

Analisis Rhodamin B pada Selai Warna Merah Tanpa Merek yang Beredar di Kecamatan Magetan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pramesthi Putri Rahmantika¹, Hanandayu Widwastuti²

¹Jurusan Gizi, Poltekkes Kemenkes Malang, Indonesia

Email : pramesthi_p17120191002@poltekkes-malang.ac.id

ABSTRAK

Rhodamin B merupakan zat warna yang digunakan untuk pewarna tekstil dan tidak boleh digunakan sebagai pewarna makanan. Penggunaan Rhodamin B sebagai bahan tambahan pewarna pada makanan masih marak ditemui, seperti pada makanan jajanan yang berwarna merah, minuman, bolu kukus, dll. Menurut Laporan Tahunan BPOM 2019 pada hasil pengawasan pangan buka puasa (takjil), dimana terdapat 202 sampel (38,3%) dari total parameter TMS positif mengandung Rhodamin B, dimana total TMS tersebut sebesar 517 sampel (3,17%). Salah satu produk pangan yang ditambah dengan pewarna yaitu Selai. Selai memiliki warna-warna yang beragam sesuai dengan rasa yang dimilikinya, salah satunya yaitu warna merah. Oleh karena itu, terdapat kemungkinan bahwa zat warna yang digunakan pada produk selai juga merupakan zat warna yang dilarang penggunaannya sebagai zat warna makanan. Maka dari itu, perlu dilakukan penelitian terhadap kandungan Rhodamin B pada produk selai warna merah tanpa merek. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui mutu fisik dan menganalisis ada tidaknya kandungan Rhodamin B dalam selai warna merah tanpa merek yang beredar di pasaran Kecamatan Magetan. Penelitian ini dilakukan secara organoleptis dan metode Kromatografi Lapis Tipis dengan fase gerak yaitu isopropanol : ammonia (100 : 25 v/v). Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa pada uji organoleptis dari 8 sampel selai warna merah tanpa merek yang telah diteliti terdapat 6 sampel selai memenuhi syarat yaitu memiliki warna yang normal, aroma yang normal, dan tekstur yang tidak terlalu encer atau keras ketika dioles. Sedangkan, 2 sampel selai memiliki warna yang lebih pekat, tetapi memiliki aroma dan tekstur yang telah memenuhi syarat. Hasil dari uji KLT yang telah dilakukan menunjukkan bahwa dari 8 sampel tidak ditemukan adanya kandungan Rhodamin B. Hal tersebut diketahui dari adanya perbedaan nilai Rf sampel dengan Rf standart dan warna bercak sampel yang berbeda dari warna bercak standart, dimana bercak sampel yang dihasilkan berwarna merah semu jingga dan merah muda semu jingga, sehingga diduga warna bercak tersebut berasal dari zat warna alami atau zat warna yang lain sehingga perlu dilakukan uji lanjutan secara kuantitatif untuk memastikannya. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa selai warna merah tanpa merek yang beredar di pasaran Kecamatan Magetan aman karena tidak mengandung pewarna merah Rhodamin B.

Kata kunci: Selai; Rhodamin B; KLT

ABSTRACT

Rhodamine B is a textile dye and is prohibited from being used in food. The use of Rhodamine B as a coloring additive in food can still be found, such as in red snacks, drinks, steamed sponge cake, etc. According to BPOM 2019 Annual Report on the results of fasting food supervision (takjil), there were 202 samples (38.3%) of 517 samples (3.17%) that were positive for Rhodamine B. One of the food products that is added with coloring is jam. According to research results, strawberry jam is usually added with red coloring, such as Amaranth and Ponceau 4R CI 16255. Therefore, there is a possibility that the dye used in jam products is also a dye that is prohibited from being used as a food coloring agent. Therefore, it is necessary to do research on the content of Rhodamine B in unbranded red jam products. The purpose of this study was to determine the physical quality and analyze the presence or absence of Rhodamine B in unbranded red jam on the market in Magetan District. This research was carried out by organoleptic and Thin Layer Chromatography method with the mobile phase is isopropanol : ammonia (100 : 25 v/v). The results of the organoleptic test showed that from 8 samples of unbranded red jam, there were 6 samples of jam that met the requirements, namely having a normal color, normal aroma, and a texture that was not too runny or hard when rubbed. Meanwhile, 2 samples of jam had a darker color, but had an aroma and texture that met the requirements. The results of the TLC test showed that from 8 samples there is no Rhodamine B content found. This is obtained from the difference in the Rf value of the sample with the standard Rf and the color of the sample spots that are different from the standard spot color, where the resulting sample spots are red pseudo-orange and pinkish-orange, so it is suspected that the color of the spots comes from natural dyes or other dyes so that further quantitative tests are needed to confirm this. The conclusion of this study is that unbranded red jam on the market in Magetan District is safe because it does not contain Rhodamine B red dye.

Keywords : Jam, Rhodamine B, TLC

PENDAHULUAN

Seiring dengan perkembangan industri, Bahan Tambahan Pangan (BTP) semakin marak digunakan, terlebih telah banyak ditemukan bahan kimia sintetis yang harganya jauh lebih murah. Penggunaan Bahan Tambahan Pangan (BTP) tersebut dimaksudkan untuk meningkatkan mutu suatu produk agar dapat bersaing di pasaran. Menurut Permenkes RI No. 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan, Bahan Tambahan Pangan (BTP) adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan, termasuk di dalamnya adalah pewarna, penyedap rasa, pengawet, pengental, penguasap, dan pengembang.

