

## ANALISIS RHODAMIN B DALAM JAJANAN PASAR DENGAN METODE KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

### ANALYSIS OF RHODAMIN B IN TRADITIONAL SNACKS BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY METHOD

Wahyu Utami dan Andi Suhendi

Fakultas Farmasi

Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. A.Yani Tromol Pos 1 Pabelan, Surakarta 57102

Telp. (0271) 717417, Fax. (0271) 715448

#### ABSTRAK

Rhodamin B merupakan suatu pewarna sintetik yang digunakan untuk mewarnai tekstil, sering kali digunakan untuk mewarnai suatu produk makanan, salah satunya adalah jajanan pasar. Rhodamin B menyebabkan pembesaran hati, ginjal, dan limfa diikuti perubahan anatomi berupa pembesaran organ. Penelitian dilakukan untuk mengetahui adanya penggunaan rhodamin B dalam jajanan pasar. Sebelum pengambilan sampel dilakukan penyebaran kuisisioner terhadap pedagang dan konsumen tentang pengetahuan mereka terhadap pewarna. Sampel jajanan pasar diambil di enam pasar Kecamatan Laweyan Kotamadya Surakarta. Selanjutnya sampel dipreparasi dengan serapan benang wol, dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) kemudian dideteksi dengan lampu UV 254 nm dan 366 nm serta pereaksi sempnot HCl pekat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Data yang diperoleh dianalisis dengan metode deskriptif. Berdasarkan data angket, diketahui bahwa sebagian besar pedagang tidak dapat membedakan pewarna alami dan sintetik dan hanya 5,3% pedagang serta 12% konsumen yang tahu mengenai pewarna sintetik yang diijinkan. Pada umumnya pedagang tidak mengetahui efek negatif yang bisa ditimbulkan oleh beberapa pewarna sintetik, hal ini karena tingkat pendidikan mereka yang rendah (47,37% pedagang tidak berpendidikan). Analisis dengan KLT menunjukkan dari 41 sampel yang diperiksa didapatkan 15 sampel mengandung rhodamin B. Berdasarkan penelitian ini terdapat 42,86% di pasar Kadipolo, 25% di pasar Kembang, 50% di pasar Purwosari, 33,33% di pasar Jungke, 75% di pasar Penumping, 22,22% di pasar Kleco mengandung rhodamin B.

**Kata Kunci:** Rhodamin B dan KLT

#### ABSTRACT

Rhodamin B is synthetic dye which was used as textile dyeing but people usually still used to color food products one of them is snack. Rhodamin B caused abscess of liver, kidney and spleen, and was followed by anatomy alteration as abscess of organ. The research was conducted to know the present of rhodamin B in traditional snacks. Before taking sample, questionnaires were spread to sellers and consumers to know their knowledge about dye. Samples were taken in six markets in Laweyan sub district, Surakarta and then it were

prepared by using wool thread absorption method and then continued by thin layer chromatography (TLC) detection on UV 254 nm and UV 366 nm lamp and spray reactant by HCl and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. The data were analyzed by descriptive method. Based on result, it was known that a large number of sellers disable to differ between natural dye and synthetic dye, only 5.3% of sellers and 12% of consumers who knew about synthetic dye which was permitted. In commonly, they did not know about the effect which caused by this dye, because their education level was very low (47.37% of seller's illiteracy). TLC analysis showed that 25 samples were suspected contained rhodamin B. Twenty five samples were tested again by TLC. It results 15 samples were positive contained rhodamin B. These results were based on hRf value, fluorescence and sew positive with spray reagent. Based on this research, there is 42.86% snacks in Kadipolo market, 25% snacks in Kembang market, 50% snacks in Purwosari market, 33.33 snacks in Jongke market, 75% snacks in Penumping market, 22.22% snack in Kleco market were contained rhodamin B.

