

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pewarna

Warna merupakan salah satu aspek penting dalam hal penerimaan konsumen terhadap suatu produk pangan. Warna dalam bahan pangan dapat menjadi ukuran terhadap mutu, warna juga dapat digunakan sebagai indikator kesegaran atau kematangan juga menambahkan bahwa apabila suatu produk pangan memiliki nilai gizi yang baik, enak dan tekstur yang sangat baik akan tetapi jika memiliki warna yang tidak sedap dipandang akan memberi kesan bahwa produk pangan tersebut telah menyimpang. Biasanya pangan yang memiliki warna mencolok cenderung lebih dipilih oleh masyarakat daripada makanan yang berwarna pucat. Zat warna atau pewarna makanan secara umum dapat dikategorikan menjadi dua golongan, yaitu zat pewarna alami dan zat pewarna sintesis (Winarno, 1992).

1. Pewarna alami.

Pewarna alami, sebagaimana kita telah ketahui, banyak jenis tanaman dan hewan yang mempunyai warna-warna yang indah dan cemerlang. Pemakaian zat warna yang berasal dari tanaman dan hewan ini telah lama dilakukan oleh para pendahulu-pendahulu kita, misalnya daun pandan, daun suji, kunyit, biji kesumba dan sebagainya. *Myoglobin* dan hemoglobin ialah zat warna merah pada daging yang

tersusun oleh protein globin dan heme yang mempunyai inti berupa zat besi (Linda & Wahyu,2010).

Tabel.1 Daftar Zat Pewarna Alami

Kelompok	Warna
Karamel	Coklat
Anthosianin	Jingga Merah Biru
Flavonoid	Tanpa kuning
Leucoantho sianin	Tidak berwarna
Tannin	Tidak berwarna
Batalain	Kuning, merah
Quinon	Kuning, hitam
Xanthon	Kuning
Karotenoid	Tanpa kuning merah
Klorofil	Hijau, cokelat
Heme	Merah, cokelat

Sumber: Tranggono *et al.*, 1989 (dalam Cahyadi, 2006).

2. Pewarna sintetis.

Pemakaian bahan pewarna sintetis dalam makanan walaupun mempunyai dampak positif bagi produsen dan konsumen, diantaranya dapat membuat makanan lebih menarik, meratakan warna makanan, dan mengembalikan warna dari bahan dasar yang hilang atau berubah selama pengolahan, ternyata dapat pula menimbulkan hal-hal yang tidak diinginkan dan bahkan mungkin memberi dampak

negatif terhadap kesehatan konsumen seperti penyakit kanker kulit, penyakit kanker mulut, kerusakan otak (Winarno dan Sulistyowati, 1994).

Adapun perbedaan antara zat pewarna sintetis dan alami dapat dilihat pada Tabel berikut di bawah ini :

Tabel.2 Perbedaan antara Zat Pewarna Sintetis dan Alami

Pembeda	Zat Pewarna Sintetis	Zat Pewarna Alami
Warna yang dihasilkan	Lebih cerah	Lebih pudar
Variasi wana	Lebih banyak	Sedikit
Harga	Lebih murah	Lebih mahal
Ketersediaan	Tidak terbatas	Terbatas
Kestabilan	Stabil	Terkadang kurang stabil

