

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Keamanan Pangan

1. Definisi Keamanan Pangan

Menurut Undang-undang Republik Indonesia no. 18/2012 tentang pangan, bahwa keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah Pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat, sehingga aman untuk dikonsumsi.

Pangan yang tidak aman akan menyebabkan penyakit yang disebut *foodborne disease*, yaitu segala penyakit yang timbul akibat mengkonsumsi pangan yang mengandung bahan atau senyawa beracun atau organisme patogen.

2. Penyebab Ketidakamanan Pangan

Penyebab ketidakamanan pangan adalah (Baliwati, dkk, 2004):

- a. Segi gizi, jika kandungan gizinya berlebihan yang dapat menyebabkan berbagai penyakit degeneratif seperti jantung, kanker, diabetes.
- b. Segi kontaminasi, jika pangan terkontaminasi oleh mikroorganisme ataupun bahan-bahan kimia.

Penyebab pangan tersebut berbahaya karena, makanan tersebut dicemari zat-zat yang membahayakan kehidupan dan juga karenan di dalam makanan itu sendiri telah terdapat zat-zat yang membahayakan kesehatan (Azwar, 1995).

B. Bahan Tambahan Pangan

1. Definisi Bahan Tambahan Pangan

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.772/Menkes/Per/IX/88 dan No.1168/Menkes/PER/X/1999 pengertian Bahan Tambahan Pangan (BTP) secara umum adalah bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan biasanya bukan merupakan komponen khas makanan, mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk maksud teknologi pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, dan penyimpanan. Penggunaan bahan

tambahan pangan bertujuan agar dapat meningkatkan atau mempertahankan nilai gizi dan kualitas daya simpan, membuat bahan pangan lebih mudah dihidangkan, serta mempermudah preparasi bahan pangan (Cahyadi, 2009).

Menurut FAO dan WHO dalam kongres di Roma pada tahun 1956 menyatakan bahwa bahan tambah pangan adalah bahan-bahan yang ditambahkan dengan sengaja ke dalam makanan dalam jumlah sedikit yaitu untuk memperbaiki warna, bentuk, citarasa, tekstur, atau memperpanjang daya simpan, dan bukan merupakan bahan (*ingredient*) utama. Sedangkan menurut Suprianto (2006). Bahan Tambahan Pangan adalah bahan yang tidak lazim dikonsumsi sebagai makanan, yang dicampurkan secara sengaja pada proses pengolahan makanan. Bahan ini ada yang memiliki nilai gizi dan ada yang tidak.

2. Tujuan Penggunaan Bahan Tambahan Pangan

Tujuan penggunaan bahan tambahan pangan adalah dapat meningkatkan atau mempertahankan nilai gizi dan kualitas daya simpan, membuat bahan pangan lebih mudah dihidangkan serta mempermudah pereparasi bahan pangan.

Pada umumnya bahan tambahan pangan yang digunakan hanya dapat dibenarkan apabila (Puspitasari, 2001):

- a. Dimaksudkan untuk mencapai masing-masing tujuan penggunaan dalam pengolahan.
- b. Tidak digunakan untuk menyembunyikan penggunaan bahan yang salah satu tidak memenuhi syarat.
- c. Tidak digunakan untuk menyembunyikan cara kerja yang bertentangan dengan cara produksi yang baik untuk pangan.
- d. Tidak digunakan untuk menyembunyikan kerusakan bahan pangan.

3. Sumber-Sumber Bahan Tambahan Pangan

Menurut Cahyadi (2009) bahan tambahan makanan bisa berasal dari makanan yang dapat disintesa secara kimia atau diproses dengan proses biologi.

- a. Bahan tambahan sintetik diproses dari proses pengolahan bahan kimia yang mempunyai sifat serupa dengan bahan alamiah yang sejenis, baik susunan kimia, maupun sifat metabolismenya.
- b. Bahan tambahan biologi baik dari hewan maupun dari tumbuhan seperti lesitin dan asam sitrat. Bahan makanan yang bersumber langsung dari makanan.

