

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pangan

2.1.1 Definisi Pangan

Pangan merupakan kebutuhan pokok manusia, dan perwujudannya adalah perwujudan sumber daya manusia yang berkualitas bagi setiap rakyat Indonesia untuk mewujudkan hak asasi manusia dalam pembangunan nasional. Keamanan, kualitas tinggi, kaya gizi, variasi dan kecukupan pangan yang luas merupakan syarat utama yang harus dipenuhi untuk menerapkan sistem pangan. Ini dapat meningkatkan kemakmuran dan kesejahteraan rakyat (Perpres RI, 1996). Pangan adalah bahan yang berasal dari sumber daya hayati dan air, baik diolah maupun tidak, adalah semua makanan atau minuman yang dapat dimakan oleh manusia, termasuk bahan tambahan makanan, bahan baku pangan, dan bahan lain yang digunakan dalam proses pembuatan dan pengolahan atau produksi makanan atau minuman (BPOM, 2019).

Pangan segar adalah pangan yang belum diolah, sehingga dapat dimakan langsung dan atau dapat menjadi bahan baku pengolahan pangan (Perpres RI, 2004). Pangan olahan adalah makanan atau minuman yang merupakan hasil penambahan atau tidak ditambahkan bahan tambahan dengan cara tertentu (BPOM, 2019). Makanan olahan tertentu merupakan makanan olahan yang dikonsumsi oleh kelompok masyarakat tertentu dalam rangka menjaga dan meningkatkan kualitas kesehatannya. Makanan siap saji adalah makanan atau minuman yang telah diproses dan siap disajikan langsung di dalam atau di luar tempat usaha sesuai pesanan atau kebutuhan konsumen. Sistem pangan adalah segala sesuatu yang berkaitan dengan pengaturan, pengembangan, dan / atau pengawasan kegiatan atau proses produksi pangan dan peredaran pangan sampai dapat dimakan (Perpres RI, 2004).

2.1.2 Keamanan Pangan

Keamanan pangan adalah kondisi dan tindakan yang diperlukan untuk mencegah pangan terpapar secara biologis, kimiawi dan kontaminan lainnya. Saat mengonsumsi makanan tersebut, dapat mengganggu, membahayakan dan membahayakan kesehatan manusia (Perpres RI, 1996). Persyaratan keamanan pangan adalah standar dan peraturan lain yang harus diikuti untuk mencegah kemungkinan terjadinya bahaya pangan yang disebabkan oleh biologi, kimiawi, dan zat lain yang mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia (Perpres RI, 2004).

Kebersihan pangan adalah untuk mencegah pertumbuhan dan reproduksi mikroorganisme pembusuk dan patogen pada makanan, minuman, peralatan dan bangunan. Kondisi kebersihan yang baik diperlukan untuk melindungi pangan dari kerusakan yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Persyaratan *hygiene* adalah sanitasi dan standar kesehatan yang harus diperhatikan untuk melindungi atau mencegah kelangsungan hidup mikroorganisme patogen dan mengurangi jumlah mikroorganisme lain agar pangan yang dihasilkan dan dimakan tidak membahayakan kesehatan dan kehidupan manusia (Perpres RI, 2004).

Tujuan mengatur, memelihara dan mengendalikan makanan manusia adalah:

- a. Menyediakan makanan yang memenuhi persyaratan keamanan, kualitas dan gizi untuk kesehatan manusia.
- b. Membangun perdagangan makanan yang jujur dan bertanggung jawab
- c. Mewujudkan pangan yang memadai dengan harga yang terjangkau dan terjangkau sesuai dengan kebutuhan masyarakat (Perpres RI, 1996).

Setiap orang yang memproduksi atau mengolah pangan (baik produk rumah tangga maupun perusahaan) dilarang mengedarkan bahan yang digunakan sebagai bahan tambahan pangan, dan bahan tersebut

dinyatakan dilarang melebihi batas maksimum yang ditentukan (Perpres RI, 1996).

Setiap orang dilarang menjual dan mengedarkan makanan yang mengandung bahan yang berbahaya bagi kesehatan:

- a. Pangan mengandung zat yang beracun, berbahaya, atau dapat membahayakan atau membahayakan kesehatan atau jiwa.
- b. Kontaminan yang terkandung dalam makanan melebihi ambang batas maksimum yang ditentukan.
- c. Pangan yang mengandung bahan yang dilarang digunakan dalam kegiatan atau proses produksi pangan
- d. Pangan yang mengandung bahan kotor, busuk, busuk, membusuk, atau makanan yang mengandung bahan hewani dan tumbuhan yang berpenyakit atau berasal dari tumbuhan, sehingga tidak layak untuk dikonsumsi manusia
- e. Pangan kadaluarsa (Perpres RI, 1996).

2.1.3 Tinjauan Umum Jajanan

Menurut FAO (*Food and Agriculture Organization*), jajanan mengacu pada makanan dan minuman yang disiapkan atau dijual oleh pedagang kaki lima di pinggir jalanan dan di tempat umum, yang dapat dimakan atau dikonsumsi tanpa pengolahan atau persiapan lebih lanjut. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia 942 / MENKES / SK / VII / 2003 mengatur tentang pedoman persyaratan sanitasi makanan jajanan, sedangkan makanan ringan adalah makanan dan minuman yang diolah oleh pengrajin makanan selama penjualan atau dijual untuk umum sebagai makanan siap saji, kecuali untuk jasa katering, restoran/resto dan hotel. Makanan - makanan ringan yang tidak sehat akan menurunkan status gizi murid dan meningkatkan kejadiannya (Hariyati & Husamah, 2018).

Dinyatakan bahwa jajanan adalah pangan yang terbagi dalam makanan ringan (*snack*) dan makanan lengkap, yang mengacu pada makanan yang siap disantap di tempat penjualan atau dimasak untuk pertama kali dan dijual di pinggir jalan atau di tempat umum. Perbedaan makanan (*food*),

makanan ringan (*snack*) dan minuman (*drink*) dalam jajanan. Jajanan adalah makanan yang dimakan di sela waktu makan, sedangkan minuman adalah cairan yang dikonsumsi bersama makanan / jajanan biasa atau makanan lainnya (Hariyati & Husamah, 2018).

