

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Analisis Organoleptis

Sampel diperiksa secara organoleptis yaitu pemeriksaan terhadap bentuk, warna, dan bau. Hasil analisis organoleptis dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Organoleptis

No	Sampel	Bentuk	Warna	Bau
1	Sampel A	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung
2	Sampel B	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung
3	Sampel C	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung
4	Sampel D	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung
5	Sampel E	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung
6	Sampel F	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung
7	Sampel G	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung
8	Sampel H	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung
9	Sampel I	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung
10	Sampel J	Persegi panjang	Merah muda	Khas tepung

Berdasarkan tabel di atas, seluruh sampel dari sampel A – sampel J memiliki bentuk, warna dan bau yang sama, yaitu memiliki bentuk persegi panjang, memiliki warna merah muda dan memiliki bau khas tepung.

2. Analisis Kualitatif

a. Benang wol

Uji kualitatif menggunakan benang wol adalah skrining awal sebelum dilakukan uji KLT. Uji benang wol merupakan uji yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi zat warna rhodamin B. Prinsip dari identifikasi ini yaitu pewarna rhodamin B akan terikat pada benang wol dan tidak tercuci oleh air. Hasil dari metode benang wol dapat dilihat pada **Tabel 4** dan **Lampiran 3**.

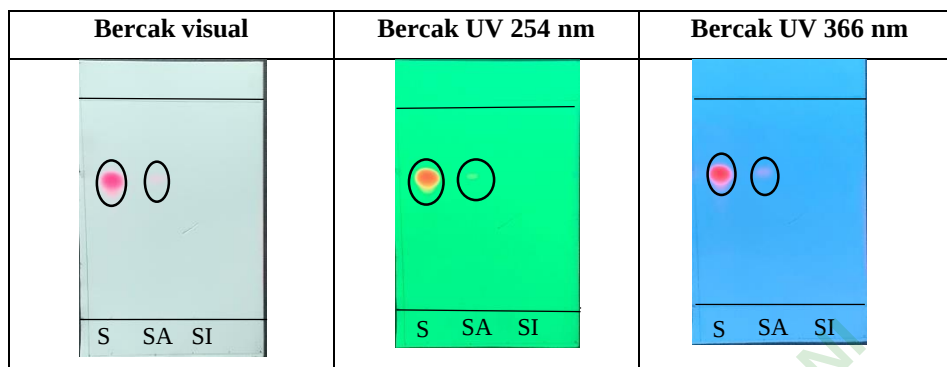
Tabel 4. Hasil Analisis Kualitatif Metode Benang Wol

No	Sampel	Warna	Keterangan
1	Pembanding	Merah muda	+
2	Sampel A	Merah muda	+
3	Sampel B	Putih	-
4	Sampel C	Putih	-
5	Sampel D	Putih	-
6	Sampel E	Putih	-
7	Sampel F	Putih	-
8	Sampel G	Putih	-
9	Sampel H	putih	-
10	Sampel I	Putih	-
11	Sampel J	putih	-

Keterangan: (-) tidak memiliki kandungan rhodamin B, (+) memiliki kandungan rhodamin B.

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Selain menggunakan metode benang wol, identifikasi rhodamin B dapat menggunakan metode KLT. Analisis ini dilakukan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia yang didasarkan atas perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut. Senyawa penanda yang diteliti pada penelitian ini adalah rhodamin B yang berstandar BPL (Baku Pembanding Laboratorium). Konsentrasi sampel yang digunakan adalah 50.000 ppm, sedangkan konsentrasi standar 1000 ppm. Setiap sampel dan standar rhodamin B di totolkan ke fase diam plat silika gel G254 yang bersifat polar. Fase gerak yang digunakan dalam penelitian harus mampu membawa cuplikan melalui fase diam. Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini adalah n-butanol: etil asetat: ammonia dengan perbandingan 10 : 4 : 5. Penampakan bercak KLT pada masing-masing sinar UV ditunjukkan pada **Gambar 5** dan pada **Lampiran 4**.



