

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Keamanan Pangan**

Menurut Undang-Undang Republik Indonesia No.18/2012 tentang pangan, keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga aman untuk dikonsumsi.

Keamanan pangan adalah segala upaya yang dapat ditempuh untuk mencegah adanya indikasi yang membahayakan pada bahan pangan. Untuk memenuhi kebutuhan akan keadaan bebas dari resiko kesehatan yang disebabkan oleh kerusakan, pemalsuan dan kontaminasi, baik oleh mikroba atau senyawa kimia, maka keamanan pangan merupakan terpenting baik untuk dikonsumsi pangan dalam negeri maupun untuk tujuan ekspor. Keamanan pangan merupakan masalah kompleks sebagai hasil interaksi antara toksisitas mikrobiologi, toksisitas kimia dan status gizi. Hal ini berkaitan, dimana pangan yang tidak aman akan mempengaruhi kesehatan manusia yang pada akhirnya menimbulkan masalah terhadap status gizi (Windu, 2016).

Menurut Aminah dan Hidayah (2006), makanan jajanan masih mempunyai resiko terhadap kesehatan seperti infeksi oleh mikroorganisme patogen, keracunan, resiko kanker dan lain sebagainya. Resiko tersebut dapat terjadi karena minimnya pengetahuan tentang keamanan makanan. Nurlaela (2011), menyatakan bahwa keamanan pangan merupakan kebutuhan masyarakat, karena diharapkan melalui makanan yang aman, masyarakat akan terlindungi dari penyakit atau gangguan kesehatan lainnya. Keamanan pangan merupakan aspek penting dalam kehidupan. Seiring perkembangan jaman mengakibatkan pemahaman masyarakat mengenai pangan yang aman dan bernutrisi meningkat. Hal tersebut disebabkan pangan yang aman, sehat, dan bernutrisi seimbang merupakan hal pokok yang wajib dipenuhi agar menghasilkan generasi penerus bangsa yang sehat dan berkualitas (Alsuhendra dan Ridawati, 2013; Cahyadi, 2008).

## **B. Roti**

### **1. Pengertian Roti**

Roti berasal dari negara Mesir kuno pada ribuan tahun yang silam. Orang mesir kuno mengolah tepung gandum menjadi roti gepeng yang dipanggang di atas batu yang dipanaskan. Orang-orang Yunani dan Romawi kemudian membuat roti dengan cara dan bahan khas daerah setempat.

Roti memiliki definisi umum adalah makanan yang dibuat dari tepung terigu (tepung gandum) diragikan oleh khamir (*Saccharomyces cereviceae*) yang dipanggang lalu ke dalamnya ditambahkan bahan pelezat sebagai pelengkap. Menurut Mudjadjanto dan Yulianti (2004) roti adalah produk makanan yang terbuat dari fermentasi tepung terigu dengan ragi atau bahan pengembang lainnya, kemudian dipanggang. Roti adalah makanan yang terbuat dari tepung terigu yang diragikan dengan ragi roti dan dipanggang ke dalam adonan, serta boleh ditambahkan garam, gula, susu, lemak, dan bahan-bahan pelezat seperti coklat, dan kismis.

Menurut Sufi (1999) roti adalah makanan yang terbuat dari tepung terigu, air, dan ragi yang pembuatannya melalui tahap pengulenan, fermentasi (pengembangan), dan pemanggangan dalam oven. Bahan dan proses yang dilaluinya membuat roti memiliki tekstur yang khas. Dilihat dari cara pengolahan akhirnya, roti dapat dibedakan menjadi tiga macam, yaitu roti yang dikukus, dipanggang, dan yang digoreng. Bakpao dan mantao adalah contoh roti yang dikukus. Donat dan panada merupakan roti yang digoreng. Sedangkan aneka roti tawar, roti manis, pita bread, dan baquette adalah roti yang dipanggang.

