanayo, Yulia Maulidatul Karomah. "Identifikasi Zat Pewarna Makanan Rhodamin B Pada Jajanan Mie Lidi Di Sekolah Kecamatan Ajibarang Kabupaten Banyumas 2020", Jurnal Ilmiah JOPHUS : Journal Of Pharmacy UMUS, 2020 Publication	<1 %
19	media.neliti.com	

<1 %

20 repository.akfarsam.ac.id
Internet Source

<1 %

21 repository.unair.ac.id
Internet Source

<1 %

22 www.tatasbrotosudarmo.id
Internet Source

<1 %

23 Erma Yunita, Emil Nur Arifah, Valentina Febi Tamara. "Validasi Metode Penetapan Kadar Vitamin C Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) secara Spekteofotometri UV-Vis", PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia), 2019
Publication

<1 %

24 docobook.com
Internet Source

<1 %

25 St. Maryam, A. Muflihunna, Ulfa Sajadah. "ANALISIS PEWARNA RHODAMIN B DALAM SAUS TOMAT YANG BEREDAR DI KOTA MAKASSAR SECARA SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS", Jurnal Ilmiah As-Syifaa, 2014
Publication

<1 %

26 core.ac.uk
Internet Source

<1 %

docplayer.info

27

Internet Source

<1 %

28

repository.ub.ac.id

Internet Source

<1 %

29

text-id.123dok.com

Internet Source

<1 %

30

ejournal.unsrat.ac.id

Internet Source

<1 %

31

ojs.unik-kediri.ac.id

Internet Source

<1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches Off

Exclude bibliography Off