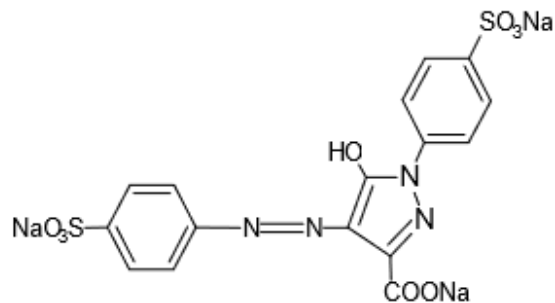
Sumber : Wicaksono, 2005

B. Pewarna Tartrazin



Gambar.1 Serbuk Tartrazin

Tartrazin merupakan pewarna pangan berupa serbuk halus berwarna kuning jingga dengan rumus kimia $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$ (Gambar.2). Tartrazin merupakan turunan dari *coal tar*, yaitu campuran antara senyawa fenol, hidrokarbon polisiklik, dan heterosklik. Kelarutan tartrazin bersifat sangat mudah larut di dalam air absorbansi maksimal senyawa ini dalam air jatuh pada panjang gelombang ± 427 nm, sedikit larut dalam alkohol 95%, sangat mudah larut dalam air. Tartrazin cenderung dijadikan bahan pewarna pada minuman jika dilihat dari kelarutannya yang sangat mudah larut dalam air. Bahan ini dapat tahan terhadap asam asetat, HCl, dan NaOH 10%, jika tercampur dengan NaOH 30%, warna akan berubah menjadi kemerahan (Manurung, 2010).



Gambar.2 Struktur Kimia Tartrazin (Ming *et al.*, 2006)

1. Dampak pewarna tartrazin.Tartrazin dapat menyebabkan sejumlah reaksi alergi bagi orang-orang yang intoleransi terhadap aspirin atau penderita asma. Beberapa referensi lain menyebutkan bahwa penggunaan tartrazin dapat menyebabkan biduran (urtikaria). Gejala alergi tartrazin dapat timbul apabila senyawa ini terhirup (inhalasi) atau ditelan (ingesti). Reaksi alergi yang timbul

brupa sesak napas, pusing, migran, depresi, pandangan kabur dan sulit tidur (Praja, 2015).

2. Batasan penggunaan tartrazin. Tartrazin merupakan salah satu dari sekian banyak zat warna sintetik yang ditambahkan ke dalam produk pangan. Tartrazin sendiri yaitu zat yang memberikan warna kuning lemon. Batas maksimum penambahan tartrazine pada pangan menurut regulasi yang dikeluarkan oleh Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 37 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pewarna yaitu sebesar 0-7,5 mg/kg BB (PerKa BPOM, 2013).

C. Sari Buah

Pengertian produk minuman sari buah (*fruit juice*) menurut SNI 01-3719-1995 adalah minuman ringan yang dibuat dari sari buah dan air minum dengan atau tanpa penambahan gula dan bahan tambahan makanan yang diizinkan. Definisi sari buah menurut Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor HK. No. HK.00.05.52.4040 Tahun 2006 tentang Kategori Pangan mengatur definisi dan karakteristik dasar sari buah, terkait ketentuan bahan baku, proses pengolahan dan produk jadi, adalah cairan yang diperoleh dari bagian buah yang dapat dimakan yang dicuci, dihancurkan, dijernihkan (jika dibutuhkan), dengan atau tanpa pasteurisasi dan dikemas untuk dapat dikonsumsi langsung. Sari buah dapat berisi hancuran buah serta berpenampakan keruh atau jernih. Produk sari buah dapat dibuat dari satu atau campuran berbagai jenis buah. Pada sari buah hanya dapat

ditambahkan konsentrat jika berasal dari jenis buah yang sama. Sari buah merupakan hasil pengepresan atau ekstraksi buah yang sudah disaring. Pembuatan sari buah terutama ditujukan untuk meningkatkan ketahanan simpan serta daya guna buah-buahan. Pembuatan sari buah dari tiap-tiap jenis buah meskipun ada sedikit perbedaan, tetapi prinsipnya sama (Kemenristek RI, 2010).