Pada umumnya bahan tambahan pangan dibagi menjadi dua kelompok besar (Cahyadi, 2009):

- a. Bahan tambahan pangan yang ditambahkan secara sengaja ke

dalam makanan, dengan mengetahui komposisi bahan tersebut dan maksud penambahan itu dapat mempertahankan kesegaran, citarasa, dan memantau pengolahannya, contohnya : pengawet, pewarna, dan pengeras.

- b. Bahan tambahan yang tidak sengaja ditambahkan, yaitu bahan yang tidak mempunyai fungsi dalam makanan tersebut, terdapat secara tidak sengaja baik dalam jumlah sedikit atau cukup banyak akibat perlakuan selama proses produksi, pengolahan, dan proses pengemasan bahan ini dapat pula merupakan residua tau kontaminasi dari bahan yang disengaja ditambahkan untuk tujuan produksi bahan mentah atau penangannya yang masih terus terbawa kedalam makanan yang akan dikonsumsi. Contohnya residu pestisida.

4. Pengolahan Bahan Tambahan Pangan

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republic Indonesia Nomor 722/Menkes/PerXI/88 terhadap Bahan tambahan Pangan, bahan tambahan pangan terdiri dari dua golongan, yaitu bahan tambahan pangan yang diizinkan dan bahan tambahan pangan yang tidak diizinkan.

1. Bahan tambahan pangan yang diizinkan yaitu:

Bahan Tambahan Makanan (BTM) yang diizinkan digunakan pada makanan berdasarkan Permenkes No.722/Menkes/Per/IX/1988 adalah :

- a. Antioksidan, adalah BTM yang dapat mencegah atau menghambat oksidasi lemak sehingga mencegah terjadinya ketengikan. Contohnya : asam askorbat, asam eritorbat, butil hidroksi toluen.
- b. Antikempal, yaitu BTM yang dapat mencegah mengempalnya (menggumpalnya) makanan yang berupa serbuk seperti tepung atau bubuk. Contohnya : aluminium silikat, magnesium karbonat, miristat.
- c. Pengatur keasaman (pengasam, penetral, pendapar), yaitu BTM yang dapat mengasamkan, menetralkan, dan mempertahankan derajat keasaman. Contohnya : asam klorida, asam fumarat, asam fosfat.
- d. Pemanis buatan, yaitu BTM yang dapat menyebabkan rasa manis pada makanan, yang tidak atau hampir tidak mempunyai nilai gizi. Contohnya : sakarin, siklambat, sorbitol.
- e. Pemutih dan pematang tepung, yaitu BTM yang dapat mempercepat proses pemutihan dan atau pematang tepung sehingga dapat memperbaiki mutu pemanggangan.

Contohnya: natrium karbonat, natrium sitrat, natrium malat.

- f. Pengemulsi, pemantap, pengental, yaitu BTM yang dapat membantu terbentuknya dan memantapkan sistem dispersi yang homogen pada makanan. Contohnya : agar, ammonium alginat, gelatin.
- g. Pengawet, yaitu BTM yang dapat mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman, atau peruraian lain pada makanan yang disebabkan oleh pertumbuhan mikroba. Contohnya : natrium benzoat, asam sorbat, natrium bisulfit.
- h. Pengeras, yaitu BTM yang dapat memperkeras atau mencegah melunaknya makanan. Contohnya : aluminium sulfat, kalsium glukonat, kalsium laktat.
- i. Pewarna, yaitu BTM yang dapat memperbaiki atau memberi warna pada makanan. Contohnya : karamel, kantasatin, betakaroten.
- j. Penyedap rasa dan aroma, penguat rasa, yaitu BTM yang dapat memberikan, menambah atau mempertegas rasa dan aroma. Contohnya : asam butirat, etil vanillin, benzaldehida.
- k. Sekuestran, yaitu BTM yang dapat mengikat ion logam yang ada dalam makanan, sehingga memantapkan warna, aroma dan tekstur. Contohnya : asam fosfat, asam sitrat, natrium pirofosfat.

