

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pangan

Makhluk hidup membutuhkan makanan untuk kelangsungan hidupnya. Berikut ini adalah merupakan pembahasan mengenai makanan.

2.1.1 Definisi Pangan

Berdasarkan Undang-Undang RI No 18 Tahun 2012 mengenai pangan, pangan adalah kebutuhan utama manusia yang paling dasar dan pemenuhannya termasuk bagian dari hak asasi tiap masyarakat Indonesia dan pangan merupakan segala sesuatu yang ditunjuk sebagai minuman atau makanan untuk dikonsumsi manusia yang berasal dari sumber hayati produk perkebunan, kehutanan, pertanian, peternakan, perikanan, perairan, dan air, baik yang tidak diolah maupun yang sudah diolah, termasuk bahan baku makanan, bahan tambahan makanan, dan bahan lainnya yang digunakan pada proses pengolahan, penyiapan, dan pembuatan minuman atau makanan. Seluruh makhluk hidup membutuhkan makanan berfungsi sebagai bertahan hidup dan pertumbuhan, khamir, kapang, bakteri, rodentia (binatang pengerat) dan insekta bersaing dengan manusia untuk mengkonsumsi persediaan makanannya. Senyawa organik sangat sensitif pada bahan pangan, dan keseimbangan biokimia dari senyawa tersebut akan berakhir pada *destruksi* (kerusakan) bagi hampir semua variabel lingkungan di alam. Hal yang cenderung dapat merusak bahan pangan adalah panas, cahaya, waktu, kelembaban, dingin, oksigen, kekeringan, dan enzim pada bahan pangann sendiri (Mamuaja, 2016).

2.1.2 Keamanan Pangan

Menurut UU RI No. 7 Tahun 1996 mengenai perlindungan terhadap pangan, keamanan pangan merupakan kondisi dan usaha yang dibutuhkan agar menghindari pangan dari terjadinya cemaran kimia, biologis, atau benda lain yang bisa membahayakan dan merugikan kesehatan manusia. Makanan dapat dikatakan aman jika makanan tersebut bebas dari cemaran

kimiawi, fisik, ataupun mikrobiologi yang dapat membahayakan kesehatan, serta tidak bertentangan pada kepercayaan masyarakat (Andriani & Wiratmadji, 2012).

Pangan yang aman ialah pangan yang apabila dimakan tidak menyebabkan gangguan kesehatan pada tubuh yang mengonsumsinya, dan akan menyehatkan apabila dikonsumsi serta tidak mengakibatkan gangguan dalam tubuh. Pangan yang aman dapat dilihat dari kandungan bahan pangannya, komponen campuran lain yang dapat merugikan seperti mikroba dapat mengakibatkan gangguan pada tubuh yang mengonsumsinya (Murdiati & Amaliah, 2013). Makanan dikatakan rusak jika sebagian atau seluruh dari makanan itu bahan-bahannya telah berubah atau membusuk, dan jika ada terdapat sesuatu yang tidak menyehatkan untuk makanan. Makanan akan dianggap rusak apabila makanan yang disiapkan, dikemas, dan ditangani dalam kondisi yang kotor bahkan mungkin sudah terkontaminasi oleh organisme atau kotoran sehingga dapat mengakibatkan gangguan pada kesehatan (Andriani & Wiratmadji, 2012).

2.1.3 Syarat Makanan Aman (Andriani & Wiratmadji, 2012).

Menurut ISO 22000 *Food Safety Management System*, ada tiga macam sifat bahaya yang dapat mempengaruhi makanan yang dikonsumsi, yaitu sebagai berikut:

2.1.3.1 Bahaya Secara Fisik

Bahaya secara fisik dapat terjadi akibat benda-benda fisik, jika pada saat makanan dikonsumsi atau benda tersebut dapat menyebabkan luka pada saluran pencernaan. Contohnya seperti kuku, pecahan kaca, logam, besi, kerikil, tanah, kayu, batu, kayu, dan perhiasan yang terbawa bersama makanan yang dikonsumsi.

2.1.3.2 Bahaya Secara Biologis

Bahaya secara biologi mengarah kepada keracunan makanan yang diakibatkan dari adanya aktivitas bakteri/mikroba yang mengkontaminasi pada produk makanan. Makanan sangat rentan tercemar terhadap mikroba, khususnya makanan yang berasal dari hewani yaitu susu, daging, telur dan produk turunannya. Jenis-jenis mikroba yang biasanya terdapat pada olahan makanan yaitu, bakteri, dan kapang (jamur). Roti yang sudah *expired* biasanya ditumbuhi jamur dan apabila dikonsumsi dapat menyebabkan keracunan ini disebabkan jamur tersebut dapat mengeluarkan toksin atau racun.

Makanan yang tidak aman apabila dikonsumsi dapat mengakibatkan gangguan kesehatan, adapun hal-hal yang dapat terjadi akibat mengkonsumsi makanan yang tidak aman adalah sebagai berikut:

- 2.1.3.2.1 Mikroba yang terkontaminasi dengan makanan kemudian masuk dalam tubuh, dan hidup serta berkembang biak sehingga dapat menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan (*food infection*).
- 2.1.3.2.2 Toksin atau racun yang dikeluarkan oleh mikroba pada makanan (*food poisoning*) dan peristiwa intoksikasi tidak selalu disertai dengan mikroba yang masuk ke dalam tubuh.
- 2.1.3.2.3 Unsur alami dan bahan kimia, contohnya cemaran pestisida, dalam singkong beracun terdapat HCN yang mengakibatkan muntah, mual, dan pusing), dan racun tetrodoksine yang terdapat pada ikan buntar (mengakibatkan pusing, sakit perut, gatal, dan mulut mati rasa).

2.1.3.3 Bahaya Secara Kimia

Terjadi karena terdapat kandungan zat kimia yang berbahaya pada produk makanan. zat kimia berbahaya adalah sebagai berikut:

- 2.1.3.3.1 Kandungan kimia yang terkontaminasi dari kemasan atau peralatan yang masuk ke makanan.

2.1.3.3.2 Penambahan zat/bahan kimia berbahaya yang disalahgunakan dalam produk makanan, contohnya pewarna tekstil (Rhodamin B dan *metanil yellow*,) dan pengawet (boraks dan formalin).

2.1.3.3.3 Cairan pembersih, pestisida, cat.

Bahannya dari bahan kimia yang masuk dalam tubuh dapat mengakibatkan efek secara akut dan kronis. Efek yang terjadi secara akut apabila efek dari kontaminasi bahan kimia terjadi secara langsung mempengaruhi kesehatan, seperti mual- mual, muntah, pusing, atau bahkan kematian. Efek yang terjadi secara kronis apabila kita terkontaminasi atau mengonsumsi bahan kimia tidak memberikan efek langsung, tetapi akan terkumpul terlebih dahulu didalam tubuh, sedangkan efek akan dirasakan setelah bertahun-tahun kedepan.