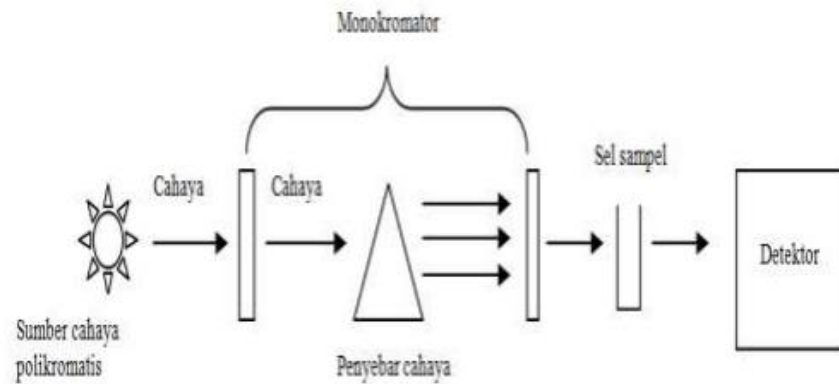
Keuntungan yang dapat diperoleh dari konsumsi minuman sari buah atau jus yaitu kemudahan dalam menghabiskannya. Selain itu, konsistensi yang cair dari jus memungkinkan zat-zat terlarutnya mudah diserap oleh tubuh. Proses pembuatan jus menimbulkan dinding sel selulosa dari buah akan hancur dan larut sehingga lebih mudah untuk dicerna oleh lambung dan saluran pencernaan (Wirakusumah, 2013).

D. Spektrofotometri UV-Vis

Metode Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang digunakan untuk tujuan identifikasi maupun penetapan kadar dari suatu zat berdasarkan dari nilai serapan maksimum pada panjang gelombang maksimum tertentu yang khas dimiliki oleh suatu zat tertentu (Setyawati, 2014).

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi (Neldawati *et al.*, 2013).

Prinsip kerja spektrometer berdasarkan hukum Lambert-Beer, bila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan) maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan. Absorban adalah suatu polarisasi cahaya yang terserap oleh bahan atau komponen kimia tertentu pada panjang gelombang tertentu sehingga akan memberikan warna tertentu terhadap bahan sinar yang dimaksud bersifat monokromatis dan mempunyai panjang gelombang tertentu. Persyaratan hukum Lambert-Beer antara lain radiasi yang digunakan harus monokromatik, energi radiasi yang di absorpsi oleh sampel tidak menimbulkan reaksi kimia, dan sampel (larutan) yang mengabsorpsi harus homogen. Spektrofotometer UV-Vis berguna untuk pengukuran secara kualitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Analisis kualitatif adalah analisis di mana zat diidentifikasi atau diklasifikasikan atas dasar kimia atau sifat fisik. Spektrofotometer UV-Vis melibatkan pengukuran fraksi radiasi elektromagnetik yang dapat diserap atau dikirimkan oleh sampel. Senyawa kemudian dapat diidentifikasi secara kualitatif dengan membandingkan spektrum penyerapan dengan spektrum senyawa yang dikenal (Setiawati, 2014). Prinsip kerja Spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar.3 Skema Prinsip Kerja Spektrofotometer UV-Vis (Yuwono, 2005).

