

Pengembangan Metode Analisis Penetapan Zat Warna Merah K3 pada Produk *Eyeshadow* Menggunakan Spektrofotometri UV-Visible dengan Pemisahan Ekstraksi Fase Padat

Development of an Analytical Method for the Determination of Pigment Red 53 in Eyeshadow Products Using UV-Visible Spectrophotometry with Solid-Phase Extraction Separation

Rismaya Desti Parwati, Anggi Gumilar*, Muhammad Naufal Dhiaulhaq
Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia
*email korespondensi: anggi.gumilar@lecture.unjani.ac.id

ABSTRAK

Penggunaan zat warna sintesis seperti Merah K3 dalam kosmetik dilarang karena bersifat karsinogenik dan toksik sesuai peraturan BPOM no 23 tahun 2019 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika. Namun, zat ini masih ditemukan pada beberapa produk *eyeshadow* yang dijual melalui *e-commerce*. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan dan memvalidasi metode spektrofotometri UV-Visible yang dikombinasikan dengan teknik ekstraksi fase padat (EFP) untuk mengidentifikasi dan mengukur kandungan Merah K3 dalam *eyeshadow*. Validasi metode dilakukan melalui pengujian parameter akurasi, presisi, selektivitas, linearitas, rentang dan sensitivitas. Hasil validasi menunjukkan bahwa metode memiliki akurasi sebesar 99,97% dan presisi dengan %RSD 1,57%, yang memenuhi syarat validasi. Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan linear dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9986. Metode yang digunakan memiliki sensitivitas yang baik dengan ditunjukkan oleh nilai Batas deteksi sebesar 0,66 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai Batas kuantitasi sebesar 2,19 $\mu\text{g/mL}$. Dari 10 sampel *eyeshadow* yang diperoleh dari *e-commerce*, 3 sampel teridentifikasi positif mengandung Merah K3, yaitu sampel C (1,166% b/b), sampel F (2,03% b/b), dan sampel I (1,55% b/b). Metode ini terbukti valid dan dapat digunakan untuk pengawasan keamanan kosmetik, khususnya produk yang dijual secara daring.

Kata kunci: Ekstraksi Fase Padat; *Eyeshadow*; Merah K3; UV-Visible; Validasi metode

ABSTRACT

The use of synthetic dyes such as Pigment Red 53 in cosmetics is prohibited due to its carcinogenic and toxic properties according to BPOM regulation number 23 of 2019 concerning Technical Requirements for Cosmetic Ingredients. However, this dye is still found in several *eyeshadow* products sold via *e-commerce*. This study aims to develop and validate a UV-Visible spectrophotometric method combined with Solid Phase Extraction (SPE) to identify and quantify Pigment Red 53 in *eyeshadow*. Method validation was performed by evaluating parameters including accuracy, precision, selectivity, linearity, and range. The validation results showed an accuracy of 99.97% and a precision with %RSD of 1.57%, both meeting the acceptance criteria. The calibration curve showed a linear relationship with a correlation coefficient (r) of 0.99. The method used demonstrated good sensitivity, as indicated by the limit of detection (LOD) value of 0.66 $\mu\text{g/mL}$ and the limit of quantification (LOQ) value of 2.19 $\mu\text{g/mL}$. Among 10 *eyeshadow* samples from *e-commerce*, 3 samples were identified as containing Red K3, namely sample C (1.166% w/w), sample F (2.03% w/w), and sample I (1.55% w/w). The developed method was found to be valid and suitable for cosmetic safety monitoring, especially for products sold online.

Keywords: *Eyeshadow*; Method validation; Red K3; solid phase extraction; UV-Visible Spectrophotometry

PENDAHULUAN

Penggunaan kosmetik untuk merawat dan mempercantik penampilan telah menjadi tren di kalangan masyarakat dari berbagai kelompok usia. Perkembangan teknologi dan inovasi dalam formulasi sediaan kosmetik mendorong munculnya beragam produk kosmetik dekoratif yang diminati oleh masyarakat. Fenomena ini membuka peluang pasar yang luas bagi produsen untuk memproduksi dan memasarkan kosmetik secara masif. Namun demikian, beberapa penelitian melaporkan adanya kandungan zat pewarna berbahaya dalam kosmetik dekoratif yang beredar di pasaran, sebagaimana dilaporkan oleh (Syakri, 2017) dan (Sinuhaji, 2019). Eyeshadow atau perona kelopak mata termasuk dalam kosmetik dekoratif yang berisi pigmen warna untuk memberi efek bayangan dan kilau pada mata. Warna yang sering dijumpai ialah biru, merah tua, perak, hijau, dan coklat. Mengingat penggunaannya pada kulit sekitar mata, eyeshadow harus dibuat dari bahan aman dan dipakai dengan hati-hati (Tranggono & Latifah, 2013).

Pewarna dalam sediaan eyeshadow merupakan bahan yang penting. Namun, beberapa oknum produsen kosmetik menggunakan bahan pewarna sintesis berbahaya untuk mendapatkan keuntungan dalam penjualan kosmetik. Salah satu bahan pewarna sintesis berbahaya yang digunakan adalah Merah K3 (pigment red 53). Pada tahun 2019, Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) menerbitkan Peraturan No. 23 Tahun 2019 terkait Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik, yang mencantumkan 1.375 bahan terlarang, termasuk Merah K3 (Pratiwi et al., 2024).

Pembelian kosmetik melalui platform e-commerce menawarkan kemudahan dan beragam pilihan produk, namun juga menimbulkan risiko keamanan yang signifikan. Kosmetik yang dijual secara daring tidak selalu melalui pengawasan yang memadai sehingga meningkatkan kemungkinan beredarnya produk yang mengandung bahan berbahaya, seperti pewarna sintetis Merah K3 (Pigment Red 53) (Rahardian et al., 2023). Di Indonesia, penggunaan bahan tersebut dalam kosmetik dilarang berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 23 Tahun 2019 tentang Persyaratan Teknis Bahan Kosmetik (BPOM RI, 2019). Perdagangan kosmetik secara daring yang berkembang pesat, disertai keterbatasan pengawasan, memungkinkan konsumen memperoleh produk tanpa jaminan mutu, keamanan, maupun legalitas. Paparan bahan berbahaya dalam kosmetik dapat menyebabkan iritasi kulit, reaksi alergi, gangguan dermatologis, hingga potensi efek toksik jangka panjang seperti karsinogenisitas (BPOM RI, 2020). Dengan demikian, konsumen perlu lebih berhati-hati dalam memilih kosmetik yang dibeli secara daring serta memastikan produk tersebut memiliki izin edar resmi dan memenuhi standar keamanan yang berlaku.

