

ANALISIS ZAT WARNA MERAH SINTETIK PADA SELAI STROBERI YANG DIJUAL DI PASAR TRADISIONAL KOTA DEPOK

Putri Ayuningtyas, Rani Sauriasari, Maryati Kurniadi
Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok

ABSTRACT

Jam is a semi-solid food products made of fruit cooked with sugar that used as a flavoring on bakery including strawberry jam. Strawberry jam is added to food additives such as food dyes. The purpose of this study is to know about ponceau 4R, allura red, rodamin B, and amaran in the sample of strawberry jam in the traditional market at Depok City and to determine the levels of synthetic red dyes that are permitted on the sample strawberry jam. The method applied was dye isolation with wool and followed by analysis using a color reaction, then followed by paper chromatography using mobile phase n-butanol-ethanol-water (3:4:4) and isobutanol-ethanol-water (3:2:4) and also TLC Densitometri using eluent ethanol-n-butanol-water (3:7:1). The result of study that from eight that has been investigated, it was found that six of them was contained ponceau 4R with levels of each sample at 0,01164; 0,00469; 0,00974; 0,00283; 0,00482 and 0,00435% still safe to consume.

Keywords : *The synthetic red dye, strawberry jam.*

ABSTRAK

Selai merupakan produk makanan semi padat yang terbuat dari buah-buahan yang dimasak dengan gula yang digunakan sebagai pemberi rasa pada roti termasuk selai stroberi. Selai stroberi merupakan makanan yang ditambahkan bahan tambahan makanan berupa zat warna. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya Ponceau 4R, merah Allura, Rodamin B, dan Amaran dalam sampel selai stroberi yang ada di Pasar Tradisional kota Depok serta menetapkan kadar zat warna merah sintetik yang diijinkan yang terdapat pada sampel selai stroberi. Metode analisis yang digunakan adalah isolasi zat warna dengan bulu domba kemudian dilanjutkan dengan analisis menggunakan reaksi warna, dilanjutkan dengan kromatografi kertas menggunakan eluen etanol-n-butanol-air (3:4:4) dan isobutanol-etanol-air (3:2:4) dan KLT-densitometri dengan menggunakan eluen etanol-n-butanol-air (3:7:1). Hasil penelitian menunjukkan dari delapan sampel yang diperiksa, enam diantaranya mengandung ponceau 4R dengan kadar masing-masing sampel sebesar 0,01164; 0,00469; 0,00974; 0,00283; 0,00482 dan 0,00435% yang masih aman untuk dikonsumsi.

Kata Kunci : *zat warna merah sintetik, selai stroberi*

Corresponding author : sauri94@yahoo.com

PENDAHULUAN

Di zaman modern sekarang ini banyak terjadi perkembangan dibidang industri makanan yang bertujuan untuk menarik perhatian para konsumen. Salah satu bahan tambahan makanan yang banyak digunakan untuk menarik perhatian konsumen adalah zat warna (Tripathi, Subhash dan Mukul, 2005). Zat warna merupakan salah satu bahan tambahan makanan yang dapat memperbaiki atau memberi warna pada makanan (Standar Nasional Indonesia, 1995).

Penggunaan zat warna sering kali tidak benar, sebagai contoh, penggunaan pewarna tekstil yang sengaja ditambahkan oleh produsen dalam makanan karena harganya lebih murah bila dibandingkan dengan pewarna makanan (Saparinto, 2006). Zat warna termasuk bahan tambahan makanan yang diatur oleh pemerintah melalui Undang-undang No.7 tahun 1996 tentang pangan pada Bab II, bagian kedua, pasal 10 bahwa dalam makanan yang dibuat untuk diedarkan dilarang untuk ditambah dengan bahan apapun yang dinyatakan dilarang atau melampaui ambang batas maksimal yang ditetapkan.

Salah satu produk makanan yang tidak lepas dari zat tambahan pewarna yakni selai. Selai merupakan produk makanan semi padat yang terbuat dari buah-buahan yang dimasak dengan gula yang digunakan sebagai pemberi rasa atau bahan pelengkap pada roti. Beraneka ragamnya rasa dan warna pada selai, maka pada penelitian ini akan mengidentifikasi zat warna merah sintetik yang hanya terdapat pada produk selai stroberi.

Pada pemeriksaan sebelumnya terdapat beberapa makanan, seperti jeli (Su-

karno, 1991), terasi (Septiani, 2006), dan kerupuk (Immanuel, 2009) yang menggunakan zat warna yang dilarang berupa rodamin B. Dari penemuan tersebut, terdapat kemungkinan bahwa zat warna yang digunakan pada selai juga merupakan zat warna yang dilarang penggunaannya sebagai zat warna makanan. Sebagai makanan pelengkap, selai salah satu jenis makanan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat sehingga kemungkinan terjadinya dampak negatif dari penggunaan zat warna berbahaya pada selai menjadi lebih besar.

