

ANALISIS ZAT WARNA SINTETIK TERLARANG UNTUK MAKANAN YANG BEREDAR DI PASARAN

Azizahwati, Maryati Kurniadi, Heidi Hidayati
Departemen Farmasi FMIPA-Universitas Indonesia, Depok

ABSTRACT

The use of synthetic food colorants is increasing because of its advantages. However, it is found that not all food colorants which are sold in the market are safe to be consumed. The purpose of this research was to identify synthetic food colorant samples which are sold in market and to find out whether they contain safe food colorants or not. Extraction did not need to be done on samples. Analysis was done using color reaction and paper chromatography. Densitometry was done to support the identification result. The result of this research showed that 10 out of 31 samples that were tested contain synthetic food colorants that must not be used for food. The ten samples were seven red colorants (three samples containing Merah K4, the two others containing Rhodamine B, and two samples containing Scarlet GN), one orange colorant (containing Orange G), one yellow colorant (containing Metanil Yellow) and one chocolate colorant (containing Chocolate Brown FB).

Key words: colour reaction, densitometry, paper chromatography, synthetic food colorants.

PENDAHULUAN

Warna dari suatu produk makanan ataupun minuman merupakan salah satu ciri yang penting. Warna merupakan salah satu kriteria dasar untuk menentukan kualitas makanan, antara lain warna dapat memberi petunjuk mengenai perubahan kimia dalam makanan, seperti pencoklatan (deMan JM. 1997). Selain itu, beberapa warna spesifik dari buah juga dikaitkan dengan kematangan. Warna juga mempengaruhi persepsi akan rasa. Oleh karena itu, warna

menimbulkan banyak pengaruh terhadap konsumen dalam memilih suatu produk makanan dan minuman (Fennema OR. 1996; Smith J. 1991).

Tujuan dari penggunaan zat warna tersebut adalah untuk membuat penampilan makanan dan minuman menjadi menarik, sehingga memenuhi keinginan konsumen.

Awalnya, makanan diwarnai dengan zat warna alami yang diperoleh dari tumbuhan, hewan, atau mineral, akan tetapi proses untuk memperoleh zat warna alami adalah mahal. Selain itu, zat warna alami

umumnya tidak stabil terhadap pengaruh cahaya dan panas sehingga sering tidak cocok untuk digunakan dalam industri makanan. Maka, penggunaan zat warna sintetik pun semakin meluas. Keunggulan-keunggulan zat warna sintetik adalah lebih stabil dan lebih tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan. Daya mewarnainya lebih kuat dan memiliki rentang warna yang lebih luas. Selain itu, zat warna sintetik lebih murah dan lebih mudah untuk digunakan (deMan JM. 1997; Smith J. 1991; Nollet LML. 1996).

Sejak pertama kali dibuat pada tahun 1856 hingga saat ini, telah banyak zat warna sintetik yang diciptakan. Akan tetapi, ternyata banyak pula zat warna sintetik itu memiliki sifat toksik (Marmion DM. 1984). Dalam suatu penelitian, diperoleh zat warna azo (*Amaranth*, *Allura Red*, dan *New Coccine*) terbukti bersifat genotoksik terhadap mencit (Tsuda S. et al. 2006). Selain itu, zat warna *Red No. 3* juga terbukti dapat merangsang terjadinya kanker payudara secara *in vitro* (Dees C. et al. 2006). Maka, penggunaannya harus diatur secara tegas.

Di Indonesia, zat warna makanan termasuk dalam Bahan Tambahan Pangan yang diatur melalui UU RI No.7 tahun 1996 tentang Pangan pada bab II, bagian kedua, pasal 10. Dalam UU tersebut, dinyatakan bahwa dalam makanan yang dibuat untuk diedarkan, dilarang untuk ditambah dengan bahan apapun yang dinyatakan dilarang atau

melampaui batas ambang maksimal yang ditetapkan. Selain itu, dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI No.239/Menkes/Per/V/85 dan Kep. Dir. Jend. POM Depkes RI Nomor: 00386/C/SK/II/90 tentang Perubahan Lampiran Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 239/Menkes/Per/V/85, terdapat 34 jenis zat warna yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya dan dilarang penggunaannya pada makanan (Utami ND. 2005; Dirjen POM 1997).

Makanan yang beredar di masyarakat memiliki warna yang bermacam-macam dan kebanyakan menggunakan zat warna sintetik. Dengan adanya peraturan yang telah ditetapkan, diharapkan keselamatan konsumen dapat terjamin. Akan tetapi, kenyataannya tidaklah demikian. Hal tersebut dapat dilihat pada penjual makanan di pinggir jalan, biasanya menggunakan bahan tambahan makanan, termasuk zat warna, yang tidak diijinkan. Hal itu disebabkan karena bahan-bahan itu mudah diperoleh dalam kemasan kecil di toko dan pasar dengan harga murah (Maskar DH. 2004; Sihombing N. 1985). Oleh karena itu, adanya zat warna sintetik yang tidak diijinkan dalam makanan, dapat terjadi karena kesengajaan produsen makanan menggunakan zat warna sintetik itu, misalnya zat warna tekstil, untuk menghasilkan warna yang lebih menarik. Atau, hal itu bisa terjadi karena ketidaktahuan produsen makanan membeli zat warna sintetik yang dikiranya aman, tetapi ternyata

mengandung zat warna sintetis yang tidak diijinkan.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis beberapa merek zat warna sintetis yang digunakan untuk makanan yang beredar di pasaran.

