

## Analisis Rhodamin B dalam Bolu Kukus yang Beredar di Kota Jambi dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Armini Hadriyati, Linda Lestari\*, Lia Anggresani

Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Harapan Ibu Jambi, Jambi, Indonesia

\*Corresponding author: lindalestari@stikes-hi.ac.id

Submitted: 16 Maret 2020

Accepted: 26 Agustus 2020

Published: 27 April 2021

### Abstract

**Background:** Rhodamin B is a synthetic dye commonly used as a textile dye, the presence of Rhodamine B in foods cause intoxication, rhodamine B is prohibited from being used as a food additive. **Objective:** The research aimed to determine the presence rhodamine B and its concentrations in steamed sponge cakes marketed in Jambi city. **Methods:** Sampling was random in 8 sub-districts of 11 sub-districts Jambi City. Rhodamine B in the samples was determined by 2 methods that were thin layer chromatography and UV-Vis spectrophotometry. Rhodamine B qualitative analysis was conducted by thin layer chromatography with silica gel GF 254 plate and a mixture of n-butanol : acetic acid : ammonia of (10 : 4 : 5) as a mobile phase. Quantitative analysis was done by UV-Vis spectrophotometry at the wavelength of 557 nm. **Results:** TLC data showed that three samples have similar spot colour and Rf value as the rhodamine standard which was 0.8. The acquired Rhodamine B concentrations in sample B 0.88210 µg/mL, sampel E 1.3475 µg/mL and sampel F 0.80684 µg/mL. **Conclusion:** The results of the identification test showed that 3 of 8 steamed sponge cakes samples were positive containing rhodamine B dyes.

**Keywords:** steamed sponge cakes, rhodamine B, thin-layer chromatography, UV-Vis spectrophotometry

### Abstrak

**Pendahuluan:** Rhodamin B adalah pewarna sintetik yang umum digunakan sebagai pewarna tekstil, Rhodamin B dalam makanan dapat menyebabkan keracunan, sehingga Rhodamin B dilarang digunakan sebagai bahan tambahan pangan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menguji secara kualitatif dan kuantitatif adanya Rhodamin B dalam kue bolu kukus yang beredar di Kota Jambi. **Metode:** Pengambilan sampel dilakukan secara acak dalam 8 kecamatan dari 11 kecamatan di Kota Jambi. Analisis Rhodamin B pada kue bolu kukus ini ditentukan dengan 2 metode yaitu Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV-Vis. Pada analisa kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan plat silica gel GF 254 dengan menggunakan fase gerak campuran n-butanol : asam asetat : ammonia dengan perbandingan (10 : 4 : 5). **Hasil:** Hasil dari analisis Rhodamin B yang dilakukan dengan KLT didapatkan nilai Rf sama antara sampel dengan pembanding Rhodamin B yaitu 0,8. Spektrofotometri UV-Vis didapat panjang gelombang maksimum 557 nm, dan diperoleh kadar Rhodamin B pada sampel B 0,88210 µg/mL, sampel E 1,3475 µg/mL dan sampel F 0,80684 µg/mL. **Kesimpulan:** Hasil uji identifikasi menunjukkan bahwa dari 8 sampel kue bolu kukus, 3 sampel diantaranya positif mengandung pewarna Rhodamin B.

**Kata kunci:** kue bolu kukus, rhodamin B, kromatografi lapis tipis, spektrofotometri UV-Vis

### PENDAHULUAN

Bahan Tambahan Pangan (BTP) merupakan bahan tambahan yang sengaja di tambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk suatu pangan. termasuk di dalamnya adalah pewarna, penyedap rasa,

pengawet, pengental, pengeras, dan pengembang (Permenkes RI, 2012).