**Keywords:** Rhodamin B and TLC.

## PENDAHULUAN

Makanan tradisional Indonesia mempunyai kekayaan ragam yang luar biasa. Baik macam, bentuk, warna, serta aroma sesuai dengan budaya masyarakat Indonesia. Seperti gethuk, geplak, klepon, dan jajanan lain yang ada di pasar saat ini telah dimodifikasi dan dikemas menjadi paket buah tangan dengan warna yang menarik.

Warna merupakan salah satu kriteria dasar untuk menentukan kualitas makanan antara lain; warna dapat memberi petunjuk mengenai perubahan kimia dalam ma-kanan. Oleh karena itu, warna menimbulkan banyak pengaruh terha-dap konsumen dalam memilih suatu produk makanan dan minuman sehingga produsen makanan sering menambahkan pewarna dalam produknya. Pada awalnya, makanan diwar-nai dengan zat warna alami yang diperoleh dari tumbu-han, hewan, atau mineral, akan tetapi zat warna tersebut tidak stabil oleh panas dan cahaya serta harganya mahal (Azizahwati, dkk., 2007).

Zat pewarna sintesis yang sering ditambahkan adalah rhodamin B, yaitu merupakan zat warna sintetik yang umum digunakan sebagai pewarna tekstil. Rhodamin B merupakan zat warna tambahan yang dilarang penggunaannya dalam produk-produk pangan. Rhodamin B bersifat karsinogenik sehingga dalam penggunaan jangka panjang dapat menyebabkan kanker. Uji toksisitas rhodamin B telah dilakukan terhadap mencit dan tikus dengan injeksi subkutan dan secara oral. Rhodamin B dapat menyebabkan karsinogenik pada tikus ketika diinjeksi subkutan, yaitu timbul *sarcoma* lokal. Sedangkan secara IV didapatkan LD<sub>50</sub> 89,5 mg/kg yang ditandai dengan gejala adanya pembesaran hati, ginjal, dan limfa diikuti perubahan anatomi berupa pembesaran organnya (Merck Index, 2006).

Karena bahaya tersebut, maka diupayakan pencegahan penggunaan rhodamin dalam suatu makanan termasuk jajanan pasar yang diperjual-belikan di enam pasar di Kecamatan Laweyan. Tidak menutup kemungkinan jajanan pasar tersebut mengandung pewarna yang dilarang penggu-

naanya. Menurut survei, ditemukan banyak jajanan pasar yang beredar di enam pasar Kecamatan Laweyan, diantaranya ditemukan di pasar Kadipolo, pasar Kembang, pasar Jungke, pasar Purwosari, pasar Sidodadi, pasar Penumping yang berwarna merah. Oleh karena kepadatan penduduk 10.127 jiwa per km<sup>2</sup> dengan jumlah penduduk 87.496 jiwa dan merupakan Kecamatan terbesar ketiga di Surakarta (Anonim, 2006), memungkinkan pengkonsumsian jajanan pasar yang beredar di enam pasar tersebut oleh masyarakat cukup tinggi.

Di pasar-pasar tersebut hampir semua pedagang menjual jajanan pasar yang berwarna merah. Aktivitas jual-beli dipasar tersebut sangat tinggi, hal ini dibuktikan dengan penjualan jajanan pasar yang terus meningkat (Suhartini, 2007). Diduga warna merah tersebut adalah pewarna sintetik non pangan yang sering digunakan sebagai pewarna tekstil yaitu rhodamin B, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang adanya rhodamin B dalam jajanan pasar di enam pasar di Kecamatan Laweyan tersebut.

## METODE PENELITIAN

Bahan penelitian yang digunakan adalah standar rhodamin B (sigma), benang wol, eter, akuades, asam asetat 10%, amonia 2%, amonia 10%, etanol teknis 70% (Bratachem), silika gel GF 254 nm, etanol 96%, isopropanol, amonia, etil asetat, metanol, amonium hidroksida, isobutanol, n-butanol, asam asetat, HCL, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a (Merck).