Penelitian ini bertujuan menganalisa penggunaan zat warna merah sintetik yang dilarang dan diizinkan pada beberapa produk selai stroberi yang dijual di pasar tradisional kota Depok. Serta diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang keamanan zat warna merah sintetik yang digunakan dalam selai stroberi yang dijual di pasar tradisional kota Depok.

METODE

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah Rangkaian alat KLT-Desitometer (CAMAG TLC Scanner 3), lampu UV, bejana kromatografi CAMAG, pipa kapiler 2 µl, timbangan analitik, alat-alat gelas, kompor listrik, penangas air, plat tetes, spatula, batang pengaduk, lemari pendingin, oven pemanas, dan cawan penguap. Bulu domba diperoleh dari penjual kambing yang ada di Pasar Cisalak Depok, kertas Whatman No.1, lempeng Silika Gel 60 F254 (Merck), kertas saring, dan pH indikator universal.

Bahan

Bahan baku pembanding yang digunakan: Ponceau 4R (Cl no. 16255; Dynemic Products Ltd), merah Allura (Cl no. 16035; Dynemic Products Ltd) yang diperoleh dari PT Tanduk Air Mas sebagai zat warna yang diizinkan pada makanan. Rodamin B (Cl no. 45170) dan Amaran (Cl no. 16185) yang diperoleh dari BPOM (Badan Pengawasan Obat dan Makanan) sebagai zat warna yang dilarang pada makanan.

Bahan kimia yang digunakan: Asam sulfat pekat p.a (Merck), asam klorida pekat p.a (Merck), amonia 25% p.a (Merck), kloroform (Merck), n-butanol p.a (Merck), asam asetat glasial p.a (Mallinckrodt), etilmetilketon p.a (Merck), aseton p.a (Merck), etanol p.a (Merck), isobutanol p.a (Merck), dan akuades. Bahan uji berupa sampel selai stroberi yang digunakan diperoleh dari pasar tradisional yang ada di kota Depok.

Cara Kerja

Uji pendahuluan untuk menentukan jenis dan komposisi eluen terpilih menggunakan baku pembanding

Optimasi jenis eluen pada kromatografi kertas dan KLT-densitometri

Ditimbang masing-masing baku pembanding lebih kurang 1,0 mg lalu dilarutkan dalam 10 mL larutan etanol 70%. Selanjutnya masing-masing larutan ini ditotolkan sebanyak 2,0 μ L pada kertas kromatografi dan lempeng KLT dengan titik totolan 1 cm dari tepi bawah, jarak masing-masing penotolan adalah 1 cm dan didiamkan sampai semua pelarut menguap kemudian dielusi sejauh 8 cm dari titik penotolan. Elusi dilakukan den-

gan menggunakan beberapa jenis eluen yang berbeda yaitu:

- Pada kromatografi kertas digunakan eluen: etanol-n-butanol-air (20:25:25) (Mahindru, 2000), isobutanol-etanol-air (3:2:2) (Standar Nasional Indonesia, 1992), etilmetilketon-aseton-air (7:3:3) (Standar Nasional Indonesia, 1992), dan n-butanol-asam asetat glasial-air (4:2:2,4) (Mahindru, 2000).
- Pada kromatografi lapis tipis-densitometri digunakan eluen: etanol-n-butanol (2:5) dan etanol-n-butanol-air (4:5:7).

Setelah elusi selesai, kertas dan lempeng KLT diangkat dan dikeringkan kemudian bercak yang diperoleh diamati. Pemilihan eluen berdasarkan pada kemampuan eluen untuk menghasilkan pemisahan, bentuk bercak, lamanya waktu elusi, dan mudahnya pembuatan eluen (Mahindru, 2000; Pare dan Belanger, 1997; Standar Nasional Indonesia, 1992).

Optimasi komposisi eluen pada kromatografi kertas dan KLT-densitometri

Hasil dari optimasi jenis eluen yang telah dilakukan untuk kromatografi kertas dipilih dua jenis eluen, sedangkan untuk KLT-densitometri dipilih satu jenis eluen. Setelah itu, eluen-eluen tersebut dicoba dengan berbagai perbandingan sebagai berikut:

- Pada kromatografi kertas menggunakan jenis eluen antara lain: etanol-n-butanol-air (4:5:5) dan (3:4:4); isobutanol-etanol-air (3:2:4).
- Pada kromatografi lapis tipis-densitometri menggunakan jenis eluen antara lain: etanol-n-butanol-air (3:7:3), (3:7:1), dan (3:6:1).

Selanjutnya masing-masing larutan baku pembanding zat warna ditotolkan sebanyak 2,0 µL pada kertas kromatografi dan lempeng KLT dengan titik totalan 1 cm dari tepi bawah, jarak masing-masing penotolan adalah 1 cm dan dibiarkan sampai semua pelarut menguap kemudian dielusi sejauh 8 cm dari titik penotolan. Elusi dilakukan dengan menggunakan eluen-eluen yang telah disebutkan diatas. Setelah elusi selesai, kertas dan lempeng KLT diangkat dan dikeringkan kemudian bercak yang diperoleh diamati.

