

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **1.1 Manisan Buah**

##### **1.1.1 Pengertian Manisan Buah**

Manisan merupakan salah satu produk pangan populer yang dibuat dari buah-buahan yang sedang musim dan banyak diproduksi suatu daerah. Selain untuk mendapatkan variasi rasa yang baru, pembuatan manisan ini dimaksudkan untuk memperpanjang masa musim buah. Manisan buah dihasilkan dengan menggunakan metode penggulaan, yaitu melalui perendaman dengan gula. Teknik penggulaan memiliki kelebihan yaitu untuk memperkaya rasa, terutama cita rasa yang manis (Sari, 2017).

Pemberian gula dalam pembuatan manisan buah ini bertujuan untuk mengawetkan manisan buah, memberikan rasa yang manis, serta mencegah tumbuhnya mikroorganisme (jamur kapang, dan bakteri), sehingga dapat memperpanjang daya simpan (Tantalu, *et al.*, 2020). Terdapat beberapa macam buah yang dapat dikembangkan menjadi manisan buah, di antaranya tomat, nanas, pepaya, mangga, kedondong, dll (Djarkasi, *et al.*, 2018).

##### **1.1.2 Bahan yang Digunakan dalam Pembuatan Manisan Buah**

Menurut (Asih, 2017), dalam pembuatan manisan buah diperlukan bahan-bahan sebagai berikut:

###### **1) Buah**

Buah yang digunakan untuk membuat manisan adalah semua jenis buah, baik buah yang keras maupun yang lunak. Buah yang keras, seperti mangga, kedondong, kolang-kaling, dan nanas, diolah menjadi manisan basah. Sedangkan buah yang lunak, seperti pepaya, sirsak, dan tomat, diolah menjadi manisan kering.

## 2) Gula

Gula merupakan pemanis makanan alami yang digunakan dalam pola konsumsi makanan dan minuman. Gula terdapat dalam beberapa bentuk, yaitu sukrosa, glukosa, fruktosa, dan dekstrosa. Gula yang digunakan untuk membuat manisan adalah sukrosa atau gula pasir.

Selain berfungsi sebagai pemanis, pemberian gula dalam pembuatan manisan dapat berfungsi sebagai pengawet. Gula memiliki kemampuan mencegah pertumbuhan bakteri dan jamur dengan cara melapisi dan mengisi pori-pori bahan makanan.

## 3) Kapur Sirih

Kapur sirih digunakan untuk memberi rasa renyah pada manisan. Caranya, rendam irisan buah pada larutan kapur sirih selama 3-4 jam. Setelah perendaman, cuci bersih buah agar rasanya tidak sepat.

### **1.1.3 Jenis-Jenis Manisan Buah**

Terdapat dua macam bentuk olahan manisan buah, yaitu:

#### 1) Manisan Buah Basah

Manisan buah basah dapat diperoleh setelah dilakukannya penirisan buah dari larutan gula. Manisan buah basah mempunyai kandungan air yang lebih banyak dan penampilannya yang lebih menarik karena serupa dengan buah aslinya (Yuliani, 2012). Buah-buahan yang biasa digunakan untuk membuat manisan basah adalah jenis buah yang cukup keras. Contoh buah yang dapat diolah menjadi manisan basah adalah mangga, kedondong, kolang-kaling, dan nanas (Asih, 2017).

#### 2) Manisan Buah Kering

Manisan buah kering adalah manisan yang terbuat dari buah yang sebagian gulanya tidak larut dan menempel pada produk (Ulfa, *et al.*, 2019). Hal ini disebabkan karena kadar air pada manisan buah

kering lebih rendah dan kandungan gulanya lebih tinggi dibandingkan manisan buah basah (Tantalu, *et al.*, 2020). Buah-buahan yang biasa digunakan untuk membuat manisan kering adalah jenis buah yang lunak. Contoh buah yang dapat diolah menjadi manisan lunak adalah pepaya, sirsak, dan tomat (Asih, 2017).

## **1.2 Bahan Tambahan Pangan**

### **1.2.1 Pengertian**

Bahan tambahan pangan merupakan bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan (BPOM, 2019). Zat yang ditambahkan ke dalam pangan untuk menjaga atau meningkatkan keamanan, kesegaran, rasa, tekstur, atau tampilan pada makanan disebut sebagai bahan tambahan pangan. Bahan tambahan pangan bisa berasal dari tumbuhan, hewan, atau mineral, atau bisa juga sintetis. Bahan tambahan pangan dicampurkan dengan sengaja ke dalam makanan dengan tujuan tertentu (*World Health Organization*, 2018).

Bahan tambahan pangan atau yang biasa disingkat dengan BTP adalah bahan atau campuran bahan yang secara alami bukan merupakan bagian dari bahan baku pangan, di antaranya seperti bahan pewarna, pengawet, penyedap rasa, anti gumpal, pemucat dan pengental. Bahan tambahan pangan atau aditif makanan juga diartikan sebagai bahan yang ditambahkan dan dicampurkan sewaktu pengolahan makanan untuk meningkatkan mutu. Pada umumnya bahan tambahan pangan dapat dibagi menjadi dua bagian besar, yaitu aditif sengaja dan aditif tidak sengaja. Aditif sengaja adalah aditif yang ditambahkan dengan sengaja untuk maksud dan tujuan tertentu, misalnya untuk meningkatkan konsistensi, nilai gizi, cita rasa, mengendalikan keasaman atau kebasaaan, memantapkan bentuk dan rupa, dan lainnya. Sedangkan aditif yang tidak sengaja adalah aditif yang ditambahkan dalam makanan dalam jumlah sangat kecil sebagai akibat dari proses

pengolahan. Bila dilihat dari asalnya, aditif dapat berasal dari sumber alamiah (misalnya lesitin); dan dapat juga disintesis dari bahan kimia yang mempunyai sifat serupa benar dengan bahan alamiah yang sejenis, baik dari susunan kimia maupun sifat metabolismenya (misal asam askorbat) (Subiyono, 2018).

Adapun persyaratan bahan tambahan pangan yang digunakan dalam pangan (Menkes RI, 2012), yaitu:

- 1) BTP tidak dimaksudkan untuk dikonsumsi secara langsung dan/atau tidak diperlakukan sebagai bahan baku pangan
- 2) BTP dapat mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang sengaja ditambahkan ke dalam pangan untuk tujuan teknologis pada pembuatan, pengolahan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan dan/atau pengangkutan pangan untuk menghasilkan atau diharapkan menghasilkan suatu komponen atau mempengaruhi sifat pangan tersebut, baik secara langsung atau tidak langsung
- 3) BTP tidak termasuk cemaran atau bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempertahankan atau meningkatkan nilai gizi.