Salah satu Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang sering digunakan, yaitu pewarna. Bahan pewarna yang sering digunakan oleh penjual salah satunya, yaitu Rhodamin B. Rhodamin B merupakan zat warna yang digunakan untuk pewarna tekstil dan tidak boleh digunakan sebagai pewarna makanan. Zat pewarna ini tidak lagi diatur dalam Peraturan Menteri Kesehatan No. 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan, namun pelarangan penggunaan zat pewarna ini tertuang dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 239/Menkes/Per/V/85 tentang Zat Warna Tertentu yang Dinyatakan sebagai Bahan Berbahaya (Zarwinda dan Elfariyanti, 2020). Rhodamin B sering kali digunakan sebagai BTP untuk menambah kualitas agar lebih menarik karena dapat menghasilkan warna yang mencolok, memiliki harga yang lebih murah dibandingkan zat warna untuk pangan, serta warna yang dihasilkan lebih menarik dan memiliki tingkat stabilitas warna yang lebih baik daripada pewarna alami (Patimah dkk., 2020). Pewarna sintetis ini juga dapat digunakan untuk meratakan warna makanan dan mengembalikan warna dasar dari makanan yang hilang atau berubah selama pengolahan (Hartini dan Reflesia, 2020).

Penggunaan Rhodamin B dilarang sebagai BTP oleh pemerintah karena adanya

kandungan klor (Cl) yang merupakan senyawa halogen reaktif, sehingga bersifat racun dalam tubuh. Penyalahgunaan zat warna tersebut banyak ditemukan dalam makanan dan minuman yang berwarna merah terang (Reza dan Supriyanto, 2017 dalam Widiya dkk., 2021). Rhodamin B dilarang penggunaannya pada produk makanan karena dapat berdampak sangat berbahaya apabila digunakan karena bersifat toksik dan dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernapasan, kulit, mata, saluran pencernaan, keracunan, gangguan pada hati dan bersifat karsinogenik yang apabila digunakan dalam jangka panjang dapat menyebabkan kanker hati (Kumalasari, 2015 dalam Hadriyati dkk., 2021). Meskipun telah dilarang, namun penggunaan Rhodamin B sebagai BTP pada produk makanan masih sering ditemui. Hal tersebut sesuai dengan Laporan Tahunan BPOM 2019 pada hasil pengawasan pangan buka puasa (takjil), dimana terdapat 202 sampel (38,3%) dari total parameter TMS positif mengandung Rhodamin B, dimana total TMS tersebut sebesar 517 sampel (3,17%).

Salah satu produk makanan yang ditambah dengan Bahan Tambahan Makanan pewarna, yaitu selai. Selai adalah makanan yang dibuat dari buah-buahan yang berasa asam seperti stroberi, anggur, blueberry dan nanas dengan cara pembuatan yang sederhana (Hartini dan Reflesia, 2020). Selai memiliki warna-warna yang beragam sesuai dengan rasa yang dimilikinya. Adanya warna-warna yang beragam ini karena selai biasa ditambah dengan pewarna alami maupun sintetis untuk menambah daya tarik dan menarik minat pembeli. Namun, tidak semua zat pewarna sintetis yang digunakan tersebut aman untuk digunakan. Beberapa zat warna sintetis ada yang membahayakan kesehatan (zat warna sintetis non-pangan) sehingga tidak diizinkan penggunaannya. Meskipun demikian, masih ada pihak-pihak yang tetap menggunakan zat warna sintetis berbahaya sebagai Bahan Tambahan Pangan (BTP) untuk produknya (Yuliarti, 2007 dalam Yamlean, 2011).

Selain menurut Laporan Tahunana BPOM, maraknya penggunaan Rhodamin B sebagai zat pewarna makanan dapat dilihat dari hasil penelitian-penelitian sebelumnya. Menurut penelitian yang dilakukan Patimah dkk., (2020) mengenai identifikasi makanan jajanan berwarna merah di Pasar Cileungsi, didapatkan hasil bahwa dari 16 sampel terdapat 8 sampel positif mengandung Rhodamin B yaitu kue apem (2,606 ppm), kue putu ayu (2,594 ppm), rengginang (15,312 ppm), kue mangkok (2,708 ppm), cenil (9,276 ppm), kerupuk pasir (19,991 ppm), cone ice cream (35,174 ppm), kerupuk gulali (15,231 ppm). Berdasarkan hasil penelitian lain yaitu menurut hasil penelitian Widiya dkk., (2021) mengenai analisis Rhodamin B dan Metanil *Yellow* pada minuman di SD Lubuklinggau didapatkan hasil yaitu dari 15 sampel terdapat 3 sampel yang positif mengandung Rhodamin B, namun tidak ada sampel yang positif mengandung metanil *Yellow*. Dari hasil penelitian Hadriyati dkk., (2021) mengenai analisis Rhodamin B pada bolu kukus yang beredar di kota Jambi, didapatkan hasil yaitu terdapat 3 sampel yang mengandung Rhodamin B yaitu pada sampel B (Alam Barajo) 0,88210 µg/mL, sampel E (Jambi Timur) 1,3475 µg/mL dan sampel F (Pasar Jambi) 0,80684 µg/mL.

