

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Tahu**



**Gambar 2.1 Tahu Kuning**

Menurut Standar Nasional Indonesia 3142 : 2018 Tahu, didefinisikan produk berupa padatan yang dibuat melalui proses penggumpalan protein sari kedelai atau bubuk kedelai (Glycine Max) yang ditambahkan air menggunakan bahan tambahan pangan koagulan atau air asam. Tahu adalah makanan yang populer di masyarakat Indonesia sebagai makanan sehari-hari, kepopuleran tahu tidak hanya terbatas karena rasanya yang enak, tetapi juga mudah untuk membuatnya dan dapat diolah menjadi berbagai bentuk masakan serta harganya yang murah dan bergizi.

##### **2.1.1 Asal Mula Tahu**

Budaya makan tahu berasal dari Cina karena istilah tahu berasal dari Cina *tao-hu* atau *te-hu*. Suku kata *tao* atau *teu* berarti kedelai, sedangkan *hu* berarti lumat menjadi bubur. Secara harfiah, tahu berarti makanan dengan bahan baku kedelai yang dilumatkan menjadi bubur.

Tahu tergolong makanan kuno dan berdasarkan Pustaka kuno dari Cina dan Jepang, pembuatan tahu dan susu kedelai pertama kali diperkenalkan oleh Liu

An pada tahun 164 SM, pada zaman pemerintahan dinasti Han Liu An yang adalah filsuf, guru, ahli hukum, dan ahli politik dan juga mempelajari kimia dan meditasi ini kemudian memperkenalkan tahu kedelai temuannya kepada para biksu. Oleh para biksu cara membuat tahu ini disebarkan ke seluruh dunia sambil menyebarkan agama Budha. Sekarang produk ini telah dikenal seantero dunia dengan berbagai nama. Di Jepang lazim disebut *tofu*, di negara-negara berbahasa Inggris bernama *soybean curd* dan *tofu*.

Industri tahu di Indonesia mulai berkembang kemungkinan sejak kaum emigran Cina menetap dan bermukim di tanah air ini. Usaha ini dikembangkan sebagai mata pencaharian dan tumpuan hidup (Sarwono, dkk. 2005).

### 2.1.2 Syarat Mutu Tahu

Berdasarkan Standar Nasional Indonesia Nomor 3142 Tahun 2018 tentang Tahu, ditetapkan standar mengenai syarat mutu tahu.

Syarat mutu tahu dapat dijelaskan sebagai berikut:

**Tabel 2.1 Syarat Mutu Tahu**

No	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan:		
1.1	Bau	-	Normal
1.2	Rasa	-	Normal
1.3	Warna	-	Normal
1.4	Penampakan	-	Normal tidak berlendir
2	Formalin (HCHO)	-	Tidak boleh ada
3	Kadar air	Fraksi massa, %	Maks. 92

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
4	Protein (Nx5,71)	Fraksi massa, %	Min. 3,5
5	Abu tidak larut dalam asam	Fraksi massa, %	Maks. 0,1
6	Serat kasar	Fraksi massa, %	Maks. 0,1
7	Cemaran logam		
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0,25
7.2	Kadmium (Cd)	mg/kg	Maks. 0,05
7.3	Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40,0
7.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	Maks. 0,03
7.5	Cemaran arsen (As)	mg/kg	Maks. 0,1
8	Cemaran mikroba		Lihat Tabel 2

**Tabel 2.2 Kriteria Mikrobiologi Tahu**

No	Jenis Cemar Mikroba	N	C	m	M
1	Escherichia coli	5	0	< 3 APM/g	NA
2	Staphylococcus aureus	5	2	10 <sup>2</sup> koloni/g	10 <sup>3</sup> koloni/g
3	Salmonella	5	0	Negative/25 g	NA
CATATAN					
n	adalah jumlah sampel yang diambil dan dianalisis				
c	adalah jumlah maksimum sampel yang boleh melampaui batas mikroba				
m, M	adalah batas mikroba				
NA	adalah Not applicable				

### 2.1.3 Aneka Tahu Komersial

Tahu diperdagangkan dengan berbagai variasi bentuk, ukuran, dan nama. Selain tahu putih dan tahu biasa, di pasar juga dikenal berbagai tahu komersial yang sudah memiliki nama dan berciri khas. Misalnya tahu sumedang, tahu bandung, tahu cina, tahu kuning, tahu takwa, maupun tahu sutera (Sarwono, dkk. 2005).

