



VALIDASI METODE DAN ANALISIS *RHODAMIN B* PADA SAOS DI PASARAN KOTA BENGKULU MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

VALIDATION METHOD AND ANALYSIS OF RHODAMIN B IN SAUCE IN MARKETS BENGKULU CITY USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY

Oktavia Sonia¹, Herlina², Neti Afriyani¹, Elly Mulyani²

¹Program Studi Sarjana Farmasi Klinis dan Komunitas, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Al-Fatah Bengkulu, Jl. Indragiri Gang 3 Serangkai, Padang Harapan, Kota Bengkulu

²Program Studi D3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Al-Fatah Bengkulu, Jl. Indragiri Gang 3 Serangkai, Padang Harapan, Kota Bengkulu

Alamat Korespondensi:

Program Studi Sarjana Farmasi Klinis dan Komunitas, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Al-Fatah Bengkulu, Jl. Indragiri Gang 3 Serangkai, Padang Harapan, Kota Bengkulu.

Email : oktaviasonia754@gmail.com

ABSTRAK

Rhodamin B merupakan zat pewarna sintesis yang dilarang penggunaannya pada pangan karena bersifat toksik dan dapat membahayakan kesehatan apabila dikonsumsi secara terus-menerus. Tujuan untuk mengidentifikasi keberadaan serta menentukan kadar *Rhodamin B* pada sampel saos yang beredar di Kota Bengkulu. Analisis kualitatif meliputi uji perubahan warna menggunakan pereaksi NaOH, HCl, dan H₂SO₄ serta kromatografi lapis tipis (KLT). Analisis kuantitatif dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang divalidasi melalui parameter linearitas, akurasi, presisi, batas deteksi (LOD), dan batas kuantifikasi (LOQ). Hasil identifikasi warna menunjukkan bahwa seluruh sampel saos tidak mengalami perubahan warna yang sesuai dengan karakteristik *Rhodamin B* setelah penambahan pereaksi NaOH, HCl, dan H₂SO₄, sehingga dinyatakan tidak mengandung *Rhodamin B*. Hasil identifikasi menggunakan KLT juga menunjukkan seluruh sampel tidak mengandung *Rhodamin B*. Validasi metode spektrofotometri UV-Vis menunjukkan linearitas yang baik dengan rata-rata koefisien korelasi (*r*) sebesar 0,9934, akurasi 101,5–111%, presisi dengan nilai %RSD 1,105%, serta nilai LOD dan LOQ masing-masing sebesar 0,037 ppm dan 0,1123 ppm. Berdasarkan hasil penelitian, seluruh sampel saos yang diteliti tidak mengandung *Rhodamin B* dan metode yang digunakan telah memenuhi persyaratan validasi sehingga layak digunakan untuk analisis *Rhodamin B*.

Kata Kunci: *Rhodamin B*, saos, KLT, spektrofotometri UV-Vis, validasi metode.

ABSTRACT

Rhodamine B is a synthetic dye whose use in food is prohibited due to its toxic nature and can be harmful to health if consumed continuously. This study aims to identify the presence and determine the levels of *Rhodamine B* in sauce samples sold in Bengkulu City. Qualitative analysis included a color change test using NaOH, HCl, and H₂SO₄ reagents and thin layer chromatography (TLC). Quantitative analysis was conducted using UV-Vis spectrophotometry validated through parameters of linearity, accuracy, precision, limit of detection (LOD), and limit of quantification (LOQ). The color identification results showed that all sauce samples did not experience color changes that corresponded to the characteristics of *Rhodamine B* after the addition of NaOH, HCl, and H₂SO₄ reagents, so they were declared not to contain *Rhodamine B*. The identification results using TLC also showed that all samples did not contain *Rhodamine B*. Validation of the UV-Vis spectrophotometry method showed good linearity with an average correlation coefficient (*r*) of 0.9934, an accuracy of 101.5–111%, a precision with a %RSD value of 1.105%, and LOD and LOQ values of 0.037 ppm and 0.1123 ppm, respectively. Based on the results of the study, all sauce samples studied did not contain *Rhodamine B* and the method used had met the validation requirements so that it was suitable for use for *Rhodamine B* analysis.

Keywords: *Rhodamine B*, sauce, TLC, UV-Vis spectrophotometry, method validation.

PENDAHULUAN

Macam-macam olahan makanan yang belum tentu higienis menunjukkan bahwa kesadaran masyarakat terhadap pentingnya keamanan pangan masih perlu ditingkatkan. Keamanan pangan menjadi persyaratan mendasar yang wajib dipenuhi oleh setiap individu saat mengonsumsi makanan. Sumber pangan yang berkualitas tinggi dan aman untuk dikonsumsi dapat diperoleh dari pasar tradisional maupun pasar modern yang tersebar di tengah masyarakat Indonesia (Afdaliah dkk., 2024).