Penentuan panjang gelombang maksimum baku pembanding zat warna

Dibuat larutan baku pembanding ponceau 4R, merah allura, rodamin B, dan amaran dengan konsentrasi 70 µg/mL dalam pelarut etanol 70% dan diukur serapannya pada panjang gelombang cahaya tampak (380-780) menggunakan KLT-densitometri.

Linearitas dan kurva kalibrasi

Ditimbang baku pembanding ponceau 4R 50 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dicukupkan volumenya hingga batas. Dibuat pengenceran dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 µg/mL.

Ditimbang baku pembanding merah allura 25,4 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dicukupkan volumenya hingga batas. Dibuat pengenceran dengan konsentrasi 20,32; 30,48; 40,64; 50,80; 60,96 dan 71,12 µg/mL.

Ditimbang baku pembanding rodamin B 25,3 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dicukupkan volumenya hingga batas. Dibuat pengenceran dengan

konsentrasi 20,2; 30,3; 40, 4; 50,5; 70,7 dan 80,8 µg/mL.

Ditimbang baku pembanding amaran 25,2 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dicukupkan volumenya hingga batas. Dibuat pengenceran dengan konsentrasi 10,08; 20,16; 30,24; 40,32; 70,56 dan 80,64 µg/mL.

Larutan masing-masing baku pembanding ditotolkan pada lempeng KLT. Volume penotolan sebanyak 2 µL, dengan titik totalan 1 cm dari tepi bawah, jarak masing-masing penotolan adalah 1 cm dan dielusi dengan eluen etanol-n-butanol-air (3:7:1) sejauh 8 cm. Setelah elusi selesai, scan bercak dengan TLC Scanner pada panjang gelombang maksimum masing-masing baku pembanding. Kemudian dibuat kurva kalibrasi dan ditentukan persamaan kurva kalibrasinya serta harga koefisien korelasinya.

Penentuan batas deteksi

Penentuan batas deteksi dari masing-masing baku pembanding zat warna ditentukan dengan perhitungan berdasarkan data kurva kalibrasi yang telah dibuat secara KLT-densitometri. Batas deteksi dinyatakan dalam satuan nanogram (ng).

Selektivitas

Dilakukan dengan cara menambahkan 2 mg baku pembanding pada 10 g sampel selai stroberi yang tidak mengandung zat warna kemudian dilakukan ekstraksi. Larutan hasil ekstraksi kemudian ditotolkan sebanyak 2 µL pada kertas kromatografi, dengan titik totalan 1 cm dari tepi bawah, jarak masing-masing penotolan adalah 1 cm dan dielusi dengan eluen etanol-n-butanol-air (3:4:4) sejauh 8 cm.

Setelah elusi selesai kertas kromatografi diangkat dan dikeringkan kemudian bercak-bercak yang timbul diamati.

Isolasi zat warna sintetik pada sampel

Penyiapan sampel

Terdapat delapan pasar tradisional di kota Depok. Peneliti mengambil sampel selai stroberi di lima pasar tradisional di kota Depok. Sampel selai stroberi yang akan diteliti sebanyak delapan sampel kemudian disimpan pada tempat yang sesuai yakni wadah tertutup rapat dan terhindar dari cahaya.

Penyiapan Bulu Domba

Bulu domba yang telah dibeli dicuci seluruhnya hingga bersih dengan deterjen kemudian dijemur hingga kering. Setelah itu, bulu domba tersebut direndam dengan kloroform dan dikeringkan hingga kering (Mahindru, 2000).

Isolasi Zat Warna

Sampel ditimbang dengan lebih kurang 20,0 g lalu dimasukkan ke dalam beaker gelas dan diencerkan dengan 30 mL akuades, kemudian diasamkan dengan asam asetat encer hingga pH ± 3 . Bulu domba sebanyak 2 g dimasukkan pada larutan uji yang telah diasamkan, kemudian dididihkan sampai bulu domba terwarnai. Bulu domba tersebut diangkat dan dicuci dengan air sebanyak empat kali. Bulu domba yang telah dicuci tersebut direndam dalam 35 mL amonia 10% dan dipanaskan kembali, cara ini dilakukan sebanyak dua kali hingga warna terlepas seluruhnya. Bulu domba diangkat dan larutan yang didapat kemudian diu-

pankan diatas penangas air hingga mengental (Standar Nasional Indonesia, 1992 dan Mahindru, 2000).

