SKRIPSI

VALIDASI METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI PADA PENETAPAN RHODAMIN-B DALAM *LIP CREAM* YANG BEREDAR DI APLIKASI BELANJA *ONLINE*

OLEH :

ARDHYANA RIA WAHYUNINGTYAS
NIM : 201808008

PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES BHAKTI HUSADA MULIA MADIUN
2022

SKRIPSI

VALIDASI METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI PADA PENETAPAN RHODAMIN-B DALAM *LIP CREAM* YANG BEREDAR DI APLIKASI BELANJA *ONLINE*

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

OLEH :

ARDHYANA RIA WAHYUNINGTYAS
NIM : 201808008

PROGRAM 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 KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI PADA PENETEPAN RHODAMIN-B DALAM *LIP CREAM* YANG BEREDAR DI APLIKASI BELANJA *ONLINE*

Menyetujui, Pembimbing I	Menyetujui, Pembimbing II
Apt. Vevi Maritha, M. Farm	Apt. Yetti Hariningsih, M.Farm
NIS. 20150129	NIS. 20170140

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1

Apt. Vevi Maritha, M.Farm
NIS. 20150129

LEMBAR PENGESAHAN

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

Pada Tanggal 10 Juni 2022

Dewan Penguji

1. Tika Indrasari, M.Farm : .....
   (Dewan Penguji)
2. Apt. Vevi Maritha, M.Farm : .....
   (Penguji 1)
3. Apt. Yetti Hariningsih, M.Farm : .....
   (Penguji 2)

Mengesahkan
STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun
Ketua,

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

PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadirat Allah swt, atas semua berkat dan rahmat-Nya sehingga dapat terselesaikan Skripsi berjudul **"Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Pada Penetepan Rhodamin-B Dalam *Lip Cream* Yang Beredar Di Aplikasi Belanja *Online*"** sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai menyelesaikan pendidikan Sarjana Farmasi pada Program Studi S-1 Farmasi STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun.

Dalam penyusunan Skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan baik secara moral maupun material, karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Zaenal Abidin, S.KM., M.Kes (Epid) selaku Ketua STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun, yang telah memberikan kesempatandan bimbingannya untuk menyusun Skripsi ini.
2. Ibu Apt. Vevi Maritha, M.Farm selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi dan Pembimbing I sekaligus telah memberikan kesempatan untuk menyusun sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Ibu Apt. Yetti Hariningsih, M.Farm selaku Pembimbing II yang telah memberikan masukan untuk menyelesaikan Skripsi ini.
4. Ibu Tika Indrasari, M. Farm selaku dewan penguji yang telah memberikan masukan untuk menyelesaikan Skripsi ini.
5. Bapak Suhardi, S.Pd dan Ibu Sulastri, S.Pd selaku orang tua yang selalu memberikan dukungan baik secara moral maupun material selama proses penyusunan Skripsi ini.

6. Sahabat saya yaitu Desi, Risma, Sinta, Isonamia, dan Orin yang selalu memberi saran dan dukungan yang tak henti.
7. Sahabat sejak dari SMP yaitu Karina, Wanda, Riega, Dhilla, dan Hanif yang setiap saat memberikan semangat pada skripsi ini.
8. Rekan S1 Farmasi 2018 yang selalu memberikan semangat dan dukungan.
9. Kak Rofi'atul dan Kak Fadel yang selalu ada untuk memberi saran.
10. Orang-orang spesial yang secara tidak langsung telah membantu saya dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.

Saya sadar bahwa skripsi ini pasti ada kekurangan dan kelebihannya, sehingga saya memohon kepada pembaca untuk memberi kritik dan saran untuk membantu dalam memperbaiki kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Dan saya mohon maaf atas kesalahan dan ketidaksempurnaan tersebut karena kesempurnaan hanya milih Allah SWT.

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ardhyana Ria Wahyuningtyas

NIM : 201808008

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, 10 Juni 2022

Penulis,

Ardhyana Ria Wahyuningtyas
NIM : 201808008

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama	: Ardhyana Ria Wahyuningtyas	
Jenis Kelamin	: Perempuan	
Tempat dan Tanggal Lahir	: Madiun, 4 April 2000	
Agama	: Islam	
Alamat	: Desa Nglanduk RT 2 RW 1, Wungu, Madiun	
Email	: ardhyanaria0@gmail.com	
Riwayat Pendidikan	: 1) SDN Pilangbango	: 2006-2012
	2) SMP Negeri 1 Madiun	: 2012-2015
	3) SMA Negeri 3 Madiun	: 2015-2018
	4) STIKES BHM Madiun	: 2018-2022

Program Studi S1 Farmasi
STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun
2022

ABSTRAK

Ardhyana Ria Wahyuningtyas

VALIDASI METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI PADA PENETAPAN RHODAMIN-B DALAM LIP CREAM YANG BEREDAR DI APLIKASI BELANJA ONLINE

Lip cream merupakan sediaan lipstik berbentuk cair yang dapat melembabkan bibir dan waktu lama serta menghasilkan warna yang lebih merata pada bibir. Rhodamin B adalah zat warna merah sintetik sebagai pewarna tekstil dan dilarang penggunaannya. Meski telah dilarang, namun masih terdapat penyalahgunaan Rhodamin B sebagai pewarna kosmetik seperti pada *lip cream*. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui metode analisis yang telah dioptimasi sudah memenuhi persyaratan validasi dan mengetahui metode yang tervalidasi mampu diaplikasikan pada lip cream yang beredar di aplikasi belanja online.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun. Penelitian ini menggunakan sampel *lip cream* yang dijual di salah satu toko di aplikasi belanja *online*. Persyaratan validasi meliputi spesifitas, linieritas, presisi, akurasi, dan robustness. Penelitian dilakukan pada kondisi dengan panjang gelombang 554 nm, fase diam oktadesil silana (C18), laju alir 1 mL/menit, fase gerak methanol:air:methanol dengan perbandingan 47:6:47. Sampel diekstraksi kemudian disaring dan diinjeksikan pada kolom KCKT.

Hasil penelitian validasi metode untuk spesifitas dengan nilai wkatu retensi 2,070 menit, linieritas dengan nilai r 0,9896, nilai %RSD pada presisi 1,354719% < 2%, akurasi pada rentang 80-110%, dan robustness pada perubahan laju alir 0,9 mL/menit dengan nilai %RSD 1,305685% yang dinyatakan memenuhi syarat validasi metode. Kandungan Rhodamin B sebesar 2,366 mg/L.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah metode yang digunakan telah memenuhi persyaratan validasi. Konsumen disarankan untuk membeli lip cream melalui official store resminya. Penelitian berikutnya bisa dilanjutkan penetapan Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ) pada Rhodamin B.

Kata Kunci : Rhodamin B, lip cream, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), validasi metode

Pharmacy Study Program
STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun
2022

ABSTRACT

Ardhyana Ria Wahyuningtyas

VALIDATION OF HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHODS ON RHODAMIN-B DETERMINATION IN LIP CREAM ON ONLINE SHOPPING APPLICATIONS

Lip cream is a liquid lipstick preparation that can moisturize lips and last a long time more even color on the lips. Rhodamine B is a synthetic red dye as a textile dye and its use is prohibited. Although it has been banned, there is still abuse of Rhodamine B as a cosmetic dye such as in lip cream. The purpose of this study was to find out the optimized analytical method that met the validation requirements and to find out the validated method was able to be applied to lip cream circulating in online shopping applications.

This research is an experimental research conducted at the Integrated Chemistry Laboratory of STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun. This study uses lip cream that are sold in one store in an online. Validation requirements include specificity, linearity, precision, accuracy, and robustness. The study was conducted under conditions with a wavelength of 554 nm, octadecyl silane (C18) stationary phase, a flow rate of 1 mL/minute, and a mobile phase of methanol:water:methanol in a ratio of 47:6:47. The extracted sample was then filtered and injected into the HPLC column.

The results of the method validation research for specificity with a retention time value of 2.070 minutes, linearity with an r value of 0.9896, a %RSD value at a precision of 1.354719% < 2%, an accuracy in the range of 80-110%, and robustness at a change in flow rate of 0, 9 mL/minute with a %RSD value of 1.305685% which was declared to meet the requirements of method validation. Rhodamine B content is 2,366 mg/L.

The conclusion of this study is that the method used has met the validation requirements. Consumers are advised to buy lip cream through the official official store. The next research can continue to determine the Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantification (LOQ) on Rhodamine B.

Keywords : Rhodamine B, lip cream, High Performance Liquid Chromatography (HPLC), method validation

DAFTAR ISI

LEMBAR SAMPUL i
LEMBAR PERSETUJUAN ii
LEMBAR PENGESAHAN iii
PERSEMBAHAN iv
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN vi
DAFTAR RIWAYAT HIDUP vi
ABSTRAK viii
ABSTRACT ix
DAFTAR ISI x
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBAR xiii
DAFTAR LAMPIRAN xiv
KATA PENGANTAR xv
BAB I PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 4
C. Tujuan Penelitian 5
D. Manfaat Penelitian 5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 6
A. Kosmetik 6
B. *Lip Cream* 7
C. Rhodamin-B 10
D. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) 13
E. Validasi Metode 19
F. Uji identifikasi 21
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN 27
A. Kerangka Konseptual 27
B. Hipotesis Penelitian 28
BAB IV METODE PENELITIAN 29
A. Desain Penelitian 29
B. Populasi dan Sampel 29
C. Teknik Sampling 29

D. Kerangka Kerja Penelitian 30
E. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional 32
F. Instrumen Penelitian.....33
G. Lokasi dan Waktu Penelitian 34
H. Teknik Analisis Data 34
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN 35
A. Hasil Penelitian.....35
B. Pembahasan.....46
BAB VI PENUTUP 51
A. Kesimpulan 51
B. Saran 51
DAFTAR PUSTAKA 52
LAMPIRAN 56

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Parameter Validasi 21
Tabel 5.1 Spesifitas Baku Rhodamin-B.....35
Tabel 5.2 Linieritas Baku Rhodamin-B 37
Tabel 5.3 Presisi Baku Rhodamin-B.....38
Tabel 5.4 Akurasi Baku Rhodamin-B.....40
Tabel 5.5 Robustness Baku Rhodamin-B.....42
Tabel 5.6 Kadar Rhodamin-B Pada Sampel 44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Beberapa struktur kimia Rhodamin-B.....11
Gambar 5.1 Kromatogram Spesifitas Baku Rhodamin B 36
Gambar 5.2 Diagram Persamaan Kurva Baku 37
Gambar 5.3 Kromatogram Presisi Baku Rhodamin B 39
Gambar 5.4 Kromatogram Akurasi 80% Baku Rhodamin B.....40
Gambar 5.5 Kromatogram Akurasi 100% Baku Rhodamin B 41
Gambar 5.6 Kromatogram Akurasi 120% Baku Rhodamin B 41
Gambar 5.7 Kromatogram Robustness 0,9 ml/menit Baku Rhodamin 43
Gambar 5.8 Kromatogram Robustness 1 ml/menit Baku Rhodamin B 43
Gambar 5.9 Kromatogram Sampel 45
Gambar 5.10 Kromatogram Sampel 45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kromatogram Spesifitas Baku Rhodamin B 57

Lampiran 2. Kromatogram Linieritas Baku Rhodamin B 63

Lampiran 3.Kromatogram Presisi Baku Rhodamin B 68

Lampiran 4.Kromatogram Akurasi Baku Rhodamin B 74

Lampiran 5. Kromatogram Robustness Baku Rhodamin B 86

Lampiran 6. Kromatogram Sampel 92

Lampiran 7. Perhitungan 96

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul VALIDASI METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI PADA PENETAPAN RHODAMIN-B DALAM LIP CREAM YANG BEREDAR DI APLIKASI BELANJA ONLINE. 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, 10 Juni 2022

Penulis,

Ardhyana Ria Wahyuningtyas

NIM : 201808008

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kosmetika adalah sediaan yang digunakan pada permukaan tubuh manusia seperti rambut, kuku, bibir, epidermis, serta organ kelamin luar, lapisan terluar selaput lendir mulut atau gigi berfungsi sebagai pembersih, memperbaiki penampilan serta mewangikan, memberikan perlindungan dan memelihara tubuh agar selalu dalam kondisi baik (Permenkes RI, 2010). Pembagian kosmetik berdasarkan fungsinya untuk kulit terdiri dari kosmetik kosmetika rias (dekoratif atau make up) dan perawatan kulit (*skin care cosmetic*). Kosmetika rias (*make-up* atau dekoratif) berfungsi sebagai riasan diri sehingga dapat menutupi kekurangan pada kulit serta meningkatkan penampilan atau percaya diri (Tranggono dan Latifah, 2014).

Kosmetik jenis ini ada 2 kelompok, yaitu kosmetik perawatan kulit (*skin care cosmetic*) berfungsi dalam menjaga kebersihan agar kesehatan kulit tetap terjaga. Contoh kosmetik perawatan kulit antara lain cleanser yaitu kosmetik digunakan untuk membersihkan kulit, kosmetik untuk pelindung kulit, kosmetik untuk melembabkan yaitu mozturizer, serta kosmetik untuk menipiskan kulit (Tranggono dan Latifah, 2014).

Sedangkan kosmetika riasan (dekoratif) yang dapat bertahan lama untuk efeknya karena penggunaan lama dan mendalam, seperti penggunaan cat rambut, pemutih kulit, preparat rambut, dan lain sebagainya. Kosmetik riasan (dekoratif) yang hanya dapat memberikan hasil yang sementara pada

bagian luar tubuh seperti penggunaan pemerah pipi, bedak, lipstick dan lain-lain (Tranggono dan Latifah, 2014).

Lipstik adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk mewarnai bibir dengan sentuhan artistik sehingga dapat meningkatkan estetika dalam tata rias wajah, tetapi tidak boleh menyebabkan iritasi pada bibir. Salah satu sediaan lipstik yaitu *lip cream. Lip cream* merupakan sediaan lipstik berbentuk cair yang dapat melembabkan bibir dalam waktu yang lama dibandingkan dalam bentuk padat, serta menghasilkan warna yang lebih merata pada bibir. Hal ini disebabkan kadar minyak yang tinggi dalam *lip cream* dapat membantu melembabkan bibir (Asyifaa DA, *et al.*, 2017).

Pewarna pada lipstik dibagi menjadi dua berdasarkan sumbernya yaitu pewarna alami dan pewarna sintetis. Pewarna alami adalah zat warna (pigmen) yang diperoleh dari tumbuhan, hewan, atau dari sumber-sumber mineral. Zat warna ini sejak dahulu telah digunakan untuk pewarna makanan dan sampai sekarang penggunaanya secara umum di anggap lebih aman daripada zat warna sintetik. Sebagai contohnya zat warna hijau dari daun suji, zat warna merah dari buah naga dan zat warna orange dari pepaya. Pewarna sintetis diperoleh melalui reaksi antara dua atau lebih senyawa kimia contohnya Rhodamin-B (Tranggono dan Latifah, 2014).

Rhodamin B merupakan salah satu pewarna sintesis yang dilarang di Indonesia sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/Menkes/Per/IX/88 bahwa salah satu zat tambahan pewarna yang dilarang pada obat, kosmetik dan makanan adalah Rhodamin B, karena

dapat menyebabkan karsinogenik. Sifat karsinogenik pada Rhodamin B karena adanya senyawa anorganik yang terkontaminasi seperti logam timbal dan arsen. Selain itu Rhodamin B sangat mudah berikatan dengan ion klorin yang bersifat reaktif dan berbahaya (reaksi pengikatan ion ini disebut sintesis zat warna), karena adanya ikatan dengan ion klorin yang bersifat halogen. Rhodamin B termasuk dalam senyawa radikal yang apabila tertumpuk di dalam tubuh manusia akan memicu pertumbuhan kanker (karsinogenik). Hal ini yang menyebabkan Rhodamin B berbahaya adalah karena adanya ikatan konjugasi (yang menyebabkan Rhodamin B berwarna merah) (Hamdani, 2012).

Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) tahun 2011 metode analisis kandungan Rhodamin B dapat dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). KCKT merupakan sistem pemisahan komponen zat dalam sampel dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi karena memiliki kemajuan teknologi kolom sebagai fase diam, sistem pompa bertekanan tinggi, serta detektor yang sangat sensitif sehingga dapat menganalisis sampel, baik komponen tunggal maupun komponen campuran. Selain KCKT juga dapat digunakan spektrofotometri UV-Vis sebagai langkah awal penentuan panjang gelombang pada metode KCKT.

Analisis Rhodamin B dengan menggunakan KCKT memiliki selektifitas yang tinggi sehingga diperoleh hasil yang sesuai dan tepat. KCKT memiliki kelebihan daya pisah yang tinggi sehingga tidak akan

memberikan hasil negatif palsu dan dapat menganalisis senyawa dengan kadar yang kecil (Harmita, 2014).

Berdasarkan penelitian oleh Rofiatul (2021), analisis Rhodamin-B dalam *lip cream* dengan komposisi fase gerak yang optimum yaitu asetonitril:air:metanol perbandingan (47:7:47) dengan didasarkan pada laju alir 1 ml/menit, volume injeksi 20 µL, panjang gelombang 554 nm, fase diam kolom C18, suhu 25°C. Metode analisis Rhodamin-B menggunakan KCKT yang dilakukan oleh Rofi'atul Fauziyah, perlu dilakukan validasi metode.

Penulis melakukan validasi metode KCKT pada penetapan Rhodamin B dalam *lip cream* pada penelitian ini. Validasi metode perlu dilakukan guna memastikan metode KCKT telah memiliki metode yang optimal dan memiliki validitas yang baik sehingga hasil yang diperoleh dapat dipercaya dan dipertanggungjawabkan sehingga dapat digunakan untuk menetapkan Rhodamin B dalam *lip cream*.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil metode analisis yang telah dioptimasi dapat memenuhi persyaratan validasi? (Spesifitas, linieritas, presisi, akurasi, dan robustness)
2. Bagaimana metode yang tervalidasi dapat diaplikasikan pada *lip cream* yang beredar di aplikasi belanja online?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui metode analisis yang telah dioptimasi sudah memenuhi persyaratan validasi. (Spesifitas, linieritas, presisi, akurasi, dan robustness)
2. Mengetahui metode yang tervalidasi mampu diaplikasikan pada *lip cream* yang beredar di aplikasi belanja online.

D. Manfaat Penelitian

1. Diperoleh metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang tervalidasi.
2. Diperoleh kadar Rhodamin B dalam sediaan *lip cream* dengan menggunakan metode KCKT untuk validasi yang valid.
3. Diharapkan dapat digunakan untuk pengembangan penetapan kadar Rhodamin B dalam sediaan *lip cream* pada semua produk.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kosmetik

Kosmetik ialah sediaan yang digunakan pada permukaan tubuh manusia seperti rambut, kuku, bibir, epidermis, serta organ kelamin luar, lapisan terluar selaput lendir mulut atau gigi berfungsi sebagai pembersih, memperbaiki penampilan serta mewangikan, memberikan perlindungan dan memelihara tubuh agar selalu dalam kondisi baik (Permenkes, 2016).

Istilah kosmetik berasal dari kata Yunani yakni "kosmetikos" yang berarti "keahlian dalam menghias". Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 19 Tahun 2015 Tentang Persyaratan Teknis Kosmetika, dinyatakan bahwa definisi kosmetik adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ genital bagian luar), atau gigi dan membran mukosa mulut, terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan, dan/atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik (BPOM, 2015).

1. Kosmetik Dekoratif

Kosmetik dekoratif dapat menimbulkan efek psikologis yang baik untuk kesehatan yaitu timbulnya rasa percaya diri. Pada umumnya pemakaian kosmetika dekoratif bertujuan untuk menyembunyikan

kekurangan pada kulit atau ingin memberikan penampilan yang lebih cantik, lebih menarik kepada dunia luar (Pratiwi, 2011).

Persyaratan untuk kosmetik dekoratif antara lain adalah warna menarik, memiliki bau yang harum dan menyenangkan, tidak lengket, dan tidak erusak kulit, bibir, kuku, dan adeneksa lainnya. Kosmetik dekoratif dapat dibagi dalam dua golongan besar, yaitu :

a. Kosmetika dekoratif yang hanya menimbulkan efek pada permukaan dan pemakainnya sebentar, misalnya bedak, lipstik, perona pipi, eye shadow, dan lain-lain (Nurfinda, 2018).
b. Kosmetik dekoratif yang efeknya mendalam dan digunakan dalam waktu lama setelah itu akan meluntur, misalnya kosmetik pemutih kulit, cat rambut, dan preparat penghilang rambut (Nurfinda, 2018).

Kosmetika dekoratif hanya melekat pada alat tubuh yang dirias dan tidak bermaksud untuk memberikan suatu efek pengobatan. Bahan dasar kosmetika dekoratif adalah zat warna dengan pelengkap bahan penstabil atau emulgator dan parfum (Nurfinda, 2018).

B. *Lip Cream*

Lip cream (krim bibir) merupakan sediaan lipstik berbentuk cair yang banyak diminati oleh konsumen karena dapat melembabkan bibir dalam waktu lama dibandingkan dalam bentuk padat, serta menghasilkan warna yang lebih merata pada bibir. *Lip cream* (krim bibir) digunakan untuk meminyaki bibir agar tidak mudah kering dan pecah (Aasyifa *et al.*, 2017).

Persyaratan untuk pewarna bibir yang dituntut oleh masyarakat, antara lain melapisi bibir secara mencukupi, dapat bertahan di bibir selama mungkin, cukup melekat pada bibir tetapi tidak sampai lengket, tidak mengiritasi atau menimbulkan alergi pada bibir, melembabkan bibir dan tidak mengeringkannya, memberikan warna yang merata pada bibir, penampilan harus menarik baik warna maupun bentuknya, tidak meneteskan minyak permukaan mulus, tidak berbintik-bintik ataupun memperlihatkan hal-hal yang tidak menarik (Nuarti, 2020).