Adapun alat yang digunakan berupa satu set alat kromatografi lapis tipis, timbangan, penangas air, lampu UV 254 nm dan UV 366 nm, dan alat-alat gelas

yang biasa digunakan.

Jalannya penelitian dibagi menjadi beberapa tahap. *Pertama*, penyebaran kuisioner terhadap pedagang dan konsumen.

Kuisioner diberikan kepada pedagang dan konsumen jajanan pasar di enam pasar Kecamatan Laweyan untuk mengetahui tingkat pengetahuan pedagang maupun konsumen mengenai pewarna makanan dan keamanannya.

*Kedua*, pengambilan sampel. Sampel jajanan pasar diambil di enam pasar Kecamatan Laweyan Surakarta yang meliputi warna merah, bentuk jajanan (padatan, semipadatan) dengan metode *accidental sampling*, yaitu metode rancangan sampel tanpa acak (*non random sampling*) dengan teknik rancangan sampel seadanya.

*Ketiga*, pembuatan baku pembandingan. Ditimbang 25,00 mg rhodamin B, kemudian dilarutkan dalam 25,0 ml etanol 96 % p.a (Azizahwati, dkk., 2007).

*Keempat*, pemisahan zat warna. Benang wol dididihkan di dalam air kemudian dikeringkan. Selanjutnya dicuci dengan eter untuk menghilangkan kotoran dari lemak setelah itu dididihkan dengan dengan NaOH 1% kemudian dibilas dengan air. Sepuluh gram sampel direndam dalam 10 ml larutan amonia 2% (yang dilarutkan dalam etanol 70%) selama kurang lebih 12 jam. Selanjutnya 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%. Benang wol dimasukkan ke dalam larutan asam dan dididihkan hingga 10 menit, benang wol diangkat, pewarna akan mewarnai benang wol. Benang wol dicuci dengan air, kemudian dimasukkan ke dalam larutan basa yaitu 10 ml amonia 10%

(yang dilarutkan dalam etanol 70%) dan dididihkan. Benang wol akan melepaskan pewarna, pewarna akan masuk ke dalam larutan basa tersebut. Larutan basa tersebut selanjutnya akan digunakan sebagai cuplikan sampel pada analisis kromatografi lapis tipis (Djalil, dkk., 2005).

*Kelima*, analisis dengan kromatografi lapis tipis. Sebanyak 2 µl cuplikan sampel ditotolkan pada plat KLT, kemudian dielusi dalam bejana yang berisi isopropanol : amonia = 100:25 v/v . Setelah elusi selesai plat dikeringkan, kemudian kromatogram yang diperoleh dihitung nilai hRf-nya (Azizahwati, dkk., 2007).

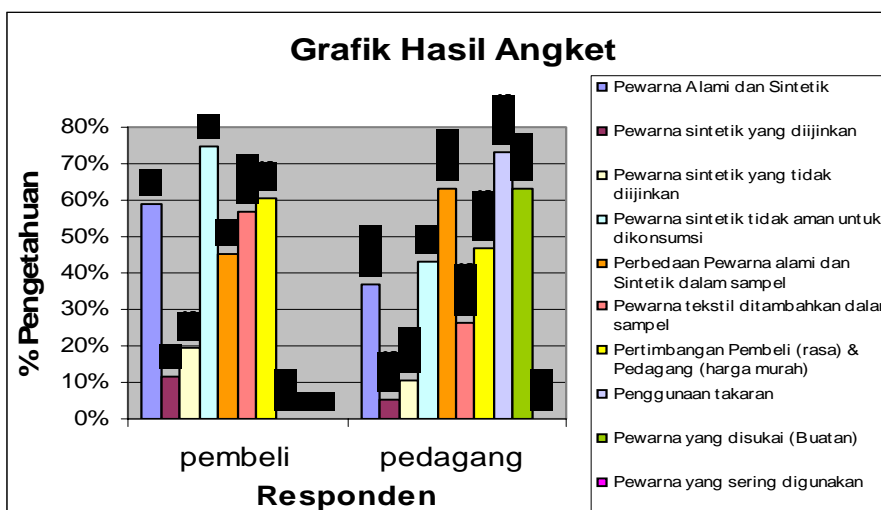
Nilai hRf tiap bercak dibandingkan dengan nilai hRf standar rhodamin. Penampakan bercak dipertajam dengan menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm serta visualisasi dengan menggunakan pereaksi semprot H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan HCl pekat. Nilai hRf yang sama, adanya pepadaman pada UV 254 nm, fluoresensi pada UV 366 nm, warna merah muda dengan pereaksi semprot HCl dan warna jingga dengan