2. Bahan tambahan pangan yang tidak diizinkan, yaitu:

Bahan Tambahan Makanan (BTM) tidak diizinkan atau dilarang digunakan dalam makanan karena bersifat karsinogenik berdasarkan Permenkes RI No. 722/Menkes/Per/IX/1988 dan Permenkes No. 1168/Menkes/Per/1999 tentang Bahan Tambahan Makanan adalah:

- a. Asam Borat (*Boric Acid*) dan senyawanya
- b. Asam Salisilat dan garamnya (*Salicylic Acid and its salt*)
- c. Dietilpirokarbonat (*Diethylpirocarbonate, DEPC*)
- d. Dulsin (*Dulcin*)
- e. Kalium Klorat (*Potassium Chlorate*)
- f. Kloramfenikol (*Chloramphenicol*)
- g. Minyak Nabati yang dibrominasi (*Brominated vegetable oils*)
- h. Nitrofurazon (*Nitrofurazone*)
- i. Formalin (*Formaldehyde*)
- j. Kalium Bromat (*Potassium Bromate*)
- k. Rhodamin B
- l. Metanil Yellow

C. Zat Pewarna

1. Pengertian Zat Pewarna

Zat pewarna adalah bahan tambahan makanan yang dapat memperbaiki atau memberi warna pada makanan. Penambahan pewarna pada makanan dimaksud untuk memperbaiki warna makanan yang berubah atau memucat selama proses pengolahan atau memberi warna pada makanan yang tidak berwarna agar kelihatan lebih menarik (Noviana, 2005).

Menurut Permenkes RI no.722/Menkes/Per/XI/1988. Zat pewarna adalah bahan tambahan pangan yang dapat memperbaiki atau memberi warna pada makanan.

Di Indonesia, karena Undang-Undang penggunaan zat warna belum ada, terdapat kecenderungan penyalahgunaan pemakaian zat warna untuk sembarang bahan pangan; misalnya zat pewarna untuk tekstil dan kulit dipakai untuk mewarnai bahan makanan. Hal ini sangat berbahaya bagi kesehatan karena adanya residu logam berat pada pewarna tersebut. Timbulnya penyalahgunaan zat pewarna tersebut disebabkan oleh ketidaktahuan rakyat mengenai zat pewarna untuk makanan, atau disebabkan karena tidak adanya penjelasan dalam label yang melarang penggunaan senyawa tersebut untuk bahan pangan, dan harga zat pewarna untuk industri relatif jauh lebih murah dibandingkan dengan

harga zat pewarna untuk makanan. Zat warna tersebut memiliki warna yang cerah, dan praktis digunakan. Zat warna tersebut juga tersedia dalam kemasan kecil di pasaran sehingga memungkinkan masyarakat tingkat bawah dapat membelinya (Winarno, 2007).

2. Pembagian Zat Warna

Secara garis besar, berdasarkan sumbernya dikenal dua jenis zat pewarna yang termasuk dalam golongan bahan tambahan pangan yaitu :

a. Pewarna Alami

Pewarna alami merupakan warna yang diperoleh dari bahan alami, baik nabati, hewani ataupun mineral. Secara kuantitas, dibutuhkan zat pewarna alami yang lebih banyak daripada zat pewarna sintetis untuk menghasilkan tingkat pewarnaan yang sama. Pada kondisi tersebut, dapat terjadi perubahan yang tidak terduga pada tekstur dan aroma makanan. Zat pewarna alami juga menghasilkan karakteristik warna yang lebih pudar dan kurang stabil bila dibandingkan dengan zat pewarna sintetis. Oleh karena itu zat ini tidak dapat digunakan sesering zat pewarna sintetis.

Beberapa pewarna alami yang telah banyak dikenal masyarakat misalnya adalah daun suji untuk membuat warna hijau, kunyit untuk warna kuning, daun jati untuk warna merah, dan gula merah untuk warna coklat. Zat pewarna alami ini lebih aman digunakan

daripada zat pewarna sintetis. Pewarna alami yang sering digunakan sebagai pewarna makanan adalah sebagai berikut :

1. Antosianin, pewarna ini memberikan pengaruh warna oranye, merah dan biru. Warna ini secara alami terdapat pada buah anggur, strawberry, apel, dan bunga. Betasianin dan Betaxantin, termasuk pewarna nabati yang diperoleh dari marga tanaman *centrospermae*, diantaranya bit dan bougenvil yang memberikan tampilan warna kuning dan merah.
2. Karotenoid, dapat memberi warna kuning, merah dan oranye.
3. Klorofil, zat warna hijau yang terdapat dalam daun, permukaan batang tanaman, dan kulit buah-buahan.
4. Karamel, adalah cairan atau serbuk berwarna coklat gelap yang diperoleh dari pemanasan karbohidrat secara terkontrol yaitu *dektrosa*, *laktosa*, sirup *malt*.
5. Kurkumin, merupakan zat warna alami yang diperoleh dari tanaman kunyit.