1. Komponen *Lip Cream*

Bahan-bahan utama pewarna bibir yang digunakan, antara lain :

a. Lilin

Lilin digunakan untuk meningkatkan daya lekat, mempengaruhi daya oles, dan daya sebar serta memiliki sifat sebagai emulsifier. Misalnya: carnauba wax, paraffin waxes, ozokerite, beeswax, candellihila wax, spermaceti, ceresine (Aasyifa *et al*, 2017).

b. Minyak

Minyak yang digunakan dalam pewarna bibir harus memberikan kelembutan dan kilauan. Fase minyak dalam pewarna bibir dipilih terutama berdasarkan kemampuannya melarutkan zat-zat warna eosin. Misalnya: minyak castor, tetrahydrofufuryl alkohol, *fatty acid* alkylolamides, dihydric alcohol beserta monoethers dan monofatty acid ester, isopropyl myristate, isopropyl palmite, butyl stearate, paraffin oil (Anggraini, 2019).

c. Lemak

Lemak yang digunakan adalah campuran lemak padat yang berfungsi untuk membentuk lapisan film pada bibir, memberi tekstur yang lembut. Misalnya: krim kakao, minyak tumbuhan yang sudah dihidrogenasi (misalnya *hydrogenates castor oil*), *cetyl alcohol*, *oleyl alcohol*, lanolin (Anggraini, 2019).

d. Zat-zat pewarna (*coloring agents*)

Zat pewarna yang dipakai secara universal didalam pewarna bibir adalah zat warna eosin yang memenuhi dua persyaratan sebagai zat warna bibir, yaitu kelekatan pada kulit dan kelarutannya dalam minyak. Pelarut terbaik untuk eosin adalah castor oil. Tetapi *furfury alcohol* beserta ester-esternya, terutama stearat dan ricinoleat, memiliki daya melarutkan eosin yang lebih besar. *Fatty acid alkylolamides*, jika dipakai sebagai pelarut eosin, akan memberikan warna yang sangat intensif pada bibir (Farima, 2009).

e. Zat tambahan

Zat tambahan dalam pewarna bibir digunakan untuk menutupi kekurangan yang ada tetapi dengan syarat zat tersebut harus inert, tidak toksik, tidak menimbulkan alergi, stabil dan bercampur dengan bahan-bahan lain dalam formula.

Zat tambahan yang biasa digunakan dalam pewarna bibir antara lain (Anggraini, 2019) :

1) Antioksidan

   Antioksidan digunakan untuk melindungi minyak dan bahan tak jenuh lain yang rawan terhadap reaksi oksidasi. BHA, BHT, dan vitamin E adalah antioksidan yang paling sering digunakan.

2) Pengawet

   Pengawet yang sering digunakan pada pewarna bibir yaitu metil paraben dan propil paraben.

3) Parfum

   Parfum digunakan untuk memberikan aroma yang menyenangkan, menutupi bau dari lemak yang digunakan sebagai basis dan dapat menutupi bau yang mungkin timbul selama penyimpanan. Misalnya: minyak esensial mawar, lemon, cinnamon atau jeruk.

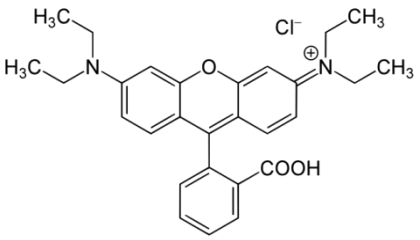
C. Rhodamin-B

1. Definisi Rhodamin-B

Rhodamin B adalah zat warna sintesis, dalam bentuk serbuk kristal, tidak berbau, berwarna merah keunguan, didalam larutan akan berwarna merah terang berpencar (berfluoresensi). Bahan aktif berbahaya ini yang dilaporkan dapat menimbulkan berbagai reaksi negatif terhadap kulit dan membahayakan kesehatan dalam jangka panjang. Reaksi

negatif yang ditimbulkan oleh bahan berbahaya yang terkandung dalam kosmetik beragam, seperti iritasi ringan hingga berat. (Hayat & Nursakinah, 2015).

Rhodamin B termasuk salah satu zat warna yang digunakan pada industri kertas dan tekstil. Rhodamin B menyebabkan iritasi serta memberikan efek buruk pada bibir jika digunakan sebagai pewarna lipstik. Hasil investigasi Badan Pengawasan Obat Dan Makanan (BPOM) tahun 2014, ditemukan 9.817 produk kosmetik yang tidak memenuhi ketentuan yaitu mengedarkan produk tanpa ijin edar dan mengedarkan produk dengan bahan yang berbahaya atau dilarang, salah satu produknya adalah zat pewarna Rhodamin B. (Nur Khamid & Dessy, 2019).



Gambar 2.1 Struktur kimia Rhodamin-B (Maharani, 2014)

Rumus molekul dari Rhodamin-B adalah $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$dengan berat molekul sebesar 479,02 g/mol, bersifat sangat larut dalam air yang akan menghasilkan warna merah kebiru-biruan dan berfluoresensi kuat. Selain itu, Rhodamin B memiliki kelarutan besar dalam etanol, apabila dilarutkan dalam asam encer dan larutan alkali makan. Rhodamin B bersifat sukar larut, namun bersifat larut apabila dilarutkan dalam larutan asam kuat. Pada larutan asam kuat yang dilarutkan Rhodamin B

akan membentuk warna merah muda karena adana pembentukan senyawa dengan kompleks antimoni yang antinya larut dalam isopil eter (Amir dkk, 2017).

2. Efek Rhodamin-B

Penggunaan Rhodamin-B tentunya berbahaya bagi kesehatan. Penumpukkan Rhodamin-B dilemak dalam jangka waktu yang lama jumlahnya terus menerus bertambah di dalam tubuh dan dapat menimbulkan kerusakan pada organ tubuh sampai mengakibatkan kematian (Valda & Fatimawali, 2013).

Rhodamin B mengandung senyawa klorin (Cl). Senyawa klorin merupakan senyawa yang berbahaya dan reaktif (cenderung bereaksi terhadap sesuatu yang timbul). Jika tertelan, maka senyawa ini akan berusaha mencapai kestabilan dalam tubuh dengan cara mengikat senyawa lain dalam tubuh, hal inilah yang bersifat racun bagi tubuh. Selain itu, Rhodamin B juga memiliki senyawa pengalkilasi (CH3-CH3) yang bersifat radikal sehingga dapat berikatan dengan protein, lemak, dan DNA dalam tubuh (Situmorang dan Silitonga, 2015).

Paparan dari Rhodamin-B dapat menyebabkan iritasi bila terkena mata, iritasi kulit dan kemerahan bila terkena kulit. Sifat ini hampir mirip dengan sifat dari Klorin yang berkaitan di dalam struktur Rhodamin-B. Dalam struktur Rhodamin-B mengandung klorin (senyawa halogen), sifat halogen adalah mudah bereaksi atau memiliki reaktivitas yang tinggi maka dengan demikian senyawa tersebut karena merupakan senyawa yang radikal akan berusaha mencapai kestabilan

dalam tubuh dengan berikatan dengan senyawa-senyawa dalam tubuh sehingga akan memicu kanker pada manusia (Dewi Sri, 2013).

Rhodamin B dapat mengiritasi saluran pernafasan dan juga bersifat karsinogenik atau memicu pertumbuhan sel kanker jika digunakan terus menerus. Penumpukan Rhodamin B dalam hati akan menyebabkan gangguan fungsi hati berupa kanker hati dan tumor hati (Afriyeni & Utari, 2018). Bahaya akibat Rhodamin B akan muncul jika zat warna ini dikonsumsi dalam jangka panjang. Rhodamin B juga dapat menimbulkan efek akut jika tertelan sebanyak 500 mg/kgBB. Efek toksik yang mungkin terjadi adalah iritasi pada saluran pencernaan (Deflora, 2018).

D. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

1. Pengertian Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi merupakan salah satu metode analisis untuk pemisahan suatu campuran senyawa kimia. Pemisahan pada sistem KCKT terjadi akibat adanya interaksi antara zat analit dengan fase diam dan fase gerak yang kemudian akan menghasilkan perbedaan waktu migrasi dari zat analit. Ada dua jenis KCKT dalam analisis, yaitu KCKT fase normal dan KCKT fase terbalik. KCKT fase normal menggunakan fase diam bersifat lebih polar daripada fase geraknya sedangkan KCKT fase terbalik menggunakan fase diam bersifat lebih non polar dari pada fase geraknya (Snyder *et al*., 2010).

Fase gerak yang digunakan harus bersih tidak berinteraksi dengan analit dan tidak toksik, fase gerak biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur dan berpengaruh pada daya elusi dan resolusi. pada KCKT, daya elusi dan resolusi ditentukan oleh polaritas seluruh pelarut polaritas fase diam dan sifat komponen sampel. komposisi fase gerak akan mempengaruhi pemisahan dan waktu retensi analit. Sebelum digunakan, fase gerak harus disaring terlebih dahulu untuk menghilangkan partikel-partikel kecil titik. Adanya gas dalam fase gerak juga harus dihilangkan, karena gas akan mengganggu analisis, terutama mengacuhkan bagian pompa dan detektor (Rohman, 2009).

Kegunaan umum KCKT adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis; analisis ketidak murnian (impurities); analisis senyawa-senyawa tidak mudah menguap (non-volatil); pemisahan senyawa-senyawa dalam jumlah sekelumit, dalam jumlah banyak, dan dalam skala proses industri. KCKT merupakan metode yang dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. Penggunaan kromatografi cair secara sukses terhadap suatu masalah yang dihadapi membutuhkan penggabungan secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, suhu kolom, dan ukuran sampel (Gandjar dan Rohman, 2007).

Keuntungan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi antara lain: Waktu analisis cepat, waktu yang diperlukan biasanya kurang dari satu

jam, sering kali hanya 15-30 menit, daya pisah baik, pemilihan kolom dan eluen sangat bervariasi, kolom dapat dipakai kembali, dapat digunakan untuk menganalisis molekul besar dan kecil, dapat digunakan untuk menghitung sampel dengan kadar yang sangat rendah. Hal ini dikarenakan detektor KCKT dapat mendeteksi zat sampai dengan kadar ppt (*part per trillion*) (Harmita, 2014).

2. Cara Kerja KCKT

Kromatografi merupakan teknik yang mana solut atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solute-solut ini diatur oleh distribusi dalam fase gerak dan fase diam. Penggunaan kromatografi cair membutuhkan penggabungan secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom, dan ukuran sampel (Gandjar dan Rohman, 2007).

3. Komponen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

a. Pompa (*Pump*)

Fase gerak dalam KCKT adalah suatu cairan yang bergerak melalui kolom. Ada dua tipe pompa yang digunakan, yaitu tekanan tetap *(constant pressure)* dan pendesakan tetap *(constan displacement).* Pompa tekanan tetap dibagi menjadi dua yaitu tekanan langsung dan tekanan tetap menengah. Pada tekanan langsung gas bertekanan tinggi didesak ke dalam bagian atas

pompa, sehingga mendesak eluen dalam tabung ke atas. Pompa pendesakan tetap dapat dibagi menjadi dua yaitu pompa bolak-balik (*reciprocating pump*) dan pompa pendesakan tunggal (pompa syringe). Pada pompa pendesakan tunggal dapat menghasilkan aliran pelarut yang seragam melalui kolom dan ke detektor yang menghasilkan noise terendah pada detektor yang peka terhadap aliran. Selain itu pompa dapat dengan mudah digunakan pada system gradien (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Injektor (*injector*)

Sampel yang akan dimasukkan ke bagian ujung kolom, harus dengan disturbansi yang minimun dari material kolom. Ada dua model umum:

1) *Stopped flow*
2) *Solvent flowing*

Ada tiga tipe dasar injector yang dapat digunakan :

1) *Stop-flow* aliran dihentikan, injeksi dilakukan pada kinerja atmosfir, sistem tertutup, dan aliran dilanjutkan lagi. Teknik ini biasa digunakan karena difusi di dalam cairan kecil resolusi tidak dipengaruhi.
2) Septum-septum yang digunakan pada KCKT sama dengan yang digunakan pada kromatografi Gas. Injector ini dapat digunakan pada kinerja 60-70 atmosfir.

3) *Loop valve* umumnya digunakan pada volume yang lebih besar dari 10µl dan dilakukan dengan cara automatis (dengan menggunakan adaptor yang sesuai, volume yang lebih kecil dapat diinjeksikan secara manual). Pada posisi LOAD sampel diisi kedalam loop pada kinerja atmosfir, bila VALVE difungsikan maka sampel akan masuk ke dalam kolom (Gandjar dan Rohman, 2007).

c. Kolom (*column*)

Kolom pada KCKT merupakan bagian yang sangat penting, sebab pemisahan komponen-komponen sampel akan terjadi didalam kolom. Kolom KCKT dibuat dalam bentuk lurus

1) Kolom analitik : Diameter dalam 2-6mm. Panjang kolom tergantung pada jenis material pengisi kolom. Untuk kemasan pellicular, Panjang yang digunakan adalah 50-100 cm. untuk kemasan poros mikropartikulat 10-30cm
2) Kolom preparatif umumnya memiliki diameter 6mm atau lebih besar dan Panjang kolom 25-100 cm

Kolom umumnya dibuat dari stainlesteel, dengan bentuk lurus dan biasanya dioperasikan pada temperatur kamar. Kolom dapat dipanaskan agar dihasilkan pemisahan yang lebih efesien, akan tetapi suhu di atas 60°C jarang digunakan, karena dapat menyebabkan terjadi penguraian fase diam ataupun penguapan fase gerak pada suhu yang lebih tinggi tersebut. Pengepakan kolom

tergantung pada model KCKT yang digunakan (*Liquid Solid Chromatography*, LSC; *Liquid Liquid Chromatography*, LLC; *Ion Exchange Chromatography*, IEC, *Exclution Chromatography*, EC) (Wawan, 2014).

d. Detektor (*detector*)

Suatu *detector* dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen sampel didalam kolom (analisis kualitatif) dan menghitung kadarnya (analisis kuantitatif). Detektor yang baik memiliki sensitivitas yang tinggi, gangguan untuk semua tipe senyawa. Suatu kepekaan yang rendah terhadap aliran dan fluktuasi temperature sangat diinginkan, tetapi tidak selalu dapat diperoleh (Wawan, 2014).

Detector KCKT yang umum digunakan adalah detector UV 254 nm, variabel Panjang gelombang dapat digunakan untuk mendeteksi banyak senyawa dengan range yang lebih luas. Detector indeks refraksi juga digunakan secara luas terutama pada kromatografi eksklusi, tetapi umumnya kurang sensitive jika dibandingkan dengan detector UV. Detektor-detektor lainnya antara lain (Gandjar dan Rohman, 2007) :

1) *Detector* Fluorometer – Detektor Spektrofotometer Massa
2) *Detector* ionisasi nyala – Detektor Reaksi Indeks
3) *Detector* elektrokimia – Detektor Reaksi Kimia

4. Fase Normal dan Fase Terbalik

Pada masa awal, penggunaan kromatografi cair menggunakan fase diam yang sangat polar seperti air atau trietilenglikol yang terikat pada partikel silica atau alumina, fase gerak adalah pelarut yang relative kurang polar seperti heksan atau iso propil eter. Tipe kromatografi ini dikenal sebagai kromatografi fase normal (Lestyo, 2011).

Pada kromatografi fase terbalik, fase diam adalah senyawa non polar (hidrokarbon) dan fase gerak pelarut yang relative lebih polar seperti air, metanol atau asetonitril. Pada kromatografi fase normal, senyawa yang kurang polar dielusi fase gerak. Peningkatan kepolaran fase gerak dapat memperpendek waktu elusi. Sebaliknya, pada kromatografi fase terbalik senyawa-senyawa polar akan terelusi lebih awal dan peningkatan kepolaran fase gerak akan memperbesar waktu elusi (Lestyo, 2011).

E. Validasi Metode

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Validasi metode analisis bertujuan untuk mengkonfirmasi bahwa metode analisis tersebut dapat sesuai untuk peruntukannya (Gandjar dan Rohman, 2014). Validasi metode analisis juga merupakan proses yang dilakukan melalui percobaan laboratorium dimana karakteristik dari suatu prosedur memenuhi persyaratan untuk aplikasi analisis (USP XXXVII,

2014). Validasi metode merupakan proses untuk memastikan bahwa prosedur yang memenuhi standar reliabilitas, akurasi, presisi sesuai tujuan yang diharapkan (Ahuja dan Dong, 2005). Validasi metode analisis adalah suatu tindakan parameter tertentu, bersasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan dalam penggunaannya (Harmita, 2014).

Menurut USP XXXVII tahun 2014, metode analisis diklasifikasikan dalam 3 kategori, yaitu:

1. Kategori I

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

2. Kategori II

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

3. Kategori III

   Metode analisis yang digunakan untuk penetapan kinerja dan kualitas sediaan obat jadi, seperti uji disolusi dan uji pelepasan obat.

4. Kategori IV

   Metode analisis ini digunakan untuk uji identifikasi.

Tabel 2.1 ParameterValidasi

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

Sumber : (Depkes RI, 2014)

*Mungkin dipesyaratkan tergantung pada sifat khusus dari uji

F. Uji identifikasi

Prosedur analisis yang harus divalidasi meliputi beberapa jenis pengujian, yaitu adanya pengotor, uji limit untuk mengendalikan keberadaan pengotor, serta uji kuantitatif komponen aktif atau komponen lain dalam produk obat – obatan. Selain itu, terdapat 8 parameter validasi metode analisis yaitu spesifitas, presisi atau ketelitian, akurasi atau ketepatan, linieritas, kisaran, limit deteksi, limit kuantitas dan ketangguhan. Pemilihan parameter yang akan diuji tergantung dari jenis dan metode pengujian yang akan divalidasi (Firdausa, 2018).

Parameter ini berkaitan dengan sejauh mana zat lain mengganggu identifikasi atau analisis kuantifikasi analit. Ukuran dari kemampuan metode untuk mengidentifikasi atau mengukur analit. Kehadiran zat lain baik endogen maupun eksogen, dalam sampel matriks dibawah kondisi yang dinyatakan metode ini. Kekhusussan ditentukan dengan menambahakan bahan-bahan yang mungkin dihadapi didalam sampel. Misalnya, tes spesifitas metode imunologi untuk specimen biologi dapat berpotensi zat bereaksi mengganggu zat yang dapat menghambat atau menutupi warna

reaksi; metode kromatografi untuk penentuan konsentrasi obat penyalahgunaan dalam sampel klinis harus bebas dari gangguan dari yang diharapkan bersamaan diberikan obat terapi. Spesifitas adalah tergantung konsentrasi dan harus ditentukan pada akhir rendah dari kisaran kalibrasi. Untuk memenuhi tujuan metode dan memastikan bahwa efek dari kotoran, zat bereaksi silang, yang mungkin ada dalam matriks diketahui (Riyanto, 2014).

1. Spesifitas

Spesifitas merupakan kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dengan adanya komponen – komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks (USP XXXVII, 2014). Dalam teknik kromatografi, selektivitas dapat dibuktikan dengan pemisahan yang baik antara analit dengan kompinen yang lain. Bukti dari persyaratan ini didapatkan resolusi analit dari komponen lain lebih besar dari 1,5-2,0. Untuk mengetahui adanya koelusi dari substansi yang lain, kemurnian peak analit juga dapat ditentukan. Pada KCKT, kemurnian peak dapat dievaluasi dengan spectra tiga dimensi menggunakan PDA, atau bisa juga menggunakan MS. Prektra peak analit diukur pada upslope, apex slope, dan downslope, atau prektrum secara keseluruhan dari peak kropmatogram dapat dibandingkan. Hal ini dapat dilakukan pada sistem KCKT yang dilengkapi dengan detector PDA. Jika nilai kemurnian antara 0,000 – 0,8900, itu menunjukan tidak murni, jika nilai kemurnian

antara 0,9000-0,95000 berarti peak terkontaminasi. Untuk penentuan indentitas peak, dapat dilakukan dengan membandingkan data spectra keseluruhan dari standard an analit, dan nilai r atau MF (Match Factor) dihitung menggunakan software HPLC dengan PDA (Yuwono dan Indrayanto, 2005).

2. Presisi

Presisi adalah ukuran kedekatan hasil analisis diperoleh dari serangkaian pengukuran ulangan dari ukuran yang sama. Hal ini mencerminkan kesalahan acak yang terjadi dalam sebuah metode. Presisi biasanya diukur sebagai koefisien variasi atau deviasi standar relative dari hasil analisis yang diperoleh dari independen disiapkan standar control kualitas (Riyanto, 2014).

Penentuan presisi dapat dibagi menjadi tiga kategori yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), dan ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan merupakan ketepatan yang ditentukan pada laboratorium yang sama oleh satu analis serta menggunakan peralatan dan dilakukan pada hari yang sama. Presisi antara merupakan ketepatan pada kondisi percobaan pada laboratorium yang sama oleh analis, peralatan, reagen, dan kolom yang berbeda. Ketertiruan mempresentasikan presisi hasil yang dapat dilakukan pada tempat percobaan yang lain dengan tujuan untuk memverifikasi bahwa metode akan menghasilkan hasil yang sama pada fasilitas tempat yang berbeda (Zaheer, 2011).

3. Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menujukan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kecermatan hasil analis sangat tergantung dengan sebaran galat sistematik di dalam keseluruhan tahapan analisis (Gandjar dan Rohman, 2014).

Akurasi merupakan ketepatan metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnaya, atau nilai rujukan. Untuk pengujian senyawa obat, akurasi diperbolehkan dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar (Gandjar dan Rohman, 2014). Terdapat tiga cara yang dapat digunakan untuk menentukan akurasi suatu metode analisis yaitu:

a. Membandingkan hasil analisis dengan CRM (*certified refrence material*) dari organisasi internasional.
b. Uji perolehan kembali atau perolehan kembali dengan memasukkan analit ke dalam matriks blanko (*spoked placebo*).
c. Penambahan baku pada matriks sampel yang mengandung analit (*standard addition method*) (Gandjar dan Rohman, 2014).

4. Linieritas

Linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit yang terdapat pada sampel pada kisaran konsentrasi tertentu. Sedangkan rentang metode pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang

sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan dan linieritas yang dapat diterima. Rentang dapat dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi dari beberapa set larutan standart yang telah diketahui konsentrasinya (Gandjar dan Rohman, 2014).

Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda – beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Gandjar dan Rohman, 2014).

Linieritas dapat dilihat melalui kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara respon dengan konsentrasi analit pada beberapa seri larutan baku. Dari kurva kalibrasi ini kemudian akan ditemukan regresi linearnya yang berupa persamaan y=bx+a, dimana x adalah konsentrasi, y adalah respon, a adalah intersep y yang sebenarnya dan b adalah slope yang sebenarnya. Tujuan dari dibuatnya regresi ini adalah untuk menentukan estimasi terbaik untuk slope dan intersep y sehingga akan mengurangi residual error, yaitu perbedaan nilai hasil percobaan dengan nilai yang diprediksi melalui persamaan regresi linear (Gandjar dan Rohman, 2014).

Sebagai parameter adanya hubungan linear digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linear. Hubungan linear yang ideal dicapai jika nilai b adalah 0 dan r adalah +1 atau -1 tergantung arah garis (Harmita, 2004).