Merah K3, juga dikenal sebagai Pigment Red 53 (D&C Red No.8) dengan indeks warna CI 15585, merupakan pewarna sintetis berbentuk bubuk merah kekuningan hingga oranye kemerahan yang tidak berbau. Zat ini sering digunakan dalam industri untuk mewarnai tekstil, tinta, dan kertas. Namun, Merah K3 adalah pewarna sintetis berbahaya yang dilarang dalam kosmetik karena bersifat karsinogenik (dapat memicu kanker), teratogenik (menyebabkan kelainan pada janin), serta dapat menyebabkan iritasi kulit dan sarkoma limpa (Pratiwi et al., 2022). Zat ini juga diketahui meningkatkan produksi senyawa pro-inflamasi, merusak sel kulit manusia, dan berkontribusi pada perkembangan gangguan kulit seperti eksim dan dermatitis (Pratiwi et al., 2024).

Saat ini, cara analisis Merah K3 dilakukan dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) (Sitanggung, 2018), spektrofotometer UV-Vis, KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi), NMR (Resonansi Magnetik Nuklir), dan LC-MS/MS (Kromatografi Cair-Spektrometri Massa) (Suastari, 2017). Metode tersebut memiliki sensitivitas dan selektivitas yang baik (Pratiwi et al., 2024). Metode KLT umumnya hanya bersifat kualitatif atau semi-kuantitatif dengan sensitivitas yang relatif rendah, sehingga kurang optimal untuk penetapan kadar secara akurat dalam matriks kosmetik yang kompleks. Metode spektrofotometri UV-Vis memang lebih sederhana dan ekonomis, tetapi memiliki selektivitas yang rendah karena banyak komponen dalam kosmetik, seperti pigmen, minyak, dan bahan pengikat, juga dapat menyerap pada panjang gelombang yang sama sehingga berpotensi menimbulkan interferensi. Di sisi lain, metode instrumental seperti KCKT, NMR, dan LC-MS/MS memiliki sensitivitas dan selektivitas yang tinggi, namun membutuhkan biaya operasional yang mahal, instrumen yang kompleks, serta tidak selalu tersedia di laboratorium pengujian rutin.

Spektrofotometri UV-Vis biasa digunakan karena relatif lebih ekonomis dibandingkan dengan metode analitik lain baik dari segi peralatan maupun penggunaan bahan kimia dan hasil analisis dapat diperoleh dalam waktu yang singkat. Metode ini mampu mendeteksi zat dengan konsentrasi rendah, bahkan hingga tingkat mikrogram per liter. Proses pengukuran spektrofotometri UV-Vis umumnya cepat, dengan hasil yang dapat diperoleh dalam hitungan menit. Metode ini dapat digunakan untuk identifikasi (analisis kualitatif) dan pengukuran konsentrasi (analisis kuantitatif) zat (Suhartati, 2017). Merah K3 memiliki struktur kimia yang khas, termasuk gugus fungsional yang memungkinkan senyawa ini terdeteksi menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Struktur ini didasarkan pada inti azo ($N=N$), yang memberikan karakteristik utama bagi sifat penyerapannya. Gugus azo adalah kromofor utama yang bertanggung jawab atas kemampuan Merah K3 menyerap cahaya. Gugus ini memiliki ikatan

rangkap nitrogen yang terkonjugasi dengan sistem aromatik, memungkinkan transisi elektronik $\pi \rightarrow \pi^*$ saat menyerap energi UV atau visibel. Metode spektrofotometri UV-Visible memiliki keunggulan dalam proses identifikasi dan analisis senyawa (Pratiwi et al., 2024). Keberhasilan penerapan metode ini dalam penetapan kadar pewarna pada sediaan kosmetik telah dilaporkan oleh beberapa peneliti, di antaranya (Fauziah et al., 2020; Mamoto et al., 2013), pada analisis Rhodamin B dalam sediaan kosmetik.

Pada 4 Oktober 2022, melalui Peringatan Publik No. PW.02.04.1.4.10.22.168 mengenai kosmetik yang mengandung bahan berbahaya, dilaporkan bahwa delapan dari 16 produk lipstik, blush, dan eyeshadow terdeteksi mengandung Merah K3. Berdasarkan latar belakang diatas penulis melakukan penelitian kandungan pewarna berbahaya Merah K3 (Pigment Red 53) pada sediaan eyeshadow yang dijual di *e-commerce*.

Sejumlah studi seperti yang dilakukan oleh Pratiwi et al. Pada tahun 2022 dan 2024, menunjukkan bahwa pewarna ini masih ditemukan dalam beberapa produk kosmetik yang beredar, dengan analisis yang dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan teknik pemisahan sederhana seperti filtrasi. Dalam analisis Merah K3 pada produk kosmetik seperti eyeshadow, teknik pemisahan memainkan peran yang sangat krusial. Pada eyeshadow terdapat matriks kompleks yang mengandung berbagai bahan aktif seperti pigmen, pengikat, pengawet, dan bahan tambahan lainnya yang dapat mengganggu akurasi pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Visibel. Tanpa teknik pemisahan yang efektif, interferensi dari komponen lain dalam sampel dapat menyebabkan hasil analisis menjadi tidak valid, baik dari segi sensitivitas maupun selektivitas. Oleh sebab itu, pemisahan komponen target matriksnya sebelum analisis menjadi langkah penting untuk memperoleh hasil yang andal. Penelitian ini mengusulkan penggunaan teknik Ekstraksi Fase Padat (EFP) sebagai alternatif preparasi sampel sebelum analisis UV-Vis. Teknik ini dilaporkan mampu mengurangi gangguan matriks serta berpotensi meningkatkan sensitivitas dan keandalan hasil analisis (Płotka-Wasyłka & Szczepańska, 2021). Pengembangan metode analisis harus disertai dengan validasi metode untuk memastikan bahwa metode yang dikembangkan memenuhi kriteria validitas (ISO, 2007), khususnya dalam penetapan kadar Merah K3 menggunakan spektrofotometri UV-Visible dengan pemisahan melalui EFP. Inovasi metode ini menjadi sangat relevan di tengah meningkatnya tren pembelian kosmetik secara daring melalui *e-commerce*, di mana kontrol mutu produk cenderung lebih longgar. Pada penelitian ini tidak hanya menghadirkan pendekatan analisis yang lebih canggih, tetapi juga berkontribusi terhadap penguatan sistem pengawasan keamanan kosmetik di era digital.

METODE

Alat Penelitian

Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1800 Pharmaspec), timbangan analitik, katrid SPE C-18, labu erlenmeyer penyaring (Pyrex), pompa vakum (GAST), alat-alat gelas kimia (Pyrex), pipet tetes, pipet volume (Pyrex).

Bahan Penelitian

Sampel eyeshadow, baku pembanding Merah K3, DMF (dimetilformamida) (Loba Chemie), Metanol, Mg stearat, Propil paraben, Metil paraben, talkum.