Identifikasi Zat Warna pada Sampel

Analisis kualitatif dengan reaksi warna

Pada plat tetes, dimasukkan beberapa tetes larutan sampel yang diperoleh dari ekstraksi kemudian ditambahkan pereaksi-pereaksi kimia berikut ini, yaitu asam klorida pekat, asam sulfat pekat, dan amonia 10%. Diamati perubahan warna yang terbentuk dan dibandingkan dengan baku pembanding (Mahindru, 2000; Jacobs, 1951).

Analisis kualitatif dengan metode kromatografi kertas

Pada kertas kromatografi yang sama ditotolkan larutan baku pembanding zat warna dengan larutan sampel yang diperoleh dari hasil ekstraksi. Volume penotolan sebanyak 2 μ L, dengan titik totalan 1 cm dari tepi bawah, jarak masing-masing penotolan adalah 1 cm dan dielusi dengan eluen etanol-n-butanol-air (3:4:4) dan isobutanol-etanol-air (3:2:4) sejauh 8 cm. Setelah elusi selesai kertas kromatografi diangkat dan dikeringkan kemudian bercak-bercak yang timbul diamati. Lalu dihitung Rf masing-masing bercak dan dibandingkan dengan Rf baku pembanding.

Analisis kualitatif dengan metode kromatografi lapis tipis-densitometri

Pada lempeng KLT ditotolkan larutan sampel dengan larutan zat warna baku pembanding. Volume penotolan sebanyak 2 μ L, dengan titik totalan 1 cm dari

tepi bawah, jarak masing-masing penotolan adalah 1 cm dan dielusi dengan eluen eluen etanol-n-butanol-air (3:7:1) sejauh 8 cm. Selanjutnya lempeng diangkat dan dikeringkan, kemudian bercak-bercak yang terbentuk diamati secara langsung maupun dengan bantuan lampu UV. Bercak yang timbul di-scan dan dibandingkan dengan Rf baku pembanding. Untuk memperkuat hasil identifikasi bercak yang memiliki Rf yang sama dengan baku pembanding dideteksi menggunakan KLT-Densitometri (TLC-Scanner) untuk memeriksa keberadaan baku pembanding zat warna pada sampel sehingga diketahui kromatogram di Rf tersebut serta membandingkan spektrum serapan antara baku pembanding zat warna dengan sampel dan juga diperoleh panjang gelombang maksimum pada sampel.

Penetapan Kadar Zat Warna pada Sampel dengan Metode KLT-Densitometri

Uji perolehan kembali

Uji perolehan kembali dilakukan dengan metode penambahan bahan baku pada selai stroberi yang tidak mengandung zat warna ditimbang lebih kurang 20,0 g. Baku pembanding zat warna ponceau 4R ditimbang seksama 2,5 mg dan dicampur kedalam selai stroberi hingga rata. Dilakukan ekstraksi seperti pada sampel, kemudian ekstrak yang didapat diencerkan dengan etanol 70% sampai volume 10 mL. Selanjutnya ditotolkan pada lempeng KLT sebanyak 2 μ L, dengan titik totolan 1 cm dari tepi bawah, jarak masing-masing penotolan adalah 1 cm dan dielusi dengan eluen etanol-n-butanol-air (3:7:1) sejauh 8 cm. Bercak

yang timbul kemudian dideteksi dengan TLC-Scanner pada panjang gelombang maksimumnya dan ditentukan kadarnya kemudian dihitung persentase jumlah zat warna yang terekstraksi terhadap jumlah zat warna yang ditambahkan.

Penetapan kadar zat warna pada sampel

Penetapan kadar dilakukan terhadap sampel yang mengandung zat warna sintetis yang pemakaiannya diizinkan dalam batas tertentu. Penetapan kadar dalam sampel dibuat duplo. Larutan sampel selai stroberi yang mengandung ponceau 4R ditotolkan pada lempeng KLT sebanyak 2 μ L, dengan titik totolan 1 cm dari tepi bawah, jarak masing-masing penotolan adalah 1 cm dan dielusi dengan eluen etanol-n-butanol-air (3:7:1) sejauh 8 cm. Bercak yang timbul kemudian dideteksi dengan TLC-Scanner pada panjang gelombang maksimum kemudian dihitung kadarnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemilihan eluen terpilih

Hasil pemilihan jenis eluen yang dicoba pada kromatografi kertas dari keempat jenis eluen yang dicoba menghasilkan pemisahan yang baik dengan rentang Rf tidak berdekatan antara baku pembanding satu dengan yang lain (Tabel 4.1). Pada eluen etilmetiketon-aseton-air (7:3:3) dan n-butanol-asam asetat glasial-air (4:2:2,4), bercak rodamin B yang dihasilkan melebar. Eluen yang dipilih adalah etanol-n-butanol-air (20:25:25) dan isobutanol-etanol-air (3:2:2), karena memberikan bercak yang cukup bulat dan kecil.

