

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jenis-Jenis Zat Pewarna

2.1.1 Pewarna Alami

Menurut Wahyuningsih (2016) zat pewarna alami adalah zat yang diperoleh langsung dari alam atau tumbuhan baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara tradisional zat alami diperoleh dengan ekstraksi atau perebusan tanaman seperti ekstrak kunyit, rebusan buah naga, rebusan air rosella dan lain-lain. Biasanya yang digunakan sebagai zat pewarna alami dari tanaman yaitu dari akar, daun, kulit, buah, dan batangnya. Dibutuhkan zat pewarna alami yang banyak agar dapat sama warnanya saat ditambahkan pewarna sintesis . tetapi biasanya terdapat perubahan pada makanan tersebut dengan tak terduga. Zat pewarna alami juga lebih pudar dibandingkan dengan pewarna sintesis.

2.1.1.1 Rahmat Hidayat (2014) menjelaskan pewarna alami yang berasal dari tumbuhan yaitu :

1. Karotenoid

Karotenoid merupakan zat warna (pigmen) berwarna kuning, merah oranye yang terdapat dalam tumbuhan dan hewan yang larut dalam minyak. Biasanya digunakan untuk mewarnai produk minyak dan lemak seperti margarin dan minyak goreng.



Gambar 2.1 Buah dan Sayur yang mengandung karotenoid

2. Biksin

Biksin adalah bahan pewarna yang diperoleh dari biji pohon *Bixa Orellana* yang tumbuh di daerah tropis. Warna yang dihasilkan warna kuning dan larut dalam lemak. Biasanya digunakan untuk mewarnai mentega, margarin, dan minyak jagung.



Gambar 2.2 Biji Pohon *Bixa*

3. Karamel

Karamel tidak memiliki bentuk, berwarna coklat dan dapat diperoleh dari pemanasan yang terkontrol terhadap molase, hidrolisis pati, gula invert, laktosa, dan sirup.



Gambar 2.3 Karamel

4. Klorofil

Zat klorofil menghasilkan warna hijau yang diperoleh dari daun dan banyak digunakan pada makanan. Biasanya juga digunakan sebagai obat Kesehatan. Klorofil biasanya di dapatkan di daun suji, pandan, dan lain-lain. Daun suji dan pandan sebagai penghasil warna hijau biasanya digunakan dalam pembuatan kue selain dari warnanya yang menarik tetapi juga terdapat bau yang harum.



Gambar 2.4 Daun Suji dan Pandan

5. Kurkuminoid

Zat kurkuminoid ini terdapat pada kunyit yang biasanya digunakan sebagai rempah-rempah pada bumbu dapur. Zat ini berwarna kuning.



Gambar 2.5 Kunyit

2.1.1.2 Manfaat pewarna alami bagi kesehatan yaitu :

1. Karotenoid

Likopen adalah zat yang terdapat pada tomat. Likopen juga dapat menurunkan resiko terjadinya kanker payudara dan kanker prostat. Likopen juga mencegah terjadinya katarak dan meningkatkan sistem imun yang dapat melindungi tubuh dari penyakit.

2. Antosianin

Antosianin merupakan sub tipe kelompok senyawa organik flavonoid. Antosianin berfungsi sebagai antioksidan di dalam tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit penyumbatan pembuluh darah. Menurut Mustika (2015) manfaat positif antosianin untuk kesehatan manusia adalah melindungi lambung dari kerusakan, menghambat sel tumor, meningkatkan kemampuan penglihatan, dan sebagai senyawa anti-inflamasi yang melindungi otak dari kerusakan.

3. Betalain

Pigmen ini banyak dimanfaatkan karena selain sebagai pewarna makanan juga sebagai antioksidan dan radikal scavenging untuk melindungi terhadap gangguan akibat stress oksidatif. Zat betalain banyak ditemukan pada akar bit.

4. Klorofil

Klorofil merupakan pigmen berwarna hijau yang banyak ditemukan pada daun. Klorofil dalam kesehatan dimanfaatkan sebagai menyembuhkan jerawat, meningkatkan kadar hemoglobin, dan menurunkan nyeri sendi.

