

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Zat Pewarna Makanan

1. Pengertian Bahan Pewarna Makanan

Warna dari suatu produk makanan atau minuman adalah salah satu ciri yang penting. Warna merupakan salah satu kriteria dasar untuk menentukan kualitas makanan, yaitu warna dapat memberi petunjuk mengenai perubahan kimia dalam makanan (Amelia & Zairinayati, 2021; Anshari et al., 2020; Sun et al., 2021). Warna suatu produk pangan merupakan daya tarik utama dalam hal penerimaan konsumen terhadap suatu produk pangan. Apabila suatu produk pangan memiliki nilai gizi yang baik, enak, dan memiliki tekstur yang baik tetapi memiliki warna yang tidak menarik atau tidak enak dipandang akan berpengaruh terhadap konsumen yang akan memberikan kesan yang menyimpang terhadap produk pangan tersebut

2. Jenis Jenis Pewarna Makanan

Secara umum, pewarna dibagi menjadi dua jenis, yaitu pewarna alami dan pewarna sintetis. Pewarna alami berasal dari tanaman, hewan, dan mineral yang aman jika dikonsumsi. Sebaliknya, pewarna sintetis adalah pewarna yang berasal dari bahan kimia yang sering digunakan sebagai pewarna tekstil, cat, printing dan lainnya. Pewarna sintetis tersebut berdampak sangat buruk bagi

kesehatan manusia, seperti iritasi mata, iritasi kulit, kerusakan hati, mutagenik dan karsinogenik (Hevira et al., 2020). Beberapa jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai pewarna makanan, seperti warna kuning didapat dari parutan kunyit, warna merah bersala dari buah bit, buah naga dan stroberi, warna hijau dari daun pandan dan daun suji, warna coklat dari buah cokelat, dll. Namun, untuk skala produksi yang besar penggunaan pewarna membutuhkan harga yang tinggi dan proses yang panjang, sehingga banyak produsen makanan mencari alternatif lain untuk memakai pewarna buatan yang murah dan mudah diperoleh, seperti pewarna tekstil.

Zat warna sintetis yaitu zat warna yang dihasilkan dengan cara sintesis kimia. Zat warna sintetis ini harus melalui berbagai prosedur pengujian sebelum dapat digunakan sebagai pewarna makanan. Zat warna yang diijinkan penggunaannya dalam makanan dikenal sebagai *permitted color* atau *certified color*.

Tabel 2. 1. Zat Warna Sintetis untuk Makanan dan Minuman

No	Nama	Warna
1	Tartrasin	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 Black BN	Ungu
10	Brown FK	Kuning kecoklatan
11	Brown HT	Coklat
12	Briliant Blue FCF	Biru
13	Patent Blue V	Biru

14	Green S	Biru kehijauan
15	Fast Green FCF	Hijau
16	Quinoline Yellow	Kuning kehijauan
17	Erythrosine	Merah
18	Indigotine	Biru kemerahan

Sumber: Ibnu Harjanto, 1991:5-6

3. Penggolongan Bahan Pewarna

a. Pewarna yang diijinkan untuk makanan dan minuman

Tabel 2. 2. Golongan Pewarna yang digunakan dalam pangan

No	Pewarna	Contoh Jenis/ Bahan Makanan	Batas Maks Penggunaan
1	Biru Berlian	Es krim dan sejenisnya	100 mg/kg produk akhir (total campuran pewarna 300 mg/kg)
		Jem dan jeli, saus apel kalengan	200 mg/kg tunggal atau campuran dengan pewarna lain
		Makanan lain	100 mg/kg tunggal atau campuran dengan pewarna lain
2	Coklat HT	Minuman ringan dan makanan cair Makanan lain	70 mg/l produk siap dikonsumsi 300 mg/kg tunggal atau campuran dengan pewarna lain
3	Eritrosin	Es krim dan sejenisnya Udang Kalengan	100 mg/kg produk akhir (total campuran pewarna 300 mg/kg) 300 mg/kg tunggal atau campuran dengan pewarna lain
4	Hijau FCF	Buah pir kalengan Ercis kalengan	200 mg/kg tunggal atau campuran dengan pewarna lain 200 mg/kg tunggal atau campuran dengan pewarna lain
5	Hijau S	Lihat coklat HT	Lihat coklat HT
6	Indigotin	Es krim dan sejenisnya Yoghurt beraroma dan produk yang dipanaskan setelah fermentasi	100 mg/kg produk akhir (total campuran pewarna 300 mg/kg) 6 mg/kg berasal dari aroma yang digunakan
7	Karmoisin	Lihat coklat HT Yoghurt beraroma dan produk yang dipanaskan setelah fermentasi	Lihat coklat HT 57 mg/kg berasal dari aroma yang digunakan
8	Kuning FCF	Lihat coklat HT Acar ketimun	Lihat coklat HT 300 mg/kg tunggal atau campuran