Berdasarkan laporan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), kasus keracunan akibat konsumsi pangan mencapai angka tertinggi, yaitu sekitar 66,7%. Salah satu faktor utama yang menyebabkan keracunan pangan ini adalah kontaminasi bahan kimia yang terkandung di dalamnya. Melalui pengamatan yang dilakukan BPOM, teridentifikasi dua jenis zat berbahaya yang kerap tercampur ke dalam bahan pangan, yaitu *Rhodamin B*, *Methanyl Yellow* yang biasa digunakan sebagai pewarna sintetis. Dari hasil penelitian tersebut, Rhodamin-B merupakan zat yang paling banyak ditemukan, terutama pada berbagai produk bahan pelengkap makanan seperti saos (Afdaliah dkk., 2024).

Penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Rahmadhi, dkk. (2021) menunjukkan bahwa empat dari lima sampel saos yang beredar di sekitar STIKES Bhakti Husada Madiun mengandung pewarna *Rhodamin B*. Warna merah pada saus yang seharusnya berasal dari tomat ternyata berasal dari penggunaan pewarna sintetis berbahaya agar produk tampak lebih menarik dan memiliki daya simpan lebih lama (Rahmadhi dkk., 2021).

Kondisi serupa juga dijelaskan dalam penelitian Hadriyati, dkk. (2021), dimana tiga dari delapan sampel kecamatan di Kota Jambi diketahui positif mengandung *Rhodamin B*. Kedua hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa penggunaan bahan pewarna sintetis berbahaya masih ditemukan pada produk pangan yang beredar di masyarakat, sehingga diperlukan pengawasan yang lebih ketat serta edukasi kepada produsen dan konsumen (Hadriyati dkk., 2021).

Zat pewarna *Rhodamin B* telah terbukti bersifat toksik bagi tubuh apabila dikonsumsi dalam jumlah berlebih dan dalam periode waktu yang lama. *Rhodamin B* mengandung senyawa klorin (Cl) yang merupakan senyawa halogen yang berbahaya

dan reaktif dapat mengganggu sistem saraf pusat, kerusakan fungsi hati, bahkan berpotensi menyebabkan kanker (Aini, 2025).

Berdasarkan latar belakang ini, peneliti tertarik untuk menguji kandungan *Rhodamin B* dalam saos karena kekhawatiran bahwa pewarna sintetis ini masih digunakan secara ilegal dalam produk makanan. Penggunaan *Rhodamin B* dapat membahayakan kesehatan konsumen, sehingga pengujian diperlukan untuk memastikan keamanan dan kepatuhan produk saus terhadap standar pangan yang berlaku.

METODE PENELITIAN

Metode yang diterapkan dalam penelitian ini adalah eksperimental. Data yang diperoleh terdiri dari data kuantitatif dan kualitatif.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah kota Bengkulu, Pada bulan Februari Sampai Mei 2026.

Alat

Seperangkat alat Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu tipe 1780), timbangan analitik, waterbath, chamber KLT, lampu UV 254 nm, mikropipet, labu ukur (10 mL, 50 mL, 100 mL) (Pyrex®), gelas ukur (10 mL, 100 mL) (Pyrex®), beaker glass (Pyrex®), tabung reaksi (Pyrex®), corong kaca (Pyrex®), cawan porselen, pipet tetes, dan pipa kapiler.

Bahan

Sampel saos makanan, HCl 4M, HCl pekat, NaOH 10%, H₂SO₄, Etanol 96%, Kertas Saring, Baku *Rhodamin B*, Fase gerak (n-butanol, etil asetat, ammonia), Plat Silika Gel GF254.

Sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan secara *purposive sampling*. Sampel yang di analisis dalam penelitian ini sebanyak 10 sampel di dapatkan dengan cara survei ke pasar Panorama dan pasar Minggu kota Bengkulu.

Prosedur Kerja

Identifikasi *Rhodamin B* Menggunakan Metode Perekasi Warna

Letakkan 1 ml sampel ke dalam tiga tabung reaksi yang telah disiapkan. Selanjutnya, tambahkan *Rhodamin B* sebagai standar pembanding ke dalam tabung reaksi terpisah. Tambahkan reagen seperti HCl pekat, H₂SO₄ pekat, NaOH 10% ke dalam setiap tabung reaksi, amati perubahan warna yang terjadi, lalu bandingkan dengan baku *Rhodamin B*, pada baku pembanding *Rhodamin B*, penambahan NaOH menghasilkan warna ungu kemerahan, H₂SO₄ menghasilkan warna oranye, sedangkan HCl menghasilkan warna merah berpendar. (Syamsul dkk., 2018).

