

**ANALISIS KUALITATIF DAN KUANTITATIF ZAT PEWARNA
BERBAHAYA RHODAMIN B PADA SAUS YANG BERADA DI PASAR
GAMPING KABUPATEN SLEMAN MENGGUNAKAN
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

Sarah Badar Nahdi¹⁾

**Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta**

INTISARI

Zat pewarna berbahaya Rhodamin B yang telah dilarang penggunaannya masih banyak ditemukan dalam berbagai produk makanan seperti saus. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan pemeriksaan kualitatif dan kuantitatif kadar Rhodamin B didalam saus yang beredar di Pasar Gamping Kabupaten Sleman.

Saus yang diperiksa memiliki kriteria inklusi tidak terdaftar di Badan Pengawasan Obat dan Makanan. Sebanyak 3 sampel saus akan diperiksa ada tidaknya zat pewarna Rhodamin B menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometri Uv-Vis. Pemeriksaan menggunakan KLT yang dilakukan dengan menggunakan fase gerak n-Butanol, asam asetat dan amonia (10 : 4 : 5) dan fase diam menggunakan Silika GF 254 nm, akan menghasilkan noda berwarna oranye dan berfluoresensi jika dilihat dibawah sinar UV 254 nm. Pemeriksaan secara spektrofotometer dilakukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 557 nm.

Hasil Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan nilai Rf pada sampel A sebesar 0,212, sampel B 0,225 dan sampel C 0,212, sedangkan baku Rhodamin B sebesar 0,5. Hasil warna bercak menunjukkan warna gelap pada ketiga sampel dan warna pink pada baku Rhodamin B. Nilai absorbansi pada panjang gelombang 557 menunjukkan sampel A sebesar 0,0145, sampel B 0,0269 dan sampel C 0,0757. Hasil analisis menggunakan KLT dan Spektrofotometri UV-Vis tersebut menunjukkan bahwa 3 sampel yang diperiksa tidak mengandung zat pewarna berbahaya Rhodamin B.

Kata Kunci : Rhodamin B, Saus, Spektrofotometri Uv-Vis, Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

ABSTRACT

Rhodamin B dye has been prohibited to use in food , but can still be found in food like sauce. The research aims to define and analyze levels of compound Rhodamin B in sauce on the Gamping Market.

Sauce that is analyzed has no registered in Badan Pengawas Obat dan Makanan. Total 3 sample will be analyzed levels of compound Rhodamin B by Thin Layer Chromatography (TLC) method for qualitative analysis and spectrophotometry UV-Vis for quantitative analysis. In Thin Layer Chromatography (TLC) using mobile phase butanol, glacial acetic acid and aquades (10:4:5) and stationary phase use Silika GF 254, , it has been given yellow fluorescence if seen in UV spectrum 254 nm. In visible spectrophotometer is measured at maximum wavelength 557 nm.

Thin Layer Chromatography results show the value of Rf in sample A is 0.212, sample B 0.225 and sample C 0.212, while the raw Rhodamine B standart is 0.5. The result of the color of the spots shows the dark color on the three samples and the pink color on the Rhodamin B standard. The absorbance value at wavelength 557 shows the A sample is 0.0145, B sample 0.0269 and the C sample 0.0757.

The Result Show that there is no Rhodamin B in 3 sample sauce. It seen from spot in stationary phase has dark splotchy.

Key Word : Sauce, Rhodamin B, Thin Layer Chromatography, Visible Spektrophotometer.