### **2. Jenis-Jenis Roti**

Roti dapat dibedakan atas roti putih (white bread) dan roti (whole wheat bread). Roti putih dibuat dari tepung terigu, sedangkan roti coklat dibuat dari tepung gandum utuh (Mudjajanto, 2004). Proses pengolahan gandum menjadi terigu akan membuang bagian dedak yang kaya mineral dan serat pangan (*dietary fiber*). Namun saat ini, roti dari tepung gandum utuh dihargai lebih mahal karena kandungan gizi lebih banyak (Kusmiati, 2005).

Menurut Kusumastuti (2006), Roti juga mempunyai beberapa variasi yang terbagi menjadi lima jenis roti, yaitu:

1. Bakery, jenis roti manis yang berbahan dasar tepung terigu, mentega, telur, susu, air, dan ragi yang dalamnya dapat diisi keju, coklat, atau yang lainnya.
2. Cake, jenis roti yang berasa (manis) dengan tambahan rasa (sense) rum, jeruk atau coklat dengan bahan dasar tepung terigu, mentega, dan telur tanpa menggunakan isi.
3. Pastry, jenis roti kering yang bisa berupa sus dan croissant.
4. Donat, jenis roti tawar atau manis yang digoreng dan berlubang di tengahnya
5. Roti tawar, jenis roti yang berbahan dasar tepung terigu, susu, telur, mentega, ragi, dan air tanpa menggunakan isi.

### 3. Manfaat Roti

Manfaat roti diperkaya dengan berbagai macam zat gizi. Sebut saja beta karoten, thiamin(vit B1), riboflavin (vit B2), niasin, serta sejumlah mineral berupa zat besi, iodium, kalsium dan sebagainya. Roti juga diperkaya dengan asam amino tertentu untuk meningkatkan mutu protein bagi tubuh. Menurut Dr. Clara, M. Kusharto MS, dari Departemen Gizi Institut Pertanian Bogor, kandungan protein yang terdapat dalam roti mencapai 9,7 persen, lebih tinggi ketimbang nasi yang hanya 7,8 persen. Selain itu tidak seperti nasi yang hanya memiliki kadar pati 4-8 persen, dalam roti terdapat 13 persen pati. Empat iris roti, roti tawar akan menghasilkan kalori yang setara dengan sepiring nasi (Jenie, 1993)

## C. Bahan Tambahan Pangan

### 1. Pengertian Bahan Tambahan Pangan

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.033/MenKes/2012, Bahan Tambahan Pangan (BTP) adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan yang tidak digunakan sebagai bahan baku pangan, tidak mempunyai nilai gizi yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk tujuan teknologis pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan,

pengemasan, penyimpanan, dan/atau pengangkutan untuk menghasilkan suatu komponen atau mempengaruhi sifat pangan baik secara langsung maupun tidak.

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 11 Tahun 2019 bahan tambahan pangan (BTP) merupakan bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan. BTP tidak dikonsumsi sebagai makanan dan bukan merupakan bahan baku pangan. BTP dapat mempunyai nilai gizi, yang sengaja ditambahkan ke dalam pangan untuk tujuan teknologi pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan dan/atau pengangkutan pangan untuk menghasilkan atau diharapkan menghasilkan suatu komponen atau mempengaruhi sifat pangan tersebut, baik secara langsung atau tidak langsung.

## 2. Penggolongan Bahan Tambahan Pangan

Penggunaan bahan tambahan pangan yang tepat akan menghasilkan produk dengan kualitas yang baik. Namun, apabila penggunaannya berlebihan dapat mengakibatkan produk tersebut tidak aman lagi dikonsumsi ( Yuliarti, 2007). Hal tersebut disebabkan karena senyawa-senyawa yang menyusun bahan tambahan pangan merupakan senyawa-senyawa kimia sintesis yang apabila digunakan melebihi ambang batas yang mampu diserap tubuh dapat berakibat fatal bagi kesehatan (Alsuhendra dan Ridawati,2013). Bahan Tambahan Pangan yang diizinkan untuk digunakan pada makanan namun tetap memiliki ambang batas dalam penggunaannya berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 11 Tahun 2019 antara lain:

- Pemanis buatan adalah pemanis yang diproses secara kimiawi, dan senyawa tersebut tidak terdapat di alam, Contoh pemanis buatan: sakarin, siklamat, aspartam, dan sukralosa.
- Pengawet merupakan bahan yang untuk mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman, penguraian, dan perusakan lainnya terhadap Pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Contoh pengawet: nitrat, nitrit, asam sorbat, dan asam benzoat.