### **1.2.2 Fungsi Bahan Tambahan Pangan**

Berikut fungsi dari penggunaan bahan tambahan pangan (Julaeha, *et al.*, 2016), yaitu:

- 1) Pangan diawetkan untuk mencegah pertumbuhan mikroba perusak pangan atau mencegah terjadinya reaksi kimia yang dapat menurunkan mutu pangan;
- 2) Pangan dibentuk menjadi lebih baik, renyah dan lebih enak di mulut;
- 3) Warna dan aroma menjadi lebih menarik sehingga menambah selera;
- 4) Kualitas pangan meningkat; dan
- 5) Biaya menjadi lebih hemat.

Berdasarkan fungsinya, bahan tambahan pangan dibedakan menjadi beberapa jenis, salah satu bahan tambahan pangan yang banyak dipergunakan pada makanan, yaitu pewarna, pemanis, dan pengawet (Julaeha, *et al.*, 2016).

### 1.2.3 Penggolongan Bahan Tambahan Pangan

Terdapat dua penggolongan bahan tambahan pangan, yaitu bahan tambahan pangan yang diizinkan dan bahan tambahan pangan yang tidak diizinkan (BPOM, 2019).

#### 1.2.3.1 Bahan Tambahan Pangan yang Diizinkan

Telah dijelaskan pada Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan, adapun bahan tambahan pangan yang diizinkan terdapat beberapa jenis penggolongan seperti yang tercantum pada **Tabel 2.1**.

**Tabel 2.1 Jenis penggolongan Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang diizinkan penggunaannya**

No.	Jenis Penggolongan	Contoh Bahan Tambahan Pangan
1	Antibuih ( <i>Antifoaming Agent</i> )	Kalsium alginat; Mono dan digliserida asam lemak
2	Antikempal ( <i>Anticaking Agent</i> )	Kalsium karbonat; Triksium fosfat
3	Antioksidan ( <i>Antioxidant</i> )	Asam askorbat; Natrium askorbat
4	Bahan Pengkarbonasi ( <i>Carbonating Agent</i> )	Karbon dioksida

---

5	Garam ( <i>Emulsifying Salt</i> )	Pengemulsi	Natrium dihidrogen sitrat; Trinatrium sitrat
6	Gas Untuk ( <i>Packaging Gas</i> )	Kemasan	Karbon dioksida; Nitrogen
7	Humektan ( <i>Humectant</i> )		Natrium laktat; Kalium laktat
8	Pelapis ( <i>Glazing Agent</i> )		Malam; Lilin kandelila
9	Pemanis ( <i>Sweetener</i> )		
	a. Pemanis Alami ( <i>Natural Sweetener</i> )		Sorbitol; Manitol
	b. Pemanis Buatan ( <i>Synthetic Sweetener</i> )		Asesulfam-K; Aspartam
10	Pembawa ( <i>Carrier</i> )		Sukrosa asetat isobutirat; Trietil sitrat
11	Pembentuk Gel ( <i>Gelling Agent</i> )		Asam alginat Natrium alginat
12	Pembuih ( <i>Foaming Agent</i> )		Gom <i>xanthan</i> ; Selulosa mikrokristalin
13	Pengatur Keasaman ( <i>Acidity Regulator</i> )		Kalsium karbonat; Asam asetat
14	Pengawet ( <i>Preservative</i> )		Asam sorbat dan garamnya; Asam benzoat dan garamnya
15	Pengembang ( <i>Raising Agent</i> )		Diamonium hidrogen fosfat; Natrium karbonat
16	Pengemulsi ( <i>Emulsifier</i> )		Kalsium karbonat;

---

---

			Lesitin
17	Pengental ( <i>Thickener</i> )		Kalsium asetat; Natrium laktat
18	Pengeras ( <i>Firming Agent</i> )		Kalsium laktat; Triksium sitrat
19	Penguat Rasa ( <i>Flavour Enhancer</i> )		Asam L-glutamat dan garamnya; Asam guanilat dan garamnya
20	Peningkat Volume ( <i>Bulking Agent</i> )		Natrium laktat; Asam alginat
21	Penstabil ( <i>Stabilizer</i> )		Kalsium karbonat; Kalsium asetat
22	Peretensi Warna ( <i>Colour Retention Agent</i> )		Magnesium karbonat; Magnesium hidroksida
23	Perisa ( <i>Flavouring</i> )		Etil vanilin; vanilin
24	Perlakuan Tepung ( <i>Flour Treatment Agent</i> )		L-Amonium laktat; Natrium stearoil-2- laktilat
25	Pewarna ( <i>Colour</i> )		
	a. Pewarna Alami ( <i>Natural Colour</i> )		Kurkumin CI. No. 75300; Riboflavin
	b. Pewarna Buatan ( <i>Synthetic Colour</i> )		Tartrazin CI. No. 19140; Kuning kuinolin CI. No. 47005
26	Propelan ( <i>Propellant</i> )		Nitrogen;

---

		Dinitrogen monooksida
27	Sekuestran ( <i>Sequestrant</i> )	Kalsium dinatrium etilen tetra asetat; Isopropil sitrat

Sumber tabel: (BPOM, 2019)

### 1.2.3.2 Bahan Tambahan Pangan yang Tidak Diizinkan

Telah dijelaskan pada Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012 Tentang Bahan Tambahan Pangan. Adapun bahan tambahan pangan yang tidak diizinkan tercantum pada **Tabel 2.2**.