2.1.1.3 Kelebihan dan Kekurangan Pewarna alami

Kelebihan pewarna alami sehat digunakan karena terbuat dari bahan alam dengan cara pengolahan yang baik, dan tidak beracun karena sifatnya biodegradable. Kekurangan pewarna alami seperti tidak stabil, warnanya hanya sementara, dan bahan bakunya terbatas. Kekurangan yang lain warna yang dihasilkan akan berbeda walaupun dari tanaman yang sama karena tempat tumbuhnya juga berbeda.

2.1.2 Pewarna Buatan

Menurut Hidayat (2014) pewarna buatan adalah zat pewarna buatan yang dibuat melalui proses kimia buatan yang menggunakan bahan kimia. Zat pewarna ini harus melalui uji prosesertifikasi sebelum digunakan untuk zat

pewarna makanan. Menurut SK Menteri Kesehatan RI Nomor 722/Menkes/Per/IX/88 bahan pewarna buatan dibagi menjadi 2 yaitu yang diizinkan dan yang dilarang.

2.1.2.1 Pewarna Buatan yang diizinkan

Bahan pewarna buatan yang diizinkan tidak boleh melebihi batas pewarna yang ditentukan oleh pemerintah yaitu 30-300 mg/kg bahan pangan.

2.1.2.2 Pewarna Buatan yang dilarang

Pewarna buatan yang dilarang digunakan pada makanan karena mengandung bahan kimia yang dapat membahayakan bagi tubuh bila dimakan. Zat pewarna ini biasanya digunakan sebagai pewarna tekstil seperti rhodamin b, methanil yellow, dan Tartazin .

2.1.2.3 Dampak Pewarna Buatan Bagi Kesehatan

Pewarna sintesis dapat memiliki dampak positif kepada produsen dan konsumen diantaranya memberikan warna yang menarik, meratakan warna pada makanan, dan mengembalikan warna dari bahan dasar yang hilang setelah proses pengolahan. Adapun dampak negative dari pewarna sintesis diantaranya menyebabkan kanker, gangguan pada ginjal, dan melemahkan sistem kekebalan tubuh.

2.2 Rhodamin B

2.2.1 Pengertian Rhodamin B

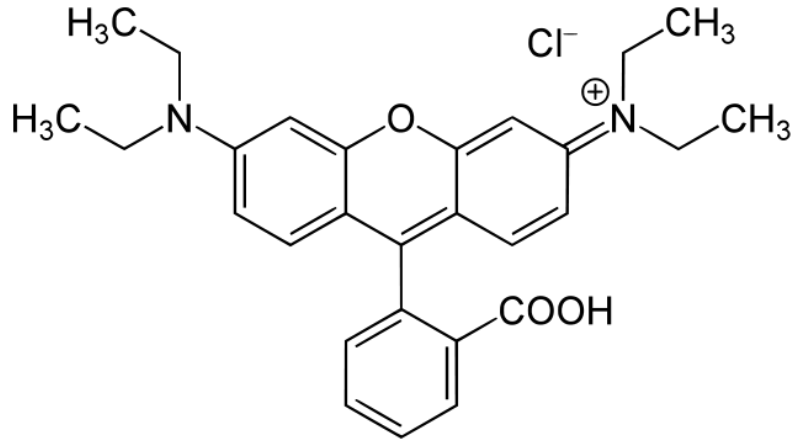
Menurut Leksono (2012) Rhodamin B adalah pewarna kimia yang digunakan pada industri tekstil dan plastic. Rhodamin B adalah zat warna sintetis yang bersifat kariogenik dan berbentuk serbuk kristal ungu kemerahan, tidak berbau.

Rhodamin B dapat menghasilkan warna merah yang menarik dan berpendar jika dilarutkan dalam air dan etanol. Biasanya zat pewarna ini digunakan untuk menarik perhatian pembeli.

Ciri-ciri pangan yang mengandung Rhodamin B terlihat cerah (bewarna merah terang) sehingga tampak lebih menarik. Dalam bentuk larutan atau makanan biasanya warnanya tidak merata karena tidak homogen seperti pada kerupuk dan es putar, rasanya sedikit pahit, biasanya di tenggorokan terasa gatal setelah mengonsumsi, harganya murah, dan tahan terhadap panas (meskipun sudah diolah seperti digoreng dan direbus warnanya tetap berpendar).

