

IDENTIFIKASI PEWARNA SINTETIK AURAMIN DAN KUNING METANIL PADA PERMEN MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

Aninda Tyasna Salsabila^{*1}, Damayanti Iskandar², Dita Herfiani³

^{1,2} Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang, Indonesia

³Balai Besar Pengawas Obat Makanan Palembang, Indonesia

Corresponding Author: anindatyasnasalsabila2001@gmail.com

<p>Info Article</p> <p>Received : 01 Desember 2024</p> <p>Revised : 02 Januari 2025</p> <p>Accepted : 01 Februari 2025</p> <p>Publication : 28 Februari 2025</p>	<p>Abstract: Food is food or drink that must be guaranteed food safety for human consumption. One aspect of food safety that needs to be considered is the use of Food Additives (FA). Food additives are materials added to food to influence the nature or shape of the food, an example is dye. Some entrepreneurs use dyes to give food colors that are more striking, such as using dyes in candy. However, the dyes used by entrepreneurs are synthetic dyes not for food, such as auramine and methanyl yellow. The use of auramine and methanyl yellow dyes in candy can be identified using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) through chromatogram results. The research results obtained were that x candy did not contain auramine and methanyl yellow dyes. In the results of the chromatogram research, the 1st repeat and 2nd repeat candy samples did not have an area at the retention time of the auramine and methanyl yellow standard solution.</p>
<p>Keywords: Synthetic dyes, auramine, methanyl yellow, candy, High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</p> <p>Kata Kunci: Pewarna sintetik, Auramin, Kuning Metanil, Permen, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)</p>	<p>Abstrak: Pangan adalah makanan atau minuman yang harus dijamin keamanan pangan untuk dikonsumsi manusia. Salah satu aspek keamanan pangan perlu diperhatikan adalah penggunaan Bahan Tambahan Pangan (BTP). Bahan tambahan pangan adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk memengaruhi sifat atau bentuk pangan, contohnya adalah pewarna. Penggunaan pewarna digunakan beberapa pengusaha untuk memberikan warna makanan yang lebih mencolok, seperti penggunaan warna pada permen. Namun zat pewarna yang digunakan pengusaha adalah zat pewarna sintetik bukan untuk makanan seperti auramin dan kuning metanil. Penggunaan pewarna auramin dan kuning metanil pada permen dapat diidentifikasi menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) melalui hasil kromatogram. Hasil penelitian yang didapatkan adalah permen X tidak mengandung pewarna auramin dan kuning metanil. Pada hasil penelitian kromatogram sampel permen pengulangan-1 maupun pengulangan ke-2 tidak memiliki luas area di waktu retensi larutan baku Auramin dan kuning metanil.</p>
<p>Licensed Under a Creative Commons Attribution 4.0 International License</p> 	

INTRODUCTION

Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan dan air dan dengan cara yang diolah maupun tidak diolah yang dimanfaatkan sebagai makanan atau minuman yang dikonsumsi manusia (Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 18 Tahun 2012 Tentang Pangan, 2012). Pangan yang dikonsumsi manusia dapat berpengaruh pada kesehatan manusia. Pangan yang tidak aman dikonsumsi dapat menimbulkan dampak yang buruk pada kesehatan manusia yang digolongkan menjadi 2 yaitu infeksi dan intoksikasi. Infeksi apabila mengkonsumsi makanan yang mengandung mikro organisme sehingga menimbulkan gejala penyakit sedangkan intoksikasi apabila mengkonsumsi makanan yang mengandung zat-zat beracun akan menyebabkan keracunan (Nurlaela, 2011).

Penyelenggaraan keamanan pangan harus diterapkan di sepanjang rantai pangan, diawali dari tahap produksi (budi daya), pemanenan, pengolahan, penyimpanan, distribusi, peredaran, hingga sampai di tangan konsumen untuk menjamin pangan yang tersedia aman dikonsumsi. Rantai pangan tersebut memenuhi persyaratan keamanan pangan dapat diwujudkan melalui suatu sistem pengaturan, pembinaan, dan pengawasan yang efektif di bidang keamanan pangan. Keamanan pangan adalah kondisi untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia dan benda lain yang dapat menimbulkan masalah kesehatan manusia. Salah satu aspek keamanan pangan perlu diperhatikan adalah penggunaan bahan tambahan pangan (BTP)(Peraturan Pemerintah Republik Indonesia no 86, 2019)

Bahan tambahan pangan adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan (Peraturan Pemerintah Republik Indonesia no 86, 2019). Salah satu bahan tambahan pangan yang sering digunakan yaitu pewarna. Pewarna ditambahkan pada produk makanan agar makanan terlihat menarik sehingga dapat meningkatkan keinginan konsumen untuk membeli produk tersebut (Fatmawati, 2020). Salah satu makanan yang biasanya ditambahkan zat pewarna yaitu permen. Zat pewarna ditambahkan pada permen sebagai karakteristik fisik dan daya tarik permen. Daya tarik permen menjadikan permen banyak di konsumsi oleh Masyarakat (Koswara Sutrisno, 2009).