Bahan pewarna sintesis adalah pewarna yang diperoleh secara sintesis kimiawi (BPOM, 2013). Rhodamin B biasanya dipergunakan sebagai bahan

dalam pembuatan kain, kertas, dan lain-lain. Berdasarkan peraturan (BPOM, 2013) RI No.37 menyebutkan bahwa Rhodamin B merupakan pewarna yang dilarang penggunaannya. Larangan penggunaan Rhodamin B pada makanan dikarenakan sifat toksik yang jika dikonsumsi dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernafasan, kulit, mata, saluran pencernaan, keracunan, gangguan pada hati dan bersifat karsinogenik jika digunakan dalam jangka panjang dapat terjadi kanker pada hati (Kumalasari, 2015). Rhodamin B ditemukan pada makanan seperti jajanan tradisional berwarna merah salah satunya kue bolu kukus, berdasarkan penelitian (Yamlean, 2011) di Kota Manado tentang jajanan kue bolu kukus berwarna merah muda didapat hasil positif mengandung Rhodamin B.

Jajanan tradisional memiliki beberapa keunggulan yaitu harga yang murah, sangat mudah didapat, serta cita rasa yang cocok dengan selera masyarakat di Indonesia. Meskipun memiliki beberapa keunggulan tetapi ada beberapa faktor beresiko bagi kesehatan akibat dari penggunaan bahan tambahan yang tidak diizinkan (Yamlean, 2011).

Berdasarkan hal tersebut penelitian ini memiliki tujuan untuk mengidentifikasi apakah Rhodamin B yang terdapat dalam jajanan tradisional di Kota Jambi khususnya kue bolu kukus yang memiliki warna mencolok. Analisis Rhodamin B dilakukan melalui uji identifikasi menggunakan metode kromatografi lapis tipis sedangkan penentuan panjang gelombang maksimum sampel dan penentuan kadar Rhodamin B dilakukan dengan menggunakan metode Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 557 nm.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Pembanding (Rhodamin B), kue bolu kukus, air suling, *n*-butanol, asam asetat, ammonia 26%, etanol 96%, Dietil eter, Silica gel GF 254, NaOH, HCl 37%.

### Alat

Spektrofotometer UV (Shimadzu-1800), seperangkat alat untuk KLT, *hot plate* (AKEBONNO), timbangan analitik (Shimadzu), erlenmeyer, labu ukur 10,0 mL (iwaki), labu ukur 50,0 mL (iwaki), labu ukur 100,0 mL (iwaki), cawan penguap, gelas ukur 10,0 mL, gelas ukur 100,0 mL, pipet ukur 1 mL, batang pengaduk, corong pisah, pipa kapiler, oven, kertas saring (*Whatman* no 42), dan *chamber* kromatografi lapis tipis.

## Metode

### Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan adalah kue bolu kukus yang berwarna merah muda. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dalam 8 kecamatan dari 11 kecamatan di Kota Jambi diantaranya Kecamatan Alam Barajo, Kecamatan Danau Sipin, Kecamatan Jambi Selatan, Kecamatan Jambi Timur, Kecamatan Jelutung, Kecamatan Kota Baru, Kecamatan Pasar Jambi dan Kecamatan Telanaipura.

### Ekstraksi sampel

Ekstraksi dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 10 gram, dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 mL, lalu tambahkan 100 mL ammonia 2% (dalam etanol 70%) lalu diamkan selama 1 x 24 jam. Penyaringan menggunakan kertas saring *Whatman* no 42 kemudian filtrat diuapkan di atas *hot plate* (sampel menjadi pekat). Residu penguapan ditambah air suling 30 mL dan diaduk, dimasukkan kedalam corong pisah 250 mL ditambah 6 mL NaOH 10%, diekstraksi dengan 30 mL dietileter. Ekstrak eter dipisahkan dan di cuci dengan 5 mL NaOH 0,5% dan lapisan airnya dibuang. Ekstrak eter diekstraksi 3 kali dengan HCl 0,1 N sebanyak 10 mL, lapisan eter dibuang dan ekstrak HCl 0,1 N ditampung pada labu ukur 50 mL dan di tambahkan HCl 0,1 N sampai tanda batas (Nahdi, 2018).