Tabel 1. Contoh bahan pewarna alami

No	Kelompok	Warna	Sumber
----	----------	-------	--------

1.	Karamel	Coklat	Gula dipanaskan
2.	Anthosianin	Jingga Merah Biru	Tanaman
3.	Flavonoid	Tampak Kuning	Tanaman
4.	Leucoantho	Tidak berwarna	Tanaman
5.	Sianin	Tidak berwarna	Tanaman
6.	Tannin	Kuning merah	Tanaman
7.	Batalin	Kuning – hitam	Tanaman
8.	Quinon	Kuning	Tanaman/hewan
9.	Xanthon	Tanpa kuning – merah	Tanaman
10.	Karotenoid	Hijau, coklat	
11.	Klorofil heme	Merah, coklat	Hewan

Sumber : Tranggono dkk, 1989 dalam Winarno, 2007

b. Pewarna Buatan (Sintetis)

Zat pewarna sintetis merupakan zat pewarna buatan manusia. Karakteristik dari zat pewarna sintetis adalah warnanya lebih cerah, lebih homogen dan memiliki variasi warna yang lebih banyak bila dibandingkan dengan zat pewarna alami. Disamping itu penggunaan zat pewarna sintetis pada makanan bila dihitung berdasarkan harga perunit dan efisiensi produksi akan jauh lebih murah bila dibandingkan dengan zat pewarna alami.

Pewarna sintetis merupakan sumber utama pewarna komersial untuk hampir seluruh industri makanan utama. Karena sifat pewarna sintetis mendasari sifat kelarutannya dalam air, maka sangatlah mutlak diperlukan untuk mewarnai makanan yang mengandung air. Jika kelarutannya dalam air kurang sempurna, tentu saja warna yang diinginkan tidak akan tercapai dengan baik dan menarik. Secara lebih khusus lagi, pewarna sintetik masih dibagi menjadi dua macam yaitu *Dyes* dan *Lakes*. Perbedaan

keduanya berdasarkan bilangan-bilangan rumus kimianya, yaitu kelompok *azo*, *triarilmetana*, *quinolin* dan lain-lain.

Dyes adalah zat warna yang larut dalam air sehingga larutannya menjadi berwarna dan dapat digunakan untuk mewarnai bahan. Biasanya diperjual-belikan dalam bentuk granula (butiran), cairan, campuran warna dan pasta. *Dyes* umumnya digunakan untuk mewarnai minuman berkarbonat, minuman ringan, roti, dan kue-kue produk susu, pembungkus sosis dan lain-lain. Zat warna ini stabil untuk berbagai macam penggunaan dalam bahan pangan. Dalam bentuk kering tidak memperlihatkan adanya kerusakan.

Sedangkan *Lakes* adalah pigmen yang dibuat melalui pengendapan dari penyerapan *dye* pada bahan dasar. Produk-produk makanan yang kadar airnya terlalu rendah untuk dapat melarutkan *dye* biasanya menggunakan *lakes*, misalnya untuk pelapisan tablet, campuran adonan kue, cake dan donat. Dibandingkan dengan *dyes*, maka *lakes* pada umumnya bersifat lebih stabil terhadap cahaya, kimia dan panas sehingga harga *lakes* umumnya lebih mahal daripada harga *dyes*.