**Tabel 2.2 Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang tidak diizinkan penggunaannya**

No	Nama Bahan
1	Asam Borat dan senyawanya ( <i>Boric acid</i> )
2	Asam salisilat dan garamnya ( <i>Salicylic acid and its salt</i> )
3	Dietilpirokarbonat ( <i>Diethylpyrocarbonate, DEPC</i> )
4	Dulsin ( <i>Dulcin</i> )
5	Formalin ( <i>Formaldehyde</i> )
6	Kalium bromat ( <i>Potassium bromate</i> )
7	Kalium klorat ( <i>Potassium chlorate</i> )
8	Kloramfenikol ( <i>Chloramphenicol</i> )
9	Minyak nabati yang dibrominasi ( <i>Brominated vegetable oils</i> )
10	Nitrofurazon ( <i>Nitrofurazone</i> )
11	Dulkamara ( <i>Dulcamara</i> )
12	Kokain ( <i>Cocaine</i> )
13	Nitrobenzen ( <i>Nitrobenzene</i> )
14	Sinamil antranilat ( <i>Cinnamyl anthranilate</i> )

---

15	Dihidrosafrol ( <i>Dihydrosafrole</i> )
16	Biji tonka ( <i>Tonka bean</i> )
17	Minyak kalamus ( <i>Calamus oil</i> )
18	Minyak tansi ( <i>Tansy oil</i> )
19	Minyak sasafra ( <i>Sasafras oil</i> )

---

Sumber tabel: (BPOM, 2019)

## 1.3 Pewarna

### 1.3.1 Pengertian

Pewarna (*colour*) adalah BTP berupa pewarna alami dan pewarna sintetis, yang ketika ditambahkan atau diaplikasikan pada pangan mampu memberi atau memperbaiki warna (BPOM, 2019). Pewarna merupakan salah satu jenis bahan tambahan pangan yang banyak digunakan oleh para penjual makanan jajanan baik berupa minuman atau makanan. Fungsi dan tujuan dari penggunaan pewarna pada makanan dimaksudkan agar makanan terlihat lebih menarik, sehingga konsumen tergiur untuk membeli makanan tersebut. Anak kecil atau pun orang dewasa termasuk orang yang cenderung menyukai makanan atau pun minuman yang memiliki warna-warna yang menarik (Julaeha, *et al.*, 2016).

### 1.3.2 Jenis-Jenis Pewarna

#### 1) Pewarna Alami (*Natural Colour*)

Pewarna alami (*natural food colour*) adalah pewarna yang dibuat melalui proses ekstraksi, isolasi, atau derivatisasi (sintesis parsial) dari tumbuhan, hewan, mineral atau sumber alami lain, termasuk pewarna identik alami (BPOM, 2019). Sejak dulu zat warna alami (pigmen) telah banyak digunakan sebagai bahan pewarna bahan makanan. Daun suji telah lama digunakan untuk mewarnai kue pisang, serabi, bikang, dan dadar gulung. Kunyit untuk mewarnai nasi kuning dalam selamatan, tahu serta hidangan dan masakan lain.

Sombo keling untuk mewarnai kerupuk, dan cabai untuk mewarnai nasi goreng dan berbagai masakan (Koswara, 2009).

Sejak ditemukannya zat pewarna sintetik penggunaan pigmen semakin menurun, meskipun tidak menghilang sama sekali. Beberapa dasa warsa teraksir ini menimbulkan usaha-usaha untuk mendalami seluk beluk pigmen, khususnya untuk mengetahui perubahan-perubahan warna dari bahan makanan oleh pengaruh berbagai perlakuan pengolahan dan pemasakan (Koswara, 2009).

Zat warna alami adalah zat warna (pigmen) yang diperoleh dari tumbuhan, hewan, atau dari sumber-sumber mineral. Zat warna ini telah sejak dahulu digunakan untuk pewarna makanan dan sampai sekarang umumnya penggunaannya dianggap lebih aman daripada zat warna sintesis. Selain itu penelitian toksikologi zat warna alami masih agak sulit karena zat warna ini umumnya terdiri dari campuran dengan senyawa-senyawa alami lainnya. Misalnya, untuk zat warna alami asal tumbuhan, bentuk dan kadarnya berbeda-beda dipengaruhi faktor jenis tumbuhan, iklim, tanah, umur dan faktor lainnya. *Food and Drug Administration (FDA)* Amerika Serikat menggolongkan zat warna alami ke dalam golongan zat warna yang tidak memerlukan sertifikat (Koswara, 2009).

Bahan tambahan pangan (BTP) alami yang diizinkan penggunaannya tercantum pada **Tabel 2.3**, yaitu sebagai berikut:

**Tabel 2.3 Bahan Tambahan Pangan (BTP) pewarna alami**

No	Nama BTP Pewarna Alami ( <i>Natural Colour</i> )
1	Kurkumin CI. No. 75300 ( <i>Curcumin</i> )
2	Riboflavin ( <i>Riboflavins</i> ): Riboflavin (sintetik) ( <i>Riboflavin, synthetic</i> ) Riboflavin 5'-natrium fosfat ( <i>Riboflavin 5'-phosphate sodium</i> )

- 
- Riboflavin dari *Bacillus subtilis* (Riboflavin (*Bacillus subtilis*))
- 3 Karmin dan ekstrak cochineal CI. No. 75470 (*Carmines and cochineal extract*):  
Karmin CI. No. 75470 (*Carmines*)  
Ekstrak cochineal No. 75470 (*Cochineal extract*)
- 4 Klorofil CI. No. 75810 (*Chlorophyll*)
- 5 Klorofil dan klorofilin tembaga kompleks CI. No. 75810 (*Chlorophylls and chlorophyllins, copper complexes*)  
Klorofil tembaga kompleks CI. No. 75810 (*Chlorophylls, Copper Complexes*)  
Klorofilin tembaga kompleks CI. No. 75810 (*Chlorophyllin copper complexes, sodium and potassium salts*)
- 6 Karamel I (*Caramel I-plain*)
- 7 Karamel II kaustik sulfit proses (*Caramel II caustic sulphite process*)
- 8 Karamel III amonia proses (*Caramel III-ammonia process*)
- 9 Karamel IV amonia sulfit proses (*Caramel IV-sulphite ammonia process*)
- 10 Karbon tanaman CI. 77266 (*Vegetable carbon*)
- 11 Beta-karoten (sayuran) CI. No. 75130 (*Carotenes, beta (vegetable)*)
- 12 Ekstrak anato CI. No. 75120 (berbasis bixin) (*Annatto extracts, bixin based*)  
Karotenoid (*Carotenoids*):  
Beta-karoten (sintetik) CI. No. 40800 (*beta-Carotenes, synthetic*)  
Beta-karoten dari *Blakeslea trispora* (*beta-Carotenes (Blakeslea trispora)*)
-