#### 1. Tahu Sumedang

Tahu sumedang disebut juga tahu pong atau tahu kulit. Tahu ini merupakan lembaran-lembaran tahu putih setebal sekitar 3 cm dengan tekstur lunak dan kenyal. Tahu putih ini disimpan dalam wadah yang telah berisi air. Tahu putih yang siap olah biasanya dipotong kecil-kecil sebelum digoreng. Tahu gorengnya berupa tahu kulit yang lunak dan kenyal. Isinya kosong (kopong – Jawa) sehingga disebut tahu pong. Tahu Sumedang biasanya dikonsumsi sebagai makanan ringan dan dilalap dengan cabai rawit.

#### 2. Tahu Bandung

Tahu bandung berbentuk persegi (kotak), tekstur agak kerras dan kenyal, warnanya kuning karena sebelumnya telah direndam air kunyit. Tahu digoreng dengan mengoleskan sedikit minyak di wajan. Tahu ini enak dimakan dengan lalap cabai rawit.

#### 3. Tahu Cina

Tahu cina berupa tahu putih, teksturnya lebih padat, halus, dan kenyal, dibandinglan tahu biasa. Ukurannya sekitar 12 cm x 12 cm x 8

cm. Ukuran dan bobot tahu relatif seragam karena proses pembuatannya dicetak dan dipres dengan mesin. Dalam pembuatannya, digunakan sioko (kalsium sulfat) sebagai bahan penggumpal protein sari kedelainya.

#### 4. Tahu Kuning

Tahu kuning mirip tahu Cina. Bentuknya tipis dan lebar. Warna kuning dikarenakan sepuhan atau larutan sari kunyit. Tahu ini banyak digunakan dalam masakan Cina.

#### 5. Tahu Takwa (Tahu Kuning Kediri)

Tahu takwa merupakan tahu kuning khas Kediri, Jawa Timur. Jika biasanya tahu warnanya putih, bentuknya kotak. Berbeda dengan tahu yang ada di Kota Kediri, tahu di Kediri tidak berwarna putih, tetapi berwarna kuning (karena dimasak dengan air yang dicampur dengan tumbukan kunyit dan sedikit garam) dan biasa disebut tahu takwa, dari segi tekstur, tahu takwa lebih padat dan berisi, serta dari rasa pastinya lebih gurih.

Proses pengolahan tahu takwa pada prinsipnya sama dengan tahu biasa, hanya terdapat perbedaan dalam perlakuan, terutama pada perendaman kedelai dan pengepresan tahu. Bahan bakunya dipilih kedelai lokal yang berbiji kecil-kecil. Penggumpalan sari kedelai menggunakan asam cuka. Sebelum dipasarkan, tahu takwa dimasak atau dicelup beberapa menit dalam air kunyit mendidih sehingga warnanya menjadi kuning. Tahu dijual dan disimpan dalam keadaan kering tanpa perlu direndam air seperti tahu putih biasa.

#### 6. Tahu Sutera

Di pasar swalayan, dapat ditemukan tahu sutera, tahu jepang, atau *tofu*. Tahu ini sangat lembut dan lunak. Ulu tahu ini mudah sekali rusak sehingga harus diolah. Namun, sekarang proses pembuatannya lebih modern sehingga produknya lebih tahan lama. Oleh karenanya, tahu sutera sekarang disebut juga *long life tofu*. Tahu yang berasal dari Jepang ini biasanya dikonsumsi sebagai makanan penutup (*dessert*) dan disajikan sirup jahe agar cita rasanya lebih lezat.

