

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di zaman modern ini penggunaan kosmetik untuk menambah estetika semakin meningkat. Kosmetika adalah sediaan atau paduan bahan yang siap digunakan pada bagian luar badan (epidemis, rambut, kuku, bibir dan organ kelamin luar), gigi dan rongga mulut untuk membersihkan, menambah daya tarik mengubah penampilan, melindungi kulit supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit (1). Salah satu produk kosmetika yang digunakan khususnya bagi para wanita yaitu lip cream.

Lip cream merupakan sediaan 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. Jenis ini cenderung mengandung lebih banyak kandungan lilin sehingga dapat berfungsi sebagai pelindung bibir dari sinar matahari langsung (2).

Bibir merupakan kulit yang memiliki ciri tersendiri dengan kulit jangat yang sangat tipis, aliran darah lebih banyak mengalir di daerah permukaan kulit bibir, tidak terdapat kelenjer keringat, dan sangat jarang terdapat kelenjer lemak sehingga kulit bibir lebih peka dibandingkan kulit lainnya. Karena itu hendaknya

berhati-hati dalam memilih bahan yang digunakan untuk sediaan lipstik, terutama dalam hal memilih zat warna yang digunakan untuk maksud pembuatan sediaan tersebut (3).

Rhodamin B adalah bahan kimia yang digunakan sebagai bahan pewarna dasar dalam tekstil dan kertas (4). Rhodamin B merupakan zat warna sintetis berbentuk serbuk kristal, tidak berbau, berwarna merah keunguan, dalam bentuk larutan berwarna merah terang berpendar (berfluoresensensi) (4).

Penggunaan rhodamin B pada makanan dan kosmetik dalam waktu lama akan mengakibatkan kanker dan gangguan fungsi hati. Namun demikian, bila terpapar rhodamin B dalam jumlah besar maka dalam waktu singkat akan terjadi gejala akut keracunan rhodamin B. Bila rhodamin B tersebut masuk melalui makanan akan mengakibatkan iritasi pada saluran pencernaan dan mengakibatkan gejala keracunan dengan urin yang berwarna merah maupun merah muda. Selain melalui makanan ataupun kosmetik, rhodamin B juga dapat mengakibatkan gangguan kesehatan, jika terhirup terjadi iritasi pada saluran pernafasan. Mata yang terkena rhodamin B juga akan mengalami iritasi yang ditandai dengan mata kemerahan dan timbunan cairan atau udem pada mata. Jika terpapar pada bibir dapat menyebabkan bibir akan pecah-pecah, kering, dan gatal. Bahkan, kulit bibir terkelupas (4).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Syakri, S. tentang Analisa Kandungan Rhodamin B sebagai Pewarna pada Sediaan Lipstik Impor yang Beredar di Kota Makassar didapat hasil dari 6 sampel Lipstik yang dianalisis, 1 diantaranya teridentifikasi mengandung Rhodamin B sedangkan penelitian yang dilakukan

oleh Jusnita, N. dkk, tentang Identifikasi Rhodamin B pada Sediaan Lipstik yang Beredar di Pasar Jakarta Utara dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis didapat hasil dari 25 sampel Lipstik yang diteliti, 4 diantaranya teridentifikasi mengandung Rhodamin B.

Berdasarkan hal diatas maka peneliti melakukan pengujian analisa kandungan Rhodamin B pada Lip Cream Impor yang beredar di Mall Plaza Medan Fair (Carrefour) dan Pasar USU (Pajus) Kota Medan

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah Lip Cream Impor yang beredar di Mall Plaza Medan Fair (Carrefour) dan Pasar USU (Pajus) kota Medan mengandung zat pewarna Rhodamin B?
- b. Berapa kadar Rhodamin B yang terkandung dalam Lip Cream Impor yang beredar di Mall Plaza Medan Fair (Carrefour) dan Pasar USU (Pajus) yang ada dikota Medan?

1.3 Hipotesis

Diduga pada Lip cream yang dijual di Mall Plaza Medan Fair (Carrefour) dan Pasar USU (Pajus) Kota Medan mengandung Rhodamin B

1.4 Tujuan Penelitian

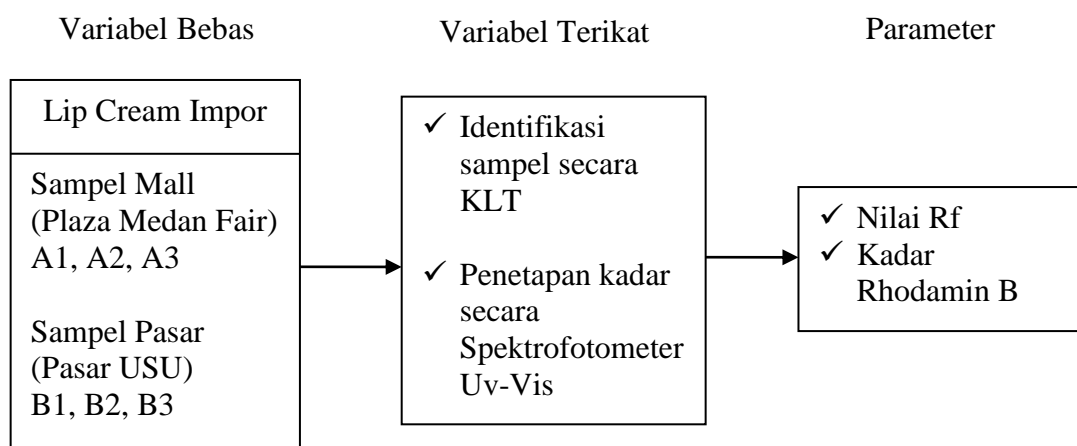
- a. Untuk Mengetahui adanya kandungan Rhodamin B pada Lip Cream Impor yang beredar di Mall Plaza Medan Fair (Carrefour) dan Pasar USU (Pajus) Kota Medan