Menurut *Joint (FAO/WHO) Expert Committee on Food Additives* (JECFA), zat pewarna sintetis dapat digolongkan dalam beberapa kelas berdasarkan rumus kimianya, yaitu *azo*,

triarilmetana, quinolin, xanten, dan indigoid. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. Kelas-kelas zat pewarna sintetis menurut JECFA

No	Nama	Warna
1.	Azo :	
	1. Tatzazine	Kuning
	2. Sunset Yellow FCF	Oranye
	3. Allura Red AC	Merah (kekuningan)
	4. Ponceau 4R	Merah
	5. Red 2G	Merah
	6. Azorubine	Merah
	7. Fast Red E	Merah
	8. Amaranth	Merah (kebiruan)
	9. Brilliant Balck BN	Ungu
	10. Brown FK	Kuning cokelat
	11. Brown HT	Cokelat
2.	Triarilmetana :	
	1. Brilliant Blue FCF	Biru
	2. Patent Blue V	Biru
	3. Green S	Biru kehijauan
	4. Fast Green FCF	Hijau
3.	Quinolin :	
	1. Quinoline Yellow	Kuning kehijauan
4.	Xanten :	
	1. Erythrosine	Merah
5.	Indigoid :	
	1. Indigotine	Biru kemerahan

Sumber : Peraturan Menkes RI, Nomor 722/Menkes/Per/IX/88

Zat pewarna yang diizinkan penggunaannya dalam makanan dikenal sebagai *permitted color* atau *certified color*. Untuk penggunaan zat warna tersebut harus menjalani tes dan prosedur penggunaan yang disebut proses sertifikasi. Proses sertifikasi ini meliputi pengujian kimia, biokimia, toksikologi, dan analisis media terhadap zat warna tersebut (Yuliarti, 2007).

Tabel 3. Bahan pewarna sintetis yang diizinkan di Indonesia

	Pewarna	Nomor Indeks warna (C.I.No.)	Batas maksimum
Amaran	Amaranth: CI Food Red 9	16185	Secukupnya
Biru berlian	Brilliant Blue FCF : CI Food red 2 Erthrosin : CI	42090	Secukupnya
Erritrosin Hijau	Food red 14 Fast green FCF : CI Food green 3	45430	Secukupnya
FCF Hijau S.	Green S: CI. Food Green 4	42053	Secukupnya
Indigotin	Indigotin : CI. Food Blue I	44090	Secukupnya
Ponceau 4R	Ponceau 4R: CI Food Red 7	73015	Secukupnya
Kuinelin	Quineline yellow	16255	Secukupnya
Kuning	CI. Food yellow 13	74005	Secukupnya
Kuning FCF	Sunset yellow FCF CI. Food yellow 3	15980	Secukupnya
Ribiflavina	Riboflavina	-	Secukupnya
Tatrazine	Tatrazine	19140	Secukupnya

Sumber : Peraturan Menkes RI, Nomor 722/Menkes/Per/IX/88

Tabel 4. Bahan pewarna sintetis yang dilarang di Indonesia

	Bahan Pewarna	Nomor Index Warna (C.I.No.)
Citrus red No. 2	(Red G)	12156
Ponceau 3 R	(Food Red No. 1)	16155
Ponceau SX	(Food Red No. 5)	14700
Rhodamin B	(Acid Green No. 3)	45170
Guinea Green B	(Basic Violet No. 14)	42085
Magenta	(Basic Orange no. 2)	42510
Chrysoidine	(Solveent Yellow No. 2)	11270
Butter Yellow	(Food yellow No.2)	11020
Sudan I	(Food Yellow No. 14)	12055
Methanil Yellow	(Ext. D & C yellow No.1)	13065
Auramine	(Basic Yellow No. 2)	41000
Oil Oranges SS	(Solveent Oranges No. 7)	12100
Oil Oranges XO	(Solveent Oranges No. 5)	12140
Oil Yellow AB	(Solveent Oranges No. 6)	11380
Oil Yellow OB		11390

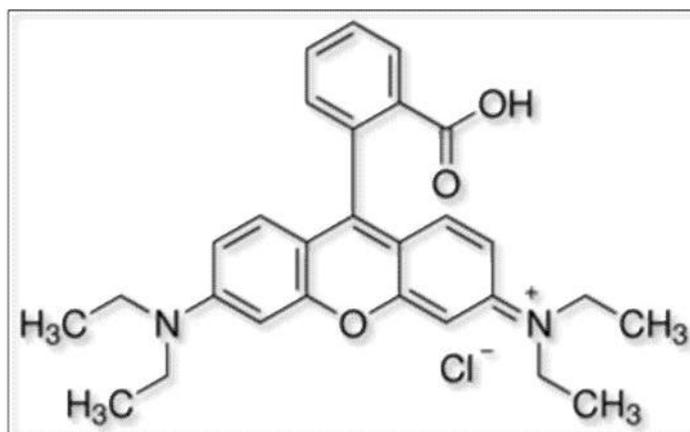
Sumber : Peraturan Menkes RI, No. 722/Menkes/Per/IX/8