METODOLOGI

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Bahan Baku Perbandingan

Bahan baku perbandingan yang digunakan adalah:

a. zat warna merah yaitu:

1) Ponceau 3R (CI no. 16155) dan Rhodamin B (CI no. 45170) diperoleh dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan

2) Ponceau SX (CI no. 14700), Scarlet GN (CI no. 14815), Merah K3 (CI no. 15585), Merah K4 (CI no. 15585:1), dan Merah K11 (CI no. 45170:1) diperoleh dari PT Yeff Paint

b. zat warna jingga yaitu:

1) Chrysoine S (CI no. 14270), Orange G (CI no. 16230), Orange GGN (CI no. 15980), dan Jingga K1 (CI no.12075) diperoleh dari PT Yeff Paint

2) Sudan 1 (CI no. 12055) diperoleh dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan

c. zat warna kuning

1) Auramine (CI no. 41000) diperoleh dari PT Yeff Paint

2) Metanil Yellow (CI no.13065) diperoleh dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan

d. zat warna biru

1) Indanthrene Blue RS (CI no. 69800) diperoleh dari PT Yeff Paint

e. zat warna ungu

1) Violet 6B (CI no.42640) diperoleh dari PT Yeff Paint

f. zat warna coklat

1) Chocolate Brown FB diperoleh dari PT Yeff Paint

2. Bahan Kimia

Bahan kimia untuk reaksi warna adalah asam sulfat pekat p.a. (Mallinckrodt), asam klorida pekat p.a. (Mallinckrodt), natrium hidroksida (Mallinckrodt), dan amonia 25% p.a. (Merck).

Bahan kimia untuk kromatografi kertas-densitometri adalah n-butanol p.a. (Merck), asam asetat glasial p.a. (Merck), natrium klorida p.a. (Mallinckrodt), etanol absolut p.a. (Mallinckrodt), etilmetilketon p.a. (Merck), aseton p.a. (Mallinckrodt), trinitrat p.a. (Merck), amonia 25% p.a. (Merck), etanol 96% teknis, dan air suling.

3. Sampel Zat Warna

Sampel zat warna sintetis untuk makanan yang digunakan diperoleh dari toko kimia, supermarket, dan pasar tradisional. di daerah Tangerang Sampel zat warna tersebut

mencakup produk yang terdaftar maupun tidak terdaftar. Pemilihan sampel meliputi warna merah, jingga, kuning, hijau, biru, ungu, dan coklat. Jumlah sampel yang diperoleh sebanyak 31 buah.

Selain itu, digunakan pula sampel berupa zat warna tekstil (wanteks) yang dibeli di pasar tradisional. Pemilihan sampel zat warna tekstil meliputi warna merah, jingga, kuning, hijau, dan biru. Jumlah sampel yang diperoleh sebanyak 6 buah, yaitu wanteks merah tua, pink, oranye, dan kuning podang (merek "Bintang Warna"), serta hijau daun dan biru tua (merek "Padi Gunting").

PERALATAN

Peralatan yang digunakan adalah kertas kromatografi Whatman no. 1, bejana kromatografi Desaga, pipa kapiler, timbangan analitik, kuvet, spektrofotometer UV-VIS Jasco V-530, spektrofotometer UV-VIS Shimadzu UV-1601, CAMAG TLC Scanner 3, dan alat-alat gelas.

CARA KERJA

Analisis Sampel Zat Warna dengan Reaksi Warna

Pada serbuk atau larutan zat warna, ditetaskan asam sulfat pekat, asam klorida pekat, larutan natrium hidroksida 10%, dan larutan amonia 10%. Perubahan warna yang terjadi diamati dan dibandingkan dengan baku pembanding (deMan JM. 1997; Utami ND. 2005; Sukarno S. 1991).

Pemilihan Eluen Terbaik

Seluruh baku pembanding dan sampel zat warna tekstil dielusi dengan menggunakan enam macam eluen yang berbeda, yaitu:

- butanol – asam asetat glasial – air (4:5:1) (McMurry J. 1992)
- larutan natrium klorida 1% dalam air (Sukarno S. 1991; Touchstone JC. et al. 1983)
- etanol – butanol – air (20:25:25) (Nollet LML. 1996; Sukarno S. 1991; Touchstone JC. et al. 1983)
- larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50% (McMurry J. 1992)
- etilmetilketon – aseton – air (7:3:3) (Harwati A. 1992; Sukarno S. 1991; McMurry J. 1992; Touchstone JC. et al. 1983)
- larutan 2% trinitrat dalam amonia 5% (Nollet LML. 1996; Sukarno S. 1991; McMurry J. 1992; Touchstone JC. et al. 1983)

Pemilihan eluen yang akan digunakan berdasarkan pada kemampuan eluen untuk menghasilkan pemisahan, lamanya waktu elusi, kestabilan eluen, dan mudahnya penyediaan eluen (Touchstone JC. et al. 1983).

Baku pembanding dan sampel zat warna tekstil ditimbang $\pm 0,5$ mg, kecuali Rhodamin B ditimbang $\pm 0,1$ mg. Kemudian, baku pembanding dan sampel zat warna tekstil dilarutkan dalam 1 ml etanol 96% teknis. Volume yang ditotolkan sebanyak 2 μ l pada kertas kromatografi.

Pelarutnya dibiarkan menguap. Setelah itu, dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dan dilakukan elusi. Setelah elusi selesai pada kromatogram yang diperoleh dihitung nilai R_f -nya.

