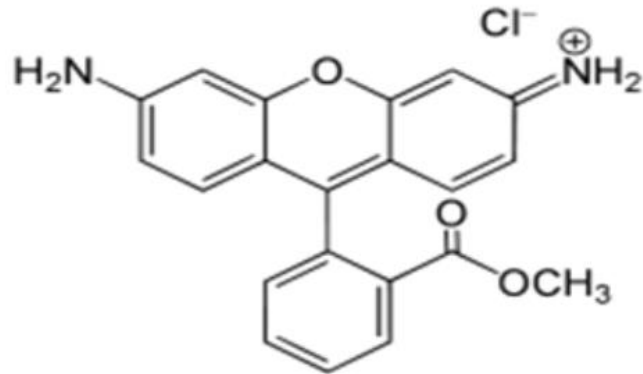


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Rhodamin B

##### 2.1.1 Uraian rhodamin B



Gambar 2.1 Struktur rhodamin B

Tabel 2.1 Data rhodamin B

No.	Keterangan	Penjelasan
1.	Berat molekul	479,02
2.	Rumus kimia	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Cl
3.	Nomor CAS	81-88-9
4.	Titik lebur	165°C
5.	Kelarutan	Sangat larut dalam air dan alkohol sedikit larut dalam asam klorida dan natrium hidroksida
6.	Nama kimia	N-[9-(2-karboksifenil)-6-(diethyl amino) -3H-xanthene-3-ylidene] - N-eriletanamimium klorida
7.	Sinonim	Tetraetilrhodamin; D&C Red no 19; rhodamin B klorida; C.1 basic violet 10; C.1 45170
8.	Deskripsi	Kristal hijau atau serbuk merah violet

Sumber: anomin (2007)

Rhodamin B merupakan bahan pewarna buatan berbentuk serbuk kristal berwarna kehijauan, jika dilarutkan pada konsentrasi tinggi menjadi berwarna merah keunguan dan berwarna merah terang pada konsentrasi rendah (Trestianti

,2003). Rumus molekul dari rhodamin B adalah  $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$  dengan berat molekul sebesar 479.000. Rhodamin B larut sangat larut dalam air yang menghasilkan warna merah kebiru-biruan dan berfluoresensi kuat. Rhodamin B juga larut dalam alkohol, HCl, dan NaOH.

Penggunaan rhodamin B tentunya berbahaya bagi kesehatan. menumpukkan 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 (Mamoto dan Fatimawali, 2013). Fungsi rhodamin B umumnya sebagai pewarna kertas dan tekstil. Apabila dipergunakan sebagai pewarna kosmetik, dapat menimbulkan iritasi pada kulit. Jika terkena mata dapat menimbulkan iritasi pada mata, mata kemerahan serta menimbulkan kerusakan hati jika terpapar dengan konsentrasi yang tinggi. Hal tersebut didukung oleh suatu data penelitian pada tikus. Diketahui bahwa pada tikus yang diberi rhodamin B selama seminggu berturut-turut adanya peningkatan berat hati, ginjal dan limfa. Perubahan berat tersebut diikuti perubahan anatomi berupa pembesaran organnya. Hal ini terjadi karena rhodamin B menumpuk di lemak sehingga dalam jangka waktu yang lama jumlahnya terus bertambah di dalam tubuh dan dapat menimbulkan kerusakan pada organ tubuh sampai mengakibatkan kematian (Widana dan Yuningrat, 2007). Selain itu, penelitian yang juga dilakukan oleh Mayori (2013) menghasilkan bahwa dosis dan lama pemberian rhodamin B pada mencit memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase kerusakan glomerulus. Hasil analisis histologis ginjal mencit memperlihatkan adanya tingkat kerusakan pada komponen penyusun ginjal yang meningkat seiring tingginya dosis dan lama pemberian. Kerusakan yang ditemukan berupa penyempitan ruang bowman pada glomerulus, hipertrofi, nekrosis dan serosis tubulus.