A. PENDAHULUAN

Saus adalah Salah satu bahan pelengkap makanan yang digemari dan banyak digunakan oleh masyarakat. Studi yang dilakukan di industri dan pasar saus tomat dan saus sambal menyebutkan bahwa prevalensi konsumsi saus di Indonesia meningkat selama enam periode terakhir dengan volume konsumsi meningkat 3,3%. Selain itu penjualan saus terutama saus sambal di Indonesia hingga 2013 menyentuh angka 3,7 miliar dengan peningkatan rata rata 18% pertahunnya (MARS, 2014). Warna termasuk salah satu faktor yang diperhatikan, untuk meningkatkan penampilan saus agar menggugah selera, penambahan zat pewarna pada saus diberikan agar penampilan saus lebih menarik. Produsen makanan menambahkan zat pewarna makanan untuk meningkatkan estetika makanan. Produsen makanan juga menggunakan zat pewarna sintesis berbahaya yang lebih murah untuk menekan harga. Berdasarkan penggunaannya zat pewarna berbahaya seperti Rhodamin B telah dilarang oleh Peraturan Pemerintah RI No 28 Tahun 2004 pada makanan, akan tetapi masih ada produsen yang menambahkan Rhodamin B dalam produknya. Penggunaan Rhodamin B di Yogyakarta masih banyak ditemukan. Hasil sidak Badan Pengawas Obat Makanan Yogyakarta pada tahun 2017 di pasar Beringharjo, Wates, dan Bantul menemukan masih

terdapat penggunaan zat berbahaya Rhodamin B didalam berbagai produk makanan (Wahyu, 2017). Rhodamin B dalam produk makanan dilarang penggunaannya karena dampak bahaya yang ditimbulkan sangat berbahaya seperti dapat menyebabkan iritasi saluran pernafasan, iritasi kulit, iritasi pada mata, saluran pencernaan, gangguan hati bahkan dapat menyebabkan kanker (Judarwanto, 2009). Pasar Gamping adalah salah satu pasar tradisional di Yogyakarta khususnya di wilayah Gamping perbatasan Sleman dan Bantul. Pasar yang menjadi sentral bagi masyarakat Gamping dan sekitarnya mendasari penulis untuk mengidentifikasi adanya zat berbahaya Rhodamin B pada saus yang berada di Pasar Gamping.

METODE PENELITIAN

DESAIN PENELITIAN

Penelitian ini mengambil sampel saus di pasar Gamping Kabupaten Sleman dengan kriteria inklusi saus tidak terdaftar pada Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM).

INSTRUMEN PENELITIAN

ALAT

Timbangan Analitik (Mettler Tolloedo®) , Hot Plate (Cimarec®), Membran Filter 0,45 µm (Whatman no 42®), Corong Buchner, Corong Pisah, Pipet Volume Erlenmeyer 250 ml Gelas Kimia , Labu Ukur, Spektrofotometri Uv-Vis Double

Beam (Jasco V-730®), Syringe (Hamilton®), Camber KLT (Camag®).

BAHAN

Rhodamin B, Saus A (Prima Sari), Saus B (Niki Harum), Saus C (Tidak Bermerk), aquadest, ammonia, Etanol, NaOH, Dietileter, HCl, asam asetat, n-Butanol, Lempeng KLT silica gel GF 254, Benang Wol.

CARA KERJA

KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

Pembuatan Larutan Baku

Pembanding

Pembuatan larutan baku pembanding dibuat dengan menimbang 100 mg Rhodamin B dan dilarutkan dalam 100 ml aquadest

Pembuatan Sampel

Memimbang sepuluh gram saus dan dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml, kemudian ditambahkan 100 ml yang terdiri dari amonia 2% dalam etanol 70%, larutan didiamkan selama 1 hari. larutan didiamkan selama 1 hari. Larutan kemudian disaring menggunakan *whatman* no 42 dan dipanaskan diatas hot plate. Residu penguapan ditambahkan 10 ml aquades dan 5 ml asetat 5 %. Memasukan benang wol dengan ukuran 15 cm kedalam larutan dan didihkan larutan tersebut sehingga pewarna akan terikat dengan benang wol, angkat benang wol dan larutkan dalam 10 ml larutan amonia 10 % (dalam etanol 70%) dan dipanaskan hingga warna benang wol luntur.

Larutan tersebut digunakan sebagai sampel pada analisa KLT.

Identifikasi Sampel dengan KLT

Plat KLT GF 254

Panaskan plat GF 254 dengan ukuran 4 x 10 cm diatas hot plate dengan suhu 110 °C selama 15 menit, setelah itu beri tanda 1 cm diatas dan 1 cm dibawah dengan pensil.