Analisis Sampel Zat Warna dengan Kromatografi Kertas

Sampel zat warna dan baku pembanding dielusi dengan menggunakan dua dari tiga macam eluen terbaik yang diperoleh dari percobaan pendahuluan, yaitu:

- a. etilmetilketon – aseton – air (7:3:3)
- b. larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50%

Baku pembanding dan sampel zat warna tekstil ditimbang $\pm 0,5$ mg, kecuali Rhodamin B ditimbang $\pm 0,1$ mg. Sampel zat warna sintetis untuk makanan ditimbang $\pm 1,0$ mg. Kemudian, masing-masing dilarutkan dalam 1 ml etanol teknis 96%. Volume yang ditotolkan sebanyak 2 μ l pada kertas kromatografi, dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dengan eluen dan terjadi elusi. Setelah elusi selesai, kertas dikeringkan, kromatogram yang diperoleh dihitung nilai R_f -nya.

Sampel zat warna sintetis untuk makanan diidentifikasi dengan menggunakan zat warna pembanding dan sampel zat warna tekstil yang sesuai. Jika sampel tersebut berupa campuran zat warna, maka

untuk identifikasi, digunakan zat warna pembanding dan sampel zat warna tekstil yang merupakan komponen warna pembentuknya. Contohnya untuk sampel zat warna sintetis yang berwarna hijau, dibandingkan dengan zat warna pembanding dan sampel zat warna tekstil hijau, kuning, dan biru.

Analisis Sampel Zat Warna dengan Kromatografi Kertas-Densitometri

Untuk menunjang hasil analisis zat warna sintetis yang tidak diijinkan dan teridentifikasi dalam sampel, dilakukan elusi dengan eluen etanol – butanol – air (20:25:25). Kemudian, spektrum dari zat warna pembanding yang teridentifikasi dan sampel dibandingkan dengan menggunakan *TLC Scanner*.

- a. Penentuan panjang gelombang maksimum zat warna pembanding
Dibuat larutan dari zat warna pembanding yang teridentifikasi dalam etanol absolut p.a. dengan konsentrasi kurang lebih 10 ppm (untuk Rhodamin B, Metanil Yellow, dan Sudan 1) dan 100 ppm (untuk Merah K4, Scarlet GN, Orange G, Violet 6B, dan Chocolate Brown FB). Kemudian, dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS, diukur serapannya pada panjang gelombang cahaya tampak (300-700nm). Lalu, ditentukan panjang gelombang yang memberikan serapan maksimal.

- b. Perbandingan bentuk spektrum serapan zat warna perbandingan dan sampel zat warna

Zat warna perbandingan dan sampel ditotolkan secara bersisian, kemudian dilakukan elusi dengan menggunakan eluen etanol - butanol - air (20:25:25).

- Bercak yang dihasilkan di-*scan* (pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh) dan spektrum serapan yang didapat dibandingkan.

- c. Zat Warna perbandingan dan sampel yang (dari percobaan butir 1)) ditotolkan secara bersisian dan dibuat campuran zat warna perbandingan dan sampel, kemudian ditotolkan juga.

Elusi dilakukan dengan menggunakan eluen etanol - butanol - air (20:25:25).

Bercak yang dihasilkan di-*scan* (pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh) dan spektrum serapan yang didapat dibandingkan.

2. Pemilihan Eluen Terbaik

Dari enam macam eluen yang dicoba, dipilih tiga macam eluen terbaik yang digunakan dalam analisis sampel zat warna. Ketiga eluen itu adalah:

- a. etilmetilketon - aseton - air (7:3:3)
- b. larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50%
- c. etanol - butanol - air (20:25:25)

Perbandingan kemampuan eluen untuk menghasilkan pemisahan, lamanya waktu elusi, kestabilan eluen, dan mudahnya penyediaan eluen dari keenam macam eluen yang dicoba dapat dilihat pada Tabel 3. Dari enam macam eluen yang dicoba, tidak ada eluen yang dapat mengelusi Auramine, Chrysoine S, Indanthrene Blue RS, Orange GGN, dan Jingga K1.

3. Analisis Sampel Zat Warna dengan Kromatografi Kertas

Kromatogram dari zat warna perbandingan dan sampel yang diduga, menggunakan dua macam eluen, yaitu etilmetilketon - aseton - air (7:3:3) dan larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50%. Sedangkan, nilai R_f dapat dilihat pada Tabel 4-5.

Hasil kromatografi kertas dengan kedua eluen tersebut menunjukkan bahwa ada 16 sampel zat warna dari 31 sampel keseluruhan yang mungkin mengandung zat warna sintetik yang tidak diijinkan dalam makanan. Dari 16 sampel tersebut, empat sampel diduga

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

1. Analisis Sampel Zat Warna dengan Reaksi Warna

Hasil reaksi warna dari zat warna perbandingan dan sampel zat warna dapat dilihat pada Tabel 1-2.