## **2.2 Kosmetik**

### **2.2.1 Pengertian Kosmetik**

Kosmetik berasal dari kata *cosmein* (Yunani) yang berarti berhias. Bahan yang dipakai dalam usaha untuk mempercantik diri ini, dahulu diramu dari bahan-bahan alami yang terdapat disekitarnya. Sekarang kosmetik dibuat manusia

tidak hanya dari bahan alami tetapi juga bahan buatan untuk maksud meningkatkan kecantikan (Wasiaatmadja, 1997).

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 445/Menkes/Per/V/1998 bahwa kosmetik adalah sediaan atau paduan bahan yang siap untuk digunakan pada bagian luar badan (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ kelamin bagian luar), gigi, dan rongga mulut untuk membersihkan, menambahkan daya tarik, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit (BPOM, 2004 ).

### 2.2.2 Penggolongan Kosmetik

1. Penggolongan kosmetik berdasarkan penggunaannya (Permenkes RI, 1977):

- Preparat untuk bayi, misalnya minyak bayi, bedak bayi, dll
- Preparat untuk mandi, misalnya sabun mandi, bath capsule, dll
- Preparat untuk mata, misalnya maskara, eyeshadow, dll
- Preparat untuk wangi wangian, misalnya parfum, toilet water, dll
- Preparat untuk rambut, misalnya cat rambut, hair spray, dll
- Preparat untuk pewarna rambut, misalnya cat rambut dll
- Preparat untuk make up, misalnya bedak, lipstik, dll
- Preparat untuk kebersihan mulut, misalnya pasta gigi, mouth washes, dll
- Preparat untuk kebersihan badan, misalnya deodoran, dll
- Preparat untuk kuku, misalnya cat kuku, losion kuku, dll
- Preparat untuk pewarna kulit misalnya pembersih, pelembab, pelindung, dll
- Preparat untuk cukur, misalnya sabun cukur, dll
- Preparat untuk sunatan dan sunscreen, misalnya sunscreen, foundation, dll.

2. Berdasarkan bahan dan penggunaannya serta maksud evaluasi produk kosmetik dibagi menjadi 2 menurut BPOM (BPOM, 2004):

1. Kosmetik golongan 1 adalah
  - a. Kosmetik yang digunakan untuk bayi
  - b. Kosmetik yang digunakan disekitar mata, rongga mulut, dan mukrosa lainnya

- c. Kosmetik yang mengandung bahan dengan persyaratan kadar dan penandaan
  - d. Kosmetik yang mengandung bahan dan fungsinya belum lazim serta belum diketahui keamanan dan kemanfaatannya.
2. Kosmetik golongan II adalah kosmetik yang tidak termasuk dalam golongan 1.
3. Pengolongan kosmetik berdasarkan sifat dan cara pembuatan (Tranggono, 2007):
- Kosmetik modern, diramu dari bahan kimia dan diolah secara modern
  - 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 yang tradisional, tanpa komponen yang benar benar tradisional dan diberi warna yang menyerupai bahan tradisional.
4. Pengolongan kosmetik berdasarkan kegunaan bagi kulit (Tranggono, 2007):
1. Kosmetik perawatan kulit (*skin care cosmetic*)
- Jenis ini berguna untuk merawat kebersihan dan kesehatan kulit. termasuk di dalamnya :
- a. kosmetik untuk membersihkan kulit (*cleanser*): sabun, cleansing cream, cleansing milk, dan penyegar kulit (*freshener*)
  - b. kosmetik untuk melembabkan kulit (*moisturizer*), misalnya moisturizer cream, night cream, anti wrinzel cream.
  - c. kosmetik pelindung kulit, misalnya sunscreen cream, sunscreen foundation, sunblock cream/lotion
  - d. kosmetik untuk menipiskan atau mengelas kulit (*peeling*) misalnya scrub cream yang berisi butiran butiran halus yang berfungsi sebagai pengampelas (*abrasiver*).