Terdapat tiga cara makanan terkontaminasi bahan kimia, yaitu:

1) Secara alami terdapat pada bahan makanan.

Ada beberapa makanan yang tak layak dikonsumsi karena mengandung zat yang berbahaya. Masyarakat biasanya mengenal sebagai racun pada bahan makanan, bukan hanya jamur beberapa bahan makanan seperti kacang-kacangan mengandung racun tertentu yang disebut aflatoksin.

2) Sengaja ditambahkan dalam makanan.

Bahan tambahan makanan sekarang banyak sekali ditambahkan dengan sengaja untuk memperbaiki *properties* dari produk makanan tersebut, diantaranya adalah pemanis, pengawet, pewarna, anti kempal, dan lain lain. Penambahan bahan kimia dalam pangan pada dasarnya diizinkan oleh regulasi asal memakai bahan-bahan yang telah disetujui oleh otoritas pemerintah, seperti BPOM, *FDA*, dan lembaga lainnya. Produsen makanan banyak menggunakan bahan tambahan yang dilarang dan seharusnya tidak dimasukkan kedalam makanan dengan alasan lebih murah dan mendapatkan untung yang lebih banyak.

- 3) Tidak sengaja ada dalam bahan makanan.

Lahan pertambangan dan pertanian yang tidak tepat adalah penyebab utama bahan kimia terdapat pada makanan. Penggunaan bahan kimia seperti insektisida, herbisida yang digunakan dalam pertanian, dan merkuri yang biasanya digunakan dalam pertambangan emas menyebabkan kontaminasi bahan kimia pada produk pangan.

2.2 Bahan Tambahan Pangan

Bahan tambahan pangan (BTP) atau dapat disebut juga dengan zat adiktif, (*food additive*) merupakan bahan yang digunakan untuk mempengaruhi makanan dengan tujuan tertentu, berikut ini merupakan penjelasan mengenai bahan tambahan pangan.

2.2.1 Definisi Bahan Tambahan Pangan

Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/Menkes/ Per/IX/88, menyatakan BTP merupakan bahan yang umumnya tidak dipakai sebagai makanan dan tidak termasuk komposisi dari makan, ciri makanan, tidak atau sedikit memiliki kandungan gizi, dan memang sengaja dimasukkan pada pangan/makanan tujuannya sebagai teknologi pada awal pengerjaan, mengolah bahan, penyediaan, pengepak, pembungkusan, perlakuan, cara menyimpan atau pengiriman makanan, agar menciptakan suatu komponen atau memengaruhi sifat khas dari makanan tersebut (Murdiati & Amaliah, 2013).

BTP ialah campuran bahan atau bahan alami tidak termasuk bagian dari bahan baku makanan, akan tetapi dimasukkan kedalam pangan agar mempengaruhi bentuk makanan atau sifat, antara lain bahan penyedap rasa, pengawet, anti penggumpalan, pengental dan pemucat (Praja, 2015), sedangkan menurut BPOM RI (2012) BTP ialah bahan yang masukkan pada makanan agar mempengaruhi bentuk atau sifat pangan.

2.2.2 Manfaat Bahan Tambahan Pangan (Sodhi, 2015)

Bahan tambahan pangan dengan sengaja ditambahkan kedalam makan tujuannya untuk mempengaruhi makanan tersebut, berikut ini adalah fungsi dari bahan tambahan makanan:

- 2.2.2.1. Untuk melindungi atau memperbaiki kualitas nutrisi makanan, contohnya yaitu penambahan vitamin A dan D kedalam margarin.
- 2.2.2.2. Untuk menjaga masa simpan dan mengurangi pembuangan akibat kerusakan pada makanan, sebagai contohnya yaitu kalsium propionate digunakan untuk menjaga roti agar tidak cepat basi.
- 2.2.2.3. Untuk membuat makanan siap saji dan dapat dikonsumsi disepanjang tahun serta dapat tersedia disetiap negara.
- 2.2.2.4. Untuk menjaga mutu makanan, contohnya penambahan tepung jagung pada serbuk gula yang bertujuan untuk mencegah penggumpalan.
- 2.2.2.5. Untuk mempermudah pembuatan makanan sehingga lebih cepat dan nyaman, sebagai contohnya pemakaian zat tambahan fosfat didalam produk misalnya *pudding* instan.
- 2.2.2.6. Untuk menghasilkan makanan yang lebih menarik, contohnya menambahkan pewarna dan aroma buatan.

2.2.3 Penggolongan Bahan Tambahan Pangan

Bahan tambahan pangan dibagi menjadi beberapa golongan, yaitu:

2.2.3.1 Pengawet (*Preservative*)

Pengawet merupakan bahan kimia yang mampu memperlambat/menghambat perubahan yang tidak diinginkan pada pangan (BPOM RI, 2012). Perubahan ini biasanya disebabkan oleh bakteri, kapang dan ragi, Zat tambahan dapat mempengaruhi aktivitas enzim, membran sel, atau mekanisme genetik pada mikroorganisme yang bisa merusak makanan. Pengawet makanan juga termasuk fumigan, contohnya etilen dioksida yang digunakan

untuk mengontrol mikroorganisme pada makanan dan mencegah enzim yang bisa membuat sayur-sayuran atau buah-buahan menjadi kecoklatan (Sodhi, 2015).

Jenis BTP Pengawet yang bisa dipakai adalah sebagai berikut:

- 1) Asam benzoat dan garamnya
- 2) Asam propionat dan garamnya
- 3) Asam sorbat dan garamnya
- 4) Kalsium propionat
- 5) Dietilpirokarbonat
- 6) Natrium benzoat

(Sodhi, 2015).

2.2.3.2 Pemanis (*Sweetener*)

Pemanis adalah senyawa kimia yang biasanya dipakai untuk produk pangan, minuman dan makanan kesehatan serta industri. Pemanis digunakan agar berfungsi meningkatkan aroma dan cita rasa serta dapat berfungsi untuk mengontrol pemeliharaan penurunan dan penambahan berat badan (Praja, 2015).

2.2.3.2.1 Pemanis alami dapat dihasilkan pada tumbuhan yaitu seperti tebu, aren dan kelapa, selain itu pemanis alami juga dapat dihasilkan dari buah-buahan dan dari hewan contohnya madu. Pemanis alami digunakan untuk meningkatkan aroma dan cita rasa manis, sebagai pengawet, memperbaiki sifat fisik, dan memperbaiki sifat kimia juga sebagai sumber kalori terhadap tubuh. Orang-orang yang mengalami obesitas sebaiknya menghindari konsumsi minuman atau makanan yang tinggi kandungan pemanis alaminya. Contoh pemanis alami yaitu gula merah, gula pasir, gula tebu dan madu (Murdiati & Amaliah, 2013).