- b. Untuk Mengetahui kadar Rhodamin B yang terkandung pada Lip Cream Impor yang beredar di Mall Plaza Medan Fair (Carrefour) dan Pasar USU (Pajus) Kota Medan

1.5 Manfaat Penelitian

- a. Sebagai informasi dan referensi bagi ilmu pengetahuan di bidang kefarmasian
- b. Sebagai informasi bagi masyarakat untuk lebih berhati-hati dalam memilih jenis kosmetik terutama Lip Cream dan juga sebagai masukan kepada Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) di Medan dalam melakukan pengawasan sediaan kosmetik
- c. Sebagai referensi dalam penelitian terutama tentang Rhodamin B pada Lip Cream

1.6 Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 1.1 : Kerangka Pikir Penelitian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Kosmetik

Kosmetika berasal dari kata *kosmein* (Yunani) yang berarti “Berhias”. Bahan yang dipakai dalam usaha untuk mempercantik diri ini, dahulu diramu dari bahan-bahan alami yang terdapat disekitarnya. Sekarang kosmetika dibuat manusia tidak hanya dari bahan alami tetapi juga bahan buatan untuk maksud meningkatkan kecantikan (7).

Kosmetika 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 (8).

1. Penggolongan Kosmetik

Adapun penggolongan kosmetik terbagi atas beberapa penggolongan diantaranya :

- a. Menurut Jellinek (1959) dalam *Formulation and Function of Cosmetics* membuat penggolongan kosmetika menjadi
 - 1) Preparat pembersih
 - 2) Preparat deodorant dan antiprespirasi
 - 3) Preparat protektif

- 4) Preparat dengan efek dalam
 - 5) Emolien
 - 6) Preparat dekoratif/superficial
 - 7) Preparat dekoratif/dalam
 - 8) Preparat buat kesenangan
- b. Menurut Wells FV dan Lubowe-II (*Cosmetics and The Skin*, 1964) mengelompokan kosmetik menjadi :
- 1) Preparat untuk kulit muka
 - 2) Preparat untuk higienis mulut
 - 3) Preparat tangan dan kaki
 - 4) Kosmetik badan
 - 5) Preparat untuk rambut
 - 6) Kosmetika untuk pria dan wanita
- c. Menurut Brauer EW dan *Principles of Cosmetics for The Dermatologist* membuat Klasifikasi sebagai berikut :
- 1) *Toiletries* : sabun, shampo, pengkilap rambut, kondisioner rambut, penata, pewarna, pengeriting, pelurus rambut, deodorant, antiprespirant, dan tabir surya.
 - 2) *Skin Care* : pencukur, Pembersih, astringen, toner, pelembab, masker, krim malam, dan bahan untuk mandi.
 - 3) *Make Up* : *foundation, eye make up, lipstick, rouges, blushers*, enamel kuku

4) *Fragrance* : *perfumes, colognes, toilet waters, body silk, bath powders.*

d. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI, kosmetik dibagi menjadi :

- 1) Preparat untuk bayi (misalnya minyak bayi, bedak bayi)
- 2) Preparat untuk mandi, (misalnya sabun mandi, *bath capsule*)
- 3) Preparat untuk mata (misalnya *eye shadow*, maskara, *eye liner*)
- 4) Preparat wangi-wangian (misalnya parfum, toilet water)
- 5) Preparat untuk rambut (misalnya gel rambut, *hair spray*)
- 6) Preparat *make up* (kecuali mata, misalnya bedak, *lip cream*)
- 7) Preparat pewarna rambut (misalnya cat rambut)
- 8) Preparat untuk kebersihan mulut (misalnya pasta gigi, obat kumur)
- 9) Preparat untuk kebersihan badan (misalnya *deodorant*)
- 10) Preparat kuku (misalnya cat kuku)
- 11) Preparat cukur (misalnya sabun cukur)
- 12) Preparat perawatan kulit (misalnya pembersih, pelembab, pelindung)
- 13) Preparat untuk Proteksi sinar matahari (misalnya *sunscreen, foundatioun*) (7).

e. Penggolongan menurut sifat dan cara pembuatannya

1. Kosmetik modern. Diramu dari bahan kimia dan diolah secara modern (termasuk antaranya adalah *Cosmedics*)

2. Kosmetik tradisional

- a) Betul-betul tradisional, misalnya mangir, lulur, yang dibuat dari bahan alam dan diolah menurut resep dan cara yang turun temurun
- b) Semi tradisional, diolah secara modern dan diberi bahan pengawet agar tahan lama
- c) Hanya namanya saja tradisional, tetapi bahan-bahannya tidak diramu secara tradisional dan juga tanpa ada komponen yang tradisional, melainkan dibentuk sedemikian rupa sehingga menyerupai kosmetik berbahan tradisional (9).

f. Penggolongan menurut kegunaannya bagi kulit

1. Kosmetik perawatan kulit (*skin-care cosmetics*)

Jenis ini perlu untuk merawat kebersihan dan kesehatan kulit termasuk didalamnya adalah

- a. Kosmetik untuk membersihkan kulit (*cleanser*) : sabun, *cleansing cream*, *cleansing milk*, dan penyegar kulit (*freshener*).
- b. Kosmetik untuk melembabkan kulit (*moisturizer*), misalnya *moisturizing cream*, *night cream*, *anti wrinkle cream*.
- c. Kosmetik pelindung kulit, misalnya *sunscreean cream*, dan *sunscreen foundation*, *sun block / lotion*.
- d. Kosmetik untuk menipiskan atau mengampelas kulit (*peeling*) misalnya *scrub cream* yang berisikan butiran-butiran bulat halus yang berfungsi sebagai pengampelas (*abrasiver*) (9).