## 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. Dalam kosmetik riasan peran zat warna dan pewangi sangat besar. Kosmetik dekoratif dibagi menjadi 2 golongan yaitu:

- a. kosmetik dekoratif yang hanya menimbulkan efek pada permukaan dan pemakaian sebentar misalnya bedak, lipstik, pemerah pipi, eyes shadow, dll
- b. kosmetik dekoratif yang efeknya mendalam dan biasanya lama bau luntur misalnya kosmetik pemutih, cat rambut, pengeriting rambut, dan preparat penghilang rambut.

### 2.2.3 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 pada dan mendapat izin edar dari badan pengawasan obat dan makanan.

Persyaratan untuk kosmetik dekoratif adalah (Tranggono, 2007):

- a. Warna yang menarik.
- b. Bau harum yang menyenangkan.
- c. Tidak lengket.
- d. Tidak menyebabkan kulit tampak berkilau.
- e. Tidak merusak atau mengganggu kulit.

### 2.1.4 Pewarna Kosmetik

Menurut Peraturan Menkes RI No.376/MENKES/PER/VIII/1990 tentang bahan, zat warna, zat pengawet dan tabir surya pada kosmetik, zat warna adalah zat atau campuran zat yang dapat digunakan pada sediaan kosmetik untuk mewarnai lapisan tubuh luar manusia dengan atau tanpa bantuan zat lain.

Bahan pewarna dalam produk kosmetik harus dapat memberikan intensitas dan sifat yang diinginkan. Efek pewarnaan yang cukup kuat dari zat warna akan menguntungkan karena hasil yang diinginkan dapat dicapai dengan konsentrasi sedikit mungkin. Sifat dan intensitas warna harus stabil terhadap sinar matahari yang berlebihan, panas, oksidasi, reduksi, hidrolisis, dan mikroorganisme (Howard, 1974).

Zat warna merupakan faktor yang sangat menentukan pada pemerah bibir. Warna-warna yang digunakan bervariasi dari merah, rose, dan jingga. Zat warna yang digunakan pada pemerah bibir harus memenuhi syarat-syarat yaitu dapat berpenetrasi pada kulit bibir dan dapat melapisi bibir dengan baik untuk menutupi kekasaran.

Zat warna yang sering digunakan pada sediaan lipstik antara lain (Wilkinson, 1982):

- 1) *Staining dyes*, merupakan zat warna yang dapat mewarnai bibir dengan warna yang diinginkan, digunakan pada konsentrasi 2-3%. Merupakan turunan *fluorescein* yang terhalogenasi seperti *bromo acid*, *eosin*, dan *tetra bromofluorescein*.
- 2) *Noneosin staining dyes* juga merupakan turunan dari *fluorescein*, yang sering digunakan adalah yang bersifat lipofilik yang tak larut dalam air yaitu bentuk *sulfo acidnya*.
- 3) Pigmen, merupakan zat warna logam yang dapat bercampur dengan bahan dasar. Zat warna ini dapat bersifat anorganik maupun organik dan digunakan pada konsentrasi 8-10%.
- 4) Titanium dioksida, berguna untuk memudahkan warna, serta menyinarakan warna. Lapisan yang terbentuk agak keruh keputihan dan digunakan pada konsentrasi 1%.
- 5) Lakes, merupakan campuran zat warna *Drug & Cosmetic* dan logam-logam seperti Al, Ba, Ca, dan Sr. Digunakan pada konsentrasi 5 - 15%.

Undang-undang di Amerika Serikat membedakan warna menjadi 3 kelas yaitu:

- 1) Diperbolehkan untuk seluruh makanan, obat, dan kosmetik (*Food, Drug &*

*Cosmetic)*

- 2) Diperbolehkan untuk obat dan kosmetik (*Drug & Cosmetic*)
- 3) Diperbolehkan hanya untuk kosmetik bagian luar tubuh (*External Drug & Cosmetic*).