Identifikasi *Rhodamin B* Menggunakan Metode KLT

Preparasi sampel

Sebanyak 500 mg saos ditimbang, ditambahkan 4 tetes HCl 4 M dan 5 mL etanol 96%. Kemudian dipanaskan diatas *hot plate* selama 5 menit dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat diletakkan kedalam labu ukur 10 mL lalu homogenkan dengan sedikit etanol 96% dan ditambahkan kembali sampai batas tanda batas (Hudayanti dkk., 2023).

Pembuatan Larutan Standar *Rhodamin B*

Ditimbang Standar *Rhodamin B* 100 mg, dilarutkan dalam 100 mL etanol 96% dan diperoleh larutan baku *Rhodamin B* dengan konsentrasi 1000 ppm (Hudayanti dkk., 2023).

Pembuatan Fase Gerak

Pembuatan Fase Gerak pada metode KLT dilakukan dengan menggunakan fase gerak atau eluen (n-butanol : etil asetat : amonia) (10 : 4 : 5) sebanyak 50 mL. Berdasarkan perhitungan perbandingan fase gerak diambil n-butanol 26,3 mL, etil asetat 10,5 mL, dan amonia 13,2 mL (Rahmadhi dkk., 2021).

Penotolan Sampel

Sampel dan larutan standar ditotolkan dengan menggunakan pipa kapiler dengan jarak 1,5-2 cm kemudian dikeringkan. Lalu dihitung nilai R_f sampel kemudian dibandingkan dengan baku pembanding *Rhodamin B* dan diamati dibawah lampu UV. Jika sampel dilihat secara visual berwarna merah jambu dan dengan sinar lampu UV 254 nm nampak bercak berfluoresensi orange dan jika dilihat dibawah sinar UV 366 nm nampak bercak berfluoresensi kuning, sampel tersebut dinyatakan positif mengandung pewarna *Rhodamin B*.

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (cm)}}$$

Penetapan Kadar *Rhodamin B* Pada Saos Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Pembuatan Larutan Standar *Rhodamin B*

Ditimbang Standar *Rhodamin B* 10 mg, dilarutkan dalam 100 mL etanol 96% sehingga diperoleh larutan baku *Rhodamin B* dengan konsentrasi 100 ppm (Hidayanti dkk., 2023).

Menentukan Panjang Gelombang Maksimum

0,2 mL larutan *Rhodamin B* 100 ppm dipipet ke dalam labu ukur 10 mL, menghasilkan konsentrasi 2 ppm. Kemudian, etanol 96% ditambahkan hingga tanda batas, dan campuran dihomogenkan. Absorbansi maksimum diukur pada rentang panjang gelombang 400-800 nm menggunakan blanko etanol 96% (Rahmadhi dkk., 2021).

Menentukan Kurva Kalibrasi

Larutan 100 ppm diencerkan menjadi 10 ppm dan dibuat konsentrasi 0,6; 0,8; 1; 1,2; 1,4 ppm. Setiap konsentrasi diencerkan dengan etanol 96% hingga volume 10 mL, dan absorbansi kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan (Rahmadhi dkk., 2021).

Menentukan Kadar Sampel

Dilakukan preparasi sampel yaitu sebanyak 500 mg saos ditimbang, kemudian ditambahkan 4 tetes HCl 4 M dan 5 mL etanol 96%. Campuran bahan dipanaskan diatas *hot plate* selama 5 menit kemudian Campuran bahan yang telah dipanaskan disaring menggunakan kertas saring. kemudian dimasukkan filtrat kedalam labu ukur 10 mL lalu homogenkan dengan sedikit etanol 96% dan ditambahkan kembali sampai batas tanda dan dihomogenkan. Sampel yang telah dipreparasi dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian dimasukkan ke dalam spektrofotometer. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum yang ditentukan sebelumnya. menggunakan persamaan kurva baku *Rhodamin B* yaitu $y = bx + a$. setelah itu dihitung % kadarnya dengan rumus dibawah ini :

Keterangan:

y = Nilai absorbansi

x = Konsentrasi

a = Intersep

b = Slope

$$\%Kadar = \frac{x \times v \times fp}{BS} \times 100\%$$

V = Volume awal
Fp = Faktor Pengenceran
Bs = Berat sampel
(Isa dkk., 2024)

Validasi Metode Spektrofotometri Uv-Vis

Penentuan Linearitas

Dibuat larutan standar dari *Rhodamin B* pada masing-masing konsentrasi 0,6; 0,8; 1; 1,2; 1,4 ppm Masing-masing konsentrasi dilakukan pengukuran ulang sebanyak 3 kali dengan spektrofotometri UV-Vis (Bimala dkk., 2025).

Penentuan Presisi

Dilakukan dengan cara diambil larutan baku dengan konsentrasi 1 ppm dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dan diulangi sebanyak 6 kali. Presisi dikatakan memenuhi persyaratan jika nilai $\%RSD \leq 2$ (Bimala dkk., 2025).