Zat pewarna dibagi menjadi 2 jenis yaitu pewarna alami dan pewarna sintetik. Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan, zat pewarna sintetik lebih banyak digunakan

karena zat pewarna sintetik lebih stabil dan lebih tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan, warna yang lebih mencolok dan rentang warna lebih luas serta lebih murah dan mudah digunakan (Longdong, 2017).

Beberapa pengusaha menggunakan zat pewarna sintetik untuk memberikan warna pada makanan. Namun zat pewarna sintetik yang digunakan pengusaha untuk memberikan warna pada makanan adalah pewarna sintetik bukan makanan (non food grade). Balai besar Pengawas Obat dan Makanan menemukan 40 makanan olahan hasil industri rumah tangga yang mengandung bahan kimia berbahaya seperti auramin dan kuning metanil (Kompas, 2009). Zat pewarna auramin memiliki efek samping yang dapat meningkatkan resiko kanker kandung kemih dan prostat (Yulianti, 2022) dan pewarna kuning metanil dapat menyebabkan kelainan-kelainan organ pada tubuh bahkan kanker kandung kemih (Zuraida, 2017).

Penggunaan zat pewarna auramin dan kuning metanil dapat diidentifikasi menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Menurut penelitian Park juhee dkk tahun 2024(Park, 2024), KCKT dapat mengidentifikasi < 10 pewarna sintetik secara bersamaan termasuk identifikasi pewarna auramin dan kuning metanil dalam suatu sampel. Identifikasi menggunakan KCKT memiliki kelebihan yaitu menghasilkan resolusi yang baik, tekanan yang diberikan oleh fasa gerak relatif tinggi, laju alir dapat diatur sesuai kebutuhan (Gupta, 2012), volume sampel yang digunakan sedikit, dapat menganalisis senyawa organik dan anorganik serta kolom yang dapat digunakan kembali (Ardianingsih, 2009). Maka, pada penelitian ini dilakukan identifikasi pewarna auramin dan kuning metanil pada permen menggunakan KCKT.

METHOD

Peralatan

Adapun peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu : seperangkat alat KCKT, kolom C18 Waters X Bridge (250 x4, 6 mm), 5 μ m, cartridge Hydrophilic Lipophilic Balance (HLB), mortar, alu, pipet mikro volume 20-200 μ L dan 100-1000 μ L, tabung sentrifugasi 50 mL, labu tentukur 10 mL, labu tentukur 50 mL, tabung reaksi, penyaring membrane 0,45 μ m (Millipore), dan peralatan gelas.

Bahan

Adapun bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah permen tangkai X, larutan Baku Auramin, larutan baku kuning metanil bersertifikat dan pereaksi. Adapun

pereaksi yang digunakan pada penelitian ini adalah aqua demineralista (aquadem) dengan resistensi minimal 18 M Ω lolos saringan 0,45 μ m, Ammonium asetat 20mM pH 4,5, Ammonia 0,1%, Asam Format 0,1%, Asam asetat 1%, Metanol 15% dalam asam format 0,1% (v/v), Asetonitril (derajat KCKT), Metanol (derajat KCKT).

Prosedur kerja

Prosedur kerja penelitian sebagai berikut :

