

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pengertian Saus

Saus adalah salah satu bahan pelengkap makanan yang berbentuk cairan kental dan pada umumnya berfungsi sebagai bahan penyedap dan penambah cita rasa masakan. Pengertian lain saus ialah produk makanan berbentuk pasta yang terbuat dari bahan baku sayuran maupun buah dan mempunyai aroma serta rasa yang enak. Saus yang umum diperjual belikan di Indonesia adalah saus tomat dan saus cabai atau saus sambal. Namun demikian, terdapat juga produsen yang memproduksi saus berjenis pepaya, akan tetapi biasanya pepaya hanya sebagai bahan dari pembuatan saus (Erliza, 2007).

Standar Nasional Indonesia (SNI) No-01-2976 Tahun 2006, menyebutkan saus cabai atau saus sambal adalah saus yang dibuat dengan bahan utama cabai (*Capsicum Sp*), yang bisa diolah dengan penambahan bumbu-bumbu dan bahan makanan yang diizinkan, atau tanpa penambah makanan lain.

Saus tomat adalah saus yang dibuat dengan campuran bubur tomat atau padatan tomat yang didapat dari tomat yang sudah masak dan diolah dengan bumbu bumbu dengan atau tanpa bahan tambahan lain yang diizinkan (SNI 01-3546-2004).

Syarat mutu saus telah diatur dalam Standar Nasional Indonesia nomor SNI 01-3546-2004 yaitu :

Tabel 1. Syarat Mutu Saus

| Mutu | Satuan | Persyaratan yang diizinkan |
|---|---------------|-----------------------------------|
| Keadaan | | |
| Bau | | Normal Khas |
| Rasa | | Normal |
| Warna | | Normal |
| Jumlah Padatan terlarut, % (blb) | Brix 20 | Min 30 |
| Keasamana, dihitung sebagai asam asetat | % b/b | Min 0,8 |
| Pengawet | mg/kg | SNI |
| Ph | | 3-4 |
| Zat warna makanan tambahan | | SNI |
| Cemaran logam | | |
| Tembaga (Cu) | mg/kg | Maksimal 50,0 |
| Timbal (Pb) | mg/kg | Maksimal 1,0 |
| Raksa (Hg) | mg/kg | Maksimal 0,03 |
| Seng (Zn) | mg/kg | Maksimal 40,0 |
| Cemaran Arsen (As) | mg/kg | Maksimal 1,0 |
| Cemaran mikrobia | | |
| Angka Lempeng total | koloni / gram | Maksimal 2×10^2 |
| Kapang dan Khamir | koloni / gram | Maksimal 50 |

(Standar Nasional Indonesia)

B. Zat Pewarna Makanan

Zat pewarna adalah bahan tambahan makanan yang berfungsi untuk memberi warna atau memperbaiki warna pada makanan. Penambahan zat pewarna pada makanan bertujuan untuk memperbaiki warna makanan yang bisa diberikan selama proses pengolahan makanan agar terlihat lebih menarik (Noviana, 2005).

Secara umum zat pewarna digolongkan menjadi dua yaitu zat pewarna alami dan zat pewarna sintesis. Zat pewarna alami adalah zat pewarna yang dibuat bisa dari tanaman atau buah-buahan. Zat pewarna sintesis merupakan zat pewarna yang dibuat oleh manusia. Zat pewarna sintesis telah melalui suatu pengujian secara intensif untuk menjamin agar aman

dikonsumsi. Secara kuantitas, untuk menghasilkan tingkat pewarnaan yang sama, jumlah zat pewarna alami lebih banyak dibutuhkan daripada zat pewarna sintesis (Lee, 2005).

Jenis zat pewarna alami yang diizinkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Nomor 37 Tahun 2013 adalah :

1. Kurkumin CI. No. 75300 (*Curcumin*);
2. Riboflavin (*Riboflavins*);
3. Karmin dan ekstrak cochineal CI. (*Carmines and cochineal extract*);
4. Klorofil CI. No. 75810 (*Chlorophyll*);
5. Klorofil dan klorofilin tembaga kompleks CI. No. 75810 (*Chlorophylls and chlorophyllins, copper complexes*);
6. Karamel I (*Caramel I – plain*);
7. Karamel III amonia proses (*Caramel III - ammonia process*);
8. Karamel IV amonia sulfit proses (*Caramel IV - sulphite ammonia tprocess*);
9. Karbon tanaman CI. 77266 (*Vegetable carbon*);
10. Beta-karoten (sayuran) CI. No. 75130 (*Carotenes, beta (vegetable)*);
11. Ekstrak anato CI. No. 75120 (berbasis bixin) (*Annatto extracts, bixin based*);
12. Karotenoid (*Carotenoids*);
13. Merah bit (*Beet red*);
14. Antosianin (*Anthocyanins*);
15. Titanium dioksida CI. No. 77891 (*Titanium dioxide*).