#### **2.1.4 Pewarna pada Tahu**

Ada dua jenis pewarna makanan, yaitu pewarna alami dan pewarna sintetis. Produk tahu biasanya berwarna kuning. Dapat menggunakan pewarna alami atau pewarna buatan/sintetis makanan yang diizinkan penggunaannya (Suprapti, 2005).

Pewarna alami tahu biasanya menggunakan ekstrak kunyit. Kunyit yang berfungsi sebagai bahan pengawet, sebagaimana halnya dengan penambahan garam. Pewarnaan tahu dilakukan dengan cara-cara sebagai berikut (Suprapti, 2005).

- a. Kunyit dicuci dan diparut. Hasil parutan direbus hingga mendidih, kemudian disaring.
- b. Cairan kunyit tersebut selanjutnya digunakan untuk merebus tahu yang sudah selesai dicetak.
- c. Kadang kala garam tidak ditambahkan pada bubur tahu, akan tetapi ditambahkan pada air kunyit tersebut. Namun, rasa enak (gurih) tidak sampai ke bagian dalam tahu.

Tahu yang diberi pewarna alami ini cukup mudah dikenali karena pada permukaannya terdapat sedikit gumpalan-gumpalan dan beraroma khas kunyit. Para pembuat tahu biasanya lebih suka menggunakan pewarna sintetis dari pada pewarna alami karena lebih mudah penggunaannya dan warna tahu lebih cerah. Namun, pewarna sintetis yang digunakan kadang kala bukan pewarna makanan, melainkan pewarna cat atau kain yang bisa membahayakan kesehatan (Sarwono B, 2005).

#### **2.2 Bahan Tambahan Pangan (BTP)**

Menurut Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 Bahan Tambahan Pangan yang selanjutnya disingkat BTP adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan. Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 Bahan Tambahan Pangan, BTP terdiri atas 27 golongan BTP meliputi : antibiok

(*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*), pembawa (*carrier*), pembentuk gel (*gelling agent*), pembuih (*foaming agent*), pengatur keasaman (*acidity regulator*), pengawet (*preservative*), pengembang (*raising agent*), pengemulsi (*emulsifier*), pengental (*thickener*), penguat (*firming agent*), penguat rasa (*flavour enhancer*), penstabil (*stabilizer*), peretensi warna (*colour retention agent*), perasa (*flavouring*), perlakuan tepung (*flour treatment agent*), pewarna (*colour*), propelan (*propellant*), sekuestran (*sequestrant*) (BPOM, 2019).

Salah satu ciri yang penting dari suatu produk pangan adalah warna. Untuk menentukan kualitas makanan kriteria dasar bisa dilihat dari warna. Warna dapat memberi petunjuk mengenai perubahan kimia dalam makanan. Warna juga mempengaruhi persepsi akan rasa. Tujuan dari penggunaan zat warna adalah untuk membuat penampilan makanan dan minuman menjadi menarik, sehingga memenuhi keinginan konsumen. Pada umumnya pewarna dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu pewarna alami dan sintetis.

### **2.2.1 Pewarna Alami (*Natural Colour*)**

Pewarna alami (*natural colour*) adalah pewarna yang dibuat melalui proses ekstraksi, isolasi, atau derivatisasi (sintetis parsial) dari tumbuhan, hewan, mineral atau sumber alami lain, termasuk pewarna identik alami (Kemenkes, 2012).

Zat pewarna adalah daya tarik terbesar dalam menikmati makanan setelah aroma. Rasa yang lezat, aroma yang wangi dan tekstur yang lembut, Ketika penampakkannya tidak menarik maka mengurangi daya keinginan orang untuk membeli, penambahan bahan pewarna memberikan kesan yang menarik bagi konsumen, menyeragamkan dan menstabilkan warna. Pewarna dapat diklasifikasikan menjadi pewarna alami dan pewarna buatan (Widaryanto, 2018).

