

**VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN B DALAM SIRUP  
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFLUOROMETRI**



**SKRIPSI**

**BONDAN BAGUS WIJAKSONO  
1408010117**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO  
2018**

**VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN B DALAM SIRUP  
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFLUOROMETRI**



**SKRIPSI**

Diajukan sebagai salah satu syarat  
Untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**BONDAN BAGUS WIJAKSONO  
1408010117**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO  
2018**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN B DALAM SIRUP  
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFLUOROMETRI**

**BONDAN BAGUS W  
1408010117**

**Skripsi ini telah disetujui dosen pembimbing skripsi untuk diajukan ke sidang  
skripsi**

**Pembimbing I**



**Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M.Si**  
NIP. 197405222000122001

**Pembimbing II**



**Dr. Pri Iswati Utami, M.Si., Apt**  
NIK. 2160281

HALAMAN PENGESAHAN


VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN B DALAM SIRUP  
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFLUOROMETRI

BONDAN BAGUS W

1408010117

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi Pada hari  
Selasa tanggal 14 Agustus 2018

SUSUNAN PANITIA



**Ketua** **Sekretaris**

Dr. Agus Siswanto, M.Si., Apt. Dr. Nuruk Ari Nurulita, M.Si., Apt.  
NIK. 1160309 NIK. 2160217

**Penguji I** **Penguji II**

Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M.Si. Dr. Pri Iswati Utami, M.Si., Apt.  
NIP. 197405222000122001 NIK. 2160218

Mengetahui  
Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Purwokerto



Dr. Agus Siswanto, M.Si., Apt.  
NIK. 2160309

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Bondan Bagus Wijaksono

NIM : 1408010117

Prodi : Farmasi

Fakultas : Farmasi

Universitas : Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar serta bukan hasil penjiplakan dari karya orang lain.

Demikian pernyataan ini, dan apabila kelak di kemudian hari terbukti ada unsur penjiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Purwokerto, 14 Agustus 2018

Yang membuat pernyataan



**BONDAN BAGUS WIJAKSONO**

**NIM 1408010117**

## MOTTO

**“ LAA HAULA WA LAA QUWWATA ILLA BILLAH “**  
( Tiada daya dan tiada kekuatan kecuali dengan pertolongan Allah semata )

**“ Telah pasti datangnya ketetapan Allah SWT maka janganlah kamu meminta agar disegerakan (datang)nya. Maha Suci Allah dan Maha Tinggi dari apa yang mereka persekutukan” QS. AN-Nahl (16):1**

**“EVERYONE HAS THEIR OWN TIME ZONE.  
PEOPLE AROUND YOU MIGHT SEEM AHEAD OF YOU AND SOME  
MIGHT SEEM TO BE BEHIND YOU.  
BUT EVERYONE IS RUNNING THEIR OWN RACE, IN THEIR OWN TIME.  
DO NOT ENVY THEM. THEY ARE IN THEIR TIME ZONE, AND YOU ARE  
IN YOURS.  
DON'T WORRY TOO MUCH. YOU ARE NOT LATE. YET, YOU ARE NOT  
EARLY”**  
Reza Arap

**“Jangan mengulangi kesalahan yang sama, karena masih banyak  
kesalahan-kesalahan lain yang belum kita coba”**  
EVOS E-SPORT ROAR

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT, serta shalawat senantiasa tercurahkan unruk Nabi Muhammad SAW. Karya sederhana ini ku persembahkan untuk:

1. Orang tua tercinta, Bapak Sakiman dan Ibu Ratinah yang telah mendoakan, memberikan dukungan, bimbingan, nasehat, materi dan semuanya.
2. Mas Aris, Juple, Mba ayu
3. Reza Sistani Rahayu teman menulis skripsi dari pagi sampai pagi.
4. Dosen pembimbing terbaik Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M.Si dan Dr. Pri Iswati, M.Si., Apt yang telah memberikan arahan dan bimbinganya selama mengerjakan skripsi.
5. Mbah Oji, Wildan, Dede, Tommy brewok, Hanip, Aji Guplo, Zaim guteng, Galih kukang, Angga Tapir, Iqbal nub, Mas kaka, Irfan decul (Anakonda) yang telah memberikan waktunya untuk bermain game bareng selama 8 semester walaupun kalah.
6. Tim spektrofluoro Ika, Iyem, Berakit, Abong, Linar.
7. Keluarga besar Farmasi B 2014