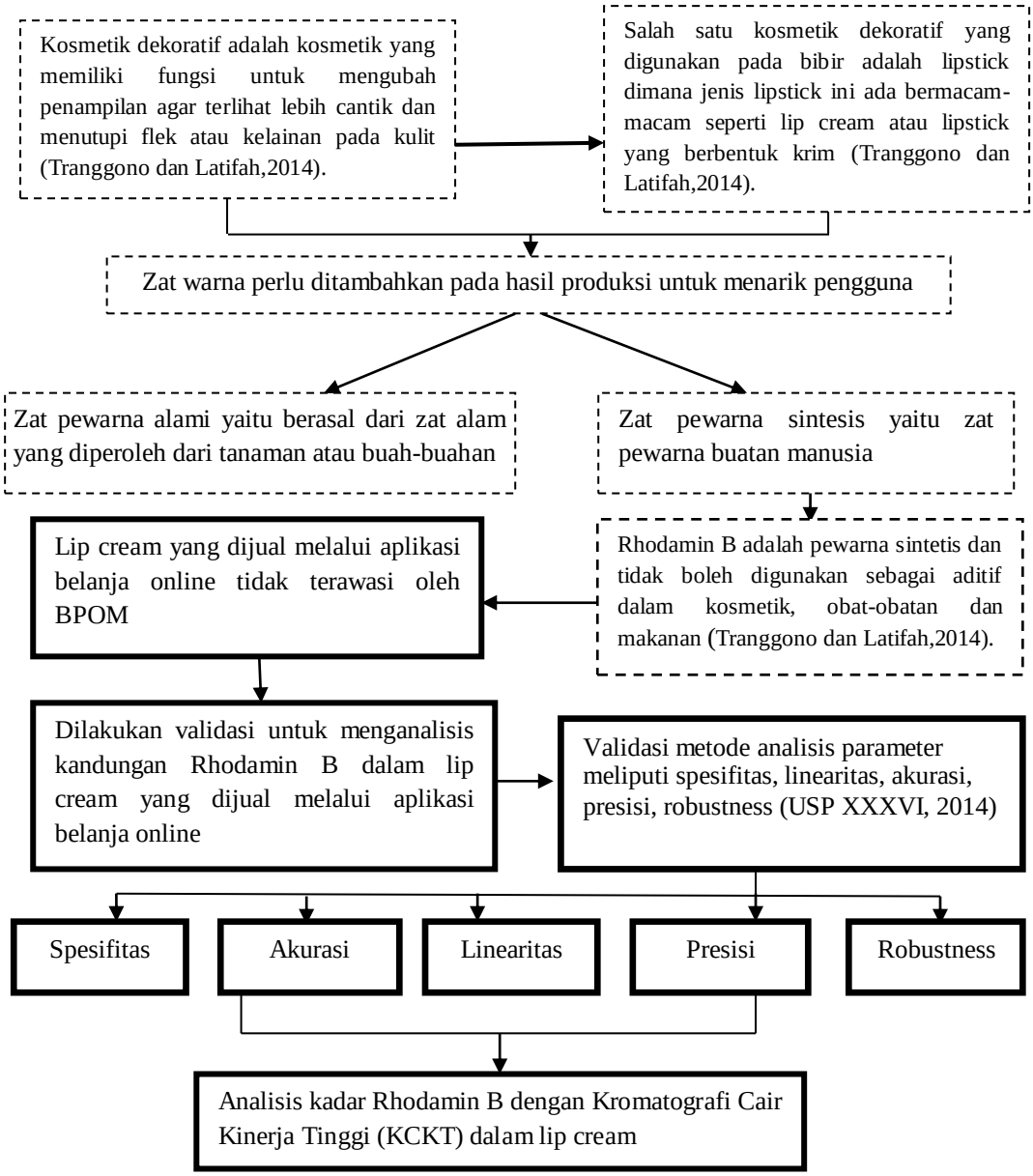
5. **Robustness (Ketahanan)**

Robustness dari suatu metode analisis dapat diartikan sebagai pengukuran kapabilitas dari suatu metode untuk tetap tidak terpengaruhi oleh adanya variasi parameter metode yang kecil. Menurut USP XXXVII tahun 2014, robustness dalam prosedur analisis merupakan pengukuran kemampuan metode untuk tidak terpengaruh oleh variasi kecil tetapi disengaja dalam parameter procedural yang tercantum dalam dokumentasi prosedur dan memberikan indikasi kesesuaian selama penggunaan normal. Ketahanan dievaluasi dengan melakukan evaluasi parameter – parameter metode seperti presentase pelarut organik (±2 hingga 5%), pH (hingga ±0,5 unit pH), suhu (±1 hingga 5oC) dan variasi laju alir. Kromatogram yang representative harus disiapkan untuk menunjukkan pengaruh – pengaruh variable yang diukur dibandingkan dengan kondisi normal (Gandjar dan Rohman, 2014). Menurut USP XXXVII tahun 2014 uji kesesuaian sistem dilakukan untuk menunjukkan bahwa system kromatografi memadai untuk dilakukan analisis. Parameter dari uji kesesuaian system diantaranya RSD area puncak dari lima kali replikasi <2%, faktor ikutan puncak (*tailing factor*) <2,0, jumlah plat teoritis > 2000 (Moffat dkk, 2011).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

A. Kerangka Konseptual



Keterangan :

- - - - - - : tidak dilakukan penelitian

▬▬▬ : dilakukan penelitian

Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

B. Hipotesis Penelitian

1. Metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) pada penetapan kadar Rhodamin B dalam sediaan *lipcream* memenuhi parameter validitas. Validasi metode meliputi akurasi, presisi, linieritas, spesifitas, dan robustness.
2. Metode yang tervalidasi mampu digunakan untuk analisis pada Rhodamin B pada *lipcream*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental. Metode yang digunakan untuk menganalisis kadar Rhodamin B dalam *lip cream* adalah metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

B. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua objek menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *lip cream* yang dijual di aplikasi belanja *online*.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang digunakan dalam penetapan kadar Rhodamin B adalah *lip cream* yang dijual di salah satu toko aplikasi belanja *online*.

C. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan praktikan yaitu secara *sistematik random sampling* (acak sistematik), yaitu metode pengambilan sampel sistematis berdasarkan interval yang ditetapkan. Pengambilan sampel berdasarkan *sitematik random sampling* dari populasi yaitu *lip cream* dari salah satu toko di aplikasi belanja *online*, dengan interval pembeli terbanyak.

D. Kerangka Kerja Penelitian

1. Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan adalah methanol:air:asetonitril dengan perbandingan 47:6:47. Pencampuran fase gerak dilakukan dengan cara mencampurkan methanol, air dan asetonitril pada labu ukur 100 mL dengan perbandingan 47:6:47 (Rofi'atul, 2021).

2. Pembuatan Larutan Induk Rhodamin B

Larutan induk dibuat dengan cara mengambil 10 mg baku Rhodamin B dan dilarutkan dengan etanol PA dalam labu ukur 10mL, sehingga diperoleh larutan stok Rhodamin B 1000 ppm.

3. Pembuatan Larutan Seri Baku Rhodamin B

Dari larutan induk Rhodamin B 1000 ppm membuat larutan seri baku dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dengan dipipet 20 µL, 40 µL, 60 µL, 80 µL, 100 µL kemudian ditambahkan etanol PA sebanyak 10 mL

4. Validasi Metode

Validasi metode diperlukan untuk memastikan metode yang digunakan dapat diterapkan untuk analisis. Validasi metode meliputi spesifitas, linearitas, akurasi, presisi, robustness.

a. Spesifitas

Larutan seri baku Rhodamin B konsentrasi 4 ppm diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan menggunakan fase gerak methanol:air:asetonitril, fase diam oktadesil silana (C18) dan

kecepatan alir 1mL/menit. Dilakukan replikasi 5x. Waktu retensi yang dihasilkan dapat digunakan untuk menentukan parameter spesifitas dan memastikan bahwa metode tersebut telah optimum. Metode yang dapat dikatakan optimum apabila dapat menghasilkam pemisahan yang baik ditunjukkan dari bentuk peak dengan waktu retensi < 10 menit, nilai *tailing factor* ≤ 2, dan nilai resolusi ≥ 1,5.

b. Linieritas

Larutan seri baku Rhodamin B dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm yang telah dibuat disaring dengan millipore kemudian didiamkan selama 5 menit. Masing-masing larutan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT yang telah optimum. Luas area Rhodamin B diporeleh dari kromatogram. Kurva baku diperoleh dengan cara membandingkan luas area Rhodamin B dengan konsentrasi kadar baku Rhodamin B untuk memperoleh regresi linear dengan persamaan y=bx+a dan nilai koefisien korelasi (r) yang akan digunakan untuk menentukan parameter validasi linearitas.

c. Presisi

Larutan seri baku 4 ppm disaring dengan millipore dan didiamkan selama 5 menit, larutan tersebut didegas untuk menghilangkan gelembung, kemudian diinjeksikan ke dalam KCKT yang telah optimum. Penginjekan dilakukan sebanyak 6 kali.

d. Akurasi

Larutan baku Rhodamin B dengan kadar 80%, 100%, dan 120% yaitu 3,2 ppm, 4 ppm, 4,8 ppm dibuat dan diinjeksikan ke dalam sistem KCKT yang telah optimum dilakukan sebanyak 3 kali. Nilai kadar yang didapat digunakan untuk menentukan parameter presisi dan akurasi.

e. Robustness

Variasi laju alir fase gerak :

Dibuat larutan uji dengan kadar 100% dan replikasi sebanyak 3 kali. Diinjeksikan setiap larutan ke dalam sistem KCKT dengan variasi laju alir 0,9 mL/menit, untuk laju alir normal yaitu 1,0 mL/menit. Dicatat kromatogram dan diukur waktu retensi puncak utama.

5. Analisis Rhodamin B Pada Sampel

Sebanyak 2 gram sampel dengan menggunakan timbangan analitik, kemudian digerus hingga halus dan diekstrak dengan menggunakan etanol 10 mL selama 2 jam. Sampel yang sudah diekstraksikan kemudian diinjeksikan pada kolom KCKT dengan volume 20 μL selama 5 menit. Direplikasi sebanyak 3x. Diperoleh waktu retensi dan luas area dari sampel. Kemudian luas area digunakan untuk menghitung kadar Rhodamin B pada sampel.

E. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. **Variabel Penelitian**

   a. Variabel bebas pada penelitian ini adalah kandungan Rhodamin B dalam *lip cream*.

   b. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah parameter validasi yaitu akurasi, presisi, spesifitas, linearitas, robustness.

   c. Variabel pengacau terkendali pada penelitian ini adalah pengotor pada sampel sehingga dilakukan penyaringan dengan kertas wathman dan millipore.

2. **Definisi Operasional**

   Rhodamin B merupakan zat warna tambahan yang penggunaannya tidak dibolehkan baik dalam makanan dan kosmetik. Kelebihan zat Rhodamin B dalam memberikan warna yang menarik sering disalahgunakan oleh pengusaha. Penjualan kosmetik melalui aplikasi belanja online sering tidak diawasi oleh BPOM. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan instument yang digunakan pada penelitian ini.

F. Instrumen Penelitian

1. **Alat**

   Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dilengkapi detektor UV, kolom C18 (*Shimadzu*), timbangan analitik (*Sartorius-Enteris*), beaker glass (*Duran*), corong pisah (*Pyrex*), labu ukur (*Iwaki*), microtube, millipore, penyaring whatman, microsentrifugator, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur (*Pyrex*), pump, gelas ukur (*Iwaki*).

2. Bahan

Baku Rhodamin B, sampel lip cream, etanol PA, aquades, methanol pro KCKT, aqua pro injeksi, asetonitril pro KCKT.

G. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Husada Mulia Madiun pada bulan Januari sampai dengan Maret tahun 2021.

H. Teknik Analisis Data

Teknik analisis data menggunakan metode standar eksternal dimana larutan standar dengan berbagai konsentrasi dimaksudkan dan luas area diukur. Buat kurva standar antara konsentrasi analit (x) dan luas (y). Isi sampel diperoleh dengan memplot area puncak sampel pada kurva standar atau dengan membuat perbandingan langsung

$$Cs = \frac{As}{Ast} \text{ x } Cst$$

Keterangan :

Cs = Konsentrasi Sampel

Cst = Konsentrasi Standart

As = Luas Puncak Sampel

Ast = Luas Puncak Standart

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Validasi Metode KCKT

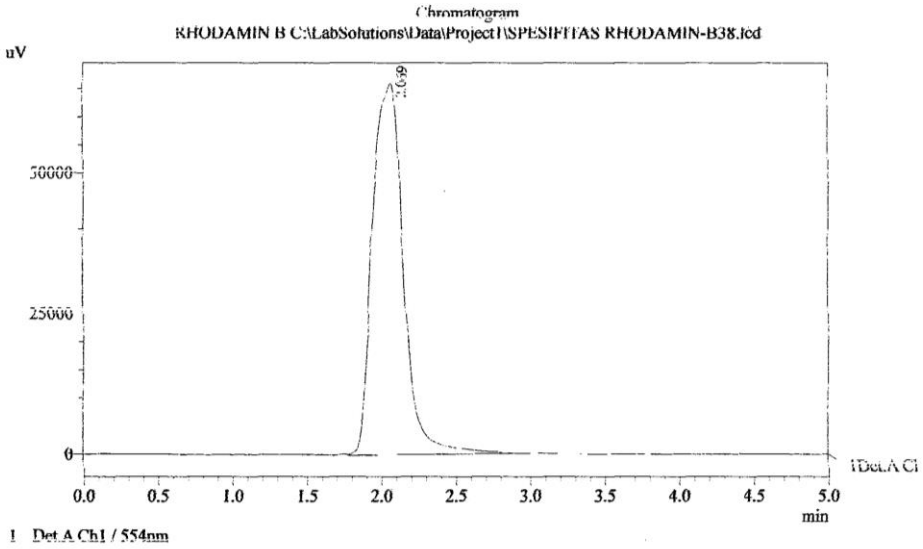
a. Spesifitas KCKT

Spesifitas merupakan kemampuan suatu metode analisis untuk dapat mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen lainnya. Dalam parameter ini, spesifitas ditentukan dengan waktu retensi. Untuk memenuhi kriteria spesifitas, suatu metode dipersyaratkan untuk memiliki waktu retensi < 10 menit.

Spesifitas dilakukan dengan menggunakan fase gerak methanol:air:asetonitril yaitu 47:6:47, fase diam oktadesil silana (C18) dan kecepatan alir 1 mL/menit, panjang gelombang 554 nm, dan konsentrasi baku Rhodamin-B 4 ppm dengan pengulangan injeksi sebanyak 6 kali (Rofi'atul, 2021).

Tabel 5.1 Spesifitas Baku Rhodamin-B

Replikasi	Waktu Retensi	Rata-Rata	Standar Deviasi
1	2.069	2,070	0,006745369
2	2.079		
3	2.061		
4	2.071		
5	2.063		
6	2.074		



Peak Table

Detector A Ch1 554nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.069	954866	66078	100.000	100.000
Total		954866	66078	100.000	100.000

Gambar 5.1 Kromatogram Spesifikasi Baku Rhodamin B

Hasil penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5.1 bahwa rata-rata waktu retensi baku Rhodamin-B muncul pada menit ke-2,070. Hal ini dapat dikatakan memenuhi persyaratan spesifitas yang baik karena waktu retensi yang dihasilkan kurang dari 10 menit. Data tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki waktu retensi yang optimum untuk analisis Rhodamin-B.

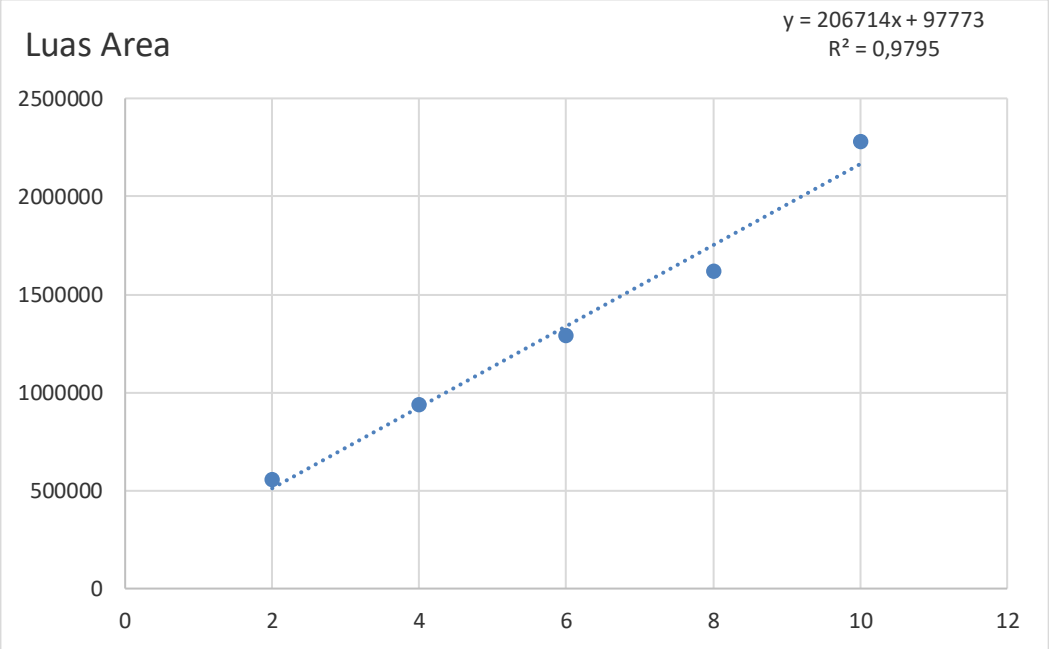
b. Linieritas

Linieritas adalah suatu metode dapat dilihat melalui kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara respon instrumen dengan

konsentrasi analit pada beberapa seri baku. Dari kurva kalibrasi akan ditemukan regresi linearnya yang berupa persamaan y=bx+a, dimana x adalah konsentrasi, y adalah respon, dan a adalah intersep y yang sebenarnya dan b adalah slope yang sebenarnya. Koefisien korelasi (r) menjelaskan hubungan linier antara sumbu x dan sumbu y.

Tabel 5.2 Linieritas Baku Rhodamin-B

Konsentrasi (PPM)	**Luas Area**	**Regresi**	**Koefisien korelasi (r)**
2	558239	0,9795	0,9896
4	936824		
6	1291203		
8	1620466		
10	2283560		



Gambar 5.2 Diagram Persamaan Kurva Baku

Pada penelitian ini dilakukan pada Tabel 5.2 menunjukkan respon analit dari 5 konsentrasi baku Rhodamin-B dan dipilih kurva baku pada

Gambar 5.2 yang memiliki nilai koefisien korelasi (r) yang baik yaitu 0,9896 dengan persamaan kurva baku yang didapat yaitu y= 206714x + 97773.

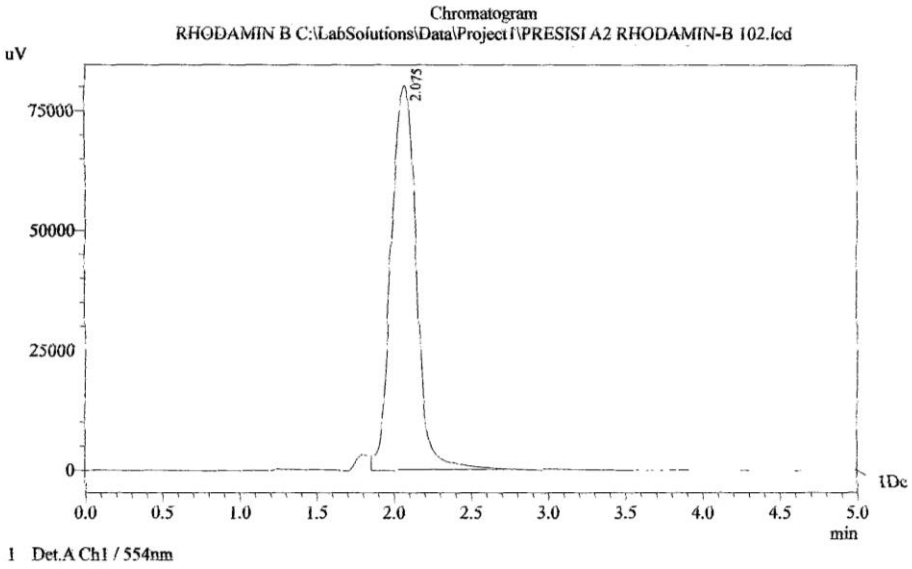
c. Presisi

Presisi adalah suatu metode pengukuran kembali terhadap ukuran yang sama. Presisi dilakukan dengan larutan seri baku dengan konsentrasi 4 ppm yang diinjeksikan pada sistem KCKT dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali.

Tabel 5.3 Presisi

Kadar Rhodamin-B (PPM)	**Kadar Baku Rhodamin-B Terukur**	**Rata-Rata**	**Sd**	**%RSD**
4	3.95	3,896667	0,052789	1,354719
	3,88			
	3,97			
	3,84			
	3,85			
	3,89			

Presisi dikatakan baik ketika nilai simpangan baku relatif (RSD) kurang dari 2%. Berdasarkan hasil dari penelitian pada Tabel 5.3, nilai RSD yang diperoleh sebesar 1,354719%, yang bisa dikatakan bahwa nilai pengukuran masih dibawah angka batas persyaratan (Sugihartini *et al*, 2014).



PeakTable

Detector A Ch1 554nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.075	915750	80230	100.000	100.000
Total		915750	80230	100.000	100.000

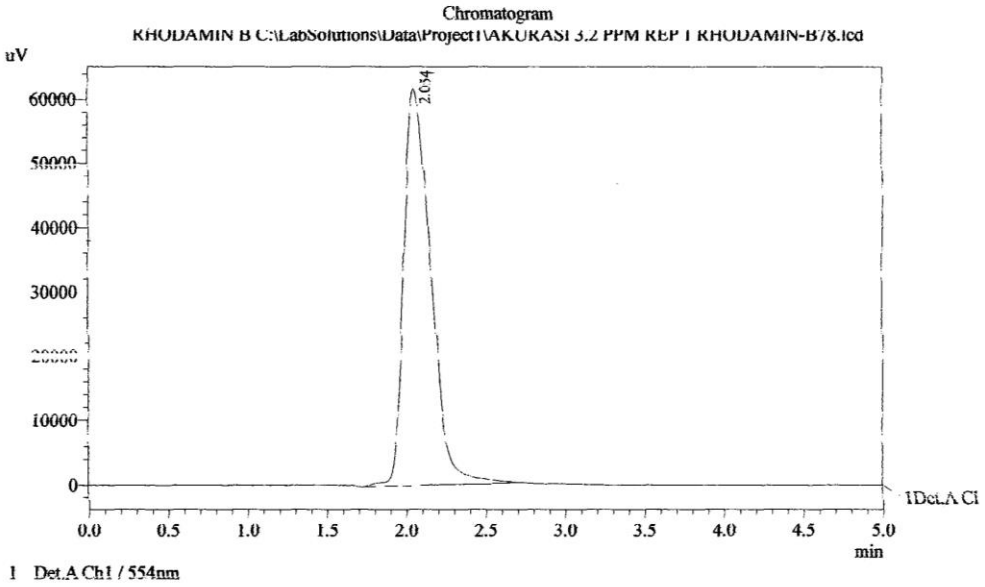
Gambar 5.3 Kromatogram Presisi Baku Rhodamin B

d. Akurasi

Kemampuan suatu metode untuk memberikan hasil pengukuran yang sama atau mendekati ukuran yang sesungguhnya disebut akurasi. Penentuan akurasi menggunakan nilai *recovery* atau nilai perolehan kembali. Nilai perolehan kembali digunakan sebagai pengukuran perlakuan dalam preparasi sampel. Pada penelitian ini, penentuan persen peroleh kembali (*recovery*) dilakukan dengan tiga konsentrasi Rhodamin-B yaitu 80% (3,2 ppm), 100% (4 ppm), dan 120% (4,8 ppm) dimana pada masing-masing konsentrasi dilakukan replikasi 3 kali.