Analisis Rhodamin B pada makanan telah banyak dilakukan dengan berbagai metode. Berdasarkan hasil review Permatahati dan Yanti (2021) mengenai metode Identifikasi Rhodamin B pada Makanan dan Kosmetik, metode yang paling banyak digunakan adalah analisis menggunakan spektrofotometri yang dikombinasikan dengan detektor UV-Vis. Selain itu, metode yang sering digunakan pada analisis Rhodamin B adalah HPLC yang dikombinasikan dengan detektor UV-Vis, fluoresensi maupun FID (*Flame Ionization Detector*). Beberapa teknik kromatografi untuk penentuan Rhodamine B dalam makanan telah dikembangkan, antara lain penelitian Chiang (2012) yang telah berhasil menentukan Rhodamin B dan Rhodamin 6G dalam sampel cair dengan ekstraksi fasa padat dan KCKT yang

digabungkan dengan detektor fluoresensi. Selain itu, penelitian Tatebe (2014) juga telah berhasil mengembangkan metode penentuan Rhodamin B, pararosaniline, dan auramin secara simultan yang terdapat dalam makanan olahan dengan menggunakan KCKT. Analisis Rhodamin B dengan menggunakan metode KCKT adalah teknik yang baik dengan tingkat akurasi yang tinggi, namun metode ini membutuhkan peralatan yang mahal (Chairunnisaa dkk., 2020).

Oleh karena itu, dalam analisis produk selai dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Digunakannya metode KLT dalam penelitian ini karena lebih mudah dan murah dalam pelaksanaannya, menggunakan alat yang lebih sederhana dan hampir semua laboratorium dapat melakukan teknik ini setiap saat secara cepat dengan menunjukkan hasil yang akurat (Indrayani, dkk, 2017 dalam Zarwinda dan Elfariyanti, 2020). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah teknik pemisahan suatu komponen kimia dengan prinsip adsorpsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen) (Alen, dkk. 2017 dalam dalam (Zarwinda dan Elfariyanti, 2020). Prinsip pemisahan secara kromatografi lapis tipis yaitu perbedaan kepolaran "*like dissolve like*" dimana pelarut yang memiliki sifat polar akan berikatan dengan senyawa yang juga memiliki sifat polar dan begitupun sebaliknya, semakin dekat kepolaran antara senyawa dengan eluen maka senyawa akan semakin terbawa oleh fase gerak tersebut (Siswoyo dan Asnawati, 2007 dalam Khumaeni dkk., 2020). Eluen yang digunakan dalam analisis KLT yaitu isoproponal : ammonia (4:1). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Surdijati, dkk., (2001) mengenai Identifikasi dan Penetapan Kadar Zat Warna Merah Dalam Dawet, digunakannya eluen isopropanol : ammonia (4:1) karena memiliki hasil pemisahan yang baik dari hasil KLT zat warna merah standart Ponceau 4R, Carmoisin, Allura Red, Erythrosin, Amaranth, dan Rhodamin B. Metode kromatografi yang lain yaitu kromatografi kertas. Akan tetapi, penyerap yang digunakan dalam kromatografi kertas

adalah sehelai kertas dengan susunan serabut pada lapisan selulosa yang lazim, sehingga menyebabkan lebih banyak terjadi difusi ke samping dan bercak lebih besar (Adnan, 1997 dalam Dewi, 2021). Kelebihan KLT dibandingkan kromatografi kertas yaitu dapat dihasilkan pemisahan yang lebih sempurna, kepekaan yang lebih tinggi, dan dapat dilaksanakan dengan lebih cepat (Sastromidjoyo dan Harjono, 1991 dalam Mukaromah dan Maharani, 2008).

Dari hasil penelitian-penelitian sebelumnya, terdapat kemungkinan bahwa zat warna yang digunakan pada produk selai juga merupakan zat warna yang dilarang penggunaannya sebagai zat warna makanan. Sebagai makanan pelengkap, selai menjadi salah satu makanan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat sehingga apabila dalam selai terdapat zat warna yang dilarang kemungkinan terjadinya dampak negatif menjadi lebih besar (Ayuningstyas, dkk., 2012). Oleh karena, itu perlu dilakukan penelitian terhadap kandungan Rhodamin B pada produk selai warna merah tanpa merek yang beredar di Kecamatan Magetan.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah deskriptif kualitatif yaitu kandungan Rhodamin B pada sampel selai warna merah tanpa merek menggunakan KLT dengan cara membandingkan nilai Rf. Teknik pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu sampel diambil sesuai kriteria yang telah ditetapkan, lalu dilakukan uji organoleptis yang meliputi warna, aroma, dan tekstur untuk membedakan antara produsen satu dengan yang lainnya. Sampel yang digunakan yaitu produk selai yang beredar di pasaran Kecamatan Magetan, dengan kriteria sampel yaitu selai berwarna merah tanpa merek yang diambil dari produsen yang berbeda.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu timbangan analitik (OHAUS), spatula, penangas air, bunsen, chamber (CAMAG), batang pengaduk, corong gelas (IWAKI), pipet volume 10 ml (Merck), pipet ukur 5 ml (Merck), pipet tetes, kaca arloji, pipa kapiler, labu ukur 25 ml (Merck), labu ukur 100 ml (Merck), labu ukur 200 ml (Merck), gelas beaker 250 ml (Merck), gelas beaker 100 ml (Merck), gelas beaker 50 ml (Merck), cawan porselin, plat tetes, kertas saring.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, yaitu benang wol bebas lemak, selai warna merah tanpa merek, plat KLT silica gel GF 254 nm (Merck), Rhodamin B baku_(s) (Microscopy), akuades_(l) (Hydrobatt), etanol 96% p.a_(aq) (Merck), etanol 70%_(aq) (Merck), eter_(aq) (Merck), NaOH_(s) (Merck), ammonia pekat_(aq) (Merck), asam asetat_(aq) (Merck), isopropanol_(aq) (Merck).