Penentuan Akurasi

Akurasi dilakukan dengan cara diambil konsentrasi larutan baku sebesar 0,8 ppm, 1 ppm dan 1,2 ppm dengan dipipet 0,8 mL, 1 mL dan 1,2 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas. Lalu diukur absorbansi nya menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. Pengujian akurasi dilakukan replikasi 3 kali pada setiap konsentrasi untuk menentukan (*%recovery*). Syarat akurasi yang baik jika nilai (*%recovery*) pada rentang 80-110% penentuan akurasi dihitung dari persentase *recovery* (Bimala dkk., 2025).

Penentuan LOD dan LOQ

Data absorbansi larutan standar digunakan untuk membuat kurva kalibrasi larutan standar *Rhodamin B* untuk mengukur linearitas, limit of detection (LOD), dan limit of quantification (LOQ).

Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel yang dijabarkan secara naratif. Analisis hasil penelitian yang dilakukan yaitu mengolah data yang didapat menggunakan aplikasi Microsoft Excel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengujian Identifikasi Warna

Pengujian identifikasi warna dilakukan dilakukan secara visual untuk mengetahui adanya perubahan atau kesesuaian warna pada sampel. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan standar yang digunakan agar dapat diketahui kesesuaiannya, hasil yang di peroleh dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 1. Hasil Pengujian Identifikasi Warna

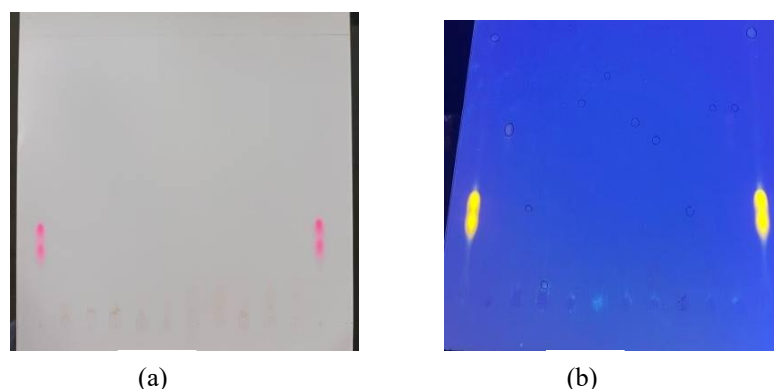
No	Sampel	Penambahan Reagen			Keterangan
		NaOH	H ₂ SO ₄	HCl	
1	Baku	Ungu	Orange	Merah Berpendar	Positif (+)
	Pembanding	Kemerahan			
2	Sampel A	Merah Bata	Hitam	Orange Muda	Negatif (-)
3	Sampel B	Merah Bata	Hitam	Orange	Negatif (-)
4	Sampel C	Merah Bata	Hitam	Orange Muda	Negatif (-)
5	Sampel D	Merah Bata	Coklat Tua	Orange Kemerahan	Negatif (-)
6	Sampel E	Kuning muda	Hitam	Orange Muda	Negatif (-)
7	Sampel F	Orange	Coklat Kemerahan	Orange Muda	Negatif (-)
8	Sampel G	Orange	Coklat Kemerahan	Orange Muda	Negatif (-)
9	Sampel H	Orange	Coklat Kemerahan	Orange Muda	Negatif (-)
10	Sampel I	Orange	Coklat Kemerahan	Orange Muda	Negatif (-)
11	Sampel J	Orange Muda	Hitam	Orange Muda	Negatif (-)

Penggunaan pereaksi asam dan basa bertujuan untuk mengidentifikasi *Rhodamin B* berdasarkan perubahan warna yang khas akibat perubahan pH. *Rhodamin B* merupakan zat warna golongan xanten yang sensitif terhadap kondisi asam dan basa, sehingga dapat menunjukkan perubahan warna tertentu yang digunakan sebagai indikasi awal keberadaannya dalam sampel. Berdasarkan hasil pengujian identifikasi warna pada sampel saos menggunakan pereaksi NaOH, H₂SO₄, dan HCl, diperoleh perubahan warna yang berbeda pada setiap sampel. Penggunaan ketiga pereaksi tersebut dipilih karena *Rhodamin B* memiliki sifat sensitif terhadap perubahan pH sehingga dapat menunjukkan perubahan warna khas pada kondisi asam maupun basa. *Rhodamin B* diketahui akan memberikan warna lebih terang atau berpendar pada suasana asam, sedangkan pada suasana basa warna dapat berubah menjadi ungu kemerahan hingga memudar akibat perubahan struktur molekul zat warna (Tjuana dkk., 2021).