- 
- |    |  |
|----|--|
| 13 | Ekstrak Likopen dari Tomat ( <i>Lycopenen Extract from Tomato</i> )<br>beta-apo-8'-asam karotenal CI. No. 40820 ( <i>beta-apo-8'-carotenal</i> )<br>Etil ester dari beta-apo-8' asam karotenoat CI. No. 40825 ( <i>beta-apo-8'-Carotenoic acid ethyl ester</i> ) |
| 14 | Merah bit ( <i>Beet red</i> )  |
| 15 | Antosianin ( <i>Anthocyanins</i> )   |
| 16 | Titanium dioksida CI. No. 77891 ( <i>Titanium dioxide</i> )  |
| 17 | Besi Oksida Merah ( <i>Iron Oxide, Red</i> )   |
- 

Sumber tabel: (BPOM, 2019)

## 2) Pewarna Sintetis

Pewarna Sintetis (*Synthetic food colour*) adalah pewarna yang diperoleh secara sintesis kimiawi (BPOM, 2019). Banyak di antaranya pedagang lebih banyak menggunakan pewarna sintetis pada makanan atau minuman yang dijual, hampir semua makanan jajanan yang dijajakan menggunakan pewarna sintetis mulai dari kerupuk, tahu, terasi, jajanan anak-anak dan bahkan buah dingin atau potong seperti buah potong mangga (Julaeha, *et al.*, 2016).

Hal ini dikarenakan pewarna sintetis memiliki banyak keunggulan dibandingkan dengan pewarna alami, dengan alasan tersebut banyak produsen sekarang ini lebih banyak menggunakan pewarna sintetis dibandingkan dengan pewarna alami. Meskipun banyak kemudahan dalam menggunakan pewarna sintetis, namun pewarna sintetis lebih beresiko buruk bagi kesehatan dibandingkan dengan pewarna alami. Ada beberapa pewarna sintetis yang sudah dilarang penggunaannya di Indonesia. Sebagian pewarna sintetis biasa dibuat dari zat kimia berbahaya sehingga jika masuk dalam tubuh dalam jumlah yang banyak dan terus menerus, maka akan menimbulkan berbagai penyakit mulai dari penyakit ringan maupun penyakit yang dapat menyebabkan kematian (Julaeha, *et al.*, 2016). Pewarna

sintetis yang diizinkan penggunaannya oleh BPOM (2019) dapat dilihat pada **Tabel 2.4**.

**Tabel 2.4 Bahan Tambahan Pangan (BTP) pewarna sintetis**

No	Nama BTP Pewarna Sintetis ( <i>Synthetic Colour</i> )
1	Tartrazin CI. No. 19140 ( <i>Tartrazine</i> )
2	Kuning kuinolin CI. No. 47005 ( <i>Quinoline yellow</i> )
3	Kuning FCF CI. No. 15985 ( <i>Sunset yellow FCF</i> )
4	Karmoisin CI. No. 14720 ( <i>Carmoisine</i> )
5	Ponceau 4R CI. No. 16255 ( <i>Poceau 4R</i> )
6	Eritrosin CI. No. 45430 ( <i>Erythrosine</i> )
7	Merah allura CI. No. 16035 ( <i>Allura red</i> )
8	Indigotin CI. No. 73015 ( <i>Indigotine</i> )
9	Biru berlian FCF CI. No. 42090 ( <i>Brilliant blue FCF</i> )
10	Hijau FCF CI. No. 42053 ( <i>Fast green FCF</i> )
11	Coklat HT CI. No. 20285 ( <i>Brown HT</i> )

Sumber tabel: (BPOM, 2019)

### 1.3.3 Tujuan Penambahan Pewarna pada Pangan

Berikut tujuan dilakukannya penambahan pewarna pada pangan (Subiyono, 2018), yaitu:

- 1) Kesan yang menarik bagi konsumen;
- 2) Warna pangan dapat diseragamkan;
- 3) Warna menjadi lebih stabil;
- 4) Perubahan warna selama proses pengolahan dapat tertutupi; dan
- 5) Perubahan warna selama penyimpanan dapat dicegah.

## 1.4 Tartrazin

### 1.4.1 Pengertian

Tartrazin merupakan zat pewarna sintesis yang berwarna kuning lemon. Umumnya digunakan sebagai pewarna makanan. Untuk menghasilkan

warna lain selain kuning lemon, Tartrazin dapat dicampurkan dengan biru brilian atau *brilliant blue* (Karunia, 2013).

Tartrazin adalah pewarna kuning yang banyak digunakan dalam makanan dan obat-obatan. Penggunaan berdasarkan ADI (*Acceptable Daily Intake*) yaitu sekitar 7,5 mg/kg/hari. Menurut (BPOM RI, 2012), Tartrazin pada manisan buah memiliki batas maksimum penggunaannya, yaitu 70 mg/kg dengan Ukuran Rumah Tangga (URT), yaitu 1 sdt peres (3 gram) untuk 43 kg adonan.

Selain berpotensi meningkatkan hiperaktivitas anak, pada sekitar 1-10 dari sepuluh ribu orang, Tartrazin menimbulkan efek hipersensitif seperti kelelahan, pandangan kabur, peningkatan sekresi nasofaringal, perasaan sesak nafas, jantung berdebar, gatal yang hebat, bengkak atau bilur di bawah kulit, (ruam kulit), rhinitis (hidung meller), asma, purpura (kulit lebam) dan anafilaksis sistemik (*shock*). Intoleransi ini tampaknya lebih umum pada penderita asma atau orang yang sensitif terhadap aspirin (Rohmawati, 2014).

#### 1.4.2 Sifat Fisika dan Kimia Tartrazin

Rumus molekul :  $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$

Nama kimia : Tartrazine

Nama IUPAC : trisodium;5-oxo-1-(4-sulfonatophenyl)-4-[(4-sulfonatophenyl) diazenyl]-4*H*-pyrazole-3-carboxylate

Nama lain : Tartrazine; 1934-21-0; Acid yellow 23; Yellow 5; Aizen Tartrazine

Deskripsi : Serbuk kuning sampai kuning-kehijauan

Berat molekul : 534,4 g/mol

Warna : Serbuk jingga-kuning cerah

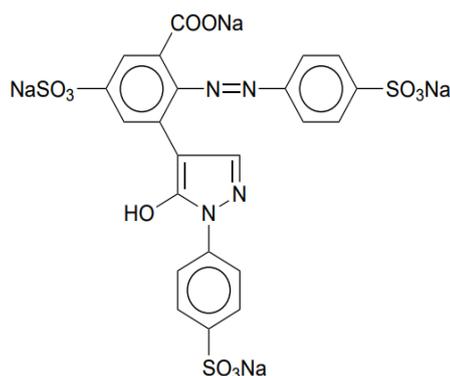
Titik leleh :  $>572^{\circ}F$

Kelarutan :  
<1 mg/mL pada suhu  $70^{\circ}F$ ;

- a. Dalam air, 20,0 g / 100 mL pada suhu 25°C ( $2,0 \times 10 + 5$  mg / L);
- b. Dalam gliserol, 18,0 g/100 mL pada 25 ° C;
- c. Dalam propilen glikol, 7,0 g/100 mL pada suhu 25°C;
- d. Dalam etanol, 0,8 mg/mL;
- e. Dalam etilen glikol monometil eter, 20 mg/mL;
- f. Larut dalam asam sulfat pekat.