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji bagi kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini yang berjudul "Validasi Metode Analisis Rhodamin B Dalam Sirup Menggunakan Metode Spektrofluorometri". Skripsi ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Agus Siswanto, M.Si., Apt selaku Dekan Farmasi yang telah memberikan berbagai informasi dan bimbingan tentang tata laksana penyusunan skripsi.
2. Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M.Si dan Dr. Pri Iswati Utami, M.Si., Apt yang telah berkenan membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini serta telah membantu memberikan bahan yang digunakan untuk proses penelitian skripsi ini
3. Laboran ibu Dwi Wulansari, S.Si selaku laboran yang telah membantu dalam proses penelitian.
4. Orang tua saya yang selalu memberikan doa dan motivasinya dalam setiap langkah perjalananku.
5. Serta teman-teman semua atas bantuan, dukungan dan doa dalam setiap proses pengerjaan skripsi ini.

Demikian, semoga Allah SWT memberikan balatas atas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi setiap orang yang membacanya. Amin.

Purwokerto, 14 Agustus 2018

**BONDAN BAGUS W**  
NIM 1408010117

## RIWAYAT HIDUP

### A. IDENTITAS

Nama : Bondan Bagus W  
Nim : 1408010117  
Tempat/Tanggal Lahir : Cilacap, 27 April 1996  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Laki-Laki  
Alamat : Prapagan RT 01/05, Kec. Jeruklegi, Kab. Cilacap

### B. RIWAYAT PENDIDIKAN

1. SD N 03 Prapagan : Lulus Tahun 2008
2. SMP N 02 Jeruklegi : Lulus Tahun 2011
3. SMA N 1 Wangon : Lulus Tahun 2014
4. Fakultas Farmasi Ump : Masuk Tahun 2014



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN  
PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Purwokerto dan demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Bondan Bagus Wijaksono  
NIM : 1408010117  
Program Studi : S1 Farmasi  
Fakultas : Farmasi  
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto  
Jenis Karya : Skripsi

menyetujui untuk memberikan Hak Bebas Royalti Noneklusif (*Non-exclusive Royalti-Free Right*) kepada Universitas Muhammadiyah Purwokerto atas karya ilmiah saya yang berjudul :

***Validasi Metode Analisis Rhodamin B Dalam Sirup Menggunakan Metode Spektrofluorometri***

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Universitas Muhammadiyah Purwokerto berhak menyimpan, mengalihmedia/ mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasi skripsi saya dengan tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Purwokerto  
Pada tanggal : 14 Agustus 2018  
Yang menyatakan,



**BONDAN BAGUS WIJAKSONO  
NIM 1408010117**

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iv
MOTTO .....	v
PERSEMBAHAN .....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
RIWAYAT HIDUP .....	viii
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
ABSTRAK .....	xv
<i>ABSTRACT</i> .....	xvi
<b>BABI PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah .....	2
C. Tujuan Penelitian .....	2
D. Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Hasil Penelitian Terdahulu .....	4
B. Landasan Teori.....	5
1. Rhodamin B .....	5
2. Spektrofluorometri .....	7
3. Validasi metode.....	11
C. Kerangka Konsep .....	14
D. Hipotesis .....	14

### **BAB III METODE PENELITIAN**

A. Jenis dan Rancangan Penelitian .....	15
B. Variabel Operasional .....	15
C. Waktu dan Tempat Penelitian .....	15
D. Alat dan Bahan .....	15
E. Pengambilan Bahan Uji .....	15
F. Cara Kerja .....	16
G. Analisis Data .....	18

### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

A. Penentuan $\lambda$ eksitasi dan $\lambda$ emisi maksimum baku rhodamin B .....	19
B. Optimasi pelarut .....	19
C. Validasi metode .....	20
1) Penentuan kurva baku dan penentuan linearitas.....	20
2) Batas deteksi dan kuantitasi .....	21
3) Uji presisi alat (ketelitian .....	21
4) Uji akurasi metode (ketepatan.....	22
5) Analisis kualitatif dengan spektrofotometri.....	23

### **BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

A. Kesimpulan .....	25
B. Saran .....	25

<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	26
-----------------------------	----