Beberapa contoh zat pewarna alami menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 003 Tahun 2012 bisa digunakan untuk mewarnai makanan yaitu sebagai berikut :

1. Kurkumin, menghasilkan warna kuning. Biasa digunakan untuk mewarnai produk tahu kuning

2. Karoten, menghasilkan warna jingga sampai merah. Biasanya digunakan untuk mewarnai produk-produk minyak dan lemak seperti minyak goreng dan margarin dapat diperoleh dari papaya dan wortel.
3. Karamel, berwarna coklat gelap dan merupakan hasil dari hidrolisis (pemecahan) karbohidrat, gula pasir, dan laktosa, serta sirup malt. Caramel terdiri dari tiga jenis, yaitu caramel cair untuk roti dan biscuit, serta caramel kering gula kelapa yang selain berfungsi sebagai pemanis juga memberikan warna merah kecoklatan pada minuman.
4. Antosianin, menghasilkan warna orange, ungu, merah, dan biru banyak terdapat pada bunga dan buah-buahan seperti bunga mawar, pacar air, aster cina, manggis, dan ubi jalar.

### **2.2.2 Pewarna Sintetis (Synthetic Colour)**

Pewarna sintetis (*synthetic colour*) adalah pewarna yang diperoleh secara sintetis kimiawi (Kemenkes, 2012). Pewarna sintetis pada umumnya terbuat dari bahan kimia. Misalnya *Carmoisin*, *Ponceau 4R*, *Briliant Blue*, *Tartrazin*, atau *Allura Red* merupakan pewarna sintetis yang masih diperbolehkan dalam produk pangan (Kemenkes, 2012). Namun, kadang-kadang pengusaha nakal juga masih menggunakan pewarna bukan makanan *non food grade* atau istilah dari golongan material yang tidak layak dipergunakan untuk produk pangan karena mengandung zat berbahaya/beracun. Bahan yang dilarang digunakan pada obat dan makanan ditetapkan pada Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 239/Menkes/Per/1985 tentang zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya. Zat warna tersebut adalah : Auramine, Alkanet, Butter Yellow, Black 7984, Burn Umber, Chrysoidine, Crysoine S, Citrus Red No. 2, Chocolate Brown FB, Fast Red E, Fast Yellow AB, Guinea Green B, Indranthrene Blue RS, Magenta, Metanil Yellow, Oil Orange SS, Oil Orange XO, Oil Yellow AB, Orange G, Orange GGN, Orange RN, Orchil/Orcein, Ponceau 3R, Ponceau 6R, Rhodamine B, Sudan I, Scarlet GN, dan Violet 6B (Kemenkes, 1985).

## 2.3 Metanil Yellow

### 2.3.1 Definisi Metanil Yellow



**Gambar 2.2 Zat Warna Metanil Yellow**

Metanil yellow atau kuning metanil merupakan zat warna sintetis berbentuk serbuk, padat, berwarna kuning kecoklatan, bersifat larut dalam air, dan alkohol, agak larut dalam benzene dan eter, serta sedikit larut dalam aseton. Metanil yellow adalah senyawa azo aromatik amin yang dapat menimbulkan tumor dalam berbagai jaringan hati, kandung kemih, saluran pencernaan atau jaringan kulit. Metanil yellow dibuat dari asam metanilat dan difenilamin. Kedua bahan ini bersifat toksik. Metanil yellow biasa digunakan untuk mewarnai wol, nilon, kulit, kertas, cat, aluminium, detergen, kayu, bulu, dan kosmetik (Fadila, 2013).

Metanil yellow senyawa pewarna tekstil yang sering disalahgunakan sebagai pewarna makanan. Saat ini banyak metanil yellow disalahgunakan untuk pangan, beberapa diantaranya, kerupuk, mie, gorengan, pangan jajanan berwarna kuning, dan banyak juga sebagai pewarna pada tahu. Pada penelitian di 10 pasar di Medan, enam sampel tahu kuning yang diperiksa mengandung pewarna alami sedangkan empat sampel tahu kuning dari empat pasar lainnya menunjukkan positif mengandung pewarna sintesis metanil yellow dengan kadar sebesar 0,0005 mg/kg; 0,0002 mg/kg; 0,0039 mg/kg dan 0,0007 mg/kg (Margaret, 2008).