2.2 Bahan Tambahan Pangan

Bahan tambahan makanan merupakan bahan yang umumnya tidak digunakan sebagai bahan makanan, dan umumnya bukan bahan makanan khas dengan atau tanpa nilai gizi. Selama pembuatan, pemrosesan, persiapan, dan pemrosesan, bahan tambahan ini sengaja ditambahkan ke kemasan makanan untuk tujuan teknis (termasuk sensorik). Pengemasan, penyimpanan atau pengangkutan untuk menghasilkan atau mengantisipasi (langsung atau tidak langsung) produksi senyawa yang mempengaruhi karakteristik khusus pangan (Permenkes RI, 1985).

Bahan tambahan pangan yang selanjutnya disingkat BTP adalah bahan yang ditambahkan pada pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan.

BTP yang digunakan dalam pangan harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

- a. BTP tidak perlu dikonsumsi secara langsung dan / atau tidak dianggap sebagai bahan pangan.
- b. BTP dapat atau tidak memiliki nilai gizi, sengaja ditambahkan pada pangan untuk tujuan teknis dan dalam produksi, pengolahan, penanganan, pengemasan, penyimpanan dan / atau pengangkutan pangan untuk tujuan teknis dan satu atau lebih pangan yang diproduksi atau diharapkan bisa diproduksi. Secara langsung atau tidak langsung mempengaruhi sifat makanan.
- c. BTP tidak mengandung kontaminan atau bahan yang ditambahkan ke makanan untuk mempertahankan atau meningkatkan nilai gizi (Permenkes RI, 2012).

Beberapa BTP yang digunakan dalam pangan menurut Permenkes RI No. 033 tahun 2012 terdiri atas beberapa golongan yaitu meliputi :

- a. Antibuih (*Antifoaming agent*)
- b. Antikempal (*Anticaking agent*)
- c. Antioksidan (*Antioxidant*)
- d. Bahan pengkarbonasi (*Carbonating agent*)
- e. Garam pengemulsi (*Emulsifying salt*)
- f. Gas untuk kemasan (*Packaging gas*)
- g. Humektan (*Humectant*)
- h. Pelapis (*Glazing agent*)
- i. Pemanis (*Sweetener*)
- j. Pembawa (*Carrier*)
- k. Pembentuk gel (*Gelling agent*)
- l. Pembuih (*Foaming agent*)
- m. Pengatur keasaman (*Acidity regulator*)
- n. Pengawet (*Preservative*)
- o. Pengembang (*Raising agent*)
- p. Pengemulsi (*Emulsifier*)
- q. Pengental (*Thickener*)
- r. Pengeras (*Fiming agent*)
- s. Penguat rasa (*Flavour enhancer*)
- t. Peningkat volume (*Bulking agent*)
- u. Penstabil (*Stabilizer*)
- v. Peretensi warna (*Colour retention agent*)
- w. Perasa (*Flavouring*)
- x. Perlakuan tepung (*Flour treatment agent*)
- y. Pewarna (*Colour*)
- z. Propelan (*Propellant*)
- aa. Sekuestran (*Sequestrant*) (Permenkes RI, 2012).

Selain BTP yang digunakan dalam pangan yang disebutkan di atas masih ada BTP untuk pemutih dan pematang tepung (*Flour Treatment agent*). BTP yang diizinkan antara lain pemutih dan pematang tepung (*Flour Treatment agent*)

menurut Permenkes RI No. 1168 / Menkes / Per / X / 1999 antara lain dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2.1. Bahan yang digunakan sebagai bahan pemutih dan pematang tepung (*Flour Treatment agent*).

No.	NAMA BAHAN TAMBAHAN		JENIS/BAHAN	BATAS
	MAKANAN		MAKANAN	MAKSIMUM
	Bahasa Indonesia	Bahasa Inggris		PENGUNAAN
1.	Asam askorbat	<i>Ascorbic Acid</i>	Tepung	200 mg/kg
2.	Aseton peroksida	<i>Aceton Peroxide</i>	Tepung	Secukupnya
3.	Azodikarbonamida	<i>Azodicarbonamide</i>	Tepung	45 mg/kg
4.	Kalsium Stearoil-2-laktilat	<i>Calcium Stearoyl-2-lactylate</i>	1. Adonan kue	5 g/kg bahan kering
			2. Roti & sejenisnya	3,75 g/kg tepung
5.	Natrium Stearyl Fumarat	<i>Sodium Stearyl Fumarate</i>	Roti & sejenisnya	5 g/kg tepung
6.	Natrium Stearoil-2-laktilat	<i>Sodium Stearoyl-2-lactylate</i>	1. Roti & sejenisnya	3,75 g/kg tepung
			2. Wafel & tepung campuran wafel	3 g/kg bahan kering
			3. Adonan kue	5 g/kg bahan kering
			4. Serabi & tepung campuran serabi	3 g/kg bahan kering
7.	L – Sisteina (Hidroklorida)	L-Cysteine (Hydrochloride)	1. Tepung	90 mg/kg
			2. Roti & sejenisnya	secukupnya

(Permenkes RI, 1999).

Menurut Permenkes RI No. 1168/Menkes/Per/X/1999 BTP yang dilarang digunakan dalam makanan antara lain meliputi :

- a. Asam Borat dan senyawanya
- b. Asam Salisilat dan garamnya
- c. Dietilpirokarbonat (DEPC)
- d. Dulsin
- e. Kalium Klorat
- f. Kloramfenikol
- g. Minyak Nabati yang dibrominasi
- h. Nitrofurazon
- i. Formalin (*Formaldehyde*)
- j. Kalium Bromat (*Potassium Bromate*) (Permenkes RI, 1999).

2.3 Zat Pewarna Makanan

2.3.1 Pengertian Zat Pewarna Makanan

Pewarna makanan merupakan bahan tambahan pangan yang dapat meningkatkan warna pada makanan yang membuatnya menjadi lebih menarik, warna lebih seragam dan stabil, serta menutupi perubahan warna akibat proses pengolahan dan penyimpanan (Nasution, 2014).

Berdasarkan Permenkes No 033/2012, pada tahun 2012, 15 pewarna alami dan 11 pewarna sintetis diperbolehkan untuk digunakan dalam makanan. Pada tahun 2013, sesuai dengan peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia (No. 37 tahun 2013), peraturan tersebut mengatur tentang batas maksimum BTP untuk pewarna, dan penggunaannya telah disertifikasi secara kuantitatif, sertifikat analisis. Batas maksimal pewarna BTP hanya dapat digunakan dengan izin nomor 033/2012 (Penanggung Jawab Peraturan BPOM Nomor 37 Tahun 2013) (Subhan, *et al.*, 2019).