Pengamatan menunjukkan seluruh sampel menghasilkan warna yang berbeda terhadap pembanding sehingga dinyatakan negatif terhadap *Rhodamin B*. Hal ini terjadi karena sampel tidak menunjukkan persamaan warna disaat penambahan reagen seperti yang dimiliki baku pembanding *Rhodamin B*. Perbedaan warna tersebut menunjukkan bahwa senyawa dalam sampel memiliki karakteristik yang berbeda dengan *Rhodamin B*. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa sampel A sampai J tidak mengandung *Rhodamin B*.

Hasil Pengujian Identifikasi KLT

Pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan sebagai uji penegasan untuk memastikan kandungan zat warna pada sampel. Pengujian KLT dilakukan dengan melihat bercak yang terbentuk serta menghitung nilai R_f berdasarkan jarak tempuh noda dan jarak tempuh pelarut. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan standar atau literatur untuk mengetahui kesesuaian kandungan zat warna pada sampel yang diuji dan dapat dilihat pada gambar dan tabel berikut:



Gambar 1. Pengamatan Visual Plat KLT (a) dan Pengamatan Sinar UV Plat KLT (b)

Tabel 2. Hasil Pengujian Identifikasi KLT

No	Sampel	Panjang Pergerakan (cm)		Nilai R_f (cm)	Warna Bercak		Ket
		Pelarut	Noda		Visual	Sinar Uv	
1	Baku Pembanding	15	6,1	0,41	Merah Jambu	Jingga Orange	Positif (+)
2	Sampel A	15	8,6	0,57	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)
3	Sampel B	15	4,5	0,30	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)
4	Sampel C	15	0,8	0,05	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)
5	Sampel D	15	10	0,67	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)
6	Sampel E	15	11,5	0,77	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)
7	Sampel F	15	8,9	0,59	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)
8	Sampel G	15	7,9	0,53	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)
9	Sampel H	15	4,3	0,29	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)
10	Sampel I	15	9,5	0,63	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)
11	Sampel J	15	9,5	0,63	Orange	Ungu Muda	Negatif (-)

Berdasarkan hasil pengujian KLT yang telah dilakukan, baku pembanding *Rhodamin B* menunjukkan nilai R_f sebesar 0,41 dengan warna visual merah jambu dan menghasilkan fluoresensi jingga orange di bawah sinar UV, sehingga dinyatakan positif mengandung *Rhodamin B*. Nilai R_f yang tinggi menunjukkan bahwa *Rhodamin B* memiliki afinitas yang lebih besar terhadap fase gerak dibanding fase diam, sehingga noda bergerak lebih jauh mengikuti pelarut. Warna merah jambu yang terlihat secara visual merupakan ciri khas *Rhodamin B* sebagai zat warna sintesis golongan xanthene yang memiliki warna terang dan mencolok. Pada pengamatan sinar UV, munculnya warna jingga orange terjadi karena *Rhodamin B* mampu berfluoresensi ketika terkena sinar ultraviolet (Tarigan dkk., 2026).

Sementara itu, sampel A hingga J menunjukkan nilai R_f yang berbeda-beda dibandingkan baku pembanding dilihat pada tabel 2. Perbedaan nilai R_f ini dapat terjadi karena adanya perbedaan sifat kepolaran dan interaksi senyawa dengan fase diam dan fase gerak pada plat KLT. Semakin kecil nilai R_f , maka senyawa cenderung lebih tertahan pada fase diam sehingga jarak tempuh nodanya lebih pendek. Sebaliknya, nilai R_f yang lebih besar menunjukkan senyawa lebih mudah terbawa oleh pelarut (Elfasyari dkk., 2021)

Pada pengamatan visual dapat dilihat pada gambar 1, seluruh sampel menunjukkan warna orange. Warna tersebut dapat berasal dari pewarna makanan yang digunakan pada sampel atau campuran senyawa lain yang memiliki karakteristik warna serupa. Namun, warna visual saja belum dapat memastikan adanya *Rhodamin B* sehingga perlu dilakukan pengamatan lebih lanjut menggunakan sinar UV dan perbandingan nilai R_f (Hidayanti dkk., 2023).

Hasil pengamatan di bawah sinar UV menunjukkan seluruh sampel menghasilkan warna ungu muda dan dinyatakan negatif terhadap *Rhodamin B*. Hal ini terjadi karena sampel tidak menunjukkan fluoresensi jingga orange seperti yang dimiliki baku pembanding *Rhodamin B*. Perbedaan warna fluoresensi tersebut menunjukkan bahwa senyawa dalam sampel memiliki karakteristik yang berbeda dengan *Rhodamin B*. Oleh karena itu, berdasarkan hasil nilai R_f , warna visual, dan pengamatan sinar UV dapat disimpulkan bahwa sampel A sampai J tidak mengandung *Rhodamin B*.