pereaksi semprot H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> menandakan adanya zat warna rhodamin B dalam sampel (Djalil, dkk., 2005).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengetahuan Pedagang dan Konsumen tentang Pewarna

Hasil kuisioner dari 19 pedagang dan 51 konsumen yang menjadi respon-den diketahui bahwa 36,80% pedagang dan 59% konsumen dapat membedakan pewarna alami atau sintetik, 5,30% pedagang dan 12% konsumen mengetahui pewarna sintetik yang diijinkan, 10,50% pedagang dan 20% konsumen mengetahui pewarna sintetik yang tidak diijinkan penggunaannya dalam makanan. Kesadaran pembeli akan bahaya dari pewarna sintetik cukup tinggi, yaitu 75%, sedangkan kesadaran pedagang masih rendah, yaitu 43% (Gambar 1). Rendahnya pengetahuan pedagang tentang pewarna alami dan sintetik serta pewarna yang tidak diijinkan



Gambar 1. Grafik Persentase Pengetahuan Pedagang dan Pembeli Jajanan Pasar di pasar Kecamatan Laweyan Kotamadya Surakarta tentang Pewarna

sangat dipengaruhi oleh beberapa hal, salah satu-nya adalah pendidikan. Hasil survey menunjukkan sebagian besar pedagang tidak berpendidikan, yaitu 47,37% (Gambar 2).

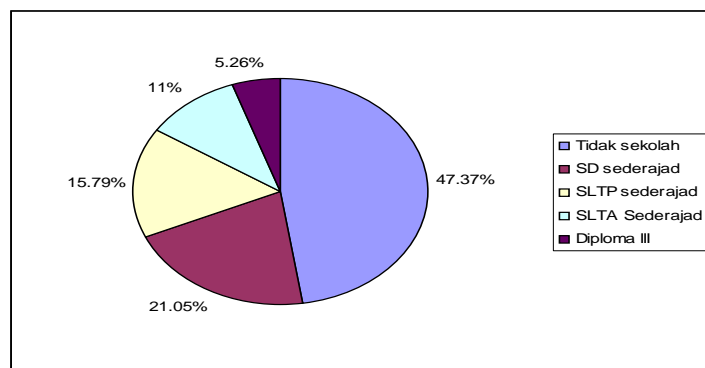
Sebagian kecil pembeli dan pedagang mengetahui jenis pewarna sintetis yang diijinkan dan yang tidak diijinkan peng-

gunaannya dalam makanan.