### 2.2.5 Kosmetik Lipstik

Lipstik adalah produk kosmetik yang paling luas digunakan. Lipstik merupakan pewarna bibir yang dikemas dalam bentuk batang padat (roll up) yang terbentuk dari minyak, lilin dan lemak (Wasitaatmadja, 1997). Lipstik adalah make up bibir yang anatomis dan fisiologisnya agak berbeda dari kulit bagian badan lainnya. Misalnya, stratum korneum-nya sangat tipis dan dermisnya tidak mengandung kelenjar keringat maupun kelenjar minyak, sehingga bibir mudah kering dan pecah-pecah terutama jika dalam udara yang dingin dan kering. Hanya air liur yang merupakan pembasah alami untuk bibir (Tranggono, 2007).

Lipstik terdiri dari zat warna yang terdispersi dalam pembawa yang terbuat dari campuran lilin dan minyak, dalam komposisi yang sedemikian rupa sehingga dapat memberikan suhu lebur dan viskositas yang dikehendaki. Suhu lebur lipstik ideal yang sesungguhnya diatur hingga suhu mendekati suhu bibir, bervariasi antara 36-38°C. Tetapi karena harus memperhatikan faktor ketahanan terhadap suhu cuaca di sekelilingnya, terutama suhu daerah tropik, suhu lebur lipstik dibuat lebih tinggi, yang dianggap lebih sesuai diatur pada suhu lebih kurang 62°C, biasanya berkisar antara 55 - 75°C (Depkes RI, 1985).

#### 2.2.5.1 Persyaratan Lipstik

Persyaratan lipstik berdasarkan SNI 16 4769 untuk syarat pewarna harus sesuai dengan permenkes RI No.445/Menkes/V/1998 bahan, zat warna, substratum, zat pengawet dan tabir surya pada kosmetik.

Tabel 2.2 Zat pewarna sintetis yang di izinkan Menurut Menteri Kesehatan RI No.445/Menkes/V/1998

No.	Warna	Kode Indeks Warna
1.	Blue no. 1	42090
2.	Orange no. 4	15510
3.	Red no. 5	45370
4.	Red no. 7	15850
5.	Red no. 12	15630

6.	Red no. 21	45380
7.	Orange no. 17	26100
8.	Red no. 27	45410
9.	Red no. 35	12120
10	Red no. 36	12085

Tabel 2.3. Zat warna sebagai bahan berbahaya dalam obat, makanan dan kosmetik (Dirjen POM NO.0036/C/SK/II/90)

NO	Nama	No Indeks Warna
1.	Jingga K1 (C.I. Pigmentt Orange 5, D&C Orange No.17),	12075
2.	Merah K3 (C.I. Pigmentt Red 53,D&C Red No.8),	15585
3.	Merah K4	15585 : 1
4.	Merah K10 (Rhodamin B, C.I. Food Red 15, D&C Red No.19)	45170
5.	Merah K11 (C.I 45170:1)	45170 : 1

#### 2.2.5.2 Komposisi Lipstik

Bahan-bahan utama pada lipstik adalah (Tranggono, 2007):

##### a. Lilin

Misalnya: *carnauba wax*, *paraffin waxes*, *ozokerite*, *beewax*, *candellila wax*, *spermaceti*, *ceeresine*. Semuanya berperan pada kekerasan lipstik.

##### b. Minyak

Fase minyak dalam lipstik dipilih terutama berdasarkan kemampuannya melarutkan zat- zat eosin. Misalnya, minyak castor, *tetrahydrofurfuril alcohol*, *fatty acid alkylolamides*, *dihydric alcohol*, beserta *monoethers* dan *monofatty acid esternya*, *isopropyl myristate*, *isopropyl palmitate*, *butyl stearate*, *paraffin oil*.