- Pewarna, berfungsi memberi atau memperbaiki warna. Contoh: karmin, kurkumin, karoten, *yellow* kuinolin, tartazin warna kuning dan karamel warna coklat.

Berdasarkan fungsinya, menurut Peraturan BPOM No. 11 Tahun 2019, BTP terdiri atas 27 golongan BTP yaitu :

- Antibuih (antifoaming agent);
- Antikempal (anticaking agent);
- Antioksidan (antioxidant);
- Bahan Pengkarbonasi (carbonating agent);
- Garam Pengemulsi (emulsifying salt);
- Gas untuk Kemasan (packaging gas);
- Humektan (humectant);
- Pelapis (glazing agent);
- Pemanis (sweetener), termasuk Pemanis Alami (natural sweetener) dan Pemanis Buatan (artificial sweetener);
- Pembawa (carrier);
- Pembentuk Gel (gelling agent);
- Pembuih (foaming agent);
- Pengatur Keasaman (acidity regulator);
- Pengawet (preservative);
- Pengembang (raising agent);
- Pengemulsi (emulsifier);
- Pengental (thickener);
- Pengeras (firming agent);
- Penguat Rasa (flavour enhancer);
- Peningkat Volume (bulking agent);
- Penstabil (stabilizer);
- Peretensi Warna (colour retention agent);
- Perisa (flavouring);
- Perlakuan Tepung (flour treatment agent);

- Pewarna (colour), termasuk Pewarna Alami (natural food colour) dan Pewarna Sintetis (synthetic food colour);
- Propelan (propellant); dan
- Sekuestran (sequestrant)

### 3. Tujuan Penambahan Bahan Tambahan Pangan

Menurut Yuliarti (2007), Bahan Tambahan Pangan dalam kehidupan sehari – hari sudah marak penggunaannya dalam pembuatan berbagai macam makanan, adapun fungsi dan tujuan penggunaan bahan tambahan pangan pada pangan diantaranya yaitu untuk :

- Mengawetkan pangan dengan mencegah pertumbuhan mikroba perusak pangan atau mencegah terjadinya reaksi kimia yang dapat menurunkan mutu pangan.
- Membentuk pangan menjadi lebih baik, renyah dan lebih enak di mulut
- Memberikan warna dan aroma yang lebih menarik sehingga menambah selera.
- Meningkatkan kualitas pangan.
- Menghemat biaya.

Adapun tujuan lain penambahan Bahan Tambahan Pangan dalam makanan menurut Saparinto dan Hidayati (2006) secara umum adalah untuk meningkatkan nilai gizi makanan, memperbaiki nilai estetika dan sensori makanan, memperpanjang umur simpan (*shelf life*) makanan.

## **D. Pewarna Bahan Pangan**

### 1. Pengertian Pewarna Bahan Pangan

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 11 Tahun 2019 secara umum pengertian pewarna adalah bahan tambahan pangan berupa pewarna alami dan pewarna sintetis, yang ketika ditambahkan atau diaplikasikan pada pangan, mampu memberi atau memperbaiki warna.

Menurut International Food Information Council Foundation (1994), pewarna pangan adalah zat yang digunakan untuk memberikan atau meningkatkan warna suatu produk pangan, sehingga menciptakan tampilan

tertentu dan membuat produk lebih menarik. Definisi yang diberikan oleh Depkes (1999) lebih sederhana, yaitu Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang dapat memperbaiki atau memberi warna pada pangan. (Wijaya, 2009).

