

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kosmetik

Pengertian kosmetik menurut Perka BPOM No.18 tahun 2015, kosmetik merupakan 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. Kemudian menurut Permenkes RI Tahun 2010, Kosmetik adalah sediaan atau paduan bahan yang siap untuk digunakan pada bagian luar badan (kuku,epidermis, bibir, rambut dan organ kelamin bagian luar), rongga mulut dan gigi untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit. Kosmetik adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (kuku, epidermis, bibir, rambut dan organ kelamin bagian luar) atau membran mukosa mulut dan gigi terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi baik.

Penggolongan Kosmetik dalam surat edaran BPOM No.HK.07.4.42.01.16.84 Tahun 2016:

- a. Sediaan bayi, misalnya baby oil, baby lotion, baby cream, dan sediaan bayi lainnya
- b. Sediaan perawatan kulit, misalnya masker, masker mata.
- c. Sediaan rias wajah, misalnya dasar make-up, alas bedak
- d. Sediaan mandi, misalnya sabun mandi dan sabun mandi antiseptik
- e. Sediaan wangi-wangian, misalnya pewangi badan, parfum, dan eu de parfum
- f. Sediaan perawatan kulit, misalnya lulur dan mangi
- g. Sediaan rambut, misalnya depilatory
- h. Sediaan kebersihan badan, misalnya penyegar kulit, krim malam, krim siang, dan pelembab.
- i. Sediaan cukur, misalnya sediaan cukur dan sediaan pasca cukur.
- j. Sediaan rias mata, misalnya pensil alis, bayangan mata, eye liner, maskara,dan sediaan rias mata lainnya.
- k. Sediaanhygine mulut, misalnya pasta gigi, mouth washes dan penyegar mulut
- l. Sediaan kuku, misalnya nail dryerdan pewarna kuku.
- m. Sediaan tabir surya

- n. Sediaan menggelapkan kulit, misalnya sediaan untuk menggelapkan kulit tanpa berjemur.

Persyaratan bahan kosmetik menurut BPOM No.18 tahun 2015, bahan kosmetika harus :

- a. Bahan kosmetika harus memenuhi persyaratan mutu sebagaimana dalam kodeks kosmetika indonesia atau standart lain yang diakui sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan
- b. Bahan yang digunakan harus terdaftar pada peraturan BPOM
- c. Bahan kosmetika yang tidak terdaftar pada peraturan BPOM hanya diperbolehkan digunakan sepanjang memenuhi persyaratan keamanan, kemanfaatan, dan mutu serta disertai dengan adanya pembuktian secara empiris atau ilmiah
- d. Bahan alam di indonesia dapat digunakan sebagai pewarna/pengawet/tabir surya sepanjang disertai pembuktian empiris atau ilmiah.

Berdasarkan Perka BPOM tahun 2015, kosmetik yang dibuat dan diedarkan harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

- a. Memakai bahan yang memenuhi standar dan persyaratan mutu serta persyaratan lain yang ditetapkan
- b. Diproduksi dengan memakai cara pembuatan kosmetik yang bagus
- c. Tercatat dan mendapat persetujuan dari Badan Pengawas Obat dan Makanan

Sebelum suatu produk farmasi atau kosmetika dapat di jual kepada umum, produsen harus menyerahkan kepada pemerintah cara pemakaian produk itu disertai dengan laporan tentang hasil-hasil pengujian keamanannya kepada hewan, manusia, dan klinis. Berdasar keterangan tersebut, obat atau kosmetika yang oleh pemerintah dianggap berbahaya bagi umum dapat dilarang untuk diedarkan (Tranggono dan Ratna, 2014).