1. Bagian-bagian Spektrofotometer UV-Vis

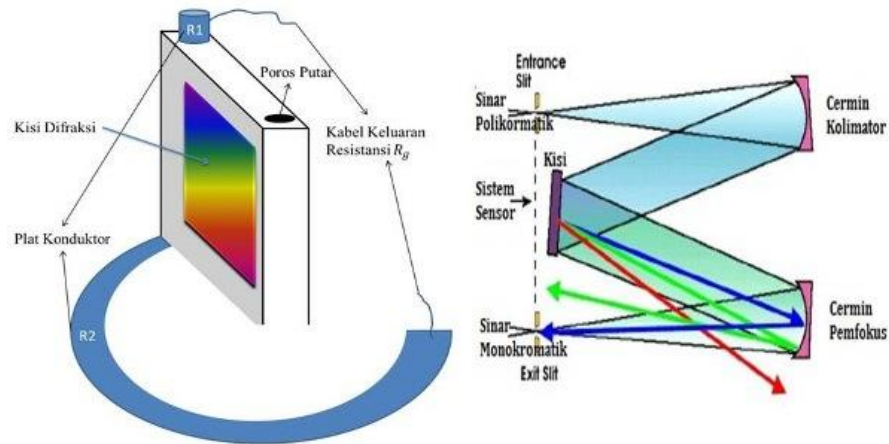
1.1. Sumber Tenaga Radiasi. Sumber radiasi yang ideal untuk pengukuran serapan harus menghasilkan spektrum kontinu dengan intensitas yang seragam pada keseluruhan kisaran panjang gelombang. Sumber radiasi sinar ultraviolet yang digunakan adalah lampu hidrogen dan lampu deuterium. Pada kedua lampu tersebut terdiri dari sepasang elektroda yang terselubung dalam tabung gelas dan diisi gas hidrogen atau deuterium pada tekanan yang rendah. Bila suatu elektron kembali ke tingkat dasar mereka dapat melepaskan radiasi yang kontinu dalam daerah sekitar 180 nm dan 350 nm. Sumber radiasi ultraviolet yang lain adalah lampu xenon, namun lampu ini tidak seestabil lampu hydrogen. Lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel (pada panjang gelombang antara 350-800 nm). Yang digunakan oleh

spektrofotometer adalah lampu wolfram atau sering disebut lampu tungsten, dan ada juga yang menggunakan lampu deuterium(lampu hydrogen) (Sastrohamidjojo, 2013).



Gambar.4 Lampu wolfram dan deuterium (Cazes, 2005).

1.2. Monokromator. Dalam spektrofotometer radiasi polikromatik harus diubah menjadi radiasi monokromatik. Memiliki dua jenis alat yang digunakan untuk mengurai radiasi polikromatik menjadi monokromatik yaitu penyaring/filter dan monokromator. Penyaring terbuat dari benda khusus yang hanya meneruskan radiasi pada daerah panjang gelombang tertentu dan dapat menyerap radiasi panjang gelombang yang lain. Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraikan radiasi polikromatik menjadi jalur-jalur dengan panjang gelombang tunggal (Sastrohamidjojo, 2013)



Gambar.4 Skema Monokromator (Dibbern *et al.*, 2002)

1.3. Kuvet. Pada pengukuran didaerah tampak, kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah UV kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvet adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk silinder dapat juga digunakan. Kuvet yang tertutup digunakan untuk pelarut organik. Sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan yang homogeny (Rohman, 2007).



Gambar.5 Kuvet (Suharman, 1995)

1.4. Detektor. Detektor menyerap tenaga foton yang mengenainya dan mengubah tenaga tersebut untuk dapat diukur secara kuantitatif seperti sebagai arus listrik atau sebagai perubahan panas. Detektor kebanyakan menghasilkan sinyal listrik yang dapat mengaktifkan meter atau pencatat. Persyaratan penting pada detektor yaitu sebagai berikut :

1.3.1. Sensitivitas tinggi hingga dapat mendeteksi tenaga cahaya yang memiliki tingkatan rendah sekalipun,

1.3.2. Waktu respons yang pendek,

1.3.3. Stabilitas yang lama untuk menjamin respons secara kuantitatif,

1.3.4. Sinyal elektronik yang mudah diperjelas.

Detektor yang digunakan dalam sinar ultraviolet dan terlihat disebut detektor fotolistrik (Sastrohamidjojo, 2013).



Gambar.6 Detektor (Mukhriani, 2004)

E. Validasi Metode

Validasi metode menurut *United States Pharmacopeia* (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis (Rohman, 2007).

1. Tujuan Dilakukan Validasi.

Suatu metode analisis harus divalidasi untuk melakukan verifikasi bahwa parameter-parameter kinerja cukup mampu untuk mengatasi problem analisis, karenanya suatu metode harus divalidasi ketika:

- 1.1. Metode baru dikembangkan untuk mengatasi problem analisis tertentu.
- 1.2. Metode yang sudah baku direvisi untuk menyesuaikan perkembangan atau karena munculnya suatu problem yang mengarahkan bahwa metode baku tersebut harus direvisi. Penjaminan mutu yang mengindikasikan bahwa metode baku telah berubah seiring dengan berjalannya waktu.