## 2. Tujuan Penambahan Zat Pewarna

Penambahan zat pewarna pada makanan menurut Winarno (2004) adalah sebagai berikut :

- Memberikan kesan menarik bagi konsumen
- Menyeragamkan dan menstabilkan warna makanan
- Menutupi perubahan warna akibat proses pengolahan dan penyimpanan.

## 3. Klasifikasi Zat Pewarna Bahan Pangan

Ada beberapa hal yang dapat menyebabkan suatu bahan pangan berwarna, antara lain dengan penambahan zat pewarna. Secara garis besar, berdasarkan sumbernya dikenal dua jenis zat pewarna yang termasuk dalam golongan bahan tambahan pangan, yaitu pewarna alami dan pewarna sintesis (Cahyadi, 2009)

### a. Pewarna Alami

Menurut Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 11 Tahun 2019 secara umum pewarna alami (*Natural Colour*) adalah pewarna yang dibuat melalui proses ekstraksi, isolasi, atau derivatisasi (sintesis parsial) dari tumbuhan, hewan, mineral atau sumber alami lain, termasuk pewarna identik alami.

### b. Pewarna Sintetis

Menurut Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 11 Tahun 2019 secara umum Pewarna Sintetis (*Synthetic Colour*) adalah pewarna yang diperoleh secara sintesis kimiawi. Penyalahgunaan zat pewarna dikarenakan ketidaktahuan masyarakat mengenai zat pewarna untuk pangan dan harga zat pewarna untuk industri jauh lebih murah dibandingkan dengan zat pewarna untuk pangan (Cahyadi, 2009).

Pada produk pangan yang perlu dihindari adalah penggunaan zat pewarna yang berlebihan, tidak tepat, dan penggunaan zat pewarna berbahaya yang tidak diperuntukkan untuk pangan karena dapat memberikan dampak negatif terhadap kesehatan. Penggunaan zat pewarna baik alami maupun buatan sebagai bahan tambahan makanan telah diatur dalam Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 11 Tahun 2019 mengenai Bahan Tambahan Makanan. Sedangkan zat warna yang dilarang digunakan dalam pangan tercantum dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 239/MenKes/Per/V/85 mengenai Zat Warna Tertentu yang Dinyatakan sebagai Bahan Berbahaya diantaranya adalah Rhodamin B dan Methanil *Yellow* (Sajiman, Nurhamidi dan Mahpolah, 2015).

**Tabel 2.1 Bahan Pewarna Sintetis yang Diizinkan di Indonesia**

Pewarna		Nomor Indeks Warna (C.I.No.)	Batas Maksimum Penggunaan
Biru Berlian	Brilliant blue FCF : CI Food red 2	42090	Secukupnya
Eritrosin	Erithrosin : CI Food red 14	45430	Secukupnya
Hijau FCF	Fast green FCF : CI Food green 3	42053	Secukupnya
Indigotin	Indigotin : CI Food Blue I	73015	Secukupnya
Ponceau 4R	Ponceau 4R : CI Food red 7	16255	Secukupnya
Kuning Kuinalin	Quineline <i>yellow</i> : CI Food <i>yellow</i> 13	74005	Secukupnya
Kuning FCF	Sunset <i>yellow</i> FCF : CI Food <i>yellow</i> 3	15980	Secukupnya
Karmoisin	Carmoisine : CI Food Red 3	14720	Secukupnya
Tartrazine	Tartrazine	19140	Secukupnya

Merah allura	Allura red	16035	Secukupnya
Coklat HT	Brown HT : CI Food Brown 3	20285	Secukupnya

Sumber : Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 11 Tahun 2019

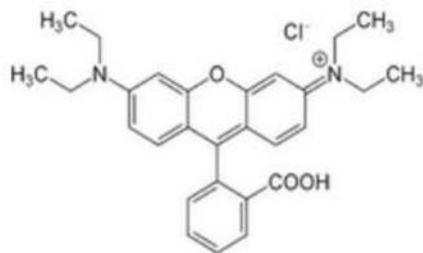
**Tabel 2.2 Bahan Pewarna Sintetis yang Dilarang di Indonesia**