Tabel 1. Reaksi warna dari baku pembanding zat warna

No	Zat warna	Warna asal	H ₂ SO _{4(p)}	HCl _(p)	Larutan amonia 10%	Larutan NaOH 10%
1	Chocolate Brown FB	coklat kemerahan	ungu tua	coklat kemerahan	coklat	coklat kemerahan
2	Metanil Yellow	kuning	biru kehitaman	ungu	kuning tua	kuning
3	Orange G	jingga kecoklatan	jingga	jingga	jingga kecoklatan	jingga kecoklatan
4	Ponceau 3R	merah	merah muda	merah muda	merah terang	merah kecoklatan
5	Ponceau SX	merah tua	merah tua	bintik ungu (tidak larut)	jingga	jingga
6	Rhodamin B	hijau tua	kuning	jingga kemerahan	ungu tua	ungu terang (bintik hijau)
7	Sudan 1	kuning-jingga	merah anggur	merah anggur muda	jingga kemerahan (pucat)	jingga kemerahan
8	Scarlet GN	merah	ungu	ungu muda	coklat kemerahan	coklat
9	Violet 6B	ungu	ungu kebiruan	jingga kecoklatan	ungu tua	ungu tua
10	Merah K3	merah	merah keunguan	ungu muda sekali	jingga kecoklatan	merah muda pucat
11	Merah K4	merah keunguan	ungu tua (pekat)	ungu muda	merah	merah
12	Merah K11	merah	merah keunguan (tua)	merah muda (bintik merah)	merah keunguan	merah keunguan pucat
13	Merah tua	merah tua	biru tua	biru keabu-abuan	merah anggur	merah anggur
14	Pink	merah muda	jingga kecoklatan	merah muda pucat	ungu	jingga kecoklatan
15	Oranye	jingga	merah darah	krem pucat	jingga tua	jingga
16	Kuning pondang	kuning terang	ungu tua	ungu tua	kuning	kuning kemerahan
17	Hijau daun	hijau tua	ungu kehitaman	ungu	hijau tua	hijau tua
18	Biru tua	biru tua	biru kehitaman	ungu tua (pekat)	ungu kehitaman	ungu tua

Tabel 2. Tabel reaksi warna dari sampel zat warna sintetis untuk makanan

No	Zat warna	Warna asal	H ₂ SO _{4(p)}	HCl _(p)	Larutan amonia 10%	Larutan NaOH 10%
1	Ma	merah	ungu	merah keunguan	merah	coklat
2	Mb	merah tua	biru kehitaman	ungu pucat	merah tua	merah tua
3	Mc	merah cabe	ungu tua (pekat)	merah anggur	merah cabe	coklat tua
4	Md	merah muda	kuning tua	kuning	merah muda terang	merah muda terang (pekat)
5	Me	merah	ungu tua	merah anggur	merah anggur muda	merah anggur muda
6	Mf	merah	jingga kekuningan	kuning tua	jingga kemerahan terang	jingga kemerahan terang
7	Mg	merah	ungu tua	ungu muda	merah anggur	merah anggur
8	Mh	merah keunguan	kuning bening	jingga kemerahan	ungu	ungu muda (pucat)
9	Mi	merah	ungu	merah anggur	merah anggur	coklat muda
10	Ja	jingga	kuning	kuning terang	kuning terang	kuning terang
11	Jb	jingga	jingga	jingga	kuning tua	kuning kecoklatan
12	Jc	kuning tua	kuning	kuning terang	kuning	kuning tua
13	Jd	jingga	ungu	ungu	jingga kecoklatan	jingga kecoklatan
14	Je	jingga	kuning	kuning terang	kuning tua	kuning
15	Jf	jingga	merah kecoklatan	jingga	jingga kecoklatan (lebih tua)	kuning kecoklatan
16	Jg	jingga	coklat kemerahan	coklat kemerahan	merah kecoklatan	merah kecoklatan

Tabel 2. (Lanjutan)

No	Zat warna	Warna asal	H ₂ SO _{4(p)}	HCl _(p)	Larutan amonia 10%	Larutan NaOH 10%
17	Ka	kuning muda	kuning	kuning	kuning	kuning agak jingga
18	Kb	kuning tua	kuning	kuning tua	kuning tua	kuning kecoklatan
19	Kc	kuning	ungu kebiruan	ungu tua	jingga	krem pucat
20	Kd	kuning	kuning agak jingga	kuning	kuning terang	kuning agak jingga
21	Ke	kuning jingga	jingga	merah bata	coklat kemerahan	coklat kemerahan
22	Ha	hijau tua	kuning kecoklatan	kuning	hijau tua	hijau tua
23	Hb	hijau	kuning muda	kuning muda	hijau muda	hijau muda pucat
24	Hc	hijau daun	kuning	kuning	hijau muda terang	hijau daun
25	Hd	hijau	kuning bening (bintik hijau)	krem pucat	hijau muda pucat	hijau muda pucat
26	He	hijau	kuning	kuning terang	hijau terang	hijau daun terang
27	Ba	biru	biru	kuning tua	biru	biru tua
28	Bb	biru tua	hijau (tidak larut)	kuning muda	biru	biru terang
29	Ua	ungu tua	ungu kehitaman	merah anggur	ungu tua	ungu tua
30	Ub	ungu kemerahan	kuning bening	jingga kemerahan	ungu terang	ungu terang
31	Ca	coklat	ungu kecoklatan	merah kecoklatan	coklat	coklat

Tabel 3. Perbandingan sifat-sifat eluen yang dicoba

		Eluen					
No.	Syarat-syarat untuk eluen yang baik	1	2	3	4	5	6
1	Jumlah baku perbandingan yang dapat dipisahkan						
	- zat warna	13	12	13	13	13	12
	- wanteks	5	0	6	6	6	0
2	Rentang R_f dari baku perbandingan yang dapat dipisahkan						
	- zat warna	0,01 – 0,83	0,02 – 0,82	0,49 – 0,93	0,42 – 0,98	0,26 – 0,98	0,02 – 0,88
	- wanteks	0,03 – 0,36	-	0,06 – 0,62	0,01 – 0,14	0,08 – 0,88	-
3	Waktu elusi						
	- zat warna	2. 15'	50'	2.40'	2.10'	1.15'	55'
	- wanteks	2.15'	1	3.10'	2.33'	1.50'	1.15'
4	Kestabilan eluen	stabil	stabil	stabil	stabil	stabil	stabil
5	Pembuatan eluen	mudah	mudah	mudah	mudah	mudah	mudah