Kriteria Sampel

Penentuan sampel dalam penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*, yaitu metode pengambilan sampel non-probabilitas berdasarkan kriteria tertentu yang ditetapkan sesuai tujuan penelitian (Etikan et al., 2016). Sampel yang dipilih adalah produk eyeshadow berwarna merah dengan jumlah penjualan lebih dari 1000 unit pada platform e-commerce dan harga \leq Rp40.000. Kriteria tersebut digunakan untuk merepresentasikan produk kosmetik dengan tingkat peredaran tinggi dan harga terjangkau yang banyak digunakan oleh masyarakat. Berdasarkan kriteria tersebut diperoleh 10 sampel eyeshadow dari merek yang berbeda yang dijual melalui salah satu platform *e-commerce*. Jumlah sampel dalam penelitian ini bersifat eksploratif untuk memberikan gambaran awal mengenai karakteristik produk yang diteliti.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara mengukur larutan baku pembanding Merah K3 menggunakan spektrofotometri UV-Visibel pada rentang panjang gelombang 400 - 800 nm, kemudian ditentukan panjang gelombang maksimal berdasarkan hasil spektrum.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Persiapan Larutan Baku

Timbang 50 mg Merah K3 BP dan dilarutkan sampai 50 mL DMF, dikocok hingga larut (1000 $\mu\text{g/mL}$). Pipet 5 mL dan ditambahkan DMF sampai tanda batas dalam labu ukur 50 mL (100 $\mu\text{g/mL}$).

Pembuatan kurva kalibrasi

Larutan baku pembanding Merah K3 dibuat enam variasi konsentrasi 10 µg/mL, 12 µg/mL, 14 µg/mL, 16 µg/mL, 18 µg/mL dan 20 µg/mL. Diukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 482 nm dan dibuat kurva kalibrasi.

Pembuatan Simulasi Produk Eyeshadow

Prosedur pembuatan eyeshadow : Bahan-bahan serbuk yakni talkum, pewarna merah K3, Mg stearat, propil paraben dan metil paraben masing-masing digerus dalam satu mortir hingga halus dan homogen (Dwiwulandari dkk, 2018).

Validasi Metode Analisis

Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang mengacu pada sejauh mana hasil uji mendekati nilai sebenarnya. Persentase atau fraksi analit yang berhasil diisolasi saat sampel uji diproses melalui seluruh metode pengujian disebut sebagai tingkat perolehan kembali (*recovery*) (AOAC, 2019). Nilai akurasi dinyatakan sebagai % perolehan kembali dengan rumus :

$$\% \text{ recovery} = (\text{nilai yang diperoleh}) / (\text{nilai yang sebenarnya}) \times 100\%$$

Pengukuran akurasi dilakukan dengan mengukur serapan sediaan simulasi sebanyak 9 kali dengan menggunakan 3 konsentrasi yaitu 80%, 100% dan 120% kadar pewarna merah K3 dan masing-masing 3 kali replikasi.

Presisi

Uji presisi dilakukan dengan menghitung ukuran kesesuaian hasil pengujian yang diperoleh dari keterulangan pengukuran (akurasi) dengan menghitung standar deviasi atau standar deviasi relatif (RSD). Kemudian menghitung standar deviasi dan % Simpangan baku relatif dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ RSD} = \text{SD} / \text{mean} \times 100\%$$

Selektivitas (spesifisitas)

Selektivitas atau spesifisitas adalah kemampuan metode untuk mengukur suatu zat secara akurat meskipun terdapat komponen lain dalam sampel. Nilai ini biasanya dinyatakan sebagai derajat penyimpangan, dengan membandingkan hasil analisis sampel yang mengandung zat tambahan seperti cemaran atau produk degradasi dengan sampel murni. Dalam hal ini, selektivitas diuji melalui perbandingan hasil analisis sampel dengan dan tanpa penambahan Merah K3.

Linearitas dan Rentang

Linearitas merupakan kemampuan suatu metode analisis dalam menghasilkan respons yang berbanding lurus atau dapat dikoreksi melalui transformasi matematis yang sesuai terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas ditentukan dengan hasil nilai regresi linear. Rentang metode mengacu pada batas terendah hingga batas tertinggi analit yang telah terbukti dapat diukur dengan tingkat akurasi, presisi, dan linearitas yang dapat diterima (AOAC, 2019).

Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

Batas deteksi adalah jumlah minimum analit dalam suatu sampel yang masih dapat terdeteksi, dengan memberikan sinyal yang cukup signifikan jika dibandingkan dengan larutan blanko. Parameter ini digunakan untuk menentukan batas deteksi dari suatu metode analisis. Batas kuantifikasi adalah parameter yang digunakan dalam analisis kadar sangat rendah (renik), dan merujuk pada jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat diukur secara tepat dan akurat, sesuai dengan kriteria performa metode analisis.

Batas deteksi dapat dinyatakan sebagai berikut :

$$BD = \frac{3 \cdot \sigma}{S}$$

Batas kuantifikasi dapat dinyatakan sebagai :

$$BK = \frac{10 \cdot \sigma}{S}$$

Analisis Sampel Eyeshadow E-Commerce Preparasi Sampel dengan EFP

Sampel disiapkan dengan melarutkan 200 mg produk dalam 25 mL dimetilformamida (DMF) hingga homogen. Ekstraksi dilakukan menggunakan katrid SPE C-18 dengan tebal 1 cm. Katrid terlebih dahulu dikondisikan secara berurutan dengan 4 mL metanol untuk mengaktifkan fase diam dan memastikan kondisi awal yang sesuai.

Sebanyak 4 mL larutan sampel kemudian dimasukkan ke dalam katrid SPE C-18 yang telah terpasang pada sistem vakum. Setelah itu dilakukan tahap pencucian (washing) menggunakan 2 mL DMF. Analit kemudian dielusui menggunakan 4 mL metanol. Eluat yang diperoleh kemudian ditampung dan diencerkan kemudian dilakukan analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Prosedur Penelitian

Larutan uji diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum kemudian dimasukan dalam alat spektrofotometri UV-Vis untuk diukur absorbansi. Kadar Merah K3 dalam sampel dihitung dengan cara menginterpolasikan nilai absorbansi larutan uji ke persamaan kurva kalibrasi.

Analisis Data

Data spektrum UV-Visible dianalisis menggunakan pendekatan kemometrik yang meliputi korelasi Pearson (r), *Root Mean Square Error* (RMSE), dan interval kepercayaan (*Confidence Interval*, CI) untuk mengevaluasi tingkat kemiripan antara spektrum sampel dan baku pembanding. Korelasi Pearson digunakan untuk menilai kesesuaian bentuk spektrum dan dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$r = \frac{\Sigma(xi - \bar{x})(yi - \bar{y})}{\sqrt{[\Sigma(xi - \bar{x})^2 \Sigma(yi - \bar{y})^2]}}$$

di mana x_i dan y_i masing-masing adalah nilai absorbansi pada panjang gelombang ke- i untuk sampel dan baku, sedangkan \bar{x} dan \bar{y} adalah nilai rata-rata absorbansi masing-masing. (Miller & Miller, 2018).