2.2.2 Definisi Rhodamin B

Menurut Makhamadah (2013) rumus molekul Rhodamin B adalah $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ dengan berat molekul 479.000 dan titik leburnya $165^{\circ}C$. Rhodamin B sangat larut dalam air serta warna merah kebiruan yang berflouresensi kuat atau berpendar. Selain larut dalam air Rhodamin B merupakan zat pewarna yang larut dalam alkohol, HCl, dan NaOH. Zat warn ini dapat menyebabkan gangguan saluran pernafasan karena bersifat karsiogenik. Rhodamin B biasanya digunakan sebagai pereaksi Au, Pb, Bi, Co, Mg, dan Th dalam proses identifikasi. Rumus struktur Rhodamin B.



Gambar 2.6 Struktur Rhodamin B

Sumber : Makhmadah, 2013

2.2.3 Ciri-ciri Pangan mengandung Rhodamin B

Rhodamin B biasanya disalahgunakan pada kerupuk, terasi, arumanis/kembang gula, manisan, sosis, dan saos. Menurut Putriningtyas (2017) produk pangan yang mengandung Rhodamin B biasanya tidak ada label, merk dan identitas lainnya.

Ciri-ciri pangan yang mengandung Rhodamin B diantaranya :

1. Berwarna merah cerah dan mencolok
2. Biasanya terdapat gumpalan warna tidak homogen/rata



Gambar 2.7 Kerupuk yang menggunakan pewarna sintetis dan hasilnya cerah

2.2.4 Metode Analisis Rhodamin B

Menurut Putra (2015) metode yang digunakan untuk menganalisa Rhodamin B pada kerupuk berwarna merah yaitu menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT merupakan suatu kromatografi untuk memisahkan campuran yang tidak volatile (senyawa yang mudah membentuk uap) atau memisahkan komponen pada sampel berdasarkan kepolaran. Prinsip kerjanya yaitu memisahkan sampel dengan berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan. Teknik ini menggunakan 2 fase yaitu fase diam (cair atau padat) dan fase gerak (gas atau cair). Larutan atau campuran larutan dinamakan eluen.

Menurut Wahentauw dkk (2013) identifikasi Rhodamin B yaitu sampel ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler jarak dari bawah 1 cm dan jarak antara noda 1,25 cm lalu plat dibiarkan beberapa saat hingga mengering. Plat yang telah ditotoli sampel dimasukkan ke dalam chamber yang

telah dijenuhkan dengan fase gerak (N-butanol : etil asetat : ammonia ; 10 : 4 : 5, N-butanol : asam asetat : air ; 40 : 10: 50). Kemudian dibiarkan sampai plat terelusi dengan sempurna, diambil dan dikeringkan secara angin-angin dan diamati secara visual jika terdapat bercak berwarna merah, nilai Rf hampir mendekati dikatakan bahwa sampel positif mengandung Rhodamin B.

2.3 Kerupuk

2.3.1 Definisi Kerupuk

Kerupuk adalah makanan ringan yang dibuat dari adonan tepung serta bahan tambahan yang lain dan terkenal di masyarakat Indonesia. Kerupuk dapat dikonsumsi sebagai makanan selingan maupun sebagai variasi dalam lauk pauk karena kerupuk memiliki rasa yang gurih bahkan biasanya digunakan untuk camilan. Kerupuk digemari semua masyarakat mulai dari yang balita sampai orang tua, bahkan sampai tidak memandang umur. Kerupuk mudah diperoleh di berbagai tempat, mulai dari kedai pinggir jalan, di super market, bahkan di restoran hotel berbintang. Kerupuk merupakan jenis makanan kering yang sangat populer di Indonesia, mengandung pati cukup tinggi, serta dibuat dari bahan dasar tepung tapioka dan tambahan bumbu dapur seperti garam, penyedap rasa dan lain-lain. Dari bahan baku banyak jenis kerupuk yang dapat dimakan seperti kerupuk ikan, kerupuk udang, kerupuk kedelai, kerupuk sari ayam dan lain-lain dengan variasi bentuk kerupuk tergantung pada kreativitas pembuatnya.

