

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 10 produk *lip tint*. Pemilihan dan pengambilan sampel dilakukan pada lokasi wilayah kecamatan Tawangharjo dengan metode *purposive sampling*. Sampel diperoleh dari beberapa toko kosmetik dan toko kelontong wilayah tersebut.

A. Identifikasi Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi Rhodamin B secara kualitatif pada sampel *lip tint* dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Metode ini digunakan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan Rhodamin B berdasarkan nilai *Retention factor* (Rf), warna bercak, serta flouresensi yang dihasilkan pada plat *silica gel* setelah diamati dibawah sinar ultraviolet. Rhodamin B merupakan senyawa yang memiliki sifat flouresensi kuat sehingga mudah diamati dibawah sinar UV, hal ini sesuai dengan teori Fikamilia and Ratnawulan (2020) yang menyatakan bahwa Rhodamin B akan menunjukkan bercak flouresensi terang ketika diamati menggunakan lampu UV.

Tabel 4. Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sampel	Pengamatan			Hasil
	Visual	UV 254 & 366	Nilai Rf (cm)	
Baku pembanding	Merah muda	Merah muda & jingga	0,62	Positif
R1	Merah muda	Bercak gelap & jingga	0,5	Positif
R2	-	-	-	Negatif
R3	Merah muda	Bercak gelap & jingga	0,6	Positif
R4	-	-	-	Negatif
R5	Merah muda	Bercak gelap & jingga	0,42	Positif
R6	-	-	-	Negatif
R7	Merah muda	Bercak gelap	0,45	Positif
R8	Merah muda	Bercak gelap & Jingga	0,48	Positif
R9	-	Jingga	0,76	Negatif
R10	-	Jingga	0,47	Positif

Berdasarkan hasil penelitian keberadaan Rhodamin B dalam sampel pada analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat diidentifikasi berdasarkan kesesuaian beberapa parameter dengan senyawa standar. Suatu sampel dinyatakan positif mengandung Rhodamin B apabila jarak antar nilai R_f dengan sampel dengan batas toleransi $\leq 0,2$. Disamping itu, pengamatan di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm noda akan terlihat bercak gelap atau berwarna hitam dan menunjukkan fluoresensi kuning atau orange/jingga berpendar, sementara secara visual noda tampak berwarna merah muda (Fajriani *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil data yang diperoleh, diketahui bahwa enam dari sepuluh sampel *lip tint* yang diuji, yaitu sampel R1, R3, R5, R7, R8, R10 terindikasi positif mengandung Rhodamin B. Meskipun dari 6 sampel yang positif tersebut ada beberapa sampel yang menunjukkan fluoresensi yang tidak terlalu terlihat di bawah sinar UV, hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan nilai R_f hampir sama dengan nilai R_f baku pembanding. Selisih nilai R_f yang masih berada dalam batas toleransi, yaitu $\leq 0,2$ cm, digunakan sebagai dasar untuk menyimpulkan adanya kandungan Rhodamin B dalam sampel-sampel tersebut. Temuan ini sejalan dengan hasil Eliasa (2024) yang melaporkan bahwa pada analisis lima sampel, dua diantaranya, yaitu sampel B dan C menunjukan Nilai R_f 6,2 cm. Nilai tersebut mendekati R_f standar Rhodamin B yang sebesar 6,3 cm, sehingga jarak nilai R_f tersebut dapat menjadi petunjuk kuat keberadaan senyawa yang sama.