1.3. Metode baku digunakan dilaboratorium yang berbeda atau dikerjakan dengan alat yang berbeda.

1.4. Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dan metode baku.

2. Parameter Validasi.

2.1. Ketepatan (Akurasi). Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi, nilai sebenarnya atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan spiking pada suatu sampel (Harmita, 2004).

Untuk mendokumentasikan akurasi, ICH merekomendasikan pengumpulan data dari 9 kali penetapan kadar dengan 3 konsentrasi yang berbeda (misal 3 konsentrasi dengan 3 kali replikasi). Data harus dilaporkan sebagai persentase perolehan kembali (Rohman, 2007).

2.2. Presisi. Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Sesuai dengan ICH, presisi harus dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda yaitu: keterulangan (*Repeatibility*), presisi antara (*Intermediate Precision*) dan ketertiruan (*Reproducibility*)

2.2.1. Keterulangan yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik orangnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya.

2.2.2. Presisi antara yaitu ketepatan (*precision*) pada kondisi percobaan yang berbeda, baik orangnya, peralatannya, tempatnya maupun waktunya.

2.2.3. Ketertiruan merujuk pada hasil-hasil dari laboratorium yang lain.

2.2.4. Dokumentasi presisi seharusnya mencakup: simpangan baku, simpangan baku relatif (RSD), atau koefisien variasi (CV), dan kisaran kepercayaan.

Pengujian presisi pada saat awal validasi metode seringkali hanya menggunakan 2 parameter yaitu: keterulangan dan presisi antara. Reprodusibilitas biasanya dilakukan ketika akan melakukan uji banding antar laboratorium (Rohman, 2007).

Presisi seringkali diekspresikan dengan SD atau standar deviasi relatif (RSD) dari serangkaian data. Untuk menghitungnya dapat dirumuskandengan:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Keterangan :

SD : Standar Deviasi (Simpangan Baku)

X : Konsentrasi hasil analisis

N : Jumlah Pengulangan analisis

\bar{X} : Konsentrasi rata-rata hasil analisis

2.3. Batas Deteksi (*Limit Of Detection, LOD*). Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau dibawah nilai tertentu.

Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam kimia analisis adalah bahwa batas deteksi merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko (y_b) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ($3S_b$) (Rohman, 2007).

Limit Of Detection seringkali diekspresikan sebagai suatu konsentrasi pada rasionya 2 atau 3 dibanding 1. *International Conference Harmonisation* mengenalkan suatu konvensi metode signal to noise ratio ini, meskipun demikian ICH juga menggunakan 2 metode pilihan lain untuk menentukan LOD yakni: Metode non instrumental visual dan dengan metode perhitungan. Metode non instrumental visual digunakan pada teknik kromatografi lapis tipis dan pada metode titrimetri. LOD juga dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) respon dan kemiringan (Slope, S) kurva baku pada level yang mendekati LOD sesuai dengan rumus, $LOD = 3,3 (SD/S)$. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada standar deviasi blanko, pada standar deviasi residual dari garis regresi atau standar deviasi intersep y pada garis regresi (Harmita, 2004).