Menurut Nursyakirah (2018) asal mula kerupuk tidak jelas, karena jenis makanan ini tidak hanya di kenal dan dikonsumsi di negara kita, tetapi juga di negara –negara Asia lainnya seperti Malaysia, Singapura, Cina dan lain- lain. Jadi kerupuk termasuk makanan favorit masyarakat di berbagai daerah. Kemungkinan kerupuk berasal dari Cina yang disebar-luaskan dengan adanya hubungan dagang dan perpindahan penduduk dari Cina

ke negara-negara Asia lainnya. Pada proses pembuatan kerupuk bahan baku pembuatan kerupuk adalah tepung tapioka.

2.3.2 Komposisi Kerupuk

Bahan yang digunakan dalam pembuatan kerupuk ada dua yaitu bahan baku dan bahan tambahan. Pembuatan kerupuk sangat mudah yaitu dari tepung tapioka, tepung terigu, atau nasi. Semua bahan dapat berfungsi sebagai bahan baku atau bahan tambahan, sesuai dengan teknik pembuatannya. Biasanya bahan tambahan berasal dari hewani atau nabati. Kerupuk hewani seperti kerupuk udang, kerupuk tengiri, kerupuk susu, kerupuk keju. Kerupuk nabati seperti kerupuk kedelai, kerupuk gandum, kerupuk tapioka yang beraneka bentuk dan warna. Tepung tapioka atau tepung kanji adalah bahan utama dalam pembuatan kerupuk selain itu terdapat bahan tambahan seperti garam dan penyedap. Tepung tapioka ini dijual bebas di mana-mana.

Menurut Purwanti (2011) setiap provinsi memiliki penghasil ubi kayu atau singkong. Kandungan gizi tepung tapioka/100 g bahan dapat dilihat dalam tabel berikut :

**Tabel 2.1 Kandungan Gizi Kerupuk Dari
Tepung Tapioka/100 g bahan**

No	Kandungan Unsur Gizi	Jumlah
1.	Kalori (kal)	362
2.	Protein (g)	0,50

3.	Lemak (g)	0,30
4.	Karbohidrat (g)	86,90
5.	Kalsium (mg)	0,00
6.	Forfor (mg)	0,00
7.	Zat Besi (mg)	0,00
8.	Vitamin B1 (mg)	0,00
9.	Vitamin C (mg)	0,00
10.	Air (g)	12,00

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI, 1981. (Purwanti, 2011).

2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

2.4.1 Pengertian KLT

Kromatografi adalah teknik pemisahan diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas). Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel yang ingin dideteksi dengan memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran (Khopkar, 1990). Fase diam yang digunakan yaitu lapisan yang seragam (uniform) didalam permukaan bidang datar pada lempeng kaca, plat aluminium, atau plat plastik. Fase gerak yaitu pelarut pengembang yang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler baik secara menarik (ascending) atau secara menurun (descending).

Metode KLT dan metode penarikan warna menggunakan wool dimana prinsipnya adalah penyerapan zat warna oleh benang wool dalam suasana asam dengan pemanasan, dilanjutkan dengan pelarutan benang wool yang telah berwarna. Wool akan melepaskan pewarna, pewarna akan masuk ke dalam larutan basa. Larutan basa yang didapat selanjutnya dipekatkan kemudian akan digunakan sebagai cuplikan sampel pada analisis selanjutnya (Pamungkas, 2014).

Keuntungan menggunakan Metode KLT yaitu :

1. Kromatografi Lapis Tipis lebih mudah pelaksanaannya dan lebih murah dibandingkan kromatografi kolom.
2. Kromatografi lapis tipis banyak digunakan untuk tujuan analisis.
3. Identifikasi pemisahan komponen dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet.
4. Dapat dilakukan elusi secara menaik (ascending), menurun (descending), atau dengan cara elusi 2dimensi
5. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan merupakan bercak yang tidak bergerak.

2.4.2 Fase Diam

Fase diam berupa lapisan tipis yang terdiri dari bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar dengan bantuan bahan pengikat. Beberapa bahan yang digunakan sebagai fase diam dalam KLT diantaranya silika gel, alumina, kieselguhr dan selulosa. Fase diam harus mengandung air sekecil mungkin, karena air akan menempati semua titik penyerapan sehingga tidak akan ada senyawa yang melekat. Sebelum digunakan, plat KLT sebaiknya diaktifkan

terlebih dahulu dengan cara pemanasan pada suhu 110°C selama 30 menit (Marjoni, 2016).