2. Kosmetik riasan (dekoratif atau *make-up*)

Jenis ini diperlukan untuk merias dan menutup cacat pada kulit sehingga menghasilkan penampilan yang lebih menarik serta menimbulkan efek psikologis yang baik, seperti percaya diri (*self confidence*). Dalam kosmetik riasan, peranan zat pewarna dan zat pewangi sangat besar (9).

2. Persyaratan Kosmetik

Kosmetik yang diproduksi dan atau diedarkan harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

- a. Menggunakan bahan yang memenuhi standar dan persyaratan mutu serta persyaratan lain yang ditetapkan.
- b. Diproduksi dengan menggunakan cara pembuatan kosmetik yang baik
- c. Terdaftar dan mendapat izin edar dari Badan Pengawas Obat dan Makanan (12).

Pewarna yang digunakan dalam kosmetika terdiri atas 2 jenis yaitu :

- a. Pewarna yang dapat larut dalam cairan (*solube*), air, alkohol, minyak. Contoh warna kosmetika adalah pewarna asam (*acid dyes*) yang merupakan golongan terbesar pewarna pakaian, makanan, dan Kosmetik. Unsur terpenting dalam pewarna ini adalah gugus azo. Solvent dyes yang larut dalam air atau alkohol, misalnya : merah DC, merah hijau NO.17, violat, kuning. Xanthene dyes yang dipakai dalam lipstik, misalnya DC orange, merah, kuning.

- b. Pewarna yang tidak dapat larut dalam cairan (*insoluble*), yang terdiri atas bahan organik dan inorganik, misalnya lakes, besi oksida (7).

3. Kosmetik Rias Bibir

Sediaan rias bibir terdapat dalam bentuk, seperti cairan, krayon, dan krim. Cat bibir cair dan krim umumnya akan memberikan selaput yang tidak tahan lama dan mudah terhapus dari bibir. Komposisi cat bibir modern lebih menyerupai komposisi cat kuku, tetapi tidak dilekatkan pada bibir akan memberikan selaput yang kering. Karena itu, cat bibir dan krim tidak begitu digemari orang terutama jika dibandingkan dengan cat bibir krayon (13)

4. Kosmetik Lip cream

Lip cream merupakan sediaan 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. Jenis ini cenderung mengandung lebih banyak kandungan lilin sehingga dapat berfungsi sebagai pelindung bibir dari sinar matahari langsung (8).

Krim bibir atau lip cream digunakan pada keadaan udara terlalu kering, umpamanya musim dingin atau terlalu panas untuk mencegah penguapan air dari sel epitel mukosa bibir. Lip cream biasanya dibuat dengan mengurangi jumlah lilin dan menambah minyak serta memakai lilin yang lebih rendah titik leburnya (7).

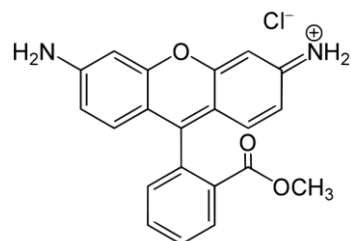
Contoh formula lip cream (7).

Minyak kastor	60,0
---------------	------

Lilin candelila	0,70
Lilin lebah	0,70
Lilin carnauba	0,30
Ozokerit	0,30
Lanolin	0,50
Flauresein	0,30
Warna	0,20
Parfum, preservatif	secukupnya

2.1.2 Rhodamin B

Uraian Rhodamin B



Gambar 2.1. Rhodamin B (Tetraethyl Rhodamine)

Nama Kimia	: N-[9-(carboxylphenyl)-(dyilamino)-3H-Xanen-3 ylidene]-N-ethylethanaminium clorida
Nama Lazim	: Tetraethylrhodamine, D & C Red No. 19 Rhodamin B clorida; C.I Basic Violet 10; C.I 45170
Rumus Kimia	: C ₂₈ H ₃₁ C ₁ N ₂ O ₃
BM	: 497

- Pemerian : Hablur hijau atau serbuk ungu kemerahan
- Kelarutan : Sangat mudah larut dalam air menghasilkan larutan merah kebiruan dan berflourosensi kuat jika diencerkan. Sangat mudah larut dalam alkohol. Sukar larut dalam asam encer dan dalam larutan alkali. Larutan dalam asam kuat membentuk senyawa dengan kompleks antimon berwarna merah muda yang larut dalam isopropil eter.
- Penggunaan : sebagai pewarna untuk sutra, katun, wol, nilon, serat asetat, kertas, tinta, dan pernis, sabun, kayu, bulu, kulit, dan pewarna untuk keramik china. Juga digunakan sebagai pewarna obat dan kosmetik dalam larutan encer, tablet, kapsul, pasta gigi, sabun, larutan pengeriting rambut, garam mandi, lipstik/lipcream, dan pemerah pipi. Pewarna ini juga digunakan sebagai alat pewarna untuk lilin dan bahan antibeku, dan sebagai reagent untuk menganalisa antimoni, bismut, kobalt, niobium, emas, mangan, merkuri, molibdenum, tantalum, tallium, dan tungsten (12).