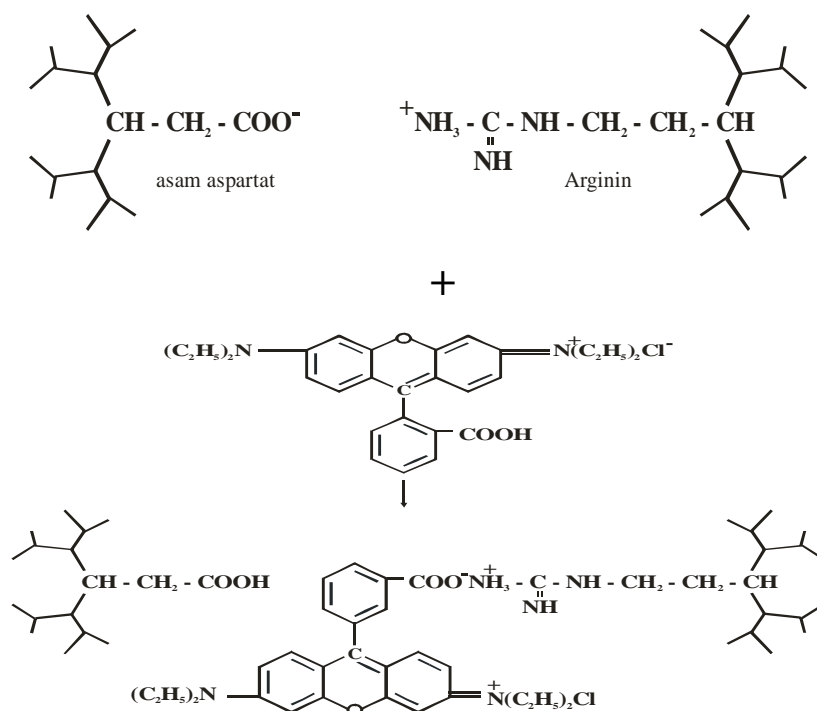
Sebagian besar pedagang tidak sekolah, sehingga pengetahuan mereka terhadap pewarna juga rendah.

### Analisis Rhodamin B dalam Sampel

Sebelum dilakukan kromatografi lapis tipis (KLT), zat warna yang ada dalam



Gambar 2. Grafik Informasi Pendidikan Pedagang jajanan pasar di pasar Kecamatan Laweyan Kotamadya Surakarta.



Gambar 3. Mekanisme Pengikatan Rhodamin B dalam Benang Wol (Soeprijono, dkk., 1974, cit: Kurnia, 2005)

sampel diekstraksi terlebih dahulu menggunakan metode serapan benang wol. Prinsipnya adalah penarikan zat warna dari sampel ke dalam benang wol bebas lemak dalam suasana asam dengan pemanasan dilanjutkan dengan pelunturan atau pelarutan warna oleh suatu basa.

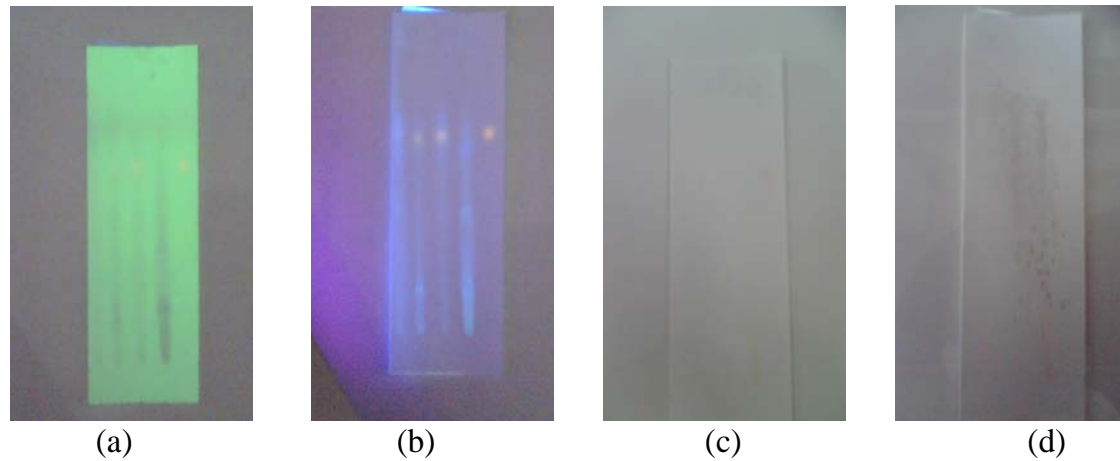
Benang wol tersusun atas ikatan peptida yang didalamnya terdapat ikatan sistina, asam glutamat, lisin, asam aspartik dan arginin. Rhodamin B dapat melewati lapisan kutikula melalui perombakan