2.4.3 Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan biasanya mencari atau melihat dari literatur, tapi biasanya mencoba-coba menggunakan pelarut apa yang cocok untuk menggunakan zat yang akan dideteksi pada plat KLT. Fase gerak biasanya campuran 2 pelarut karena daya elusi campuran tersebut mudah diatur agar dapat menghasilkan pemisahan secara sempurna. Campuran eluen atau pelarut ini berfungsi sebagai melarutkan campuran bahan, mengangkut bahan untuk dipisahkan pada fase diam, dan memberikan selektivitas untuk bahan agar mudah dipisahkan. Syarat-syarat Eluen atau fase gerak yang digunakan yaitu :

1. Memiliki kemurnian yang tinggi
2. Memiliki stabilitas yang baik
3. Viskositas rendah
4. Daya toksik yang rendah
5. Tekanan uap sedang

Pemilihan fase gerak umumnya berdasar pada studi pustaka dan coba-coba (trial and error). Cara memilih dan mengoptimasi fase gerak dapat dilakukan dengan beberapa panduan, diantaranya:

- a. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif.

- b. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
- c. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solute yang berarti juga menentukan nilai R_f . Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter ke dalam pelarut non polar seperti metil benzene akan meningkatkan harga R_f secara signifikan.
- d. Solut-solut ionik dan solute-solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya, seperti campuran air dan methanol dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam etanoat atau ammonia masing-masing akan meningkatkan solute-solut yang bersifat basa dan asam.

2.4.4 Aplikasi (penotolan) Sampel

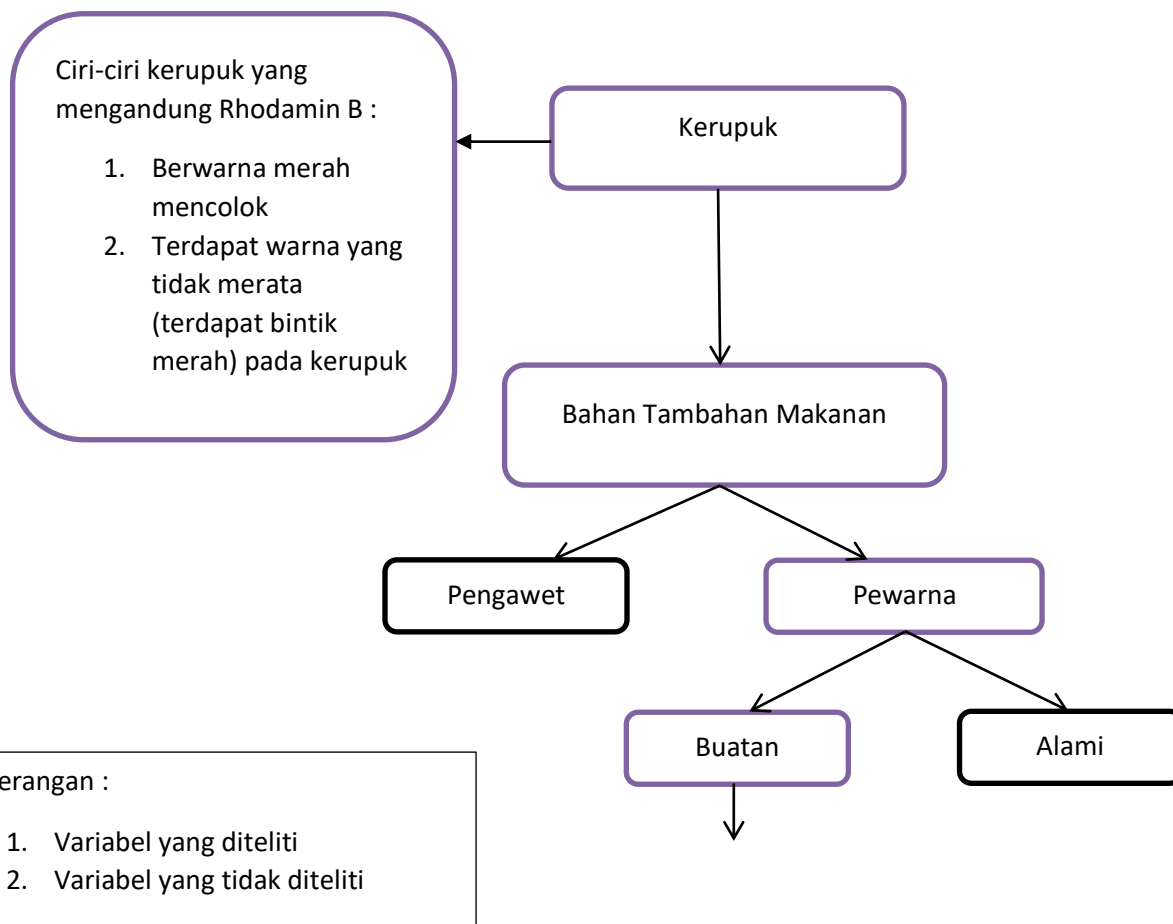
Pemisahan yang sempurna jika sampel yang ditotolkan sekecil mungkin dan sesempit mungkin. Jika saat menotolkan terlalu banyak atau kurang tepat hasilnya bercak akan menyebar dan terjadi pencak ganda. Plat KLT diberi jarak bawah 1cm dan jarak atas 0,5cm agar saat proses elusi tidak sampai terlewat. Bila sampel sudah ditotolkan pada plat KLT, lalu biarkan plat beberapa saat hingga menggering dan menunggu eluen jatuh dulu lalu dimasukkan kedalam chamber yang sudah diisi eluen. Setelah itu menunggu proses eluasi sampai selesai dengan sesekali di lihat pada chamber.