Zat pewarna sintesis yang diizinkan edar oleh BPOM adalah :

1. Tartrazin CI. No. 19140 (*Tartrazine*);
2. Kuning kuinolin CI. No. 47005 (*Quinoline yellow*);
3. Kuning FCF CI. No. 15985 (*Sunset yellow FCF*);
4. Karmoisin CI. No. 14720 (*Azorubine (carmoisine)*);

5. Ponceau 4R CI. No. 16255 (*Ponceau 4R (cochineal red A)*);
6. Eritrosin CI. No. 45430 (*Erythrosine*);
7. Merah allura CI. No. 16035 (*Allura red AC*);
8. Indigotin CI. No. 73015 (*Indigotine (indigo carmine)*);
9. Biru berlian FCF CI No. 42090 (*Brilliant blue FCF*);
10. Hijau FCF CI. No. 42053 (*Fast green FCF*);
11. Coklat HT CI. No. 20285 (*Brown HT*).

Perbedaan zat pewarna sintesis dan alam dapat dilihat di tabel 3 :

Tabel 2. Perbedaan Zat Pewarna Sintesis dan Alam

| Perbedaan | Zat Pewarna Alam | Zat Pewarna Sintesis |
|------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Warna | Lebih cerah | Lebih pudar |
| Variasi warna. | Banyak | Sedikit |
| Harga | Murah | Lebih Mahal |
| Ketersediaan | Tidak Terbatas | Terbatas |
| Kesetabilan | Stabil | Kurang stabil |

Sumber : (Lee, 2005)

Zat pewarna makanan banyak disalahgunakan dengan mencampur dari pewarna tekstil dan kulit yang umumnya bewarna cerah serta stabil dalam penyimpanannya, adanya penyalahgunaan dikaitkan dengan harga zat pewarna tekstil yang jauh lebih murah dibandingkan dengan zat pewarna makanan (Cahyadi, 2009).

Berberapa zat pewarna sintesis yang dilarang penggunaannya sebagai zat pewarna tambahan untuk makanan diatur oleh peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 239/ Men.Kes/per/V/1985.

Tabel 3. Bahan Pewarna Sintesis yang Dilarang

| Bahan Pewarna | Nomer Warna (C.1.No) | Indeks |
|----------------------|---------------------------------|---------------|
| Auramin | C.I.Basic Yellow 2 | 41000 |
| Alkanet | | 75520 |
| Butter Yellow | C.I.Solvent Yellow 2 | 11020 |

| | | |
|----------------------|-------------------------|-------|
| Black 7984 | Food Vlack 2 | 27755 |
| Burn Umber | Pigment Brown 7 | 77492 |
| Chrysoidine | C.I. basic Orange 2 | 11270 |
| Crysoine S | C.I. Food Yellow 8 | 14270 |
| Citrus Red No 2 | | 12156 |
| Chocolate Brown FB | Food Brown 2 | |
| Fast Red E | C.I. Food Red 4 | 16045 |
| Fast Yellow AB | C.I. Food Yellow 2 | 13015 |
| Indranthrene Blue RS | C.I. Food Blue | 69800 |
| Magenta | C.I.Basic Violet 14 | 42510 |
| Metanil Yellow | Ext. D&C yellow N0. 1 | 13065 |
| Oil Orange SS | C.I. Solvent Orange 2 | 12100 |
| Oil Orange XO | C.I. Solvent Orange 7 | 12140 |
| Ponceau 3R | Acid Red 6 | 16155 |
| Ponceau SX | C. I. Food Red | 14700 |
| Ponceau 6R | C. I. Food Red 8 | 16290 |
| Rhodamine B | C. I. Food Red 15 | 45170 |
| Sudan I | C. I. Solvent Yellow 14 | 12055 |
| Scarlet GN | Food Red 2 | 14815 |
| Violet 6B | | 42640 |