2.2 Lipstik

Produk kosmetik yang sering digunakan yaitu kosmetik untuk pewarna bibir atau lipstik, lipstik merupakan sediaan yang terbuat dari campuran lilin, minyak dan pewarna. Lipstik adalah pewarna bibir yang disimpan dalam bentuk batang pada (*roll up*) yang terbentuk dari lemak, minyak, dan lilin. Lipstik berfungsi mewarnai bibir untuk memperoleh efek tertentu sehingga bibir terlukis cantik, dan wajah terlihat segar (Aprilia, 2015). Lipstik yang baik harus memiliki karakteristik yang meyakinkan dan dapat diterima oleh konsumen, seperti memiliki tekstur dan sifat antioksidan yang sesuai. Pewarna untuk lipstik biasa dari pewarna sintesis maupun pewarna alami dan pewarna sintesis diproduksi secara kimiawi. Pewarna sintesis memberikan warna

lipstik yang berbahaya untuk dikonsumsi oleh manusia dan dapat menyebabkan efek seperti alergi, dermatitis, pengeringan bibir dan lain-lain, dalam beberapa kasus dapat juga menjadi karsinogenik (Varghese dkk, 2017).

Menurut Tranggono dan Latifah (2007), bahan-bahan utama dalam sediaan lipstik yaitu:

a. Lilin

Lilin berperan pada kekerasan lipstick. Misalnya *beewax, carnauba wax, paraffin waxes, candelilla wax, ceresine, ozokerite*. Lilin digunakan untuk memberi tekstur batang yang kuat pada lipstik dan menjaganya tetap padat biarpun dalam keadaan hangat.

b. Minyak

Fase minyak dalam lipstik memiliki kemampuan melarutkan zat-zat warna eosin. Misalnya *tetrahydrofurfuryl alcohol, fatty acid alkylolamides, castrol oil, dihydroc alcohol beserta isopropyl* dan *mono fatty acid esternya, isopropyl myristate, monoeter, butyl stearate, paraffin oil*.

c. Lemak

Lemak berperan untuk melembabkan dan memberikan kesan mengkilap. Misalnya krim kakao, minyak tumbuhan yang sudah dihidrogenasi (*hydrogenated castrol oil*), *lanolin, cetyl alcohol, dan oleyil alcohol*.

d. Asetogliserid

Asetogliserid berfungsi untuk menyempurnakan sifat thixotropik batang lipstik sehingga biarpun temperatur berfluktasi, kepadatan lipstick tetap konstan.

e. Zat Pewarna

Zat pewarna yang dipakai secara umum didalam lipstik adalah zat warna eosin yang memenuhi dua persyaratan sebagai zat warna untuk lipstik yaitu kelekatan pada kulit dan kelarutan dalam minyak. Pelarut terbaik didalam eosin adalah *castrol oil*. *Castrol oil* berfungsi sebagai emolien untuk menghaluskan dan melembutkan kulit serta bersifat melembabkan.

f. Antioksidan

Antioksidan yang digunakan harus memenuhi syarat yaitu:

- Tidak berbau agar tidak mengganggu wangi parfum dalam kosmetika.
- Tidak berwarna.
- Tidak toksik.
- Tidak berubah meskipun disimpan lama.

g. Bahan Pengawet

Kemungkinan bakteri atau jamur untuk tumbuh didalam sediaan lipstik sebenarnya sangat kecil karena lipstik tidak mengandung air. Akan tetapi ketika lipstik diaplikasikan pada bibir, kemungkinan terjadi kontaminasi pada permukaan lipstik sehingga terjadi pertumbuhan organisme. Oleh karena itu, perlu ditambahkan pengawet didalam formula lipstik. Pengawet yang sering digunakan adalah metal paraben dan propel paraben.

h. Bahan Pewangi

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

i. Surfaktan

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

2.3 Zat Warna

Zat warna atau pigmen adalah zat yang mengubah warna cahaya tampak sebagai proses absorpsi selektif terhadap panjang gelombang pada kisaran tertentu. Pigmen tidak menghasilkan warna tertentu sehingga berbeda dari zat pendar (luminescence). Molekul pigmen menyerap energi pada panjang gelombang tertentu sehingga memantulkan panjang gelombang tampak lainnya, sedangkan zat pendar memancarkan cahaya karena reaksi kimia tertentu. Zat warna pada kosmetik adalah zat atau campuran zat yang dapat digunakan pada sediaan kosmetik untuk mewarnai sediaan. Zat warna ini dapat pula digunakan sebagai bahan aktif dengan tujuan untuk melapisi tubuh manusia dengan atau tanpa bantuan zat lain.