Selain itu, RMSE digunakan untuk mengukur deviasi absolut antara spektrum sampel dan baku, yang dihitung dengan persamaan:

$$RMSE = \sqrt{\left[\frac{1}{n} \Sigma(xi - yi)^2\right]}$$

di mana n adalah jumlah titik data. Nilai RMSE yang lebih kecil menunjukkan tingkat kesesuaian yang lebih baik secara kuantitatif antara kedua spektrum (Harris, 2016).

Untuk mengevaluasi signifikansi statistik dari nilai korelasi, dihitung interval kepercayaan (CI) 95% menggunakan transformasi Fisher z sebagai berikut:

$$z = 1/2 \frac{1}{2} \ln\left(\frac{1+r}{1-r}\right)$$

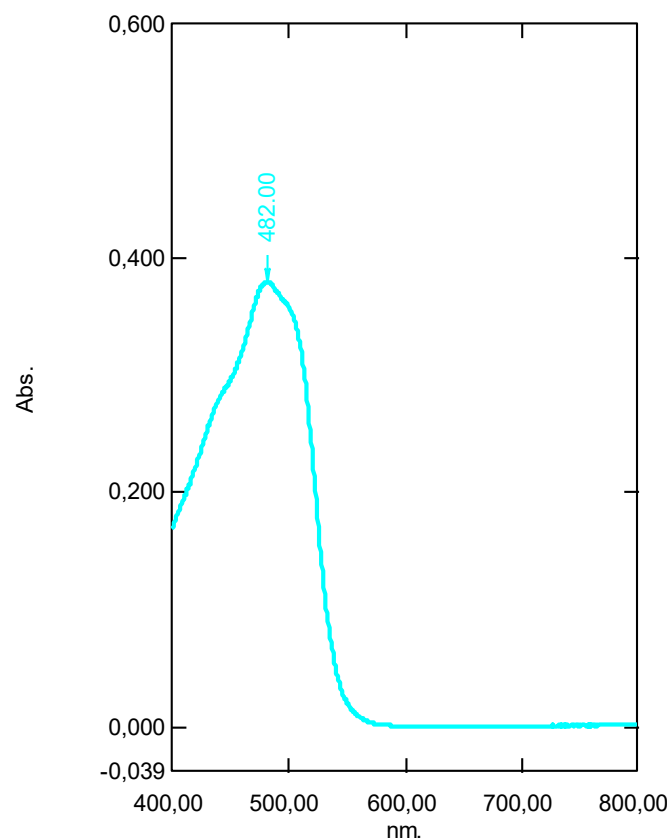
$$SE = \frac{1}{\sqrt{(n-3)}}$$

$$CI = z \pm Z_{\alpha/2} \times SE$$

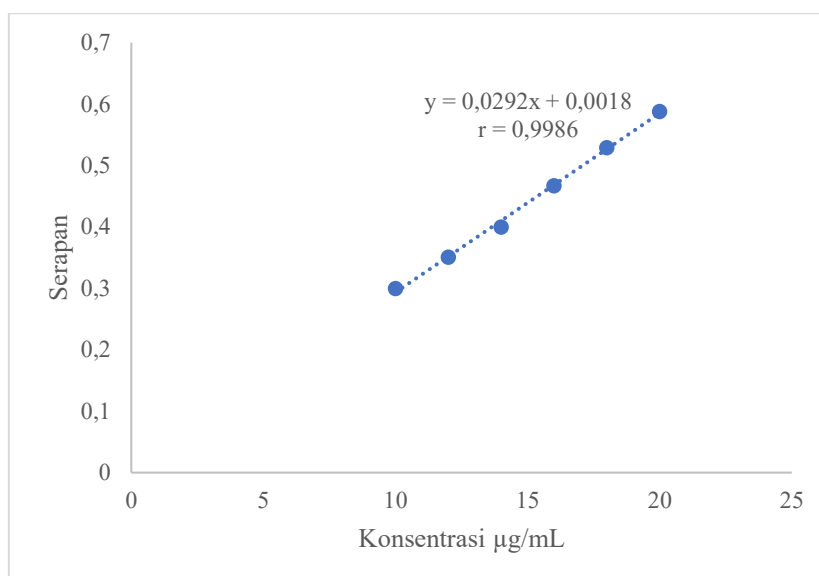
di mana z adalah nilai transformasi Fisher, SE adalah standard error, n adalah jumlah data, dan $Z_{\alpha/2}$ adalah nilai distribusi normal standar (1,96 untuk tingkat kepercayaan 95%). Nilai CI kemudian dikonversi kembali ke bentuk korelasi Pearson (r). (Miller & Miller, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada tahap awal penelitian ini, dilakukan validasi metode untuk memastikan keandalan pengukuran Merah K3 dalam matriks kosmetik *eyeshadow* menggunakan spektrofotometri UV-Visible. Validasi dimulai dengan penentuan panjang gelombang maksimum yang diukur pada rentang panjang gelombang 400-800 nm dari larutan baku Merah K3. Penentuan panjang gelombang maksimum pada konsentrasi 12 $\mu\text{g/mL}$ menghasilkan nilai sebesar 482 nm seperti tertera pada gambar 1. Panjang gelombang tersebut identik dengan panjang gelombang maksimum pada literatur (Pratiwi et al., 2024). Kesesuaian ini mengindikasikan bahwa kondisi pengukuran yang digunakan dalam penelitian telah sesuai dan mampu mendeteksi Merah K3 secara optimal. Setelah itu, dilakukan pembuatan kurva kalibrasi dari larutan baku dalam rentang konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$, 12 $\mu\text{g/mL}$, 14 $\mu\text{g/mL}$, 16 $\mu\text{g/mL}$, 18 $\mu\text{g/mL}$ dan 20 $\mu\text{g/mL}$ seperti tertera pada gambar 2. Hasil menunjukkan hubungan linear antara konsentrasi dan absorbansi dengan persamaan regresi linier $y = 0,0292x + 0,0018$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9986. Nilai $r \geq 0,998$ menunjukkan bahwa hubungan antar konsentrasi dan respons dianggap linear dan valid (ICH Guideline, 2022).