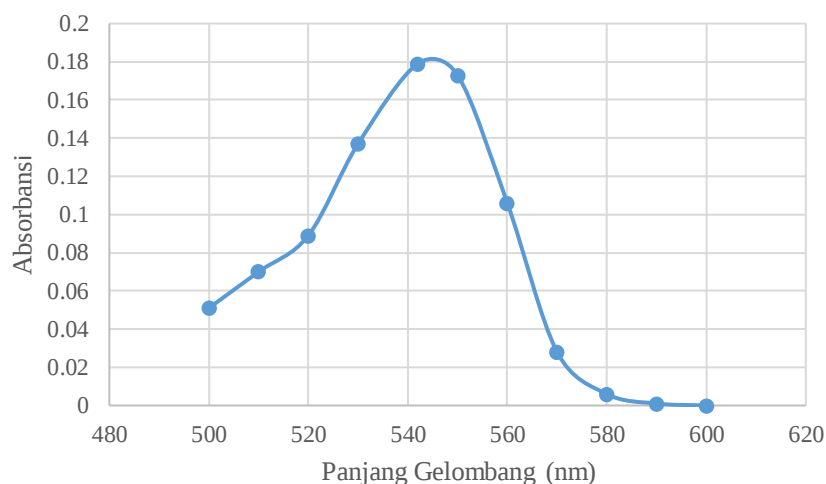
B. Identifikasi Kuantitatif dengan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri digunakan untuk menentukan kadar suatu senyawa kimia dalam sampel. Metode ini dipilih karena memiliki sensitivitas dan akurasi yang tinggi dalam menentukan konsentrasi suatu zat berwarna. Apabila dari hasil uji KLT hanya ditemukan 6 sampel yang positif mengandung Rhodamin B, langkah berikutnya adalah melakukan pengujian secara menyeluruh pada sampel guna memastikan ada atau tidaknya zat berbahaya tersebut.

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum merupakan tahapan krusial dalam analisis spektrofotometri UV-Vis. Tujuan utamanya adalah mengidentifikasi panjang gelombang maksimum dimana senyawa menyerap cahaya dengan intensitas paling tinggi, sehingga menghasilkan absorbansi maksimum (Skoog *et al.*, 2014).

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk memperoleh panjang gelombang dimana Rhodamin B menghasilkan absorbansi paling tinggi. Penggunaan panjang gelombang maksimum bertujuan menentukan sensitivitas dan ketelitian analisis sehingga perubahan konsentrasi dapat terbaca secara optimal. Panjang gelombang maksimum ditentukan melalui pengukuran larutan standar Rhodamin B konsentrasi 1 ppm pada rentang 400 – 600 nm (Sylvia *et al*, 2021).



Gambar 6. Panjang Gelombang Maksimum Rhodamin B

Berdasarkan hasil analisis, diperoleh nilai panjang gelombang maksimum Rhodamin B sebesar 542 nm. Nilai tersebut berada pada daerah cahaya tampak (visible) yang sesuai dengan karakteristik Rhodamin B sebagai zat warna merah sintetis. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian dengan penelitian Julian *et al* (2023) menunjukkan panjang gelombang maksimum Rhodamin B berada pada kisaran 540 – 550 nm.

Kesamaan hasil tersebut menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan telah sesuai dan mampu mendeteksi Rhodamin B dengan baik. Penggunaan panjang gelombang maksimum juga dapat meminimalkan kesalahan pengukuran karena pada titik tersebut absorbansi berada dalam kondisi paling stabil dan sensitif.

2. Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* dilakukan untuk mengetahui waktu kestabilan absorbansi larutan Rhodamin B. penentuan *operating time* penting karena larutan berwarna dapat mengalami perubahan absorbansi akibat degradasi senyawa atau pengaruh lingkungan selama penyimpanan. Dengan mengetahui *operating time* dapat memastikan bahwa pengukuran absorbansi dilakukan dimana larutan masih stabil, sehingga hasil analisis menjadi lebih valid.

Tabel 5. Hasil *Operating Time*

Menit Ke-	Absorbansi
35	0,094
36	0,103
37	0,115
38	0,127
39	0,137
40	0,146
41	0,162
42	0,179
43	0,179
44	0,179
45	0,179

Hasil pengujian menunjukkan bahwa absorbansi mengalami kenaikan secara bertahap mulai dari menit ke-35 hingga menit ke-41. Selanjutnya, pada menit ke-42 sampai menit ke-45 absorbansi berada pada kondisi stabil dan tidak menunjukkan perubahan yang signifikan. Dengan demikian, rentang waktu stabil tersebut ditetapkan sebagai *operating time* untuk pengukuran selanjutnya. Hasil penelitian ini sejalan dengan teori suhartati (2017) yang menyatakan bahwa *operating time* digunakan untuk menentukan waktu optimum pengukuran absorbansi suatu senyawa berwarna.