sestina menjadi sistein dengan suatu asam. Sistein terbentuk melalui pecahnya ikatan S-S dari sistina karena adanya asam asetat. Setelah ikatan tersebut terbuka, maka rhodamin B dapat masuk kedalam benang wol dan berikatan dengan  $\text{COO}^-$  dari asam aspartik juga berikatan dengan  $^+\text{NH}_3$  dari Arginin (Gambar 3).

Selanjutnya sebanyak 41 sampel yang ditotolkan pada plat KLT, 25 diantaranya dicurigai mengandung rhodamin B, hal ini didasarkan pada nilai

Tabel 1. Hasil Pengamatan adanya Rhodamin B

Sampel	Deteksi			
	hRf di UV 254	UV 366 nm	+ HCl	+ $\text{H}_2\text{SO}_4$
rhodamin	73	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
A <sub>3</sub>	71	merah <i>orange</i>	merah muda	-
A <sub>5</sub>	70	-	-	-
A <sub>6</sub>	68	merah <i>orange</i>	-	-
A <sub>7</sub>	73	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
rhodamin	73	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
B <sub>6</sub>	73	-	-	-
B <sub>7</sub>	88	merah	merah muda	-
B <sub>8</sub>	73	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
F <sub>7</sub>	76	merah <i>orange</i>	-	-
F <sub>9</sub>	74	merah <i>orange</i>	-	-
rhodamin	74	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
C <sub>1</sub>	71	merah <i>orange</i>	merah muda	-
C <sub>4</sub>	73	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
D <sub>5</sub>	68	-	-	-
D <sub>7</sub>	70	-	-	-
rhodamin	70	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
D <sub>1</sub>	65	-	-	-
D <sub>2</sub>	70	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
D <sub>3</sub>	70	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
D <sub>4</sub>	70	merah <i>orange</i>	merah muda	-
rhodamin	69	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
E <sub>1</sub>	69	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
E <sub>2</sub>	69	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
E <sub>3</sub>	69	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga
E <sub>4</sub>	70	-	-	-
rhodamin	68	merah <i>orange</i>	merah muda	jingga -
F <sub>1</sub>	69	-	-	-
F <sub>2</sub>	73	-	-	-
F <sub>3</sub>	66	-	-	-
F <sub>4</sub>	67	-	-	-



Gambar 4. Contoh Kromatogram Sampel yang Positif Menunjukkan Rhodamin

- Ket:
- (a) D4, D3, D2, D1, rhodamin pada UV 254 nm
  - (b) D4, D3, D2, D1, rhodamin pada UV 365 nm
  - (c) D4, D3, D2, D1, rhodamin setelah disemprot dengan HCl pekat
  - (d) D4, D3, D2, D1, rhodamin setelah disemprot dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat

hRf sampel yang sama atau mendekati hRf standar rhodamin. Untuk memperjelas dugaan tersebut, ke-25 sampel tersebut di KLT sekali lagi. Untuk KLT kedua ini parameter yang dilihat adalah adanya hRf yang sama atau mendekati standar, adanya fluoresensi merah pada UV 366 nm, dan adanya reaksi spesifik dengan pereaksi semprot HCl pekat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Berdasarkan hasil KLT tersebut ternyata dari 25 sampel yang dicurigai hanya 15 sampel (A3, A6, A7, B7, B8, F7, F9, C1, C4, D2, D3, D4, E1, E2, E3) yang berfluoresensi sedangkan 10 sampel yang lain tidak berfluoresensi meskipun hRfnya mendekati standar (Tabel I). Untuk mempertegas hasil tersebut terhadap 25 sampel tadi dilakukan reaksi penegasan menggunakan reaksi semprot HCl dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Rhodamin B akan bereaksi membentuk warna dengan pereaksi tersebut sehingga warna rhodamin B

menjadi lebih spesifik, yaitu berwarna merah muda dengan HCl pekat dan berwarna jingga dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Hal ini dikarenakan adanya sumbangan H<sup>+</sup> yang menyebabkan panjang gelombang rhodamin B bergeser lebih pendek.