		dalam botol	dengan pewarna lain
		Marmalad	200 mg/kg
9	Kuning kuinolon	Es krim dan sejenisnya	500 mg/kg produk akhir (total campuran pewarna 300 mg/kg)
		Makanan lain	300 mg/kg tunggal atau campuran dengan pewarna lain
10	Merah alura	Lihat coklat HT	Lihat coklat HT
11	Ponceau 4R	Lihat kuning kuinolon	Lihat kuning kuinolon
		Minuman ringan dan makanan cair	70 mg/l produk siap dikonsumsi
		Yoghurt beraroma dan produk yang dipanaskan setelah fermentasi	48 mg/kg berasal dari aroma yang digunakan
		Udang beku	30 mg/kg tunggal atau campuran pewarna lain hanya pada produk yang telah dipanaskan
12	Tartrazin	Lihat coklat HT Kapri kalengan	Lihat coklat HT 100 mg/kg

Sumber: Permenkes no: 72/Menkes/Per/IX/88:94-101

b. Pewarna Yang Tidak Boleh Digunakan

Tabel 2. 3. Golongan Pewarna Yang Tidak Boleh Digunakan

No	Nama	No indeks warna (C.1No)
1	Auramine(C. I.BasicYellow 2)	41000
2	Alkanet	75520
3	Butter Yellow(C. I.SolventYellow2)	11020
4	Black 7984(FoodVlack 2)	27755
5	Burn Unber(PigmentBrown7)	77491
6	Chrysoidine(C. I. BasicOrange2)	11270
7	Chrysoine(C.I. FoodYellow8)	14270
8	Citrus Red No. 2	12156
9	Chocolate Brown FB(Food Brown2)	-
10	Fast Red E(C.I.FoodRed4)	16045
11	Fast Yellow AB(C.I.FoodYellow2)	13015
12	Guinea Green B(C.I.AcidGreenNo.3)	42085
13	Indanthrene Blue RS(C. I.Food Blue)	69800
14	Magenta(C.I.BasicViolet14)	42510
15	Metanil Yellow(Ext.D&CYellowNo.1)	13065
16	Oil Orange SS(C.I.SolventOrange2)	12100
17	Oil Orange XO(C.I.SolventOrange7)	12140
18	Oil Yellow AB(C.I. SolventYellow5)	11380
19	Oil Yellow OB(C.I. SolventYellow 6)	11390
20	Orange G(C. I.Food Orange4)	16230
21	Orange GGN(C. I. Food Orange2)	15980

22	Orange RN (FoodOrange1)	15970
23	Orchidand Orcein	-
24	Ponceau 3R(AcidRed6)	16155
25	Ponceau SX(C.I. Food Red1)	14700
26	Ponceau 6R(C. I.FoodRed8)	16290
27	Rhodamin B(C.I.FoodRed15)	45170
28	Sudan I(C.I. SolventYellow14)	12055
29	Scarlet GN(FoodRed2)	14815
30	Violet6B	42640

Sumber: Subandi dan Prayitno, 1991:15

B. Rhodamin B

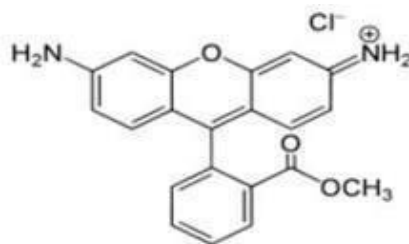
1. Definisi Rhodamin B

Rhodamin-B adalah pewarna sintetis berbentuk serbuk kristal, berwarna hijau atau ungu kemerahan, tidak berbau, dan dalam larutan akan berwarna merah terang berpendar/ berfluorosensi. Beberapa produsen makanan dan minuman masih banyak yang menggunakan zat warna sintetis yang dilarang tersebut untuk produknya dengan alasan zat warna tersebut memiliki warna yang cerah, praktis digunakan, harganya relatif murah, juga tersedia dalam kemasan kecil di pasaran sehingga memungkinkan masyarakat tingkat bawah untuk membelinya. (Krisyan et al., 2021).