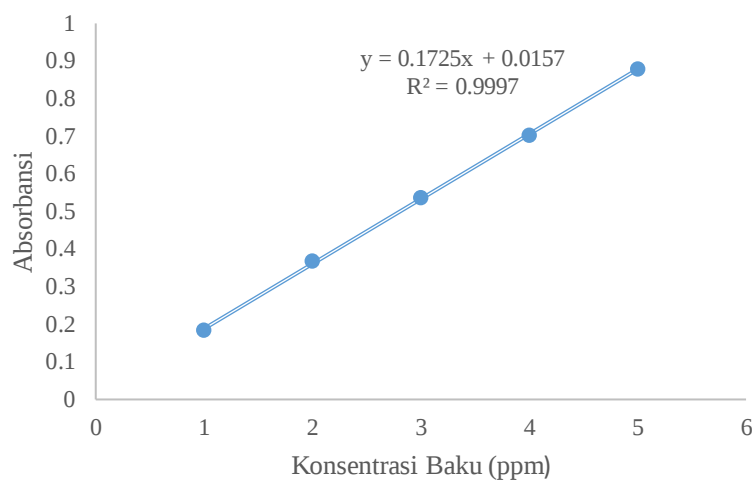
Pengukuran yang dilakukan pada kondisi absorbansi stabil akan meningkatkan validitas hasil analisis. Jika pengukuran dilakukan terlalu cepat maka pembentukan warna kemungkinan belum sempurna sehingga absorbansi masih rendah. Sebaliknya, pengukuran yang terlalu lama dapat menyebabkan penurunan absorbansi akibat kerusakan senyawa. Oleh karena itu, *operating time* diperlukan untuk memastikan pengukuran dilakukan pada kondisi optimum (Julan *et al.*, 2023).

3. Persamaan Kurva Baku

Kurva baku dibuat untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan standar Rhodamin B dengan nilai absorbansi yang dihasilkan. Nilai koefisien korelasi yang mendekati 1 menunjukkan adanya hubungan linear yang sangat baik antar konsentrasi dan absorbansi. Hal tersebut menunjukkan bahwa analisis memenuhi hukum *Lambert-Beer*, dimana peningkatan konsentrasi larutan akan diikuti peningkatan nilai absorbansi. Penentuan kurva dilakukan dengan pengulangan 3 kali untuk membentuk hasil yang presisi. Kemudian diambil rata-rata absorbansi tiap konsentrasi untuk membentuk rumus regresi linear.

Tabel 6. Absorbansi Kurva Kalibrasi

No	Konsentrasi	Replikasi	Absorbansi
1	1 ppm	Replikasi 1	0,183
		Replikasi 2	0,182
		Replikasi 3	0,184
2	2 ppm	Replikasi 1	0,360
		Replikasi 2	0,367
		Replikasi 3	0,374
3	3 ppm	Replikasi 1	0,536
		Replikasi 2	0,528
		Replikasi 3	0,544
4	4 ppm	Replikasi 1	0,702
		Replikasi 2	0,693
		Replikasi 3	0,711
5	5 ppm	Replikasi 1	0,869
		Replikasi 2	0,878
		Replikasi 3	0,887



Gambar 7. Kurva Baku Rhodamin B

Berdasarkan hasil penelitian kurva baku Rhodamin B diperoleh persamaan regresi linear $y = bx + a$, dengan hasil $y = 0,1725x + 0,0157$ dengan koefisien relasi $R^2 = 0,9997$ yang menunjukkan hubungan absorbansi dan konsentrasi baku Rhodamin B bisa dikatakan linear sesuai dengan ketentuan yaitu $\geq 0,995$ (Riyanto, 2014). Persamaan tersebut selanjutnya digunakan sebagai acuan dalam penentuan konsentrasi Rhodamin B pada sampel *lip tint* untuk tahap analisis berikutnya. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Farkhurohmat *et al* (2022) yang memperoleh nilai koefisien relasi mendekati 1 pada analisis Rhodamin B menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Koefisien relasi yang baik menunjukkan metode memiliki sensitivitas dan akurasi yang tinggi. Kurva baku memiliki peran penting dalam analisis kuantitatif karena digunakan sebagai dasar perhitungan kadar Rhodamin B dalam sampel. Semakin baik koefisien relasi pada kurva baku maka hasil penentuan kadar akan semakin valid dan dapat dipercaya (Wulandari *et al.*, 2023)