Penggunaan rhodamin B pada makanan dan kosmetik dalam waktu lama akan mengakibatkan kanker dan gangguan fungsi hati. Namun demikian, bila terpapar rhodamin B dalam jumlah besar maka dalam waktu singkat akan terjadi gejala akut keracunan rhodamin B. Bila rhodamin B tersebut masuk melalui makanan akan mengakibatkan iritasi pada saluran pencernaan dan mengakibatkan gejala keracunan dengan urin yang berwarna merah maupun merah muda. Selain melalui makanan ataupun kosmetik, rhodamin B juga dapat mengakibatkan gangguan kesehatan, jika terhirup terjadi iritasi pada saluran pernafasan. Mata yang terkena rhodamin B juga akan mengalami iritasi yang ditandai dengan mata kemerahan dan timbunan cairan atau udem pada mata. Jika terpapar pada bibir dapat menyebabkan bibir akan pecah-pecah, kering, dan gatal. Bahkan, kulit bibir terkelupas (4).

Berdasarkan keputusan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 239/Men.kes/Per/V/85 tentang Zat Warna Tertentu Yang Dinyatakan Sebagai Bahan Berbahaya

Tabel 2.1. Zat warna sebagai bahan berbahaya dalam obat, makanan dan

Kosmetik

No	Nama	Nomor Indeks Warna (C.I.No.)
1.	Auramine (C. I. Basic Yellow 2)	41000
2.	Alkanet	75520
3.	Butter Yellow (C. I. Solvent Yellow 2)	11020
4.	Black 7984 (Food Vlack 2)	27755
5.	Burn Unber (Pigment Brown 7)	77491
6.	Chrysoidine (C. I. Basic Orange 2)	11270
7.	Chrysoine S (C. I. Food Yellow 8)	14270
8.	Citrus Red No. 2	12156

9.	Chocolate Brown FB (Food Brown 2)	-
10.	Fast Red E (C. I. Food Red 4)	16045
11.	Fast Yellow AB (C. I. Food Yellow 2)	13015
12.	Guinea Green B (C. I. Acid Green No. 3)	42085
13.	Indanthrene Blue RS (C. I. Food Blue)	69800
14.	Magenta (C. I. Basic Violet 14)	42510
15.	Metanil Yellow (Ext. D&C Yellow No. 1)	13065
16.	Oil Orange SS (C. I. Solvent Orange 2)	12100
17.	Oil Orange XO (C. I. Solvent Orange 7)	12140
18.	Oil Yellow AB (C. I. Solvent Yellow 5)	11380
19.	Oil Yellow OB (C. I. Solvent Yellow 6)	11390
20.	Orange G (C. I. Food Orange 4)	16230
21.	Orange GGN (C. I. Food Orange 2)	15980
22.	Orange RN (Food Orange 1)	15970
23.	Orchid and Orcein	-
24.	Ponceau 3R (Acid Red 6)	16155
25.	Ponceau SX (C. I. Food Red 1)	14700
26.	Ponceau 6R (C. I. Food Red 8)	16290
27.	Rhodamin B (C. I. Food Red 15)	45170
28.	Sudan I (C. I. Solvent Yellow 14)	12055
29.	Scarlet GN (Food Red 2)	14815
30.	Violet 6 B	42640

Tabel 2.2. Pewarna sintesis yang diizinkan menurut Menteri Kesehatan RI

No. 445/Menkes/V/1998

Kode	Nama	Nomor Indeks Warna
FD & C	Blue No. 1	42090
D & C	Orange No.4	15510
D & C	Red No. 5	45370
D & C	Red No.7	15850
D & C	Red No.12	15630
D & C	Red No.21	45380
D & C	Orange No.17	26100
D & C	Red No.27	45410
D & C	Red No.35	12120
D & C	Red No.36	12085

2.1.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

a. Pengertian Kromatografi

Kromatografi lapis tipis ialah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan, berupa bercak atau pita (awal). Setelah pelat atau lapisan ditaruh didalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan), selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (15).

b. Keuntungan KLT

1. KLT memberikan fleksibilitas yang lebih besar, dalam hal memilih fase gerak
2. Berbagai macam teknik untuk optimasi pemisahan seperti pengembangan dua dimensi, pengembangan bertingkat, dan pembaceman penjerap dapat dilakukan pada KLT
3. Proses kromatografi dapat diikuti dengan mudah dan dapat dihentikan kapan saja
4. Semua komponen dalam sampel dapat dideteksi (16).

c. Teknik KLT

1. Penjerap/Fase diam

Penjerap yang paling sering digunakan pada KLT adalah silika dan serbuk selulosa, sementara mekanisme sorpsi-desorpsi (suatu mekanisme

perpindahan solut dari fase diam ke fase gerak atau sebaliknya) yang utama pada KLT adalah partisi dan adsorpsi. Lapisan tipis yang digunakan sebagai penjerap juga dapat dibuat dari silika yang telah dimodifikasi, resin penukar ion, gel eksklusi dan siklodekstrin yang digunakan untuk pemisahan kiral (16).

Silika gel merupakan penjerap yang paling sering digunakan dalam studi KLT, lempeng KLT silika gel yang beredar dipasaran mempunyai ukuran partikel 10 μm dengan kisaran ukuran yang lebih sempit. Lempeng-lempeng KLT tersedia dengan indikator fluoresen (bahan yang berfluoresensi/berpendar), yang biasanya berupa seng silikat atau fosfor yang diaktivasi oleh mangan(Mn), yang akan mengemisikan suatu fluoresensi hijau ketika diradiasi/disinari dengan lampu UV (lampu Hg) pada panjang gelombang 254 nm. Senyawa-senyawa yang mampu menyerap sinar UV akan muncul sebagai bercak-bercak hitam terhadap dasar yang berfluoresensi hijau disebabkan oleh adanya peredaman fluoresensi (12).

2. Pengembang/Fase Gerak

Fase gerak ialah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Ia bergerak didalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori, karena ada gaya kapiler. Yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan, sistem pelarut multikomponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen (15).

Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah dengan menggunakan campuran 2 pelarut organik karena karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Berikut adalah beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak :

- a. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif
- b. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f solut terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan
- c. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai R_f . Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter kedalam pelarut non polar seperti metil benzen akan meningkatkan harga R_f secara signifikan.
- d. Solut-solut ionik dan solut-solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya seperti campuran air dan metanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat atau amonia masing-masing akan meningkatkan elusi solut-solut yang bersifat basa dan asam (16).

3. Deteksi

Terdapat berbagai kemungkinan untuk deteksi senyawa warna pada kromatogram. Deteksi paling sederhana adalah jika senyawa menunjukkan penyerapan didaerah UV gelombang pendek (radiasi utama pada kira-kira 254 nm) atau jika senyawa itu dapat dieksitasi ke fluoresensi radiasi UV gelombang pendek dan atau gelombang panjang 366 nm. Agar senyawa demikian dapat dideteksi pada pelat, suatu indikator fluoresensi (F_{254}) ditambahkan pada penjerap yang menghasilkan fluoresensi kuat didaerah UV gelombang pendek (kira-kira 254 nm) (15).

Berikut adalah cara-cara kimiawi untuk mendeteksi bercak :

- a. Menyemprot lempeng KLT dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna. Kadang-kadang lempeng dipanaskan terlebih dahulu untuk mempercepat reaksi pembentukan warna dan intensitas warna bercak.
- b. Mengamati lempeng dibawah lampu ultra violet yang dipasang pada panjang gelombang 254 atau 366 nm untuk menampakan solut sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam. Lempeng yang diperdagangkan dapat dibeli dalam bentuk lempeng yang sudah diberi dengan senyawa fluoresensi setelah dilakukan pengembangan.

- c. Menyemprot lempeng dengan asam sulfat pekat atau asam nitrat pekat lalu dipanaskan untuk mengoksidasi solut-solut organik yang akan nampak sebagai bercak hitam sampai kecoklatan.
- d. Memaparkan lempeng dengan uap iodium dalam chamber tertutup.
- e. Melakukan scanning pada permukaan lempeng dengan densitometer, suatu instrumen yang dapat mengukur intensitas radiasi yang direfleksikan dari permukaan lempeng ketika disinari dengan lampu UV atau lampu sinar tampak. Solut-solut yang mampu menyerap sinar akan dicatat sebagai puncak (peak) dalam pencatat (recorder) (16).

4. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Gerakan Noda

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapisan tipis yang juga mempengaruhi R_f yaitu :

- a) Struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan
- b) Sifat dari penyerap dan derajat aktifitasnya. (Biasanya aktifitas dicapai dengan pemanasan dalam oven, hal ini akan mengeringkan molekul-molekul air yang menempati pusat-pusat serapan dari penyerap).
- c) Tebal dan kerataan dari lapisan penyerap
Ketidakerataan akan menyebabkan aliran pelarut menjadi tak rata pula dalam daerah yang kecil dari plat
- d) Pelarut dan derajat kemurnian fase gerak

- e) Derajat kejenuhan dari uap dalam bejana pengembangan yang digunakan
- f) Teknik percobaan
- g) Jumlah cuplikan yang digunakan
- h) Suhu

Pemeriksaan sebaiknya dikerjakan pada suhu tetap, hal ini terutama untuk mencegah perubahan dalam komposisi pelarut yang disebabkan oleh penguapan atau perubahan-perubahan fasa

- i) Keseimbangan

Keseimbangan dalam lapisan tipis sangat penting, hingga perlu mengusahakan atmosfer dalam bejana jenuh dengan uap pelarut. Suatu gejala bila atmosfer dalam bejana tidak jenuh dengan uap pelarut, bila digunakan pelarut campuran, tidak terjadi pengembangan dengan permukaan pelarut yang berbentuk cekung dan fasa bergerak lebih cepat pada bagian-bagian tepi dari pada bagian tengah. Keadaan seperti ini harus dicegah (13).

5. Perhitungan Nilai Rf

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka Rf (*Retardation factor*) yaitu :

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}}$$

Angka Rf berjangka antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal (15). Jika zat yang diperiksa mempunyai warna, ukuran dan harga Rf hampir sama dengan zat pembanding kimia, maka kedua zat tersebut adalah sama (14).

2.1.4 Spektrofotometri

1. Prinsip Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan metode analisis yang didasarkan pada absorpsi radiasi elektromagnet.¹² Spektrofotometri UV-Vis merupakan gabungan antara Spektrofotometri UV dan Visibel. Menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda, sumber cahaya UV dan sumber cahaya Visibel. Sistem Spektrofotometri UV-Vis paling banyak tersedia dan paling populer digunakan. Kemudahan metode ini adalah dapat digunakan baik untuk sampel berwarna juga untuk sampel tak berwarna. Alat yang digunakan dalam Spektrofotometri disebut Spektrofotometer. Alat ini termasuk ke dalam jenis fotometer, yaitu suatu alat untuk mengukur intensitas cahaya. Spektrofotometer dapat mengukur Intensitas sebagai fungsi dari warna, atau secara lebih khusus, fungsi panjang gelombang. Alat ini bekerja pada penyerapan atau transmisi UV / cahaya VIS (180-820 nm) dengan sampel. Hal ini juga dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi bahan menyerap berdasarkan kurva kalibrasi dikembangkan material. Menurut Sastrohamidjojo, alat ini banyak bermanfaat untuk penentuan konsentrasi

senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (200 –400 nm) atau daerah sinar tampak (400 – 800 nm) (17).