Selanjutnya dilakukan perbandingan komposisi pada eluen-eluen terse-

but. Eluen etanol-n-butanol-air (4:5:5) dan (3:4:4), memberikan nilai Rf yang tidak jauh berbeda dengan perbandingan (20:25:25) dan bercak yang dihasilkan tidak melebar. Perbandingan eluen etanol-n-butanol-air (3:4:4) dipilih karena hanya membutuhkan campuran eluen yang sedikit, pembuatan eluen mudah, waktu elusi yang dibutuhkan kurang dari dua jam, dan memiliki tingkat kestabilan yang cukup baik.

Jenis eluen yang digunakan untuk KLT sama seperti pada kromatografi kertas, karena diharapkan dapat memberikan pemisahan yang baik juga pada KLT. Hasil optimasi jenis eluen pada KLT yai-

tu etanol-n-butanol (2:5) menghasilkan pemisahan yang kurang baik untuk zat warna amaran dan ponceau 4R karena bercak yang dihasilkan berekor dan tidak terelusi dengan baik. Eluen etanol-n-butanol-air (4:5:7) menghasilkan bercak bentuk garis lurus dan terelusi dengan baik namun semua zat warna memiliki nilai Rf yang sama satu dengan yang lain. Walaupun begitu eluen ini tetap dipilih karena dapat mengelusi dengan baik zat warna sehingga eluen ini dilakukan optimasi perbandingan komposisi eluen yaitu (3:7:3), (3:7:1), dan (3:6:1). Perbandingan komposisi eluen yang menghasilkan pemisahan yang baik adalah perbandingan etanol-n-butanol-air (3:7:1).

Tabel 1. Jenis eluen untuk kromatografi kertas

No	Nama zat	Eluen 1		Eluen 2		Eluen 3		Eluen 4	
		Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna
1.	Ponceau 4R	0,56	Merah	0,35	Merah	0,31	Merah tua	0,29	Merah tua
2.	Merah allura	0,76	Merah tua	0,61	Merah	0,59	Merah	0,56	Merah
3.	Rodamin B	0,96	Merah muda	1,00	Merah muda	1,00	Merah muda	0,96	Merah muda
4.	Amaran	0,49	Merah ungu	0,16	Ungu	0,16	Ungu	0,18	Ungu

Keterangan : eluen 1 : etanol-n-butanol-air (20:25:25); eluen 2 : etilmetilketon-aseton-air (7:3:3); eluen 3 : n-butanol-asam asetat glasial-air (4:2:2,4); eluen 4 : isobutanol-etanol-air (3:2:2).

Tabel 2. Komposisi perbandingan eluen untuk kromatografi kertas

No	Nama zat	Eluen 1		Eluen 2		Eluen 3	
		Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna
1.	Ponceau 4R	0,56	Merah	0,56	Merah	0,69	Merah
2.	Merah allura	0,76	Merah tua	0,79	Merah tua	0,76	Merah tua
3.	Rodamin B	0,96	Merah muda	0,95	Merah muda	0,96	Merah muda
4.	Amaran	0,49	Merah ungu	0,50	Ungu	0,52	Ungu

Keterangan : eluen 1 : etanol-n-butanol-air (4:5:5); eluen 2 : etanol-n-butanol-air (3:4:4); eluen 3 : isobutanol-etanol-air (3:2:4).

Tabel 3. Jenis eluen untuk KLT-Densitometri

No	Nama zat	Eluen 1		Eluen 2	
		Rf	Warna	Rf	Warna
1.	Ponceau 4R	0,18	Merah	0,48	Merah
2.	Merah allura	0,54	Merah jingga	0,64	Merah jingga
3.	Rodamin B	0,31	Merah muda	0,65	Merah muda
4.	Amaran	0,17	Ungu	0,48	Ungu

Keterangan : eluen 1 : etanol-n-butanol-air (2:5), eluen 2 : etanol-n-butanol-air (4:5:7).

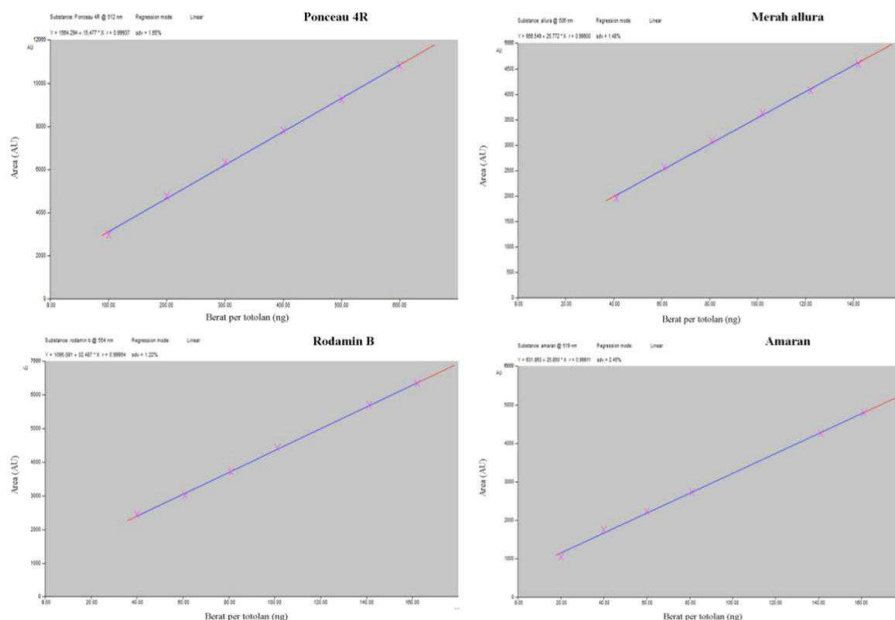
Linearitas, Batas deteksi, dan Selektifitas