(PubChem, 2019).

Rumus struktur:



**Gambar 2.1 Struktur Kimia Tartrazin**

Sumber Gambar: (Ishidate, *et al.*, 1984)

#### 1.4.3 Penggunaan Tartrazin

Tartrazin (*E number E102*) merupakan pewarna azo sintetis dengan warna kuning lemon, merupakan pewarna makanan yang umum digunakan untuk produk makanan yang kita makan hampir setiap hari. Di antara makanan yang mengandung tartrazin adalah minuman ringan dan minuman olahraga, keripik rasa, saus, es krim, selai, jeli, dan permen karet. Tartrazin ditemukan di banyak bahan habis pakai non-makanan seperti sabun, kosmetik, sampo, vitamin dan obat resep tertentu (Khayyat, *et al.*, 2017).

#### 1.4.4 Toksisitas Tartrazin

Tartrazin dilaporkan menghasilkan neurotoksisitas dan defisit dalam pengetahuan dan memori pada hewan pada dosis yang melebihi

*Acceptable Daily Intake* (ADI) Tartrazin (0-7,5 mg/kg/hari). Namun, tidak dapat dikesampingkan bahwa paparan Tartrazin bersama dengan pewarna lain menimbulkan toksisitas melalui mekanisme yang melibatkan proses sinergis (TGA, 2014).

Permasalahan utama pada bidang pewarna makanan sintetis adalah saran yang pertama kali dibuat pada tahun 1920-an bahwa pewarna dan aditif makanan buatan, termasuk Tartrazin, mungkin memiliki efek merugikan pada anak-anak yang menyebabkan hiperaktif. Hipotesis yang spesifik berkaitan dengan bidang ini dikembangkan pada tahun 1973 yang mengemukakan bahwa hiperaktif dan masalah belajar pada anak disebabkan oleh makanan tertentu dan bahan tambahan makanan serta makanan yang mengandung salisilat alami. Pekerjaan itu dikritik oleh profesi medis. Namun, hipotesisnya diterima oleh banyak orang tua menyusul pemberitaan media (TGA, 2014). Selain itu, Tartrazin juga dapat memberikan pengaruh akut seperti yang tercantum pada **Tabel 2.5**.

**Tabel 2.5 Pengaruh akut dari Tartrazin**

<b>Makhluk Hidup</b>	<b>Test Type</b>	<b>Rute Pemberian</b>	<b>Dosis</b>	<b>Pengaruh</b>	<b>Referensi</b>
Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> )	LD50	Intraperitoneal	>2 gram/kg		FAO <i>Nutrition Meetings Report Series., 38B(88), 1966</i>
Tikus ( <i>Mus musculus</i> )	LD50	Oral	12750 mg/kg		FAO <i>Nutrition Meetings Report Series., 38B(88), 1966</i>

Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> )	LD50	Intravena	>2 gram/kg		Annales <i>Pharmac eutiques Francais es.</i> , 15(402), 1957 [PMID: 1349854 9]
Manusia	TDLo	Oral	14 µg/kg	Saraf dan Sensasi Periferal: Parestesis; Muskoskeletal : Perubahan pada gigi dan struktur pendukung	<i>Annals of Allergy.</i> , 17(719), 1959 [PMID: 1441779 4]

Sumber tabel: (PubChem, 2019)

### 1.5 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kertas tergolong "kromatografi planar." KLT adalah yang metode kromatografi paling sederhana yang banyak digunakan. Peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel dengan metode KLT cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (*chamber*) yang berisi pelarut dan lempeng KLT. Dengan optimasi metode dan menggunakan instrumen komersial yang tersedia, pemisahan yang efisien dan kuantifikasi yang akurat dapat dicapai. Kromatografi planar juga dapat digunakan untuk pemisahan skala preparatif yaitu dengan menggunakan lempeng, peralatan, dan teknik khusus (Wulandari, 2011).

Pelaksanaan analisis dengan KLT diawali dengan menotolkan alikuot kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona

awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni) di dalam *chamber*. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen-komponen sampel bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan pengembangan kromatogram. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil, fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan, dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung (visual) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Wulandari, 2011).

Perbedaan migrasi merupakan hasil dari perbedaan tingkat afinitas masing-masing komponen dalam fase diam dan fase gerak. Berbagai mekanisme pemisahan terlibat dalam penentuan kecepatan migrasi. Kecepatan migrasi komponen sampel tergantung pada sifat fisika kimia dari fase diam, fase gerak dan komponen sampel. Retensi dan selektivitas kromatografi juga ditentukan oleh interaksi antara fase diam, fase gerak dan komponen sampel yang berupa ikatan hidrogen, pasangan elektron donor atau pasangan elektron-akseptor (transfer karge), ikatan ionion, ikatan ion-dipol, dan ikatan van der Waals (Wulandari, 2011).

Pengambilan sampel, pengawetan, dan pemurnian sampel adalah masalah umum untuk KLT dan metode kromatografi lainnya. Sebagai contoh, pengembangan KLT biasanya tidak sepenuhnya melarutkan kembali analit yang berada dalam lempeng kecuali dilakukan pemurnian sebelumnya (*clean up*). Metode *clean up* paling sering dilakukan pada ekstraksi selektif dan kromatografi kolom. Pada beberapa kasus zat/senyawa perlu dikonversi dahulu sebelum dianalisis dengan KLT. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan turunan senyawa yang lebih cocok untuk proses pemisahan, deteksi, dan/atau kuantifikasi. KLT dapat mengatasi sampel yang terkontaminasi, seluruh kromatogram dapat dievaluasi, mempersingkat proses perlakuan sampel sehingga hemat waktu dan biaya. Kehadiran pengotor atau partikel yang terperap dalam sorben fase diam tidak menjadi masalah, karena lempeng hanya digunakan sekali (habis pakai) (Wulandari, 2011).