Hasil Pengujian Kualitatif Spektrofotometri UV-Vis

Pengujian kualitatif *Rhodamin B* pada sampel saos menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Identifikasi dilakukan dengan membandingkan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) sampel terhadap panjang gelombang maksimum larutan baku *Rhodamin B*.

Tabel 3. Hasil Pengujian Scanning λ_{maks} Sampel

No	Sampel	Gelombang Maksimum (nm)	Kesimpulan
1	<i>Rhodamin B</i>	546.00	Positif
2	Sampel A	484.00	Negatif
3	Sampel B	488.00	Negatif
4	Sampel C	763.00	Negatif
		751.00	
		479.00	
		399.00	
5	Sampel D	505.00	Negatif
6	Sampel E	490.00	Negatif
7	Sampel F	486.00	Negatif
8	Sampel G	749.00	Negatif
		665.00	
		482.00	
9	Sampel H	492.00	Negatif
10	Sampel I	752.00	Negatif
		645.00	
		487.00	
11	Sampel J	663.00	Negatif
		485.00	

Berdasarkan hasil pengujian pada Tabel 3, larutan baku *Rhodamin B* menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 546 nm. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Christina dan Pitarisa (2024) yang melaporkan bahwa analisis kuantitatif *Rhodamin B* menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dilakukan pada panjang gelombang maksimum 546 nm. Kesamaan panjang gelombang maksimum yang diperoleh menunjukkan bahwa *Rhodamin B* memiliki karakteristik serapan yang konsisten pada daerah visible. Penggunaan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk memperoleh sensitivitas dan ketelitian yang lebih baik karena pada panjang gelombang tersebut *Rhodamin B* memberikan absorbansi tertinggi, sehingga perubahan konsentrasi dapat terdeteksi secara optimal.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa seluruh sampel saos (A–J) tidak memiliki puncak serapan pada daerah sekitar 546 nm. Sampel A, B, E, F, dan H memiliki panjang gelombang maksimum berturut-turut sebesar 484 nm, 488 nm, 490 nm, 486 nm, dan 492 nm. Nilai tersebut berada cukup jauh dari panjang gelombang maksimum

Rhodamin B sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel tersebut negatif mengandung *Rhodamin B*.

Pada sampel D diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 505 nm. Meskipun panjang gelombang ini berada pada daerah cahaya tampak, nilai tersebut masih berbeda cukup besar dibandingkan panjang gelombang maksimum *Rhodamin B* (546 nm). Perbedaan ini menunjukkan bahwa senyawa yang menyerap pada panjang gelombang tersebut kemungkinan berasal dari zat warna lain yang terdapat dalam sampel, baik pewarna alami maupun pewarna sintetis yang diizinkan.

Sampel C, G, I, dan J menunjukkan lebih dari satu puncak serapan, yaitu pada rentang 399–763 nm. Munculnya beberapa puncak serapan dapat disebabkan oleh keberadaan campuran senyawa pewarna, komponen matriks sampel, atau senyawa lain yang ikut terekstraksi selama preparasi. Namun, tidak ditemukan puncak serapan yang spesifik dan dominan pada 546 nm sehingga sampel tetap dinyatakan negatif mengandung *Rhodamin B*.

Perbedaan panjang gelombang maksimum antara sampel dan standar dapat terjadi karena setiap senyawa memiliki struktur kimia dan sistem ikatan terkonjugasi yang berbeda. Struktur tersebut memengaruhi energi yang dibutuhkan untuk transisi elektron sehingga menghasilkan panjang gelombang serapan maksimum yang berbeda. Oleh karena itu, kesesuaian λ_{maks} antara sampel dan standar merupakan salah satu indikator penting dalam identifikasi kualitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Alawiyah dkk., 2023).

Berdasarkan keseluruhan hasil pengujian, tidak terdapat sampel yang menunjukkan panjang gelombang maksimum yang sama atau mendekati panjang gelombang maksimum *Rhodamin B* yaitu 546 nm. Dengan demikian, seluruh sampel saos yang diuji dinyatakan negatif mengandung *Rhodamin B* berdasarkan metode identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Hasil Pengujian Validasi Spektrofotometri UV-Vis

Linearitas

Berdasarkan hasil uji linearitas yang telah dilakukan, diperoleh nilai koefisien korelasi (R) pada tiga kali replikasi yaitu R1 sebesar 0,99578, R2 sebesar 0,99037, dan R3 sebesar 0,99410. Rata-rata nilai R sebesar 0,9934166 menunjukkan bahwa metode analisis memenuhi kriteria linearitas, karena secara umum syarat linearitas

yang baik adalah memiliki nilai koefisien korelasi $\geq 0,99$. Dengan demikian, metode yang digunakan mampu menghasilkan hubungan yang proporsional antara kadar analit dan respon pengukuran pada rentang konsentrasi yang digunakan (Bimala dkk., 2025).