4. Analisis Kuantitatif

Berdasarkan hasil analisis kuantitatif diperoleh kadar Rhodamin B yang berbeda pada masing-masing sampel *lip tint*. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Wulandari *et al* (2023) yang melaporkan adanya

variasi kadar Rhodamin B pada produk pewarna bibir. Penelitian Hipi *et al* (2022) juga menunjukkan bahwa kadar Rhodamin B antar sampel dapat berbeda signifikan akibat perbedaan formulasi dan proses produksi.

Tabel 7. Hasil Kadar Rata-rata Rhodamin B Dalam Sampel

Sampel	Kadar Rhodamin B (mg/Kg)	Kadar Rhodamin B (%)	Standar Deviasi ($\pm$ SD)
R1	0,0411	0,00041	0,003464
R2	0,1763	0,00176	0,030616
R3	0,5450	0,00545	0,055194
R4	0,1241	0,00124	0,015308
R5	0,1768	0,00177	0,006351
R6	0,0977	0,00098	0,035679
R7	0,0188	0,00019	0,014572
R8	0,0312	0,00031	0,021572
R9	0,1329	0,00133	0,006
R10	0,0631	0,00063	0,002887

Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 6, seluruh sampel *lip tint* yang diuji menunjukkan adanya kandungan Rhodamin B dengan kadar yang berbeda-beda. Kadar Rhodamin B tertinggi terdapat pada sampel R3 yaitu sebesar 0,5450 mg/Kg dengan presentase kadar sebesar 0,00545 % $\pm$ SD 0,05 5194, sedangkan kadar terendah terdapat pada sampel R7 yaitu sebesar 0,0188 mg/Kg dengan presentase kadar sebesar 0,00019 % $\pm$ SD 0,014572. Perbedaan kadar Rhodamin B pada masing-masing sampel diduga dipengaruhi oleh perbedaan komposisi bahan baku, formulasi produk intensitas warna yang digunakan serta proses produksi dari masing-masing produk *lip tint*.

Kadar Rhodamin B yang terdeteksi pada sampel tergolong rendah, namun keberadaannya tetap tidak dapat ditoleransi karena peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 17 Tahun 2022 tentang standar teknis bahan kosmetika secara tegas mencantumkan bahwa Rhodamin B sebagai bahan pewarna berbahaya yang dilarang penggunaannya dalam sediaan kosmetik. Peraturan tersebut tidak memberikan batas aman maupun toleransi kadar, sehingga keberadaan Rhodamin B berapapun jumlahnya melalui hasil analisis sudah cukup untuk menyatakan bahwa produk tidak memenuhi persyaratan keamanan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Hangin *et al* (2022) yang melaporkan adanya kandungan Rhodamin B pada sediaan *lip tint* yang beredar di Pasar Segiri Kota Samarinda dengan kadar berkisar 0,02 % - 0,5 % b/b. Selain itu, penelitian Herdini *et al* (2025) juga menunjukkan adanya kandungan Rhodamin B pada salah satu sampel *lip tint* yang beredar di *marketplace* shopee dengan kadar sebesar 0,0683 % $\pm$ SD 0,00275. Meskipun kadar Rhodamin B pada penelitian ini lebih rendah dari penelitian sebelumnya, keberadaan Rhodamin B tetap menunjukkan bahwa sampel *lip tint* yang diuji mengandung zat pewarna berbahaya yang tidak diperbolehkan dalam kosmetik.