Penyalahgunaan metanil yellow sebagai zat pewarna dalam makanan disebabkan oleh ketidaktahuan masyarakat mengenai zat pewarna untuk makanan, atau disebabkan karena tidak adanya penjelasan dalam label yang melarang penggunaan senyawa tersebut untuk bahan pangan, dan juga harga zat pewarna

untuk industri relatif jauh lebih murah dibandingkan dengan harga zat pewarna untuk makanan. Zat warna untuk tekstil tersebut juga memiliki warna yang lebih cerah dan praktis digunakan serta tersedia dalam kemasan kecil di pasaran memungkinkan masyarakat tingkat bawah dapat membelinya.

Zat warna metanil yellow memiliki beberapa kelebihan yaitu dapat menghasilkan warna yang lebih kuat, lebih seragam, dan lebih stabil. Warna yang dihasilkan dari pewarna ini akan tetap cerah meskipun sudah mengalami proses pengolahan dan pemanasan. Selain itu, penggunaannya sangat efisien karena pemakaian dalam jumlah sedikit sudah memberikan warna yang cukup intensif. Akan tetapi, jika pewarna tersebut terkontaminasi logam berat, maka akan sangat berbahaya.

Proses pembuatan zat pewarna sintetis biasanya melalui pemberian asam sulfat atau asam nitrat yang sering kali terkontaminasi oleh arsen atau logam berat lain yang bersifat racun. Pada pembuatan zat pewarna organik sebelum mencapai produk akhir, harus melalui suatu senyawa antara yang kadang-kadang berbahaya dan sering kali tertinggal dalam hasil akhir, atau terbentuk senyawa-senyawa baru yang berbahaya.

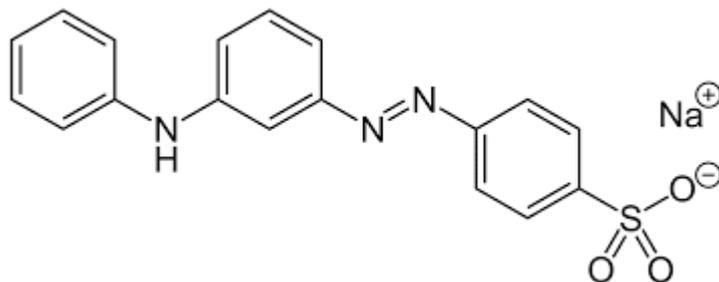
### **2.3.2 Struktur Kimia Metanil Yellow**

Zat warna sintetis dalam makanan menurut *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)* dapat digolongkan dalam beberapa kelas yaitu azo, triaril metana, quinoline, xantin, dan indigoid. Metanil yellow termasuk zat warna sintetis golongan azo yang telah dilarang digunakan pada pangan. Pada 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.

**Tabel 2.3 Data Metanil Yellow**

No.	Keterangan	Penjelasan
1.	BM	375,38 g/mol
2.	Rumus Molekul	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> Na
3.	Nomor CAS	587-98-4
4.	RTECTS	DB7329500
5.	Merk Index	14.5928
6.	pH	1.2-2.3
7.	Titik Leleh	>250°C
8.	Golongan	Dyes, azo
9.	Kelarutan	Larut dalam air, alkohol, sedikit larut dalam benzene, dan agak larut dalam aseton
10.	Sinonim	<i>3-(4-Anilinophenylazo) benzenesulfonic acid sodium salt; Acid Yellow 36</i>

Zat warna sintetis yang memiliki rumus kimia C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>Na dengan penampakan fisik berwarna orange sampai kuning tersebut memiliki struktur seperti di bawah ini:



**Gambar 2.3 Struktur Kimia Metanil Yellow**

### 2.3.3 Bahaya Metanil Yellow

Metanil yellow merupakan senyawa kimia azo aromatik amin yang telah dilarang digunakan dalam pangan. Pewarna ini merupakan tumor *promoting agent* dan dapat menyebabkan kerusakan hati. Pewarna metanil yellow 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 kemih. Apabila tertelan dapat menyebabkan iritasi saluran cerna, mual, muntah, sakit perut, diare, demam, lemah, dan tekanan darah rendah.