Penampilan kosmetik, termasuk warnanya sangat berpengaruh untuk penampilan wajah. Penambahan zat warna pada kosmetik bertujuan agar kosmetik lebih menarik. Zat pewarna sendiri secara luas digunakan diseluruh dunia. Di Indonesia, sejak dahulu orang banyak menggunakan pewarna tradisional yang berasal dari bahan alami. Kemajuan teknologi memungkinkan zat pewarna dibuat secara sintetis. Dengan jumlah yang sedikit, suatu zat kimia bisa memberi warna yang stabil pada produk kosmetik. Dengan demikian produsen bisa menggunakan lebih banyak pilihan warna untuk menarik perhatian konsumen (Clara, 2018).

Bahan pewarna adalah bahan atau campuran bahan yang digunakan untuk memberi dan atau memperbaiki warna pada kosmetika. Bahan pewarna terbagi menjadi dua yaitu bahan pewarna alami dan bahan pewarna sintetis. Bahan pewarna alami adalah zat pewarna alami yang berasal dari tumbuhan, hewan atau sumber-sumber mineral. Bahan pewarna sintetis adalah zat pewarna buatan yang dibuat yang diperoleh dari proses kimia buatan yang mengandalkan

bahan kimia. Bahan pewarna yang digunakan pada lipstik harus bersifat tidak larut dalam air, karena kalau larut maka air liur wanita yang menggunakan lipstik akan bewarna. Maka, biasanya yang digunakan adalah pewarna yang larut dalam minyak dan tidak larut dalam air (Ismunandar, 2007).

Bahan pewarna yang digunakan pada lipstik harus menjalani pengujian dan prosedur penggunaannya yang disebut proses sertifikasi. Proses sertifikasi ini meliputi pengujian kimia, biokimia, dan analisis media terhadap zat warna tersebut (Yuliarti, 2007). Warna dalam lipstik dihasilkan dengan penggunaan pewarna dari grup eosin yang larut minyak dan tidak larut minyak ataupun kombinasi keduanya serta asam bromo untuk memproduksi lipstik yang lebih tahan lama. Bahan pewarna yang digunakan biasanya terdiri dari red, orange, yellow, dan bromo.

1. Untuk memberikan kesan menarik bagi konsumen
2. Menyeragamkan warna dan membuat identitas produk konsumen
3. Untuk menstabilkan warna atau untuk memperbaiki variasi alami warna. Dalam hal ini penambahan warna bertujuan untuk menutupi kualitas yang rendah dari suatu produk sebenarnya tidak dapat diterima apalagi bila menggunakan zat pewarna yang berbahaya.
4. Untuk menutupi perubahan warna akibat paparan cahaya, udara atau temperatur yang ekstrem akibat proses pengolahan dan selama penyimpanan (Clara, 2018).

2.4 Rhodamin B

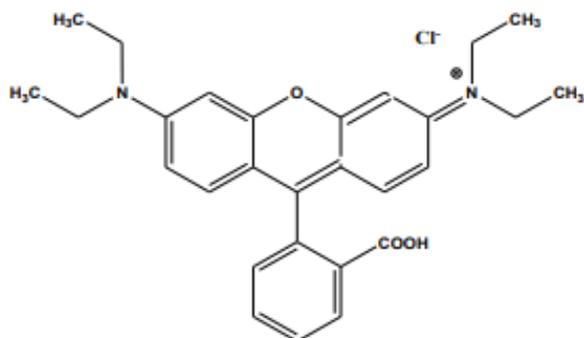
Rhodamin B adalah salah satu pewarna sintetis yang tidak boleh digunakan pada kosmetik. Rhodamin B sangat larut dalam air dan alkohol, sedikit larut dalam asam hidroklorida dan natrium hidroksida. Rhodamin B adalah warna sintetis berbentuk serbuk kristal berwarna hijau, berwarna merah keunguan dalam bentuk terlarut pada konsentrasi rendah. Rhodamin B dapat digunakan untuk pewarna kulit, kapas, wol, serat kulit kayu, nilon, serat asetat, kertas, tinta dan vernis. Rhodamin B merupakan zat warna sintetis yang umum digunakan sebagai pewarna tekstil. Penggunaan Rhodamin B dalam jumlah yang besar maupun berulang-ulang menyebabkan sifat kumulatif yaitu iritasi saluran pernafasan, iritasi kulit, iritasi pada saluran pencernaan, keracunan dan gangguan hati.