1. Pembuatan ammonium asetat 20 mM pH 4,5. Ditimbang ammonium asetat sebanyak 1.54 gram, dimasukkan ke dalam labu tentukur 1 L, ditambahkan air derajat KCKR 900 ml dan beberapa tetes larutan asam asetat 1% hingga pH 4,5 kemudian ditambahkan air derajat KCKT hingga tanda dan disaring dengan membrane 0,45 μ m (Millipore).
2. Pembuatan larutan baku. Dibuat larutan baku yang mengandung Auramin dan Kuning metanil dengan rentang konsentrasi 0,25-8 μ g/mL dalam larutan methanol 10 % dalam air. (Larutan A)
3. Preparasi sampel. Diambil 1 jenis permen tangkai yang diberi nama permen X. Permen X dihaluskan menggunakan mortar dan alu kemudian permen ditimbang sebanyak 2g, Ditambahkan menggunakan asam format 0,1% untuk mengatur pH larutan sampel sebesar 3,0 dan dihomogenkan larutan sampel menggunakan sonikator.
4. Pembuatan larutan uji. Sebelum digunakan, kolom HLB diaktifkan dengan 5 mL methanol dan 5 mL asam format 0,1%. Sampel dilewatkan ke dalam kolom HLB dengan laju alir 1-2 ml/menit. Kolom SPE kemudian dicuci dengan 5 mL methanol 15% dalam asam format 0,1% (v/v). Sampel elusi dengan 3,0 mL larutan ammonia 0,1% dalam methanol dan dilanjutkan elusi dengan 3,0 mL larutan asam asetat 1% dalam methanol. Larutan kemudian disaring dengan penyaring membrane 0,45 μ m (Millipore). (larutan B)
5. Pembuatan larutan blanko. Larutan blanko dibuat dengan cara yang sama seperti larutan uji tanpa permen. (Larutan C)

RESULTS AND DISCUSSION

Result

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi pewarna auramin dan kuning metanil dalam permen dengan menggunakan metode KCKT (Kromatografi Cair

Kinerja Tinggi). Permen yang digunakan pada penelitian ini adalah permen tangkai X. Penelitian ini menghasilkan data kualitatif berupa hasil kromatogram yang menunjukkan waktu retensi, luas area dan tinggi area. Identifikasi auramin dan kuning metanil pada permen dilakukan menggunakan instrument HPLC dengan detektor UV Visible. Pada penelitian ini dilakukan metode pemisahan elusi gradien dikarenakan dapat meningkatkan resolusi puncak dan kemampuan deteksi lebih baik (Marina, 2000).

Fasa diam yang digunakan pada penelitian ini adalah Kolom : C18 Waters X bridge (ukuran 250 x 4.6mm). Fase gerak yang digunakan adalah asetonitril dan ammonium asetat. Fase gerak yang digunakan harus bebas dari gas sehingga perlu dilakukan proses penghilangan gas(degassing) terlebih dahulu sebelum proses pemisahan untuk menghindari noise pada detektor (Poole, 1994). Pada penelitian ini dilakukan degassing menggunakan sonikator. Pada tahap pembuatan larutan uji diawali dengan permen tangkai X dihaluskan menggunakan mortar dan alu kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Cara selanjutnya ditambahkan asam format sebelum dilakukan ekstraksi menggunakan SPE. Penambahan asam format sebagai penambahan asam dikarenakan untuk mengatur pH larutan sampel menjadi 3. Larutan sampel kemudian di homogenkan menggunakan sonikator. Larutan selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan SPE (Solid Phase Extraction) sebagai teknik preparasi sampel untuk mendapatkan ekstrak analit murni. Sampel di dalam pelarut organik dengan kepolaran menengah hingga rendah dapat dipisahkan dengan metode ekstraksi SPE fase terbalik (abdul Rohman, 2014).Oleh karena itu SPE yang digunakan pada penelitian ini adalah kolom HLB yang merupakan jenis kolom fase terbalik (*Solid Phase Extraction*, 2024).

Pada penelitian ini kolom HLB dikondisikan dengan methanol dan asam format . Pada tahap pengkondisian, kolom dialiri dengan pelarut sampel untuk membasahi permukaan penjerap dan untuk menciptakan nilai pH yang sama sehingga perubahan-perubahan kimia yang tidak diharapkan ketika sampel dimasukkan dapat dihindari (abdul Rohman, 2014). Selanjutnya larutan sampel dilewatkan ke dalam kolom HLB dengan laju alir 1-2 ml/menit. Kolom HLB kemudian dicuci dengan methanol dalam asam format. Pada tahap pencucian dilakukan untuk menghilangkan seluruh komponen yang tidak tertahan oleh penjerap selama tahap retensi(abdul Rohman, 2014). Sampel selanjutnya dielusi dengan larutan ammonia dalam methanol dan dilanjutkan elusi