Hasil penotolan masing-masing baku perbandingan dengan penimbangan ponceau 4R 50 mg yang dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, merah allura 25,4 mg, rodamin B 25,3 mg, dan amaran 25,2 mg yang dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan enam konsentrasi yang berbeda pada keempat baku perbandingan tersebut. Didapatkan hasil kurva linearitas ponceau 4R dengan $r = 0,99937$, merah allura dengan $r = 0,99900$, rodamin B dengan $r = 0,99905$ dan amaran dengan $r = 0,99911$.

Penentuan batas deteksi menggunakan KLT-densitometri, dimana batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dideteksi serta masih memberikan respon (Harmita, 2004). Batas deteksi diperoleh dari per-

samaan regresi pada kurva kalibrasi dari masing-masing standar. Batas deteksi ponceau 4R, merah allura, rodamin B, dan amaran berturut adalah 11,15; 2,79; 1,93 dan 3,89 $\mu\text{g/mL}$ merupakan batas konsentrasi yang masih dapat dianalisis.

Dilakukan uji selektifitas untuk mengetahui kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Uji ini dilakukan dengan menambahkan baku perbandingan pada sampel. Hasil menunjukkan bahwa hanya terdapat satu bercak saja yang sama dengan bercak baku perbandingan. Metode ini selektif karena tidak terdapat gangguan dari matriks lain pada sampel yang mempengaruhi bercak baku perbandingan.



Gambar 1. Kurva kalibrasi standar dielusi menggunakan eluen etanol-n-butanol-air (3:7:1).

Tabel 4. Persamaan regresi linier dan batas deteksi

No.	Nama zat	Persamaan regresi linier	Batas deteksi ($\mu\text{g/mL}$)
1.	Ponceau 4R	$y = 1564,294 + 15,477x$ $r = 0,99937$	11,15
2.	Merah allura	$y = 956,549 + 25,772x$ $r = 0,99900$	2,79
3.	Rodamin B	$y = 1095,081 + 32,487x$ $r = 0,99905$	1,93
4.	Amaran	$y = 631,863 + 25,850x$ $r = 0,99911$	3,89

Identifikasi zat warna sampel

Reaksi warna

Hasil dari reaksi warna menunjukkan semua sampel selai stroberi mengarah

pada zat warna merah sintetik yaitu ponceau 4R dan merah allura, bila dilihat dan dibandingkan dengan baku pembanding kedua zat warna tersebut pada tabel dibawah ini.

Tabel 5. Reaksi warna dari baku pembanding zat warna dan sampel

No	Nama zat	Warna asal	Reaksi warna		
			HCl (p)	H ₂ SO ₄ (p)	Amonia 10 %
1.	Ponceau 4R	Merah tua	Merah kecoklatan	Ungu tua	Merah tua
2.	Merah allura	Merah tua	Coklat	Ungu muda	Merah
3.	Rodamin B	Hijau tua	Jingga	Kuning	Merah ungu
4.	Amaran	Coklat	Merah muda	Ungu biru	Merah muda
5.	Sampel SS1	Merah tua	Merah coklat	Ungu tua	Merah tua
6.	Sampel SS2	Merah	Merah	Ungu	Merah tua
7.	Sampel SS3	Merah tua	Merah tua	Ungu tua	Merah
8.	Sampel SS4	Merah tua	Merah coklat	Ungu	Merah tua
9.	Sampel SS5	Merah	Merah	Ungu tua	Merah
10.	Sampel SS6	Merah	Merah tua	Ungu	Merah
11.	Sampel SS7	Merah	Merah	Ungu	Merah tua
12.	Sampel SS8	Merah	Merah	Ungu	Merah

Kromatografi kertas

Identifikasi dengan kromatografi kertas dilakukan dengan pengamatan secara visual dan dibawah lampu UV. Dibawah lampu UV zat warna rodamin B mengalami fluoresensi menjadi jingga sedangkan sampel dan baku pembanding yang lain tidak berfluoresensi. Hasil identifikasi menggunakan kromatografi kertas bahwa delapan sampel mengandung ponceau 4R yang ditunjukkan dengan hasil elusi dengan dua eluen terpilih dan merah allura ditunjukkan dari hasil elusi eluen etanol-n-butanol-air (3:4:4) dilihat dari pengamatan bercak antara sampel dan baku pembanding memiliki nilai R_f yang sama.