2.2.3.2.2 Pemanis buatan merupakan pemanis yang diperoleh melalui proses kimia. Manfaat dari pemanis buatan yaitu dapat mengembangkan macam makanan dan minuman

dengan jumlah kalori yang terkontrol, memantau program dalam perawatan, mengurangi resiko kerusakan pada gigi dan merupakan bahan tambahan pemanis utama (Murdiati & Amaliah, 2013). Pemanis buatan memiliki kalori yang rendah sehingga cocok digunakan saat diet dan telah terbukti dapat mengontrol berat badan dan juga cocok untuk penderita diabetes atau kencing manis. Pemanis buatan banyak digunakan pada pabrik minuman ringan. Zat-zat ini juga digunakan pada buah beku, buah kaleng, dan salad (Sodhi, 2015).

Dibawah ini adalah tabel dengan tingkat kemanisan dari bahan pemanis

Tabel 2.1 Tingkat kemanisan relatif dari berbagai bahan pemanis

Nama Pemanis	Kemanisan Relatif*
Laktosa (Gula Susu)	16
Glukosa (Gula Darah)	74
Sukrosa (Gula Tebu)	100
Fruktosa (Gula Buah)	173
Siklamat	3.000
Asfartam	18.000
Asesulfarm	20.000
Sakarín	50.000
P-400	400.000

Sumber : Murdiati & Amaliah (2013)

2.2.3.3 Pewarna (*Colour*)

Pewarna merupakan BTP yang digunakan bertujuan agar memperbaiki/memberi warna pada makanan agar produk makanan terlihat lebih menarik (Praja, 2015). Menurut Murdiati & Amaliah (2013) alasan utama penggunaan zat warna pada makanan adalah sebagai berikut:

1. Untuk terlihat menarik bagi konsumen.
2. Untuk membuat identitas produk pangan dan menyeragamkan warna makanan.

3. Untuk memperbaiki warna atau agar menstabilkan variasi alami pada warna.
4. Untuk menutupi perubahan pada warna yang dapat terjadi akibat pengaruh paparan cahaya, udara, atau suhu ekstrem akibat dari proses pembuatan dan pada saat penyimpanan.

Pewarna makanan sudah digunakan sejak zaman nenek moyang tetapi pewarna yang dipakai berasal dari tumbuhan seperti kunyit, saffron dan karamel, seiring berjalannya waktu produk olahan makanan semakin banyak sehingga menyebabkan permintaan besar pada warna hanya bisa dibuat dengan menggunakan bahan pewarna sintesis (Sodhi, 2015). Pemanis terdiri dari 2 macam ialah sebagai berikut:

2.2.3.3.1 Pewarna Alami (*Natural food colour*) merupakan pewarna pada makanan yang diolah dengan proses isolasi, ekstraksi atau sintesis parsial (derivatisasi) dari hewan, mineral, tumbuhan, dan sumber alami lain, berikut ini adalah contoh pewarna alami:

- 1) Ekstrak *cochineal* dan Karmin CI. No. 75470 (*Carmines and cochineal extract*)
- 2) Klorofil CI. No. 75810 (*Chlorophyll*)
- 3) Kurkumin CI. No. 75300 (*Curcumin*)
- 4) Karbon tanaman CI. 77266 (*Vegetable carbon*)
- 5) Karamel I (*Caramel I – plain*)
- 6) Karotenoid (*Carotenoids*)
- 7) Beta-karoten CI. No. 75130 (*Carotenes, beta (vegetable)*)
- 8) Antosianin (*Anthocyanins*)
- 9) Merah bit (*Beet red*)

(BPOM RI, 2012)

2.2.3.3.2 Pewarna Sintetis (*Synthetic food colour*) merupakan pewarna yang digunakan pada pangan yang didapat dari sintesis kimiawi (BPOM RI, 2012). Pewarna sintesis umumnya

mempunyai yang lebih kuat, warna yang dihasilkan seragam dan harga yang lebih murah dari pewarna alami, selain itu dalam banyak kasus warna dari bahan alami kurang banyak dan ada warna-warna tidak dapat dihasilkan dari pewarna alami sehingga dibuatlah pewarna sintetis. Zat-zat ini banyak digunakan pada produk makanan seperti permen, kue kering, kue basah dan minuman segar (Sodhi, 2015). Berikut adalah contoh pewarna alami:

- 1) Tartrazin CI. No. 19140 (*Tartrazine*)
 - 2) Hijau FCF CI. No. 42053 (*Fast green FCF*)
 - 3) Merah allura CI. No. 16035 (*Allura red AC*)
 - 4) Biru berlian (*Fast blue FCF*)
- (BPOM RI, 2012)

2.2.3.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan BTP yang berfungsi menghindari atau menghambat proses oksidasi lemak, untuk menghindari ketengikan (Praja, 2015). Tanpa adanya anti-oksidan, kecap asin, wafer kentang, dan sereal tidak akan mampu bertahan lama (Sodhi, 2015). Contoh dari antioksidan yaitu:

- 1) Hidroksianisol terbulasi (BHA)
 - 2) Hidroksitoluena terbutilasi (BTH)
 - 3) Propil galat
- (Sodhi, 2015).

2.2.3.5 Anti Kempal

Anti kempal yaitu BTP yang digunakan untuk menghindari terjadinya penggumpalan pada makanan serbuk, bubuk atau tepung. Contoh dari anti kempal ini yaitu kalium silikat (Praja, 2015).

2.2.3.6 Penyedap Rasa, Penguat Rasa, dan Aroma

BTP ini bertujuan untuk menambah, atau memberikan menguatkan aroma dan rasa (Praja, 2015). Penambah rasa penting untuk menambah kenikmatan makanan, pada pembuatan makanan dilakukan penambahan rasa buatan untuk melengkapi rasa yang hilang atau sebagian hilang akibat dari berbagai proses pembuatan makanan modern. Contohnya penambahan vanillin bertujuan untuk memberi rasa vanilla dalam makanan dan metil antranilat menciptakan rasa anggur, sedangkan etil butirir memberikan rasa nanas. Zat-zat penambah rasa dan aroma ini biasanya digunakan dalam pastri, *puding*, minuman ringan dan es krim (Sodhi, 2015). Contoh zat yang sering digunakan ialah:

- 1) Mononatrium Glutamat (MSG)
- 2) Vanilin
- 3) Etil butirir
- 4) Metil antranilat

(Sodhi, 2015).