Sinar ultraviolet dan sinar tampak memberikan energi yang cukup untuk terjadinya transisi elektronik. Dengan demikian, spektra ultraviolet dan spektra tampak dikatakan sebagai spektra elektronik. Jika suatu molekul sederhana dikenakan radiasi elektromagnetik maka molekul tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Interaksi antara molekul dengan radiasi elektromagnetik ini akan meningkatkan energi potensial elektron pada tingkat keadaan tereksitasi, apabila pada molekul sederhana tadi hanya terjadi transisi elektronik pada satu macam gugus yang terdapat pada molekul, maka hanya akan terjadi satu absorpsi yang merupakan garis spektrum. Kenyatannya, spektro UV-Vis yang merupakan korelasi antara absorpsi (sebagai ordinat) dan panjang gelombang (sebagai absis) bukan merupakan garis spektrum akan tetapi merupakan pita spektrum. Terbentuknya pita spektrum UV-Vis tersebut disebabkan oleh terjadinya eksitasi elektronik lebih dari satu macam pada gugus molekul yang sangat kompleks karna terjadi beberapa transisi sehingga mempunyai dari satu panjang gelombang maksimal (12).

2. Hukum Lambert-beer

Hukum lembert-beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan dan berbanding terbalik dengan transmittan. Hukum tersebut dituliskan dengan

$$A = abc = \log 1/T$$

Keterangan :

A = absorbansi

a = koefisien ekstingsi

b = tebal sel (cm)

c = konsentrasi analit

Pada spektrofotometri sinar tampak, pengamatan mata terhadap warna timbul dari penyerapan selektif panjang gelombang tertentu dari sinar masuk oleh objek yang berwarna (12).

Tabel 2.3 : Hubungan Antara Warna dengan Panjang Gelombang Sinar Tampak (17).

Panjang Gelombang	Warna yang diserap	Warna yang diamati (Warna Komplementer)
400-450 nm	Ungu (lembayung)	Hijau kekuningan
450-480 nm	Biru	Kuning
480-490 nm	Biru kehijauan	Orange
490-500 nm	Hijau kebiruan	Merah
500-560 nm	Hijau	Merah anggur
560-580 nm	Hijau kekuningan	Ungu (lembayung)
580-595 nm	Kuning	Biru
595-610 nm	Orange	Biru kekuningan
610-750 nm	Merah	Hijau kebiruan

3. Bagian-bagian Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis memiliki bagian-bagian tertentu dengan fungsi masing-masing. Secara garis besar spektrofotometri UV-Vis dapat dibagi menjadi 5 bagian penting yaitu

1. Sumber cahaya

Sumber cahaya yang digunakan dalam Spektrofotometri UV-Vis adalah *deutrium lamp* yang memiliki panjang gelombang pada daerah sinar UV

(190-350 nm) dan tungsten filamen lampu yang memiliki panjang gelombang pada daerah sinar tampak dan dekat dengan daerah sinar UV (350-900). Sumber cahaya ini digunakan untuk memancarkan cahaya sinar tampak maupun sinar UV yang nantinya akan dideteksi oleh detektor. Pada bagian sumber cahaya ini juga terdapat sebuah cermin yang digunakan untuk memantulkan/mengarahkan cahaya dari sumber ke bagian monokromator.

2. Monokromator

Monokromator adalah daerah dimana cahaya yang berasal dari sumber cahaya akan dipisahkan menjadi berbagai macam warna dengan panjang gelombang mana yang akan digunakan. Dalam daerah monokromator ini terdapat beberapa cermin yang digunakan untuk memantulkan dan memecah sinar serta terdapat juga filter untuk memilih sinar mana yang akan digunakan.

3. Beam splitter

Beam splitter adalah daerah dimana berkas yang dihasilkan oleh bagian monokromator dibagi menjadi dua berkas oleh beam splitter. Berkas hasil bagi beam splitter ini selanjutnya akan diteruskan ke bagian detektor yang sebelumnya melewati sampel yang akan diuji.

4. Detektor

Bagian detektor ini terdiri dari beberapa cermin yang diletakkan dengan jarak yang berbeda agar menghasilkan jarak tempuh yang berbeda agar menghasilkan jarak tempuh yang berbeda dari dua berkas yang dihasilkan

dari beam splitter. Setelah itu kedua berkas akan disatukan kembali pada detektor. Sinyal yang ditangkap oleh detektor adalah pola interferensi antara dua berkas yang kemudian oleh detektor sinyal akan diolah dan akhirnya akan didapatkan grafik yang akan tertampil pada layar komputer.

5. Tempat sampel

Daerah ini adalah tempat dimana sampel yang akan diuji diletakkan pada daerah ini terdapat dua buah dudukan sampel yang pertama adalah dudukan untuk sampel yang digunakan sebagai referensi (biasanya sampel ini bening tanpa warna) dan yang kedua adalah dudukan untuk sampel yang akan diuji. Tempat sampel ini berada diantara beam splitter dan detektor (12).

2.1.5 Metode Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B

1. Metode Identifikasi

Analisis kualitatif rhodamin B dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis dengan prinsip membandingkan harga R_f , jika dilihat secara visual berwarna merah jambu dan jika dilihat dibawah sinar UV 254 berfluoresensi kuning. Kromatografi Lapis Tipis pada hakekatnya ialah KLT pada lapisan tipis selulosa merupakan metode kromatografi yang paling sederhana. Pengembangan terjadi karena kerja kapiler. Waktu pengembangan pada KLT berkisar mulai dari 30 menit sampai 12 jam, bergantung pada sifat kertas dan jarak pengembangan yang diinginkan. Data diberikan dalam bentuk harga R_f senyawa dari sampel yang diperiksa (18).