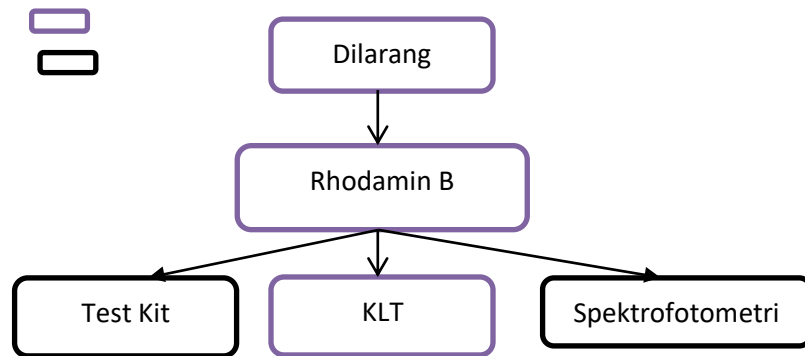
2.4.5 Deteksi Bercak

Bercak pada pemisahan yang terjadi biasanya tidak berwarna biasanya disemprot agar bercak terlihat dengan jelas atau di lihat pada sinar uv. Identifikasi senyawa yang terpisah pada kromatografi menggunakan harga Rf (Retardation factor) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan, yaitu (Rahmawati, 2015). Jika bercak sudah berwarna lebih mudah langsung dapat menghitung nilai Rf. Nilai Rf yang baik yaitu antara 0,2-0,8.

$$Rf = \frac{\text{jarak noda}}{\text{jarak pelarut}}$$

2.5 Kerangka Konsep





Gambar 2.8 Kerangka Konsep

2.6 Kerangka Teori

Banyak produsen menambah Bahan Tambahan Pangan (BTP) pada produk yang dijual, seperti pemanis, pengawet, dan pewarna. Pewarna makanan ada pewarna yang diperbolehkan (seperti rebusan buah strawberry, rebusan bunga rosella) dan pewarna yang tidak diperbolehkan seperti Rhodamin B. Rhodamin B banyak dipilih karena untuk mendapatkan keuntungan yang lebih dengan memberi sedikit pewarna akan menghasilkan produk yang banyak. Rhodamin B biasanya ditambahkan pada makanan seperti kerupuk, saos, dan sosis karena untuk memberi warna merah mencolok agar terlihat menarik. Padahal Rhodamin B sangat berbahaya jika dikonsumsi seperti gangguan pernafasan, iritasi kulit, keracunan, dan dalam jangka panjang dapat menyebabkan kanker. Ciri-ciri makanan yang mengandung Rhodamin B adanya bintik berwarna merah yang mencolok, dan terdapat warna yang tidak homogen atau tidak rata.

Identifikasi Rhodamin B dilakukan secara kualitatif menggunakan plat KLT. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui nilai Rf dari sampel kerupuk berwarna merah

mencolok yang di jual di Pasar Kepanjen apakah positif mengandung Rhodamin B atau tidak.