2.3.2 Macam – Macam Zat Warna Makanan

Warna adalah bahan tambahan makanan berupa pewarna alami dan pewarna sintetis, yang jika ditambahkan atau diaplikasikan pada makanan dapat memberikan atau memperbaiki warna.

a. Warna Alami

Warna alam adalah pewarna yang dibuat melalui proses ekstraksi, pemisahan atau pengambilan (disintesis sebagian) dari tumbuhan, hewan, mineral atau sumber alam lainnya, termasuk pewarna alam.

Tabel 2.2. BTP untuk pewarna alami

No.	Zat Pewarna	BatasMaksimum (mg/kg)
1.	Kurkumin Cl. No. 75300 (<i>Curcumin</i>)	100 (i)
2.	Riboflavin (Riboflavins) :	
	Riboflavin (sintetik) (<i>Riboflavin, synthetic</i>)	101 (i)
	Riboflavin 5'-natrium fosfat (<i>Riboflavin 5'-phosphate sodium</i>)	101 (ii)
	Riboflavin dari <i>Bacillus subtilis</i> (<i>Riboflavin (Bacillus subtilis)</i>)	101 (iii)
3.	Karmin dan ekstrak cochineal Cl. No. 75470 (<i>Carmines and cochineal extract</i>) :	
	Karmin Cl. No. 75470 (<i>Carmines</i>)	120
	Ekstrak cochineal No. 75470 (<i>Cochineal extract</i>)	120
4.	Klorofil Cl. No. 75810 (<i>Chlorophyll</i>)	140
5.	Klorofil dan klorofilin tembaga kompleks Cl. No. 75810 (<i>Chlorophylls and chlorophyllins, copper complexes</i>)	141
6.	Karamel I (<i>Caramel I – plain</i>)	150 a
7.	Caramel III ammonia proses (<i>Caramel III – ammonia process</i>)	150 c
8.	Caramel IV ammonia sulfat proses (<i>Caramel IV – sulphite Ammonia process</i>)	150 d
9.	Karbon tanaman Cl. 77266 (<i>Vegetable carbon</i>)	153
10.	Beta - karoten (sayuran) Cl. No. 75130 (<i>Carotenes, beta (vegetable)</i>)	160 a (ii)
11.	Ektrak anato Cl. No. 75120 (berbasis bixin) (<i>Annatto extracts, bixin based</i>)	160 b (i)
12.	Karotenoid (<i>Carotenoids</i>) :	
	Beta – karoten (sintetik) Cl. No. 40800 (<i>beta – Carotenes, synthetic</i>)	160 a (i)
	Beta – karoten dari <i>Blakeslea trispora</i> (<i>beta – Carotenes (Blakeslea trispora)</i>)	160 a (iii)
	Beta – apo – 8' – karotenal Cl. No. 40820 (<i>beta – apo – 8' – Carotenal</i>)	160 e
	Etil ester dari beta – apo – 8' asam karotenoat Cl. No. 40825 (<i>beta – apo – 8' – Carotenoic acid ethyl ester</i>)	160 f
13.	Merah bit (<i>Beet red</i>)	162
14.	Antosianin (<i>Anthocyanins</i>)	163
15.	Titanium dioksida Cl. No. 77891 (<i>Titanium dioxide</i>)	171

(Permenkes RI, 2012).

b. Pewarna Sintetis (*Synthetic Colors*)

Warna Sintetis adalah pewarna yang disintesis secara kimiawi. Berikut ini tabel BTP berupa pewarna alami yang diperbolehkan di Indonesia. Berikut ini tabel BTP berupa pewarna sintetis yang diperbolehkan di Indonesia.

Tabel 2.3. BTP untuk Pewarna sintetis (*Synthetic Colors*)

No.	Zat Pewarna	Batas Maksimum (mg/kg)
1.	Tartrazin Cl. No. 19140 <i>Tartrazine</i>	102
2.	Kuning kuinolin Cl. No. 47005 <i>Quinoline yellow</i>	104
3.	Kuning FCF Cl. No. 15985 <i>Sunset yellow FCF</i>	110
4.	Karmoisin Cl. No. 14720 (<i>Carmoisine</i>)	122
5.	Ponceau 4R Cl. No. 16255 (<i>Ponceau 4R</i>)	124
6.	Eritrosin Cl. No. 45430 (<i>Erythrosine</i>)	127
7.	Merah allura Cl. No. 16035 (<i>Allura red</i>)	129
8.	Indigotin Cl. No. 73015 (<i>Indigotine</i>)	132
9.	Biru berlian FCF Cl. No. 42090 (<i>Brilliant blue FCF</i>)	133
10.	Hijau FCF Cl. No. 42053 (<i>Fast green FCF</i>)	143
11.	Coklat HT Cl. No. 20285 (<i>Brown HT</i>)	155

(Permenkes RI, 2012).

Peraturan tentang pewarna sintetis yang dilarang di Indonesia dapat dilihat pada Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 235/Menkes/Per/VI/79 tanggal 19 Juni 1979. Berikut ini tabel BTP berupa pewarna yang dilarang di Indonesia dapat dilihat pada **Tabel 2.4.**

Tabel 2.4. Pewarna sintetis makanan yang dilarang di Indonesia.

No.	Zat Warna	Nomor Indeks Warna C. I. No.
1.	Auramine (C. I Basic Yellow 2)	41000
2.	Alkanet	75520
3.	Butter Yellow (C. I. Solvent Yellow 2)	11020
4.	Black 7984 (Food Vlack 2)	27755
5.	Burn Unber (Pigment Brown 7)	77491
6.	Chrysoidine (C.I. Basic Orange 2)	11270
7.	Chrysoine S (C.I Food Yellow 8)	14270
8.	Citrus Red No. 2	12156
9.	Chocolate Brown FB (Food Brown 2)	-
10.	Fast Red E (C. I Food Red 4)	16045
11.	Fast Yellow AB (C. I Food Yellow 2)	13015
12.	Guinea Green B (C. I Acid Green No. 3)	42085
13.	Indanthrene Blue RS (C. I Food Blue 4)	69800
14.	Magenta (C. I Basic Violet 14)	42510
15.	Metanil Yellow (Ext. D&C Yellow No. 1)	13065
16.	Oil Orange SS (C. I Solvent Orange 2)	12100
17.	Oil Orange XO (C. I Solvent Orange 7)	12140
18.	Oil Orange AB (C. I Solvent Yellow 5)	11380
19.	Oil Yellow AB (C. I Solvent Yellow 6)	11390
20.	Orange G (C. I Food Orange 4)	16230
21.	Orange GGN (C. I Food Orange 2)	15980
22.	Orange RN (Food Orange 1)	15970
23.	Orchid and Orcein	-
24.	Ponceau 3R (Acid Red 1)	16155
25.	Ponceau SX (C. I Food Red 1)	14700
26.	Ponceau 6R (C. I Food Red 8)	16290
27.	Rhodamin B (C. I Food Red 15)	45170
28.	Sudan I (C. I Solvent Yellow 14)	12055
29.	Scarlet GN (Food Red 2)	14815
30.	Violet 6 B	42640

(Permenkes RI, 1983).