Penelitian mengenai paparan kronik metanil yellow terhadap tikus putih (*Ratus norvegicus*) yang diberikan melalui pakannya selama 30 hari, diperoleh hasil bahwa terdapat perubahan histopatologi dan ultrastruktural pada lambung, usus, hati, dan ginjal. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Iwan T. Budiarmo dkk juga menemukan perubahan *cystic kidney* pada ginjal. Penelitian lain yang menggunakan tikus galur wistar sebagai hewan ujinya menunjukkan hasil bahwa konsumsi metanil yellow dalam jangka panjang dapat mempengaruhi sistem saraf pusat yang mengarah pada neurotoksisitas.

Bahaya metanil yellow masuk ke dalam daftar bahan tambahan makanan yang tidak boleh dikonsumsi berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 239/Men.Kes/Per/V/85.

**Tabel 2.4 Zat Pewarna Berbahaya Dalam Obat dan Makanan**

<b>No.</b>	<b>Nama</b>	<b>Nomor Indeks Warna (C. I. No.)</b>
1.	Auramine (C.I Basic Yellow 2)	41000
2.	Alkanet	75520
3.	Butter Yellow (C.I. Solvent Yellow 2)	11020
4.	Black 7984 (Food Vlack 2)	27755
5.	Burn Unber (Pigment Brown 7)	77491
6.	Chrysoidine (C.I. Basic Orange 2)	11270
7.	Chrysoine S (C.I. Food Yellow 8)	14270
8.	Citrus Red No. 2	12156
9.	Chocolate Brown FB (Food Brown 2)	-
10.	Fast Red E (C. I. Food Red 4)	16045
11.	Fast Yellow AB (C. I. Food Yellow 2)	13015
12.	Guinea Green B (C. I. Acid Green No. 3)	42085
13.	Indanthrene Blue RS (C. I. Food Blue 4)	69800
14.	Magenta (C. I. Basic Violet 14)	42510
<b>15.</b>	<b>Metanil Yellow (Ext. D&amp;C Yellow No. 1)</b>	<b>13065</b>
16.	Oil Orange SS (C. I. Solvent Orange 2)	12100
17.	Oil Orange XO (C. I. Solvent Orange 7)	12140
18.	Oil Orange AB (C. I. Solvent Orange 5)	11380
19.	Oil Orange AB (C. I. Solvent Orange 6)	11390
20.	Orange G (C.I. Food Orange 4)	16230
21.	Orange GGN (C.I. Food Orange 2)	15980
22.	Orange RN (Food Orange 1)	15970
23.	Orchid and Orcein	-
24.	Ponceau 3R (Acid Red 1)	16155
25.	Ponceau SR (C. I. Food Red 1)	14700
26.	Ponceau 6R (C. I. Food Red 8)	16290
27.	Rhodamin B (C. I. Solvent Yellow 14)	45170
28.	Sudan 1 (C. I. Solvent Yellow 14)	12055
29.	Scarlet GN (Food Red 2)	14815
30.	Violet 6 B	42640

## **2.4 Macam-Macam Metode untuk Analisis Pewarna Makanan**

### **2.4.1 Metode Menggunakan Kolom Poliamida**

Sesuai dengan SNI 01-28-95-1992 metode yang dapat digunakan untuk uji pewarna tambahan makanan ialah metode menggunakan kolom poliamida. Pada metode ini memiliki prinsip yaitu penyerapan zat warna contoh oleh poliamida dengan pelarutan zat warna yang telah bebas dari pengotor dalam NaOH metanolat. Pada pH tertentu dan setelah pekatan, perbandingan zat warna contoh dengan zat warna standar dilakukan secara kromatografi kertas.