Gambar 1. Spektrum Baku Pembanding Merah K3



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Merah K3

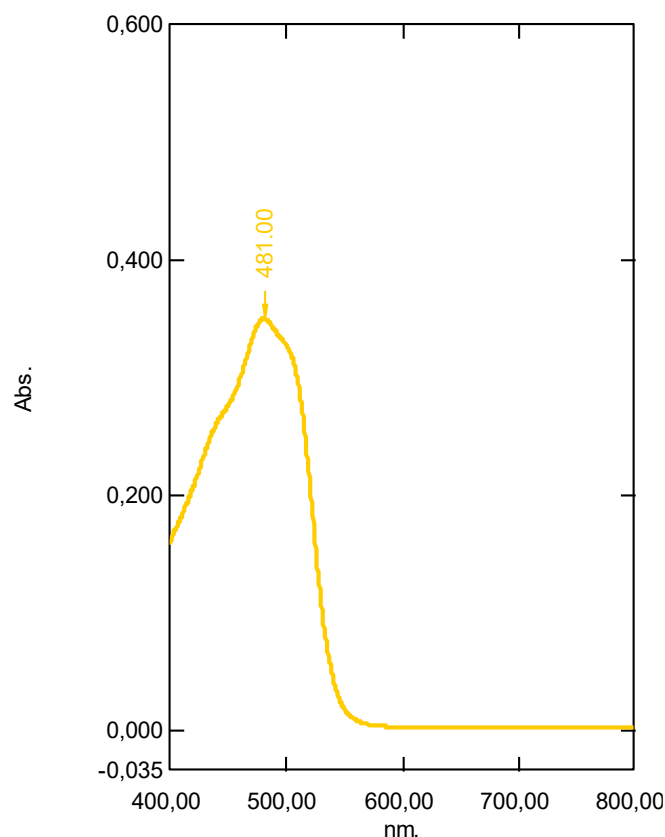
Validasi metode dilakukan menggunakan sampel simulasi dengan komposisi magnesium stearat, metil paraben, propil paraben, talkum, dan kandungan merah K3 80%, 100%, 120% dan 0% (F0). Sampel simulasi dipreparasi menggunakan teknik EFP.

Sampel simulasi ditimbang sebanyak 200 mg dan dilarutkan dalam labu ukur 25 mL menggunakan pelarut dimetilformamida, kemudian larutan dilakukan pemisahan menggunakan teknik EFP. Teknik EFP ditujukan untuk memisahkan Merah K3 dari komponen-komponen matriks *eyeshadow* yang kompleks. EFP membantu meningkatkan selektivitas dengan cara menghilangkan senyawa pengganggu yang dapat menyerap pada panjang gelombang serupa atau mengganggu pembacaan absorbansi. Keunggulan dari EFP dibandingkan metode pemisahan yang seringkali digunakan seperti ekstraksi cair – cair, dikarenakan hanya diperlukan sedikit pelarut, waktu pemisahan singkat dan dapat diterapkan untuk volume sampel yang terbatas (Mahdavijalal et al., 2024).

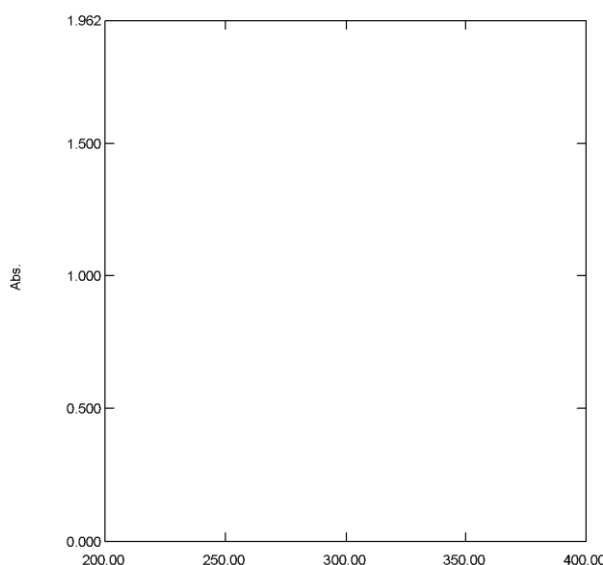
Pada tahap awal, dilakukan pengkondisian kartrid SPE C-18 menggunakan metanol pro analisis sebanyak 4 mL. Kartrid yang digunakan berisi sorben silika C18 (octadecylsilane) yang merupakan fase diam nonpolar pada sistem reversed-phase. Sorben ini dipilih karena mampu berinteraksi secara hidrofobik dengan senyawa target yang relatif nonpolar, dengan bagian aromatik dari senyawa target, seperti zat warna Merah K3, sehingga memungkinkan proses retensi dan pemisahan yang lebih efektif dari matriks kosmetik (Chen et al., 2019). Pemilihan metanol sebagai pelarut pengkondisi didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh (Chen et al., 2019), yang melaporkan bahwa penggunaan metanol memberikan nilai recovery yang tinggi dan hasil ekstrak yang lebih bersih pada sebagian besar dari 63 zat pewarna yang

dianalisis menggunakan teknik EFP. Metanol dipilih karena memiliki polaritas yang sesuai untuk berinteraksi dengan sorben C18 dan berbagai jenis pewarna. Penambahan metanol bertujuan untuk mengaktifkan fase diam (sorben). Metanol mampu membasahi dan mengembangkan permukaan sorben, sehingga situs aktif pada sorben siap berinteraksi secara optimal dengan senyawa target. Selain itu, proses pengkondisian ini membantu menstandarkan lingkungan kimia di dalam kartrid, sehingga proses EFP menjadi lebih konsisten dan dapat direproduksi antar percobaan.

Setelah tahap pengkondisian selesai, sebanyak 4 mL larutan sampel simulasi dimasukkan ke dalam kartrid yang telah tersambung dengan labu Erlenmeyer penyaring dan mesin vakum untuk membantu proses alir dan pemisahan. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diencerkan untuk menghasilkan larutan dengan konsentrasi yang lebih rendah. Pengenceran dilakukan agar nilai absorbansi berada dalam rentang linear alat, sehingga pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis dapat memberikan hasil yang akurat dan valid (Botelho et al., 2025). Dengan demikian, konsentrasi analit yang dihitung mencerminkan kadar sebenarnya dalam sampel.



Gambar 3. Spektrum Sediaan Simulasi Merah K3 pada Konsentrasi 80%



Gambar 4. Spektrum Sediaan Simulasi Tanpa Merah K3 (blanko)

Parameter validasi yang dilakukan adalah akurasi, presisi, sensitivitas, selektivitas, linearitas dan rentang. Tujuan dilakukan uji akurasi untuk menggambarkan sejauh mana hasil analisis mendekati kadar analit yang sesungguhnya. Pengukuran akurasi dilakukan dengan mengukur serapan sediaan simulasi dengan menggunakan 3 konsentrasi yaitu 80%, 100% dan 120% kadar pewarna merah K3 dan masing-masing 3 kali replikasi, kemudian dihitung persentase kadarnya. Hasil persentase kadar harus memenuhi persyaratan persen perolehan kembali yaitu pada rentang 95 - 102% (AOAC, 2019). Pengujian presisi dilakukan dengan cara menghitung tingkat kesesuaian hasil pengujian yang diperoleh melalui pengulangan pengukuran (akurasi) dengan menggunakan perhitungan standar deviasi atau standar deviasi relatif (RSD). Batas yang disyaratkan untuk nilai RSD adalah kurang dari 2% (Nopi & Isnaeni, 2024). Uji selektivitas dilakukan dengan membandingkan spektrum sampel yang mengandung analit dengan sampel yang tidak mengandung analit seperti tertera pada gambar 3 dan 4. Nilai batas deteksi dan batas kuantitasi ditentukan secara statistik berdasarkan analisis regresi linier dari data kurva kalibrasi.