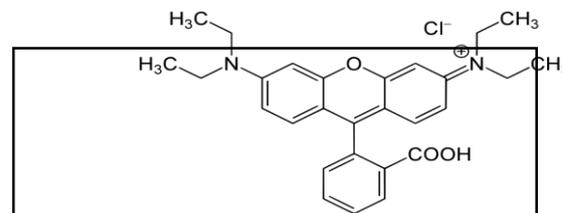
Sumber : (Permenkes, 1985)

Zat pewarna sintesis yang dilarang penggunaannya di Indonesia karena sangat berbahaya dan beracun. Berberapa zat pewarna seperti *Amaranth* (merah), telah dilarang peredaranya di berberapa negara seperti Amerika Serikat, Australia, dan negara negara lain karena diketahui dapat menyebabkan tumor, reaksi alergi pada pernafasan. Berberapa zat pewarna sintesis juga bisa menyebabkan kanker hati apabila digunakan terus menerus seperti pewarna *Azorubine*, *Briliant Black BN*, *Brown FK*, dan *Brown HT* (Permekes RI, 1988). Zat pewarna lain yang sering disalahgunakan di Indonesia seperti *Methanil Yellow* yang digunakan untuk pewarna obat luar dan Rhodamin B yang umumnya digunakan sebagai pewarna tekstil mempunyai sifat

kimia yang sangat toksik sehingga apabila dikonsumsi terus menerus dapat menyebabkan kerusakan ginjal dan hati (Cahyadi, 2006).

C. Rhodamin B

Rhodamin B adalah zat pewarna sintesis yang berbentuk kristal hijau atau bubuk jingga kemerahan, saat larut dalam air Rhodamin B akan berbubuh warna merah kebiruan. Rhodamin B bersifat sangat larut dalam air dan alkohol serta larut dalam benzen dan eter. Rhodamin B mempunyai struktur molekul $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ dengan titik lebur pada suhu $165^\circ C$. Zat ini sering digunakan sebagai pereaksi untuk identifikasi Pb, Co, Au, Mg, Bi, dan Th (Mahindru, 2000).



Gambar 1. Struktur Rhodamin B

Keterangan : [1-(2-Carboxy-phenyl)-6-diethylamino-xanthen-3-ylidene]-diethyl-ammonium; chloride (Mahindru, 2000).

Data toksisitas pada Rhodamin B menunjukkan bahwa LD_{50} pada tikus secara intravena sebesar 89,5 mg/kg, dan secara intraperitoneal sebesar 112 mg/kg. Sedangkan LD_{50} pada mencit secara oral sebesar 887 mg/kg, secara intraperitoneal sebesar 144 mg/kg dan secara subkutan sebesar 180 mg/kg (Sugiyatmi, 2006).

Rhodamin B memiliki sifat kimia yang bersifat sangat toksik sehingga membahayakan bagi kesehatan. Konsumsi Rhodamin B secara terus menerus diketahui bisa menyebabkan kanker yang tidak bisa dilihat gejalanya secara langsung setelah mengkonsumsinya (Sugianti, 2006). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rizka Mayori (2013) menunjukkan bahwa dampak pemberian Rhodamin B pada mencit menunjukkan peningkatan kerusakan glomerulus secara nyata, kerusakan ditemukan berupa penyempitan ruang bowman pada glomerulus, nekrosis, hipertropi dan *serosis tubulus*.

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode kromatografi cair yang murah dan sederhana, dapat dikatakan penggunaan KLT bisa dilakukan oleh semua laboratorium secara cepat. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat digunakan untuk menguji identifikasi senyawa baku dengan menggunakan lebih dari 1 fase gerak dan jenis semprot, dengan menggunakan teknik *spiking* mengetahui senyawa baku terlebih dahulu untuk kemudian mengetahui senyawa yang dianalisis. Prinsip KLT yaitu solut yang akan dianalisis ditotolkan pada permukaan lempeng tipis kemudian dimasukkan dalam *chamber* menggunakan fase gerak yang sesuai. Analisis kuantitatif KLT bisa dilakukan dengan cara mengukur bercak pada lempeng dengan menggunakan ukuran luas (Gandjar dan Rohman, 2007).