### **2.4.2 Metode TLC Densitometri**

Metode yang dapat digunakan untuk uji pewarna tambahan makanan ialah metode metode TLC (*Thin Layer Chromatography*) atau dalam Bahasa Indonesia disebut Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu contoh kromatografi planar di samping kromatografi kertas. Prinsip dari metode ini adalah sinar yang melalui bercak pada panjang gelombang tertentu akan diubah oleh menjadi sinyal listrik dan dicatat oleh rekorder sebagai puncak-puncak tertentu. Dengan bantuan kalibrasi standar, kandungan zat warna dalam contoh dapat ditetapkan. Pada densitometer ada 3 sumber radiasi tergantung dari panjang gelombang yang digunakan. Lampu tungsten digunakan untuk mengukur daerah sinar tampak (400-800 nm) dan untuk pengukuran daerah ultraviolet (190-400 nm) digunakan lampu deuterium. Zat yang berpendar sendiri (self-fluorescence) diukur fluoresensinya menggunakan lampu uap merkuri bertekanan tinggi yang memiliki panjang gelombang antara 254-578 nm (Deinstrop, 2007).

### **2.4.3 Metode Spektrofotometri UV Visible**

Spektrofotometer sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spectrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorbansi. Jadi, spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi elektromagnetik jika energi tersebut ditransmisikan. Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengidentifikasi zat tunggal. Metode spektrofotometri UV-Vis ini merupakan teknik analisis yang menggunakan sinar

ultraviolet pada panjang gelombang 100-400 nm dan sinar tampak pada panjang gelombang sebesar 400-750 nm. Prinsip spektrofotometri UV-Vis adalah sinar yang datang akan diteruskan diserap. Sinar yang diserap intensitasnya berbanding lurus dengan besarnya konsentrasi zat yang menyerap sinar (Suhartati, 2017).

#### **2.4.4 Metode Tes Kit**

Tes kit merupakan suatu alat yang dapat digunakan untuk mendeteksi kadar suatu senyawa dengan cukup akurat yang mudah digunakan dan dioperasikan oleh berbagai kalangan. Menurut teori “Pengujian metanil yellow dengan menggunakan alat uji *chem kit* untuk metanil yellow dimana dikatakan suatu bahan mengandung metanil yellow apabila terbentuk warna ungu, hasil reaksi dengan pereaksi pada *chem kit* atau terjadi perubahan warna dari warna sebelumnya juga dapat mengindikasikan adanya pewarna metanil yellow dalam makanan. Pembentukan warna ungu didasarkan pada reaksi metanil yellow dengan asam yang terdapat dalam pereaksi *chem kit* (Azizahwati, 2007).

#### **2.4.5 Metode Kromatografi**

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan analit-analit dalam sampel terdistribusikan antara 2 fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa bahan padat atau dalam bentuk cairan yang dilapiskan pada dinding kolom. Fase gerak juga dapat berupa gas atau cairan.

##### **1. Kromatografi Kertas Menggunakan Benang Wol**

Sesuai dengan SNI 01-28-95-1992 metode yang dapat digunakan untuk uji pewarna tambahan makanan ialah metode kromatografi kertas menggunakan benang wol. Pada metode ini memiliki prinsip yaitu penyerapan zat warna contoh benang wol dalam suasana asam dengan pemanasan, dilanjutkan dengan pelarutan benang wol yang telah berwarna.