Tabel 1. Hasil Validasi Metode Analisis Spektrofotometri UV-Visibel

Parameter	Hasil	Persyaratan	Keterangan
Akurasi	99,97%	95 - 102%	Memenuhi persyaratan
Presisi	1,57%	Simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%	Memenuhi persyaratan
Linearitas	$y = 0,0292x + 0,0018$ $r = 0,9986$	Nilai $r \geq 0,998$	Memenuhi persyaratan
Rentang	10 - 20 $\mu\text{g/mL}$	-	-
Batas deteksi	0,66 $\mu\text{g/mL}$	-	-
Batas kuantitasi	2,19 $\mu\text{g/mL}$	-	-

Hasil validasi metode spektrofotometri UV-Visibel pada penentuan Merah K3 menunjukkan kinerja analitik yang sangat baik, yang tercermin dari nilai akurasi sebesar 99,97%, presisi dengan %RSD 1,57%, serta nilai batas deteksi dan batas kuantitasi yang rendah, masing-masing sebesar 0,66 $\mu\text{g/mL}$ dan 2,19 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 1). Capaian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan (Abbas et al., 2025) dalam penetapan pewarna AY 23 menggunakan EFP dengan Spektrofotometri, di mana penggunaan teknik EFP sebelum pengukuran spektrofotometri UV-Vis terbukti mampu meningkatkan sensitivitas dan selektivitas metode analisis zat pewarna. Penerapan EFP berfungsi sebagai tahap prakonsentrasi dan pembersihan matriks, sehingga sinyal absorbansi pewarna dapat diukur secara akurat tanpa gangguan interferensi. Hal ini sangat berperan dalam menurunkan batas deteksi dan meningkatkan presisi pengukuran spektrofotometri UV Visible. Temuan ini konsisten dengan hasil penelitian Merah K3, di mana teknik EFP mampu memisahkan komponen matriks kosmetik seperti talkum, magnesium stearat, metil paraben, dan propil paraben, yang dibuktikan dengan tidak munculnya puncak absorbansi pada panjang gelombang maksimum analit pada spektrum blanko (Gambar 4).

Metode pengambilan sampel dilakukan dengan pendekatan *purposive sampling*, yaitu memilih sampel dari populasi berdasarkan karakteristik tertentu yang telah ditentukan secara subjektif oleh peneliti. *Eyeshadow* yang dipilih adalah yang memenuhi kriteria sebagai berikut, yaitu memiliki jumlah penjualan lebih dari 1000 produk, berwarna merah, dan memiliki harga \leq Rp. 40.000. Jumlah sampel *eyeshadow* yang digunakan sebanyak 10 buah dan diperoleh dari salah satu *e-commerce*.

Produk dipreparasi sesuai metode yang telah divalidasi. Identifikasi sampel dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Visibel dengan membandingkan bentuk spektrum dan panjang gelombang maksimum antara sampel dan baku pembanding Merah K3. Kemiripan bentuk spektrum diuji menggunakan korelasi Pearson (r), yaitu parameter statistik yang digunakan untuk mengukur derajat hubungan linier antara dua variabel, dalam hal ini antara spektrum sampel dan spektrum baku. Nilai koefisien korelasi Pearson berkisar antara -1 hingga +1, di mana nilai yang mendekati +1 menunjukkan kemiripan pola spektrum yang sangat tinggi (Miller & Miller, 2018). Penggunaan korelasi Pearson dalam analisis kemiripan spektrum telah banyak dilaporkan pada penelitian-penelitian sebelumnya, khususnya dalam bidang kimia analitik dan farmasi. Korelasi Pearson digunakan sebagai pendekatan kemometrik sederhana untuk membandingkan profil spektrum antara sampel dan standar, baik pada analisis UV-Vis, FTIR, maupun spektroskopi lainnya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa nilai korelasi yang tinggi ($r > 0,9$) dapat digunakan sebagai indikator awal kesamaan komponen kimia atau

keberadaan senyawa target dalam sampel, terutama jika dikombinasikan dengan parameter lain seperti λ_{max} dan analisis kuantitatif (Miller & Miller, 2018; Skoog et al., 2014). Oleh karena itu, penggunaan korelasi Pearson dalam penelitian ini sejalan dengan pendekatan yang telah digunakan secara luas dalam analisis kemiripan spektrum untuk tujuan identifikasi senyawa.

Tabel 2. Hasil Korelasi Pearson Panjang Gelombang Baku Pembanding Merah K3 dan Sampel

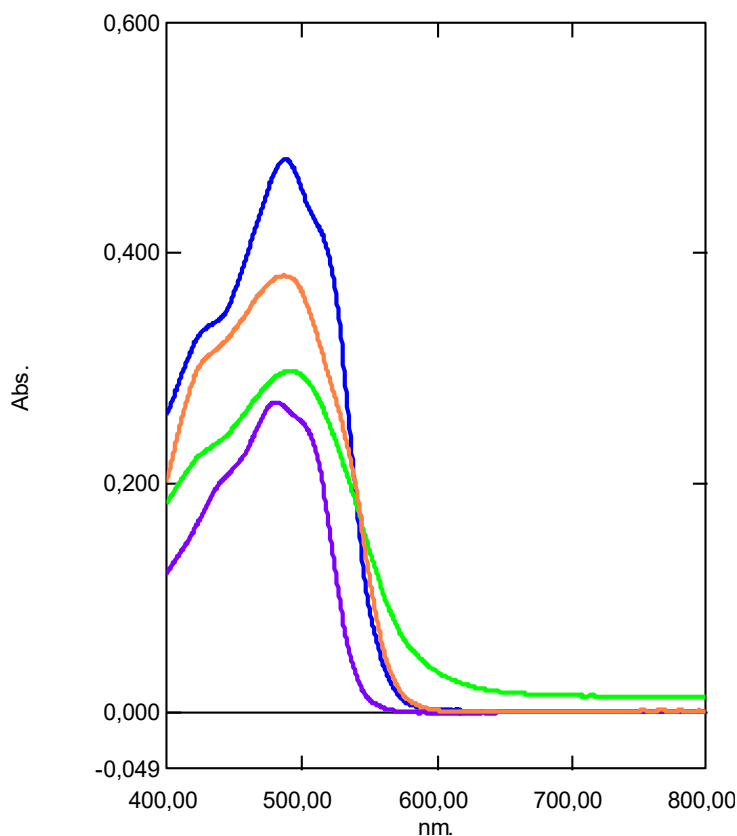
Sampel	Korelasi pearson (r)	Keterangan
A	0,864	Negatif
B	0,406	Negatif
C	0,938	Positif
D	0,826	Negatif
E	0,798	Negatif
F	0,927	Positif
G	0,869	Negatif
H	0,539	Negatif
I	0,972	Positif
J	0,653	Negatif