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 33 Tahun 2012, menyatakan bahwa Bahan Tambahan Pangan (BTP) merupakan bahan yang ditambahkan kedalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan. Banyak produsen kerupuk yang menambahkan bahan tambahan pangan yang aman, tidak jarang juga ada bahan tambahan yang dilarang misalnya zat pewarna Rhodamin B. Pemakaian zat pewarna berbahaya untuk bahan pangan telah

ditetapkan dalam Peraturan Menteri Kesehatan No. 33 Tahun 2012 tentang bahan tambahan pangan, bahwa Rhodamin B merupakan bahan tambahan pangan (BTP) yang dilarang penggunaannya dalam makanan.

2. Struktur Kimia Rhodamin B



Gambar 2. 1. Rumus Bangun Rhodamin B

Berat molekul :479,02

Rumus kimia :C₂₈H₃₁N₂O₃Cl

Nomor CAS :81-88-9

Titik lebur :165⁰ C

Kelarutan :Sangat larut dalam air dan alkohol sedikit larut dalam asam klorida dan natrium hidroksida

Nama kimia :N-[9-(2-karboksifenil)-6-(diethyl amino) -3H-xanthene-3-ylidene]-N-eriletanamimium klorida

Sinonim :Tetraetilrhodamin; D&C Red no 19; rhodamin B klorida; C.1 basic violet 10; C.1 45170

Deskripsi :Kristal hijau atau serbuk merah violet

3. Dampak Rhodamin B Bagi Kesehatan

Penggunaan Rhodamin B pada waktu yang cukup lama, dapat terjadi bahaya akut jika tertelan dan mengakibatkan muntah yang menimbulkan iritasi pada saluran pencernaan dan menimbulkan gejala keracunan. Penggunaan Rhodamin B tentu sangat berbahaya bagi kesehatan. Penumpukkan Rhodamin B dilemak dalam jangka waktu yang lama dan jumlahnya terus menerus bertambah di dalam tubuh dan dapat menimbulkan kerusakan pada organ tubuh sampai mengakibatkan kematian (Sidabutar, 2019). Bahaya akibat pengkonsumsian rhodamin b akan muncul jika zat warna ini dikonsumsi dalam jangka panjang. Tetapi, perlu diketahui pula bahwa rhodamin B juga dapat menimbulkan efek akut jika tertelan sebanyak 500 mg/kg BB, yang merupakan dosis toksiknya.

Tabel 2. 4. Bahaya Zat Warna Lainnya

Zat Warna	Digunakan Pada	Penyakit Yang Terjadi
4-Aminoazobenzene (Aniline Yellow)	Tintaprinter, insektisida, lak, pernis, lilin, resin stirena	Tumor hati, tumor kulit, kanker hati
o-Aminoazotoluene (C.I. Solvent Yellow 3)	Pewarna paraffin	Tumor di kandung kemih, kantung empedu, paruparu, dan Hati
Methyl Yellow (Butter Yellow)	Pada pewarna bahan makanan dan minuman	Pemicu kanker
Sudan Azo (Sudan I, Sudan II, Sudan III, Sudan IV)	Untuk mewarnai lilin, pelarut, kadang ditemukan untuk mewarnai bubuk kari, bubuk cabai, saus cabai formulasi asap berwarna oranye	Karsinogen
Para Red	Pewarna pakaian, kadang dalam pewarna makanan	Beracun dan karsinogen

4. Ciri-Ciri Makanan Mengandung Rhodamin B

Ciri-ciri makanan yang mengandung Rhodamin B meliputi warna terlihat cerah (kemerahan atau merah terang) sehingga tampak menarik, dalam bentuk larutan atau minuman warna merah berpendar atau banyak memberikan titiktitik warna karena tidak homogen (seperti pada kerupuk dan es putar), terdapat sedikit rasa pahit, muncul rasa gatal di tenggorokan setelah mengonsumsinya, dan aroma tidak alami sesuai pangan, juga pada saat diolah, tahan terhadap pemanasan (direbus atau goreng warna tidak pudar).