dengan larutan asam asetat dalam methanol. Pada tahap elusi merupakan tahap pengambilan analit yang diinginkan jika analit tertahan pada penjerap (kolom) (abdul Rohman, 2014) Larutan yang dihasilkan kemudian disaring dengan penyaring membran 0,45 μm (Millipore). Menurut Dacriyanus (Dachriyanus, 2017) digunakan penyaring Millipore dengan tujuan untuk menyerap partikel -partikel halus pada pelarut. Selanjutnya larutan akan diidentifikasi oleh Kromatogram yang sudah diatur dan dikondisikan. Pembuatan larutan baku sebagai pembanding dan data Uji Kesesuaian Sistem (UKS), didapatkan hasil berupa kromatogram yang berisi gambaran ada atau tidak adanya puncak dan waktu retensi/ waktu tambat (tR). Menurut Novaretta dkk tahun 2017 (Novaretta, 2017), Uji Kesesuaian Sistem dilakukan untuk menjamin bahwa sistem kromatografi dapat beroperasi dengan baik. Salah satu parameter yang digunakan adalah simpangan data relatif (RSD) (A. dan G. Rohman, 2007). Pada penelitian Hartono dkk tahun 2020 (Hartono, 2020), syarat Uji Kesesuaian Sistem dari hasil peinjeksian larutan sebanyak 5 kali adalah nilai RSD luas area $<2\%$.

Tabel 3.1 Hasil Uji Kesesuaian Sistem (UKS) Kuning metanil

Nama Uks	Nama sampel	Waktu retensi	Luas area	Tinggi area	Tailing Factor	Resolution
Uks-1	Kuning metanil	13.355	634715	52339	1.045	-
Uks-2	Kuning metanil	13.359	642344	52873	1.028	-
Uks-3	Kuning metanil	13.354	657007	53584	0.996	-
Uks-4	Kuning metanil	13.351	654808	53913	0.992	-
Uks-5	Kuning metanil	13.360	628778	53426	1.019	-
Avarage		13.356	643530	53227	1.016	-
%RSD		0.026	1.912	1.170	2.179	0.000

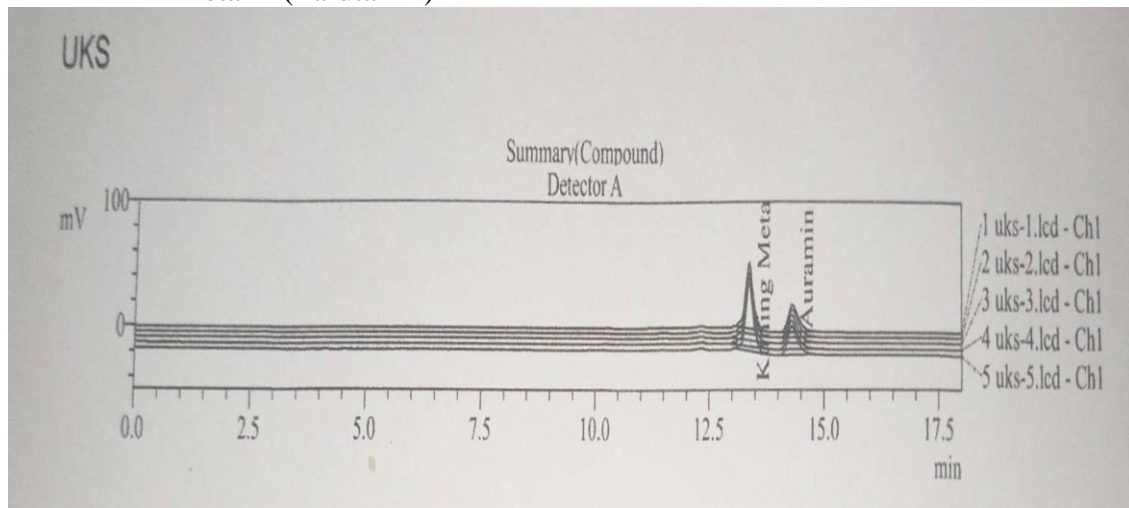
Tabel 3.1 Hasil Uji Kesesuaian Sistem (UKS) Auramin

Uks 1	Nama sampel	Waktu Retensi	Luas Area	Tinggi Area	Tailing Factor	Resolution
Uks-1	Auramin	14.300	341970	21707	1.423	2.530
Uks-2	Auramin	14.299	340823	21923	1.424	2.539
Uks-3	Auramin	14.290	341295	22209	1.427	2.555
Uks-4	Auramin	14.284	341344	22399	1.433	2.575
Uks-5	Auramin	14.290	341355	22544	1.424	2.598
Avarage		14.293	341358	22156	1.426	2.560
%RSD		0.047	0.119	1.544	0,287	1.067