Gambar 5. Penampakan Bercak Plat KLT dengan keterangan: S = standar, SA = sampel A, dan SI = sampel I

Analisis kualitatif rhodamin B pada KLT menunjukkan bahwa hasil pada sampel A positif terkandung rhodamin B yang memberikan bercak orange pada UV 254 nm, merah muda pada UV 366 nm maupun secara visual. Setelah itu dihitung nilai R_f pada sampel dan standar yang dapat dilihat pada **Tabel 5** dan **Lampiran 4, Hal 44**. Nilai R_f sampel sama dengan 0,78 sedangkan R_f standar rhodamin B, yaitu 0,78. Menurut Khasanah *et al.*, (2022) nilai R_f yang baik yaitu 0,2 - 0,8. Selain itu, sampel dapat dikatakan positif jika memberikan jarak R_f pembanding dan sampel $\leq 0,05$. Setelah uji KLT langkah selanjutnya adalah uji kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Tabel 5. Hasil Analisis Kualitatif Rhodamin B dengan KLT

No	Sampel	Bercak UV 254 nm	Bercak UV 366 nm	Bercak secara visual	Nilai R_f	Keterangan
1	Pembanding	Orange	Merah muda	Merah muda	0,65	+
2	Sampel A	Orange	Merah muda	Merah muda	0,65	+
3	Sampel B	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
4	Sampel C	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
5	Sampel D	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-

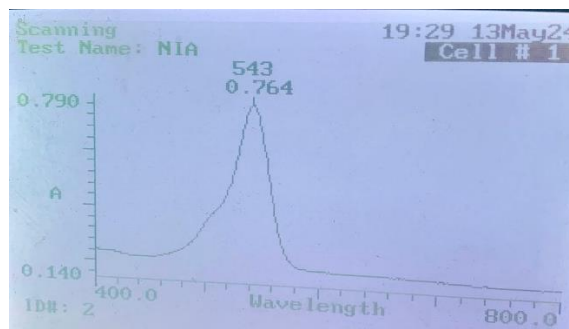
No	Sampel	Bercak UV 254 nm	Bercak UV 366 nm	Bercak secara visual	Nilai Rf	Keterangan
6	Sampel E	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
7	Sampel F	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
8	Sampel G	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
9	Sampel H	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
10	Sampel I	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-
11	Sampel J	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	Tidak ada bercak	-	-

Keterangan: (-) tidak memiliki kandungan rhodamin B, (+) memiliki kandungan rhodamin B.

3. Hasil Analisis Kuantitatif dengan Spektrofotometri UV-Vis

a. Penentuan panjang gelombang maksimum rhodamin B

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang pengukuran rhodamin B agar mendapatkan absorbansi yang optimum. Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan mengukur absorbansi pada *range* 400 nm – 800 nm. Hasil panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada **Gambar 5**. Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu 543 nm dengan nilai absorbansi 0,764 sedangkan pada penelitian Taupik *et al.*, (2021) diperoleh panjang gelombang 545 nm. Panjang gelombang pada penelitian ini mengalami pergeseran ke arah hipsokromik.



Gambar 5. Panjang Gelombang Maksimum Rhodamin B

b. Penentuan kurva baku rhodamin B

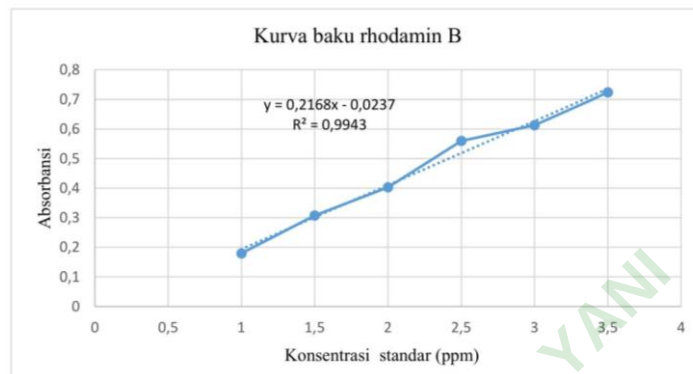
Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum, selanjutnya dilakukan penentuan kurva baku. Pada penelitian ini pembuatan kurva baku menggunakan rhodamin B dengan konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30, dan 35 ppm yang dibuat dari konsentrasi 1000 ppm. Tujuan dari penentuan ini adalah untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan dengan nilai absorbansi sehingga konsentrasi sampel dapat diketahui (Kudus, 2020). Pada penelitian ini pengukuran kurva baku rhodamin B menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 543 nm. Hasil absorbansi kurva baku rhodamin B dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil Absorbansi Kurva Baku Rhodamin B

Konsentrasi standar (ppm)	Absorbansi
1	0,179
1,5	0,307
2	0,403
2,5	0,560
3	0,613
3,5	0,723