Deteksi senyawa menjadi mudah ketika senyawa secara alami dapat berwarna atau berfluoresensi atau menyerap sinar UV. Namun, perlakuan penambahan pereaksi penampak noda dengan penyemprotan atau pencelupan terkadang diperlukan untuk menghasilkan turunan senyawa yang berwarna atau berfluoresensi. Pada umumnya senyawa aromatik terkonjugasi dan beberapa senyawa tak jenuh dapat menyerap sinar UV. Senyawa-senyawa ini dapat dianalisis dengan KLT dengan fase diam yang diimpregnasi indikator fluoresensi dan deteksi dapat dilakukan hanya dengan pemeriksaan di bawah sinar UV 254 nm (Wulandari, 2011).

Pada KLT, identifikasi awal suatu senyawa didasarkan pada perbandingan nilai  $R_f$  dibandingkan  $R_f$  standar. Nilai  $R_f$  umumnya tidak sama dari laboratorium ke laboratorium bahkan pada waktu analisis yang berbeda dalam laboratorium yang sama, sehingga perlu dipertimbangkan penggunaan  $R_f$  relatif yaitu nilai  $R_f$  noda senyawa dibandingkan noda senyawa lain dalam lempeng yang sama. Faktor-faktor yang menyebabkan nilai  $R_f$  bervariasi meliputi dimensi dan jenis ruang, sifat dan ukuran lempeng, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan, kelembaban, dan metode persiapan sampel KLT sebelumnya (Wulandari, 2011).

Rumus perhitungan  $R_f$ :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh zat yang diteliti}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Nilai  $R_f$  dinyatakan hingga angka 1.0. Nilai  $R_f$  menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar 0,2-0,8 (Adriani, *et al.*, 2019).

## 1.6 Spektrofotometri UV-Vis

### 1.6.1 Pengertian

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu metode dengan menggunakan instrumen yang paling sering diterapkan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa (padat/cair) berdasarkan absorbansi

foton. Agar sampel dapat menyerap foton pada daerah UV-Vis (panjang gelombang foton 200 nm-700 nm), biasanya sampel harus diperlakukan atau derivatisasi, misalnya penambahan reagen dalam pembentukan garam kompleks dan lain sebagainya. Unsur diidentifikasi melalui senyawa kompleksnya (Irawan, 2019).

Ultraviolet jauh memiliki rentang panjang gelombang  $\pm 10$ -200 nm, sedangkan ultraviolet dekat memiliki rentang panjang gelombang  $\pm 200$ -400 nm. Cahaya UV tidak bisa dilihat oleh manusia, namun beberapa hewan, termasuk burung, reptil dan serangga seperti lebah dapat melihat sinar pada panjang gelombang UV. Interaksi senyawa organik dengan sinar ultraviolet dan sinar tampak, dapat digunakan untuk menentukan struktur molekul senyawa organik. Bagian dari molekul yang paling cepat bereaksi dengan sinar tersebut adalah elektron-elektron ikatan dan elektron-elektron non ikatan (elektron bebas). Sinar ultralembayung dan sinar tampak merupakan energi, yang bila mengenai elektron-elektron tersebut, maka elektron akan tereksitasi dari keadaan dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi, eksitasi elektron-elektron ini, direkam dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron-elektron yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Makin mudah elektron-elektron bereksitasi makin besar panjang gelombang yang diabsorpsi, makin banyak elektron yang bereksitasi makin tinggi absorban (Suhartati, 2017).

Pada spektrofotometri UV-Vis ada beberapa istilah yang digunakan terkait dengan molekul, yaitu kromofor, auksokrom, efek batokromik atau pergeseran merah, efek hipokromik atau pergeseran biru, hipsokromik, dan hipokromik. Kromofor adalah molekul atau bagian molekul yang mengabsorpsi sinar dengan kuat di daerah UV-Vis, misalnya heksana, aseton, asetilen, benzena, karbonil, karbondioksida, karbonmonooksida, gas nitrogen. Auksokrom adalah gugus fungsi yang mengandung pasangan elektron bebas berikatan kovalen tunggal, yang

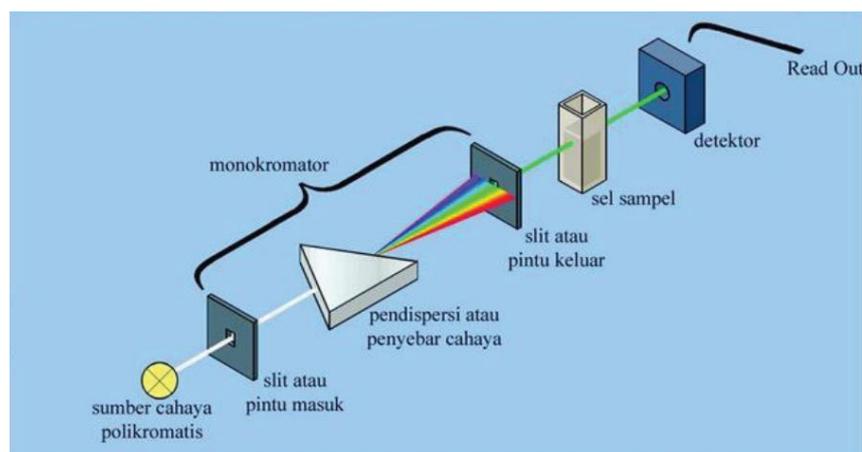
terikat pada kromofor yang mengintensifkan absorpsi sinar UV-Vis pada kromofor tersebut, baik panjang gelombang maupun intensitasnya, misalnya gugus hidroksi, amina, halida, alkoksi (Suhartati, 2017).

### 1.6.2 Tipe-Tipe Spektrofotometer UV-Vis

Pada umumnya terdapat dua tipe instrumen spektrofotometer, yaitu *single-beam* dan *double-beam* (Suhartati, 2017):

#### 1) *Single-beam*

*Single-beam* instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. *Single-beam instrument* mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan *single-beam instrument* untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai 1000 nm.