2. Metode Penetapan Kadar

Spektrofotometer sinar tampak adalah pengukuran absorbansi energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada suatu panjang gelombang tertentu. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum *Lambert-Beer*. Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Hukum Lambert-Beer (*Beer's Law*) menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan. Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu. Ada beberapa tahapan yang harus dilakukan dalam analisis dengan Spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak yaitu :

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi absorbansi maksimum. Untuk memilih panjang gelombang maksimal, dilakukan dengan membuat

kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku dengan konsentrasi tertentu.

2. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi (y) dengan konsentrasi (x). Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva baku berupa garis lurus.

3. Pembacaan absorbansi sampel

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya terletak antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan. Hal ini disebabkan karena kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal.

4. Perhitungan Kadar

Perhitungan Kadar dapat dilakukan dengan metode regresi yaitu dengan menggunakan persamaan garis regresi yang didasarkan pada serapan dan larutan standar yang dibuat dalam beberapa konsentrasi, paling sedikit menggunakan 5 rentang konsentrasi yang meningkat yang dapat memberikan serapan linier, kemudian diplot menghasilkan suatu kurva kalibrasi, konsentrasi suatu sampel dapat dihitung berdasarkan kurva tersebut (18).

Rumus perhitungan kadar

$$K = \frac{X.V.Fp}{Bs}$$

Keterangan :

K = Kadar Rhodamin B dalam Sampel (mcg/g)

X = Kadar Rhodamin B sesudah Pengenceran (mcg/g)

V = Volume Sampel (ml)

Fp = Faktor Pengenceran (ml)

Bs = Berat Sampel (mg)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian analisis pada sampel Lip Cream Impor Ilegal yang beredar di mall Plaza Medan Fair dan di pasar USU kota Medan secara kualitatif dan kuantitatif

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Institut Kesehatan Helvetia Medan dari bulan April sampai Juli 2018

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah Lip Cream impor yang beredar di Mall Plaza Medan Fair dan Pasar USU Kota Medan.

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan yaitu Lip Cream Impor yang didalam kemasan tidak terdapat nomor izin edar dari BPOM yang beredar di Mall Plaza Medan Fair dan Pasar USU Kota Medan

3.3.3 Metode Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* yaitu berdasarkan pertimbangan peneliti.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari gelas ukur, *erlemeyer*, *beaker glass*, corong, chamber, pipet tetes, pipet total, kertas saring, sendok tandu, batang pengaduk kaca, Tabung reaksi, timbangan digital, Lampu UV 254 nm, Spektrofotometri Uv-Vis.

3.4.2. Bahan

Amonia, Asam klorida pekat, aquadest, etil asetat, N-butanol, plat silika gel, Metanol, Air Panas, Rhodamin B, sampel Lip Cream.

3.5 Analisa Kualitatif Rhodamin B

1. Pembuatan Larutan Uji sampel Lip Cream

Sampel Lip Crem ditimbang ± 300 mg dimasukan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 4 tetes asam klorida 4 N, dan ditambahkan 2 ml metanol dan dihomogenkan selanjutnya dicukupkan dengan metanol 10 ml kemudian diaduk hingga tercampur rata dengan menggunakan kertas saring.
(larutan A)

2. Pembuatan Larutan Baku

Sejumlah ± 5 mg Rhodamin B dilarutkan dengan 10 ml metanol, kemudian dikocok hingga larut. (Larutan B)

3. Pembuatan Larutan Spike

Sejumlah Volume yang sama larutan A sebanyak 5 ml dan larutan B sebanyak 5 ml dicampur, kemudian dihomogenkan. (Larutan C)

4. Identifikasi Sampel

Pada plat KLT berukuran 20 X 20 cm diaktifkan dengan cara dipanaskan di dalam oven pada suhu 100⁰C selama 30 menit. Larutan A, B, dan larutan C, ditotolkan pada plat dengan menggunakan pipa kapiler pada jarak 2 cm dari bagian bawah plat dan jarak antara noda adalah 1,5 cm kemudian dibiarkan beberapa saat sampai mengering. Plat KLT yang telah mengandung cuplikan dimasukkan kedalam chamber yang terlebih dahulu telah dijenuhkan dengan eluen dengan fase gerak berupa N-butanol, etil asetat, dan amonia (55 : 20 : 25), dibiarkan eluen bergerak naik hingga jarak elusi 15 cm. Kemudian plat KLT diangkat dan dikeringkan di udara. Diamati noda secara visual dan dibawah sinar UV 254 nm jika noda berflourosensi kuning dengan lampu UV 254 nm menunjukkan adanya Rhodamin B dan jika secara visual berwarna merah muda menunjukkan adanya Rhodamin B. Selanjutnya dihitung nilai Rfnya, hasil dinyatakan positif bila warna bercak antara sampel dengan baku sama atau saling mendekati dengan selisih harga $\leq 0,2$.

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak elusi}}$$

3.6 Analisis Kuantitatif (Penentuan Kadar Rhodamin B)

1. Pembuatan Larutan Rhodamin B 1000 ppm

Ditimbang 50 mg pewarna Rhodamin B dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml kedalam labu tentukur ditambahkan metanol secukupnya dan dikocok hingga homogen. Kemudian larutan dicukupkan dengan metanol hingga garis tanda kemudian dihomogenkan.

2. **Pembuatan larutan Rhodamin B 50 ppm**

Dipipet 2,5 ml larutan Rhodamin B 1000 ppm dengan menggunakan pipet volume kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml lalu ditambahkan metanol sampai garis tanda.

3. **Penentuan panjang gelombang maksimum larutan Rhodamin B**

Dipipet 10 ml larutan Rhodamin B 50 ppm dengan menggunakan pipet volume dan dimasukkan kedalam labu tentukur 50 ml (konsentrasi 10 ppm), lalu ditambahkan metanol sampai garis tanda dan dihomogenkan. Diukur serapan maksimum pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan blangko. Blangko yang digunakan adalah metanol.