Keterangan:

1 = butanol – asam asetat glasial – air (4:5:1)

2 = larutan natrium klorida 1% dalam air

3 = etanol – butanol – air (20:25:25)

4 = larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50%

5 = etilmetilketon – aseton – air (7:3:3)

6 = larutan trinitrat 2% dalam amonia 5%

Tabel 4. Hasil kromatografi kertas dari baku pembanding zat warna yang teridentifikasi dan sampel zat warna yang diduga dengan menggunakan eluen etilmetilketon – aseton – air (7:3:3)

No	Zat Warna pembanding	R _f	Bercak	Sampel zat warna	R _f	Bercak
1	Scarlet GN	0,32	merah muda	Ma	0,30	merah muda
2	Scarlet GN	0,36	merah muda	Mc	0,38	merah
3	Rhodamin B	1,0	merah muda terang	Md	1,0	merah muda
4	Merah K4	0,38 0,95	merah muda merah muda	Me	0,40 0,96	merah muda merah muda
5	Rhodamin B	1,0	merah muda terang	Mf	1,0	merah muda
6	Merah K4	0,22 0,52	merah muda merah muda	Mg	0,22 0,52	merah muda pucat merah muda pucat
7	Rhodamin B	1,0	merah muda terang	Mh	1,0	merah muda
8	Merah K4	0,32 0,71	merah muda merah muda	Mi	0,34 0,71	merah muda merah muda pucat
9	Orange G	0,19 0,28 0,53	kuning merah muda krem	Jf	0,20 0,30 0,53	kuning merah muda krem
10	Metanil Yellow	0,95	kuning	Kc	0,96	kuning pucat
11	Rhodamin B	1,0	merah muda terang	Ub	1,0	merah muda terang
12	Chocolate Brown FB	0,21 0,29 0,52 0,70	kuning merah muda krem merah muda	Ca	0,18 0,27 0,52 0,70	kuning merah muda krem merah muda

Tabel 5. Hasil kromatografi kertas dari baku pembanding zat warna yang teridentifikasi dan sampel zat warna yang diduga dengan menggunakan eluen larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50%

No	Zat Warna pembanding	R _f	Bercak	Sampel zat warna	R _f	Bercak
1	Scarlet GN	0,54	merah muda	Ma	0,55	merah muda
2	Scarlet GN	0,54	merah muda	Mc	0,57	merah
3	Rhodamin B	0,58	merah muda	Me	0,55	merah muda
4	Merah K4	0,55	merah muda	Mg	0,55	merah muda merah muda
5	Rhodamin B	0,93	merah muda	Mh	0,93	merah muda
6	Merah K4	0,57	merah muda pucat	Mi	0,55	merah muda pucat merah muda pucat
7	Sudan1	0,73	Krem pucat	Jd	0,74	Krem pucat kuning
8	Orange G	0,45 0,58 0,66	kuning merah muda pucat krem pucat	Jf	0,44 0,56 0,66	kuning merah muda pucat krem pucat
9	Orange G	0,44	kuning	Kb	0,47	kuning
10	Metanil Yellow	0,9	kuning	Kc	0,88	kuning
11	Sudan 1	0,73	krem pucat	Ke	0,72	jingga
12	Violet 6B	0,62 0,96	merah keunguan biru	Ua	0,66 0,96	merah keunguan biru
13	Rhodamin B	0,98	merah muda terang	Ub	0,98	merah muda
14	Chocolate Brown FB	0,55 0,66 0,92	merah keunguan krem pucat biru pucat	Ca	0,56 0,68 0,92	merah keunguan krem biru

Tabel 6. Hasil kromatografi kertas dari baku pembanding zat warna yang teridentifikasi dan sampel zat warna yang diduga (penotolan bersisian) dengan menggunakan eluen etanol – butanol – air (20:25:25)

No	Zat Warna pembanding	R _f	Bercak	Sampel zat warna	R _f	Bercak
1	Merah K4	0,57	merah muda	Me	0,57	merah muda pucat
		0,77	merah muda		0,76	merah muda pucat
				Mi	0,58	merah muda pucat
				0,79	merah muda pucat	
2	Merah K4	0,56	merah muda	Mg	0,59	merah muda
		0,75	merah muda		0,76	merah muda
3	Rhodamin B	0,96	merah muda terang	Md	0,82	merah keunguan
				Mf	0,82	merah muda pucat
				Mh	0,95	merah muda
				Ub	0,95	merah muda
4	Scarlet GN	0,56	merah muda	Ma	0,55	merah muda
				Mc	0,58	merah muda
5	Orange G	0,56	kuning	Jf	0,55	kuning
		0,58	merah muda		0,58	merah muda pucat
		0,72	krem		0,72	krem
6	Orange G	0,50	kuning	Kb	0,51	kuning
		0,54	merah muda		0,54	merah muda
		0,65	krem		-	-
7	Sudan 1	0,98	krem	Jd	0,89	krem
					0,93	kuning
				Ke	0,71	Jingga
8	Metanil Yellow	0,93	kuning	Kc	0,93	kuning
9	Violet 6B	0,57	merah muda	Ua	-	-
		0,78	ungu kebiruan		0,79	ungu kebiruan
10	Chocolate Brown FB	0,52	kuning	Ca	0,52	kuning
		0,57	merah muda		0,56	merah muda
		0,72	jingga		0,72	jingga
		0,79	ungu kebiruan		0,79	ungu kebiruan

mengandung Rhodamin B, dua sampel Scarlet GN, tiga sampel Merah K4, dua sampel Sudan 1, satu sampel Metanil Yellow, dua sampel Orange G, satu sampel Violet 6B, dan satu sampel diduga mengandung Chocolate Brown FB.