##### c. Lemak

Misalnya, krim kakao, minyak tumbuhan yang sudah dihidrogenasi (misalnya *hydrogenated castrol oil*), *cetyl alcohol*, *oleyl alcohol*, *lanolin*.

##### e. Zat-zat pewarna

Zat pewarna yang dipakai secara universal di dalam lipstik adalah zat warna eosin yang memenuhi dua persyaratan sebagai zat warna untuk lipstik, yaitu kelekatan pada kulit dan kelarutannya di dalam minyak. Pelarut terbaik untuk eosin adalah castrol oil. Tetapi furfuryl alkohol 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.



f. Surfaktan

Surfaktan kadang-kadang ditambahkan dalam pembuatan lipstik untuk memudahkan pembasahan dan dispersi partikel-partikel pigmen warna yang padat.

g. Antioksidan

h. Bahan pengawet

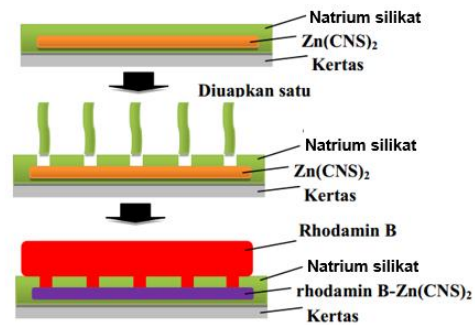
Bahan pewangi (fragrance) atau lebih tepat bahan pemberi rasa segar (flavoring), harus mampu menutupi bau dan rasa kurang sedap dari lemak-lemak dalam lipstik dan menggantinya dengan bau dan rasa yang menyenangkan.

### 2.3 Test Kit (sensor kimia )

Sensor kimia/test kit bentuk stik digunakan untuk mengukur kadar suatu zat dengan cara mencelupkan stik yang ditempeli lapisan sensor yang telah mengabsorpsi reagen yang spesifik untuk analit dalam sampel larutan sehingga menimbulkan warna. Penentuan konsentrasi analit dalam sampel dapat dilakukan dengan mengukur perubahan intensitas warna yang terjadi. Intensitas warna yang timbul sebanding dengan konsentrasi (Budianto, 2002).

Sensor kimia bentuk stik dapat digunakan untuk analisis suatu analit secara kualitatif maupun semi kuantitatif. Untuk analisis secara kualitatif berdasarkan perubahan warna kertas pada stik saat dicelupkan pada sampel yang mengandung rhodamin B. Sedangkan untuk analisis secara semi kuantitatif berdasarkan perbandingan warna kertas pada stik dengan deret warna sensor yang telah dibuat (Prahasto, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk membuat suatu indikator sederhana (tes kit) dalam bentuk stik dengan menggunakan reagen  $Zn(CNS)_2$  sehingga dapat dihasilkan indikator sederhana (tes kit) yang sensitif dan spesifik untuk mengetahui kandungan rhodamin B pada sampel lipstik.



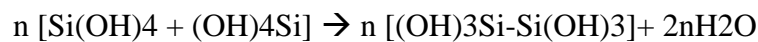
Gambar 2.2 Prinsip kerja sensor kimia bentuk stik

Sensor kimia (rapid test) ini menggunakan metode sol gel. Metode sol-gel dikenal sebagai salah satu metode sintesis nanopartikel yang cukup sederhana dan mudah. Metode ini merupakan salah satu “*wet method*” karena pada prosesnya melibatkan larutan sebagai medianya. Secara umum, metode sol-gel meliputi transisi sistem dari cairan (sol) menjadi fase padatan (gel). Sol merupakan sistem koloid padatan dengan ukuran 0,1-1  $\mu\text{m}$  yang terdispersi dalam cairan. Sol terbuat dari partikel padatan yang memiliki diameter beberapa ratus nm. Padatan ini pada umumnya merupakan senyawa garam logam anorganik yang tersuspensi menjadi fasa cair. Sedangkan gel adalah sistem koloid di mana baik cairan maupun padatan saling terdispersi. Metode sintesis menggunakan sol-gel untuk material berbasis oksida berbeda beda bergantung prekursor dan bentuk produk akhir, baik itu berupa powder, film, aerogel, atau serat.