Bahan Pewarna		Nomor Indeks Warna (C.I.No.)
Auramine	(Basic <i>Yellow</i> no.2)	41000
Alkanet		75520
Butter <i>Yellow</i>	(Solvent <i>Yellow</i> No.2)	11020
Black 7984	(Food Black 2)	27755
Burn Unber	(Pigment Brown 7)	77491
Chrysoidine	(Basic Orange 2)	11270
Chrysoine S	(Food <i>Yellow</i> 8)	14270
Citrus Red No. 2		12156
Chocolate Brown FB	(Chocolate Brown FB)	-
Fast Red E	(Food Red 4)	16045
Fast <i>Yellow</i> AB	(Food <i>Yellow</i> 2)	13015
Guinea Green B	(Acid Green No. 3)	42085
Indanthrene Blue RS	(Food Blue)	69800
Magenta	(Basic Violet 14)	42510
Metanil <i>Yellow</i>	(Ext. D&C <i>Yellow</i> No. 1)	13065
Oil Orange SS	(Solvent Orange 2)	12100
Oil Orange XO	(Solvent <i>Yellow</i> 7)	12140
Oil <i>Yellow</i> AB	(Solvent <i>Yellow</i> 5)	11380
Oil <i>Yellow</i> OB	(Solvent <i>Yellow</i> 6)	11390
Orange G	(Food Orange 4)	16230

Orange GGN	(Food Orange 2)	15980
Orange RN	(Food Orange 1)	15980
Orchid and Orcein		-
Ponceau 3R	(Acid Red 6)	16155
Ponceau SX	(Food Red 1)	14700
Ponceau 6R	(Food Red 8)	16290
Rhodamin B	(Food Red 15)	45170
Sudan I	(Solvent <i>Yellow</i> 14)	12055
Scarlet GN	(Food Red 2)	14815
Violet 6 B	(Food Red 2)	42640

Sumber : Peraturan Menkes RI Nomor 239/MenKes/Per/V/85

### E. Rhodamin B



**Gambar 2.1 Struktur Kimia Rhodamin B**

Sumber: Wisnu, 2008

Rhodamin B adalah pewarna terlarang yang sering ditemukan pada makanan, terutama makanan jajanan. Rhodamin B, yaitu zat pewarna berupa serbuk kristal berwarna hijau atau ungu kemerahan, tidak berbau, serta mudah larut dalam larutan warna merah terang berfluoresan sebagai bahan pewarna tekstil atau pakaian. Jenis jajanan yang banyak dijumpai dan dicampuri dengan Rhodamin B, antara lain bubur delima, cendol, kolangkaling, cincau dan

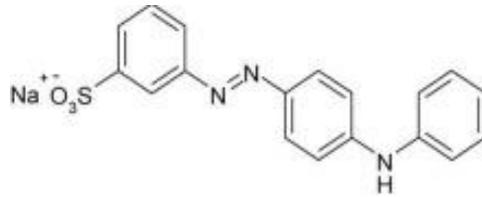
kue-kue lainnya. Setelah dicampuri bahan ini makanan tersebut menjadi berwarna merah muda terang (Yamlean, 2011).

Menurut pernyataan Sajiman dkk. (2015), Rhodamin B sering disalahgunakan pada pembuatan kerupuk, terasi, cabe merah giling, agar-agar, aromanis/kembang gula, manisan, sosis, sirup, minuman, dan lain-lain. Ciri-ciri pangan yang mengandung rhodamin B antara lain warnanya cerah mengkilap dan lebih mencolok, terkadang warna terlihat tidak homogen (rata), ada gumpalan warna pada produk, dan bila dikonsumsi rasanya sedikit lebih pahit.