4. Analisis Sampel Zat Warna dengan Kromatografi Kertas-Densitometri

Zat Warna pembanding dan sampel ditotolkan secara bersisian, kemudian dielusi menggunakan eluen etanol – butanol – air (20:25:25), Nilai R_f dari zat warna pembanding dan sampel tersebut dapat dilihat pada Tabel 6.

PEMBAHASAN

Saat ini, zat warna sintetis untuk makanan semakin banyak diproduksi, dijual, dan digunakan dalam masyarakat. Hal itu disebabkan karena keunggulan-keunggulan zat warna sintetis dibandingkan zat warna alami. Akan tetapi, ternyata tidak semua zat warna sintetis untuk makanan yang dijual di pasaran benar-benar merupakan zat warna sintetis yang ditujukan untuk penggunaan dalam makanan.

Sampel zat warna sintetis untuk makanan yang digunakan dalam penelitian berjumlah 31 sampel, yaitu zat warna merah sebanyak sembilan macam, jingga tujuh macam, kuning lima macam, hijau lima macam, biru dua macam, ungu dua macam, dan coklat satu macam. Sampel tersebut

dibeli dari dua toko kimia, satu supermarket, dan empat pasar tradisional di daerah Tangerang. Dari ke-31 sampel tersebut, dijumpai hal-hal berikut ini:

- sembilan sampel tidak dikemas dalam kemasan asli dan dikemas dalam kemasan baru yang lebih kecil oleh penjual, sehingga tidak diketahui label dan keterangan yang ada pada kemasan awal.
- hanya empat belas sampel yang terdaftar di Departemen Kesehatan. Tujuh dari sembilan sampel yang diganti kemasannya tidak diketahui apakah terdaftar atau tidak di Departemen Kesehatan.
- hanya delapan sampel yang memiliki keterangan lengkap (komposisi, takaran pemakaian, tanggal kadaluarsa, nomor registrasi, dsb) dan tercantum pada kemasan. Bahkan, pada beberapa sampel, tidak dicantumkan tanggal kadaluarsa.

Sebagai zat warna pembanding, digunakan zat warna merah sebanyak tujuh macam, jingga lima macam, kuning dua macam, dan biru, ungu, serta coklat masing-masing satu macam. Zat warna yang digunakan sebagai baku pembanding tersebut adalah zat-zat warna yang dilarang penggunaannya dalam makanan berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI No.239/

Menkes/Per/V/85 dan Kep. Dir. Jend. POM Depkes RI Nomor: 00386/C/SK/II/90 tentang Perubahan Lampiran Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 239/Menkes/Per/V/85. Selain itu, digunakan pula sampel zat warna tekstil yang dijual di pasar tradisional dengan zat warna merah sebanyak dua macam, jingga, kuning, hijau, dan biru masing-masing satu macam.

Kromatografi kertas yang dilakukan merupakan kromatografi partisi, yang termasuk dalam kromatografi cair-cair. Maka, yang berperan sebagai fase diam biasanya adalah air yang membentuk kompleks dengan serat selulosa pada kertas, sedangkan sebagai fase gerak adalah pelarut organik atau campuran pelarut. (Touchstone JC. et al. 1983).

Berikut ini adalah nilai konstanta dielektrik dari beberapa pelarut yang digunakan sebagai eluen terpilih (Touchstone JC. et al. 1979)

Dari tabel itu, dapat dilihat bahwa kepolaran air sangat besar. Maka, dapat disimpulkan, fase gerak yang ada bersifat kurang polar daripada fase diam.

Jika kita melihat struktur zat warna yang terelusi, sebagian besar merupakan zat warna azo dengan rumus umum $Ar - N = N - Ar'$. Pada ikatan $N = N$ yang simetris dan tersusun dari atom yang sama, maka kedua atom akan mendapatkan distribusi elektron yang sama banyak, sehingga momen dipolnya nol dan molekul bersifat nonpolar. Hal itu berlaku jika $Ar = Ar'$. Akan tetapi, pada umumnya, Ar dan Ar' cukup berbeda sehingga mungkin terjadi sedikit perbedaan distribusi elektron dan molekul zat warna azo menjadi bersifat kurang polar. Akibatnya, zat warna azo dapat terbawa oleh fase gerak. (Williams DH. et al. 1995)

Dari tujuh belas baku pembandingan zat warna dan enam wanteks yang digunakan, terdapat lima baku pembandingan zat warna yang tidak dapat terelusi oleh keenam eluen yaitu Auramine, Chrysoine S, Indanthrene Blue RS, Orange GGN, dan Jingga K1. Kelima baku pembandingan tersebut tidak digunakan lagi dalam identifikasi selanjutnya. Tidak terelusinya kelima zat warna

Pelarut	Konstanta dielektrik (ϵ)
etilmetilketon	18,5
aseton	20,7
etanol	24,5
n-butanol	17,8
air	78,5

itu mungkin disebabkan karena kelima zat warna tersebut sangat larut dalam fase diam cair yang membentuk kompleks dengan selulosa kertas sehingga tidak dapat terbawa oleh fase gerak.

Setelah melakukan pemilihan eluen, dilakukan analisis sampel zat warna dengan menggunakan eluen etilmetilketon – aseton – air (7:3:3) dan larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50%. diperoleh sebanyak dua belas sampel yang diduga mengandung zat warna sintetik yang dilarang untuk makanan. Sedangkan, hasil elusi dengan larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50%, diperoleh sebanyak empat belas sampel yang diduga mengandung zat warna sintetik yang dilarang untuk makanan.