Presisi

Tabel 4. Presisi

No	Sample ID	Type	Conc	WL 546,0	Wgt.Factor
1	Blangko	Standard	0.000	0.000	1.000
2	1 ppm	Standard	1.000	0.531	1.000
3	1 ppm	Standard	1.000	0.533	1.000
4	1 ppm	Standard	1.000	0.534	1.000
5	1 ppm	Standard	1.000	0.541	1.000
6	1 ppm	Standard	1.000	0.545	1.000
7	1 ppm	Standard	1.000	0.549	1.000
Rata-rata				0,538833	
SD				0,005933	
%RSD				1,105246%	

Berdasarkan hasil uji presisi yang telah dilakukan, diperoleh nilai rata-rata (mean) sebesar 0,538833 dengan standar deviasi (SD) sebesar 0,005933 dan nilai %RSD sebesar 1,105246%. Uji presisi dilakukan untuk mengetahui tingkat kedekatan hasil pengukuran antar pengulangan pada kondisi yang sama. Parameter yang digunakan dalam penilaian presisi adalah nilai %Relative Standard Deviation (%RSD). Nilai %RSD yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan hasil yang kecil, yaitu 1,105246%. Semakin kecil nilai %RSD, maka tingkat ketelitian metode semakin baik karena variasi antar pengukuran semakin rendah. Secara umum, suatu metode analisis dinyatakan memiliki presisi yang baik apabila nilai $\%RSD \leq 2\%$ (Riyanto., 2014).

Akurasi

Tabel 5. Akurasi

No	Sample ID	Type	Conc	WL 546,0	% Recovery
1	Blangko	Unknown	0.000	0.000	
2	0,8 ppm	Unknown	0.884	0.493	110,5%
3	0,8 ppm	Unknown	0.887	0.495	110,875%
4	0,8 ppm	Unknown	0.888	0.495	111%
5	1 ppm	Unknown	1.035	0.576	103,5%
6	1 ppm	Unknown	1.050	0.584	105%
7	1 ppm	Unknown	1.026	0.571	102,6%
8	1,2 ppm	Unknown	1.239	0.688	103,25%
9	1,2 ppm	Unknown	1.232	0.685	102,67%
10	1,2 ppm	Unknown	1.218	0.677	101,5%
Rata-rata					105,65%

Perolehan kembali menggunakan larutan baku sejalan dengan penelitian Bimala, dkk (2025). Berdasarkan hasil uji akurasi yang telah dilakukan menggunakan metode persen perolehan kembali (%*Recovery*), diperoleh nilai *recovery* pada konsentrasi 0,8 ppm sebesar 110,5%; 110,875%; dan 111%. Pada konsentrasi 1 ppm diperoleh nilai *recovery* sebesar 103,5%; 105%; dan 102,6%. Sedangkan pada konsentrasi 1,2 ppm diperoleh nilai *recovery* sebesar 103,25%; 102,67%; dan 101,5%. Dari seluruh data tersebut diperoleh rata-rata %*Recovery* sebesar 105,65%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai %*Recovery* berada pada rentang sekitar 101,5–111%. Secara umum, rentang penerimaan akurasi untuk analisis kadar pada konsentrasi kecil masih dapat diterima pada kisaran 80–120%, sehingga metode yang digunakan dinyatakan memenuhi kriteria akurasi dan lulus uji validasi (Riyanto, 2014).

LOD dan LOQ

Tabel 6. LOD dan LOQ

No	Slope	SD	LOD	LOQ
1	0,550575	0,005933	0,037078	0,112357
2	0,536295			
3	0,519800			
Rata-rata	0,528048			

Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai simpangan baku (SD) yang diperoleh sebesar 0,005933 dengan nilai rata-rata slope kurva kalibrasi sebesar 0,528048. Berdasarkan perhitungan menggunakan persamaan ICH Q2(R1), diperoleh nilai LOD sebesar 0,037078 ppm dan nilai LOQ sebesar 0,112357 ppm.

LOD merupakan konsentrasi analit terendah yang masih dapat dideteksi oleh metode, tetapi belum dapat ditentukan secara kuantitatif dengan tingkat ketelitian dan ketepatan yang memadai. Sementara itu, LOQ merupakan konsentrasi analit terendah yang masih dapat ditentukan secara kuantitatif dengan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Nilai LOD dan LOQ yang kecil menunjukkan bahwa metode memiliki sensitivitas yang baik dalam mendeteksi keberadaan analit pada konsentrasi rendah (Istiqomah dkk., 2025).

KESIMPULAN

Kesimpulan dari analisis *Rhodamin B* pada saos makanan yang dijual di pasaran Kota Bengkulu menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis, yaitu seluruh sampel saos makanan yang diuji tidak terdeteksi mengandung zat pewarna *Rhodamin B*.