Tabel 5.4 Akurasi

Kadar Rhodamin-B	Kadar Rhodamin-B Terukur	Recovery (%)	Rata-Rata
80	3,07	93,03	94,44
	3,32	100,6	
	2,96	89,69	
100	4,75	97,53	96,77
	4,81	98,76	
	4,58	94,04	
120	4,99	101,83	101,15
	4,98	101,63	
	4,90	100	

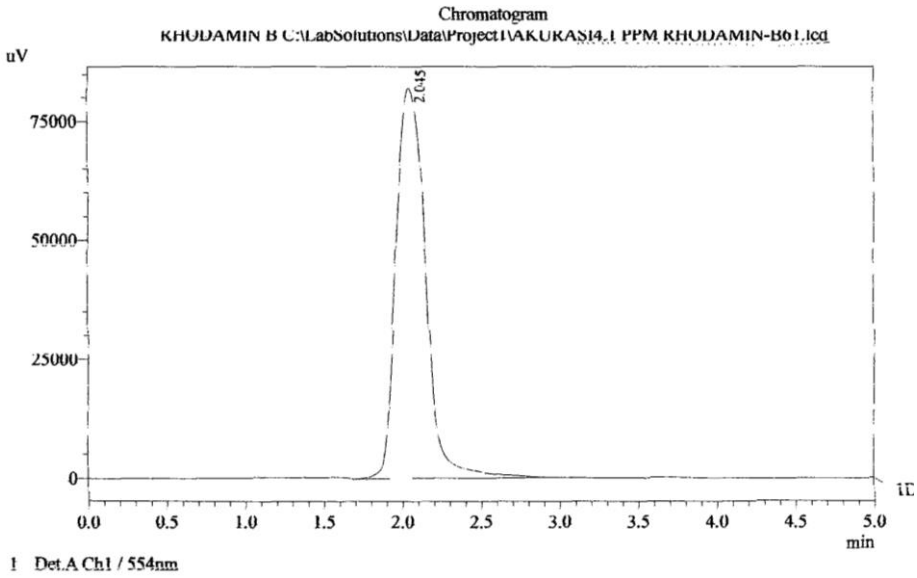


PeakTable

Detector A Ch1 554nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.054	734427	61851	100.000	100.000
Total		734427	61851	100.000	100.000

Gambar 5.4 Kromatogram Akurasi 80% Baku Rhodamin B

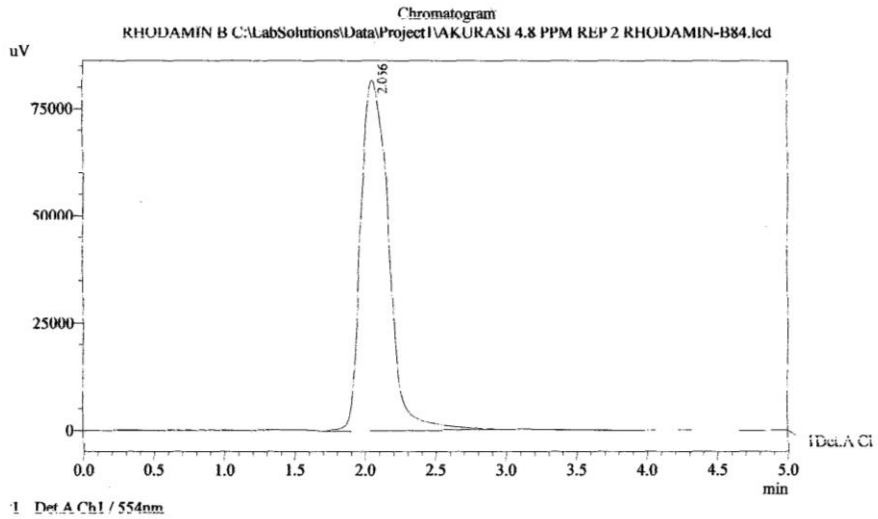


PeakTable

Detector A Ch1 554nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.045	1081324	82305	100.000	100.000
Total		1081324	82305	100.000	100.000

Gambar 5.5 Kromatogram Akurasi 100% Baku Rhodamin B



PeakTable

Detector A Ch1 554nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.056	1131265	81884	100.000	100.000
Total		1131265	81884	100.000	100.000

Gambar 5.6 Kromatogram Akurasi 120% Baku Rhodamin B

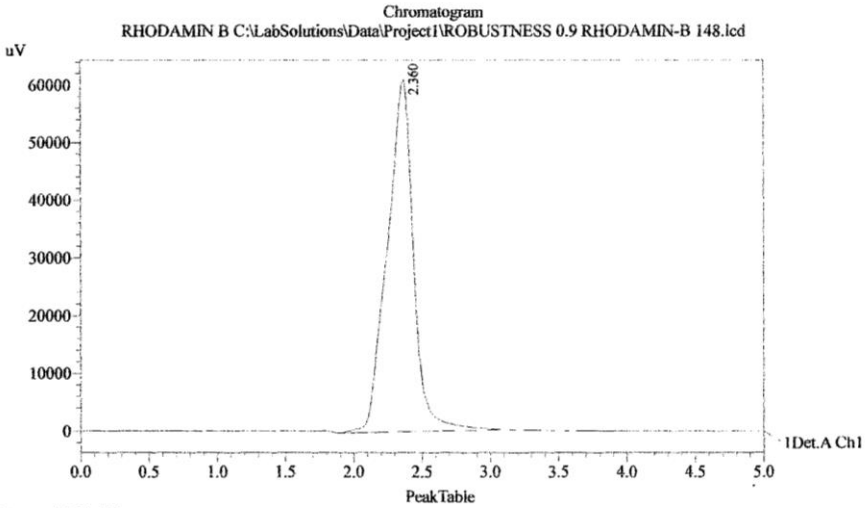
Berdasarkan Tabel 5.4 nilai rata-rata *recovery* konsentrasi 80% sebesar 94,44%. Konsentrasi 100% sebesar 96,77%, dan pada konsentrasi 120% sebesar 101,15%. Nilai *recovery* pada konsentrasi 80%, 100%, dan 120% yang didapatkan dikatakan baik karena masih masuk dalam rentang 80-110% sehingga memenuhi syarat *recovery* yang baik dan terbukti bahwa metode analisis yang digunakan memiliki akurasi yang baik (AOAC, 2013).

e. Robustness

Uji robustness atau ketahanan merupakan metode untuk melihat pengaruh oleh adanya variasi parameter-parameter seperti variasi laju alir yang akan diuji. Uji robustness dilakukan dengan mempersiapkan larutan dengan konsentrasi 4 ppm kemudian diinjeksikan dalam sistem KCKT dengan variasi laju alir 0,9 mL/menit, sementara untuk laju alir normal yaitu 1,0 mL/menit dengan pengulangan 3 kali.

Tabel 5.5 Robustness

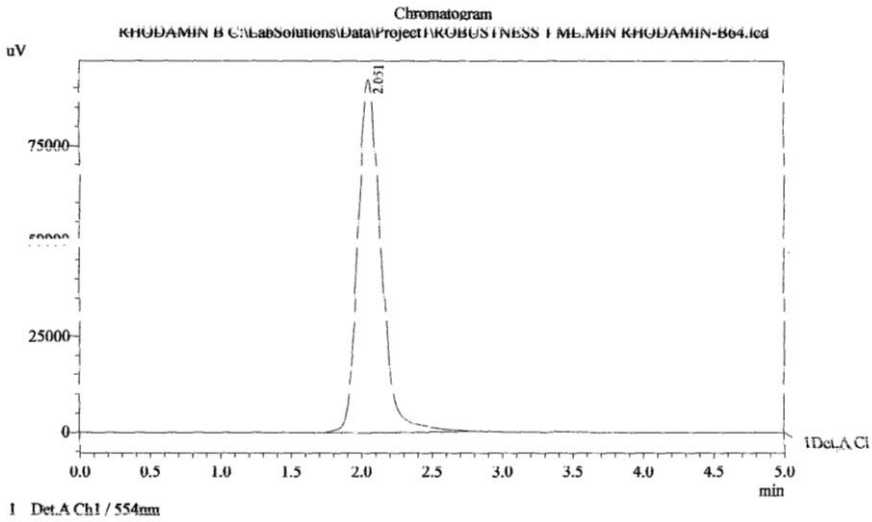
Laju Alir (mL/min)	**Waktu Retensi**	**Kadar Rhodamin-B (PPM)**	**Rata-Rata**	**Sd**	**%RSD**
0,9	2,360	3,48	3,521667	0,045982	1,305685
	2,371	3,514			
	2,362	3,571			
1	2,051	4,66	4,71966667	0,057622	1,2208984
	2,058	4,724			
	2,053	4,775			



Detector A Ch1 554nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.360	818250	60984	100.000	100.000
Total		818250	60984	100.000	100.000

Gambar 5.7 Kromatogram Robustness 0,9 ml/menit Baku Rhodamin B



PeakTable

Detector A Ch1 554nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.051	1061066	92250	100.000	100.000
Total		1061066	92250	100.000	100.000

Gambar 5.8 Kromatogram Robustness 1 ml/menit Baku Rhodamin B

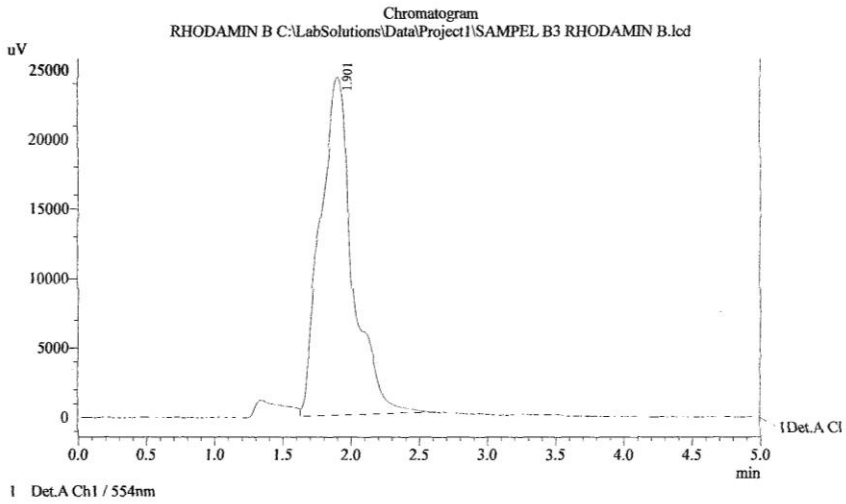
Pada penelitian ini, perubahan parameter yang digunakan adalah perubahan pada laju alir, yang berawal dari 1 mL/menit diubah menjadi 0,9 mL/menit. Berdasarkan pada Tabel 5.5 nilai %RSD laju alir 0,9 mL/menit sebesar 1,305685% dan untuk 1 mL/menit sebesar 1,2208984%. Perubahan laju alir pada 0,9 mL/menit dan untuk 1 mL/menit menghasilkan nilai %RSD kurang dari 2% sehingga dapat dikatakan baik karena masih dibawah 2%. (Moffat *et al.*, 2011).

2. Penetapan Kadar Rhodamin-B

Penetapan kadar Rhodamin-B dilakukan pada 1 sampel *lip cream* yang diambil 2 gram *lip cream* dan diekstrak menggunakan etanol PA sebesar 10 mL selama 2 jam kemudian disaring menggunakan millipore. Hasil saringan diinjeksikan pada kolom KCKT dan dilakukan replikasi 3 kali. Untuk menghitung kadar Rhodamin-B pada sampel *lip cream* menggunakan kurva kalibrasi dengan persamaan regresi y = 2016714 + 97773.

Tabel 5.6 Kadar Rhodamin-B Pada Sampel

Replikasi	**Luas Area**	**Kadar Rhodamin-B Dalam Sampel (mg/L)**	**Rata-Rata (mg/L)**	**Berat *lip cream*/kemasan (gram)**	**Kadar Rhodamin -B dalam kemasan (mg/L)**
1	400468	1,464	1,57775	3	2,366
2	468642	1,794			
3	414372	1,531			
4	412480	1,522			

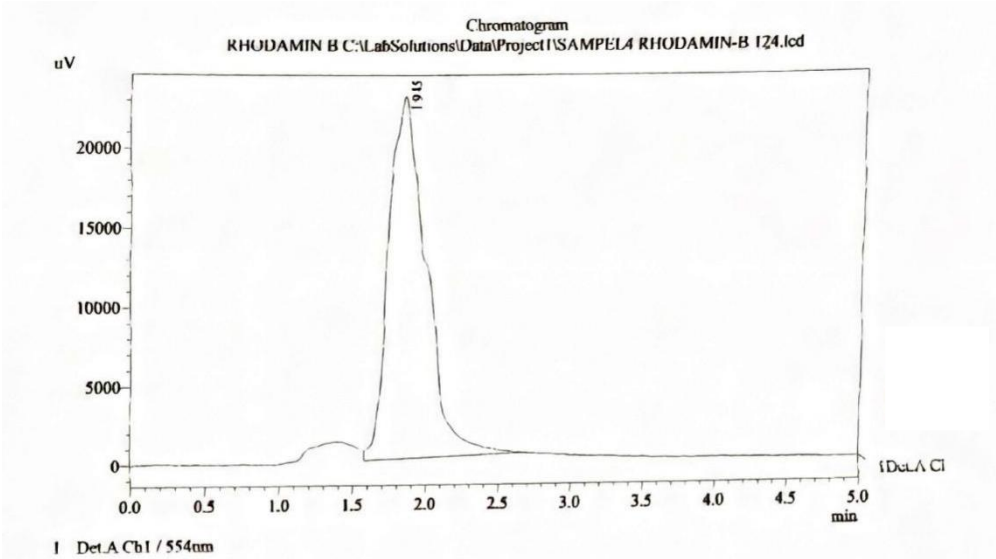


PeakTable

Detector A Ch1 554nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.901	400468	24275	100.000	100.000
Total		400468	24275	100.000	100.000

Gambar 5.9 Kromatogram Sampel



PeakTable

Detector A Ch1 554nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.945	412480	22955	100.000	100.000
Total		412480	22955	100.000	100.000

Gambar 5.10 Kromatogram Sampel

B. Pembahasan

Lip cream merupakan sediaan lipstik yang berbentuk cair yang banyak diminati oleh konsumen karena dapat melembabkan bibir dalam waktu yang lama dibandingkan dalam bentuk padat, serta menghasilkan warna yang lebih merata pada bibir. Dengan seiring perkembangan jaman, penjualan *lip cream* bisa melalui aplikasi belanja *online*. Adapun peredarannya melalui aplikasi belanja *online* tidak diawasi oleh BPOM. Meskipun dengan penjualannya yang bebas tetapi tetap perlu diwaspadai terhadap kadar dari Rhodamin-B yang terkandung dalam *lip cream* yang penggunannya dilarang oleh BPOM.

Pada penelitian ini, analisis Rhodamin-B pada *lip cream* menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi. Pemilihan metode ini didasarkan karena KCKT memiliki selektifitas yang tinggi sehingga diperoleh hasil yang sesuai dan tepat. KCKT memiliki kelebihan daya pisah yang tinggi sehingga tidak akan memberikan hasil negatif palsu dan dapat menganalisis senyawa dengan kadar yang kecil. Analisis Rhodamin-B yang dilakukan yaitu validasi metode, metode yang dipilih yaitu metode yang dikembangkan oleh saudari Rofi'atul Fauziyah yang perlu dilakukan validasi metode. Kondisi KCKT yang digunakan merupakan hasil optimasi metode analisis dari skripsi saudari Rofi'atul Fauziyah yaitu fase gerak yang digunakan adalah methanol:air:asetonitril dengan perbandingan 47:6:47, kecepatan alir 1 mL/menit, panjang gelombang 554 nm, fase diam kolom oktadesil silana (C18), suhu 25°C, volume injeksi 20 µL (Rofi'atul, 2021).

Validasi metode bertujuan untuk memastikan metode KCKT telah memiliki metode yang optimal dan memiliki validitas yang baik. Adapun hasil

yang diperoleh dapat dipertanggungjawabkan sehingga dapat digunakan untuk menetapkan Rhodamin-B dalam lip cream. Validasi metode meliputi spesifitas, linieritas, akurasi, presisi, dan robustness.

Tahap awal dari validasi metode analisis ini adalah spesifitas, yang merupakan kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dengan adanya komponen – komponen lain dalam matriks sampel. Spesifitas dilakukan dengan menggunakan fase gerak metanol:air:asetonitril. Penambahan asetonitril dapat menurunkan viskositas sehingga kromatografi lebih cepat karena perpindahan massa berlangsung lebih cepat. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil rata-rata waktu retensi untuk Rhodamin-B yaitu 2,070 menit. Hasil yang diperoleh sesuai dengan persyaratan metode karena waktu retensi yang dihasilkan kurang dari 10 menit, serta memiliki satu puncak yang berarti senyawa tersebut dapat memisah dengan baik. Data tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki waktu retensi optimum untuk analisis Rhodamin-B (Synder *et al.*, 2010).

Penentuan linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit. Penentuan linieritas ditentukan dengan 5 konsentrasi yang kemudian diinjeksikan ke KCKT dengan kondisi yang sama sehingga diperoleh hasil berupa luas area. Dari luas area yang dihasilkan diperoleh persamaan kurva baku $y = 206714x + 97773$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9896. Hasil dari koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 artinya terdapat linieritas yang baik antara luas area

dengan konsentrasi analit. Hal ini menunjukan semakin meningkatnya konsentrasi maka luas area juga meningkat (Rachmawati, 2014).

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif (Gandjar dan Rohman, 2014). Pada penentuan presisi dilakukan pada konsentrasi 4 ppm. Konsentrasi 4 ppm diinjeksikan ke KCKT dengan kondisi yang sama sebanyak 6 kali. Hasil yang diperoleh berupa luas area untuk mengetahui kadar dari Rhodamin-B, sehingga didapatkan nilai dari simpangan baku relatif (RSD) sebesar 1,354719%. Parameter presisi dikatakan baik ketika nilai simpangan baku relatif (RSD) kurang dari 2%, sehingga dari data yang diperoleh bisa dikatakan bahwa nilai pengukuran masih dibawah angka batas persyaratan (Sugihartini *et al.*, 2014). Hasil menunjukkan bahwa metode analisis memiliki presisi yang baik dan metode yang digunakan optimum untuk analisis Rhodamin-B.

Kemudian dilakukan penentuan akurasi untuk mengetahui kedekatan antara nilai terukur dengan nilai sebenarnya yang ditunjukkan dengan persen perolehan kembali (% recovery). Pada penelitian ini, penentuan persen perolehan kembali (% recovery) dilakukan pada tiga seri konsentrasi Rhodamin-B, yaitu 80%, 100% dan 120%, masing-masing seri kadar diinjeksikan ke KCKT dengan pengulangan 3 kali. Nilai recovery pada konsentrasi 80%, 100%, dan 120% yang didapatkan dikatakan baik karena masih masuk dalam rentang 80-110% sehingga memenuhi syarat recovery yang baik dan terbukti bahwa metode analisis yang digunakan memiliki akurasi yang baik (AOAC, 2013).

Selanjutnya pada tahap akhir adalah penentuan robustness (ketahanan). Penentuan robustness merupakan suatu metode untuk tidak terpengaruh oleh variasi kecil tetapi disengaja dalam parameter prosedural. Evaluasi uji ketahanan harus dipertimbangkan dalam pengembangan metode untuk melihat ketidak terpengaruhnya perubahan variasi parameter yang disengaja. Pada perubahan laju alir 0,9 mL/menit didapatkan hasil nilai RSD sebesar 1,305685%, pada laju alir normal yaitu 1,0 mL/menit didapatkan hasil 1,2208984%. Perubahan laju alir pada 0,9 mL/menit dan laju alir normal 1 mL/menit menghasilkan nilai %RSD kurang dari 2% sehingga dapat dikatakan baik karena masih dibawah 2%. Meskipun terjadi pergeseran pada waktu retensi, namun terjadi konsistensinya waktu terhadap pengulangan. Dari hasil penentuan robustness dapat dinyatakan bahwa variasi laju alir mempengaruhi hasil dari penelitian yang dilakukan.

Penyiapan larutan uji sampel dilakukan dengan penimbangan 2 gram sampel kemudian diekstrak selama 2 jam dengan menggunakan etanol PA sebanyak 10 mL. Larutan yang diperoleh kemudian disaring menggunakan millipore agar jernih dan tidak ada zat pengotor yang dapat mengganggu proses penginjeksian ke dalam sistem KCKT. Filtrat yang dihasilkan kemudian didegas yang bertujuan untuk menghilangkan gelembung yang ada dan disaring kembali menggunakan millipore agar filtrat yang diperoleh benar-benar jernih. Kemudian dilakukan penginjeksian filtrat ke sistem KCKT yang telah divalidasi sebelumnya dengan replikasi 3 kali. Penelitian ini dilakukan pada *lip cream* yang sebelumnya sudah diteliti pada saat penentuan kondisi optimum KCKT yang diperoleh dari salah satu toko di aplikasi belanja *online* dengan kriteria toko memiliki rating

penilaian yang tinggi dengan *lip cream* yang paling banyak diminati oleh pembeli dan *lip cream* yang memiliki warna merah mencolok.

Hasil penelitian bahwa *lip cream* positif Rhodamin-B. Sampel *lip cream* mengandung Rhodamin-B sebesar 2,366 mg/L. Dengan terbuktinya sampel *lip cream* positif Rhodamin-B yang ditemukan maka diperlukan perhatian bagi konsumen khususnya yang melakukan pembelian melalui aplikasi belanja online. Hal ini dikarenakan penggunaan Rhodamin-B dinilai berbahaya bagi kesehatan jika sampai terjadi penumpukan Rhodamin-B di dalam tubuh dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernafasan dan jika dalam kadar tinggi dapat menyebabkan kerusakan hati. Serta mengingat bahwa Rhodamin-B merupakan zat yang bersifat karsinogenik yaitu penyebab kanker. Dengan demikian, penjualan *lip cream* melalui aplikasi belanja *online* memerlukan perhatian lebih dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dikarenakan Rhodamin-B merupakan zat yang dilarang penggunaannya seperti yang tertera pada PERMENKES RI No.445/Menkes/Per/V/1998 tentang Zat Warna Tertentu yang Dinyatakan Berbahaya.

BAB VI

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Metode yang digunakan dinyatakan valid dengan dibuktikannya telah memenuhi persyaratan validasi, yaitu spesifitas dengan waktu retensi selama 2,070 menit, linieritas dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,9896, presisi dengan nilai %RSD 1,354719%, akurasi pada rentang 80-110%, dan robustness dengan nilai RSD dibawah 2%.