Rhodamin B termasuk zat yang apabila diamati dari segi fisiknya cukup mudah untuk dikenali. Bentuknya seperti kristal, biasanya berwarna hijau atau ungu kemerahan. Disamping itu Rhodamin juga tidak berbau serta mudah larut dalam larutan berwarna merah terang berfluoren. Zat pewarna ini mempunyai banyak sinonim, antara lain D dan C Red no 19, Food Red 15, ADC Rhodamin B, Aizen Rhodamin dan Brilliant Pink B. Rhodamin biasa digunakan dalam industri tekstil. Pada awalnya zat ini digunakan sebagai pewarna kain atau pakaian.

Campuran zat pewarna tersebut akan menghasilkan warna-warna yang menarik.

Rhodamin B berwarna merah dan sangat beracun dan berfluorensi bila terkena cahaya matahari. Zat warna sintetis Rhodamin B adalah salah satu zat warna yang dilarang untuk kosmetik dan dinyatakan sebagai bahan berbahaya. Pemakaian zat warna yang dilarang ini sering terjadi pada industri kecil dan alasan pemakaiannya selain murah harganya dan mudah juga didapatkan (Clara, 2018) .

Menurut Pipih Siswati dan Juli Soemirat Slamet dalam uji toksisitas zat warna Rhodamin B terhadap mencit engan pemberian dosis Rhodamin B 150ppm, 300 ppm dan 600 ppm menunjukkan terjadinya perubahan bentuk dan organisasi sel dalam hati normal ke patologis, yaitu perubahan sel hati menjadi nekrosis dan jaringan sekitarnya mngalami desintragasi atau disorganisasi. Kerusakan pada jaringan hati ditandai dengan terjadinya degenerasi lemak dan sitolisis dari sitoplasma. Terjadinya degenerasi lemak ini disebabkan karena terhambatnya pemasokan energi yang diperlukan untuk memelihara fungsi dan struktur retikulum endoplasmik sehingga proses sintesis protein menjadi menurun dan selkehilangan daya untuk mengeluarkan trigliserida, akibatnya menimbulkan nekrosis hati.



Gambar 2. Rumus bangun Rhodamin B (Tetraethyl Rhodamine)

Rumus kimia : $C_{26}H_{31}ClN_2O_3$

Berat Molekul : 479

Nama kimia : Tetraetil Rhodamin; D&C Basic Violet 10; C.I.45170

Pemerian : Hablur berwarna hijau atau serbuk ungu kemerahan

Kelarutan : Sangat mudah larut dalam air; menghasikan larutan merah kebiruan dan berfluoresensi kuat jika diencerkan. Sangat mudah larut dalam etanol, sukar larut dalam asam encer dan dalam larutan alkali. Larut dalam asam kuat, membentuk senyawa dengan kompleks antimony berwarna merah muda yang larut dalam isopropil eter (Depkes RI, 2014).

Penggunaan Rhodamin B pada 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 terhirup akan 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 (Clara, 2018).