Mendeteksi bercak yang muncul pada pemisahan KLT dapat dilakukan dengan cara meletakkan lempeng dalam *chamber* yang tertutup kemudian menunggu fase gerak naik. Lempeng diamati dibawah lampu ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm atau 366 nm untuk melihat mana bercak yang berfluoresensi terang dan mana bercak yang gelap. Permukaan lempeng dilakukan *scanning* dengan densitometer (Gandjar dan Rohman, 2007).

Nilai *Reteradation Factor* (R_f) adalah salah satu parameter kualitatif KLT. Nilai R_f merupakan perbandingan antara jarak senyawa dari titik awal dan jarak tepi pelarut (Roth, 1994). Nilai (R_f) merupakan perbandingan antara jarak yang digerakkan oleh senyawa dengan jarak yang digerakkan oleh standar baku yang sudah diketahui sebelumnya (Hardjono, 1983).

Nilai R_f dapat dihitung dengan (Dean, 1995) :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Keterangan :

R_f : *Reteradation Factor*

Fase diam yang umum digunakan dalam KLT adalah adsorben (Penjerap). Adsorben yang paling banyak digunakan dalam KLT adalah silika gel. Terdapat jenis-jenis silika gel, silika gel yang ditambahkan senyawa silika gel G, adapun silika gel yang ditambahkan zat yang berfluoresensi untuk mempermudah identifikasi adalah silika gel GF[®]. Selain silika gel, adsorben yang bisa digunakan adalah selulosa, amilum, alumina, sefadex, dan poliamida.

Silika gel sebelum digunakan terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 105⁰C hal itu dilakukan karena adanya air dari atmosfer yang kemudian diserap plat aktif dan bisa mendeaktifkan permukaan silika gel karena air akan menutupi sisi aktif silika gel (Gandjar dan Rohman, 2007).

Fase gerak adalah medium yang terdiri dari beberapa pelarut, fase gerak bisa bergerak dalam fase diam karena terdapat gaya kapiler. Fase gerak bisa berupa campuran sederhana yang terdiri maksimum tiga komponen (Dean, 1995) . Syarat pemilihan pelarut fase gerak :

1. Memiliki kemurnian yang tinggi karena KLT sangat sensitif
2. Daya elusi harus diatur sehingga nilai R_f terletak di antara 0,2 – 0,8 untuk memaksimalkan pemisahan (Rohman, 2009).

E. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-VIS adalah alat untuk mengukur serapan yang muncul dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul dari zat kimia (FI edisi IV, 1995). Spektrofotometri adalah teknik analisis menggunakan sumber radiasi elektromagnetik *ultraviolet* (190-380) dan *visible* (380-780), daerah spektrum secara spesifik menurut Rusli (2009) dibagi menjadi :

1. Daerah ultraviolet jauh : 100 nm – 190 nm
2. Daerah ultraviolet dekat : 190 nm – 380 nm
3. Daerah cahaya tampak : 380 nm – 780 nm

4. Daerah inframerah dekat : 780 nm – 3000 nm
5. Daerah inframerah : 2,5 μm – 40 μm atau 250 cm^{-1} - 4000 cm^{-1}

Hukum Lambert-Beer menurut Dachriyatus tahun 2004 menyebutkan bahwa hukum Lambert-Beer adalah hubungan linearitas antara konsentrasi larutan dengan absorban. Intensitas yang diteruskan oleh zat penyerap berbanding terbalik dengan transmitan dan berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi kuvet (Rohman, 2009).

Rumus yang bisa diturunkan dari hukum Lambert-Beer :

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ atau } A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Keterangan:

- A = absorbansi
- b = tebal larutan
- c = konsentrasi larutan yang diukur
- ϵ = tetapan absorptivitas molar
- a = tetapan absorptivitas ppm

Penggunaan spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisa yang digunakan cukup luas, baik untuk kualitatif dan kuantitatif. Berapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri Uv-Vis adalah :

1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang yang dimaksud adalah terjadinya absorbansi maksimum.

Mendapatkan panjang gelombang maksimum dengan cara membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari larutan baku dibandingkan dengan konsentrasi.

2. Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan mengukur absorbansi dari seri larutan dalam berbagai konsentrasi, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara hasil kurva kalibrasi berupa garis lurus menandakan hukum Lambert-Beer telah terpenuhi.