Berdasarkan hasil reaksi penegasan tersebut dapat dilihat bahwa ada 12 sampel yang memberikan warna dengan pereaksi semprot HCl pekat, yaitu; sampel A3, A7, B7, B8, C1, C4, D2, D3, D4, E1, E2, E3 dan hanya 8 sampel yang memberikan warna dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, yaitu: A7, B8, C4, D2, D3, E1, E2, E3 (Tabel V). Kromatogram dari beberapa sampel yang positif menunjukkan adanya rhodamin dapat dilihat pada Gambar 4.

Hasil penelitian analisis rhodamin B dalam jajanan pasar di enam pasar Kecamatan Laweyan menunjukkan terdapat 15 jajanan pasar yang mengandung rhodamin B dari jajanan pasar yang berjumlah 41



buah. Kelima belas jajanan pasar tersebut adalah A3, A6, A7, B7, B8, F7, F9, C1, C4, D2, D3, D4, E1, E2, E3. Berdasarkan penelitian ini ditemukan 42,86% di pasar Kadipolo, 25% di pasar Kembang, 50% di pasar Purwosari, 33,33% di pasar Jungke, 75% di pasar Penumping, 22,22% di pasar Kleco mengandung zat pewarna rhodamin B.

## SIMPULAN

Hasil penelitian terhadap 41 jajanan pasar yang dijual di enam pasar Kecamatan Laweyan Kotamadya Surakarta sebanyak 15 sampel mengandung rhodamin B, yaitu: 42,86% di pasar Kadipolo, 25% di pasar Kembang, 50% di pasar Purwosari, 33,33% di pasar Jungke, 75% di pasar Penumping, 22,22% di pasar Kleco.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2006, *Buku Informasi Kota Solo*, Badan Informasi dan Komunikasi Kota Surakarta, Surakarta.
- Azizahwati, Kurniadi, M., Hidayat, H., 2007., Analisis Zat Warna Sintetik Terlarang Untuk Makanan Yang Berada di Pasaran, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, IV, (1), 7-8, Departemen Farmasi FMIPA-Universitas Indonesia Depok.
- Djalil, A.D., Hartanti, D., Rahayu, W.S., Prihatin, R., Hidayah, N., 2005, Identifikasi Zat Warna Kuning Metanil (*Metanil Yellow*) dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada Berbagai Komposisi Larutan Pengembang, *Jurnal Farmasi*, Vol. 03, (2), 28-29, Fakultas Farmasi UMP, Purwokerto.
- Ecasean, 2004, *Identification of Prohibited Colorants in Cosmetic Products by TLC and HPLC*, (online), ([http://www.ecasean.com/harmonised\\_colorants.pdf](http://www.ecasean.com/harmonised_colorants.pdf), diakses tanggal 29 Desember 2007).
- Merck Index, 2006, *Chemistry Constant Companion, Now with a New Additon*, Ed 14<sup>th</sup>, 1410, 1411, Merck & Co., Inc, Whitehouse Station, NJ, USA.
- Nawawi, H., 1995, *Metodologi Penelitian Bidang Sosial*, 63, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Soeprijono, P., Poerwanti, Widayat, Jumaeri, 1974, *Serat-serat tekstil*, Institut Teknologi Tekstil, Bandung, 134-136, cit: Kurnia, D.C.D., 2005, *Analisis Zat Warna Pada Saos Yang Beredar di Yogyakarta Dengan Metode Kromatografi Kertas dan Spektrofotometri UV-Vis*, Skripsi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Suhartini, 2007, *Wawancara Pribadi*, 5 November 2007.