<b>LAMPIRAN</b> .....	29
-----------------------	----

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hubungan konsentrasi dan intensitas fluoresensi .....	19
Tabel 4.2 Hasil perhitungan presisi pada konsentrasi 1,5 ppm .....	21
Tabel 4.3 Data perolehan kembali dengan penambahan baku 1; 1,2; dan 2 ppm .....	22
Tabel 4.4 Data hasil analisis kualitatif rhodamin B pada sampel sirup .....	23



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Rumus molekul rhodamin B .....	6
Gambar 2.2 Komponen utama spektrofluoro .....	7
Gambar 2.3 Kerangka konsep penelitian .....	13
Gambar 4.1 Kurva hubungan antara konsentrasi dan intensitas fluoresensi	20



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil optimasi 2D spektrum dan 3D spektrum.....	29
Lampiran 2. Hasil optimasi pelarut .....	30
Lampiran 3. Tabel koefisien sederhana, r tabel pada taraf kepercayaan 5% dan 1%.....	31
Lampiran 4. Data perhitungan LOD ( <i>Limit of Detection</i> ) dan LOQ ( <i>Limit of Quantitation</i> ).....	32
Lampiran 5. Data perhitungan presisi .....	34
Lampiran 6. Data perhitungan uji ketepatan (akurasi) baku rhodamin B 1, 1,5, dan 2 ppm.....	35
Lampiran 7. Hasil analisis sampel sirup.....	40
Lampiran 8. Alat spektrofotometer .....	41
Lampiran 9. Penimbangan baku rhodamin B .....	42
Lampiran 10. Larutan stok rhodamin B 1000 ppm .....	43
Lampiran 11. Sampel sirup .....	44
Lampiran 12. Pewarna sintesis yang diizinkan di Indonesia .....	45
Lampiran 13. Pewarna sintesis yang tidak diizinkan di Indonesia .....	45

# VALIDASI METODE ANALISIS RHODAMIN B DALAM SIRUP MENGUNAKAN METODE SPEKTROFLUOROMETRI

Bondan Bagus Wijaksono, Asmiyenti Djaliasrin Djaliil, Pri Iswati Utami

## Abstrak

Rhodamin B merupakan bahan pewarna tekstil atau pakaian yang sering disalahgunakan untuk pewarna makanan dan minuman. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode yang valid untuk analisis rhodamin B pada sirup berwarna merah menggunakan spektrofotometri. Validasi metode analisis yang dilakukan meliputi linearitas, LOD (*Limit Of Detection*), LOQ (*Limit Of Quantitation*), presisi, akurasi. Pada penelitian ini digunakan  $\lambda$  eksitasi 550 nm dan  $\lambda$  emisi 570 nm. Diperoleh nilai KV (Koevisien Variasi) pada uji presisi adalah 0,28% ( $\leq 2\%$ ). Nilai persen perolehan kembali (*recovery*) rata-rata pada uji akurasi adalah 102,68% (80-120%). Linearitas ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi ( $r = 0,99746 > r \text{ tabel} = 0,087$ ). Limit deteksi dan limit kuantitasi yang diperoleh dari penelitian ini sebesar 0,14 ppm dan 0,47 ppm. Berdasarkan hasil validasi tersebut maka metode spektrofotometri dinyatakan valid. Aplikasi metode pada sampel sirup berwarna merah tidak ditemukan adanya rhodamin B.

Kata kunci : rhodamin B, sirup, spektrofotometri

# VALIDATION METHOD OF ANALYSIS RHODAMIN B IN SYRUP USING SPECTROFLUOROMETRIC

**Bondan Bagus Wijaksono, Asmiyenti Djaliasrin Djaliil, Pri Iswati Utami**

## *Abstract*

Rhodamin B is a textile or clothing dye that is often misused for food and beverage dyes. This study aimed to obtain a valid method for the analysis of rhodamine B within red syrup through spectrofluorometric method. The validation of the analysis methods included linearity, LOD, LOQ, precision, and accuracy. In this study, it were used  $\lambda$  550 nm excitation and  $\lambda$  emission 570 nm. Furthermore, it was obtained CV (Coefficient of Variation) value in precision test was 0.287% ((2%). The average percent recovery value on the accuracy test was 102.68% (80-120%). The linearity was indicated by the correlation coefficient value ( $r = 0.99746 > r_{table} = 0.087$ ). The limitation of detection and limit of quantitation obtained from this research were 0.14 ppm and 0.47 ppm. Based on the validation result, the spectrofluorometric method was valid and the method of sample red syrup was not found rhodamin B.

Keywords: rhodamin B, syrup, spectrofluorometric