3. Perhitungan kadar

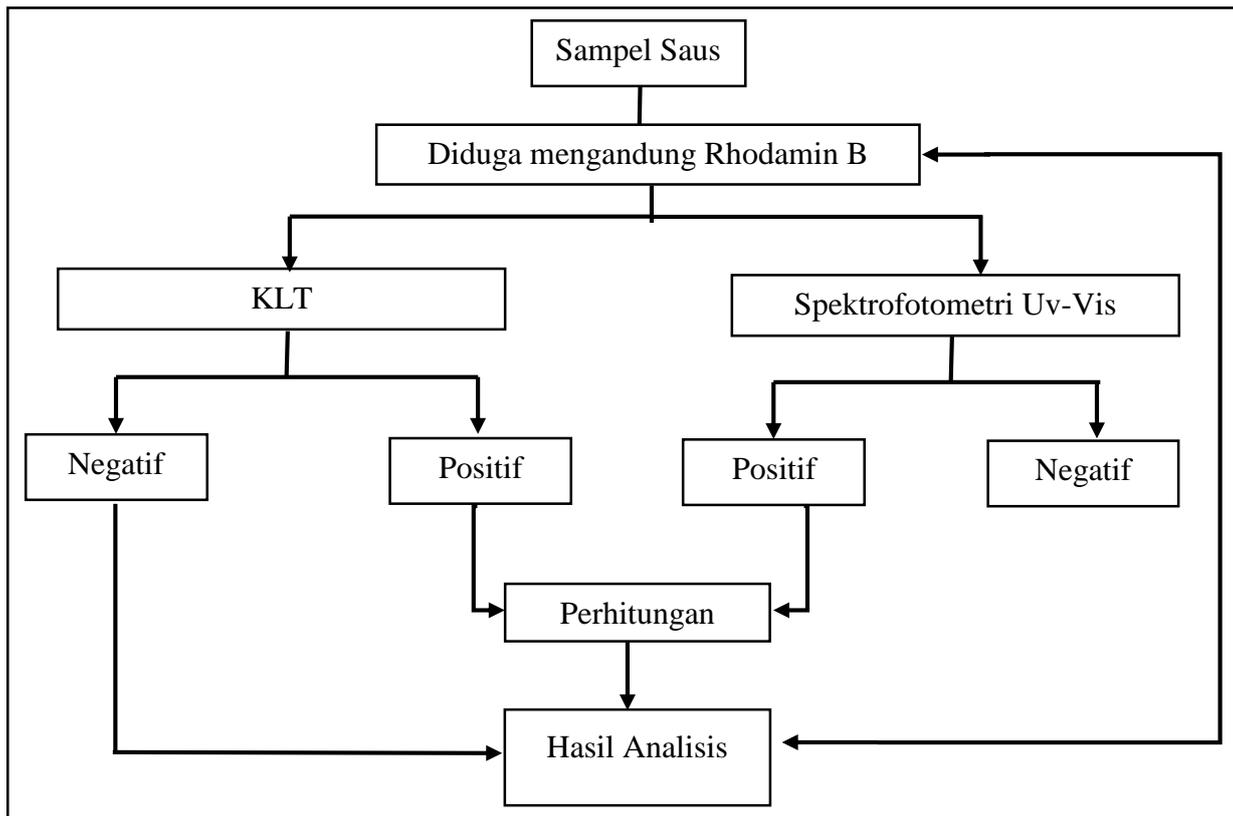
Mendapatkan kadar dilakukan dengan menggunakan persamaan garis regresi linier dengan perbandingan harga serapan larutan standar yang dibuat dengan minimal lima konsentrasi yang meningkat. Serapan memberikan hasil yang linier, dan menghasilkan kurva kalibrasi, setelah didapatkan kurva kalibrasi, konsentrasi bisa dihitung dengan :

$$K = \frac{X \cdot V \cdot Fp}{Bs}$$

Keterangan : K = Kadar total dalam sampel (mcq/g)
X = Kadar setelah pengenceran
V = Volume sampel (ml)
Fp = Faktor pengenceran
Bs = Berat sampel

4. Absorbansi Sampel

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer terletak di rentang 0,2 sampai 0,8, dan jika dibaca dengan transmitan maka rentangnya 15 sampai 70 % (Kakariawaty, 2010).

F. Kerangka Pikir**Gambar 2.** Kerangka Pikir