Rhodamin B dapat menyebabkan keracunan seperti keracunan akut dan kronis. Keracunan akut adalah keracunan yang terjadi dalam waktu yang singkat atau seketika, dapat terjadi karena keracunan dalam dosis tinggi dan atau akibat dari adanya daya tahan yang rendah. Keracunan kronis adalah keracunan yang terjadi akibat telah terjadinya penumpukkan bahan racun dalam tubuh dan telah berlangsung dalam waktu yang sangat lama, sehingga tubuh tidak lagi mampu menetralsir racun (Nugraheni, 2014).

Efek toksik Rhodamin B dapat dibagi menjadi dua, efek toksik akut dan efek toksik kronis:

1) Efek toksik akut Rhodamin B

Bahaya utama paparan jangka pendek (akut) dari Rhodamin B yaitu:

- Jika terhirup debu atau kabutnya iritatif terhadap saluran pernafasan. Gejala seperti batuk, sakit tenggorokan, sulit bernafas, dan nyeri dada.
- Jika kontak dengan kulit debu, serbuk larutannya menyebabkan iritasi terhadap kulit timbul kemerahan dan rasa sakit.
- Jika kontak dengan mata telah dilaporkan dapat menyebabkan luka pada mata kelinci dan manusia.
- Jika tertelan, iritatif terhadap saluran pencernaan dan dapat menyebabkan efek racun. Paparan melalui pewarna sayur yang mengandung Rhodamin B secara berlebihan dapat menyebabkan urin berwarna merah atau merah muda (Derita, 2019).

2) Efek toksik kronis Rhodamin B

Terpapar Rhodamin B dalam jangka waktu yang lama (kronis) dapat menyebabkan gangguan fungsi hati atau bahkan bisa menyebabkan timbulnya kanker hati. Hal tersebut dibuktikan dari suatu penelitian yang menyebutkan bahwa pada uji terhadap mencit, rhodamin B menyebabkan terjadinya perubahan sel hati dari normal menjadi nekronis dan jaringan di sekitarnya mengalami disintegrasi (Nugraheni, 2014)

2.5 Uji Kualitatif Rhodamin B Dengan Reagen

Deteksi adanya kandungan Rhodamin B pada suatu sampel makanan, minuman, maupun kosmetik sudah semakin berkembang dan banyak ragamnya diantaranya uji dengan menggunakan reagen. Reagen yang digunakan yaitu HCl pekat dan NaOH 10% dengan bantuan benang wool. Deteksi Rhodamin B dengan reagen ini dilakukan dengan menyiapkan sampel terlebih dahulu kemudian larutan sampel ditambahkan hcl 10% dan benang wool kemudian di panaskan hingga warna menempel pada benang wool kurang lebih sekitar 20 menit. Kemudian benang dilakukan pencucian, dipotong seperlunya untuk ditetesi masing-masing potongan dengan HCl pekat dan NaOH 10%. Selanjutnya diamati perubahan warna yang terjadi pada benang jika sampel positif mengandung Rhodamin maka saat ditetesi HCl pekat akan berubah menjadi jingga dan jika ditetesi NaOH 10% akan menjadi biru (Prasetya, 2016). Identifikasi Rhodamin B ini dilakukan dengan menggunakan deteksi warna yang terikat pada benang wool bebas lemak dalam suasana asam dengan pemanasan. Mekanisme terikatnya Rhodamin B pada benang wool disebabkan karena benang wool tersusun atas ikatan peptida yang didalamnya terdapat ikatan sistina, asam glutamat, lisin asam aspartik dan arginine. Rhodamin B dapat melewati lapisan kutikula melalui perombakan sistein menjadi suatu asam. Sistein terbentuk melalui pemecahan ikatan S-S sistina dalam suasana asam. Terbukanya ikatan tersebut menyebabkan masuknya Rhodamin B ke dalam benang wool. Dengan demikian terjadi penyerapan warna pada benang wool. Terikatnya Rhodamin B pada benang wool inilah yang menjadi prinsip analisis kualitatif pada penelitian (Rusmalina, 2015). Selanjutnya Rhodamin B yang terikat pada benang wool kemudian direaksikan dengan HCl pekat dan NaOH 10% hingga terjadi perubahan warna jika sampel positif mengandung Rhodamin B.