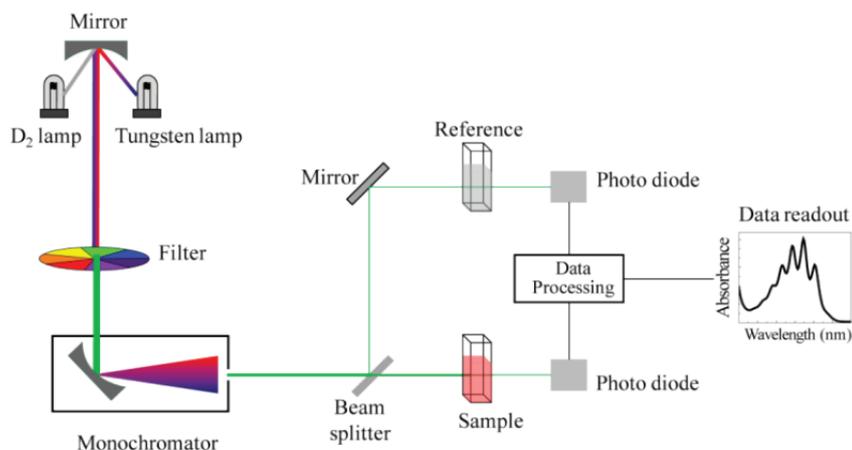
**Gambar 2.2 Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (Single-beam)**

Sumber gambar: (Suhartati, 2017)

#### 2) *Double-beam*

*Double-beam* dibuat untuk digunakan pada panjang gelombang 190 sampai 750 nm. *Double-beam instrument* mempunyai dua sinar

yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel.



**Gambar 2.3 Skema spektrofotometer UV-Vis (Double-beam)**

Sumber gambar: (Suhartati, 2017)

### 1.6.3 Syarat Pengukuran (Suhartati, 2017)

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain:

- 1) Harus melarutkan sampel dengan sempurna.
- 2) Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel).
- 3) Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
- 4) Kemurniannya harus tinggi.

**Tabel 2.6 Absorpsi sinar UV pada  $\lambda_{\text{maks.}}$  dari beberapa pelarut**

<b>Pelarut</b>	$\lambda_{\text{maks.}}$ (nm)	<b>Pelarut</b>	$\lambda_{\text{maks.}}$ (nm)
Asetronitril	190	<i>n</i> -heksana	201
Kloroform	240	Metanol	205
Sikloheksana	195	Isooktana	195
1-4 dioksan	215	Air	190
Etanol 95%	205	Aseton	330
Benzena	285	Piridina	305

Sumber tabel: (Suhartati, 2017)

Pelarut yang umumnya digunakan adalah air, etanol, metanol, dan *n*-heksana karena pelarut ini transparan pada daerah UV.

Untuk mendapatkan spektrum UV-Vis yang baik perlu diperhatikan pula konsentrasi sampel. Hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi akan linier ( $A \approx C$ ) apabila nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 ( $0,2 \leq A < 0,8$ ) atau sering disebut sebagai daerah berlakunya hukum Lambert-Beer dengan lebar sel 1 cm, dan besarnya absorbansi ini untuk senyawa yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang mengalami eksitasi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$ , dengan  $\epsilon$  8.000 – 20.000; konsentrasi larutan sekitar  $4 \times 10^{-5}$  mol/L; sedangkan untuk senyawa yang hanya memiliki eksitasi elektron  $n \rightarrow \pi^*$ ,  $\epsilon$  10 – 100, maka konsentrasinya sekitar  $10^{-2}$  mol/L. Bila senyawa yang akan diukur tidak diketahui Mr-nya, konsentrasi larutan dengan absorbansi tersebut biasanya digunakan 10 ppm, bila absorbansi yang diperoleh masih terlalu tinggi, larutan sampel tersebut harus diencerkan; sebaliknya bila terlalu rendah, maka jumlah sampel harus ditambah.

#### 1.6.4 Penggunaan Metode Spektrofotometri UV-Vis (Suarsa, 2015)

Adapun penggunaan metode spektrofotometri UV-Vis ini digunakan sebagai berikut:

- 1) Menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap yang terkonyugasi dan ausokrom dari suatu senyawa organik.
- 2) Menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa.
- 3) Mampu menganalisis senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert-Beer.

#### 1.6.5 Hukum Lambert-Beer (Suarsa, 2015)

Hukum Lambert-Beer (*Beer's law*) adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan sampel. Konsentrasi dari sampel di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Biasanya hukum Lambert-Beer ditulis dengan:

$$A = \epsilon \times b \times C$$

Keterangan:

A = Absorban (serapan)

$\epsilon$  = koefisien ekstingsi molar ( $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

b = Tebal kuvet (cm)

C = Konsentrasi (M)

Selain itu, hukum Lambert-Beer bisa juga ditulis dengan:

$$A = E \times b \times C$$

Keterangan:

E = Koefisien ekstingsi spesifik ( $\text{ml g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

b = Tebal kuvet (cm)

C = Konsentrasi (gram/100 ml)

## 1.7 Validasi Metode

### 1.7.1 Pengertian

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004).

Validasi merupakan suatu proses evaluasi kecermatan dan keseksamaan yang dihasilkan oleh suatu prosedur dengan nilai yang dapat diterima. Sebagai tambahan, validasi memastikan bahwa suatu prosedur tertulis memiliki detail yang cukup jelas sehingga dapat dilaksanakan oleh analis atau laboratorium yang berbeda dengan hasil yang sebanding (Kembaren & Harahap, 2017).

### 1.7.2 Parameter Validasi Metode

Menurut Harmita (2004), parameter validasi metode terdiri dari kecermatan (*accuracy*), keseksamaan (*precision*), selektivitas (spesifisitas), linearitas dan rentang, batas deteksi dan batas kuantitasi, ketangguhan metode (*rugged-ness*), dan kekuatan (*robustness*) yang dijelaskan sebagai berikut:

#### 1) Kecermatan (*Accuracy*)

Kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Kecermatan hasil analisis sangat tergantung kepada sebaran galat sistematis di dalam keseluruhan tahapan analisis. Oleh karena itu untuk mencapai kecermatan yang tinggi hanya dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematis tersebut seperti menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat, taat asas sesuai prosedur.

2) Keseksamaan (*Precision*)

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen.

3) Selektivitas (Spesifisitas)

Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel. Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (*degree of bias*) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya, dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan.

4) Linearitas dan Rentang

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima.

5) Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.