Kromatografi lapis tipis-densitometri

Identifikasi zat warna dengan KLT menggunakan eluen terpilih etanol-n-

butanol-air (3:7:1) dimana enam sampel yaitu SS1, SS2, SS3, SS4, SS5, dan SS6 mengandung ponceau 4R. Hal ini ditunjukkan pada hasil TLC scanner, nilai R_f sampel sama atau berdekatan dengan R_f baku pembanding ponceau 4R, memiliki bentuk spektrum serapan yang sama dengan ponceau 4R dan panjang gelombang antara sampel dengan baku pembandingnya berdekatan.

Bercak merah yang dihasilkan sampel selai stroberi SS4, SS7, dan SS8 kemudian dilakukan scanning dengan TLC scanner menunjukkan ketiga sampel tersebut tidak mengandung zat warna merah allura. Hal ini ditunjukkan dengan nilai R_f dan panjang gelombang ketiga sampel tersebut berbeda dengan baku pembanding merah allura.

Tabel 6. Hasil Kromatografi kertas ekstrak zat warna dari sampel menggunakan eluen terpilih

No.	Sampel	Eluen etanol-n-butanol-air (3:4:4)		Eluen isobutanol-etanol-air (3:2:4)	
		Rf	Warna	Rf	Warna
1.	Ponceau 4R	0,56	Merah	0,69	Merah
2.	Merah allura	0,79	Merah tua	0,76	Merah tua
3.	Rodamin B	0,95	Merah muda	0,96	Merah muda
4.	Amaran	0,50	Ungu	0,52	Ungu
5.	SS1	0,56	Merah	0,68	Merah
6.	SS2	0,56	Merah	0,68	Merah
7.	SS3	0,56	Merah	0,69	Merah
8.	SS4	0,56	Merah	0,69	Merah
		0,76	Merah muda	0,84	Merah muda
9.	SS5	0,56	Merah	0,69	Merah
10.	SS6	0,56	Merah	0,69	Merah
		0,76	Merah	0,69	Merah
11.	SS7	0,41	Kuning	0,35	Kuning
		0,76	Merah muda	0,84	Merah muda
12.	SS8	0,76	Merah muda	0,84	Merah muda

Tabel 7. Hasil KLT-Densitometri ekstrak zat warna dari sampel menggunakan eluen terpilih

No.	Sampel	Eluen etanol-n-butanol-air (3:7:1)		Panjang gelombang (nm)
		Rf	Warna	
1.	Ponceau 4R	0,52	Merah	512
2.	Merah allura	0,68	Merah	506
3.	Rodamin B	0,62	Merah muda	554
4.	Amaran	0,56	Ungu	519
5.	SS1	0,51	Merah	512
6.	SS2	0,51	Merah	513
7.	SS3	0,50	Merah	513
8.	SS4	0,52	Merah	512/518
		0,72	Merah ungu	
9.	SS5	0,53	Merah	512
10.	SS6	0,53	Merah	512
11.	SS7	0,55	Kuning	450/518
		0,72	Merah ungu	
12.	SS8	0,72	Merah ungu	518

Gambar 2. Kromatogram KLT sampel selai stroberi yang mengandung zat warna ponceau 4R pada panjang gelombang 512 nm dengan nilai Rf 0,50-0,53

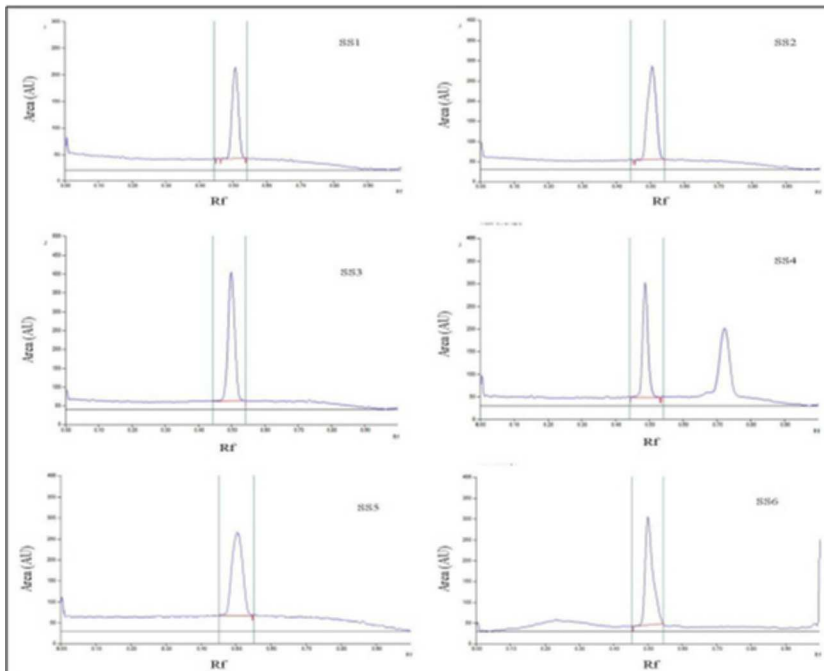
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada sampel selai stroberi yang diperiksa menggunakan kromatografi kertas dan KLT-densitometri tidak ada satu pun yang mengandung zat warna yang dilarang. Sampel selai stroberi yang diperiksa mengandung zat warna tunggal dan campuran. Pada sampel yang mengandung zat warna campuran, salah satu zat warna yang digunakan dalam campuran tersebut tidak dapat diidentifikasi karena keterbatasan baku pembandingan zat warna yang dimiliki oleh peneliti.