### Analisis kualitatif rhodamin B dengan KLT

Disiapkan plat KLT kemudian diberi tanda tepi atas dan tepi bawah masing-masing diberi jarak 1 cm. Sampel ditotolkan dengan menggunakan pipa kapiler kemudian dikeringkan. Plat KLT dimasukkan kedalam bejana kromatografi yang telah terlebih dahulu dijenuhkan dengan fase gerak *n*-butanol:asam asetat : ammonia dengan perbandingan (10 : 4 : 5) (Nahdi, 2018). Fase gerak dibiarkan merambat naik sampai garis batas, kemudian plat KLT dikeluarkan dari bejana dan dikeringkan, lalu diamati dibawah lampu UV. Jika sampel dilihat dengan sinar lampu UV 254 nm nampak bercak berfluoresensi orange dan jika dilihat dibawah sinar UV 366 nm nampak bercak berfluoresensi kuning, sampel tersebut dinyatakan positif mengandung pewarna rhodamin B (Sari, 2015).

### Analisis kuantitatif rhodamin B menggunakan spektrofotometri UV-Vis

#### Larutan standar

Dibuat larutan induk standar rhodamin B dengan konsentrasi 100 ppm. Larutan seri konsentrasi dibuat dengan konsentrasi sebesar 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm,

6 ppm dan 8 ppm. Pelarut yang digunakan adalah HCl 0,1 N (Nahdi, 2018).

**Penentuan panjang gelombang maksimum**

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan mengukur absorbansi dari larutan standar Rhodamin B 10 ppm. Rhodamin B 10 ppm dibuat dengan cara memipet larutan standar rhodamin B 100 ppm sebanyak 5,0 mL, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50,0 mL, dan tambahkan HCl 0,1 N sampai tanda batas (Sari, 2015).

**Pembuatan kurva kalibrasi**

Seri konsentrasi larutan rhodamin B diukur panjang gelombang maksimal menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dipipet larutan rhodamin B 10 ppm secara berturut-turut 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL, 1,2 mL, 1,6 mL (1, 2, 4, 6, 8 ppm), dimasukkan dalam labu ukur 10,0 mL kemudian ditambahkan HCl 0,1 N sampai batas. Pada semua larutan seri konsentrasi rhodamin B (1 - 8 ppm) diukur absorbannya dengan menggunakan Spektrofotometer pada panjang

gelombang maksimum, yang digunakan sebagai blanko adalah HCl 0,1 N (Sari, 2015).

**Penetapan kadar rhodamin B pada sampel**

Ekstrak sampel 10 gr dalam 50,0 mL, masing-masing sampel diambil sebanyak 5,0 mL dimasukkan kedalam labu ukur 10,0 mL dan ditambahkan dengan HCl 0,1 N sampai batas, sampel yang telah disiapkan diukur absorbannya pada panjang gelombang maksimum dan dihitung berapa kadar Rhodamin B dalam sampel berdasarkan kurva kalibrasi.

**HASIL DAN DISKUSI**

**Analisis secara kromatografi lapis tipis**

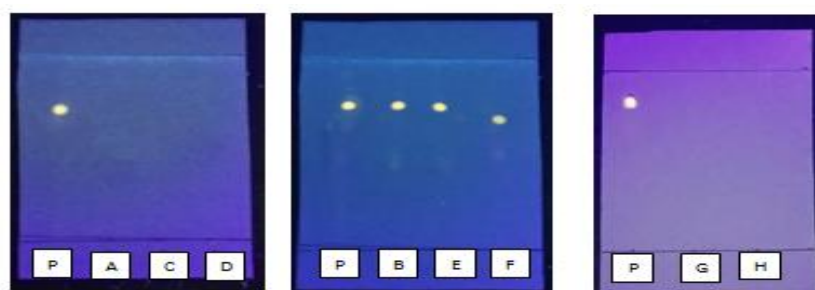
Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dari 8 sampel didapat 3 sampel yang dicurigai mengandung Rhodamin B dengan melihat nilai Rf-nya dimana nilai Rf sampel sama atau mendekati dari nilai standar Rhodamin B (Tabel 1) dan di lihat dengan bercak warna pada sinar UV 366 nm (Gambar 1).