2.2.3.7 Asidulan

Asidulan adalah asam (kebanyakan berupa asam organik) yang mampu menetralkan, dan mengasamkan serta mempertahankan derajat asam pada makanan (Praja, 2015). Asam ini tujuan untuk mengontrol pH, meningkatkan rasa, menjaga viskositas, membantu antioksidasi, menjaga keawetan daging, dan menjaga kekerasan buah. Asam organik umumnya ditambahkan pada jus ketela, buah, dan keju. Contoh asidulan yaitu asam laktat, asam sitrat dan asam fosfat (Sodhi, 2015).

2.2.3.8 Sekuestran

Sekuestran merupakan BTP yang digunakan agar mengikat ion logam yang dapat menyebabkan kerusakan dalam makanan, jika ion logam seperti besi dan tembaga terdapat pada makanan olahan

yang mengkatalisis reaksi oksidasi sehingga dapat menyebabkan rasa tengik pada produk makanan. Ion ini juga masuk ke dalam berbagai reaksi makanan. Penangkap logam ini biasanya merupakan agen kelat. Contohnya, asam tetraasetat, etilendiamin (EDTA), asam sitrat, dan asam adipat. Zat-zat ini digunakan pada salad, mentega, dan minyak goreng (Praja, 2015).

2.2.3.9 Zat Aktif Permukaan

Zat tambahan ini meliputi zat pengemulsi, pembasah, dan pelubrikan. Lesitin, monogliserida dan digliserida adalah zat aktif permukaan yang sering digunakan. Tujuan ditambahkan zat ini ke dalam bahan-bahan kue agar makanan segar dalam waktu tahan lama dan mempunyai bentuk yang lebih baik (Sodhi, 2015).

2.2.3.10 Penstabil dan Pengental

Reagen ini berfungsi untuk menstabilkan dan mengentalkan makanan atau minuman dengan cara dicampur air untuk meningkatkan viskositas dan bentuk jel susu. Jenis makanan umum yang mengandung zat tambahan ini yaitu saus, lapisan atas kue, sosis, isi pie, dan minuman susu coklat. Contoh dari penstabil atau pengental meliputi karagenan, karboksimetilselulosa (CMC), gelatin, amilosa, dan pektin (Sodhi, 2015).

2.2.3.11 Zat Pemutih dan Pematang

Reagen ini fungsinya tidak hanya sebagai memutihkan produk makanan menjadi tidak berwarna atau putih, tetapi juga dapat meningkatkan tampilan dari produk makanan tersebut. Contohnya, pada tepung giling baru memiliki warna kekuningan sehingga kualitas kue yang kurang optimal, baik dari segi warna maupun sifat-sifat kue tersebut memperbaiki penyimpanan normal secara lambat. Penambahan benzoil peroksida yang bertindak sebagai zat pemutih dan pematang dapat memperbaiki kekurangan dari kue

tersebut. Zat yang biasa digunakan untuk memutihkan roti dan membuatnya menjadi berpenampilan lebih menarik ialah iodat dan bromat (Sodhi, 2015).

2.2.3.12 Suplemen Alami

Suplemen adalah zat yang ada secara alami yang masukkan pada produk makanan bertujuan agar nilai makanan meningkatkan. Contohnya, vitamin B, besi, dan kalsium ditambahkan ke dalam produk sereal; vitamin A ditambahkan ke dalam margarin; vitamin C ke dalam jus buah; iodium ke dalam garam (Sodhi, 2015).

2.3 Rhodamin B

Rhodamin B biasanya digunakan sebagai pewarna tekstil, kertas dan cat dan dilarang penggunaannya pada makanan. Berikut ini merupakan penjelasan dari Rhodamin B:

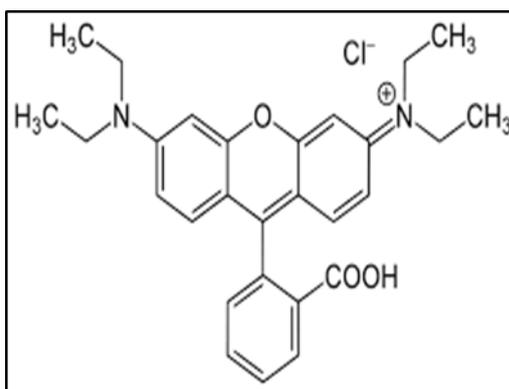
2.3.1 Definisi Bahan

Rhodamin B adalah zat pewarna buatan, biasanya dipakai untuk pewarna pada tekstil. Menurut Peraturan Pemerintah RI No.28, Tahun 2004, zat warna Rhodamin B termasuk zat yang penggunaannya dilarang apabila ditambahkan pada produk makanan (Praja, 2015). Pemerintah telah melarang penggunaan Rhodamin B tetapi masih banyak dijumpai penyalahgunaannya dalam makanan terutama pada makanan yang memiliki warna merah terang. Saus tomat adalah salah satu produk makanan yang sering sekali ditemukan mengandung Rhodamin B didalamnya yang ditambahkan oleh produsen yang tidak bertanggung jawab (Wijaya, 2011). Makanan yang mengandung zat Rhodamin B jika tertelan dan masuk kedalam tubuh senyawa ini akan mengikat senyawa lain dan berupaya mencapai kestabilan, sehingga hal ini dapat bersifat toksik didalam tubuh. $\text{CH}_3\text{-CH}_3$ merupakan senyawa pengkalis yang dimiliki oleh Rhodamin B dan bersifat radikal sehingga mampu

berikatan pada lemak, DNA, dan protein dalam tubuh (Situmorang & Silitonga, 2015).

Produk yang mengandung Rhodamin B memiliki ciri-ciri lebih mencolok dan warnanya cerah mengkilap, warnanya sering terlihat tidak homogen/tidak merata, pada produk terdapat gumpalan warna biasanya ditemukan dalam produk yang tidak menyertakan merek, kode, label, informasi kandungan dan identitas lainnya (Purniati, dkk., 2015). Paparan Rhodamin B dapat mengakibatkan iritasi mata, kulit, saluran pernafasan, saluran pencernaan, keracunan dan gangguan hati, serta dapat mengakibatkan tumor dan kanker dalam jangka waktu yang panjang (Winarno & Rahayu, 2004).