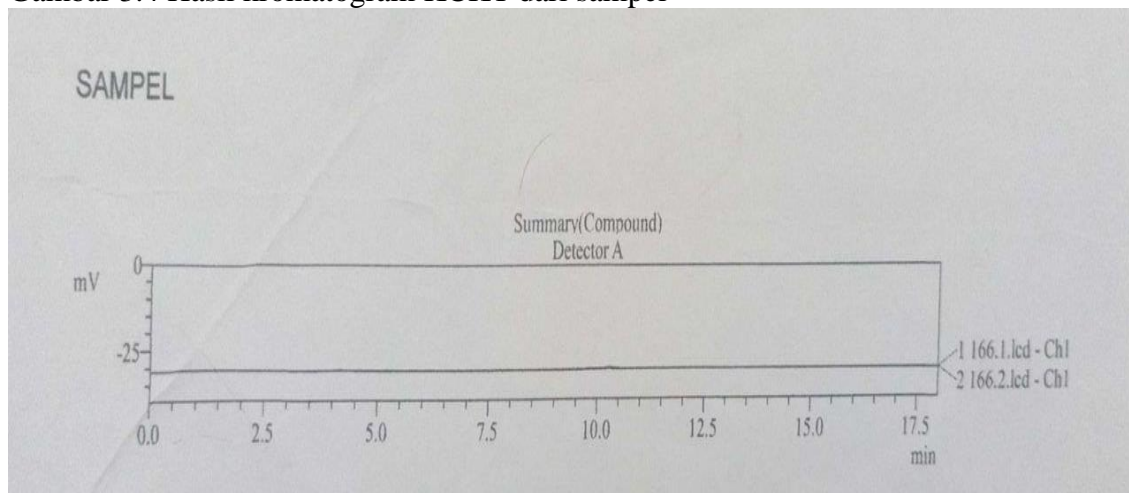
Berdasarkan data Tabel 3.1 nilai RSD luas area uji kesesuaian sistem kuning metanil sebesar 1.912 % Hal ini menunjukkan bahwa nilai RSD $< 2\%$ sehingga sistem kromatografi kuning metanil dapat diterima. Hasil nilai RSD luas area uji kesesuaian sistem auramin dapat dilihat pada Tabel 3.2. Hasil nilai RSD luas area uji kesesuaian sistem auramin sebesar 0,119% menunjukkan bahwa nilai RSD $< 2\%$ sehingga sistem kromatografi auramin dapat diterima.

Kromatogram KCKT memberikan informasi kualitatif terhadap zat terlarut tertentu dalam suatu sampel. Hal ini dapat dilihat dari waktu retensi (tR) atau posisi pada fase diam setelah masa elusi tertentu. Jika sampel tidak menghasilkan luas area pada waktu retensi (tR) yang sama dengan standar yang dijalankan dalam kondisi identik, maka dapat diasumsikan senyawa tersebut tidak ada dalam sampel (Dachriyanus, 2017).

Gambar 3.3. Kromatogram KCKT dari larutan baku auramin dan larutan baku kuning metanil (Larutan A)



Gambar 3.4 Hasil kromatogram KCKT dari sampel



Kromatogram KCKT dari larutan baku auramin dan larutan baku kuning metanil menunjukkan luas area kuning metanil dan auramin berada pada waktu retensi antara 12.5-15.0 menit yang dapat dilihat dari data gambar 3.3 Selanjutnya identifikasi kuning metanil dan auramin pada sampel permen. Berdasarkan data pada gambar 3.4 dapat dilihat bahwa kromatogram sampel tidak memiliki luas area pada waktu retensi auramin maupun kuning metanil. Hal ini menunjukkan bahwa sampel pengulangan ke-1 maupun ke-2 tidak mengandung kuning metanil maupun auramin

CONCLUSION

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka yang menjadi Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Sampel permen X tidak mengandung pewarna sintetik Auramin dan Kuning metanil.
2. Identifikasi auramin dan kuning metanil menggunakan KCKT dapat dilihat dari kromatogram. Apabila kromatogram sampel menunjukkan luas area di waktu retensi larutan baku Auramin dan kuning metanil maka sampel dapat diindikasikan mengandung auramin dan kuning metanil. Pada hasil penelitian kromatogram sampel permen pengulangan-1 maupun pengulangan ke-2 tidak memiliki luas area di waktu retensi larutan baku Auramin dan kuning metanil.