Penggunaan Rhodamin B pada makanan dalam waktu yang lama (kronis) akan dapat mengakibatkan gangguan fungsi hati maupun kanker. Namun demikian, bila terpapar Rhodamin B dalam jumlah besar maka dalam waktu singkat akan terjadi gejala akut keracunan Rhodamin B. Bila Rhodamin B tersebut masuk melalui makanan maka akan mengakibatkan iritasi pada saluran pencernaan dan mengakibatkan gejala keracunan dengan air kencing yang berwarna merah atau merah muda. Dengan menghirup Rhodamin B dapat pula mengakibatkan gangguan kesehatan, yakni terjadinya iritasi pada saluran pernapasan. Demikian pula apabila zat kimia ini mengenai kulit, maka kulit pun akan mengalami iritasi. Mata yang terkena Rhodamin B juga akan mengalami iritasi yang ditandai dengan mata kemerahan dan timbunan cairan atau udem pada mata (Yuliarti, 2007).

Berbagai penelitian dan uji telah membuktikan bahwa dari penggunaan zat pewarna ini pada makanan dapat menyebabkan kerusakan pada organ hati. Pada uji terhadap mencit, diperoleh hasil yaitu terjadi perubahan sel hati dari normal menjadi nekrosis dan jaringan disekitarnya mengalami disintegrasi atau disorganisasi. Kerusakan pada jaringan hati ditandai dengan terjadinya piknotik dan hiperkromatik dari nukleus, degenerasi lemak dan sitolisis dari sitoplasma, batas antar sel tidak jelas, susunan sel tidak teratur dan sinusoid tidak utuh. Semakin tinggi dosis yang diberikan, maka semakin berat sekali tingkat kerusakan jaringan hati mencit (Yamlean, 2011).

## F. Metanil Yellow



**Gambar 2.2 Struktur Kimia Metanil Yellow**

Sumber: Sleiman dkk., 2007

Metanil *yellow* adalah zat warna sintetik berbentuk serbuk berwarna kuning kecoklatan, larut dalam air, agak larut dalam aseton. Metanil *yellow* merupakan senyawa kimia azo aromatik amin yang dapat menimbulkan tumor dalam berbagai jaringan hati, kandung kemih, saluran pencernaan atau jaringan kulit (Anonim,2007). Metanil *yellow* dibuat dari asam metanilat dan difenilamin. Kedua bahan ini bersifat toksik (Nainggolan dan Sihombing, 1984).

Metanil *yellow* merupakan pewarna tekstil yang sering disalahgunakan sebagai pewarna makanan. Pewarna tersebut bersifat sangat stabil (Gupta, dkk, 2003). Metanil *yellow* biasa digunakan untuk mewarnai wool, nilon, kulit, kertas, cat, alumunium, detergen, kayu, bulu, dan kosmetik (Anonimc , 2007). Pewarna ini merupakan tumor promoting agent (Gupta, dkk, 2003).

Penggunaan metanil *yellow* yang lama juga bisa menyebabkan kanker, keracunan, iritasi paruparu, paruparu, mata, tenggorokan, tenggorokan, hidung, hidung, dan usus. Efek zat warna Metanil *yellow* ialah selain bersifat karsinogenik, zat warna ini dapat merusak hati pada binatang percobaan, berbahaya pada anak kecil yang hypersensitive dan dapat mengakibatkan gejala-gejala akut seperti kulit menjadi merah, meradang, bengkak, timbul noda-noda ungu pada kulit, pandangan menjadi kabur pada penderita asma dan alergi lainnya

## **G. Analisis Pewarna dengan Kromatografi Kertas**

### **1. Pengertian Kromatografi Kertas**

Kromatografi kertas merupakan salah satu metode pemisahan berdasarkan distribusi suatu senyawa pada dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Pemisahan sederhana suatu campuran senyawa dapat dilakukan dengan kromatografi kertas, salah satu pengembangan dari kromatografi kortesi yang menggunakan kertas sebagai padatan pendukung fase diam. Oleh karena itu, disebut kromatografi kertas, sebagai fase diam adalah air yang teradsorpsi pada kertas dan sebagai larutan pengembang biasanya pelarut organik yang telah dijenuhkan dengan air (Basset, 1994).