Untuk sampel Mg (diduga mengandung Merah K4) dan sampel Kb (diduga mengandung Orange G), kromatogram dari kedua eluen tersebut tidak begitu jelas. Maka, kedua sampel tersebut dielusi sekali lagi dengan kedua eluen tersebut. Dari kromatogram yang terakhir dilakukan dengan kedua eluen tersebut, Mg benar diduga mengandung Merah K4. Sedangkan, untuk Kb, dengan etilmetilketon – aseton – air (7:3:3), bercak yang terbentuk berbeda antara sampel dan baku perbandingan. Akan tetapi, dengan larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50%, bercak yang terbentuk hampir sama.

Seluruh sampel zat warna sintetik untuk makanan ternyata tidak

ada yang mengandung zat warna yang sama dengan sampel zat warna tekstil. Pada kromatografi kertas dengan ketiga eluen terpilih yang digunakan, sampel zat warna tekstil cenderung menunjukkan gejala pembentukan ekor. Akan tetapi, dengan eluen larutan natrium klorida 2% dalam etanol 50%, beberapa sampel zat warna tekstil menghasilkan nilai R_f yang mendekati nol.

Penanganan sampel tidak melibatkan langkah ekstraksi, melainkan hanya ditotolkan secara langsung. Cara ini memungkinkan bila konsentrasi dan kemurnian sampel cukup besar sehingga dapat menghasilkan bercak yang dapat teridentifikasi. Pengotor tidak terdapat dalam konsentrasi yang tinggi sehingga tidak mempengaruhi bercak yang dihasilkan atau bahkan dapat menyebabkan zat tidak terelusi. Keuntungan dari penotolan sampel secara langsung adalah menghemat reagen dan waktu, mencegah berkurangnya analit dalam sampel, serta jumlah sampel yang dibutuhkan lebih sedikit (Gritter RJ. et al. 1991) Pada percobaan, bercak yang diperoleh dapat diidentifikasi dan beberapa sesuai dengan bercak baku perbandingan yang digunakan.

Selain kromatografi kertas dengan menggunakan kedua eluen tersebut, dilakukan pula reaksi warna terhadap baku perbandingan dan sampel yang diperiksa. Akan tetapi, warna yang terbentuk sangat sulit untuk dijadikan dasar identifikasi karena banyak sekali warna

yang mirip satu sama lain. Maka, reaksi warna hanya dijadikan sebagai penunjang hasil identifikasi dengan kromatografi kertas yang telah dilakukan.

Setelah analisis dengan menggunakan kedua eluen dan reaksi warna, dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dari larutan baku pembanding dalam etanol 96% dengan spektrofotometer UV-VIS. Panjang gelombang yang diperoleh akan digunakan untuk identifikasi dengan densitometri, diperoleh sebanyak enam belas sampel yang diduga mengandung zat warna yang dilarang.

Ternyata, dari keenam belas sampel tersebut, setelah dilakukan elusi kembali dengan etanol - butanol - air (20:25:25), hanya sepuluh sampel yang positif mengandung zat warna sintetik yang dilarang untuk makanan.

Kromatogram yang diperoleh kemudian di-*scan* dengan *TLC Scanner* untuk menunjang hasil identifikasi yang diperoleh. Ternyata, memang keenam sampel tersebut memiliki spektrum serapan yang berbeda dengan baku pembandingnya.

Selanjutnya, sampel yang telah positif mengandung zat warna sintetik yang dilarang dan zat warna pembandingnya yang sesuai, dielusi sekali lagi dengan eluen etanol - butanol - air (20:25:25). Perbedaannya dengan elusi sebelumnya adalah pada elusi ini, sampel yang positif dan baku pembandingnya yang

sesuai juga ditotolkan secara dicampur, dengan jumlah yang kurang lebih sama, pada satu titik. Jika sampel tersebut benar mengandung zat warna sintetik yang dilarang, maka hasil elusi dari campuran baku pembanding dan sampel akan berupa satu bercak dengan warna dan R_f yang sama.

Pembuatan konsentrasi (dalam ppm) untuk elusi terakhir ini adalah hanya berdasarkan percobaan yang dilakukan, agar diperoleh spektrum yang cukup baik dengan *TLC Scanner*. Sebelumnya, telah dicoba konsentrasi yang lebih kecil daripada konsentrasi yang digunakan. Akan tetapi, spektrum yang diperoleh kurang baik.

Kromatogram dari sepuluh sampel itu kemudian di-*scan* dengan *TLC Scanner*. Ternyata, kesepuluh sampel itu benar mengandung zat warna sintetik yang dilarang untuk makanan. Hal tersebut dibuktikan dengan kesamaan bentuk spektrum serapan antara sampel dan baku pembanding. Kesepuluh sampel itu adalah Me, Mg, dan Mi (sesuai dengan Merah K4), Mh dan Ub (sesuai dengan Rhodamin B), Ma dan Mc (sesuai dengan Scarlet GN), Jf (sesuai dengan Orange G), Kc (sesuai dengan Metanil Yellow), dan Ca (sesuai dengan Chocolate Brown FB).

Akan tetapi, pada saat *scanning*, panjang gelombang baku pembanding Sudan 1 dan Metanil Yellow bergeser jauh dari panjang gelombang maksimum yang diperoleh melalui

spektrofotometri. Dengan *TLC Scanner*, panjang gelombang maksimum Sudan 1 adalah ± 490 nm, dan Metanil Yellow ± 445 nm. Sedangkan, dengan spektrofotometer UV-VIS, panjang gelombang maksimum Sudan 1 adalah 477 nm, dan Metanil Yellow 414 nm. Pergeseran panjang gelombang memang kerap terjadi antar alat, tetapi pergeseran gelombang kedua zat warna itu terlalu besar.