2.3.3 Batasan BTP

Dalam kehidupan sehari-hari, masyarakat biasanya menggunakan BTP, termasuk perusahaan makanan dan minuman. Karena sifat dan keamanannya, sebaiknya BTP tidak digunakan karena sangat berbahaya. Namun kejadian ini terus berulang, karena secara umum tubuh manusia tidak dapat merasakan dampak BTP secara langsung terhadap kesehatan, sehingga produsen tidak mengetahui bahwa penggunaan BTP sangat berbahaya bagi kesehatan (Aprilya, 2018).

BTP banyak digunakan oleh masyarakat dan secara langsung maupun tidak langsung akan mempengaruhi karakteristik pangan (termasuk bahan yang digunakan dalam proses produksi, proses pabrik, pengemasan, pengolahan, pengangkutan dan pemasaran). Jika BTP tidak aman maka diperlukan evaluasi ilmiah agar dapat digunakan secara aman dan luas. Evaluasi ini dapat diartikan sebagai: secara umum dianggap aman (safe as/GRAS). Dalam hal ini tidak termasuk penyimpanan atau pelanggaran BTP yang sering dilakukan oleh produsen pangan (Aprilya, 2018).

Penggunaan BTP yang beracun atau berlebihan akan membahayakan kesehatan masyarakat dan mengganggu pertumbuhan generasi mendatang. Jika fakta membuktikan bahwa zat tersebut bersifat karsinogenik (penyebab pertumbuhan sel kanker) saat dikonsumsi oleh manusia atau hewan, maka untuk mencegah terjadinya zat berbahaya tersebut, produsen pangan perlu memahami sifat dan keamanan BTP yang akan semakin berbahaya. Selain itu, peraturan perundang-undangan yang ditetapkan oleh pemerintah juga harus dipatuhi (Aprilya, 2018).

2.3.3.1 Batasan Secara Teknis Zat Pewarna

Batasan teknis dikeluarkan oleh Komite Perlindungan Pangan dari *Food and Nutrition Board* dari *National Academy of Sciences*. *Institute of Science* adalah *National Academy of Sciences*, yang cukup berwibawa di Amerika Serikat. Pada tahun

1979, Badan tersebut menunjukkan bahwa BTP merupakan bahan atau campuran bahan selain bahan yang terkandung dalam pangan selama pengolahan atau penyimpanan atau pengemasan (Aprilya, 2018).

Secara teknis materi BTP terbagi dalam dua kategori, yaitu:

- a. BTP ditambahkan secara langsung dan sengaja selama proses produksi, dengan tujuan untuk mempercantik tampilan dan rasa dengan cara mengontrol kemasan atau rasa.
- b. BTP dalam makanan ditemukan dalam makanan melalui pemrosesan dan sebagai aditif yang tidak disengaja (insidental). Di sini kami membedakan antara aditif dan kontaminan makanan. Kontaminan adalah zat yang masuk ke dalam makanan melalui makanan di dalam tanah dan selama proses pembuatan makanan. Polutan tersebut adalah nitrat, selenium, dan timbal. Jamur dan bakteri (Aprilya, 2018).

2.3.3.2 Batasan Maksimum Penggunaan Zat Pewarna

Asupan harian yang dapat diterima atau *Acceptable Daily Intake* (ADI) mengacu pada jumlah maksimal makanan (mg/kg berat badan) yang dapat dikonsumsi setiap hari tanpa menimbulkan efek bagi kesehatan yang bersifat merugikan. Asupan harian maksimal yang dapat ditoleransi atau *Maximum Tolerable Daily Intake* (MTDI) mengacu pada kandungan maksimal zat yang dapat dicerna dalam sehari tanpa mempengaruhi kesehatan (mg/kg). Asupan mingguan sementara yang dapat ditoleransi atau *Provisional Tolerable Weekly Intake* (PTWI) mengacu pada jumlah maksimum sementara (mg/kg) suatu zat yang dapat dikonsumsi dalam seminggu tanpa mempengaruhi kesehatan (BPOM, 2019).

ADI not specified atau *ADI not limited* atau *ADI acceptable* adalah istilah yang digunakan untuk BTP yang memiliki toksisitas sangat rendah, menurut data (kimia, biokimia, toksikologi dan lainnya). Jika BTP digunakan dalam dosis yang sama maka diperlukan pertimbangan lain untuk mencapai efek yang diinginkan menurut pendapat FAO / WHO *Expert Committee on Food Additives* (JECFA) tidak menimbulkan bahaya bagi kesehatan. Istilah "*No ADI Allocated* atau *No ADI Necessary* " digunakan untuk BTP dengan informasi atau data keamanan yang masih sangat terbatas menurut pendapat FAO / WHO *Expert Committee on Food Additives* (JECFA) (BPOM, 2019).

JECFA belum menemukan semua pewarna yang mempunyai ADI, sebagian besar masih dalam tahap evaluasi. Pewarna yang ditemukan sebagai asupan harian rata-rata yang diperbolehkan adalah sebagai berikut (Aprilya, 2018). Dapat dilihat secara langsung pada **Tabel 2.5**.