2.3.2 Uraian Bahan



Gambar 2.1 Struktur Rhodamin B (*Tetraethyl Rhodamine*)
Sumber: Praja (2015)

Nama Kimia	: [9-(<i>o</i> -carboxyphenyl)-6-diethylamino]-3H-xanten-3-ylidene] diethylammonium chloride. (Chemspider)
Nama Lazim	: Rhodamin B Clorida; <i>Tetraethylrhodamine</i> , <i>Rhodamine B</i> , D dan <i>Red No. 19 C.I Basic Violet 10</i> ; C.I 45179 (Yuliarti, 2007)
Rumus Kimia	: C ₂₈ H ₃₁ C ₁ N ₂ O ₃ (Chemspider)
BM	: 479,010 (Chemspider)

Pemerian	: Berbentuk serbuk ungu kemerah-merahan atau kristal hijau (Praja, 2015). Tidak berbau, berbentuk kristal dan berwarna merah terang berpendar (berfluorensi) (Yuliarti, 2007).
Kelarutan	: Mudah sekali larut pada air, membentuk warna merah kebiruan dan berfluorensi kuat. Larut pada NaOH, HCl dan alkohol. Rhodamin B memiliki kelarutan 50 g/L pada air, namun kelarutan pada cairan asam asetat yaitu 400 g/L. (Praja, 2015).
Penggunaan	: Pewarna tekstil, kertas, dan reagen untuk pengujian antimoni, kobalt, dan bismut (Yuliarti, 2007).

2.3.3 Karakteristik

Rhodamin B umumnya berbentuk kristal, tidak memiliki bau dan berwarna ungu kemerahan atau berwarna ungu kemerahan atau berwarna hijau, berwarna merah terang (berfluoresensi) jika dalam bentuk cairan (Gresshma & Reject, 2012). Rhodamin B zat pewarna tekstil yang biasanya digunakan dalam industri tekstil, kertas dan cat. Pewarna ini beredar di pasar selain menghasilkan warna yang lebih terang dan harganya lebih murah jika dibandingkan dengan pewarna makanan pada umumnya (Mamoto, dkk., 2013).

2.3.4 Dampak Bagi Kesehatan

Rhodamin B merupakan bahan kimia berbahaya penggunaannya dalam makanan pada waktu berjangka panjang (kronis) sehingga dapat menyebabkan kanker dan gangguan fungsi hati. Akibat paparan Rhodamin B pada dosis yang besar dengan waktu relatif cepat (akut) dapat mengakibatkan indikasi seperti keracunan, iritasi pada kulit, iritasi saluran pernapasan, iritasi mata dan iritasi

pada saluran pencernaan (Praja, 2015). Menurut Praja (2015), bahaya apabila tertelan, terserap melalui kulit atau terhisap pernapasan. Toksisitasnya ialah *ORL-RAT LDLO* 500 Mg kg⁻¹. Tanda gejala akut apabila terpapar Rhodamin B yaitu:

- 1) Apabila mengenai kulit dapat mengakibatkan iritasi pada kulit.
- 2) Apabila mengenai mata dapat mengakibatkan mata kemerahan, iritasi mata dan udem dikelopak mata.
- 3) Apabila tertelan bisa mengakibatkan gejala keracunan dan urin berubah menjadi merah atau merah muda.
- 4) Apabila terhirup bisa mengakibatkan iritasi pada saluran pernafasan.

(Praja, 2015).

Penanganan yang harus dilakukan jika tertelan Rhodamin B dan menimbulkan gejala akut dianjurkan untuk segera berkumur, periksa mulut dan bibir apabila mengenai zat beracun dan apabila muntah, lakukan posisi kepala lebih rendah dibandingkan pinggul agar menghindari masuk muntahan kedalam saluran pernapasan (aspirasi paru), kendorkan dasi, pakaian serta ikat pinggang guna memperlancar pernapasan dan bawa ke rumah sakit sesegera mungkin atau bawa kedokter terdekat untuk penanganan selanjutnya (Tarmizi, 2014).

2.4 Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri merupakan salah satu metode yang digunakan dalam ilmu kimia analisis umumnya berfungsi untuk menetapkan kandungan pada suatu sampel dengan cara kuantitatif ataupun kualitatif.

2.4.1 Pengertian Spektrofotometri UV-Vis

Alat pengukur absorban atau transmitan suatu sampel yang memiliki fungsi panjang gelombang disebut Spektrofotometer. Spektrofotometer adalah kombinasi dari alat optik dan elektronika serta sifat-sifat fisik kimianya. Intensitas cahaya yang diteruskan

akan diukur oleh detektor secara tidak langsung dari cahaya yang diserap. Cahaya akan diabsorpsi oleh media dengan panjang gelombang tertentu tergantung pada zat/senyawa ataupun dari warna yang terbentuk (Sembiring, dkk., 2019). Spektrofotometri dapat yang memberi informasi mengenai intensitas sinar diserap atau transmittan sebagai fungsi panjang gelombang (Gandjar & Rohman, 2018).

Spektrofotometer yang cocok berfungsi mengukur didaerah spektrum sinar tampak (*visible*) dan ultraviolet yang tersusun dari suatu sistem optik dan diperoleh sinar monokromatis pada panjang jangkauan gelombang berkisar 200-800 nm. Sumber sinar UV bisa didapat dari lampu deuterium. Deuterium adalah isotop hidrogen yang stabil namun dapat menyebabkan limbah di laut dan daratan (Nazar, 2018).

Spektrofotometer UV-*Vis* adalah perpaduan dari prinsip spektrofotometri UV dan *Visible*. Spektrofotometri mempunyai 2 sumber cahaya yang berlainan yaitu sumber cahaya ultraviolet (UV) dan sumber cahaya *Visible*. Larutan sampel yang akan dianalisis atau diukur dengan menggunakan sinar tampaknya atau serapan sinar UV. Jumlah sinar yang diabsorpsi oleh zat yang ada dalam larutan akan sama dengan konsentrasi larutan sampel yang dianalisis. Spektrofotometer UV-*Vis* mengacu kepada hukum Lambert-Beer (Sembiring, dkk., 2019).

2.4.2 Bagian-Bagian Cahaya

Cahaya pada spektrofotometri UV-*Vis* dibagi beberapa bagian, dibawah ini merupakan pembagian cahaya pada spektrofotometri UV-*Vis*:

2.4.2.1 Sumber Cahaya

Spektrofotometer sumber cahayanya harus mempunyai intensitas yang tinggi serta pancaran radiasi yang konsisten (Sembiring, dkk., 2019). Berikut ini merupakan sumber cahaya spektrofotometer yaitu:

2.4.2.1.1 Lampu Tungsten

Lampu tungsten memiliki berfungsi mengukur sampel didaerah tampak. Lampu tungsten mempunyai bentuk yang nampak sama dengan bola lampu pijar biasanya dan memiliki panjang gelombang sekitar 350 sampai 2200 nm yang. Spektrum radiasinya yaitu garis melengkung, dan biasanya mempunyai waktu pemakaian 1000 jam (Sembiring, dkk., 2019).