Panjang gelombang, yang diperoleh melalui spektrofotometer UV-VIS, sudah dua kali dicoba dengan menggunakan alat spektrofotometer yang berbeda dan hasilnya sama. Panjang gelombang maksimum Sudan 1 diperoleh 477 nm dan 477,5 nm. Sedangkan, panjang gelombang maksimum Metanil Yellow diperoleh 414 nm dan 416 nm. Oleh karena itu, dapat diambil kesimpulan bahwa panjang gelombang maksimum yang tepat adalah yang diperoleh dengan spektrofotometer UV-VIS.

KESIMPULAN

- Dari 31 sampel yang diperoleh, hanya delapan sampel yang terdaftar di Departemen Kesehatan, memiliki keterangan lengkap yang tercantum pada kemasan, dan tidak diganti kemasannya oleh penjual.
- Dari 31 sampel zat warna yang diperiksa, terdapat sepuluh sampel yang mengandung zat warna sintetik yang dilarang untuk makanan. Sampel Me, Mg, dan Mi mengandung Merah K4,

sampel Mh dan Ub mengandung Rhodamin B, serta sampel Ma dan Mc mengandung Scarlet GN. Selain itu, sampel Jf mengandung Orange G, sampel Kc mengandung Metanil Yellow, dan sampel Ca mengandung Chocolate Brown FB.

DAFTAR ACUAN

- deMan JM. *Kimia Makanan Edisi Kedua*. Penerjemah: Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB. 1997: 238, 253, 280 – 282, 487 – 491, 520 – 529.
- Fennema OR. *Food Chemistry 3rd Edition*. New York, USA: Marcel Dekker, Inc. 1996: 651 – 718.
- Smith J. *Food Additive User's Handbook*. London, Inggris: Blackie & Son, Ltd. 1991: 89 – 97, 111 – 113.
- Coulter TP. *Food: The Chemistry of Its Component 3rd Edition*. Cambridge, Inggris: The Royal Society of Chemistry. 1996: 160 – 169.
- Nollet LML. *Handbook of Food Analysis Volume 2*. New York, USA: Marcel Dekker, Inc. 1996: 1723 – 1740.
- Marmion DM. *Handbook of U. S. Colorants for Foods, Drugs, and Cosmetics 2nd Edition*. USA: John Wiley and Sons, Inc. 1984: 3 – 9, 18 – 21, 23 – 24, 35 – 90, 91 – 113, 159 – 161, 341 – 374.
- Tsuda S, Murakami M, Matsusaka N, Kano K, Taniguchi K, Sasaki YF. DNA Damage Induced by Red Food Dyes Orally Administered

- to Pregnant and Male Mice. <http://toxsci.oxfordjournals.org/cgi/content/full/61/1/92>. 2001, diambil pada tanggal 4 Mei 2006 pukul 21:45.
- Dees C, Askari M, Garrett S, Gehrs K, Henley D, Ardies CM. Estrogenic and DNA-damaging Activity of Red No. 3 in Human Breast Cancer Cells. <http://www.ehponline.org/members/1997/Suppl-3/dees-full.html>. 1997, diambil pada tanggal 5 Mei 2006 pukul 07:45.
- Utami ND. *Analisis Zat Warna Merah, Kuning, dan Jingga Sintetik Golongan Azo Pada Beberapa Makanan Berwarna Merah, Kuning, dan Jingga*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI. 2005.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan RI. *Kumpulan Perundang-undangan Bidang Sediaan Farmasi, Makanan, Alat Kesehatan, dan Bahan Berbahaya (Umum)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 1997: 215 – 220.
- Maskar DH. *Assesment of Illegal Food Additives Intake from Street Food Among Primary School Children in Selected Area of Jakarta*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI. 2004: 2 – 3, 7, 11 – 12.
- Sihombing N. *Observasi Penggunaan Dua Pewarna Sintetik dalam Penganganan di Jakarta*. Jakarta: Majalah Kesehatan Masyarakat Indonesia Tahun XVI no.2. 1985: 77 – 82.
- Harwati A. *Penggunaan Pewarna dalam Beberapa Sampel Makanan Minuman yang Diuji di Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan Prop. DIY*. dalam Proceedings Pekan Analisis Obat dan Makanan I. Yogyakarta: UGM. 1992: 260 – 263.
- Sukarno S. *Identifikasi dan Penetapan Kadar Zat Warna Sintetis dalam Makanan Ringan Jelly yang Beredar di Jakarta*. Depok: Jurusan Farmasi FMIPA UI. 1991: 6, 13 – 16, 26 – 27.
- McMurry J. *Organic Chemistry 3rd Edition*. California, USA: Brooks/Cole Publishing Company. 1992: 45 – 49.
- Touchstone JC, Dobbins MF. *Practice of Thin Layer Chromatography 2nd Edition*. New York, USA: John Wiley and Sons, Inc. 1983: 75 – 76, 303 – 310.
- Touchstone JC, Sherma J. *Densitometry in Thin layer Chromatography: Practice and Applications*. New York, USA: John Wiley and Sons, 1979: 20 – 22.
- Williams DH, Fleming I. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry 5th Edition*. London, Inggris: McGrawHill Book Company. 1995: 22 – 24.
- Gritter RJ, Bobbitt JM, dan Schwariting AE. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Penerjemah: Dr. Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB. 1991: 82 – 85, 92 – 93, 157.