Penetapan kadar zat warna

Penetapan kadar zat warna dalam

sampel dilakukan dengan memasukkan area yang didapat ke dalam persamaan kurva kalibrasi. Kadar ponceau 4R dalam sampel SS1, SS2, SS3, SS4, SS5, dan SS6 berturut-turut adalah 0,01164; 0,00469; 0,00974; 0,00283; 0,00482 dan 0,00435%.

Dilihat dari batas konsumsi perhari untuk ponceau 4R yaitu 0,125 mg/kg berat badan orang dewasa normal (Septiani, 2006). Apabila orang dewasa dengan berat badan 60 kg memakan selai stroberi pada sepotong roti yaitu kira-kira 100 g perhari maka ponceau 4R yang dimakannya (dengan mengambil contoh kadar yang paling besar) sebanyak 1,164 mg. Batas asupan perhari ponceau 4R adalah 7,5 mg perhari untuk orang dewasa dengan berat badan 60 kg. Kadar zat warna dalam sampel masih aman untuk dikonsumsi dalam batasan konsumsi harian.



KESIMPULAN

Enam dari delapan sampel selai stroberi yang diperiksa mengandung zat warna merah sintetik yang penggunaannya diijinkan, yaitu ponceau 4R. Zat warna pada dua sampel lainnya tidak teridentifikasi pada penelitian ini. Kadar ponceau 4R dalam keenam sampel selai stroberi tersebut (SS1, SS2, SS3, SS4, SS5, dan SS6) berturut-turut adalah 0,01164; 0,00469; 0,00974; 0,00283; 0,00482 dan 0,00435%.

DAFTAR ACUAN

- Daryadi. 2007. *Identifikasi Pewarna Merah, Jingga, Kuning, Dan Hijau dalam Permen Karet Secara Kromatografi Kertas dan KLT Densitometri*. Departemen Farmasi FMIPA UI. Depok.
- deMan, John M. 1997. *Kimia Makanan Edisi Kedua*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 280-281
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3).
- Imanuel. 2009. *Analisis Pewarna yang Dilarang dan Diizinkan Pada Kerupuk Yang Berwarna Merah, Kuning, Jingga, dan Hijau*. Departemen Farmasi FMIPA UI. Depok.
- International Food Information Council (IFIC) Foundation, US Food and Drug Administration (FDA). *Food Ingredients and Colors*. <http://www.fda.gov/food/foodingredientspackaging/ucm094211.htm#coloradd> diambil pada tanggal 24 Agustus 2012 pukul 11.15.
- Jacobs MR. 1951. *The Chemistry And Technology Of Food And Food Products 2nd Edition*. Interscience Publishers Inc. New York. 353-356
- Mahindru SN. 2000. *Food Additives: Characteristics, Detection, and Estimation*. Tata McGraw-Hill New Delhi. 91-105
- Saparinto, Cahyo, Diana Hidayati. 2006. *Bahan Tambahan Pangan*. Kanisius. Yogyakarta. 9-11
- Septiani S. 2006. *Analisis Zat Warna Merah Sintetik Amaran, Ponceau 3R, Ponceau SX, dan Rodamin B dalam Terasi*. Departemen Farmasi FMIPA UI. Depok.
- Standar Nasional Indonesia. 1992. *Cara Uji Pewarna Tambahan Makanan*. Departemen Perindustrian. Jakarta.
- Standar Nasional Indonesia. 1995. *Bahan Tambahan Makanan*. Departemen Perindustrian. Jakarta.
- Sukarno S. 1991. *Identifikasi dan Penetapan Kadar Zat Warna Sintesis Dalam Makanan Ringan Jelly yang Beredar di Jakarta*. Skripsi Program S1. Farmasi Universitas Indonesia. Depok. 2
- Tripathi M, Subhash KK, Mukul D. 2005. *Surveillance on Use of Synthetic Colours in Eatables vis a vis Prevention of Food Adulteration Act of India*, 211
- Winarno FG. 1992. *Kimia pangan dan gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 183-194