2.4.2.1.2 Lampu Deuterium

Lampu deuterium digunakan dengan panjang gelombang 190 hingga 380 nm dan spektrum radiasinya memiliki bentuk lurus dan dipakai dengan tujuan mengukur sampel yang berada didaerah UV. Lampu ini memiliki waktu 500 jam pemakaian (Sembiring, dkk., 2019).

Sumber sinar yang ideal pada suatu instrumen spektrofotometer UV-Vis harus memenuhi syarat, adapun syarat-syaratnya adalah:

- 1) Sumber sinar mampu mencakup semua kisaran pengukuran di daerah UV-Vis
- 2) Sumber sinar mempunyai intensitas sinar yang kuat dan stabil pada keseluruhan kisaran panjang gelombang, sehingga penguatan sinyal yang ekstensif dari detektor dapat dihindari

- 3) Intensitas sumber sinar tidak boleh bervariasi secara signifikan pada panjang gelombang yang berbeda
- 4) Intensitas sumber sinar tidak berfluktuasi (naik turun) pada kisaran waktu yang lama
- 5) Intensitas sumber sinar tidak berfluktuasi (naik turun) pada kisaran waktu yang singkat, fluktuasi dalam jangka waktu yang singkat ini disebut dengan *flicker* (Nazar, 2018)

2.4.2.2 Monokromator

Alat ini dapat memecahkan cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis (tunggal) pada panjang gelombang tertentu (Sembiring, dkk., 2019). Ada 4 bagian-bagian monokromator, yaitu:

2.4.2.2.1 Prisma

Prisma ini untuk mendispersi radiasi elektromagnetik sebanyak-banyaknya agar diperoleh resolusi yang bagus dari radiasi polikromatik (Sembiring, dkk., 2019).

2.4.2.2.2 Grating (Kisi Difraksi)

Grating memberikan kelebihan pada proses spektroskopi. Pengiriman dispersi sinar secara merata dengan pendispersi yang sama, dan dispersi yang diperoleh akan lebih bagus. *Grating* ini juga dipakai dalam semua jangkauan spektrum (Sembiring, dkk., 2019).

2.4.2.2.3 Celah Optis

Celah optis ini dipakai agar memancarkan sinar tunggal (monokromatis) yang diperlukan dari sumber radiasi. Jika sudah ada diposisi yang tepat, radiasi ini akan dirotasikan melewati prisma, hingga didapat panjang gelombang yang diinginkan (Sembiring, dkk., 2019).

2.4.2.2.4 Filter

Filter digunakan untuk mengabsorpsi warna komplementer sampai sinar yang dipancarkan adalah sinar yang berwarna sesuai dengan panjang gelombang yang ditentukan (Sembiring, 2019).

2.4.2.3 Kompartemen Sampel

Kompartemen sampel berfungsi untuk meletakkan kuvet, sedangkan kuvet adalah wadah yang dipakai untuk meletakkan sampel yang nantinya dianalisis. Spektrofotometri *double beam* memiliki 2 wadah kuvet. Kuvet satu berfungsi untuk meletakkan sampel dan kuvet lain berfungsi sebagai tempat meletakkan blangko. Sampel ini digunakan sebagai wadah untuk menaruh sampel (Sembiring, dkk., 2019). Menurut Sembiring, dkk., (2019), syarat-syarat kuvet yang baik adalah sebagai berikut :

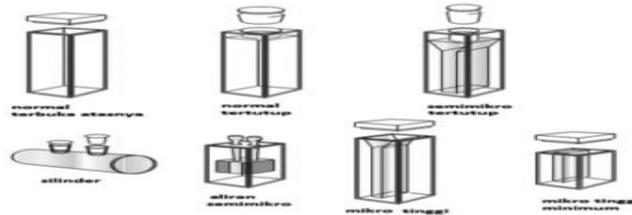
- 1) Kuvet tidak memiliki warna atau bening hingga semua sinar dapat dikirimkan
- 2) Permukaan kuvet harus rata secara optis
- 3) Kuvet tidak bereaksi pada bahan-bahan kimia
- 4) Kuvet memiliki bentuk yang sederhana
- 5) Kuvet tidak rapuh

Kuvet memiliki jenis dan bentuk sesuai dengan spektrofotometrinya, biasanya pada pengukuran dengan UV kuvet yang dipakai bahannya dari kuarsa atau *plexiglass* karna jika kuvet terbuat dari kaca maka tidak mampu menyerap sinar UV, jadi penggunaannya tidak bisa dipakai pada saat pengukuran dengan UV. Bahan kuvet ditentukan sesuai pada daerah panjang gelombang yang dipakai, ini bertujuan agar dapat melewati daerah tersebut (Sembiring, dkk., 2019).

- 1) UV : kuarsa, *fused silica*
- 2) *Visible* : gelas biasa, plastik atau silika

3) IR : IRTRAN, NaCl, KBr ataupun kristal yang berasal dari ion

(Sembiring, dkk., 2019).



Gambar 2.2 Jenis-jenis kuvet yang tersedia dipasaran
Sumber: Gandjar & Rohman (2018).

2.4.2.4 Detektor

Cahaya yang dipancarkan dari larutan akan ditangkap oleh detektor, kemudian cahaya diterjemahkan berupa sinyal listrik pada amplifier serta direkorder dan disajikan dalam bentuk berupa angka-angka dikomputer (Sembiring, dkk., 2019). Syarat untuk detektor yang baik adalah:

- 1) Detektor memiliki respon yang tetap pada macam-macam panjang gelombang.
- 2) Sinyal listrik yang didapatkan harus sama dengan tenaga radiasi.
- 3) Detektor memiliki daya respon yang cepat dan sinyalnya minimum tanpa ada radiasi.
- 4) Detektor memiliki tingkat kepekaan yang tinggi.

(Sembiring, dkk., 2019).

2.4.2.5 Visual Display

Visual display adalah komponen pembaca yang menunjukkan besaran isyarat listrik, dan pernyataanya dalam bentuk % absorbansi ataupun transmittan (Sembiring, dkk., 2019).

2.5. Validasi Metode

Validasi merupakan konfirmasi bahwa metode analisis yang dilaksanakan sesuai dengan tujuan yang diharapkan, melalui pengadaan bukti dan pengujian secara objektif. Tujuan dilakukannya agar bisa meyakinkan bahwa pada metode tersebut sudah memenuhi syarat dalam penggunaannya (Rohman, 2014).

2.5.1 Parameter Validasi Metode

Dalam validasi metode analisis ada beberapa parameter analisis yang wajib diperhatikan yaitu :

2.5.1.1 Kecermatan (*Accuracy*)

Akurasi ialah hasil yang memperlihatkan derajat kedekatan hasil dari analisa pada kadar analit yang sesungguhnya. Akurasi disajikan dalam bentuk persentase *recovery* (perolehan kembali) dari analit yang ditambahkan (Rohman, 2014).