**Tabel 1.** Hasil analisis kromatografi lapis tipis dengan eluen *n*-butanol : asam asetat:ammonia (10 : 4 : 5)

Kode asal Sampel	Warna visual	Sinar UV 366 nm	Nilai Rf
P	Merah muda/merah jambu	Fluoresensi Kuning	0,8
A	Merah muda/merah jambu	-	-
B	Merah muda/merah jambu	Fluoresensi Kuning	0,8
C	Merah muda/merah jambu	-	-
D	Merah muda/merah jambu	-	-
E	Merah muda/merah jambu	Fluoresensi Kuning	0,8
F	Merah muda/merah jambu	Fluoresensi Kuning	0,78
G	Merah muda/merah jambu	-	-
H	Merah muda/merah jambu	-	-

Keterangan

P : Pembanding (Rhodamin B); A : Telanaipura; B : Alam Barajo; C : Danau Sipin; D : Jambi Selatan; E : Jambi Timur; F : Pasar Jambi; G : Jelutung; H : Kota Baru

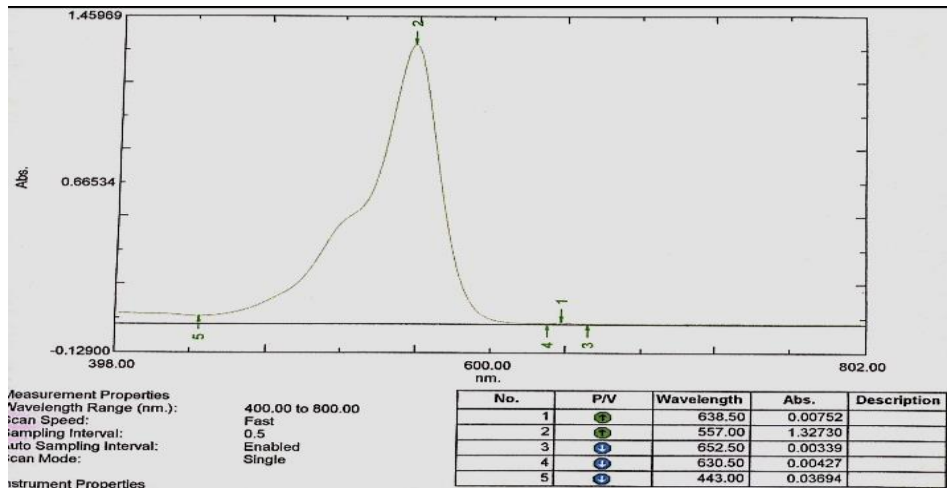


**Gambar 1.** Hasil KLT dibawah lampu UV 366 nm

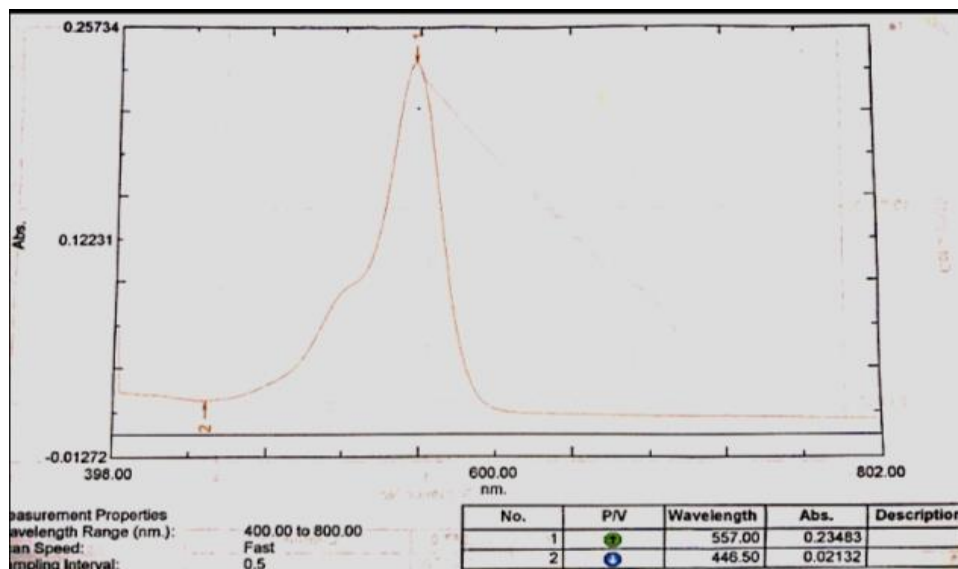
**Analisis secara spektrofotometri**

Analisis kuantitatif Rhodamin B secara Spektrofotometri UV-Vis, dilakukan pada panjang gelombang maksimum standar pembanding yaitu 557 nm (Gambar 2). Analisis panjang gelombang