2.6 Spektrofotometri Uv-Vis

Prinsip kerja spektrofotometri Uv-Vis adalah interaksi yang terjadi antara energy yang berupa sinar monokromatis dari sumber sinar dengan materi yang berupa molekul. Besar energy yang diserap tertentu dan menyebabkan elecktron tereksitasi dari ground state ke keadaan tereksitasi yang memiliki energy lebih tinggi. Serapan tidak terjadi seketika pada daerah ultraviolet-visible untuk semua struktur elektronik tetapi hanya pada system-sistem terkonjugasi, struktur elektronik dengan adanya ikatan p dan non bonding electron (Nursawati, 2015)

Prinsip kerja spektrofotometri berdasarkan hukum Lambert Beer, bila cahaya monokromatik (I_0) melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap (I_a), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t).

Berdasarkan teori tersebut, prinsip kerja dari alat ini adalah suatu cahaya monokromatik akan melalui suatu media yang memiliki suatu konsentrasi tertentu, maka akan membentuk spectrum cahaya, namun ketika melewati monokromator, cahaya yang keluar hanya akan terdapat satu cahaya yaitu yang sesuai dengan setting awal, misalnya warna hijau. Setelah keluar dari monokromator, cahaya akan menembus sampel atau larutan yang kemudian menuju detector dimana cahaya yang di hasilkan dari sampel akan di ubah menjadi listrik yang kemudian akan terbaca hasil pada read out (monitor) (Nursawati, 2015)

Spectrum cahaya yang dapat terlihat oleh mata terentang antara 400 nm sampai 800 nm. Pada teknik spektrofotometri, cahaya dari sumber cahaya diuraikan menggunakan prisma sehingga di peroleh cahaya monokromatis yang diserap oleh zat yang akan diperiksa. Cahaya monokromatis merupakan cahaya satu warna dengan satu panjang gelombang, sehingga cahaya yang diserap oleh larutan berwarna dapat diukur. Warna yang diserap oleh suatu senyawa merupakan warna komplementer dari warna yang teramati(Nursawati, 2015)

Menurut suarsa (2015), Hukum Lambert-Beer (Beer`s law) adalah hubungan linearitas antara absorbans dengan konsentrasi larutan sampel. Konsentrasi dari sampel di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbans pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Biasanya hukum Lambert-Beer ditulis dengan:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

A = Absorbansi (serapan)

ϵ = Koefisien ekstingsi molar (M⁻¹ cm⁻¹)

b = tebal kuvet (cm)

C = konsentrasi (M)

Dalam hal ini, hukum lambert-beer dapat menyatakan hubungan antara serapan cahaya dengan konsentrasi zat dalam larutan. Konsentrasi larutan yang dianalisis sebanding dengan jumlah sinar yang diserap oleh zat yang terdapat dalam larutan tersebut. Pada spektrofotometri Uv-Vis, warna yang diserap oleh suatu senyawa atau unsur adakah warna komplementernya. Namun apabila larutan berwarna yang dilewati radiasi atau cahaya putih, maka radiasi tersebut pada panjang gelombang tertentu akan secara selektif sedangkan radiasi yang tidak diserap akan diteruskan(Helwandi, 2016).

Kelebihan dan Kekurangan Uv-Vis

1. Kelebihan

- Dapat digunakan untuk menganalisis banyak zat organik dan anorganik, selektif, mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif sebesar 1%-3%
- Analisis dapat dilakukan dengan cepat dan tepat, serta dapat digunakan untuk

menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil.

- Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya, 2013).

2. Kekurangan

- Absorpsi dipengaruhi oleh pH larutan, suhu dan adanya zat pengganggu dan kebersihan dari kuvet
- Hanya dapat dipakai pada daerah ultraviolet yang panjang gelombang $> 185\text{nm}$
- Pemakaian hanya pada gugus fungsional yang mengandung elektron valensi dengan energy eksitasi rendah
- Sinar yang dipakai harus monokromatis (Dewinta, 2020)