4. **Penentuan Linieritas Kurva Kalibrasi**

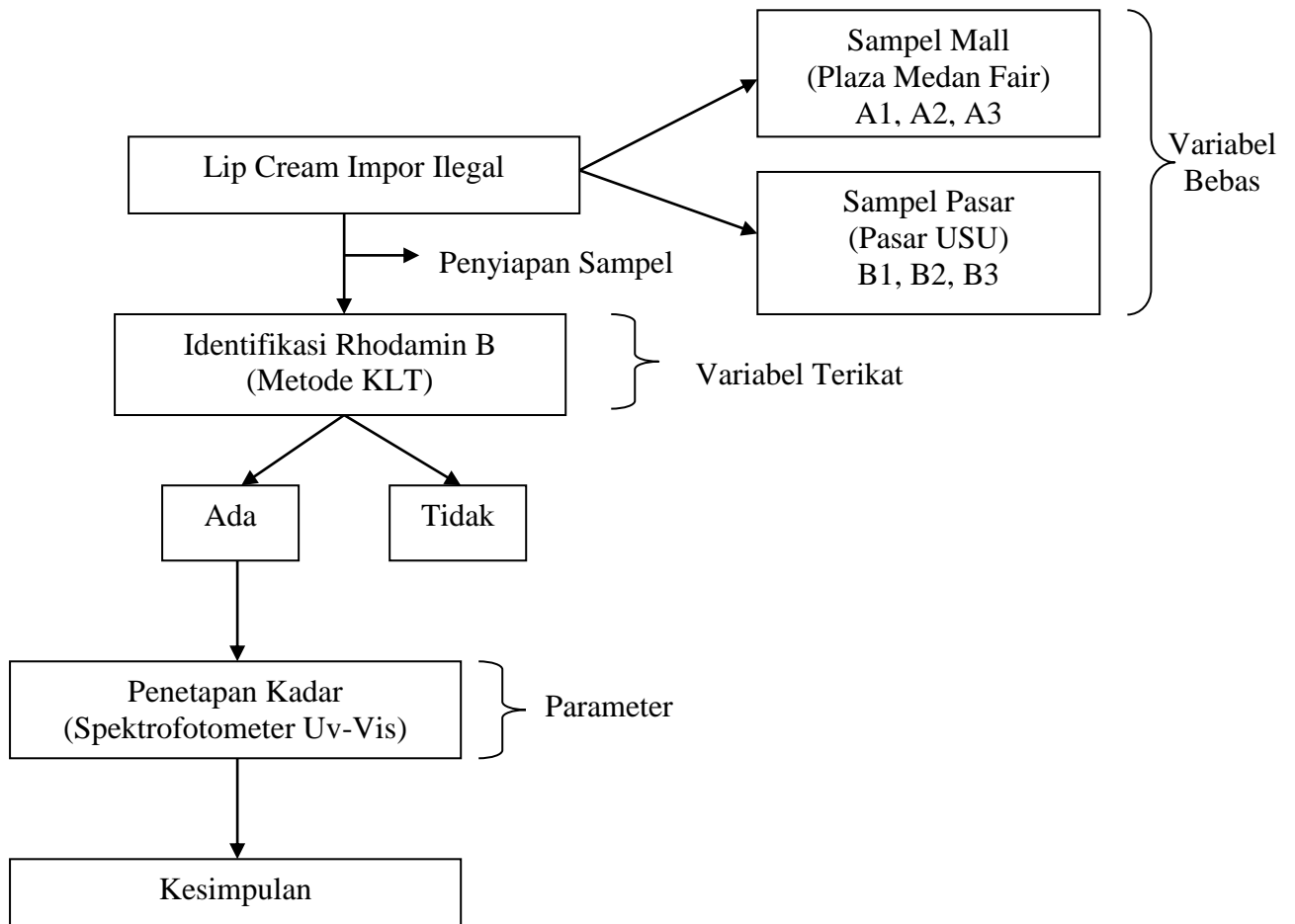
Dipipet larutan Rhodamin B 50 ppm dengan menggunakan pipet volume kedalam labu tentukur 50 ml berturut-turut 5 ml; 10 ml; 15 ml; 20 ml; 25 ml (5; 10; 15; 20; dan 25 ppm) kedalam masing-masing labu tentukur tersebut ditambahkan metanol sampai garis tanda. Dikocok homogen, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 545 nm.

3.7 Uji Kuantitatif Sampel

Sejumlah lebih kurang 500 mg cuplikan Lip Cream dimasukkan kedalam labu tentukur, kemudian ditambahkan 2 tetes Asam klorida 4 N, ditambahkan 10 ml metanol, kemudian dihomogenkan. Disaring, dengan membuang 1-3 ml filtrat pertama, dilakukan berulang-ulang sampai larutan sampel jernih. Filtratnya ditampung dalam labu tentukur 25 ml. Dicukupkan dengan metanol sampai garis

tanda dan dihomogenkan. Dipipet 2 ml filtrat kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 25 ml, dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda dan dihomogenkan, diukur serapannya pada panjang gelombang 545 nm.

3.8 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3.1 : Diagram Alur Penelitian

3.9 Analisa Data

Sampel yang positif mengandung Rhodamin B ditentukan kadarnya dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Berdasarkan analisa kurva kalibrasi dengan Persamaan Regresi yaitu :

$$y = a + bx$$

Keterangan :

y = Menyatakan Absorbansi

x = Konsentrasi

b = Koefisien regresi (menyatakan slope = kemiringan)

a = Tetapan regresi (menyatakan intersep)