Penjenuhan

Fase gerak berupa n-Butanol : asam asetat : ammonia (10:4:5) sebanyak 10 ml dimasukkan dalam *chamber* dan dijenuhkan dengan kertas saring. Penjenuhan selesai setelah eluen telah naik sampai atas kertas saring.

Identifikasi pada KLT

Sampel yang telah disiapkan ditotolkan sebanyak 20 µl, 1 cm dari bawah dengan menggunakan *Syringe* tiap sampel dan baku pembanding diberi jarak 1 cm dari tiap pentolan. Plat yang telah ditotolkan, dimasukkan dalam *chamber* yang telah dijenuhkan dan ditutup kemudian didiamkan sampai eluen naik ke batas atas plat. Setelah itu amati dibawah sinar UV 254 nm dan dihitung nilai Rf-nya.

METODE

SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Analisis Rhodamin B bisa dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis (BPOM, 2006). Metode analisis menggunakan Spektrofotometri

berdasarkan penelitian dari Putri (2009) yang dimodifikasi :

Pembuatan Larutan Baku

Menimbang larutan 100 mg dan dilarutkan dalam 0,1 liter HCl 0,1 N dan didapat konsentrasi 1000 ppm kemudian diencerkan dan dibuat enam seri kadar dengan konsentrasi 2, 3, 4, 5, 6, 7 ppm.

Pembuatan Larutan Sampel

Pembuatan larutan sampel dengan cara menimbang lima gram saus dan dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml. Larutan kemudian ditambahkan 100 ml yang terdiri dari amonia 2% dalam etanol 70%, larutan didiamkan selama 1 hari. Larutan kemudian disaring menggunakan *Whatman* no. 42 dan diuapkan selama 4 jam sampai pekat.

Larutan kemudian ditambahkan aquades 30 ml dan diaduk, dimasukkan dalam corong pisah 250 ml dan ditambahkan 6 ml natrium hidroksida 10 %, kemudian diekstraksi dengan 30 ml dietiler dan digojok sampai membentuk 2 lapisan yaitu lapisan eter jernih (dibagian atas) dan air merah (dibagian bawah), pisahkan hingga hanya tersisa ekstrak eter. Ekstrak eter kemudian dicuci dengan larutan natrium hidroksida 0,5% sebanyak 5 ml, larutan digojok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan eter (atas) dan larutan berwarna coklat (bawah). Larutan yang berwarna coklat dipisahkan hingga hanya ekstrak eter

dan diekstraksi 3 kali dengan 10 ml asam klorida 0,1 N hingga lapisan eter tidak berwarna lagi, ekstrak asam klorida ditampung dalam labu takar 50 ml dan ditambahkan HCl sampai dengan volume 50 ml. Larutan baku dan larutan sampel diukur dengan spektrofotometri UV-Vis *double beam* dengan panjang gelombang 450 nm – 700 nm.

Pembuatan kurva baku

Seri kadar Rhodamin B diukur panjang gelombang maksimal menggunakan spektrofotometri UV-Vis, kemudian seri kadar dengan konsentrasi 2, 3, 4, 5, 6, 7 ppm masing masing diukur absorbansinya dengan panjang gelombang maksimal, kemudian akan diperoleh kurva konsentrasi, sebagai blanko digunakan HCl 0,1 N

Penetapan Kadar Rhodamin B

Sampel yang telah disiapkan diukur serapannya pada panjang gelombang 557 nm, dan dihitung kadar Rhodamin B dalam sampel dengan kurva kalibrasi persamaan regresi : $y = ax + b$

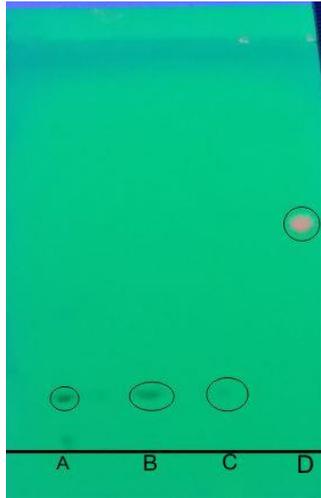
HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Zat Pewarna