Berdasarkan hasil pada Tabel 2, diperoleh nilai korelasi Pearson untuk sampel C, F, dan I masing-masing sebesar 0,938; 0,927; dan 0,972, yang termasuk dalam kategori sangat kuat ($r > 0,9$). Hal ini menunjukkan bahwa bentuk spektrum ketiga sampel memiliki kemiripan yang sangat tinggi dengan spektrum baku pembanding Merah K3. Pada tabel 3 nilai interval kepercayaan (CI 95%) pada sampel C, F, dan I berada pada rentang tinggi (di atas 0,9) dan tidak mencakup nol, sehingga korelasi yang diperoleh bersifat signifikan dan memiliki tingkat presisi yang baik. Perhitungan interval kepercayaan ini didasarkan pada transformasi Fisher z dengan mempertimbangkan jumlah data ($n = 151$) dan nilai *standard error* ($SE = 0,082$), sehingga hasil yang diperoleh dapat dianggap reliabel (Miller & Miller, 2018). Selain korelasi Pearson, parameter lain yang digunakan adalah RMSE (*Root Mean Square Error*), yang menggambarkan besarnya deviasi atau selisih absolut antara spektrum sampel dan baku. Nilai RMSE yang lebih kecil menunjukkan tingkat kesesuaian yang lebih baik secara kuantitatif. Dalam penelitian ini, sampel F memiliki nilai RMSE terkecil (0,073), diikuti oleh sampel I (0,124) dan sampel C (0,180), sehingga dapat dikatakan bahwa secara numerik sampel F memiliki kesesuaian intensitas yang paling baik terhadap baku. Perbedaan antara nilai korelasi Pearson dan RMSE menunjukkan bahwa korelasi lebih merepresentasikan kemiripan bentuk spektrum, sedangkan RMSE lebih sensitif terhadap perbedaan nilai absorbansi pada setiap panjang gelombang (Harris, 2016; Miller & Miller, 2018).

Tabel 3. Parameter Statistik Kemiripan Spektrum antara Baku Pembanding Merah K3 dan Sampel

Parameter	Sampel C	Sampel F	Sampel I
Pearson r	0,938	0,927	0,972
RMSE	0,180	0,073	0,124
n	151	151	151
Fisher z	1,724	1,640	2,120
SE	0,082	0,082	0,082
CI (95%)	0,916 – 0,955	0,901- 0,947	0,961- 0,979

Hasil ini juga didukung oleh Gambar 5 yang menunjukkan bahwa kurva spektrum sampel C, F, dan I memiliki pola serapan yang serupa dengan baku pembanding, dengan puncak serapan maksimum (λ_{max}) berada pada kisaran panjang gelombang yang sama, yaitu sekitar 480–500 nm. Kesamaan bentuk spektrum dan posisi λ_{max} ini merupakan indikator penting dalam identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometri UV-Vis, karena senyawa yang memiliki struktur kromofor yang sama akan menghasilkan karakteristik spektrum yang serupa (Skoog et al., 2014; Harris, 2016). Oleh karena itu, berdasarkan nilai korelasi Pearson, RMSE, interval kepercayaan, serta kesesuaian bentuk spektrum dan λ_{max} , dapat disimpulkan bahwa sampel C, F, dan I menunjukkan karakteristik yang mirip dengan baku pembanding dan diduga mengandung merah K3

**Gambar 5. Spektrum Sampel Diduga Positif (Sampel C (Biru), Sampel F (Hijau), Sampel I (Oren) Baku Pembanding (Ungu))**

Berdasarkan hasil pengujian menggunakan metode yang telah divalidasi, tiga dari sepuluh produk eyeshadow yang diperoleh dari e-commerce teridentifikasi mengandung zat pewarna Merah K3. Identifikasi ini didasarkan pada kesesuaian bentuk spektrum dan panjang gelombang maksimum dengan baku pembanding. Hasil pengukuran yang dilakukan sebanyak tiga kali replikasi menunjukkan rata-rata kadar sebesar 1,166% b/b pada sampel C, 2,03% b/b pada sampel F, dan 1,55% b/b pada sampel I. Mengacu pada peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), Merah K3 termasuk dalam zat pewarna yang dilarang penggunaannya dalam kosmetik. Oleh karena itu, temuan ini menunjukkan adanya pelanggaran terhadap regulasi yang berlaku pada produk eyeshadow yang beredar di e-commerce.

Meskipun metode spektrofotometri UV-Vis yang dikombinasikan dengan EFP menunjukkan kinerja analitik yang baik, metode ini memiliki keterbatasan dalam hal selektivitas. Spektrofotometri UV-Vis bekerja berdasarkan serapan panjang gelombang tertentu, sehingga senyawa lain dalam matriks kompleks seperti kosmetik dapat memberikan interferensi pada panjang gelombang yang sama (Harris, 2010). Oleh karena itu, hasil identifikasi yang diperoleh hanya berdasarkan kesesuaian panjang gelombang maksimum dan profil spektrum belum sepenuhnya spesifik terhadap analit target.

Metode konfirmasi seperti Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT/HPLC) memiliki selektivitas dan sensitivitas yang lebih tinggi karena mampu memisahkan senyawa dalam matriks kompleks sebelum dilakukan deteksi (Skoog et al., 1998; Snyder et al., 2011). Dalam analisis zat warna sintesis pada kosmetik, penggunaan metode kromatografi sering direkomendasikan sebagai metode konfirmasi untuk memastikan identitas senyawa secara lebih akurat (Chen et al., 2019). Oleh karena itu, tidak digunakannya metode konfirmasi dalam penelitian ini menjadi salah satu keterbatasan yang dapat mempengaruhi tingkat kepastian identifikasi analit.