D. Rhodamin B

1. Ciri Umum pewarna Rhodamin B

Rhodamin B adalah zat warna sintetis berbentuk serbuk kristal, berwarna hijau atau ungu kemerahan, tidak berbau dan berwarna merah terang berfluorensi dalam larutan. Rhodamin B memiliki nama kimia *[9-(2-carboxyphenyl)-6-diethylamino-3-xanthenylidene]-diethylammoniumchloride* dengan berat molekul 479.02 g/mol. Rhodamin B semula digunakan untuk kegiatan histologi dan sekarang berkembang untuk berbagai keperluan seperti sebagai pewarna kertas dan tekstil. Rhodamin B juga digunakan secara luas pada aplikasi bioteknologi seperti *fluorescence microscopy*, *flow cytometry*, *fluorescence correlation spectroscopy* dan ELISA. Menurut Inchem (2006) nilai LD₅₀ Rhodamin B adalah 89.5 mg/kg berat badan.

2. Struktur Rhodamin B



Gambar 3. Struktur kimia Rhodamin B (EFSA 2005)

Tabel 5. Struktur pewarna Rhodamin B

No	Keterangan	Penjelasan
1.	Berat molekul	479,02
2.	Rumus molekul	$C_{28}H_{31}ClN_2O_3$
3.	Nomor CAS	81-88-9
4.	Nomor IMIS	0848
5.	Titik lebur	$165^{\circ}C$

Sumber: Wirasto, 2008

3. Nama Lain

- a. Acid brilliant pink B
- b. Basic Violet 10
- c. Calcozine red bx
- d. C.I. Basic Violet 10
- e. CI number (no. indeks warna) : 45170
- f. diethyl-m-amino-phenolphthalein-hydr (OHS20113,1997).

4. Pengguna Pewarna Rhodamin B

- a. Sebagai pewarna untuk kertas, tekstil, (sutra, wol, kapas, plastik).
- b. Sebagai regenerasi untuk analisa antimon, bismuth, kobal, niobium, emas, mangan, air raksa, molybdenum, tantalum, talium, dan tungstem.
- c. Sebagai pewarna biologi (Wirasto, 2008).

5. Bahaya Paparan Rhodamin B

1. Jika Terhirup

Debunya iritatif terhadap saluran pernapasan. Gejala: batuk, sakit tenggorokan, sulit bernapas, dan nyeri dada. Serbuk Rhodamin B

yang terhirup akan larut dalam lendir yang melapisi permukaan saluran saluran pernapasan sehingga menimbulkan iritasi.

2. Jika Kontak Dengan Kulit

Debu, serbuk atau larutannya akan menyebabkan iritasi terhadap kulit, akan timbul kemerahan dan rasa sakit (Wirasto, 2008).

3. Jika Kontak Dengan Mata

Telah dilaporkan berdasarkan penelitian Wijaya (2009) dapat menyebabkan luka pada mata kelinci, seperti edema konjungtiva, hiperemia, pengeluaran nanah, hingga terjadi kebutaan total dan bahkan kerusakan jaringan serta pengelupasan stroma kornea (*cornela stoma*).

4. Jika Tertelan

Efek kumulatifnya dapat menimbulkan iritasi pada saluran cerna dan air seni akan berwarna merah atau merah muda. Bila mengkonsumsi makanan yang mengandung Rhodamin B, dalam tubuh akan terjadi penumpukan lemak, sehingga dalam waktu lama jumlahnya akan terus bertambah. Yang pada akhirnya akan menyebabkan kanker hati (Wijaya, 2009).