Gambar 2. 2. Kerupuk Yang Mengandung Pewarna Buatan MenghasilkanWarna Yang Cerah

C. Metanil Yellow

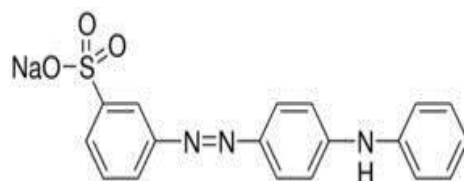
1. Definisi Metanil Yellow

Metanil yellow atau kuning metanil adalah bahan pewarna sintetis yang berbentuk serbuk, berwarna kuning kecoklatan, bersifat larut dalam air dan alkohol, agak larut dalam benzen dan eter, serta sedikit larut dalam aseton. Metanil yellow dan beberapa pewarna sintetis dikategorikan dalam golongan azo. Namun, metanil yellow termasuk pewarna golongan azo yang telah dilarang digunakan pada pangan. Umumnya, pewarna sintetis azo bersifat lebih stabil daripada kebanyakan pewarna alami. Pewarna azo stabil dalam berbagai rentang pH, stabil pada pemanasan, dan tidak memudar bila

terpapar cahaya atau oksigen. Hal tersebut menyebabkan pewarna azo dapat digunakan pada hampir semua jenis pangan. Salah satu kekurangan pewarna azo adalah sifatnya yang tidak larut dalam minyak atau lemak.

Pewarna azo memiliki tingkat toksisitas akut yang rendah. Dosis toksik akut pewarna azo tidak akan tercapai dengan mengonsumsi pangan yang mengandung pewarna azo. Kebanyakan pewarna azo (baik pewarna untuk pangan maupun tekstil) memiliki nilai LD50 dengan kisaran 250 – 2000 mg/kg berat badan, yang mengindikasikan bahwa dosis letal dapat dicapai jika seseorang mengonsumsi beberapa gram pewarna azo dalam dosis tunggal. Oleh karena pewarna azo memiliki intensitas warna yang cukup kuat, maka secara normal pada pangan hanya ditambahkan beberapa miligram pewarna azo per kilogram pangan. Berdasarkan perhitungan, rata-rata orang dewasa akan memerlukan lebih dari 100 kg pangan yang mengandung pewarna azo dalam satu hari untuk mencapai dosis letal (BPOM, 2014).

2. Struktur Kimia Metanil Yellow



Gambar 2. 3. Rumus Bangun Metanil Yellow

BM	:378,38 g/mole
RumusMolekul	:C ₁₈ H ₁₄ N ₃ NaO ₃ S
Nomor CAS	:587-98-4
RTECS	:DB 7329500

Kelarutan	:Larut dalam air dingin
Sinonim	:3-(4-Anilinophenylazo) benzenesulfonic acid sodium salt; Acid Yellow 36
Warna	:Kuning
Lain-lain	:Produk degradasi lebih toksik

3. Dampak Mengonsumsi Metanil Yellow

Metanil yellow sangat berbahaya bagi kesehatan tubuh. Oleh karena itu, pemerintah melalui Menteri Kesehatan telah mengeluarkan peraturan tegas melalui Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 33 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Makanan zat warna tertentu yang dinyatakan berbahaya dan dilarang untuk ditambahkan ke dalam makanan atau minuman. Pewarna kuning metanil sangat berbahaya jika terhirup, mengenai kulit, mengenai mata, dan tertelan. Dampak yang terjadi dapat berupa iritasi pada saluran pernafasan, iritasi pada kulit, iritasi pada mata, dan bahaya kanker pada kandung dan saluran kemih. Apabila tertelan dapat menyebabkan iritasi saluran cerna, mual, muntah, sakit perut, diare, demam, lemah, dan tekanan darah rendah

4. Ciri-Ciri Makanan Mengandung Metanil Yellow

Ciri-ciri fisik makanan yang mengandung Methanil Yellow yaitu bewarna kuning mencolok, cerah, cenderung berpendar dan juga terdapat titik-titik warnakarena tidak homogen. Keunggulan lainnya yaitu lebih stabil dan tahan lama dalam kondisi lingkungan apapun serta menghasilkan warna yang lebih

kuat sedangkan zat pewarna alam cenderung tidak stabil terhadap cahaya dan panas (Sasiang, 2021).