Tabel 2.5. Asupan rata – rata harian (mg) zat pewarna yang diizinkan

Zat pewarna	Umur		
	6 – 23 bualn	6 – 12 tahun	18 – 44 tahun
Briliant Blue FCF	0,52	1,0	0,76
Alumunium Lake			
Indigotine Alumunium Lake	0,35	0,54	0,49
Fast Green FCF	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Alumunium Lake			
Erythrosine	1,3	2,8	2,1
Alumunium Lake			
Allura Red	2,2	4,9	3,8
Alumunium Lake			
Allura Red	Tidak ada	1,8	2,5
Calcium Lake			
Tartrazine Alumunium Lake	2,2	4,3	3,0
Tartrazine	0,09	0,10	0,11
Calcium Lake			
Sunset Yellow	1,1	2,7	1, 7
Alumunium Lake			
Total	7,8	18,1	14,5

(Aprilya, 2018).

2.4 Pewarna Methylene Yellow

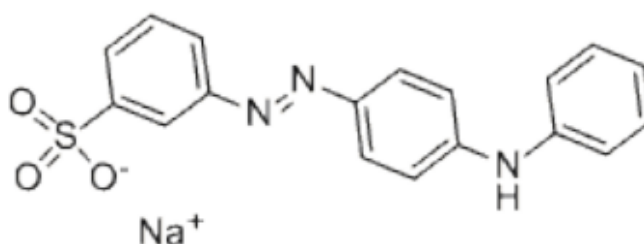
Methylene Yellow adalah pewarna kuning yang digunakan dalam industri cat, kulit, tekstil, kertas, tinta dan plastk (Kemenkes RI, 2012). Sifat fisik makanan yang mengandung pewarna *Methylene Yellow* yaitu kuning cerah, dan terdapat bercak putih karna tidak homogen (Priscila, *et al.*, 2019).

2.4.1 Karakteristik *Methylene Yellow*

Methylene Yellow adalah pewarna sintetis berupa bubuk kuning keceklatan. Senyawa *Methylene Yellow* adalah azo, amin dan aromatik dengan berat molekul 375 dan 38 g/mol dan rumus molekul $C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$ (Mawaddah, 2015). *Methylene Yellow* adalah pewarna dengan gugus kromofor. Mudah larut dalam air dan alkohol, sangat larut dalam: benzena; eter, sedikit larut dalam aseton. Titik leleh *Methylene Yellow* $> 3000^{\circ}C$, dan titik lebur $390^{\circ}C$. Kelarutan dalam air pada suhu

24° C adalah 5-10 g / 100 mL, dan panjang gelombang maksimum adalah 485 nm. Berat molekul senyawa adalah 452,37, bentuk fisik serbuk/padat, kuning kecoklatan (Muliadi, 2015).

Pewarna *Methylene Yellow* memiliki beberapa nama lain, diantaranya yaitu : *Acidic Methylene Yellow*, *Acid yellow 36*, *Brasilian Methylene Yellow*, *C.I.13065*, *C.I Acid yellow*, *C.I Acid yellow 36 monosodium salt*, *Metnile yellow O*, *Diacid Methylene Yellow*, *Eriacid Methylene Yellow GN*, R- 2330, R -2340, 56822 dan 56827. Struktur molekul *Methylene Yellow* dapat dilihat pada Gambar 2.1 berikut ini (Mawaddah, 2015).



Gambar 2.1. Struktur molekul pewarna *Methylene Yellow* (Mawaddah, 2015).



Gambar 2.2. *Methylene Yellow* (Hijriyani, 2018).

2.4.2 Identifikasi *Methylene Yellow*

Identifikasi *Methylene Yellow* dapat dilakukan dengan cara yang cukup mudah yaitu dengan melakukan uji warna, sampel dapat menunjukkan hasil positif *Methylene Yellow* jika :

- a. Sampel direaksikan dengan HCl, menghasilkan warna merah ungu.
- b. Sampel direaksikan dengan H₂SO₄ pekat, menghasilkan warna ungu.
- c. Sampel direaksikan dengan 10% NOH, menghasilkan warna yang tetap (sesuai warna sampel).
- d. Sampel direaksikan dengan 10% NH₄OH, menghasilkan warna yang tetap (sesuai warna sampel) (Indriani & Suwita, 2018).

2.4.3 Dampak Penggunaan *Methylene Yellow* Bagi Kesehatan

Dampak yang akan terjadi pada kesehatan jika pewarna sintetis ini masuk kedalam tubuh dapat menyebabkan mual, muntah, sakit perut, diare, lemah, hipotensi dan demam (Yudha, 2014). Penggunaan *Methylene Yellow* dalam jangka panjang dapat menyebabkan gangguan fungsi hati dan kanker. Ketika *Methylene Yellow* masuk melalui makanan, maka akan mengiritasi saluran pencernaan dan menimbulkan gejala keracunan yang ditandai dengan urine yang berwarna merah atau merah muda. Terhirup *Methylene Yellow* dapat mengiritasi saluran pernafasan. *Methylene Yellow* merupakan senyawa azo, aromatik dan amin yang dapat menyebabkan tumor di berbagai jaringan hati, saluran kemih, saluran pencernaan atau jaringan kulit (Muliadi, 2015).

2.5 Analisis Bahan Pewarna

2.5.1 Kualitatif

2.5.1.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik atau uji sensorik merupakan cara pengujian dengan menggunakan sensorik manusia sebagai alat utama untuk menerima suatu produk. Penilaian terhadap pangan merupakan salah satu sifat yang menentukan diterima atau tidak suatu produk. Sensorik yang digunakan dalam menilai pangan

adalah penglihatan, peraba, pembau dan pengecap (Suryono, *et al.*, 2018).

2.5.1.2 Uji Warna

Uji warna merupakan analisa secara kualitatif dengan metode *spot test* yaitu analisa kimia dengan menggunakan reagen kit. Prinsip dari pengujian ini yaitu dengan cara mereaksikan suatu zat atau sampel dengan pereaksi (reagen kit) untuk mengetahui kandungan zat warna sintetik dari zat atau sampel tersebut yaitu ditandai dengan perubahan warna yang khas (Masthura, 2019).

2.5.1.3 Uji KLT

Pada prinsipnya kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik pemisahan yang menggunakan dua fasa (yaitu fasa gerak dan fasa diam). Pemisahan didasarkan pada distribusi komposisi analit antara dua fasa, pemisahan komponen terjadi secara diferensial, dan fasa gerak dipisahkan oleh fasa diam. Fase gerak dapat berupa cairan, sedangkan fase diam dapat berupa padat (adsorpsi), gel alumina dan bubuk selulosa (Mawaddah, 2015).