REFERENCES

- Ardianingsih. (2009). PENGGUNAAN HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC) DALAM PROSES ANALISA DETEKSI ION. *LAPAN*, 10, 101–104.
- Dachriyanus, M. S. (2017). KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi, Universitas Andalas.
- Fatmawati, S., Riyanti, H. B., & Yati, K. (2020). PELATIHAN DETEKSI FORMALIN DAN RHODAMIN B DALAM MAKANAN BAGI GURU DAN WALI MURID TH BINTARA JAYA BEKASI. *JPM (Jurnal Pemberdayaan Masyarakat)*, 350–357.
- Gupta, V., Ajay, D.K.J., Gill, N. S., & Kapil, G. (2012). DEVELOPMENT AND VALIDATION OF HPLC METHOD: A REVIEW. *J. Pharm*, 17–25.

- Hartono, K., Ginayanti, H., & Hasbullah, M. (2020). PENGEMBANGAN DAN VALIDASI METODA ANALISIS PENENTUAN KADAR TABLET DIETILKARBAMAZINE SITRAT 100 MG DENGAN METODA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI. *Sabdariffarma*, 8(1), 11–21.
- Kompas. (2009). AWAS MAKANAN MENGANDUNG BAHAN BERBAHAYA MASIH BEREDAR.
- Koswara Sutrisno. (2009). TEKNOLOGI PEMBUATAN PERMEN.
- Longdong, G. M., Abidjulu, J., & Kojong, N. S. (2017). ANALISIS ZAT PEWARNA RHODAMIN B PADA SAOS BAKSO TUSUK YANG BEREDAR DI SEKITAR KAMPUS UNIVERSITAS SAM RATULANGI MANADO. *Ilmiah Farmasi UNSRAT*, 6, 28–34.
- Marina, M. L., & Garcia, M. (2000). CHROMATOGRAPHY LIQUID MICELLAR LIQUID CHROMATOGRAPHY. *Encyclopedia of Separation Science* (pp. 726–737).
- Novaretta, E., Arumsari, A., & Wisnuwarhani, H. (2017). PENGEMBANGAN METODE ANALISIS KUALITATITIF SILDENAFIL SITRAT PADA JAMU PENAMBAH STAMINA PRIA DENGAN MENGGUNAKAN METODE EKSTRAKSI FASE PADAT DAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI. *Farmasi*, 3(1), 36–43.
- Nurlaela. (2011). KEAMANAN PANGAN DAN PERILAKU PENJAMAH MAKANAN DI INSTALASI GIZI RUMAH SAKIT . *Media Gizi Masyarakat Indonesia*, 1–7.
- Park, J., Lee, M. H., Cho, Y. S., Seo, D. W., & Choi, J. Y. (2024). RAPID IDENTIFICATION AND QUANTITATION OF 34 SYNTHETIC COLORANTRS IN 125 BEVERAGES AND CANDIES BY ULTRAPERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH PHOTODIDE ARRAY DETECTION. *Journal of Food Composition and Analysis*, 1–12.
- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia no 86. (2019). KEAMANAN PANGAN.
- Poole, C. F., & Poole, S. K. (1994). CHROMATOGRAPHY TODAY (Pertama, pp. 545–550). Elsevier Science B.V.
- Rohman, Abdul. (2014). VALIDASI DAN PENJAMINAN MUTU METODE ANALISIS KIMIA. Gajah mada University Press.

Rohman, A., & Gandjar. (2007). KIMIA FARMASI ANALISIS. Pustaka Pelajar.

Solid Phase Extraction. (2024). WATERS.
<https://www.waters.com/nextgen/us/en/education/primers/beginner-s-guide-to-spe/spe-method-development.html>

Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 18 Tahun 2012 Tentang Pangan (2012).

Yulianti, R., Muhlishoh, A., Hasanah, L. N., Rosnah., Lusiana, S. A., & Sutrisno, E. (2022). KEAMANAN DAN KETAHANAN PANGAN. PT GLOBAL EKSEKUTIF TEKNOLOGI.

Zuraida, R., Oktadiani, S., Zamahsjari, S., & Ayu, A. (2017). FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PEDAGANG JAJANAN ANAK SEKOLAH DASAR TERHADAP PENGGUNAAN PEWARNA METHANIL YELLOW DI KECAMATAN SUKARAME BANDAR LAMPUNG TAHUN 2015. *J AgromedUnila*, 1–6.