Pada umumnya material yang digunakan untuk preparasi sol adalah garam logam anorganik. Prekursor pada proses sol-gel dijadikan sasaran reaksi hidrolisis dan polimerisasi untuk membentuk suspensi koloid atau sol, kemudian fasa cair yang terbentuk mengalami kondensasi membentuk gel yang memiliki padatan berukuran makromolekul. Prekursor adalah suatu bahan awal dalam proses sol-gel. Larutan prekursor dalam proses sol-gel dapat diperoleh dari berbagai sumber silika. Prekursor untuk proses sol-gel silika yang biasa digunakan yaitu natrium silikat. Untuk membentuk gel yang baik, dibutuhkan tambahan pelarut (*solvent*) sebagai bagian yang terintegrasi dalam gel untuk mempertahankan jaringan dan katalis untuk mengontrol laju *gelation*. Jenis katalis yang digunakan terdiri dari katalis asam, katalis basa, dan katalis asam basa . pH

dan durasi proses sol-gel perlu diperhatikan sehingga didapatkan hasil yang maksimal. Secara teoritis, katalis basa /asam-basa menghasilkan karakteristik silika aerogel yang lebih baik dibandingkan katalis asam dalam hal keseragaman distribusi, volume penyusutan, dan kemampuan *cross-linking* (Bhagat et al., 2007)

Mekanisme reaksi yang terjadi bila digunakan prekursor natrium silikat diantaranya sebagai berikut :



Dalam suasana asam, akan terbentuk rantai cabang yang tidak teratur dalam sol silika. Namun, dalam suasana basa, akan terbentuk jaringan yang uniform dan volume pori yang besar. Pembentukan gel membutuhkan waktu yang lama apabila pH sol rendah (Soleimani Dorcheh & Abbasi, 2008). Natrium silikat stabil dalam larutan basa dan netral. Dalam larutan asam, ion silikat akan bereaksi dengan ion hidrogen membentuk *silicic acid*, dimana bila dipanaskan dalam oven akan membentuk silika berpori (silika gel) (Gurav et al., 2010)

Metode sol gel memiliki keuntungan antara lain:

- (a) homogenitas produk yang tinggi,
- (b) kemurnian yang tinggi, dan
- (c) suhu yang digunakan relatif rendah.

Kekurangan metode sol gel adalah

- (a) prekursor yang mahal,
- (b) membutuhkan waktu yang lama dan
- (c) terbentuknya sisa hidroksil dan karbon (Ningsih, 2016)

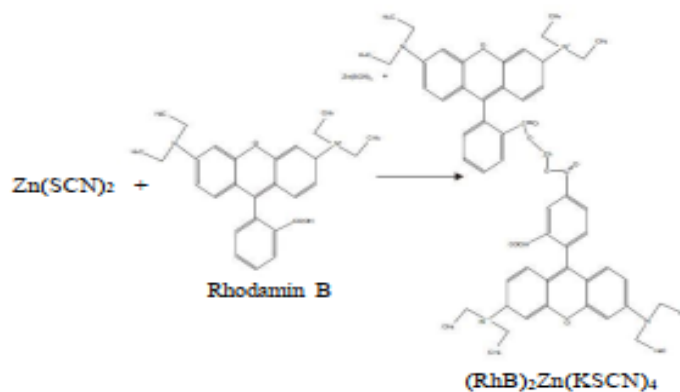
## 2.4 Tinjauan Reaksi Reagen

Terbentuknya kompleks  $(\text{RB})_2\text{-Zn}(\text{CNS})_4$  ditunjukkan dengan perubahan warna dari warna merah menjadi warna ungu. Ligan CNS- merupakan salah satu ligan jembatan yang bisa menghubungkan dua atom pusat untuk membentuk senyawa koordinasi inti ganda. Ligan ini mudah diperoleh