Enurut Budiarmo dan Winarno (2007) dalam studi yang dilakukan oleh universitas Hokoriku, Kanazawa, Jepang tentang uji Toksisitas Zat Warna Rhodamin B terhadap mencit dengan pemberian dosis Rhodamin B 150 ppm, 300 ppm, dan 600 ppm menunjukkan terjadinya perubahan bentuk dan organisasi sel dalam jaringan hati

dari normal yaitu terjadi perubahan sel hati menjadi nekrosis dan jaringan disekitarnya mengalami disintegrasi atau disorganisasi. Kerusakan pada jaringan hati ditandai dengan terjadinya piknotik (sel yang melakukan pinositosis) dan hiperkromatik pewarna yang lebih kuat dari normal dari nucleus. Degenerasi lemak dan sitolisis dari sitoplasma. Batas antar sel tidak jelas, susunan sel tidak tertur dan sinusoid tidak utuh. Semakin tinggi dosis yang diberikan, maka semakin berat kerusakan hati yang ditimbulkan.

E. Kromatografi Kertas

Kromatografi kertas merupakan bagian khusus dari kromatografi cairan-cairan dimana cairan stasionernya merupakan lapisan pelarut yang teradsorpsi pada kertas. Kromatografi kertas digunakan untuk memisahkan campuran dari substansinya menjadi komponen-komponennya.

Kromatografi kertas termasuk dalam kelompok kromatografi planar, dimana pemisahannya menggunakan medium pemisah dalam bentuk bidang (umumnya bidang datar) yaitu bentuk kertas. Seluruh bentuk kromatografi memiliki fase diam dan fase gerak. Dalam kromatografi kertas, fase diam adalah kertas serap yang sangat seragam. Fase gerak adalah pelarut atau campuran pelarut yang sesuai.

1. Prinsip Kromatografi Kertas

Prinsip dari kromatografi kertas adalah pemisahan senyawa berdasarkan distribusi senyawa antara dua fasa, fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam dalam kromatografi berupa air yang terikat pada selulosa kertas sedangkan fasa geraknya berupa pelarut organik non polar (pelarut yang sesuai).

Suatu zat yang terdapat dalam campuran akan terpisah disebabkan adanya proses migrasi yang dinamis dalam suatu sistem yang terdiri dari 2 fase, dimana suatu fase bergerak terus menerus dengan arah tertentu dan masing-masing substansi menjalankan kecepatan yang disebabkan oleh perbedaan partisi, kelenturan, tekanan, uap dan ukuran molekul.

Selain itu Pemisahan pada kromatografi kertas terjadi karena perbedaan kelarutan zat-zat dalam pelarut serta perbedaan penyerapan (adsorpsi) kertas terhadap zat-zat yang akan dipisahkan. Zat yang lebih larut dalam pelarut dan kurang teradsorpsi pada kertas akan bergerak lebih cepat. Sedangkan zat yang kurang larut dalam pelarut dan lebih teradsorpsi pada kertas akan tertinggal atau bergerak lebih lama.

2. Metode Kromatografi Kertas

Pada kromatografi kertas elusidasi atau pengembangan kromatogram dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:

- a. Teknik menaik (ascending), pada teknik menaik ini rembesan fasa

gerak bergerak ke atas karena efek kapiler.

- b. Teknik menurun (descending), pada teknik menurun ini rembesan fasa bergerak ke bawah yang dikarenakan efek kapiler yang juga dibantu oleh efek gravitasi sehingga rembesan berjalan lebih cepat.

3. Nilai R_f (*Retardation Factor*)

Beberapa senyawa dalam campuran bergerak sejauh dengan jarak yang ditempuh pelarut, beberapa lainnya tetap lebih dekat pada garis dasar. Jarak relatif pada pelarut disebut sebagai nilai R_f . Metoda identifikasi yang paling mudah adalah berdasarkan pada kedudukan noda relatif terhadap permukaan pelarut yang dinyatakan dengan nilai R_f (*Retardation Factor*). Nilai R_f di defenisikan oleh hubungan:

$$R_f = \frac{\text{Jarak (cm) dari garis awal kepusat noda}}{\text{Jarak (cm) dari awal ke garis akhir elusi}}$$

Nilai R_f akan menunjukkan identitas suatu senyawa karena nilai ini karakteristik untuk suatu senyawa pada pelarut tertentu. Beberapa faktor yang mempengaruhi harga R_f adalah:

1. Elusi, perubahan yang sangat kecil dari komposisi larutan elusi akan menyebabkan harga R_f berubah.
2. Suhu perubahan, suhu menyebabkan perubahan koefisien partisi dan kecepatan alir.
3. Ukuran bejana, volume bejana mempengaruhi homogenitas atmosfer sehingga mempengaruhi kecepatan penguapan pelarut

dari kertas.