2. Metode KCKTyang tervalidasi dapat diaplikasikan pada *lip cream* yang beredar di aplikasi belanja *online* dengan melakukan penetapan kadar Rhodamin-B dengan cara diekstrak menggunakan etanol PA kemudian diinjeksikan ke kolom KCKT.

B. Saran

1. Konsumen agar berhati-hati dalam membeli *lip cream* melalui aplikasi belanja *online*, untuk lebih amannya dapat membeli online melalui *official store* resminya.
2. Diperlukan pengawasan dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) pada *online shop* yang ada di aplikasi belanja *online*.
3. Perlu dilakukan penelitian terhadap penetapan Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantifikasi (LOQ) pada Rhodamin B.

DAFTAR PUSTAKA

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.

Anggraini, N. 2019. *Identifikasi Zat Pewarna Rhodamin B Pada Lipstik Dan Perona Pipi Yang Dipasarkan Di Pasar Tengah Bandar Lampung*. Skripsi. Bandar Lampung:Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung.

Association of Official Analytical Chemists. 2013. *AOAC Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals.*

Asyifaa DA, Gadri A, Sadiyah ER. 2017. *Formulasi Lip Cream dengan Pewarna Alami dari Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L .) serta Uji Stabilitasnya*. Pros Farm.

Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2011. *Metode Analisis Identifikasi Bahan Pewarna Yang Dilarang Dalam Kosmetika Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).* BPOM RI, Jakarta.

Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2015. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 18 Tahun 2015 Tentang Persyaratan Teknis Kosmetika*. Jakarta.

Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). 2014. *Penggunaan Rhodamin B pada Kosmetik*. Vol. 15. No. 4.

Deflora, P.M.O.T. 2018. *Analisis Rhodamin B pada Jajanan Pasar Disekolah Dasar Wilayah Kelurahan Tunggulwulung Kota Malang Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis*.KTI. STIKes Maharani Malang Program Studi Analis Kesehatan. Malang

Dewi, SP. 2013. *Pengaruh Rhodamine B Peroral Dosis Bertingkat Selama 12 Minggu terhadap Gambaran Histomorfometri Limpa*. Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro

Farima. 2009. *Karakteristik dan Ekstraksi Simplisia Tumbuhan Bunga Mawar (Rosa hybrida L) serta Formulasinya dalam Sediaan Pewarna Bibir*.Skripsi. Universitas Sumatra Utara.

Firdausa, W. A. 2018. *Validasi Metode Penetapan Kadar Nystatin Dalam Tablet Nystatin Salut Gula 500.000 IU Secara HPLC.* Skripsi. Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

Gandjar, G. I., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Belajar.

Hamdani, Syarif. 2012. *Modul Praktikum Kimia Analisis*. Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Harmita. 2014. *Analisis Fisikokimia: Kromatografi*. Jakarta: EGC.

Hayat, A.M.F., & Nursakinah. 2015. *Identifikasi Rhodamin B pada Sediaan Lipstik yang Beredar di Kota Makassar Tahun 2015*. Jurnal Sulolipu 1(31):7-12.

Indrayanto, G., dan Yuwono, M., 2005. *Validation of Chromatographic Methodes of Analysis*. Profiles of Drugs Substances, Excipients and Related Methodology, Volume 32.

Maharani, A. 2014. *Zat Pewarna Berbahaya Pada Tekstil*. Tersedia dalam http://adellamaharani27.blogspot.com/2014/08/kimia-farmasi.html?m=1.(Diakses 31 Agustus 2014).

Moffat, A.C., Osselton, M. D., dan Widdop B., 2011, *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in Pharmaceuticals, Body Fluids And Postmortem Material, Fourth Edition*. London. Pharmaceutical Press.

M. Nur Khamid, dan Dessy Christy. 2019. *Analisis Rhodamin-B Pada Lipstik Yang Beredar di Pasar Boyolali Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dan Spektrofotometri Visibel.* Jurnal Ilmu Kesehatan STIKes Duta Gama Klaten Volume 11 Nomor 1 Juni 2019. Klaten.

Nuarti, N. 2020. *Artikel Ilmiah Sediaan Kosmetik Lipstik. KTI.* Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau Yayasan Univ Riau Pekanbaru. Riau Pekanbaru

Nurfinda, A.P. 2018. *Skripsi Pengetahuan Tentang Penggunaan Kosmetik Pemutih Kulit di Kalangan Pelajar SMKN 3 Jember*. Fakultas Farmasi Universitas Jember. Jember

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1176/MENKES/PER/VIII/2010 tentang *Notifikasi Kosmetik*.

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2016 tentang *Rekomendasi Untuk Mendapatkan Persetujuan Impor Barang Komplementer, Barang Untuk Keperluan Tes Pasar dan Pelayanan Purna Jual.*

Permenkes RI No. 239/Menkes/Per/1985. *Zat Warna Tertentu yang Dinyatakan sebagai Bahan Berbahaya*. Departemen Kesehatan, Jakarta.

Pengaturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI. 2011. *Tentang metode analisis kosmetika* No. hk.03.1.23.08.11.07331 Jakarta.

Pratiwi Ds. 2011. *Hubungan Konsep Diri Remaja Putri Dengan Perilaku Membeli Produk Kosmetik Pemutih Wajah*. Skripsi. Universitas Negeri Semarang.

Rachmawati.W., Sophi. D, dan Mulyana. A. (2014). *Identifikasi Zat Warna Rhodamin-B pada Kosmetik Pemerah Pipi dan Eye Shadow dengan Metode KLT dan KCKT*. Jurnal Farmasi Galenika 1 (2): 71-77.

Riyanto. 2014. *Validasi dan Verifikasi*. Yogyakarta : Deepublish.

Rofi'atul, Fauziyah. 2021. *Analisis Rhodamin-B Pada Lip Cream Yang Beredar Di Aplikasi Belanja Online Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.* Skripsi. STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun, Madiun.

Rohman, A. 2009. *Kromatografi Untuk Analisis Obat.* Graha Ilmu: Yogyakarta.

Wawan, Setiadi. 2014. *Validasi Metode Analisis KCKT*. Purwokerto: Fakultas Farmasi UMP.

Situmorang, R., Silitonga, M. 2015. *Effect of Ethanol Leaf Extract Bangunbangun (Plectranthus amboinicus (Lour.) Spreng) As Preventive And Curative Rhodamine B Toxic Effects On the Kidney Histopathology White Rat (Rattus norvegicus).* J. BIOSAINS 1.

Snyder, L R, Kirkland, J J., and Dolan, J.W., 2010. *Introduction to Modern Liquid Chromatography. Introduction to Modern Liquid Chromatography.*

Sugihartini, N., Fudholi, A., Pramono, S., dan Sismindari. 2014. *Validasi Metode Analisa Penetapan Kadar Epigalokatekin Galat dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.* Pharmaciana.

Tranggono, RIS., Latifah F. 2014. *Buku Pegangan Dasar Kosmetologi: Kosmetik Dekoratif*. Jakarta : Sagung Seto.

USP. The United States Pharmacopeia : the National Formulary. USP 37 NF 32 Supplement 1. Rockville, Md: United States Pharmacopeial Convention; 2014. 564 p.

Valda Mamoto, Lidya dan Fatimawali Gayatri Citraningtyas. *Analisis rhodamin B pada lipstik yang beredar di Pasar kota Manado*. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 2013;2: 61-66.

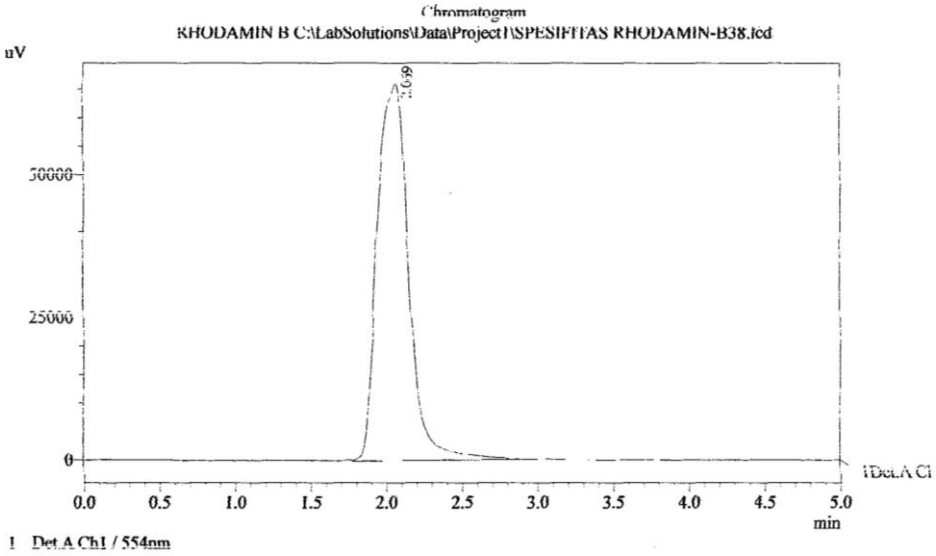
Lestyo, W. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: PT. Taman Kampus Presindo

Zaheer, Z. and Zainuddin, R. 2011. *Analytical Methods for Cleaning Validation. Der Pharmacia Lettre*. Vol. 3 No. 6.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Kromatogram Spesifitas Baku Rhodamin-B

A. Spesifitas Replikasi ke-1

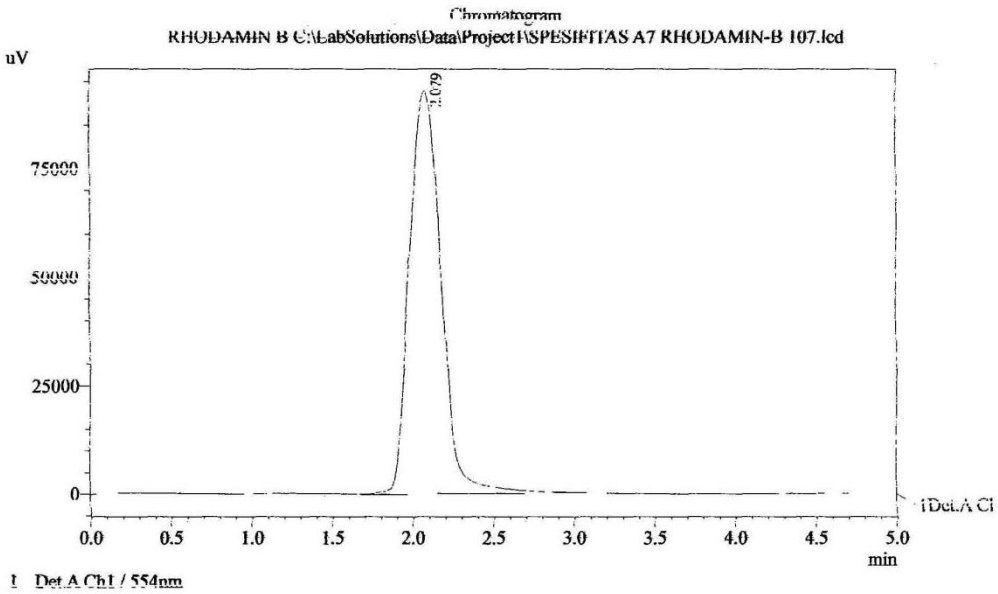


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.069	954866	66078	100.000	100.000
Total		954866	66078	100.000	100.000

B. Spesifitas Replikasi ke-2

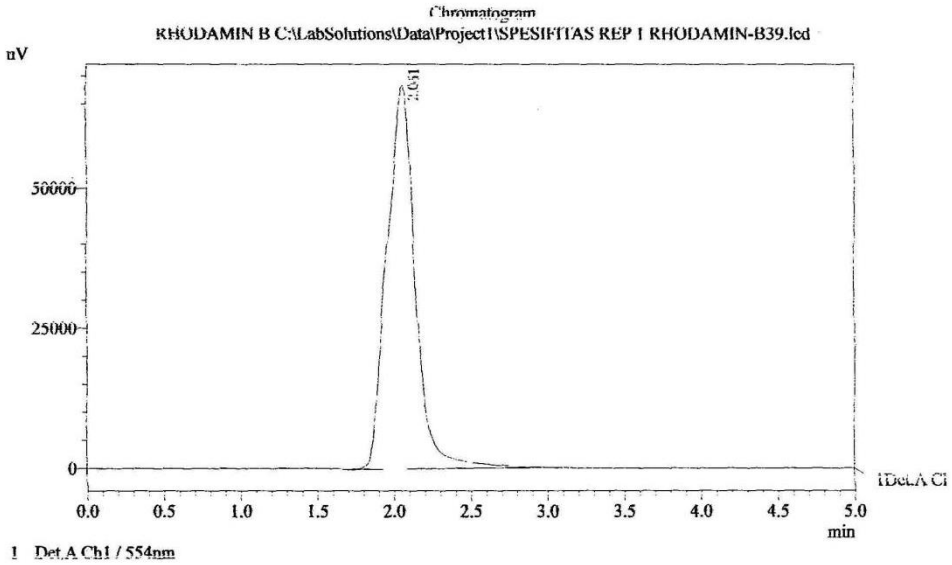


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.079	1275066	92841	100.000	100.000
Total		1275066	92841	100.000	100.000

C. Spesifitas Replikasi ke-3

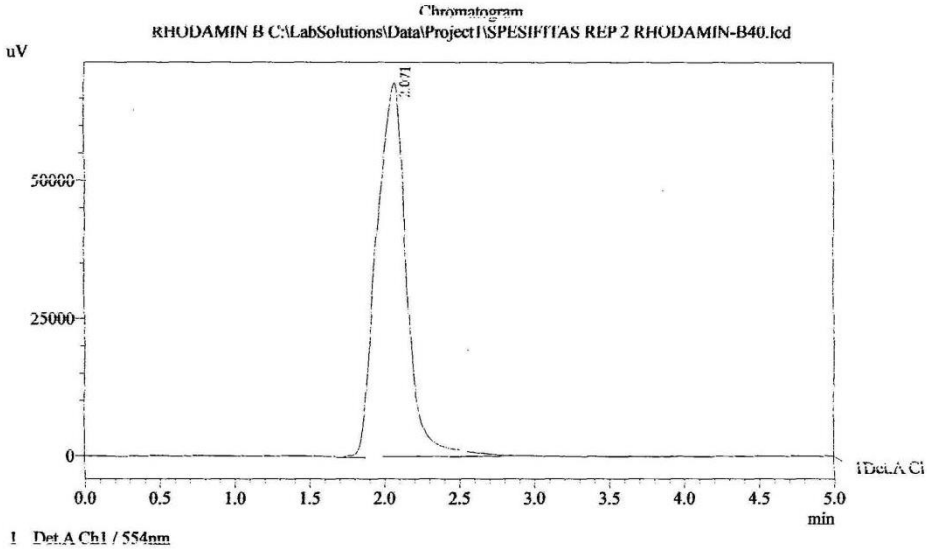


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.061	884539	68422	100.000	100.000
Total		884539	68422	100.000	100.000

D. Spesifitas Replikasi ke-4

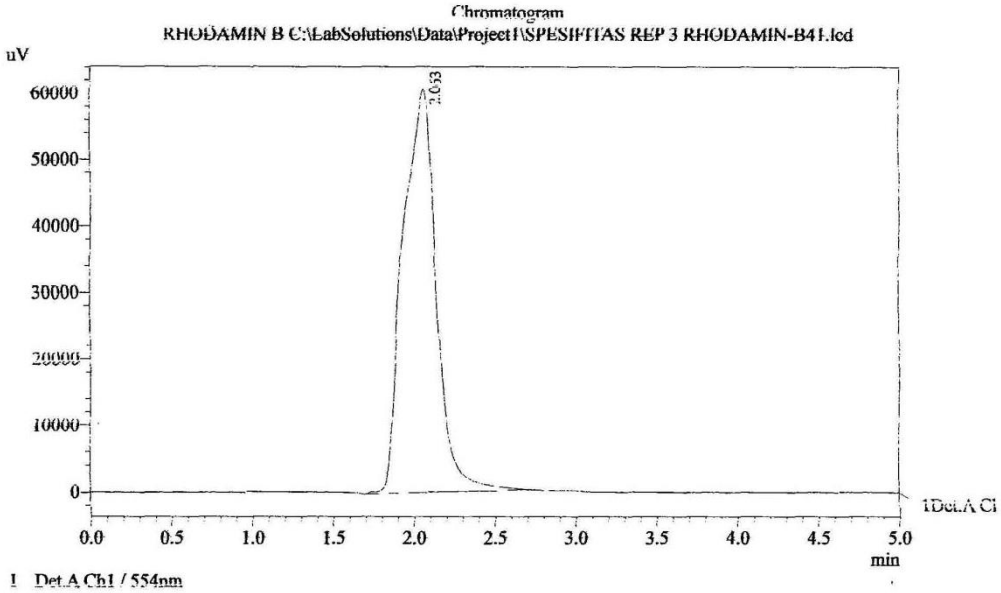


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.071	943198	68072	100.000	100.000
Total		943198	68072	100.000	100.000

E. Spesifitas Replikasi ke-5

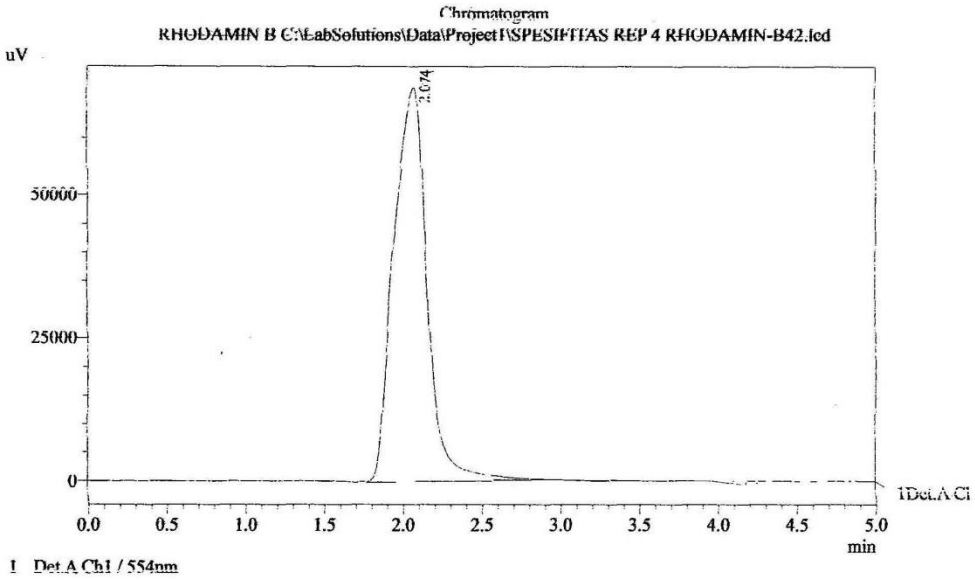


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.063	867347	60719	100.000	100.000
Total		867347	60719	100.000	100.000

F. Spesifitas Replikasi ke-6



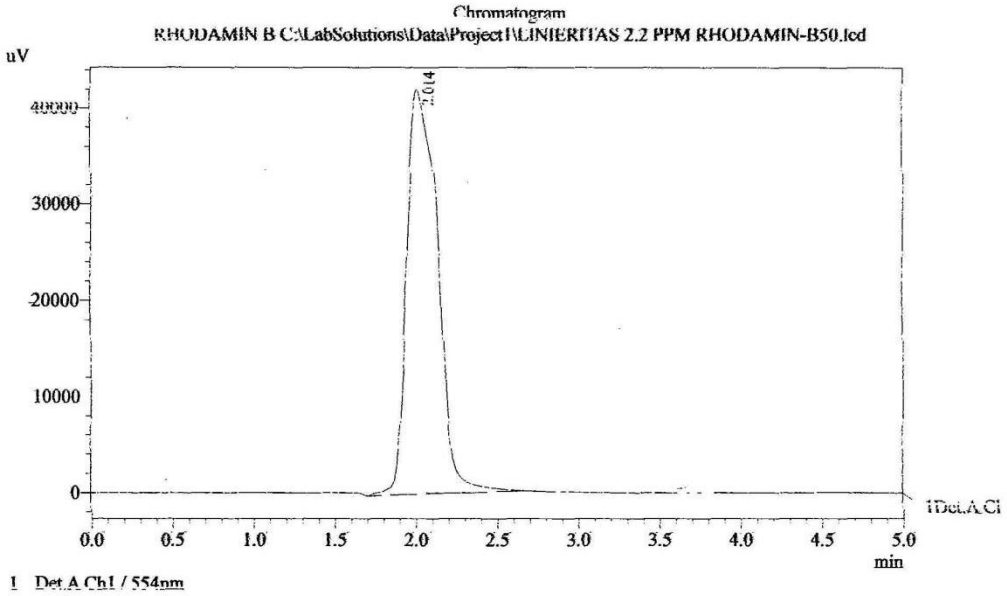
Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.074	1018184	68815	100.000	100.000
Total		1018184	68815	100.000	100.000

Lampiran 2. Kromatogram Linieritas Baku Rhodamin-B

A. Linieritas 2 ppm

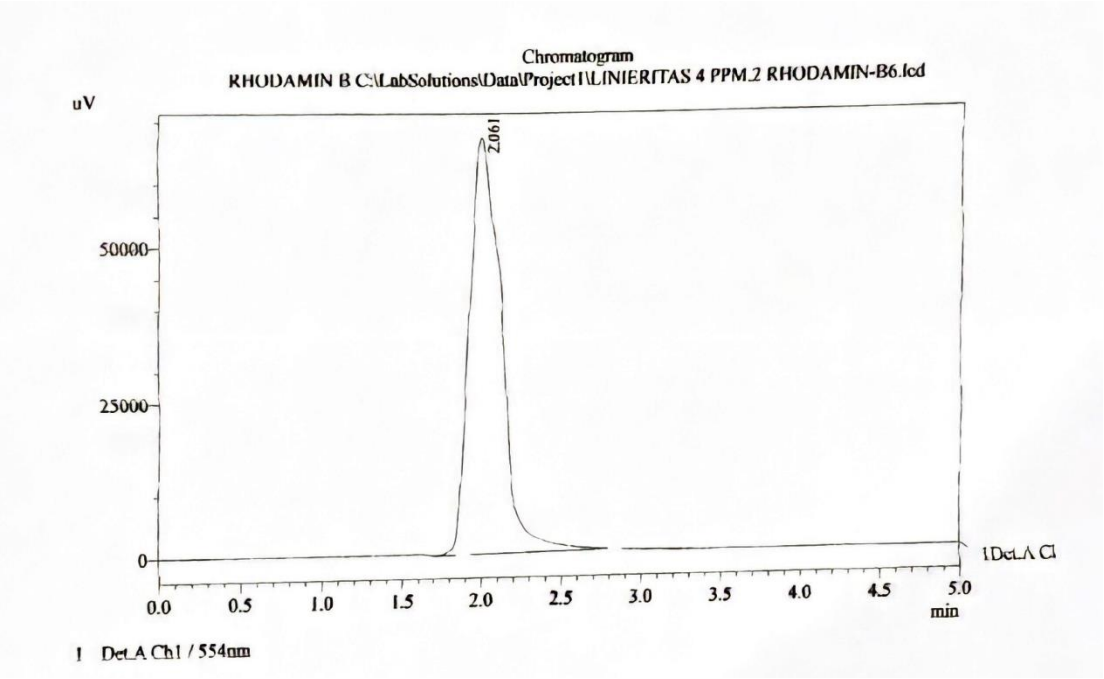


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.014	558239	42084	100.000	100.000
Total		558239	42084	100.000	100.000