dan tidak bersifat racun serta tidak reaktif sehingga aman untuk penelitian. Senyawa ini berbentuk serbuk kristal, tidak berwarna, memiliki titik leleh kurang lebih 1730C. Dapat larut dalam pelarut air dan beberapa pelarut organik seperti aseton dan alkohol (Budavari, 2001). Ligan CNS- dapat diperoleh dari garam kalium tiosianat (KCNS) maupun natrium tiosianat (NaCNS).

Kompleks tiosianat dari beberapa logam, khususnya Co, Hg dan Fe telah diketahui dengan baik dan secara ekstensif telah dipelajari, namun masih sedikit perhatian terhadap kompleks tiosianat dari Zn. Keberadaan suatu ion kompleks ini, ditunjukkan oleh walden dengan mengisolasi padatan  $K_2Zn(CNS)_4 \cdot 2H_2O$  (Ringbom, 1963). Pada strukturnya, ligan CNS- mempunyai dua atom donor yang dapat disumbangkan ke atom pusat, yaitu atom donor N dan atom donor S (Setyawati, 2007).

Persamaan reaksi antara reagen dengan rodamin B:



## 2.5 Uji Validasi

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penelitian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan dari laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Validasi metode analisis bertujuan untuk mengkonfirmasi bahwa metode analisis tersebut dapat sesuai untuk peruntukannya (Gandjar dan Rohman, 2007). Validasi metode dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis (Gandjar dan Rohman, 2007).

Beberapa parameter yang dipertimbangkan dalam validasi metode analisis meliputi:

#### 1. Linieritas

Linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit yang terdapat pada sampel pada kisaran konsentrasi tertentu. Rentang dapat dilakukan dengan cara membuat kurva kalibrasi dari beberapa set larutan standart yang telah diketahui konsentrasinya (Ermer dan Miller, 2005). 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, 2007).

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 (Harvey, 2000).

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)

#### 2. Batas Deteksi (LOD)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko. (Harmita, 2004).

### 3. Kecermatan (Accuracy)

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (recovery) analit yang ditambahkan (Harmita, 2004).

Terdapat tiga cara yang dapat digunakan untuk menentukan akurasi suatu metode analisis yaitu:

1. membandingkan hasil analisis dengan CRM (certified reference material) dari organisasi internasional.
2. Uji perolehan kembali atau perolehan kembali dengan memasukkan analit ke dalam matriks blanko (spiked placebo).
3. Penambahan baku pada matriks sampel yang mengandung analit (standard addition method) (Gandjar dan Rohman, 2007).

### 4. Keseksamaan (precision)

Presisi adalah ukuran kedekatan hasil analisis diperoleh dari serangkaian pengukuran ulangan dari ukuran yang sama. Presisi biasanya diukur sebagai koefisien variasi atau deviasi standar relative dari hasil analisis yang diperoleh dari independen disiapkan standar control kualitas (Riyanto, 2014). Analisis dilakukan terhadap sampel-sampel yang diduga identik yang dicuplik dari batch yang sama. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi 2% atau kurang. Akan tetapi kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium. Dari penelitian dijumpai bahwa koefisien variasi meningkat dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis. (Harmita, 2004:122).

## 2.6 Pengolahan Digital Dan Image J

Pengolahan citra (image processing) / kolorimetri merupakan suatu sistem dimana proses dilakukan dengan masukan berupa citra (image) dan hasilnya juga berupa citra (image). Citra dapat dikelompokkan menjadi citra tampak dan citra tak tampak. Banyak contoh citra tampak dalam kehidupan sehari-hari misalnya foto keluarga, lukisan pemandangan, hologram (citra optis), dan apa yang nampak di layar monitor dan televisi. Citra tak tampak misalnya data gambar dalam file citra digital (Balza dan Kartika, 2005).