6) Ketangguhan Metode (*Rugged-ness*)

Ketangguhan metode adalah derajat ketertiruan hasil uji yang diperoleh dari analisis sampel yang sama dalam berbagai kondisi uji normal, seperti laboratorium, analisis, instrumen, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda, dll. Ketangguhan biasanya dinyatakan sebagai tidak adanya pengaruh perbedaan operasi atau lingkungan kerja pada hasil uji. Ketangguhan metode merupakan ukuran ketertiruan pada kondisi operasi normal antara lab dan antar analis.

7) Kekuatan (*Robustness*)

Untuk memvalidasi kekuatan suatu metode perlu dibuat perubahan metodologi yang kecil dan terus menerus dan mengevaluasi respon analitik dan efek presisi dan akurasi.

### **1.7.3 Pentingnya Validasi Metode (Riyanto, 2014)**

Validasi metode sangat diperlukan karena beberapa alasan yaitu validasi metode merupakan elemen penting dari kontrol kualitas, validasi membantu memberikan jaminan bahwa pengukuran akan dapat diandalkan. Dalam beberapa bidang, validasi metode adalah persyaratan peraturan.

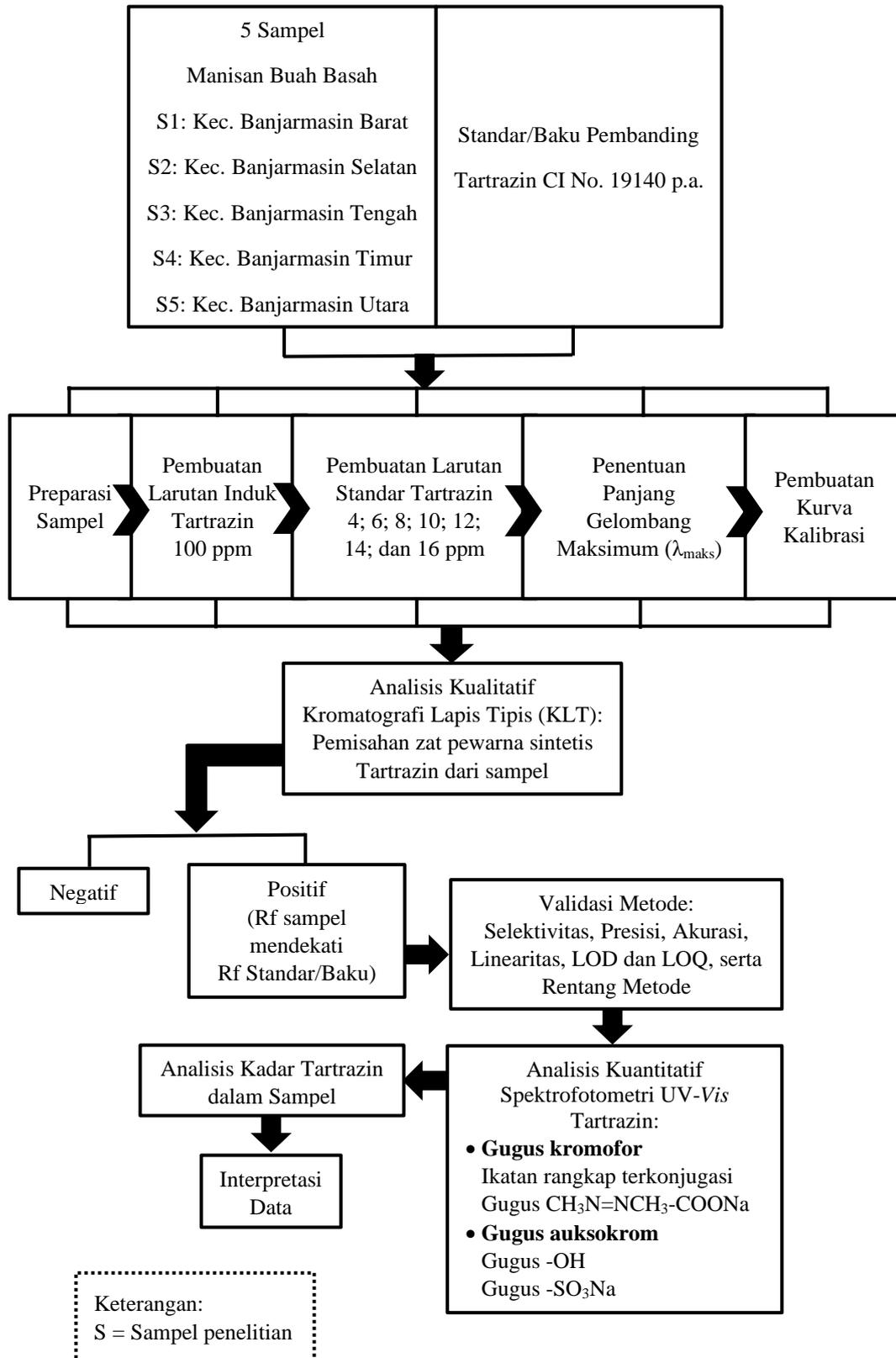
Menurut ISO 17025 validasi adalah konfirmasi dengan pemeriksaan dan penyediaan bukti obyektif bahwa persyaratan tertentu untuk suatu maksud khusus yang terpenuhi. Menurut *Quality Assurance Standards for Forensic DNA Testing Laboratories*, validasi adalah proses dimana prosedur dievaluasi untuk menentukan kemandirian dan keandalan untuk analisis. Untuk menunjukkan bahwa metode cocok untuk tujuan yang dimaksudkan.

Menurut EUROCHEM validasi adalah konfirmasi melalui pemeriksaan dan penyediaan bukti objektif bahwa persyaratan tertentu untuk penggunaan yang dimaksudkan tertentu terpenuhi. Metode validasi

adalah proses pembentukan karakteristik kinerja dan keterbatasan metode dan identifikasi pengaruh yang mungkin mengubah karakteristik ini dan sampai sejauh mana sekarang juga proses verifikasi bahwa suatu metode cocok untuk tujuan, yaitu, untuk digunakan untuk memecahkan analitis tertentu masalah. Beberapa tujuan validasi metode uji adalah:

- 1) Untuk menerima sampel individu sebagai anggota dari populasi yang diteliti.
- 2) Untuk mengakui sampel pada proses pengukuran.
- 3) Untuk meminimalkan pertanyaan tentang keaslian sampel.
- 4) Untuk memberikan kesempatan bagi resampling bila diperlukan.

## 1.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep penelitian