##### **2. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode yang banyak digunakan untuk mendeteksi suatu senyawa dalam campuran berdasarkan kepolaran. Prinsip kerja KLT adalah memisahkan sampel

berdasarkan sifat polar antara sampel dengan pelarut yang dipakai. Kromatografi Lapis Tipis merupakan suatu metode pemisahan dengan menggunakan pelat atau lempeng kaca yang telah dilapisi oleh adsorben yang bertindak sebagai fase diam. Sementara itu, fase gerak akan bergerak melalui fase diam sambil membawa dan memisahkan senyawa-senyawa dari campurannya di tempat tolok menurut gaya interaksi antara analit fase gerak dengan fase diam. Metode tersebut adalah metode sederhana, cepat dalam pemisahan, dan cukup sensitif. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan yang ditotolkan. Selanjutnya, pelat dimasukkan ke dalam bejana tertutup rapat berisi larutan yang disebut sebagai fase gerak. Prinsip KLT dilakukan berdasarkan penggunaan fase diam untuk memperoleh pemisahan yang baik. Kromatografi Lapis Tipis umumnya menggunakan fase diam berupa serbuk silika gel, selulosa, dan alumina.

Kelebihan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) :

1. Kecerbagaan KLT

Kecerbagaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) disebabkan oleh kenyataan bahwa sejumlah penyerap yang berlainan dapat disaputkan pada pelat kaca atau penyangga lain yang digunakan untuk kromatografi. Meskipun silika gel paling banyak digunakan, lapisan dapat juga dibuat dengan aluminium oksida, kalsium hidroksida, magnesium fosfat, ceteli, dammar penukar ion, sephadex, poliamida, polivinil pirolidon, selulosa, serta campuran dua atau lebih bahan-bahan tersebut.

2. Kecepatan KLT

Kecepatan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) lebih besar karena sifat penyerap lebih padat apabila disaputkan pada pelat dan memberikan keuntungan dalam menelaah senyawa labil.

3. Kepekaan KLT

Kepekaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) disebabkan oleh pemisahan bahan yang berjumlah yang lebih sedikit dari ukuran  $\mu\text{g}$ .

Adapun keuntungan menggunakan kromatografi lapis tipis adalah dapat memisahkan senyawa yang amat berbeda, seperti senyawa organik alam dan senyawa organik sintetis, kompleks organik dan anorganik, serta ion organik, dengan alat yang terjangkau, dan waktu yang cepat (Serafica, 2023).

## 2.5 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis adalah kromatografi digunakan untuk memisahkan campuran dari substansinya menjadi komponen-komponennya. Seluruh bentuk kromatografi bekerja berdasarkan prinsip yang sama. Pada pemisahan kromatografi umumnya dihentikan pada saat sebelum semua fase gerak melewati seluruh permukaan fase diam. Faktor retensi solute ( $R_f$ ) diartikan sebagai perbandingan jarak yang ditempuh solute dengan jarak yang ditempuh fase gerak. Nilai  $R_f$  dapat dihitung dengan rumus persamaan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut (A)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak (B)}}$$

Nilai maksimum  $R_f$  adalah 1 yang berarti solut telah bergerak dengan kecepatan yang sama dengan fase gerak. Nilai  $R_f$  minimum adalah 0 dan ini telah diamati jika solute tertahan pada posisi awal yaitu awal titik penotolan dipermukaan fase diam (Ganjar dan Rohman, 2007).

Sistem dari fase gerak adalah campuran 2 pelarut organik karena daya dari elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Berikut adalah beberapa petunjuk dalam memilih dan juga mengoptimasi fase gerak (Ganjar dan Rohman, 2007):

1. Fase gerak harus memiliki kemurniaan yang sangat tinggi
2. Daya elusi dari fase gerak harus diatur sehingga nilai  $R_f$  terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
3. Solut yang ionic dan polar lebih baik digunakan sebagai fase gerak dari campuran pelarut seperti campuran air dan metanil yellow dengan perbandingan tertentu. Penambahan sedikit asam ammonia atau etanoat akan meningkatkan solute yang bersifat basa dan asam.

Fase diam dalam metode kromatografi ini adalah fase yang berupa pelarut yang terserap pada plat KLT berupa silica gel. Pada semua prosedur metode kromatografi, dicapai kondisi optimum bila terdapat kecocokan antara fase gerak dengan fase diam. Setiap jenis fase diam sangat beragam karena struktur, ukuran dan kemurnian fase diam serta zat tambahan sebagai pengikat (Ganjar dan Rohman, 2007).