Metode Spektrofotometri UV-Vis yang digunakan dalam penelitian telah memenuhi parameter validasi metode menunjukkan linearitas yang baik dengan rata-rata koefisien korelasi (r) sebesar 0,9934, akurasi 101,5–111%, presisi dengan nilai %RSD 1,105%, serta nilai LOD dan LOQ masing-masing sebesar 0,037 ppm dan 0,1123 ppm. sehingga metode dinyatakan valid untuk analisis kadar *Rhodamin B*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afdaliah, Z., Tikirik, W.O., Nur, A., Tarnoto, T., Sahrianti N.S. (2024). Uji Kualitatif Kandungan Rhodamin-B Dalam Saus Sambal Yang Beredar Di Pasar Baru (Regional) Mamuju. *Lipida: Jurnal Teknologi Pangan dan Industri Pertanian*. Vol 4(1).
- Aini, R. (2025). Dampak negatif konsumsi pewarna makanan sintetis berlebihan terhadap kesehatan manusia. *Maliki Interdisciplinary Journal (MIJ)*, Vol 3(3), 188-198.
- Alawiyah, T., Rahmah, A., Irawan, D. F. M., Gusnianti, E., Azzahra, F., Alfisah, F., & Gresia, S. (2023). Identifikasi Rhodamin B dalam Cake Red Velvet yang Beredar di Kota Banjarmasin dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Sains Medisina*, Vol 1(6), 369–376.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2021). Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 29 Tahun 2021 Tentang Persyaratan Bahan Tambahan Pangan Campuran. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia.
- Bimala, A. R. F., Indrasari, T., & Maritha, V. (2025). Validasi Metode Analisis Rhodamin-B pada Saos Tomat Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Borneo Saintek*, Vol 8(2), 59–64.
- Christina, O. D., & Pitarisa, A. P. (2024). Analysis of Rhodamine B in Lip Creams from Marketplace. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, Vol 12(3), 190-197.
- Elfasyari, T. Y., Putri, M. A., & Andayani, R. (2020). Analisis Rhodamin B pada Lipstik Impor yang Beredar di Kota Batam secara Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*, Vol 17(1), 54–61.
- Hadriyati, A., Lestari, L., Anggresani, L. (2021). Analisis Rhodamin B dalam Bolu Kukus yang Beredar di Kota Jambi dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis.

Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol 8(1).

- Hudayanti,A.I.,Widiastuti, H., Suhaenah, A. (2023). Analisis Kandungan Rhodamin B Pada Saus Tomat Yang Beredar Di Kabupaten Wajo Kecamatan Belawa Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Makassar Pharmaceutical Science Journal, Vol 2(15), 122-130.
- Istiqomah, D. A., & Fauzi, A. (2025). Validasi Metode Analisis dan Penetapan Kadar Encapsulated Retinol dengan Metode Spektrofotometri UV. Journal of Pharmaceutical and Sciences, Vol 8(4), 2842–2851.
- Rahmadhi, M.A., Erikania,S.,Hariningsih,Y.(2021). Analisis Rhodamin-B pada Saos yang Beredar di Sekitar STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun dengan Metode KLT dan Spektrofotometri UV-Vis. J. Kartika Kimia, Vol 4(2), 66-72.
- Riyanto. (2014). Validasi & Verifikasi Metode Uji sesuai dengan ISO/IEC 17025 laboratorium pengujian dan kalibrasi. Yogyakarta : Deepublish.
- Syamsul, E.S., Mulyani, R.N., Jubaidah, S. (2018). Identifikasi Rhodamin B pada saus tomat yang beredar di pasar pagi Samarinda. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina, Vol 3(1), 125-133.
- Tarigan, A. R. B., Shella, A. K. G., Sutanto, A. R., Azzahra, D. I., Oliviana, E. K. F., Rahmawati, H. D., Wahid, I. P., & Naila, S. (2026). Analisis Rhodamin B pada Sediaan Kosmetik Lipstik dan Blush On yang Teregistrasi dan Tidak Teregistrasi BPOM Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Medic Nutricia: Jurnal Ilmu Kesehatan, Vol 22(1).
- Tias,A.R.,Rusmalina,S. (2023). Analisis Kualitatif Rhodamin B Pada Selai Strawberry Curah Di Pasar Induk Kajen Dengan Metode Benang Wol Dan Kromatografi Lapis Tipis. PENA MEDIKA : Jurnal Kesehatan, Vol 13(1).
- Tjuana, R., Tampa'i, R., Palandi, R. R., & Paat, V. I. (2021). Analisis Kandungan Rhodamin B pada Saus Cilok yang Beredar di Kota Tomohon. Biofarmasetikal Tropis, Vol 4(1), 58–65.