Pengambilan sampel

Sampel penelitian berupa selai warna merah tanpa merek yang diperoleh di pasaran Kecamatan Magetan. Sampel harus memenuhi kriteria yaitu sampel warna merah tanpa merek, kemudian dilakukan uji organoleptis yang meliputi warna, aroma, dan tekstur untuk membedakan antarprodusen. Kemudian, sampel diklasifikasikan berdasarkan tingkat warna merah yang hampir sama.

Pembuatan larutan baku Rhodamin B 1000 ppm

Serbuk Rhodamin B ditimbang sebanyak 25,00 mg. Dimasukkan ke dalam labu ukur 25,00 ml dan dilarutkan dengan etanol 96% p.a (Azizahwati, dkk., 2007 dalam Utami dan Suhendi, 2009).

Pemisahan zat warna

Benang wol dididihkan dalam air kemudian dikeringkan. Selanjutnya, benang wol dicuci dengan eter untuk menghilangkan

kotoran dan lemak. Kemudian dididihkan dengan NaOH 1%, lalu dibilas dengan air. Sampel ditimbang 10 gram, kemudian direndam dalam 10 ml larutan ammonia 2% (yang dilarutkan dalam etanol 70%) selama kurang lebih 12 jam. Setelah itu, larutan disaring. Filtrat kemudian diuapkan diatas penangas air. Residu dari penguapan dilarutkan dalam 10 ml air yang mengandung asam, larutan asam dibuat dengan mencampur 10 ml air dengan 5 ml asam asetat 10%. Selanjutnya benang wol dimasukkan ke dalam larutan asam dan dididihkan selama 10 menit. Lalu, benang wol diangkat, pewarna akan mewarnai benang wol. Benang wol dicuci dengan air, kemudian dimasukkan ke dalam larutan basa yaitu 10 ml ammonia 10% (yang dilarutkan dalam etanol 70%) dan dididihkan. Benang wol akan melepaskan pewarna, pewarna akan masuk ke larutan basa tersebut. Larutan basa tersebut akan digunakan sebagai cuplikan sampel pada analisis KLT (Djalil, dkk., 2005 dalam Utami dan Suhendi, 2009).

Identifikasi Rhodamin B pada sampel dengan Kromatografi Lapis Tipis

Sebanyak 2 µl cuplikan sampel ditotolkan pada plat KLT (10 cm x 5 cm) dengan jarak 1,5 cm dari tepi bawah dengan jarak antar sampel 1 cm. Didiatkan sesaat hingga mengering. Kemudian, dielusi dalam bejana kromatografi yang berisi isopropanol : ammonia = 100:25 v/v yang telah dijenuhkan. Setelah elusi selesai, plat dikeringkan. Kemudian, kromatogram yang diperoleh dihitung nilai Rf-nya (Azizahwati, dkk., 2007 dalam Utami dan Suhendi, 2009). Selanjutnya, nilai Rf tiap bercak dibandingkan dengan nilai Rf standar Rhodamin B (Djalil, dkk., 2005 dalam Utami dan Suhendi, 2009).

Analisa data

Data diperoleh dari pengujian sampel di laboratorium dengan menggunakan metode KLT. Analisis data yang diperoleh disajikan dalam bentuk gambar, tabel, dan menjelaskan mengenai hasil dari proses pengamatan yang dilakukan secara kualitatif. Teknik analisis data digunakan secara kualitatif dilakukan dengan melihat hasil KLT yang berupa nilai Rf larutan standart Rhodamin B yang dibandingkan dengan nilai Rf masing-masing sampel. Adapun rumus untuk menghitung nilai Rf yaitu sebagai berikut:

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa terlarut (cm)}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut (cm)}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji organoleptis

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di laboratorium Kimia Poltekkes Kemenkes Malang, dari 8 sampel selai warna merah tanpa merek yang beredar di Kecamatan Magetan tidak mengandung pewarna merah Rhodamin B. Metode penelitian yang digunakan untuk menganalisis ada tidaknya kandungan Rhodamin B yakni menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan eluen isopropanol : ammonia (100 : 25 v/v). Sebelum dianalisis dengan KLT, sampel selai dilakukan uji organoleptis untuk membedakan antar produsen dan diklasifikasikan berdasarkan tingkat warnanya. Adapun hasil uji organoleptis sampel selai dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian organoleptis pada sampel selai warna merah tanpa merek

No.	Kode Sampel	Pengujian Organoleptis		
		Warna	Aroma	Tekstur
1.	A	+	+	halus; encer
2.	B	+	+	kasar; kental

3.	C	+	+	agak kasar; kental
4.	D	++	++	halus; sangat kental
5.	E	++	++	halus; kental
6.	F	++	++	halus; sangat kental
7.	G	+++	+	halus; sangat kental
8.	H	+++	++	halus; kental