Gambar 2. 4. Metanil Yellow

D. Kerupuk

1. Pengertian Kerupuk

Kerupuk merupakan makanan ringan yang terbuat dari adonan tepung dan bahan tambahan yang lain dan terkenal di masyarakat Indonesia. Kerupuk dapat dikonsumsi sebagai makanan selingan maupun sebagai variasi dalam laukpauk dikarenakan kerupuk memiliki rasa yang gurih bahkan biasanya digunakan untuk camilan. Kerupuk digemari semua masyarakat mulai dari balita sampai orang tua, bahkan sampai tidak memandang umur.

Menurut Nursyakirah (2018) asal mula kerupuk tidak jelas, dikarenakan 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 disebarluaskan dengan adanya hubungan dagang serta perpindahan penduduk dari Cina ke negara-negara Asia lainnya. Pada proses pembuatan kerupuk bahan baku pembuatan kerupuk adalah tepung tapioka.

2. Komposisi Kerupuk

Kerupuk dikenal baik disegala usia maupun tingkat masyarakat. Kerupuk mudah didapatkan di segala tempat, baik di warung pinggir jalan, di super market, maupun di restoran hotel berbintang. Bahan yang digunakan dalam pembuatan kerupuk ada dua yaitu bahan baku dan bahan tambahan. Bahan baku utama pembuatan kerupuk yaitu tepung tapioca (Nursyakirah, 2018). Bahan tambahan dapat berasal dari hewani maupun nabati. Contoh kerupuk hewani: kerupuk udang, kerupuk tengiri, kerupuk susu, kerupuk keju. Contoh kerupuk nabati: kerupuk kedelai, kerupuk gandum, kerupuk yang beraneka bentuk dan warna. Beberapa pedagang di pasaran yang menjual kerupuk dengan penampilan yang cukup menarik serta tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan, dengan cara mewarnai dengan warna yang beragam. Kandungan unsur gizi tepung tapioka/100 g bahan dapat dilihat dalam tabel berikut :

Tabel 2. 5. Kandungan Gizi Kerupuk

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	Fosfor (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 :DirektoratGiziDepkes RI, 1981

3. Resep Pembuatan Kerupuk

Menurut SNI 0272.91, “kerupuk dibuat dari tepung tapioca atau sagu dengan tanpa penambahan bahan makanan lain yang diijinkan”. Tepung tapioca atau yang dikenal dengan tepung kanji adalah bahan baku utama dalam pembuatan kerupuk. Tepung tapioca dijual bebas di mana-mana. Hal ini terjadi karena hampir setiap daerah memiliki sentra penghasil ubi kayu atau singkong

Tabel 2. 6. Resep Pembuatan Kerupuk

Bahan	Ukuran
Tepung tapioca	1000 gram
Tepung terigu	100 gram
Telur ayam	120 gram
Garam	40 gram
Gula	20 gram
Bawang putih	20 gram
Soda kue	10 gram
Air	350 ml

Sumber : SNI 0272.91

E. Lanting

1. Pengertian Lanting

Lanting merupakan makanan khas yang berbahan dasar singkong dan memiliki bentuk angka delapan. Lanting memiliki rasa dan warna yang bervariasi, ada yang gurih, pedas manis, jagung bakar dan rasa lainnya. Singkong yang di olah terlebih dahulu sebelum dijual dapat mencegah kerugian dan meningkatkan nilai tambah singkong (Musah et al.2020)

2. Resep Pembuatan Lanting

Tabel 2. 7. Resep Pembuatan Lanting

Bahan	Ukuran
Singkong	1 kg
Bawang putih	4 siung
Ketumbar	$\frac{1}{2}$ sdm
Garam	Secukupnya
Pewarna	Bila perlu
Minyak	Secukupnya

F. Analisis Uji Rhodamin B Pada Makanan

1. Uji Kualitatif Rhodamin B

a. Cara reaksi kimia

Cara reaksi kimia dilakukan dengan cara menambahkan pereaksi-pereaksi berikut: HCl pekat, H₂SO₄ pekat, NaOH 10% dan NH₄OH 10%. Selanjutnya diamati reaksi apa yang terjadi (reaksi perubahan warna) pada masing-masing sampel yang sudah dilakukan pemisahan dari bahan-bahan pengganggu (matriks) (Ridwan, 2013)

b. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Kromatografi adalah sebuah metode yang campuran komponen komponennya dipisahkan pada sebuah kolom adsorban dalam alir.