B. Linieritas 4 ppm

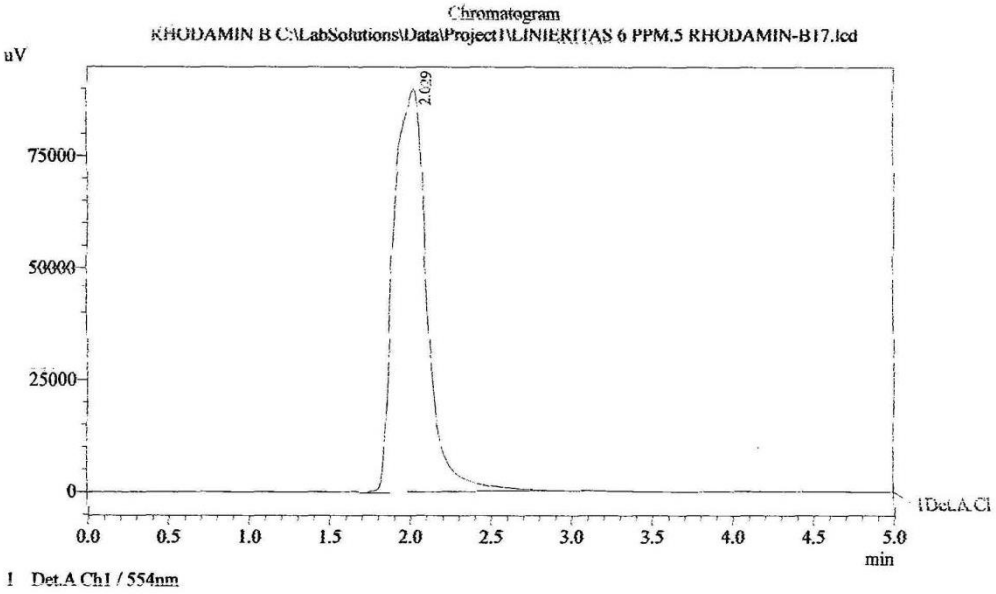


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.061	936824	67627	100.000	100.000
Total		936824	67627	100.000	100.000

C. Linieritas 6 ppm

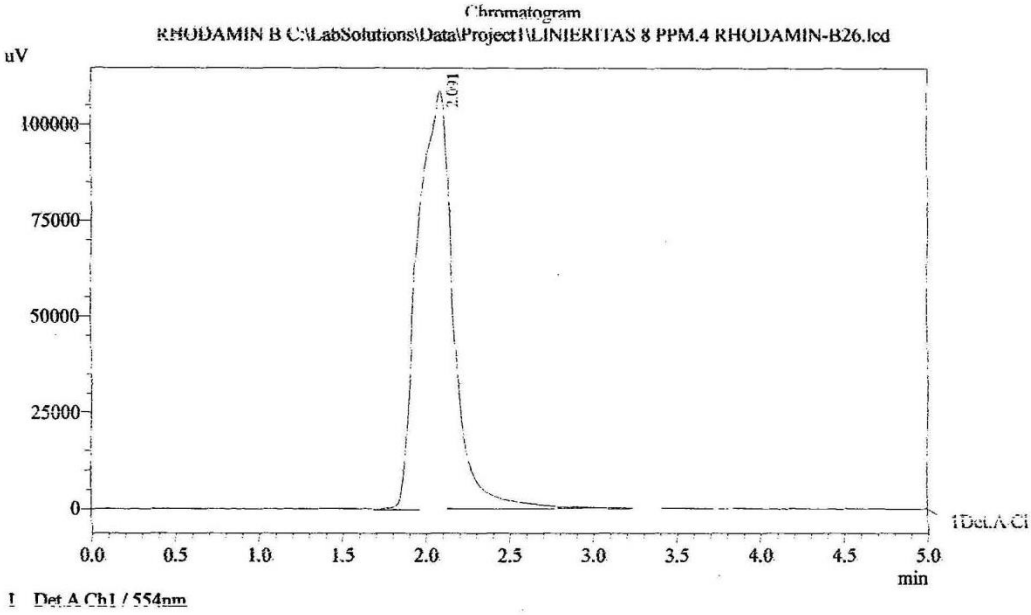


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.029	1291203	90170	100.000	100.000
Total		1291203	90170	100.000	100.000

D. Linieritas 8 ppm

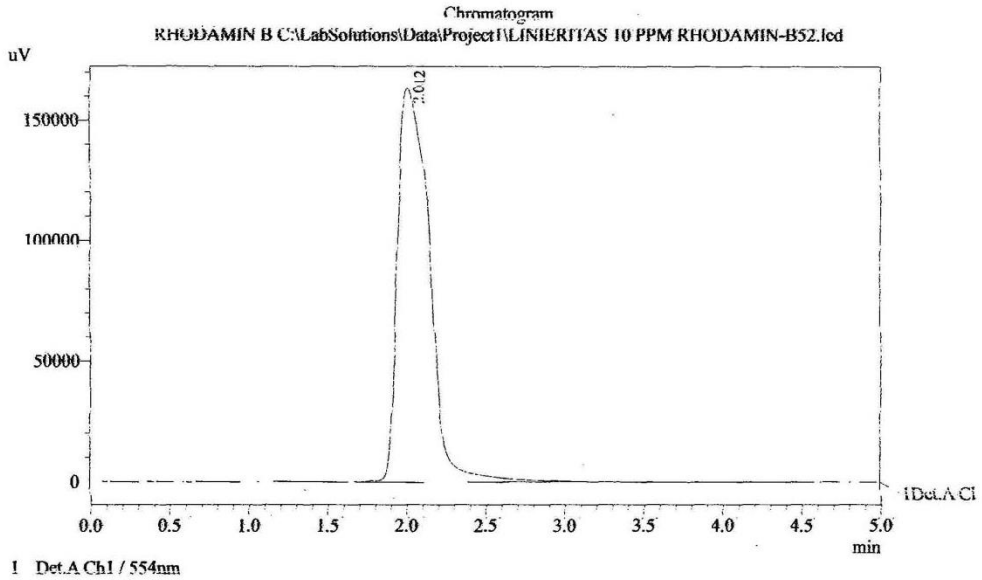


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.091	1620466	108955	100.000	100.000
Total		1620466	108955	100.000	100.000

E. Linieritas 10 ppm



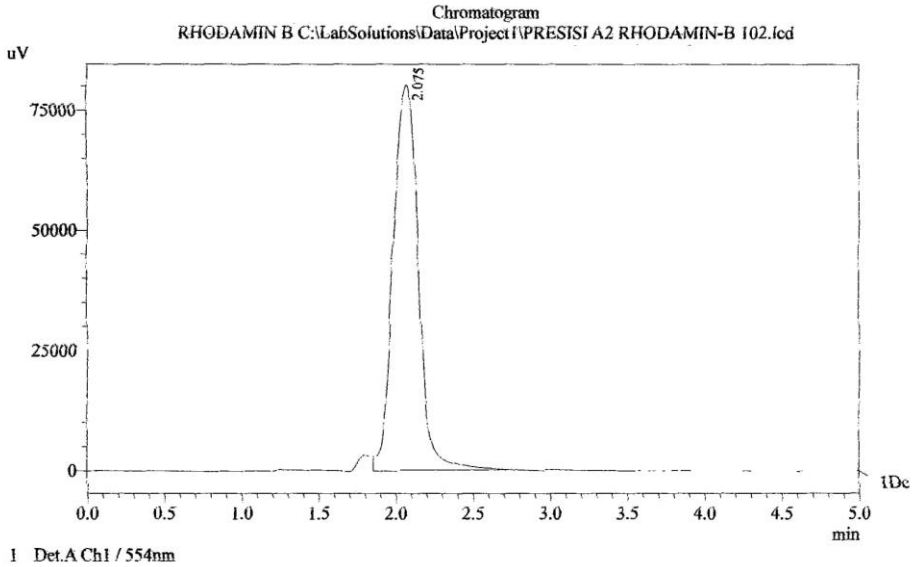
Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.012	2283560	163573	100.000	100.000
Total		2283560	163573	100.000	100.000

Lampiran 3. Kromatogram Presisi Baku Rhodamin-B

A. Presisi Replikasi ke-1

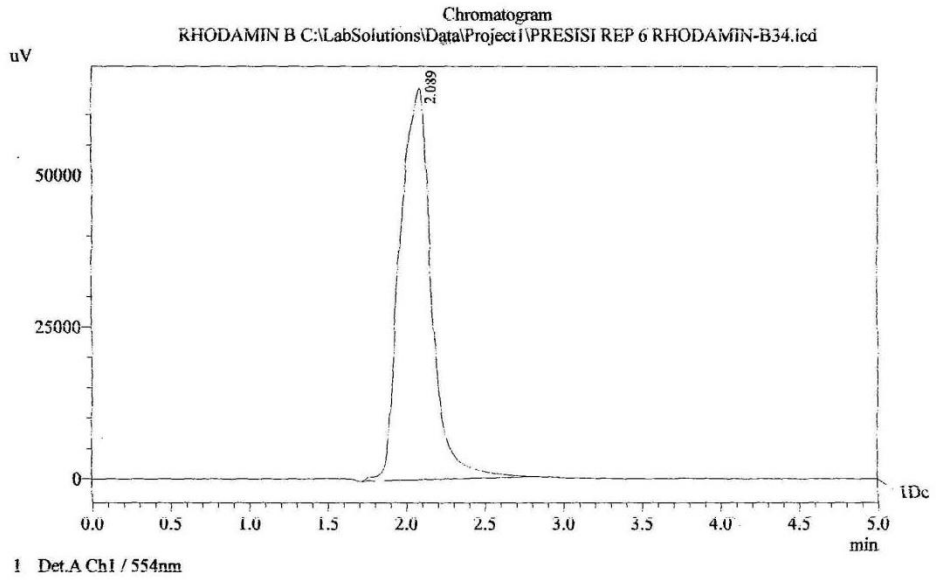


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.075	915750	80230	100.000	100.000
Total		915750	80230	100.000	100.000

B. Presisi Replikasi ke-2

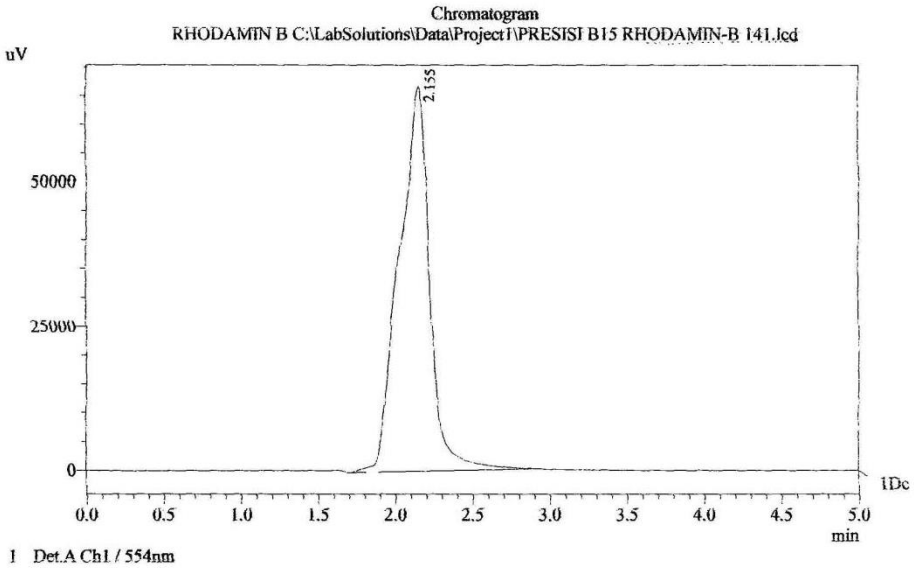


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.089	900011	64565	100.000	100.000
Total		900011	64565	100.000	100.000

C. Presisi Replikasi ke-3

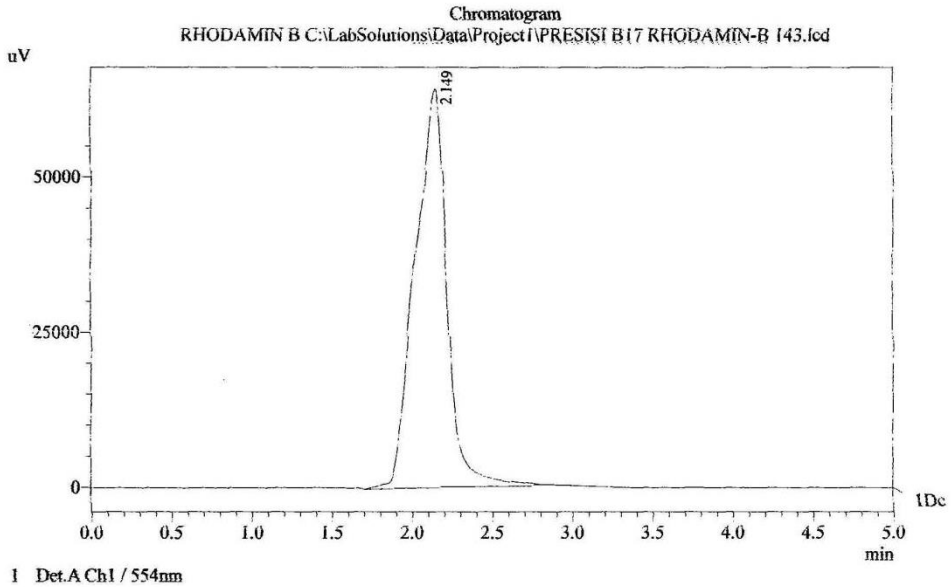


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.155	918980	66732	100.000	100.000
Total		918980	66732	100.000	100.000

D. Presisi Replikasi ke-4

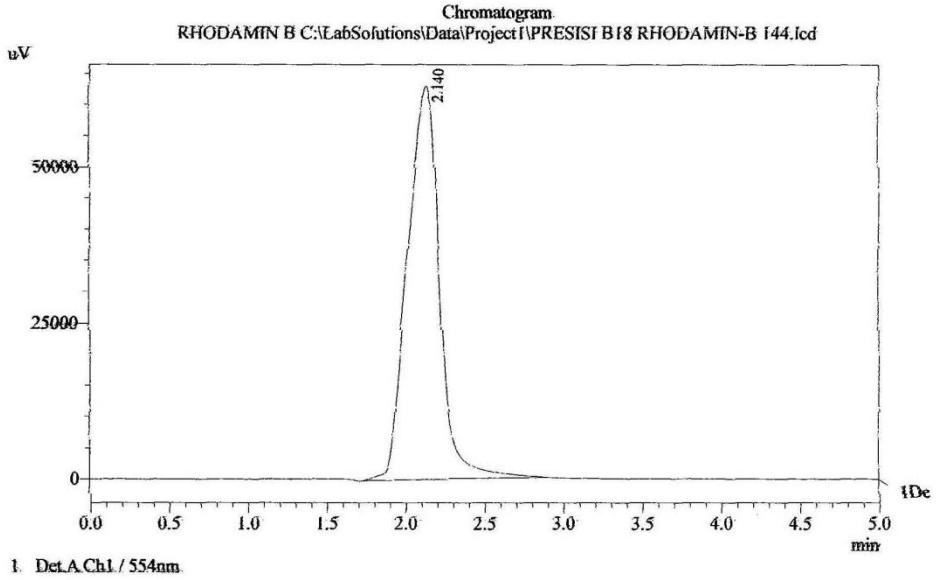


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.149	891592	64345	100.000	100.000
Total		891592	64345	100.000	100.000

E. Presisi Replikasi ke-5

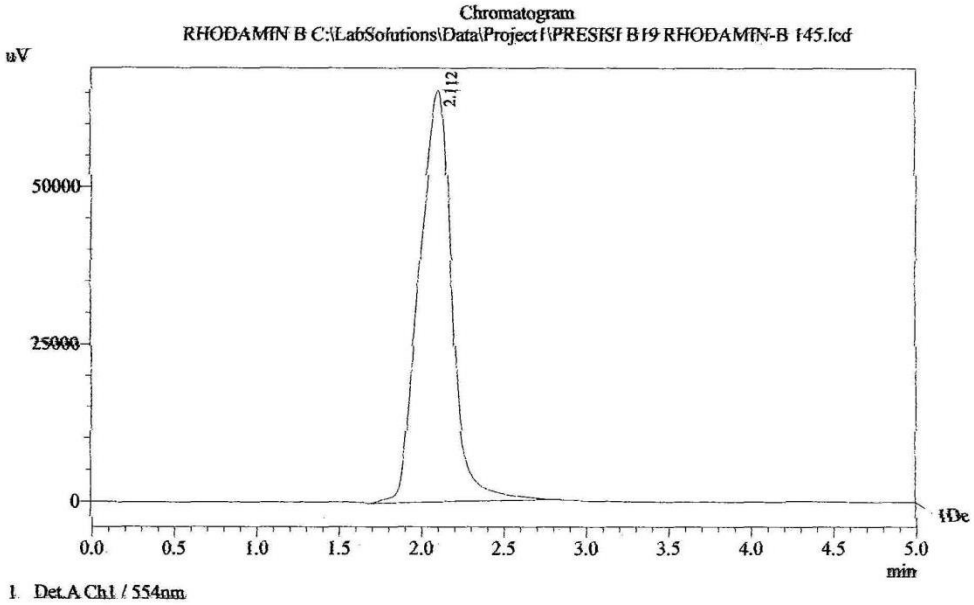


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.140	894022	63044	100.000	100.000
Total		894022	63044	100.000	100.000

F. Presisi Replikasi ke-6



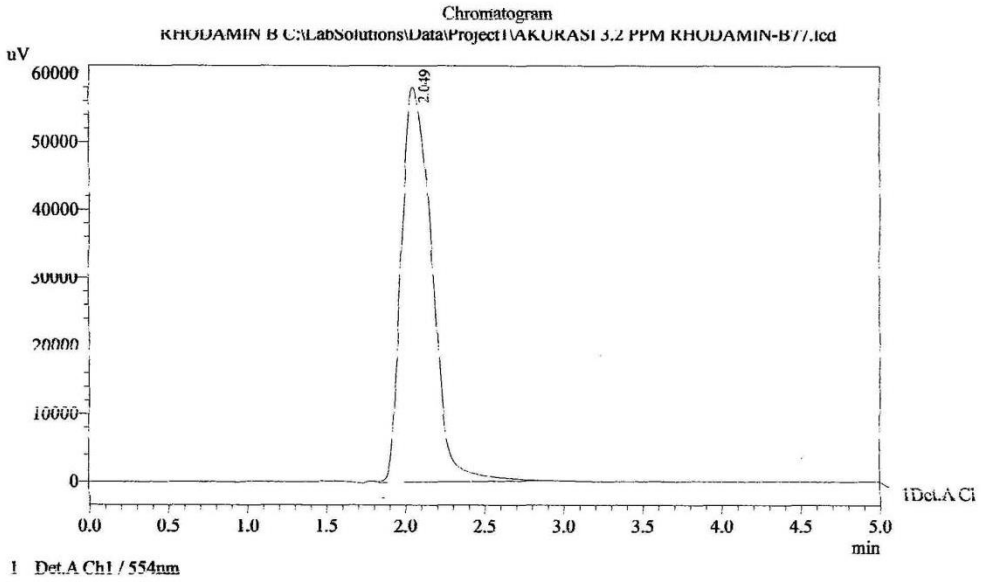
Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.112	903550	65492	100.000	100.000
Total		903550	65492	100.000	100.000

Lampiran 4. Kromatogram Akurasi Baku Rhodamin-B

A. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 80%

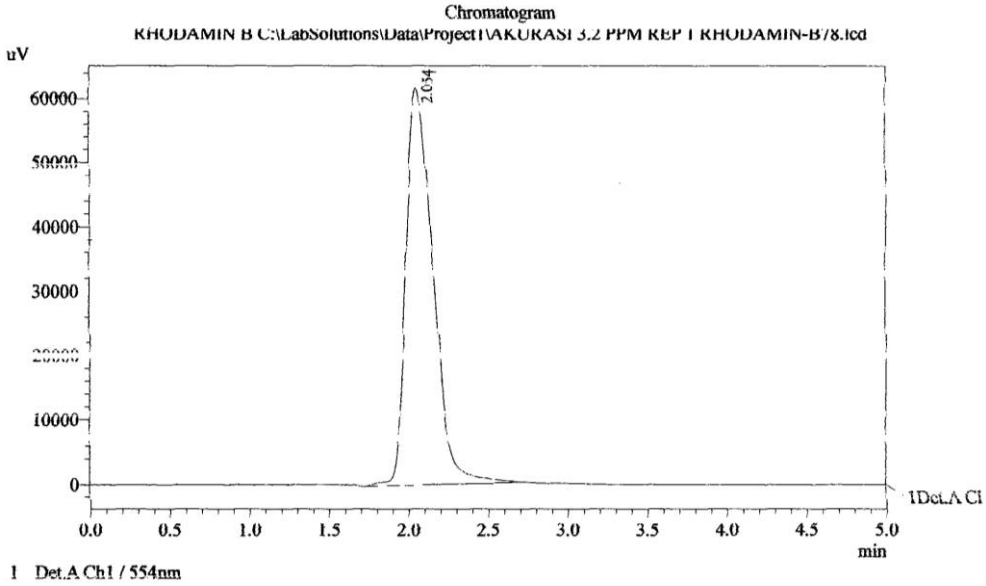


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.049	780149	58086	100.000	100.000
Total		780149	58086	100.000	100.000

B. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 80%Replikasi ke-1

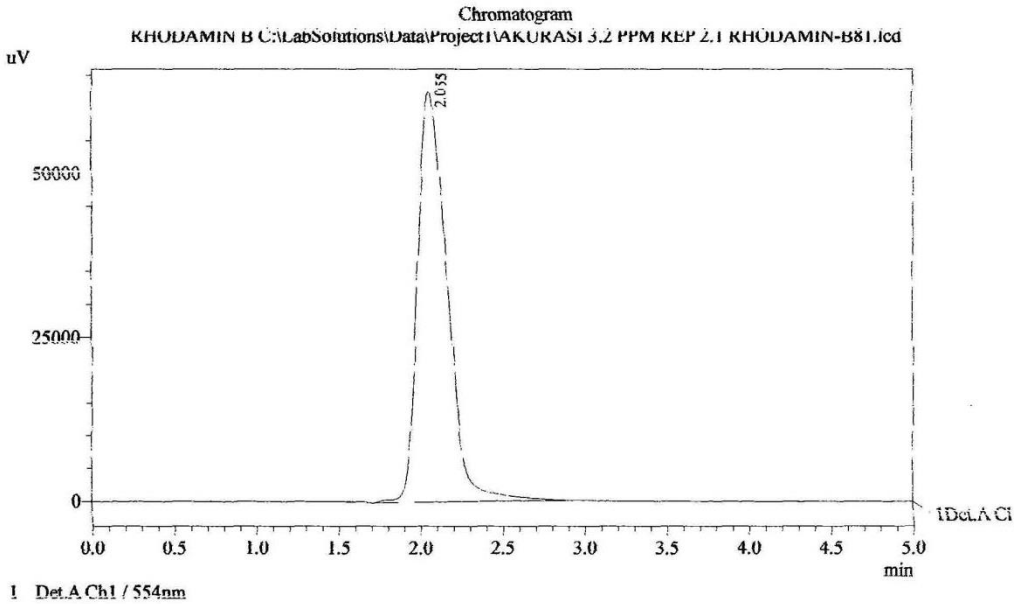


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.054	734427	61851	100.000	100.000
Total		734427	61851	100.000	100.000

C. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 80%Replikasi ke-2

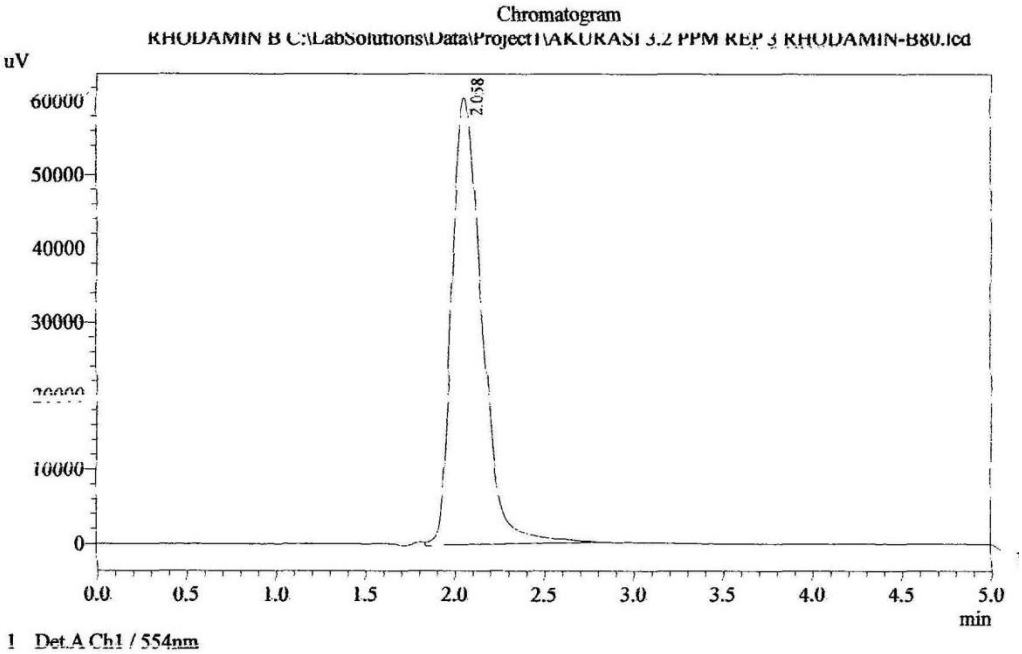


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.055	786082	62623	100.000	100.000
Total		786082	62623	100.000	100.000

D. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 80%Replikasi ke-3

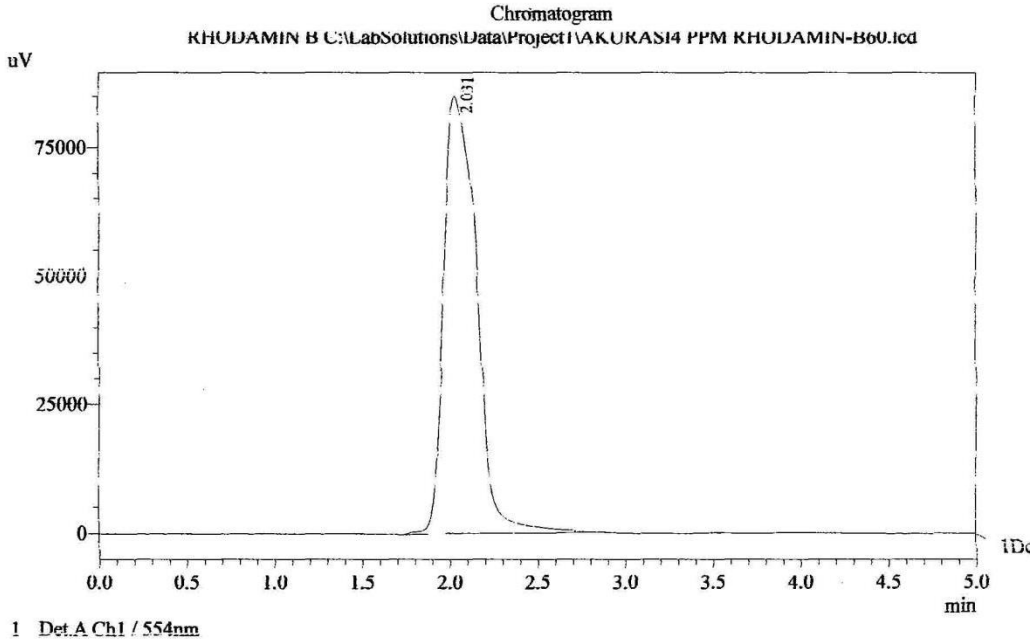


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.058	710481	60649	100.000	100.000
Total		710481	60649	100.000	100.000

E. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 100%

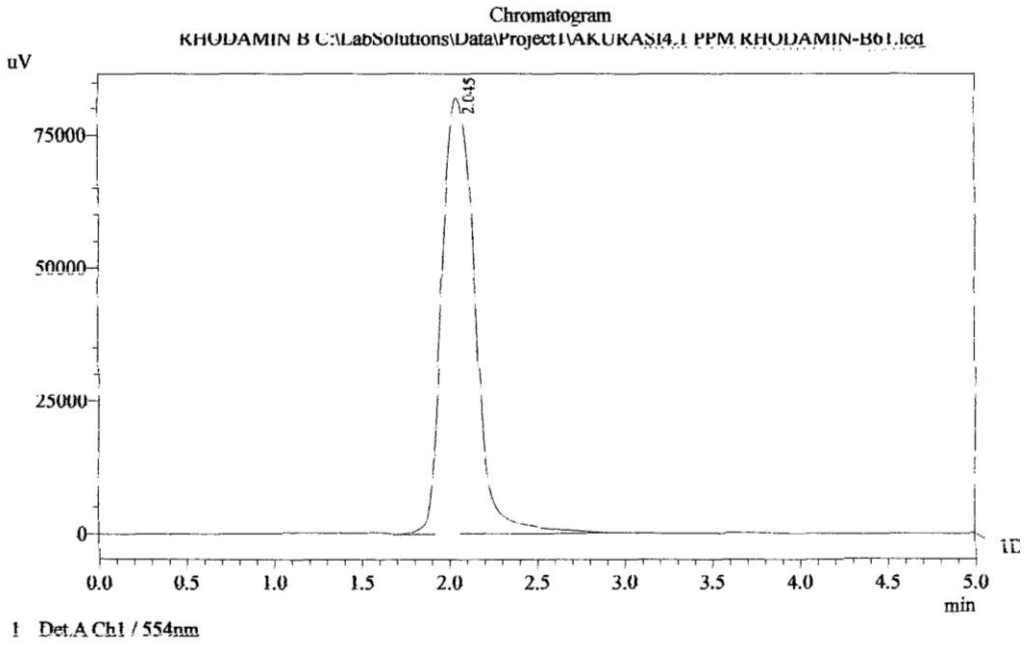


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.031	1106007	85156	100.000	100.000
Total		1106007	85156	100.000	100.000

F. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 100%Replikasi ke-1

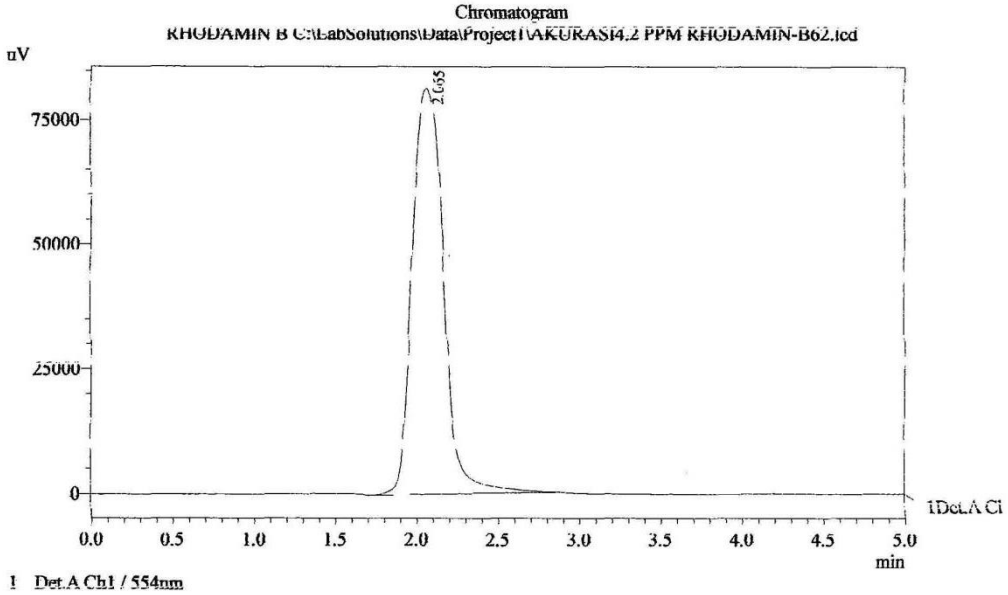


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.045	1081324	82305	100.000	100.000
Total		1081324	82305	100.000	100.000

G. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 100%Replikasi ke-2

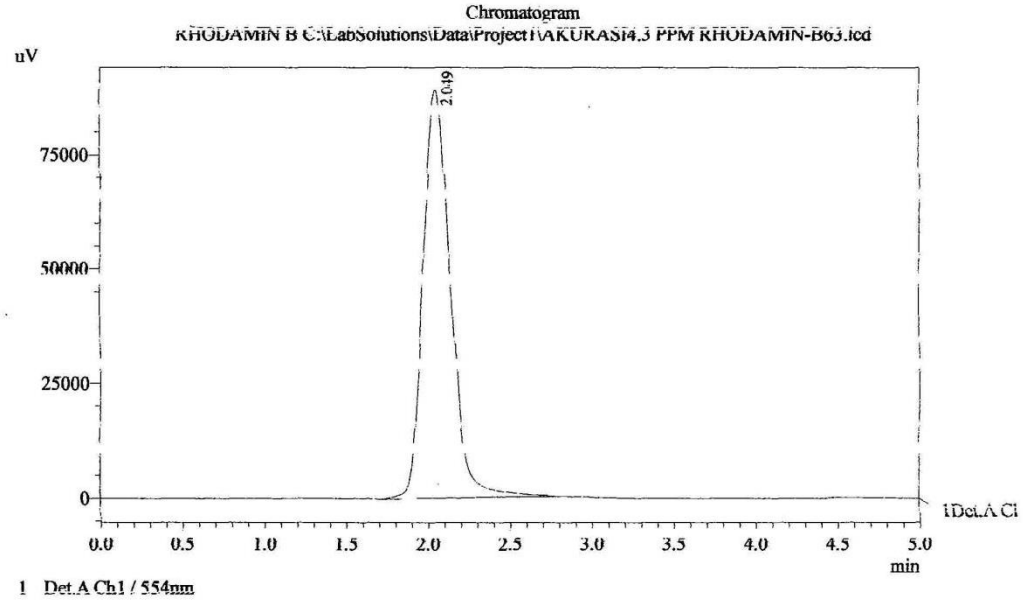


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.065	1093806	81464	100.000	100.000
Total		1093806	81464	100.000	100.000

H. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 100%Replikasi ke-3

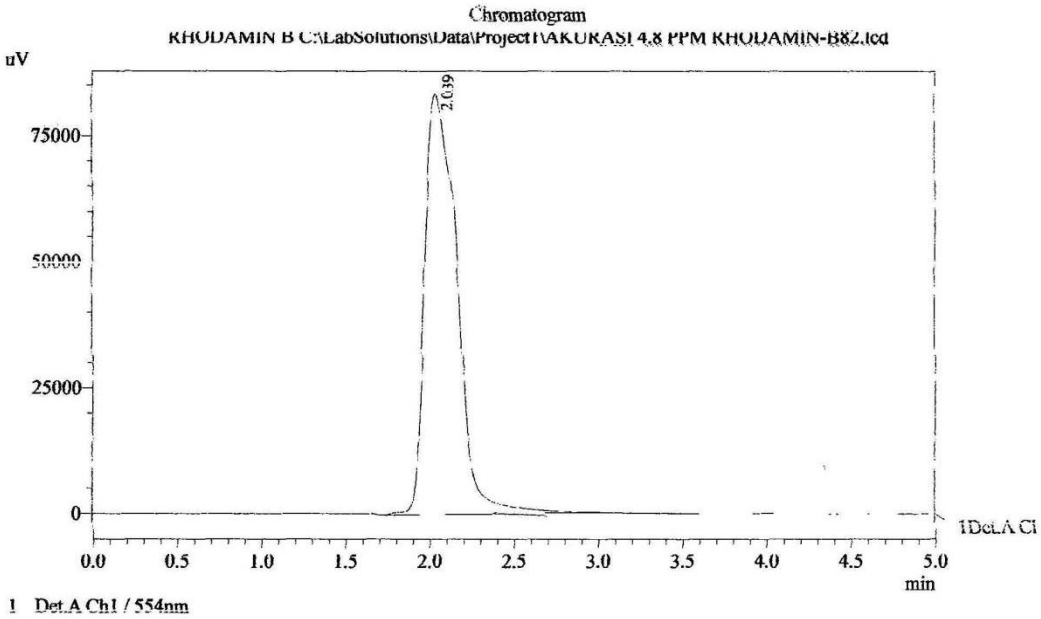


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.049	1045893	89306	100.000	100.000
Total		1045893	89306	100.000	100.000

I. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 120%

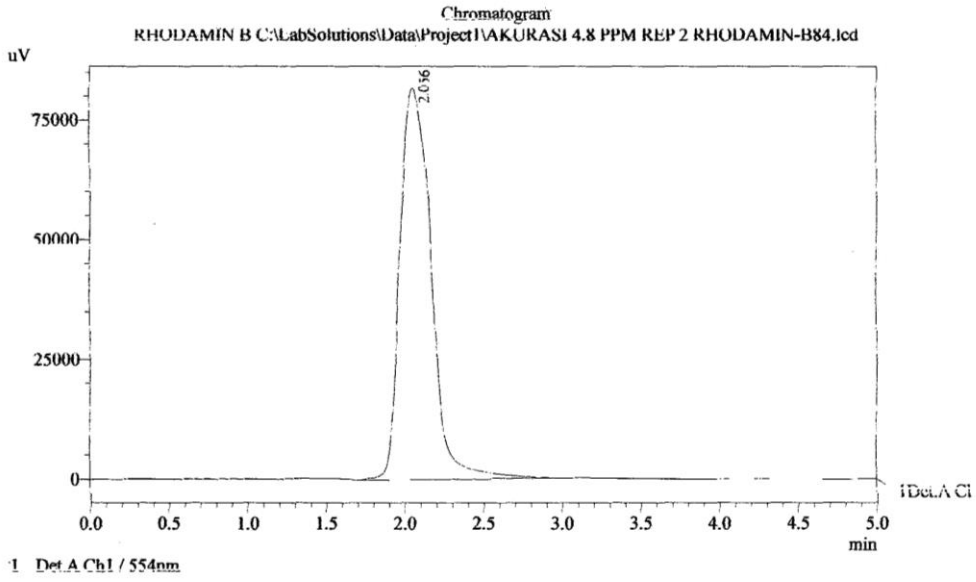


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.039	1112286	83469	100.000	100.000
Total		1112286	83469	100.000	100.000

J. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 120%Replikasi ke-1

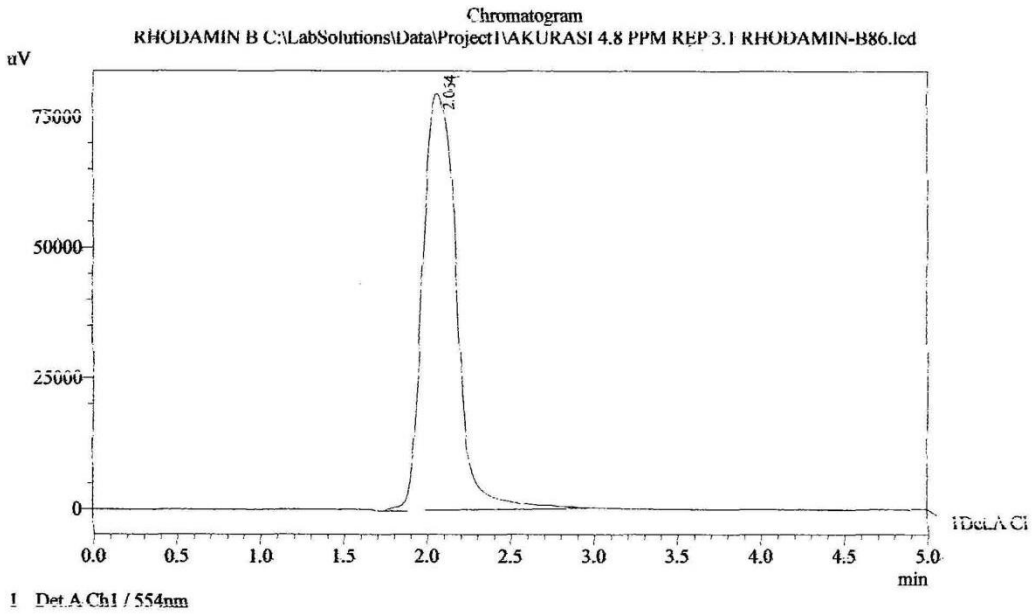


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.056	1131265	81884	100.000	100.000
Total		1131265	81884	100.000	100.000

K. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 120%Replikasi ke-2

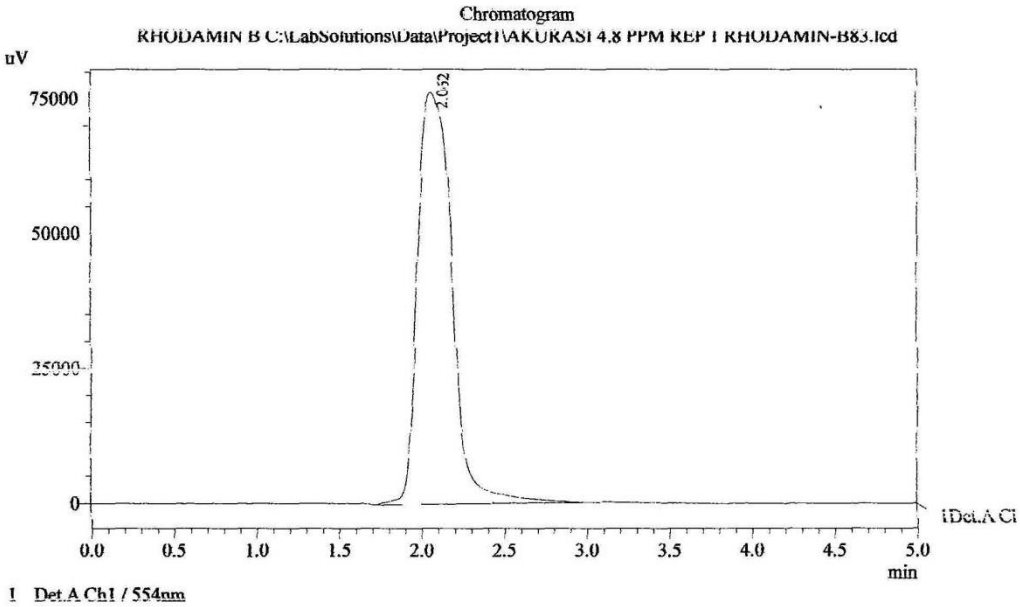


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.064	1127221	79854	100.000	100.000
Total		1127221	79854	100.000	100.000

L. Akurasi Baku Rhodamin-B Konsentrasi 120%Replikasi ke-3



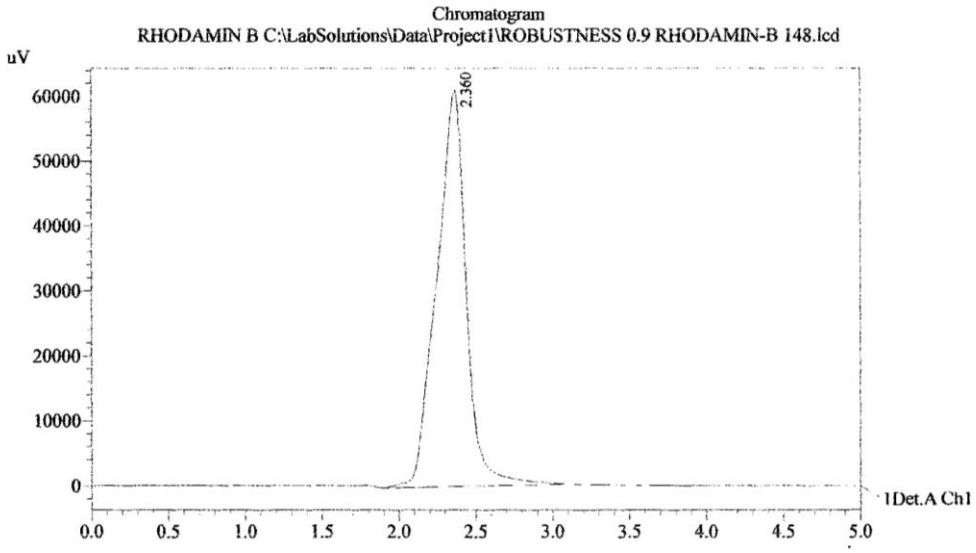
Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.062	1112255	76500	100.000	100.000
Total		1112255	76500	100.000	100.000