Rhodamin B Menggunakan KLT

Identifikasi zat pewarna Rhodamin B dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif, identifikasi secara kualitatif menggunakan Kromatografi

Lapis Tipis dengan membandingkan nilai Rf dan apabila dilihat secara visual bewarna merah jambu, dan jika dilihat dibawah sinar UV 254 nm akan berflourosensi kuning (BPOM, 2006). Hasil kromatogram dapat dilihat pada Gambar 1



Gambari 1. Hasil plat sampel saus dengan standar Rhodamin B dilihat dibawah sinar UV 256 nm, A : sampel saus A, B sampel saus B, C : sampel saus C, D : baku pembanding, fase gerak : n-Butanol: asam asetat : ammonia, fase diam Silika gel Gf 254

Hasil Kromatografi Lapis Tipis juga dilihat berdasarkan nilai Rf dan warna bercak setelah dilakukan replikasi 3 kali. Nilai Rf sampel kemudian dibandingkan nilai Rf Baku. Dari tabel 1 menunjukkan tidak terdapat nilai Rf yang sama dengan baku pembanding

Tabel 1. Hasil Identifikasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Sampel	UV 254 nm	Jarak noda (cm)	Jarak eluen (cm)	Nilai Rf
A	Tidak berflourosensi	1,7	8	0,212
	Tidak berflourosensi	1,4	8	0,225
	Tidak berflourosensi	2,6	8	0,212
B	Tidak berflourosensi	1,8	8	0,175
	Tidak berflourosensi	1,6	8	0,2
	Tidak berflourosensi	2,2	8	0,137
C	Tidak berflourosensi	1,7	8	0,325
	Tidak berflourosensi	1,1	8	0,275
	Tidak berflourosensi	2,5	8	0,312
Baku Pembanding	Berflourosensi merah muda	4	8	0,5

Keterangan :

Rf = *Retradation factor*

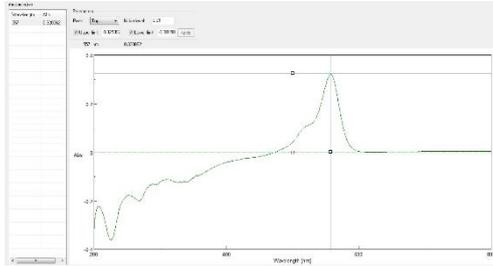
Uv = *Ultraviolet*

ANALISIS

SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

Penentuan Panjang Gelombang Maksimal

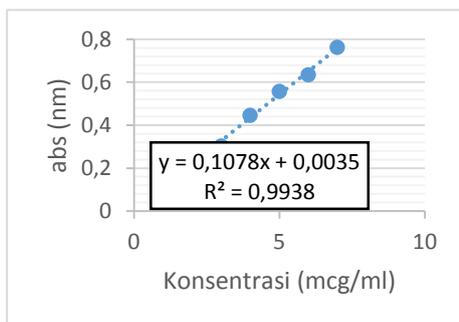
Penentuan panjang gelombang maksimal Rhodamin B dilakukan dengan mengukur dengan rentang panjang 450 -750 nm. Panjang gelombang maksimal Rhodamin B bisa dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimal Rhodamin B adalah 557 nm.

a. Pembuatan kurva baku Rhodamin B

Kurva baku Rhodamin B dilakukan dengan membuat larutan dengan 6 konsentrasi yaitu konsentrasi 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 ppm kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal yang telah diketahui sebelumnya yaitu 557 nm. Blanko yang digunakan adalah HCl 0,1 N. Kurva baku Rhodamin B dapat dilihat pada Gambar 3. Kurva Kalibrasi tersebut menunjukkan terdapat korelasi yang positif antara kadar dan serapan yang artinya semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi absorbansi (Sudjana, 2002).



Gambar 3. Kurva Kalibrasi Larutan Rhodamin B dengan Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis Pada Panjang Gelombang 557 nm.