Teknik kromatografi lapis tipis sama dengan teknik kromatografi kertas. Sampel yang akan dipisahkan ditempatkan pada pipa kapiler kromatografi lapis tipis, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi eluen, jika uapnya sudah jenuh. Proses penjenuhan lebih cepat dan bisa menghabiskan waktu 10 menit hingga 1 jam. Jika larutan sampel 1-10 dengan konsentrasi 1% digunakan, diameter noda atau noda sampel adalah 2-5 mm. Gambar 2.3 merupakan plat KLT (Mawaddah, 2015).



Gambar 2.3. Resapan daerah pada plat KLT
(Mawaddah, 2015).

Penggunaan kromatografi lapis tipis sebagai metode analisis memiliki kelebihan yaitu preparasi sampel sederhana dan R_f mudah untuk dihitung, namun kekurangannya harus menunggu fasa gerak untuk saturasi dijenuhkan terlebih dahulu sehingga membutuhkan waktu yang lama. Waktu (Sundalian & Nugrahaeni, 2018).

Eluen dibuat dengan perbandingan volume n-butanol: asam asetat glasial: Aquadest (4: 5: 1). Siapkan *chamber* KLT yang diisi dengan 5 mL eluen, kemudian diamkan selama setengah jam untuk menjenuhkan uap dalam ruangan dan membuatnya seragam. Pada saat yang sama, komponen kecil KLT dipanaskan atau diaktifkan pada suhu 105°C selama 5 menit. Sehingga tidak mengikat uap air, sehingga plat KLT menjadi seragam (Lubis, 2011).

Tanda plat KLT adalah 1 cm dari tepi bawah garis. Garis ini disebut titik awal, kemudian ditarik puncak pada jarak 8,5 cm dari titik akhir (disebut titik akhir), dimana sampel yang sudah berbentuk filtrat diberi tanda a. Jika diameter pewarnaan tidak melebihi 0,5 cm, tandai larutan standar pada jarak 1 cm dari titik sampel, dan buat sapuan kuas sesering mungkin untuk meningkatkan reproduktifitas, karena penyorotan yang salah

akan menyebabkan bintik-bintik menyebar. Jika noda pada garis start menjadi kering, masukkan plat ke dalam ruang yang berisi eluen, ketinggian eluen harus dibawah noda pada garis (Lubis, 2011).

Chamber ditutup rapat dengan aluminium foil. Berhati-hatilah agar tidak membuka *chamber* selama proses pengembangan. Biarkan eluen berpindah ke garis finish, lalu lepaskan plat dari ruang dan biarkan mengering. Periksa Rf noda sampel dan bandingkan dengan Rf larutan standar (Lubis, 2011).

2.5.2 Kuantitatif

2.5.2.1 Validasi Metode

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penelitian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Parameter – parameter yang penting dalam validasi metode analisis yaitu meliputi, akurasi, presisi, linieritas, LOD dan LOQ (Lubis, 2011).

a. Uji linieritas

Uji linieritas ditentukan dengan menyiapkan larutan *Methylene Yellow* dengan konsentrasi berbeda, kemudian absorbansi di volume menggunakan spektrofotometer UV-vis. Kemudian gambarkan hasilnya ke dalam kurva standar, yang menunjukkan hubungan antara absorbansi dan konsentrasi standar *Methylene Yellow*. Kemudian, hasil absorpsi yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai koefisien korelasi (r), intersep (a) dan slop (b) untuk mendapatkan persamaan :

$$y = bx + a$$

Jika $b = 0$ dan nilai $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis, hubungan linier yang ideal dapat dicapai (Lubis, 2011).

b. Uji akurasi

Akurasi adalah seberapa dekat hasil analisis dengan nilai sebenarnya, dan akurasi adalah kebalikan dari kesalahan analisis. Semakin besar keakuratannya, semakin kecil kesalahannya. Gunakan parameter pencarian % untuk menguji akurasi. Tingkat pemulihan diuji dengan menambahkan larutan standar *Methylene Yellow* ke sampel, dan kemudian dianalisis menggunakan metode pemrosesan yang sama seperti sampel (Lubis, 2011). Kriteria akurasi yang diterima menurut Harmita (2004) dapat dilihat pada **Tabel 2.6**.

Tabel 2.6. Kriteria akurasi yang diterima untuk setiap konsentrasi

Konsentrasi sampel (%)	Rata – Rata Recovery (%)
100	98 – 102
> 10	98 – 102
> 1	92 – 105
> 0,1	90 – 108
0,01	90 – 107
0,001	90 – 107
0,0001 (1 ppm)	80 – 110
0,00001 (100 ppb)	80 – 110
0,000001 (10 ppb)	60 – 115
0,0000001 (1 ppb)	40 – 120

(Harmita, 2004).

Penghitungan recovery dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Perolehan kembali} = \frac{X_d}{X_0} \times 100 \%$$

Keterangan : X_d = konsentrasi yang diperoleh

X_0 = konsentrasi sebenarnya

(Harmita., 2004).

c. Uji presisi

Uji presisi suatu metode analitik adalah kedekatan suatu data dengan data lainnya, yang merupakan rangkaian pengvolumean yang dilakukan dengan cara yang sama. Uji ketelitian dilakukan dengan mengvolume absorbansi larutan standar *Methylene Yellow* dengan konsentrasi yang sama dan diulangi sebanyak enam kali. Hasil absorpsi digunakan untuk menghitung harga SD (Deviasi Standar), RSD (Deviasi Standar Relatif) dan akurasi alat (Lubis, 2011). Kriteria presisi yang diterima menurut *American Pre-Veterinary Medical Assosiation* (APVMA) dapat dilihat pada **Tabel 2.7**.

Tabel 2.7. Kriteria presisi yang diterima menurut APVMA

Konsentrasi dalam sampel (x)	Tingkat presisi (y)
$X \geq 10,00 \%$	$y \leq 2 \%$
$1,00 \% \leq X \leq 10,00 \%$	$y \leq 2 \%$
$0,10 \% \leq X \leq 1,00 \%$	$y \leq 10 \%$
$X \leq 0,10 \%$	$y \leq 20 \%$

(Riyanto, 2014).

Harga konsentrasi rata-rata

Harga konsentrasi rata-rata dapat dihitung melalui persamaan sebagai berikut :

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5 + \dots + x_n}{n}$$

Keterangan : $\bar{x}$ = Rata - rata konsentrasi

x = Konsentrasi sampel

n = Jumlah sampel (Lubis, 2011).