Dari hasil uji organoleptis didapatkan hasil yaitu dari 8 sampel terdapat 6 sampel selai yang memenuhi syarat mutu fisik selai secara organoleptis, yaitu selai dengan kode nama A, B, C, D, E, dan F. Sedangkan 2 sampel yang lain, yaitu sampel G dan H tidak memenuhi syarat mutu fisik secara organoleptis dikarenakan kedua sampel selai tersebut memiliki warna yang lebih pekat, namun dari segi aroma dan tekstur kedua sampel ini memenuhi syarat. Sehingga dari uji organoleptis dapat disimpulkan bahwa 2 sampel selai yang tidak memenuhi syarat perlu dilakukan analisis lebih lanjut untuk mengetahui apakah terdapat zat warna berbahaya atau tidak. Selai yang berkualitas baik, yaitu selai yang memiliki warna, aroma, dan rasa yang normal (SNI 3748:2008). Selai yang memiliki kualitas baik harus memiliki warna cerah selai, kenyal, memiliki rasa buah asli, dan mempunyai daya oles yang baik yaitu tidak terlalu encer dan tidak terlalu keras ketika dioleskan pada roti (Yulistiani et al., 2013 dalam Putri dkk., 2018).

Hasil uji Kromatografi Lapis Tipis pada Sampel

Setelah dilakukan uji organoleptis, selanjutnya dilakukan analisis dengan KLT. Sebelum dilakukan analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis, zat warna yang ada dalam sampel diekstrak terlebih dahulu dengan benang wol. Prinsip penarikan warna dengan benang wol yaitu zat warna dari sampel dapat tertarik ke dalam benang wol dalam suasana asam dengan pemanasan kemudian warna yang tertarik ke dalam

benang wol dilunturkan oleh suatu basa (Utami dan Suhendi, 2009).

Analisis dengan KLT diawali dengan melakukan preparasi benang wol dengan tujuan untuk menghilangkan lemak yang terdapat dalam benang wol karena lemak yang terdapat dalam benang wol dapat menghambat proses peyerapan warna (Widarti dan Djasang, 2019). Untuk menghasilkan benang wol yang bebas lemak dilakukan dengan cara benang wol dididihkan di dalam air. Kemudian, benang wol dicuci dengan eter untuk menghilangkan kotoran dan lemak. Kemudian dididihkan dengan NaOH 1%, lalu dibilas kembali dengan air.

Selanjutnya dilakukan proses penarikan warna pada sampel dengan benang wol. Sampel yang telah ditimbang direndam dalam larutan ammonia 2% (yang dilarutkan dalam etanol 70%). Tujuan perendaman tersebut yaitu untuk menarik zat warna yang terdapat pada sampel. Setelah itu, larutan disaring untuk memisahkan zat warna yang terdapat pada sampel yang akan dianalisis dari pengotor yang dapat mengganggu proses analisis. Filtrat kemudian diuapkan diatas penangas air dengan suhu 65°C yang dimaksudkan untuk menguapkan pelarut. Penguapan dilakukan pada suhu 65°C karena pada suhu tersebut masih menjamin kestabilan Rhodamin B dalam larutan hingga didapatkan residu.

Selanjutnya, residu dari penguapan dilarutkan dalam air yang mengandung asam. Kemudian, benang wol dimasukkan ke dalam larutan asam tersebut dan dididihkan.

Penambahan larutan asam ini dimaksudkan untuk memberikan suasana asam pada sampel agar zat warna pada sampel dapat tertarik ke dalam benang wol serta dilakukan pemanasan yang bertujuan untuk mempercepat proses penyerapan zat warna sampel ke dalam benang wol. Menurut Sari P.R., (2015), larutan asam tersebut berfungsi sebagai pemecah ikatan sistina yang terdapat dalam benang wol menjadi sistein dengan bantuan pemanasan sehingga warna dapat tertarik ke dalam benang wol. Lalu, benang wol diangkat dan pewarna akan mewarnai benang wol. Benang wol dicuci dengan air, kemudian dimasukkan ke dalam ammonia 10% (yang dilarutkan dalam etanol 70%) dan dididihkan. Penambahan ammonia 10% tersebut berfungsi untuk memberikan suasana basa pada sampel agar zat warna sampel yang telah terikat pada benang wol dapat luntur. Ketika proses pelunturan warna disertai proses pemanasan yang bertujuan untuk mempercepat proses pelunturan zat warna tersebut. Larutan basa tersebut akan digunakan sebagai cuplikan sampel pada analisis KLT (Djalil, dkk., 2005 dalam Utami dan Suhendi, 2009).

Selanjutnya, dilakukan proses KLT yaitu dengan cara cuplikan sampel dan larutan standar ditotolkan pada plat KLT. Didiatkan sesaat hingga mengering. Proses KLT dilakukan dengan menggunakan fase gerak/eluen isopropanol : ammonia (100 : 25 v/v) dan fase diam yang digunakan adalah silika gel. Dalam fase diam terdapat plat tipis aluminium yang berfungsi untuk tempat berjalannya adsorben sehingga proses migrasi analit oleh pelarut dapat berjalan (Samosir dkk., 2018). Setelah itu, chamber dijenuhkan terlebih dahulu dengan eluen tersebut untuk memastikan partikel fase gerak terdistribusi merata pada seluruh bagian chamber sehingga proses pergerakan bercak dapat berlangsung optimal (Samosir dkk., 2018). Kemudian, plat KLT dimasukkan ke dalam chamber. Setelah elusi selesai, plat dikeringkan. Kemudian, kromatogram yang diperoleh dihitung nilai Rf-nya (Azizahwati, dkk., 2007 dalam Utami dan Suhendi, 2009). Selanjutnya, nilai Rf tiap bercak dibandingkan dengan nilai Rf standar Rhodamin B (Djalil, dkk., 2005 dalam Utami dan Suhendi, 2009). Adapun hasil analisis Rhodamin B pada sampel selai dengan metode KLT dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis Rhodamin B pada sampel dengan metode KLT