2.4. Batas kuantifikasi (*Limit of quantification, LOQ*). Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi (dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan). Kadang-kadang rasio signal to noise 10:1 digunakan untuk menentukan LOQ. Perhitungan LOQ

dengan rasio signal to noise 10:1 merupakan aturan umum, meskipun demikian perlu diingat bahwa LOQ merupakan suatu kompromi antara konsentrasi dengan presisi dan akurasi yang dipersyaratkan. Konsentrasi LOQ menurun maka presisi juga menurun. Presisi tinggi dipersyaratkan, maka konsentrasi LOQ yang lebih tinggi harus dilaporkan (Rohman, 2007)

International Conference Harmonisation mengenalkan metode rasio signal to noise ini, meskipun demikian sebagai mana dalam perhitungan LOD, *International Conference Harmonisation* juga menggunakan 2 metode untuk menentukan LOQ yaitu: (1 metode non instrumental visual) dan (2 metode perhitungan). Sekali lagi, metode perhitungan didasarkan pada standar deviasi respon (SD) dan slope (S) kurva baku sesuai dengan rumus: $LOQ = 10 (SD/S)$ standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan standar deviasi blanko pada standar deviasi residual garis regresi linier atau dengan standar deviasi intersep-y pada garis regresi (Rohman, 2007).

2.5. Linieritas. Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (Y) dengan konsentrasi (X). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat

ditentukan nilai kemiringan (Slope), intersep, dan koefisien korelasinya. (Rohman, 2007)

F. Landasan Teori

Tartrazin merupakan jenis pewarna sintetik yang terdaftar atau diizinkan oleh Pemerintah digunakan untuk pewarna makanan dan minuman. Selain untuk makanan dan minuman tartrazin juga digunakan untuk kosmetik dan obat-obatan. Batas normal pewarna tartrazin yang diizinkan oleh Pemerintah Indonesia berdasarkan peraturan kepala badan POM RI Nomor 37 Tahun 2013 tentang batas maksimal penggunaan BTP pewarna adalah 7,0 mg/kg untuk minuman berbasis air berperisa tidak berkarbonat, termasuk punches dan ades. Sedangkan berdasarkan Asupan harian yang dapat diterima (Acceptable Daily Intake) 0 – 7,5 mg/kg BB (Marwanti, 2010).

Memenuhi kebutuhan pangan dalam keadaan bebas dari resiko kesehatan yang disebabkan oleh kerusakan, kontaminasi, dan bahan tambahan. keamanan pangan merupakan faktor terpenting untuk dikonsumsi suatu produk pangan. Keamanan makanan dan minuman merupakan masalah kompleks sebagai hasil interaksi antara toksisitas mikrobiologis, toksisitas kimia dan status gizi. Pengamanan makanan dan minuman diselenggarakan untuk melindungi masyarakat dari makanan dan minuman yang tidak memenuhi ketentuan mengenai standarisasi persyaratan kesehatan.

Bahan tambahan pangan yang ada dalam makanan adalah untuk membuat makanan yang aman, tampak lebih berkualitas, tahan lama, menarik, serta cita rasa dan teksturnya lebih sempurna. Penggunaan bahan pengawet dapat menjadikan bahan makanan bebas dari kehidupan mikroba baik yang bersifat patogen maupun non patogen yang dapat menyebabkan kerusakan bahan makanan seperti pembusukkan.

Penambahan zat pewarna pada makanan dilakukan untuk memberi kesan menarik bagi konsumen, menyeragamkan warna makanan, menstabilkan warna dan menutupi perubahan warna selama penyimpanan. Penambahan zat pewarna tartrazin pada makanan terbukti mengganggu kesehatan bila dikonsumsi dengan jumlah yang banyak. Dimana zat warna tersebut akan terakumulasi di dalam tubuh dan menimbulkan berbagai macam penyakit, misalnya urtikaria (ruam kulit alergi), rhinitis (pilek), asma, purpura (kulit memar keunguan) dan anafilaksis sistemik (shock).

G. Hipotesis

1. Sampel sari buah yang beredar di wilayah Kelurahan Mojosongo, Jebres, Surakarta mengandung pewarna sintetis yaitu tartrazin.
2. Besar kadar tartrazin dalam sampel sari buah.
3. Sampel sari buah tersebut memenuhi persyaratan yang tercantum dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia

Nomor 37 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan
Tambahan Pangan Pewarna.