4. Kertas, jenis kertas akan mempengaruhi kecepatan alir dan kesetimbangan partisi.
5. Sifat dari campuran.

F. Spektrofotometri

Spektrofotometri adalah pengukuran absorbansi energi cahaya oleh suatu system kimia pada suatu panjang gelombang tertentu (Day, 2002).

Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200 – 400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400 – 750 nm (Rohman, 2007).

Menurut Rohman (2007) dan Day (2002), hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan zat penyerap berbanding lurus dengan tebal dan konsentrasi larutan serta berbanding terbalik dengan transmitan.

Menurut Day (2002). Hukum tersebut dituliskan dengan :

$$A = abc = \log 1/T$$

Keterangan :

A = absorbans

a = koefisien ekstingsi

b = tabel sel (cm)

c = konsentrasi analit

Pada spektrofotometri sinar tampak pengamatan mata terhadap warna timbul dan penyerapan selektif panjang gelombang tertentu dari sinar masuk oleh objek yang berwarna (Vogel, 1994).

Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam analisis dengan spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak terutama untuk senyawa yang tidak berwarna yang akan dianalisis yaitu :

1. Pembentukan molekul yang dapat menyerap sinar UV-Vis

Cara yang digunakan adalah dengan merubahnya menjadi senyawa lain atau direaksikan dengan pereaksi tertentu sehingga dapat menyerap sinar UV-Vis.

2. Waktu kerja (*operating time*)

Tujuannya ialah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Waktu kerja ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

3. Pemilihan panjang gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal.

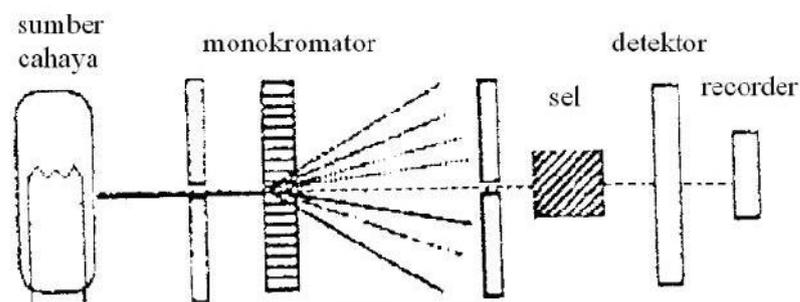
4. Pembuatan kurva baku

Dilakukan dengan membuat seri larutan baku dalam berbagai konsentrasi kemudian absorbansi setiap konsentrasi diukur lalu kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi.

5. Pembacaan absorbansi sampel

Absorbansi yang terbaca spektrofotometri hendaknya terletak antara 0,2 – 0,6.

Instrumen untuk Spektrofotometri (Day, 2002 : Khopkar, 1990)



Gambar 4. Diagram Blok Spektrofotometer

1. Sumber cahaya

Sumber energi radiasi yang biasa untuk daerah ultraviolet dan daerah cahaya tampak adalah sebuah lampu wolfram ataupun lampu tabung discas hydrogen (atau deuterium).

2. Monokromator

Monokromator berfungsi mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya yang monokromatis. Alatnya dapat berupa prisma atau kris difraksi.

3. Sel

Sel yang digunakan untuk daerah tampak terbuat dari kaca sedang untuk daerah ultraviolet digunakan sel kuarsa atau kaca silica. Sel tampak dan ultraviolet yang khas mempunyai panjang lintasan 1 cm. namun tersedia juga sel dengan ketebalan kurang dari 1 milimeter

sampai 10 cm, bahkan lebih.

4. Detektor

Peranan detektor adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang. Detektor yang paling sederhana digunakan ialah tabung foto.

5. Recorder

Recorder digunakan sebagai perekam absorbansi yang dihasilkan dari pengukuran.