No.	Kode Sampel	Nilai Rf		Hasil
		Sampel	Standar	
1.	A	-	0,80	-
2.	B	-	0,79	-
3.	C	-	0,80	-
4.	D	0,59	0,79	-
5.	E	0,65	0,80	-
6.	F	0,63	0,79	-
7.	G	0,56	0,79	-
8.	H	0,33	0,80	-

Keterangan :

+ = diperkirakan mengandung Rhodamin B

- = diperkirakan tidak mengandung Rhodamin B

Dari hasil uji Kromatografi Lapis Tipis yang dilakukan dengan replikasi tiga kali didapatkan hasil yaitu pada sampel A, bercak sampel yang tidak terlihat baik secara visual maupun menggunakan UV. Pada sampel B, bercak sampel yang tidak terlihat baik secara visual maupun dengan UV. Pada sampel C, bercak tidak nampak secara visual maupun UV sehingga tidak dapat dirata-rata. Pada sampel D, memiliki warna bercak yaitu merah muda semu jingga. Pada sampel E, memiliki warna bercak yang terlihat yaitu merah semu jingga. Pada sampel F, memiliki warna bercak yaitu merah muda semu jingga. Pada sampel G, memiliki warna bercak yang dihasilkan yaitu merah semu jingga. Dan pada sampel H, memiliki warna bercak yaitu merah muda semu jingga.

Menurut Samosir dkk., (2018), dari hasil perhitungan Rf, jika nilai Rf-nya besar berarti daya pisah zat yang dilakukan eluen maksimum, sedangkan jika nilai Rf-nya kecil maka daya pisah zat yang dilakukan eluen minimum. Rf yang optimum berada pada rentang 0,5 – 0,8. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa eluen yang digunakan yaitu isopropanol : ammonia (100 : 25 v/v) pada penelitian ini cukup baik. Hal tersebut dapat dikarenakan eluen tersebut mampu menghasilkan pemisahan yang baik karena nilai Rf yang dihasilkan eluen tersebut masuk ke dalam rentang 0,5 – 0,8, akan tetapi ada 3 sampel yang tidak terlihat bercaknya dan 1 sampel yang tidak memenuhi syarat yaitu sampel H dengan nilai Rf 0,23.

Dari hasil perhitungan nilai Rf tersebut, dapat diketahui tidak ada persamaan antara nilai Rf sampel dengan standart Rhodamin B sehingga memiliki kemungkinan warna merah pada sampel selai tersebut mengandung zat warna lain. Pada penelitian Surdijati dkk pada tahun 2001 juga menggunakan pelarut yang sama sehingga hasil penelitian Surdijati dkk dapat dibandingkan dengan hasil penelitian ini. Pada hasil penelitian ini nilai Rf standart Rhodamin B sebesar 0,80-0,81, sedangkan pada penelitian Surdijati dkk sebesar 0,60. Hal

tersebut dikarenakan ada beberapa faktor yang juga mempengaruhi nilai Rf tersebut. Adapun faktor-faktor yang menyebabkan nilai Rf bervariasi, yaitu 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).

Dari hasil perbandingan dengan penelitian Surdijati dkk 2011 jika ditinjau dari hasil pengujian standart didapatkan hasil, yaitu sampel D pada penelitian ini mendekati dengan nilai Rf standart Carmoisin dan Allura Red. Sampel E pada penelitian ini hampir setara dengan nilai standart Erythrosin. Pada sampel F penelitian ini mendekati nilai Rf standart Erythrosin. Pada sampel G mendekati nilai Rf standart Carmoisin dan Allura Red. Dan pada sampel H mendekati nilai standart Ponceau 4R dan Amaranth.

Dari hasil tersebut jika dibandingkan dengan hasil penelitian Surdijati dkk maka didapatkan hasil yaitu dari seluruh sampel selai yang diuji tidak ada warna bercak yang hampir mendekati warna bercak standart tersebut sehingga dapat dimungkinkan jika warna bercak sampel selai warna merah yang terbentuk tersebut berasal dari warna alami buah strawberry, yaitu Antosianin atau mungkin zat warna alami yang lain. Strawberry mengandung senyawa golongan fenol seperti flavonoid, antosianin, dan tannin (Vermerris dan Nicholson, 2007 dalam Inggrid dan Iskandar, 2016). Di dalam strawberry, jenis antosianin yang paling dominan adalah pelargonidin-3-glukosida (83% dari total antosianin), selain itu terdapat pelargonidin-3-rutinosida (8%) dan Sianidin-3-glukosida (7%) (Silva,dkk., 2005 dalam Inggrid dan Iskandar, 2016). Oleh karena itu, diperlukan uji lanjutan, yaitu uji kuantitatif untuk memastikan zat warna apa yang terkandung dalam sampel selai warna merah tersebut.