Selain itu, jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini relatif terbatas, yaitu hanya 10 sampel *eyeshadow* dari *e-commerce*, sehingga belum dapat menggambarkan kondisi keseluruhan produk yang beredar di pasaran. Menurut (Etikan et al., 2016), penggunaan teknik *purposive sampling* dengan jumlah sampel terbatas lebih bersifat eksploratif dan belum dapat digeneralisasi secara luas. Oleh karena itu, penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih besar serta penggunaan metode analisis konfirmasi sangat diperlukan untuk meningkatkan validitas dan keterwakilan hasil penelitian.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan terhadap sepuluh sampel produk eyeshadow, dapat disimpulkan bahwa teknik pemisahan dan metode analisis yang digunakan untuk penetapan zat warna Merah K3 telah terbukti valid. Hal ini ditunjukkan oleh nilai akurasi sebesar 99,97%, presisi 1,57%, batas deteksi 0,66 µg/mL, dan batas kuantitasi 2,19 µg/mL. Dari

sepuluh sampel yang diuji, terdapat 3 sampel, yaitu sampel C (1,166%b/b), sampel F (2,03%b/b), dan sampel I (1,55%b/b), yang teridentifikasi mengandung zat warna Merah K3 karena memiliki bentuk spektrum dan panjang gelombang yang serupa dengan baku pembanding. Dengan demikian, metode spektrofotometri UV-Vis yang dikembangkan dapat digunakan secara andal untuk penetapan zat warna Merah K3 pada produk kosmetik, khususnya eyeshadow.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada LPPM UNJANI yang telah memberikan dukungan dana sampai penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. (2019). *Guidelines for Single Laboratory Validation Dietary Supplements and Botanicals*.
- Abbas, R.F., Hassan, M.J.M. and Rheima, A.M., 2025. *Determination of AY 23 dye using magnetic solid-phase extraction coupled with spectrophotometry: Application of greenness and blueness assessment tools*. *Green Analytical Chemistry*, 12, 100179. <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2024.100179>
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2019). *Persyaratan Teknis Bahan Kosmetika*.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2020). *Public warning: Kosmetik mengandung bahan berbahaya*. Jakarta: BPOM RI.
- Badawy, M.E.I., El-Nouby, M.A.M., Kimani, P.K., Lim, L.W. and Rabea, E.I., 2022. *A review of the modern principles and applications of solid-phase extraction techniques in chromatographic analysis*. *Analytical Sciences*, 38(12), pp.1457–1487. <https://doi.org/10.1007/s44211-022-00190-8>
- Botelho, J.R.S., et al., 2025. *Development and validation of a UV-Vis spectrophotometric method for estimation of total content of chalcone*. *Journal of Applied Spectroscopy*, 92(1), pp.1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jaspec.2024.105703>
- Chen, M., Bai, H., Zhai, J., Meng, X., Guo, X., Wang, C., Wang, P., Lei, H., Niu, Z. and Ma, Q., 2019. *Comprehensive screening of 63 coloring agents in cosmetics using matrix solid-phase dispersion and ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-Orbitrap high-resolution mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A*, 1590, pp.27–38. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.01.003>
- Etikan, I., Musa, S. A., & Alkassim, R. S. (2016). *Comparison of convenience sampling and purposive sampling*. *American Journal of Theoretical and Applied Statistics*, 5(1), 1–4.

- Fauziah, S., Komarudin, D., & Dewi, C. (2020). *Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B pada Eye Shadow secara Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri Ultraviolet-Visible*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 19(02), 81–86. <https://doi.org/10.33221/jikes.v19i02.447>
- Harris, D. C. (2010). *Quantitative chemical analysis*. Macmillan.
- Harris, D. C. (2016). *Quantitative Chemical Analysis* (9th ed.). W. H. Freeman and Company.
- ICH. (2023). *Committee for Medicinal Products for Human Use ICH Q2(R2) Guideline on validation of analytical procedures*. www.ema.europa.eu/contact
- ISO. (2017). *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. www.iso.org
- Mahdavijalal, M., Petio, C., Staffilano, G., Mandrioli, R. and Protti, M., 2024. *Innovative solid-phase extraction strategies for improving the advanced chromatographic determination of drugs in challenging biological samples*. *Molecules*, 29(10), 2278. <https://doi.org/10.3390/molecules29102278>
- Mamoto, L., V., & Citranongtyas, F. G. (2013). *Analisis Rhodamin B pada Lipstik yang Beredar di Pasar Kota Manado*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 61–67.
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2018). *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* (7th ed.). Pearson Education Limited.
- Nopi, N. S., & Isnaeni, N. (2024). *Validasi Metode Analisis Penetapan Kadar Bahan Baku Lapatinib Ditosylate secara KCKT-DAD*. *Eruditio : Indonesia Journal of Food and Drug Safety*, 4(1), 33–42.
- Plotka-Wasyłka, J., & Szczepańska, N. (2021). *Solid phase extraction techniques—trends, opportunities and applications*. *Molecules*, 26(7), 1925. <https://doi.org/10.3390/molecules26071925>
- Pratiwi, R., Agita, K., & Hasanah, A. N. (2024). *An indicator color chart for quick detection of Pigment Red 53 in cosmetic products in Indonesia*. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 23(6), 2231–2239. <https://doi.org/10.1111/jocd.16193>
- Pratiwi, R., Amanda, S., & Hasanah, A. N. (2022). *Simple Detection of Pigment Red 53 as a Hazardous Substance in Cosmetic Preparation Using a Polymer Combination of Polystyrene (PS) and Polymethylmethacrylate (PMMA)*. *Molecules*, 27(24). <https://doi.org/10.3390/molecules27249016>
- Rahardian, J. B., Sulistyaningsih, P., & Praja, C. B. E. (2023). *Peran Pengawasan Marketplace terhadap Produk Kecantikan yang Tidak Memiliki Izin Edar dalam Upaya Perlindungan Hukum Terhadap Konsumen*. *Borobudur Law and Society Journal*, 2(1), 16-22.

- Sinuhaji. (2019). *Identifikasi Rhodamin B pada Liptint Bermerek X yang beredar di Pasar Usu Padang Bulan*.
- Sitanggang, E. V. (2018). *Identifikasi Rhodamin B pada Blush On Bermerek X yang Beredar di Beberapa Pasar Padang Bulan Medan*.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (1998). *Principles of instrumental analysis* (5th ed.). Harcourt Brace.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2014). *Principles of Instrumental Analysis* (6th ed.). Cengage Learning.
- Suastari Rahayu, R., Eka Suprihatin, I., & Susannah Rita, W. (2017). *Identifikasi Pewarna Merah K3 (Ci 15585) Dalam Produk Kosmetik Sediaan Perona Mata Secara LC-MS/MS. In Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. Vol. 5, Issue 1.
- Suharti, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Anugrah Utama Raharja.
- Syakri, S. (2017). Analisis Kandungan Rhodamin Sebagai Pewarna pada Sediaan Lipstik Impor yang Beredar di Kota Makassar. *JF FIK UINAM*, 5(1), 40–45.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. (2011). *Introduction to modern liquid chromatography*. John Wiley & Sons.
- Tranggono, R. I., & Latifah, F. (2013). *Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Gramedia.
- Yunita Dwiwulandari, F., & Lanawati Darsono dan Sumi Wijaya, F. (2018). *Journal Of Pharmacy Science And Practice I. Vol. 5*