Nilai SD (Standar Deviasi)

Untuk menghitung nilai Standar Deviasi (simpangan baku), Anda bisa menggunakan persamaannya:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Keterangan : SD = Standar deviasi

n = Jumlah sampel

x = Konsentrasi sampel

$\bar{x}$ = Rata – rata konsentrasi sampel

(Lubis, 2011).

Nilai RSD (Standar Deviasi Relatif)

Nilai deviasi standar relatif dapat diperoleh dengan rumus berikut :

$$\% RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \%$$

Keterangan : RSD = persen standar deviasi

SD = standar deviasi

$\bar{x}$ = rata rata konsentrasi (Lubis, 2011).

d. Uji LOD (*Limit of Detectinal*) – LOQ (*Limit of Quantitation*)

Batas deteksi / *Limit of Detection* (LOD) adalah jumlah minimum analit yang dapat dideteksi dalam suatu sampel, yang masih dapat memberikan respon yang jelas dibandingkan sampel kosong. Batas deteksi adalah parameter uji batas. Batas kuantitasi / *Limit of Quantification* (LOQ) merupakan parameter dalam analisis mikro yang didefinisikan sebagai jumlah minimum analit dalam suatu sampel yang masih dapat memenuhi kriteria kehati-hatian dan ketelitian (Harmita, 2004). Berikut ini rumus LOD dan LOQ.

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y - \hat{y})^2}{n - 2}}$$

$$LOD = \frac{3 \times SD}{b}$$

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{b}$$

Keterangan SD = standar deviasi regresi

b = *slope* kurva kalibrasi

$S_{y/x}$ = nilai total dari $(y - y_i)^2$

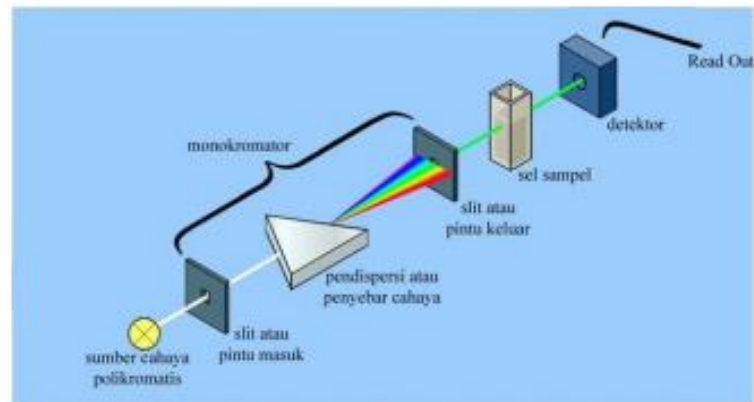
2.5.2.2 Uji Spektrofotometri UV-vis

Spektrofotometer UV-VIS adalah salah satu metode instrumen yang paling umum digunakan untuk mendeteksi senyawa (padat / cair) berdasarkan absorbansi foton dalam analisis kimia. Untuk membuat sampel menyerap foton di wilayah UV-VIS (panjang gelombang foton 200 nm-700 nm), sampel biasanya perlu diproses atau diderivatisasi, seperti menambahkan reagen dalam pembentukan garam kompleks. Unsur diidentifikasi oleh senyawa kompleksnya. Persyaratan kualitas dan validitas unjuk

kerja hasil pengvolumean spektrofotometer pada analisis kimia didasarkan pada acuan ISO 17025, *Good Laboratory Practice* (GLP) atau rekomendasi farmakope (EP, DAB, USP) (Irawan, 2019).

Dalam pasal 5.5 ISO 17025 (2005) disebutkan bahwa alat uji yang digunakan untuk menentukan hasil pengvolumean harus dikalibrasi. Spektrofotometer UV-VIS merupakan alat utama sehingga harus dikalibrasi. Kalibrasi instrumen spektrofotometer meliputi: akurasi panjang gelombang, akurasi fotometri, resolusi, kebocoran cahaya / cahaya nyasar, stabilitas baseline, baseline rata, dan akurasi detector (Irawan, 2019).

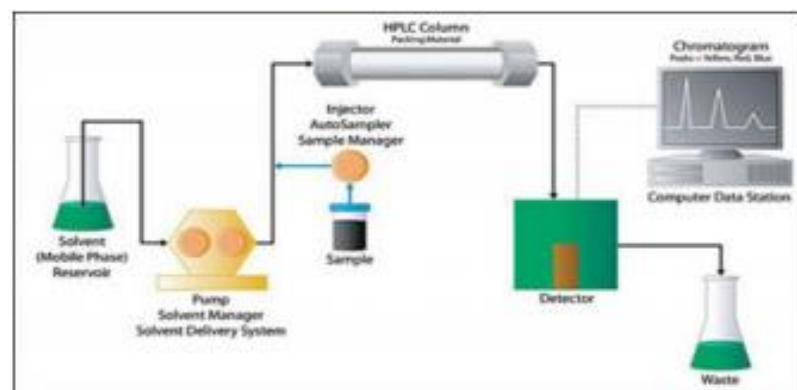
Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis adalah ketika sinar monokromatis melewati medium (larutan), sebagian cahaya akan diserap (I), sebagian dipantulkan (I_r) dan sebagian dipancarkan (I_t). Penerapan rumus ini dalam pengvolumean kuantitatif dilakukan secara komparatif dengan menggunakan kurva kalibrasi yang diturunkan dari hubungan antara rangkaian konsentrasi rangkaian larutan yang digunakan untuk analisis kuantitatif dan penentuan kualitatif unsur kadar rendah. Spektrum unsur tertentu menghasilkan puncak pada gelombang tertentu, dan penentuan kuantitatif didasarkan pada nilai absorbansi yang dihasilkan dari spektrum tersebut dengan adanya senyawa kompleks berdasarkan unsur yang dianalisis. Dasar dari spektrofotometer yang digunakan adalah hukum Lambert-Beer, yaitu ketika cahaya monokromatis melewati media transparan, intensitas cahaya yang ditransmisikan sebanding dengan ketebalan dan kepekaan media larutan yang digunakan (Yanlinastuti & Fatimah, 2016).



Gambar 2.4. Spektrofotometri UV-Vis (Mawaddah, 2015).