Paparan Rhodamin B pada kulit sangat beresiko menimbulkan iritasi, dan bila masuk ke dalam tubuh dalam jumlah besar dapat mengganggu fungsi hati. Resiko ini terjadi karena senyawa tersebut memiliki sifat mudah terakumulasi di jaringan lemak, sehingga seiring waktu konsentrasinya didalam tubuh dapat meningkat dan berpotensi merusak organ. Penggunaan Rhodamin B khususnya dilarang pada produk kosmetik area sensitive seperti kosmetik bibir dan perona mata. Jika bersentuhan dengan area mulut atau kelopak mata, zat ini dapat memicu iritasi hingga peradangan yang mengganggu aktivitas makan dan minum. Kondisi tersebut apabila berlanjut berpotensi memicu gangguan pada saluran pencernaan. Karena alasan tersebut, baik dari sisi regulasi maupun toksikologi, keberadaan Rhodamin B dalam kosmetik tidak diperbolehkan, sekalipun kadarnya rendah (Syakri, 2017).

Sampel R2, R4, R6, R9 menunjukkan hasil yang tidak terdeteksi pada metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), namun terdeteksi pada spektrofotometri UV-Vis meskipun kadarnya rendah. Hasil yang berbeda tersebut dapat terjadi karena setiap metode analisis memiliki tingkat sensitivitas dan prinsip kerja yang tidak sama. KLT merupakan metode kualitatif dengan kemampuan deteksi yang terbaatas, terutama apabila konsentrasi zat yang dianalisis berada pada kadar yang sangat rendah. Berbeda dari KLT, spektrofotometri UV-Vis bekerja dengan memanfaatkan

serapan cahaya pada panjang gelombang ultraviolet dan cahaya tampak untuk mengidentifikasi senyawa. Teknik ini memiliki selektivitas yang tinggi dan sanggup mendeteksi senyawa meskipun berada dalam konsentrasi sangat rendah berkat sensitivitasnya yang baik (Abriyani *et al.*, 2023). Karena keterbatasan tersebut, meskipun KLT kurang akurat penggunaan spektrofotometri UV-Vis masih dapat mendeteksi Rhodamin B pada sampel R2, R4, R6, R9. Hal ini mengindikasikan bahwa KLT yang digunakan sebagai uji pendahuluan sebaiknya dikonfirmasi dengan metode kuantitatif yang lebih sensitive agar senyawa dalam kadar rendah dapat terdeteksi dengan lebih tepat.

5. Analisis SPSS

Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar Rhodamin B antar sampel *lip tint* yang diuji. Data kadar Rhodamin B pada sampel *lip tint* dianalisis secara statistik menggunakan *software* IBM SPSS untuk menjamin objektivitas dan akurasi hasil.

Tabel 8. Hasil uji statistik normalitas

Tests of Normality							
	Sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar	R1	.175	3	.	1.000	3	1.000
	R2	.311	3	.	.897	3	.377
	R3	.205	3	.	.993	3	.840
	R4	.311	3	.	.897	3	.377
	R5	.191	3	.	.997	3	.900
	R6	.255	3	.	.962	3	.627
	R7	.212	3	.	.990	3	.811
	R8	.334	3	.	.860	3	.266
	R9	.175	3	.	1.000	3	1.000
	R10	.175	3	.	1.000	3	1.000

Tabel 9. Hasil uji statistik homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar	Based on Mean	3.112	9	20	.107
	Based on Median	1.332	9	20	.282
	Based on Median and with adjusted df	1.332	9	8.051	.348
	Based on trimmed mean	2.973	9	20	.020

Tabel 10. Hasil uji statistik oneway anova

ANOVA					
Kadar	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.633	9	.070	11224.056	.000
Within Groups	.000	20	.000		
Total	.633	29			

Tahap awal diawali dengan pengujian normalitas data melalui uji *Shapiro-Wilk*. Hasil uji menunjukkan bahwa seluruh sampel memiliki nilai $\text{Sig} > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas yang memperoleh nilai Sig. Based on Mean sebesar 0,107, karena $0,107 > 0,05$ maka data bersifat homogen. Karena data telah memenuhi uji normalitas dan homogenitas, maka analisis dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA*. Hasil uji *one way ANOVA* menunjukkan nilai Sig. sebesar 0,000 yang dimana $< 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar Rhodamin B antar sampel *lip tint*. Hasil ini menunjukkan bahwa metode analisis dan perlakuan yang diberikan telah berjalan dengan baik sehingga mampu mendeteksi adanya perbedaan antar kelompok sampel.