Analisis sampel

Larutan sampel yang telah disiapkan, dibaca serapannya pada panjang gelombang 557, hal ini karena Rhodamin B memberikan serapan yang maksimal pada panjang gelombang tersebut. Hasil pembacaan Rhodamin B dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Absorbansi Pada Sampel Saus yang Beredar dengan Replikasi 3 Kali

Sampel	Berat	
	Sampel (gram)	Absorbansi
A	5,0423	0,0145
	5,0881	0,0212
	5,0112	0,0179
B	5,0964	0,0269
	5,0090	0,0267
	5,0470	0,0219
C	5,0511	0,0757
	5,0897	0,0739
	5,0093	0,0741

Berdasarkan tabel 6, nilai absorbansi yang didapat pada sampel A sebesar 0,0145 sampel B 0,0269 dan sampel C 0,0757. Absorbansi yang didapat tidak menunjukkan adanya Rhodamin B karena tidak terletak pada renggang 0,2 – 0,8, bahkan setelah dilakukan proses pemekatan. Absorbansi yang terukur bisa disebabkan karena proses

pemisahan dalam preparasi sampel yang tidak sempurna, sehingga ada kemungkinan senyawa lain seperti pewarna ponceau 4R Cl yang juga ada

pada komposisi saus dan ikut terbaca absorbansinya pada panjang gelombang 557 nm (Komang Li, dkk, 2012).

A. Kesimpulan

1. Hasil uji kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis terhadap tiga sampel saus yang diambil dari pasar Gamping tidak mengandung zat pewarna berbahaya Rhodamin B.

2. Hasil uji kuantitatif menggunakan Spektrofotometri UV-Vis menunjukkan absorbansi sampel tidak menunjukkan adanya zat pewarna tekstil Rhodamin B.

B. Saran

1. Untuk peneliti selanjutnya diharapkan meneliti jenis makanan lain yang kemungkinan mengandung Rhodamin B seperti kerupuk, terasi dan lain sebagainya.

2. Peneliti selanjutnya diharapkan meneliti zat pewarna lain yang dilarang penggunaannya dalam makanan seperti *amaranth*, *methanil yellow*.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM).2006. *Metode Analisis PPOM*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Pratiwi, Winda. 2015. *Lidah Lokal Addict Pedas, Bisnis Saus Sambal Makin Dilirik. Marketing Research Indonesia (MARS)*. <http://www.marsindonesia.com/>. Diakses 18 Mei 2017.
- Wahyu. (2017, 8 Desember). Makanan Mengandung Rhodamin B Beredar. *TribunJogja*.<http://jogja.tribunnews.com/2017/12/08/makana-mengandung-rhodamin-b-beredar-di-pasar-wates>. Diakses pada 20 Mei 2018
- Judarwanto W. *Perilaku makan anak sekolah. Direktorat Bina Gizi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*. 2011. <http://gizi.depkes.go.id>.diunduh pada tanggal 25 Mei 2017.
- Putri, W. K. A. 2009. *Pemeriksaan Penyalahgunaan Rhodamin B sebagai Pewarna Pada Sediaan Lipstik yang Beredar Di Pusat Kota Medan*. Fakultas Universitas Sumatera Utara, Medan.

Departemen Kesehatan R.I. Peraturan Menteri Kesehatan R.I. No. 722/Menkes/Per/IX/1988, tentang Bahan Tambahan Makanan. Jakarta: 1988.

Departemen Kesehatan R.I. Peraturan Menteri Kesehatan R.I. No. 00386/C/SK/II/90 tentang Perubahan Lampiran Peraturan Menteri Kesehatan Nomor : 239/Menkes/Per/V/85 tentang zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya: 1990.

Komang, Ni L., Luh Ni Suriani., Ariani Dwi Y. *Penentuan Jenis Dan Kadar Zat Pewarna Merah Pada Makanan Yang Beredar Di Sekolah Dasar Di Kelurahan Jimbaran, Kecamatan Kuta Selatan, Kabupaten Badung – Bali*, Jurnal Biologi. XVI (2). 2012. 48 -51.