2.5.2.3 HPLC

HPLC adalah kromatograf cair kolom klasik, dengan detektor yang lebih sensitif dan kemajuan terbaru dalam teknologi pompa tekanan tinggi, yang menjadikan HPLC metode dengan sistem pemisahan material yang cepat dan efektif. Analisis senyawa kuantitatif dengan HPLC biasanya digunakan di laboratorium pemisahan dan analisis bahan alam. Analisis HPLC memiliki beberapa keunggulan antara lain waktu analisis yang relatif singkat, volumean sampel yang kecil, kemampuan menganalisis senyawa organik dan anorganik, serta kolom kromatografi yang dapat digunakan kembali (Rosydiati & Saleh, 2019).

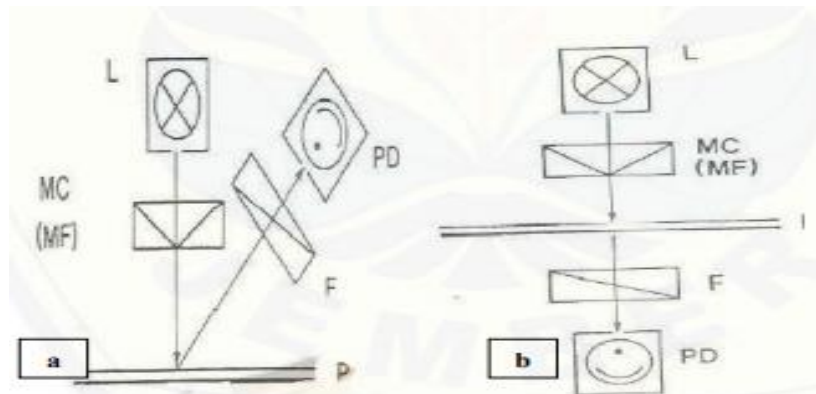


Gambar 2.5. HPLC (Angraini & Desmaniar, 2020).

2.5.2.4 KLT-Densitometri

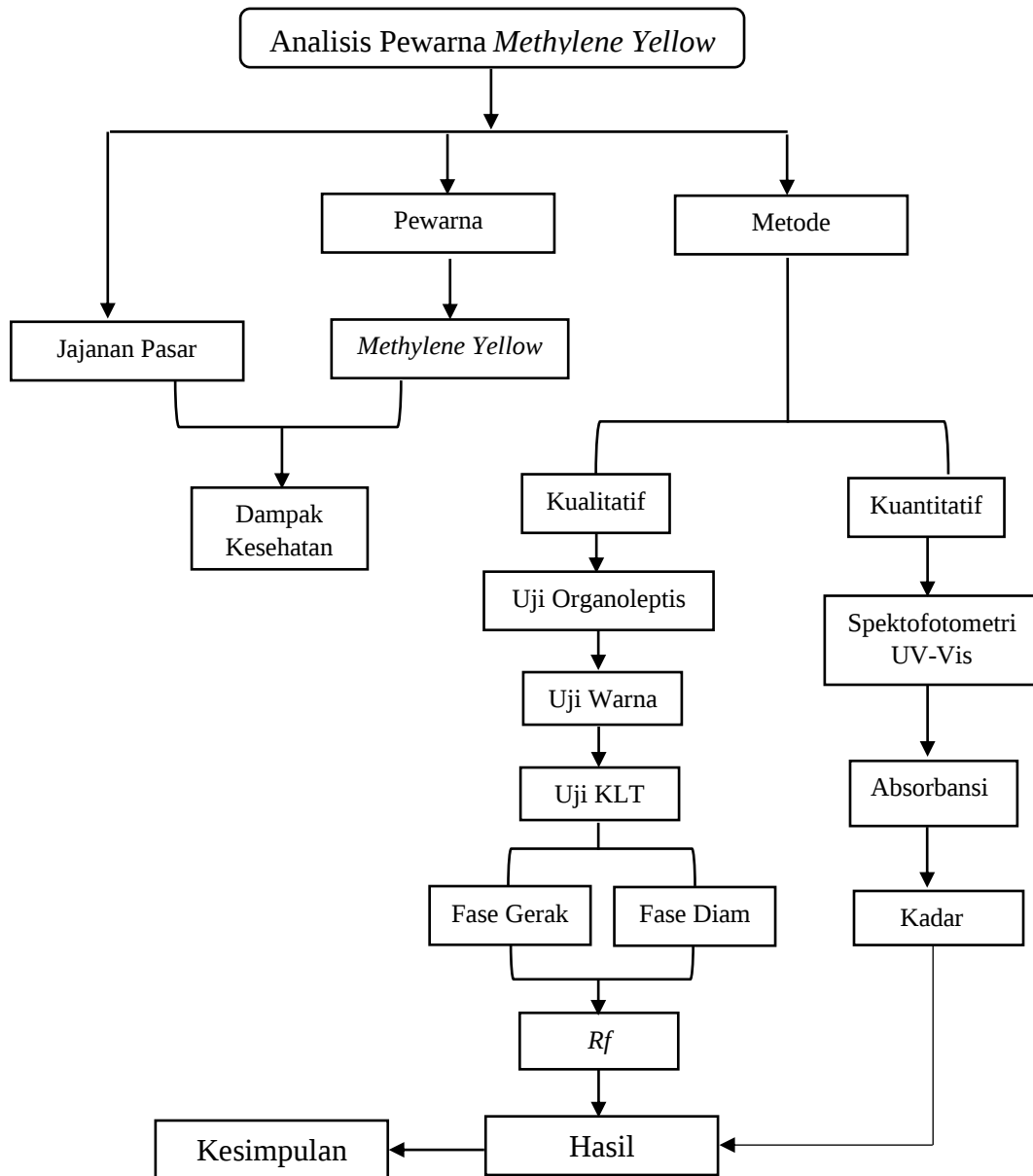
Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah analisis kualitatif dan kuantitatif yang menggunakan prinsip dasar kromatografi, yaitu memisahkan campuran berdasarkan perbedaan adsorpsi dan distribusi senyawa antara dua fase diam dan fase diam (Kartikawati, 2016).

Densitometri adalah metode analisis instrumental berdasarkan interaksi antara radiasi elektromagnetik dan analit yang terlihat pada plat KLT. Radiasi elektromagnetik pada plat KLT akan diserap oleh analit dan ditransmisikan atau dipancarkan dalam bentuk fluoresensi dan pendar. Densitometri lebih difokuskan pada analisis kuantitatif (Kartikawati, 2016).



Gambar 2.6. Ilustrasi model *Scanning* Densitofotometri (Kartikawati, 2016).

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.7. Kerangka Konsep