Lampiran 5. Kromatogram Robustness Baku Rhodamin-B

A. Robustness 0,9 ml/menit Replikasi ke-1

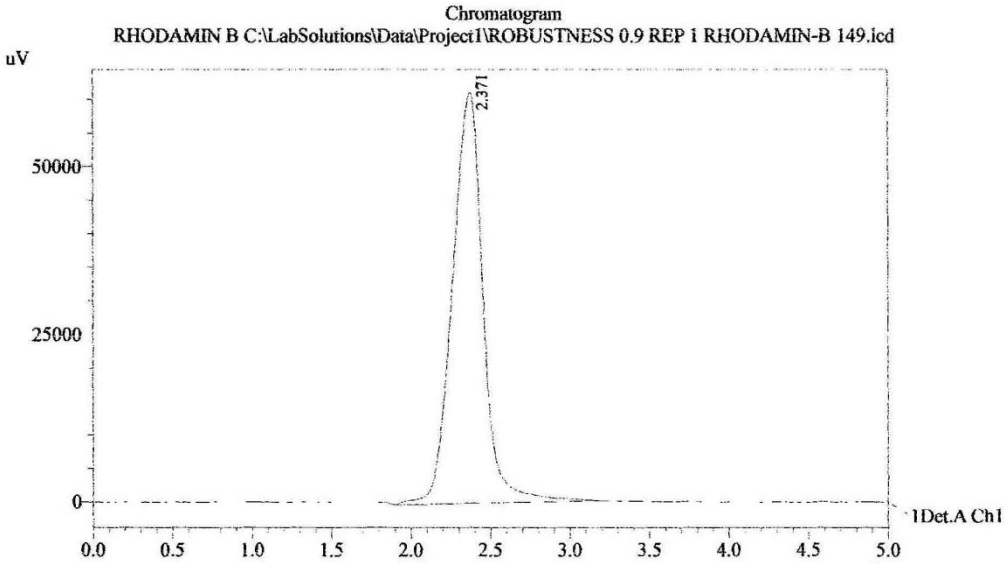


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.360	818250	60984	100.000	100.000
Total		818250	60984	100.000	100.000

B. Robustness 0,9 ml/menit Replikasi ke-2

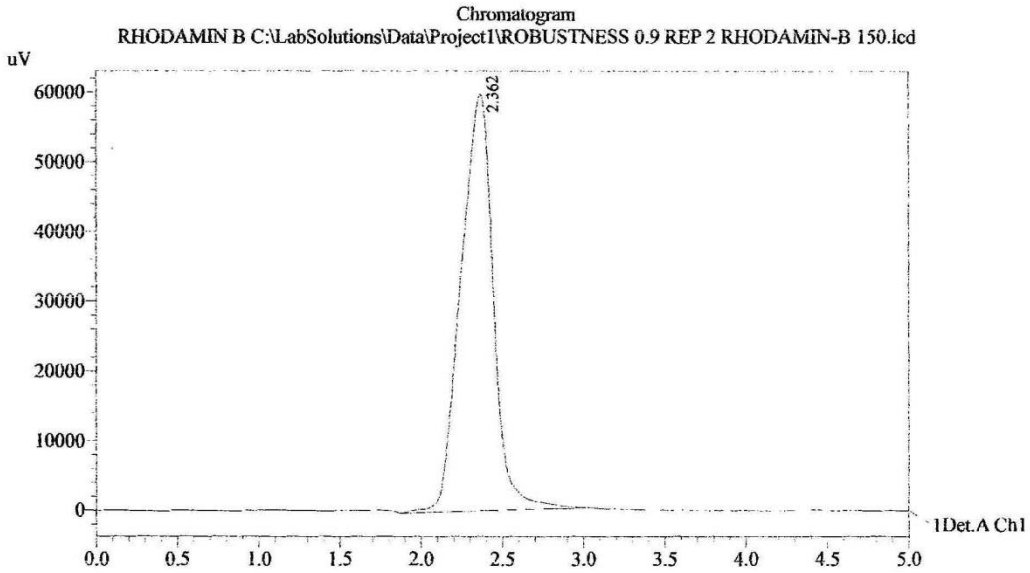


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.371	824275	61242	100.000	100.000
Total		824275	61242	100.000	100.000

C. Robustness 0,9 ml/menit Replikasi ke-3

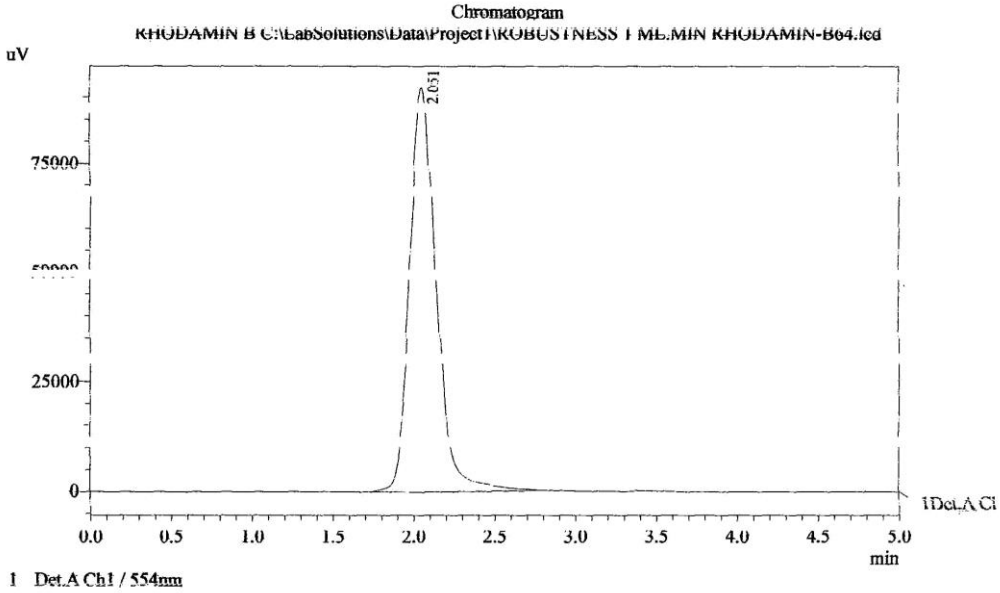


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.362	836061	59720	100.000	100.000
Total		836061	59720	100.000	100.000

D. Robustness 1 ml/menitReplikasi ke-1

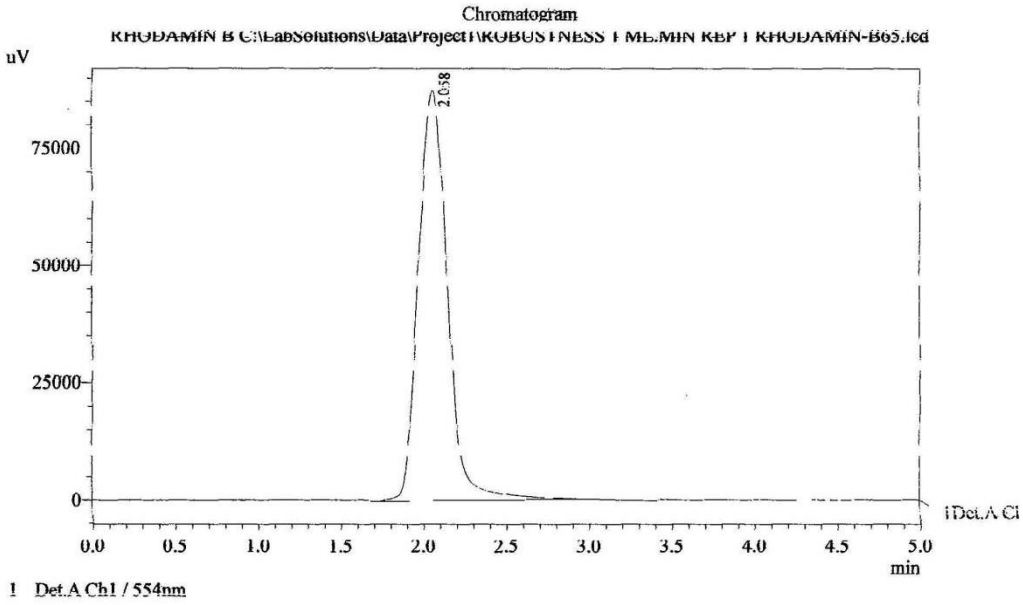


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.051	1061066	92250	100.000	100.000
Total		1061066	92250	100.000	100.000

E. Robustness 1 ml/menit Replikasi ke-2

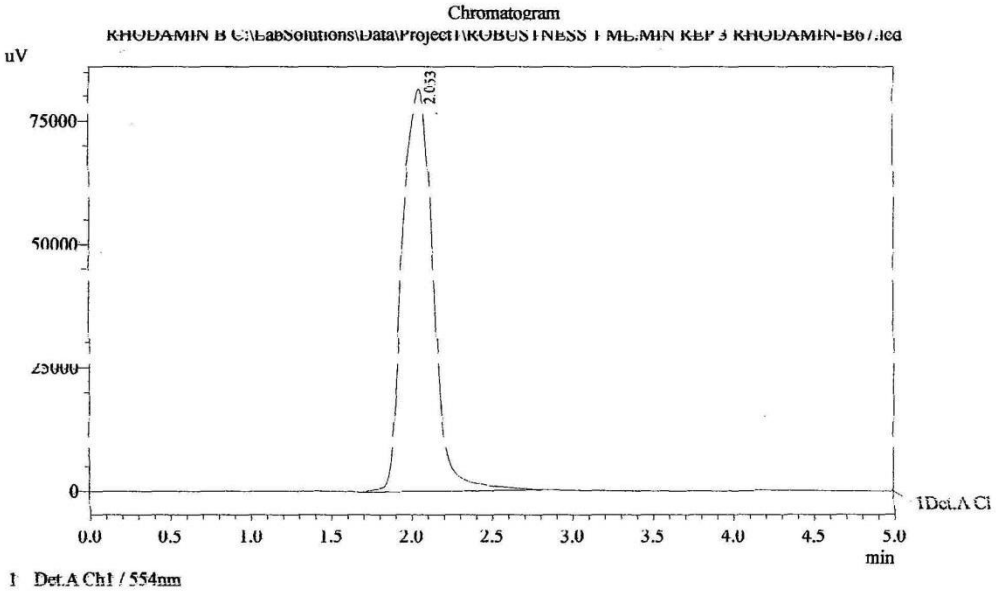


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.058	1074357	87441	100.000	100.000
Total		1074357	87441	100.000	100.000

F. Robustness 1 ml/menit Replikasi ke-3



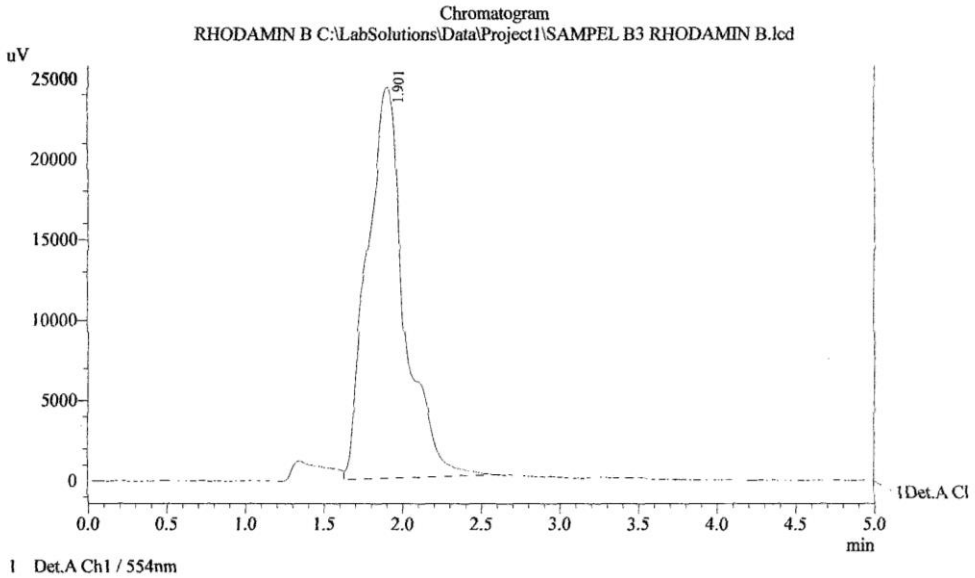
Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.053	1084929	81738	100.000	100.000
Total		1084929	81738	100.000	100.000

Lampiran 6. Kromatogram Sampel

A. Sampel Replikasi ke-1

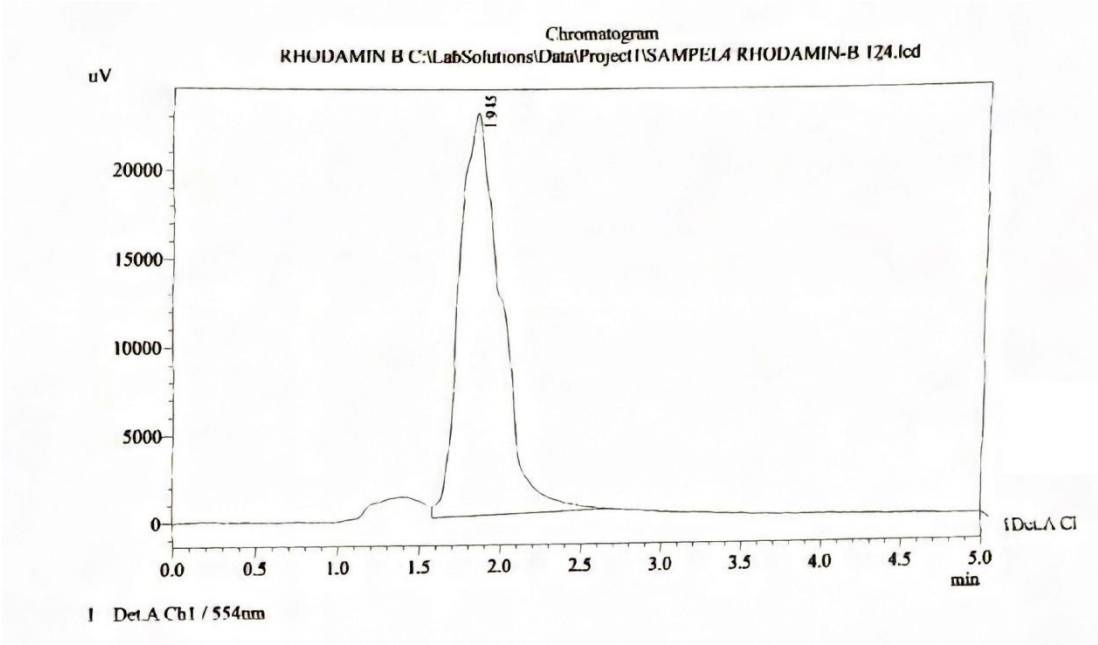


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.901	400468	24275	100.000	100.000
Total		400468	24275	100.000	100.000

B. Sampel Replikasi ke-2

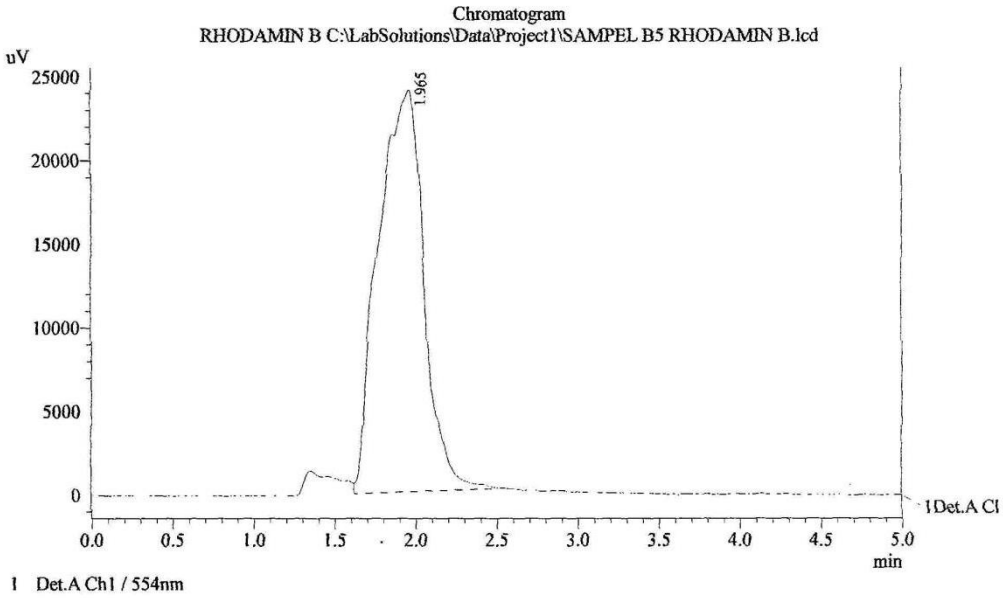


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.945	412480	22955	100.000	100.000
Total		412480	22955	100.000	100.000

C. Sampel Replikasi ke-3

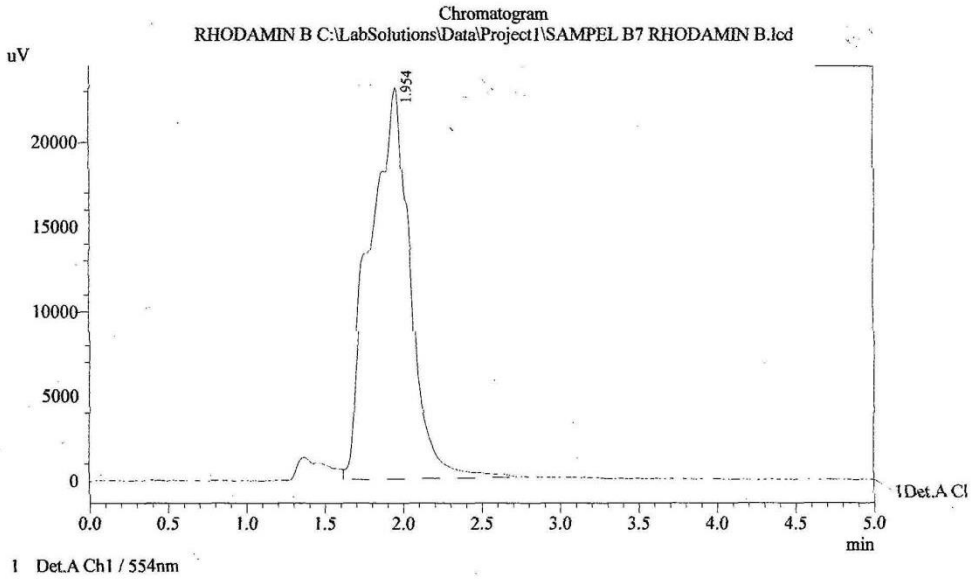


Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.965	468642	23982	100.000	100.000
Total		468642	23982	100.000	100.000

D. Sampel Replikasi ke-4



Peak Table

Detector A Chl 554 nm

Peak	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	1.954	414372	23117	100.000	100.000
Total		414372	23117	100.000	100.000

Lampiran 7. Perhitungan

A. Pembuatan Larutan Induk 1000 ppm sebanyak 10 mL

PPM = $\frac{mg}{l}$

1000 = $\frac{mg}{0,01}$

mg = 10 mg

B. Pembuatan seri kadar pengenceran dari baku induk 1000 ppm ad 10 mL

1. Konsentrasi 1 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 1 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,01 ml → 10 µL
2. Konsentrasi 2 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 2 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,02 ml → 20 µL
3. Konsentrasi 3 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 3 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,03 ml → 30 µL
4. Konsentrasi 4 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 4 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,04 ml → 40 µL
5. Konsentrasi 5 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 5 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,05 ml → 50 µL
6. Konsentrasi 6 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 6 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,06 ml → 60 µL
7. Konsentrasi 7 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 7 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,07 ml → 70 µL
8. Konsentrasi 8 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 8 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,08 ml → 80 µL

9. Konsentrasi 9 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 9 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,09 ml → 90 µL
10. Konsentrasi 10 ppm
   V1 x M1 = V2 x M2
   10 x 10 PPM = V2 x 1000
   V2 = 0,1 ml → 100 µL

C. Perhitungan Presisi dan Kadar Perolehan Kembali

1. Contoh perhitungan persen perolehan kembali pada kadar Rhodamin-B kadar 4 ppm dengan konsentrasi 80% replikasi pertama
   Kadar Rhodamin B sesungguhnya = 3,30 ppm

   $$\% \text{ recovery} = \frac{hasil\ berdasarkan\ pengukuran}{hasil\ sesungguhnya} \times 100\%$$
   $$= \frac{3{,}07}{3{,}30} \times 100\%$$
   $$= 93{,}03\ \%$$

2. Contoh perhitungan persen perolehan kembali pada kadar Rhodamin-B kadar 4 ppm dengan konsentrasi 100% replikasi pertama
   Kadar Rhodamin B sesungguhnya = 4,87 ppm

   $$\% \text{ recovery} = \frac{hasil\ berdasarkan\ pengukuran}{hasil\ sesungguhnya} \times 100\%$$
   $$= \frac{4{,}75}{4{,}87} \times 100\%$$
   $$= 97{,}53\ \%$$

3. Contoh perhitungan persen perolehan kembali pada kadar Rhodamin-B kadar 4 ppm dengan konsentrasi 120% replikasi pertama
   Kadar Rhodamin B sesungguhnya = 4,90 ppm

   $$\% \text{ recovery} = \frac{hasil\ berdasarkan\ pengukuran}{hasil\ sesungguhnya} \times 100\%$$
   $$= \frac{4{,}99}{4{,}90} \times 100\%$$
   $$= 101{,}83\ \%$$

4. Contoh perhitungan %RSD pada Rhodamin B 4 ppm

   %RSD $= \frac{SD}{x'}$ x 100%

   $= \frac{0,052789}{3,896667}$ x 100%

   = 1,354719 %

D. Perhitungan kadar Rhodamin-B Pada Sampel

   Persamaan regresi linier

   y= 206714x + 97773 dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9896.

1. Sampel replikasi ke-1, Luas Area = 400468

   400468 = 206714x + 97773

   400468 – 97773 = 206714x

   302695 = 206714x

   X = 1,464 ppm
2. Sampel replikasi ke-2, Luas Area = 468642

   468642 = 206714x + 97773

   468642 – 97773 = 206714x

   370869 = 206714x

   X = 1,794 ppm
3. Sampel replikasi ke-3, Luas Area = 414372

   414372 = 206714x + 97773

   414372 – 97773 = 206714x

   316599 = 206714x

   X = 1,531 ppm
4. Sampel replikasi ke-4, Luas Area = 412480

   412480 = 206714x + 97773

   412480 – 97773 = 206714x

   314707 = 206714x

   X = 1,522 ppm

LABORATORIUM FARMASI

STIKES BHAKTI HUSADA MULIA MADIUN

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

Telp/Fax (0351) 491947

SURAT KETERANGAN

Nomor : 059/Lab.Far/BHM/VI/2022

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

Nama : Ardhyana Ria Wahyuningtyas

Nim : 201808008

Program studi : S1 Farmasi

Telah Melakukan Penelitian Di laboratorium Farmasi Stikes Bhakti Husada Mulia Madiun Dengan Judul : "Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Pada Penetapan Rhodamin-B dalam *Lip Cream* Yang Beredar Di Aplikasi Belanja Online".

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Madiun, 03 Juni 2022

Mengetahui,

Kepala Laboratorium Farmasi

Apt. Yetti Hariningsih, M.Farm

NIS: 20170140