Definisi kromatografi menurut IUPAC adalah sebuah metode pemisahan yang komponen komponennya dipisahkan dan didistribusikan di antara dua fase yang salah satu fasenya tetap (diam) dan yang lainnya bergerak dengan arah yang dapat diketahui.

Kromatografi adalah cara pemisahan zat khasiat dan zat lain yang ada dalam sediaan dengan jalan penyarian berfraksi, penyerapan, atau penukaran ion pada zat berpori, menggunakan cairan atau gas yang mengalir. Zat yang diperoleh dapat digunakan untuk uji identifikasi atau penetapan kadar.

Kromatografi lapis tipis adalah jenis kromatografi yang dapat digunakan untuk menganalisis senyawa secara kualitatif maupun kuantitatif. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir (fase diam) ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita, setelah pelat/lapisan ditaruh dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak). Pemisahan terjadi setelah perambatan kapiler (pengembangan), kemudian senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan/dideteksi. Deteksi dilakukan dengan menggunakan sinar UV (Sudjadi 2018)

1) Fase Diam

Fase diam yaitu berupa lapisan tipis yang terdiri dari bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar dengan bantuan bahan pengikat. Beberapa bahan yang digunakan untuk 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° selama 30 menit

2) Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan biasanya yaitu 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 yaitu campuran 2 pelarut karena daya elusi campuran tersebut mudah diatur agar dapat menghasilkan pemisahan secara sempurna. Campuran eluen atau pelarut ini berfungsi untuk 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

3) Penotolan Sampel

Pemisahan yang sempurna apabila sampel yang ditotolkan sekecil mungkin dan sesempit mungkin. Apabila saat menotolkan terlalu banyak

atau kurang tepat hasil bercak akan menyebar dan terjadi pencak ganda. Plat KLT diberi jarak bawah 1 cm dan jarak atas 0,5 cm supaya saat proses elusi tidak sampai terlewat. Apabila sampel sudah ditotolkan pada plat KLT, kemudian biarkan plat beberapa saat hingga mengering dan menunggu eluen jatuh terlebih dulu kemudian dimasukkan kedalam chamber yang sudah diisi eluen. Setelah itu menunggu proses eluasi sampai selesai dengan sesekali di lihat pada chamber.

4) Deteksi Bercak

Bercak pada pemisahan yang terjadi biasanya tidak berwarna biasanya disemprot supaya bercak terlihat jelas atau di lihat pada sinar uv. Identifikasi senyawa yang terpisah pada kromatografi menggunakan harga R_f (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 R_f . Nilai R_f yang baik yaitu antara 0,2- 0,8

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

5) Test Kit

Saat ini alat uji cepat/Rapid test bahan pangan yang diduga mengandung bahan berbahaya banyak tersedia di pasaran dengan berbagai merk dagang sesuai produsen yang membuatnya. Masing-masing alat uji cepat tersebut dilengkapi dengan petunjuk cara penggunaan. Pada

prinsipnya pengujian cepat menggunakan rapid test kit untuk setiap parameter bahan berbahaya sama namun karena merk rapid test kit yang digunakan berbeda beda setiap tahunnya maka cara penggunaan agar menyesuaikan dengan petunjuk penggunaan yang diberikan oleh produsen. Metode ini banyak digunakan karena penggunaannya lebih mudah, cepat, harga lebih terjangkau, dan limbah yang dihasilkan lebih sedikit. Hasil tes positif dapat dilihat dengan terjadinya perubahan warna yang dapat diamati secara visual (Kementrian LHK, 2015)

2. Uji Kuantitatif Rhodamin B dan Metanil Yellow

Spektrofotometer sinar tampak adalah pengukuran absorbansi energy cahaya oleh suatu sistem kimia pada suatu panjang gelombang tertentu. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spectrum ini. Tetapi spectrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm. Prinsip kerja spektrofotometer UV/VIS yaitu apabila monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian dari cahaya tersebut diserap (I), sebagian cahaya dipantulkan (I_r), dan sebagian lagi dipancarkan (I_t)