Citra digital adalah citra yang dapat diolah oleh komputer. merepresentasikan informasi yang diwakili oleh titik tersebut (Darma, 2010). Format data citra digital berhubungan erat dengan warna. Pada kebanyakan kasus, terutama untuk keperluan penampilan secara visual, nilai data digital merepresentasikan warna dari citra yang diolah. Format citra digital yang banyak dipakai adalah citra Biner (monokrom), citra Skala Keabuan (grayscale), citra Warna (true color) (Munir, 2004).

Pada citra warna, setiap titik mempunyai warna yang spesifik yang merupakan kombinasi dari 3 warna dasar, yaitu merah, hijau, dan biru. Format citra ini sering disebut sebagai citra RGB (red-green-blue). Setiap warna dasar mempunyai intensitas sendiri dengan nilai maksimum 255 (8 bit), dan warna minimum adalah putih. Red memiliki warna minimum putih dan warna maksimum merah. Green memiliki warna minimum putih dan warna maksimum hijau. Blue memiliki warna minimum putih dan warna maksimum biru. Misalnya warna kuning merupakan kombinasi warna merah dan hijau sehingga nilai RGB-nya adalah (255 255 0). Dengan demikian setiap titik (pixel) pada citra warna membutuhkan data 3 byte (Balza dan Kartika, 2005).

Ada beberapa teknik pengambilan digital yang bisa dilakukan antara lain dengan menggunakan kamera digital (atau boleh juga web-cam) atau menggunakan scanner (bisa scanner umum, finger-print scanner atau bar-code scanner. Hasil dari citra dengan menggunakan teknik kamera atau scanner berupa citra raster (atau citra dengan model matrik).

Program Image J yang dibuat oleh National Institutes of Health yang berisi menu-menu seperti bar, tool bar, dan status bar merupakan program analisis untuk optic. Nilai koordinat dan koordinat akan muncul ketika kursor berada di atas gambar, dan akan diukur dalam pixel/detik. Titik tunggal pada elemen terkecil atau pencitraan dari gambar digital disebut pixel (Reinking, 2007).

Program Image J digunakan untuk penentuan nilai RGB dengan didasarkan pada hasil perhitungan nilai yang mewakili dari tiga warna primer red, green, dan blue. Pemilihan red, green dan blue karena merupakan warna cahaya yang dapat menghasilkan spektrum. Selain itu, ketiga warna tersebut dapat bergabung secara bersamaan membentuk banyak warna. Cahaya putih diperoleh ketika intensitas tertinggi dari setiap warna digabungkan secara bersama sedangkan cahaya hitam akan terbentuk ketika setiap warna digabungkan secara bersama pada intensitas yang sama dengan nol. Untuk menghitung nilai red, green dan blue dengan menggunakan program image J.

## **2.7 Spektrofotometri UV-Vis**

### **2.7.1 Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer, spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 2008).

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 karena terjadi beberapa transisi sehingga mempunyai dari satu panjang gelombang maksimal (Rohman, 2007).

### 2.7.2. 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 transmitan. 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 (Vogel, 1979).

### 2.7.3. 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 deuterium 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.

## 2. Monokromator

Monokromator adalah daerah di mana cahaya yang berasal dari sumber cahaya akan dipisahkan menjadi berbagai macam warna dengan panjang gelombang mana yang akan digunakan..

## 3. Beam spliter

Beam spliter adalah daerah di mana berkas yang dihasilkan oleh bagian monokromator dibagi menjadi dua berkas oleh beam spliter.

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

## 5. Tempat sampel

Daerah ini adalah tempat di mana 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 di antara beam spliter dan detector (watson, 2005).