maksimum masing-masing sampel didapat yaitu 557 nm (Tabel 2 dan Gambar 3). Sehingga diperoleh kadar yaitu sampel B 0,88210 µg/mL, sampel E 1,3475 µg/mL dan sampel F 0,80684 µg/mL (Tabel 3).



Gambar 2. Larutan standar rhodamin B panjang gelombang  $\lambda$  max 557,00 nm



Gambar 3. Larutan sampel diperoleh  $\lambda$  max 557,00 nm

Tabel 2. Analisis panjang gelombang maksimum pada masing-masing sampel

No	Kode Sampel	Panjang Gelombang Maks ( $\lambda$ )
1	B	557 nm
2	E	557 nm
3	F	556,50 nm

Tabel 3. Hasil penentuan kadar Rhodamin B pada sampel

No.	Kode Sampel	Kadar Rhodamin B dalam sampel 10 gr
1	B	0,88210 $\mu\text{g/mL}$
2	E	1,3475 $\mu\text{g/mL}$
3	F	0,80684 $\mu\text{g/mL}$

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat pewarna Rhodamin B dan berapa kadar pewarna tersebut dalam kue bolu kukus yang beredar di kota Jambi. Analisis kualitatif penelitian ini menggunakan metode KLT untuk mengetahui ada tidaknya rhodamin B dalam sampel yang akan diteliti

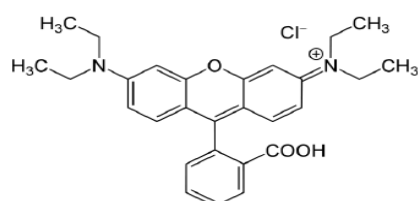
sebelum dilakukan analisis kuantitatif. Pada metode KLT terjadinya pemisahan senyawa berdasarkan adsorpsi dan partisi, pelarut yang bersifat polar akan berikatan dengan senyawa yang bersifat polar juga begitupun sebaliknya. Analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis.

Pada analisis Rhodamin B pada KLT menggunakan *n*-butanol : asam asetat : ammonia dengan perbandingan (10 : 4 : 5) sebagai fase gerak dan fase diam Silica gel GF 254. Fase gerak yang digunakan bersifat polar sama dengan Rhodamin B yang juga bersifat polar, sehingga eluen dapat mengelusi Rhodamin B dengan baik (Samosir dkk., 2018).

Tabel 1 menunjukkan bahwa dari 8 sampel hanya 3 sampel dengan kode B, kode E dan kode F yang positif mengandung pewarna Rhodamin B (Gambar 1). Hasil dapat dikatakan positif bila antara sampel (ekstrak kue bolu kukus) dan pembanding (Rhodamin B) memiliki bercak berwarna fluoresensi kuning yang sama dengan pembanding (Tabel 1) dan nilai  $R_f$  berada dalam ( $\leq 0,2 - 0,5$ ) dengan pembanding artinya sampel dinyatakan positif mengandung rhodamin B (Gambar 1) (Samosir dkk., 2018).

Larutan standar pada panjang gelombang pada instrumen Spektrofotometri UV-VIS memiliki kepekaan maksimum, yaitu perubahan absorban untuk setiap konsentrasi adalah paling besar. Pada Spektrofotometer kesalahan pembacaan absorban adalah kecil pada nilai absorban antara 0,2 – 0,8 (Gandjar & Rohman, 2007). Persamaan regresi yang diperoleh yaitu  $y = 0,08703x + 0,12795$  dan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,999 didapatkan linearitas mendekati satu. Hasil yang diperoleh dari 8 kecamatan terdapat 3 yang positif mengandung pewarna sintesis Rhodamin B yaitu sampel dari kecamatan : kode B (Alam Barajo), kode E (Jambi Timur) dan kode F (Pasar Jambi) (Tabel 3).