Ditinjau dari hasil penelitian yang telah dilakukan, hasil yang didapatkan

menunjukkan bahwa seluruh sampel selai negatif mengandung Rhodamin B. Begitupun pada 2 sampel yang tidak memenuhi syarat mutu fisik selai sehingga memerlukan uji lebih lanjut, yaitu sampel G dan H. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan seluruh sampel selai yang diteliti tidak ditemukan nilai Rf yang sama dengan nilai Rf standart, dan warna bercak noda yang dihasilkan berbeda dengan bercak noda standar, dimana warna bercak standart yaitu merah muda. Sehingga dapat dinyatakan bahwa seluruh sampel selai warna merah tanpa merek yang beredar di Kecamatan Magetan tidak mengandung Rhodamin B sehingga aman untuk dikonsumsi. Sampel dapat dikatakan positif jika memiliki warna bercak dan nilai Rf yang sama dengan baku pembandingnya, yaitu Rhodamin B. Sampel dinyatakan positif mengandung Rhodamin B apabila nilai Rf sampel sama dengan nilai Rf baku atau masih dalam range $0,00 \leq Rf \leq 0,02$ (Depkes,1988 dalam Zarwinda dan Elfariyanti, 2020).

KESIMPULAN

Dari hasil uji organoleptis didapatkan hasil yaitu dari 8 sampel selai warna merah tanpa merek terdapat 6 sampel yang memenuhi syarat, yaitu berwarna cerah, aroma tidak terlalu tajam, dan tekstur yang tidak terlalu encer atau keras ketika dioles.

Dari hasil uji KLT yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari 8 sampel selai warna merah tanpa merek yang beredar di Kecamatan Magetan tidak mengandung pewarna merah Rhodamin B. Hal tersebut dapat dibuktikan dari adanya perbedaan nilai Rf dan warna bercak antara sampel selai dengan standart. Sehingga diperlukan uji kuantitatif sebagai uji lanjutan untuk memastikan zat warna apa yang terdapat dalam sampel selai tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Ibu Hanandayu Widwastuti, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk membimbing serta memberikan dukungan, bimbingan, dan bantuan dengan sabar, tekun, bijaksana, dan cermat memberikan masukan sehingga *paper* ini dapat terselesaikan. Terimakasih juga kepada pihak-pihak yang nmanya tidak dapat disebutkan satu-persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- Anshari, M. R., Fitriadi, A., & Wirayudha, R. (2020). Description of Rhodamin B Content in Tomato Sauce In Meetball Skewers Seller on Kapten Pierre Tendean Banjarmasin. *Jurnal Kajian Ilmiah Kesehatan dan Teknologi*, 2(2), 28–35.
- Ayuningtyas, P., Sauriasari, R., & Kurniadi, M. (2012). Analisis Zat Warna Merah Sintetik Pada Selai Stroberi Yang Dijual Di Pasar Tradisional Kota Depok. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(2), 160128.
- Badan Standarisasi Nasional. (1992). *SNI 01-2895-1992: Cara Uji Pewarna Tambahan Makanan*. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional. (2008). *SNI 3746-2008: Syarat Mutu Selai Buah*. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- BPOM. (2019). Laporan Tahunan Badan Pengawas Obat Dan Makanan 2019. pom.go.id.https://www.pom.go.id/new/admin/diakses/20200817/Laporan_Tahunan_2019_Badan_Pengawas_Obat_dan_Makanan, diakses tanggal 6 Desember 2021.
- Chairunnisaa, I. R., Suwita, I. K., & Kesuma, S. (2020). Pengembangan Metode Penentuan Kandungan Rhodamine B Dalam Kerupuk Berwarna Merah Menggunakan Reagen