Prinsip kromatografi kertas adalah adsorpsi dan kepolaran, di mana adsorpsi didasarkan pada panjang komponen dalam campuran yang diadsorpsi pada permukaan fase diam. dan kepolaran komponen berpengaruh karena komponen akan larut dan terbawa oleh pelarut jika memiliki kepolaran yang sama serta kecepatan migrasi pada fase diam dan fase gerak (Yazid, 2005).

Kromatografi kertas memiliki beberapa keuntungan yaitu, metode pemisahan lebih tajam, peralatan yang digunakan lebih sederhana, pekerjaan dapat diulang, hasilnya efektif (Moleong, 2011)

### **2. Metode Pemisahan Kromatografi Kertas**

Pada kromatografi kertas sebagai penyerap digunakan sehelai kertas dengan susunan serabut dan tebal yang sesuai. Pemisahan kromatografi dapat berlangsung menggunakan fase cair tunggal dengan proses yang sama dengan kromatografi adsorpsi dalam kolom. (Ditjen POM, 1995).

Kromatografi kertas menggunakan kertas saring whatman no. 1 dan sampai saat ini masih dipakai. Kertas dalam pemisahan terutama mempunyai pengaruh pada kecepatan alir pelarut. Sedangkan fungsi dari kertas sendiri sangat kompleks. Efek-efek serapan disebabkan oleh sifat polar dari gugus-gugus hidroksil dimana ini kemungkinan sangat penting dan sejumlah kecil dari gugus karboksil dalam selulosa dapat menaikkan terhadap efek-efek pertukaran ion (Hardjono, 1985). Kecepatan aliran naik dengan penurunan kekentalan dari pelarut (dengan kenaikan dalam suhu), tetapi aliran pelarut

pada suhu yang tertentu, ditentukan oleh kerapatan dan tebalnya kertas (Roy, 1991).

### 3. Pelarut Fase Bergerak

Pelarut Fase Bergerak merupakan campuran yang terdiri atas satu komponen organik yang utama, air dan berbagai tambahan seperti asam-asam, basa atau pereaksi-pereaksi kompleks untuk memperbesar kelarutan dari beberapa senyawa (Jim, 2009). Pelarut sangat mudah menguap, karena terlampau cepat mengadakan kesetimbangan, pada keadaan yang lain volalitas yang tinggi mengakibatkan lebih cepat hilang meninggalkan lembaran kertas setelah bergerak. Kecepatan Bergeraknya harus tidak cepat dipengaruhi oleh perubahan suhu. Penggunaan pelarut untuk senyawa-senyawa organik dipilih senyawa-senyawa yang bersifat polar agar lebih mudah larut dalam air daripada dalam zat-zat cair organik. Dalam pemisahan asam-asam amino sangat baik digunakan campuran berupa n-butanol, asam cuka dan air. Pelarut n-butanol sebenarnya bukan merupakan pelarut asam amino, akan tetapi bila dijenuhkan dengan air maka akan menjadi pelarut asam amino yang baik. Penambahan asam cuka dan pemberian lebih banyak air akan menjadikan kenaikan kelarutan asam-asam amino sehingga lebih mudah untuk berpisah (Sastrohamidjojo, 2002)

### 4. Cara Penempatan Cuplikan Pada Kertas

Larutan campuran yang akan dipisahkan ditempatkan pada kertas yang berupa noda. Biasanya dibiarkan untuk berkembang membentuk suatu bulatan. Bagian kertas yang ditetesi dibiarkan dalam keadaan mendatar, sehingga larutan pada keadaan kompak dalam bentuk bulatan. Dan jangan biarkan kertas tersentuh zat-zat yang lain. Biasanya diameter dari noda yang digunakan adalah 0,5 cm (Sastrohamidjojo, 2002).

## 5. Faktor Harga Rf

Menurut Sastrohamidjojo, H (2002) menyatakan bahwa dalam mengidentifikasi noda-noda dalam kertas sangat lazim menggunakan harga Rf (retordation factor) yang didefenisikan sebagai:

$$\text{Rumus: } \frac{\textit{jarak gerak zat terlarut}}{\textit{jarak gerak zat pelarut}}$$