Rhodamin B adalah zat pewarna yang dilarang penggunaannya menurut PerMenKes RI No. 033/Menkes/Per/IX/2012 yang membahas tentang bahan tambahan pada makanan. Rhodamin B merupakan jenis pewarna yang bersifat toksik, jika diberikan pada makanan atau pun minuman dapat memberikan dampak yang membahayakan bagi kesehatan manusia (Permenkes RI, 2021).



**Gambar 4.** Struktur kimia rhodamin B

Rhodamin B tidak dapat di metabolisme oleh hati sehingga terjadinya penumpukan di dalam hati yang

akan menyebabkan gangguan fungsi hati. Struktur kimia dari Rhodamin B mengandung unsur  $N^+$  (nitronium) (Gambar 4) yang bersifat karsinogenik sehingga memacu pertumbuhan sel-sel kanker dan menyebabkan terjadinya kanker hati dan tumor hati (Arfina, 2012).

Menurut (Peraturan Menteri Perdagangan RI No 75/M-DAG/PER/10/2014) bahan berbahaya adalah zat, bahan kimia maupun biologi, baik itu dalam bentuk tunggal ataupun dalam bentuk campuran yang beresiko memberikan dampak berbahaya pada kesehatan secara langsung ataupun tidak langsung, yang mempunyai sifat racun (toksisitas) bagi kesehatan, Karsinogenik, mutagenik, dan iritasi. Rhodamin B merupakan jenis zat yang dinyatakan berbahaya dalam lampiran 1 peraturan Menteri Perdagangan tersebut sehingga penggunaannya sama sekali di larang dan keberadaannya dalam makanan merupakan suatu pelanggaran dengan sanksi pidana (Kementerian Perdagangan RI, 2014).

## KESIMPULAN

Hasil analisis kualitatif didapatkan 3 sampel kue bolu kukus dari 8 kecamatan kota Jambi positif mengandung pewarna Rhodamin B yang dilihat dari nilai  $R_f$  yang sama dengan pembanding yaitu 0,8 dan warna bercak yang berfluoresensi dibawah sinar 366 nm. Hasil penetapan kadar Rhodamin B pada sampel kue bolu kukus diperoleh kadar yaitu sampel B (Alam Barajo) 0,88210  $\mu\text{g/mL}$ , sampel E (Jambi Timur) 1,3475  $\mu\text{g/mL}$  dan sampel F (Pasar Jambi) 0,80684  $\mu\text{g/mL}$ .

## DAFTAR PUSTAKA

- Arfina. (2012). Analisis Kandungan Rhodamin B Pada Kosmetik Perona Pipi Yang Beredar Di Pasar Tradisional Kota Makassar. Diterbitkan Di Ejournal. *Skripsi*; Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar.
- BPOM. (2013). Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia No.37 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pewarna. Jakarta: BPOM.
- Gandjar, I. G. & Rohman, A. (2007). Kimia Farmasi Analisis (cetakan 2). Jakarta: Pustaka Pelajar.
- Kementerian Perdagangan RI. (2014). Permendag 75/M-DAG/PER/10/2014 tentang Pengadaan, Distribusi dan Pengawasan Bahan Berbahaya. Jakarta: Kementerian Perdagangan RI.

- Kumalasari, E. (2015). Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B dalam Kerupuk Berwarna Merah yang Beredar di Pasar Antasari Kota Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Manuntung*; 1; 85–89.
- Nahdi, S. B. (2018). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Zat Pewarna Berbahaya Rhodamin B pada Saus yang Beredar di Pasar Gamping Kabupaten Sleman Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Dan Spektrofotometri Uv-Vis. *Skripsi*; Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta.
- Permenkes RI. (2012). Bahan Tambah Pangan. Jakarta: Permenkes RI.
- 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). *Entropi*; 13; 45–49.
- Sari, R. P. (2015). Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B pada Kue Berwarna Merah di Pasar Antasari Kota Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Manuntung*; 1; 75–84.
- Yamlean, P. V. Y. (2011). Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B pada Jajanan Kue Berwarna Merah Muda yang Beredar di Kota Manado. Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*; 11; 289-295.