2.5.1.2 Keseksamaan (*Precision*)

Presisi merupakan bentuk yang menampilkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, pengukuran melewati penyebaran hasil individual dari lazimnya apabila tata cara dilaksanakan berulang pada tiap sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004). Pembagian presisi ada 3 tingkat lagi, yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), dan reproduisibilitas (*reproducibility*). Keterulangan adalah presisi yang dikerjakan secara berulang pada keadaan yang sama secara peralatan, tempat, orang, serta waktunya. Presisi antara ialah presisi pada keadaan percobaan dimana terjadi perbedaan disalah satunya, baik secara peralatan, tempat, orang, serta waktunya. Ketertiruan atau reproduisibilitas mengukur presisi antar laboratorium seperti pada studi uji banding antar laboratorium atau studi-studi kolaboratif serta uji profiensi

(Rohman, 2014). Nilai pada presisi ditentukan dengan membandingkan *Coefficient variation (CV)* atau *Relative Standard Deviation (RSD)* dengan syarat keberterimaan, dikatakan presisi jika nilai %*RSD* pada metode adalah $\leq 2\%$ (Harmita, 2004).

2.5.1.3 Selektivitas (*Spesifisitas*)

Selektivitas biasanya sering dikatakan sebagai *degree of bias* (derajat penyimpangan) metode dilakukan kesampel yang memiliki kandungan bahan tambahan berupa hasil cemaran, uraian, senyawa asing dan serupa lainnya, lalu dilakukan perbandingan pada hasil analisa sampel yang tidak memiliki kandungan bahan tambahan lainnya (Harmita, 2004). Menurut Rohman (2014), ada dua tujuan spesifisitas, yaitu:

2.5.1.3.1 Uji Identifikasi

Spesifisitas tujuannya yaitu untuk menunjukkan kemampuan metode analisis dalam membedakan senyawa yang memiliki struktur molekulnya mirip atau hampir sama.

2.5.1.3.2 Uji Kemurnian

Spesifisitas tujuannya yaitu menunjukkan daya pisah antara dua senyawa yang berdekatan. Senyawa tersebut umumnya merupakan suatu pengotor dan komponen aktif, jika suatu pengujian terdapat pengotor maka pengotor tersebut tidak boleh mempengaruhi metode uji.

2.5.1.4 Linearitas dan Rentang

Linearitas merupakan suatu cara analisis sebagai kemampuan (dalam kisaran tertentu) untuk mendapatkan variabel data yang sebanding lurus dengan konsentrasi (jumlah analit) pada

sampel. Variabel data yang dapat dipakai untuk kuantisasi analit yaitu area puncak, ketinggian puncak, atau rasio luas puncak (tinggi) dari analit ke puncak internal standar. Linearitas biasanya ditunjukkan secara langsung dengan mengencerkan larutan baku induk, disarankan agar melakukan pengenceran secara serial terhadap larutan baku induk pada uji linearitas ini, fungsinya untuk mengurangi kesalahan penimbangan jika dilakukan dengan berat baku yang berbeda. Linearitas paling baik diuji dengan pemeriksaan visual pada suatu plot yang menerangkan hubungan antara fungsi konsentrasi analit dengan sinyal yang diukur (luas puncak, absorbansi, area dibawah kurva, atau tinggi puncak). Penetapan pada kadar, linearitas dapat diterima jika nilai koefisien korelasi $\geq 0,997$ (Chan, dkk., 2004).

2.5.1.5 **Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi**

Limit of detection (LoD) atau batas deteksi adalah jumlah paling kecil analit pada sampel yang mampu diidentifikasi dan masih memberikan respon yang signifikan dibanding dengan blangko. Batas kuantifikasi atau *limit of quantification (LoQ)* adalah parameter batas uji, sedangkan batas kuantitasi adalah parameter dalam analisis renik dan artinya sebagai kuantitas terkecil analit pada sampel yang masih bisa memenuhi kriteria keseksamaan dan kecermatan (Harmita, 2004).

2.5.1.6 **Ketahanan (*Robustness*)**

Ketahanan adalah kemampuan metode analisis agar tidak dipengaruhi akibat adanya macam-macam parameter metode yang kecil. Evaluasi ketahanan dalam metode analisis dengan mengerjakan variasi parameter, yaitu persentase pH, pelarut

organik, suhu, kekuatan ionik, dan lainnya. Pengujian yang baik melakukan evaluasi ketahanan metode dengan memvariasikan parameter penting pada suatu metode dengan sistematis dan pada pemisahan diukur pengaruhnya (Rohman, 2014).

2.5.1.7 Kekasaran (*Ruggedness*)

Kekasaran adalah tingkat kemampuan dari suatu hasil pengujian secara berulang dengan akurat pada pengujian yang sama (reproduksibilitas) dari hasil yang didapat pada bermacam-macam kondisi meliputi alat, reagen, laboratorium, waktu percobaan, serta analisis yang berbeda. Kekasaran metode ditentukan dengan kondisi-kondisi percobaan yang kritis, yaitu pengaruh operasionalisasi metode pada laboratorium atau pengaruh perbedaan dari kolom kromatografi (pabrik dan jenisnya sama), dan dalam hal tersebut harus dijaga semua faktor agar tetap stabil seperti pada reagen dan fase gerak yang dipakai (Rohman, 2014).

2.6 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) dikembangkan untuk pertama kalinya oleh Schraiber dan Izmailoff ditahun 1938. KLT memiliki fase diam yang berupa susunan *uniform* (van seragam) dipermukaan bidang yang datar didukung oleh lempengan kaca, plat plastik atau plat aluminium. Fase gerak biasanya diketahui sebagai pelarut pengembang yang akan bergerak pada sepanjang fase diam akibat pengaruh dari kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau akibat pengaruh dari gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Rohman, 2013).

KLT pada pengerjaannya lebih simpel dan biaya yang digunakan lebih hemat jika disandingkan dengan menggunakan kromatografi

kolom, keuntungan lainnya pada KLT peralatan yang dipakai juga lebih sederhana (Rohman, 2013).