- Zn(CNS)₂ Dan Pencitraan Digital. *Medfarm: Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 9(2), 63–72.
- Hadriyati, A., Lestari, L., & Anggresani, L. (2021). Analisis Rhodamin B dalam Bolu Kukus yang Beredar di Kota Jambi dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1), 16–21.
- Hartini, H., & Reflesia, S. (2020). Analisis Kandungan Pewarna Rhodamin B Pada Selai Stroberi Yang Dijual Di Pasar Dupa Pekanbaru. *Jurnal Sains dan Teknologi Laboratorium Medik*, 5(1), 11–15.
- Hevira, L., Alwinda, D., & Hilaliyati, N. (2020). Analisis pewarna Rhodamin B pada kerupuk merah di Payakumbuh. *Chempublish Journal*, 5(1), 27–35.
- Inggrid, H. M., & Iskandar, A. R. (2016). *Pengaruh pH dan temperatur pada ekstraksi antioksidan dan zat warna buah stroberi*. 7. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” ISSN 1693-4393 Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia
- Krisyan, O., Sulistiyowati, R., & Kurniawan, K. (2021). Analisis Kadar Rhodamin B pada Terasi yang Diperjualbelikan di Pasar Belik Kabupaten Pematang. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 3(2), 237–241.
- Kurnia, D. C. D. (2005). *Analisis Warna pada Saos yang Beredar di Yogyakarta dengan Metode Kromatografi Kertas dan Spektrofotometer UV-Vis*. Skripsi, Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.
- Kusumaningsih, D., Alimuddin, A., & Akkas, E. (2020). Analisis Rhodamine B Of Tomato Sauce In Samarinda By Using Spechtrophotometer Uv-Vis. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 17(2), 52–55.
- Lintongan, J., Mongi, J., Ginting, A. R., & Tumbel, S. (2019). Identifikasi Rodamin B Pada Kue Kuk Yang Beredar Di Pasar Traditional Kota Bitung. *Biofarmasetikal Tropis*, 2(2), 80–84.
- Longdong, G. M. B., Abidjulu, J., & Kojong, N. S. (2017). Analisis Zat Pewarna Rhodamin B Pada Saos Bakso Tusuk Yang Beredar Di Sekitar Kampus Universitas Sam Ratulangi Manado. *Pharmacon*, 6(4), Article 4.
- Mamuaja, C. F. (2016). *Pengawasan Mutu Dan Keamanan Pangan*. Unsrat Press. http://repo.unsrat.ac.id/2032/1/PENGAWASAN_MUTU_DGN_COVER_MUKA_17-07-18.pdf
- Menteri Kesehatan RI. (1985). Permenkes RI No. 239/Menkes/Per/V/1985. Jakarta: Kemenkes RI.
- Menteri Kesehatan RI. (2012). Permenkes RI No. 033 Tahun 2012. Jakarta: Kemenkes RI
- Muafiroh, A. (2017). *Kualitas Organolaptik Dan Kandungan Gizi Pada Selai Kulit Buah Naga Super Merah (Hylocereus Costaricensis)*. Skripsi, Universitas Negeri Semarang.
- Mukaromah, A. H., & Maharani, E. T. (2008). Identifikasi Zat Warna Rhodamine B pada Lipstik Berwarna Merah. *Jurnal Universitas Muhammadiyah Semarang*, 1(1), 34-40.
- Nismara, N. N. (2017). *Daya Terima Dan Kandungan Gizi Selai Dari Kulit Semangka (Citrullus Lanatus) Dan Labu Kuning (Cucurbita Moschata)*. Skripsi, Universitas Sumatera Utara.
- Patimah, P., Rachmawati, S. R., & Fadhila, F. (2020). Identifikasi Dan Penetapan Kadar Jajanan Berwarna Merah Diduga Mengandung Rhodamin B Di Pasar Cileungsi Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *Sanitas: Jurnal Teknologi Dan Seni Kesehatan*, 11(2), 222–233.

- Peraturan Pemerintah. (2019). Peraturan Pemerintah No.86 Tahun 2019 Tentang Keamanan Pangan.
- Permatahati, D. M., & Yanti, L. P. D. (2021). Metode Identifikasi Rhodamine B pada Makanan dan Kosmetik. *Bima Nursing Journal*, 2(1), 62–69.
- Purniati, N. K., Ratman, R., & Jura, M. R. (2015). Identifikasi Zat Warna Rhodamin B Pada Lipstik Yang Beredar Di Pasar Kota Palu. *Jurnal Akademika Kimia*, 4(3), 155–160.
- Putri, G. S. N., Setiani, B. E., & Hintono, A. (2018). Karakteristik Selai Wortel (*Daucus carota L.*) dengan Penambahan Pektin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(4), Article 4.
- Rinto, R., Arifah, E., & Utama, S. B. (2009). Kajian Keamanan Pangan (Formalin, Garam Dan Mikrobial) Pada Ikan Sepat Asin Produksi Indralaya. *Publikasi Penelitian Terapan dan Kebijakan*, 3(2), Article 2.
- Samosir, A. S., Bialangi, N., & Iyabu, H. (2018). Analisis Kandungan Rhodamin B pada Saos Tomat yang Beredar di Pasar Sentral Kota Gorontalo dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jambura Journal of Educational Chemistry*, 13(1), 45–49.
- Surdijati, S., Sardjimah, A., & Wijaya, L. (2001). Identifikasi Dan Penetapan Kadar Zat Warna Merah Dalam Dawet Secara KLT-Densitometri. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Gizi*, 2(1), Article 1.
- Utami, W., & Suhendi, A. (2009). Analisis Rhodamin B Dalam Jajanan Pasar Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 10(2), 148-155.
- Wardanita, W., Jura, M. R., & Tangkas, I. M. (2013). Penetapan Kadar Rhodamin B dan Natrium Benzoat pada Saus Tomat yang Beredar di Wilayah Pasar Inpres Kota Palu. *Jurnal Akademika Kimia*, 2(4), 209–214.
- Widarti, W., & Djasang, S. (2019). Identification Of Rhodamin B In Chili Sauce Local Production Sale In Traditional Markets In Makassar City. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 10(2), 136–142.
- Widiantara, T., Hasnelly, & Satira, Z. (2020). Identifikasi Rhodamin B Pada Sagu Mutiara Di Pasar Induk Kota Bandung Tahun 2019. *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*, 7(1), 10–16.
- Widiya, M., Riastuti, R. D., & Widiana, S. W. (2021). Analisis Kandungan Rodamin B dan Metanil Yellow Minuman di SD Lubuklinggau. *Jurnal Indah Sains dan Klinis*, 2(2), 29–33.
- Wulandari, L. (2011). *Kromatografi Lapis Tipis*. PT. Taman Kampus Presindo, Jember.
- Yamlean, P. V. Y. (2011). Identifikasi Dan Penetapan Kadar Rhodamin B Pada Jajanan Kue Berwarna Merah Muda Yang Beredar Di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*, 11(2), 289–295.
- Zarwinda, I., & Elfariyanti, E. (2020). Analisis Rhodamin B pada Cabai Merah Bubuk yang Dijual di Pasar Beureunun dan Pasar Simpang Peut Nagan Raya Provinsi Aceh. *Serambi Saintia : Jurnal Sains Dan Aplikasi*, 8(1), 23–29.