2.6.1 Bagian-Bagian Kromatografi Lapis Tipis (Kristanti, dkk., 2019)

Metode kromatografi lapis tipis (KLT) pada penggunaannya ada beberapa bagian yang harus diperhatikan yaitu sebagai berikut:

2.6.1.1 Bejana

kromatografi pada umumnya bejana yang digunakan terbuat dari bahan kaca dalam bentuk yang bermacam-macam dan harus dilengkapi tutup yang rapat. (Lihat Gambar 2.3)



Gambar 2.3 Model bejana kromatografi
Sumber: Kristanti, dkk., (2019)

2.6.1.2 Fase Diam

Fase diam yang berbentuk selapis lapisan tipis (0,25 mm) adsorben atau silika gel lainnya (misal :kieselguhr, alumina dan selulosa) dilapis dengan sepotong plastik, kaca, ataupun aluminium dengan bantuan sebuah penghubung, misalnya tepung kanji, CaSO_4 anhidrat ataupun suatu polimer organik.

2.6.1.3 Sampel

Sampel yaitu larutan encer (2 hingga 5%) diambil sebanyak satu mikroliter, campuran ditotolkan disuatu titik pada fase diam (dengan pipa kapiler) dan titik itu berada pada atas batas pelarut. Konsentrasi sampel yang ditotol sangat pekat

maka akan mengakibatkan timbulnya *tailing*. Makanya, konsentrasi bahan yang ditotol harus pas agar mendapatkan hasil bercak yang bagus.

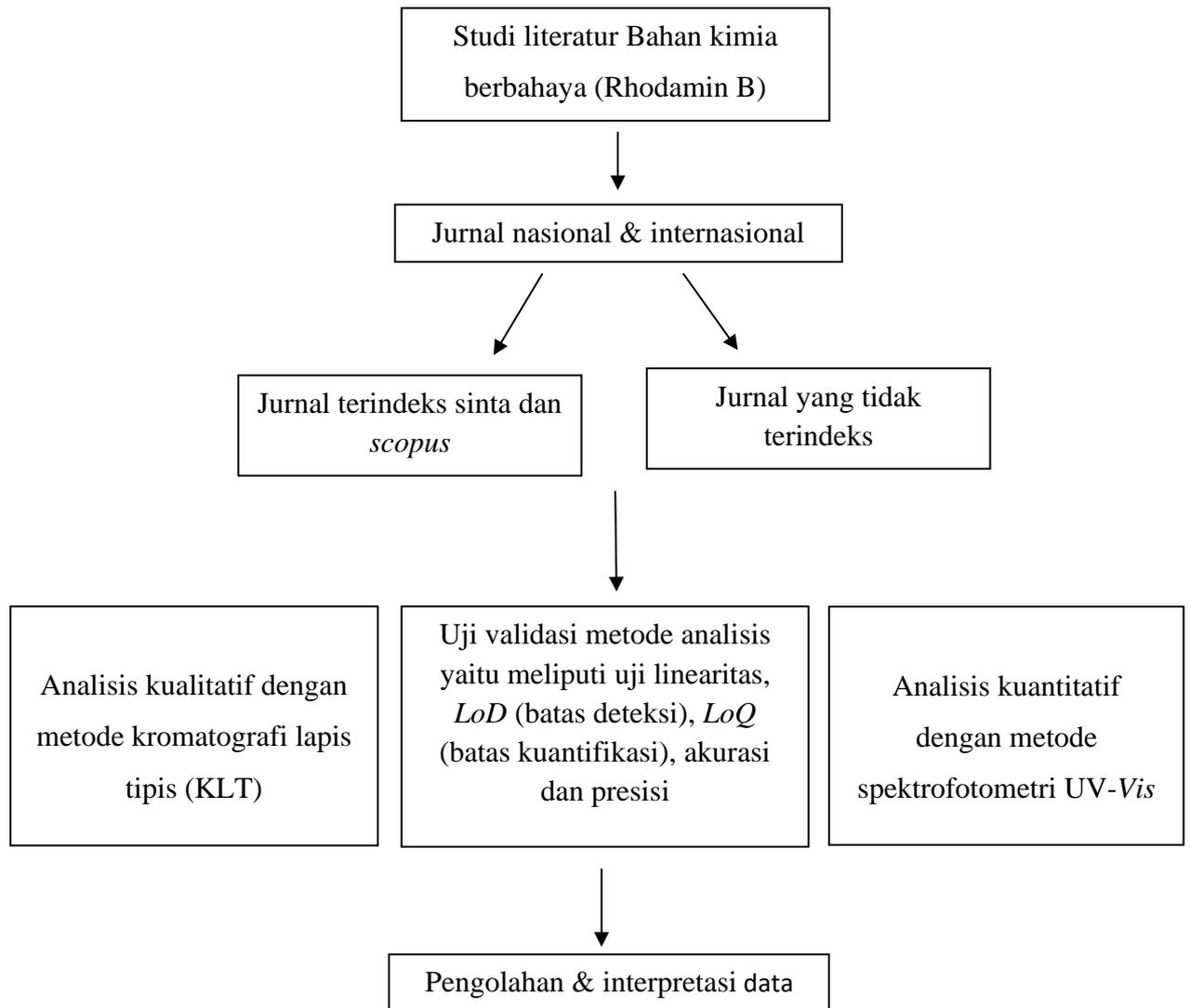
2.6.1.4 Fase Gerak

Solvent (pelarut) atau disebut juga eluen campuran atau murni yang nantinya mengelusi berbagai senyawa yang terkandung pada sampel disepanjang fase diam. Dibawah ini yang perlu dicermati jika memilih eluen :

1. Eluen yang memiliki sifat sangat polar dapat mengelusi segala senyawa pada sampel, ini berarti unsur penghambat elusi kekuatannya tidak begitu kuat.
2. Tingkat kepolaran senyawa pada sampel sangat berdampak pada penampakan bercak, dan dipakai apabila sampel yang dipisahkan adalah senyawa-senyawa yang tidak berwarna. Metode yang dipakai yaitu :
 - 1) Sinar UV, ada beberapa senyawa yang akan terlihat sebagai bercak yang muncul. Metode ini dipakai untuk senyawa-senyawa yang mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi atau aromatis.
 - 2) Fluoresensi, apabila indikator fluoresensi telah terdapat diplat KLT yang dipakai (terdapat ciri GF pada silika silika gel), oleh karena itu plat nantiya berfluoresensi apabila ditempatkan dibawah sinar UV maka akan terlihat macam-macam senyawa dalam bentuk bercak yang gelap.
 - 3) Iod, bereaksi pada beberapa senyawa organik menghasilkan senyawa kompleks warna coklat atau kuning. Bercak akan bisa terlihat dengan cara menaruh plat kering didalam bejana yang sudah diisi kristal iod kemudian ditutup dengan rapat hingga bejana jenuh dengan uap iod.

- 4) Atomisasi, dikerjakan dengan cara meletakkan pereaksi diatas plat yang akan mengakibatkan reaksi antara senyawa dengan pereaksi tersebut.

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep pengujian Rhodamin B pada saus tomat secara kualitatif dan kuantitatif.