Hasil dari absorbansi kurva baku rhodamin B berupa kurva regresi linier yang diperoleh dari hubungan antara konsentrasi baku rhodamin B dengan absorbansi. Penentuan kurva baku digunakan untuk memperoleh persamaan garis linier $y = bx + a$ dan akan

diperoleh nilai koefisiensi kolerasi (r). Kurva regresi linier dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 6. Kurva Baku Rhodamin B

Persamaan kurva baku dengan rentang kadar 1 – 3,5 ppm adalah $y = 0,2168x - 0,0237$ dengan nilai koefisien kolerasi (r) sebesar 0,9971 dan r tabel 0,8114, dimana nilai r hitung $> r$ tabel sehingga nilai regresi dapat di terima.

c. Penentuan kadar rhodamin B dalam sampel

Berdasarkan hasil analisis kualitatif benang wol dan KLT diperoleh satu sampel kerupuk merah mentah jenis padang positif mengandung rhodamin B yaitu sampel A. Selanjutnya sampel tersebut dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk diketahui kadar rhodamin B dalam sampel. Nilai kadar dari sampel kerupuk merah mentah jenis padang dihitung nilai statistika berupa nilai rata-rata, standar deviasi, koefisien variasi, dan LE. Hasil perhitungan dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Hasil Pengukuran Kadar Sampel

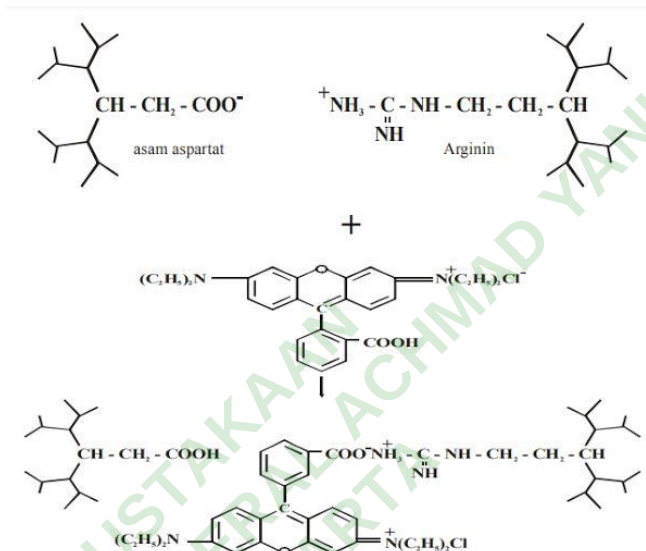
Sampel	Replikasi	Absorbansi	Kadar (%b/b)	$\bar{x} \pm LE$ (%)	SD	CV (%)
Sampel A	1	0,316	1,5668	0,0524 $\pm$ 0,0002	0,0004	0,7633
	2	0,320	1,5853			
	3	0,317	1,5714			

B. Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan analisis kadar rhodamin B pada kerupuk merah mentah jenis padang yang diperoleh dari beberapa pasar Kota Yogyakarta diantaranya pasar Beringharjo, pasar Demangan, pasar Ngasem, pasar Lempuyangan, dan pasar Sentul. Teknik pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* yaitu dimana sampel yang akan diambil sudah ditentukan berdasarkan kriteria. Langkah awal penelitian ini adalah dilakukan pemeriksaan secara organoleptis. Tujuan dari uji organoleptis untuk melihat kualitas dari bahan yang akan diuji melalui panca indera. Dari pemeriksaan organoleptis yang dilakukan diketahui bahwa sampel berbentuk persegi panjang, memiliki warna merah, dan memiliki bau khas tepung.

Setelah itu dilakukan uji kualitatif dengan metode benang wol dan KLT. Metode benang wol merupakan uji yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi zat warna rhodamin B. Prinsip dari identifikasi ini yaitu penyarian zat warna rhodamin B dalam sampel yang akan terikat pada benang wol berdasarkan atas sifat kelarutan dari rhodamin B (Nisa *et al.*, 2022). Pada proses preparasi sampel dengan benang wol terdapat penambahan asam asetat 10% yang berfungsi untuk pemberi suasana asam pada rhodamin B. Diketahui rhodamin B bersifat basa, akibat penambahan asam asetat akan membuat rhodamin B menjadi bentuk ionnya (terionisasi). Selanjutnya dimasukkan benang wol sepanjang 15 cm yang berfungsi untuk mengambil warna dari sampel, kemudian dipanaskan di atas *hot plate* untuk mengambil warna sampel agar melekat pada benang wol. Penarikan zat warna dari sampel ke benang wol karena ada proses pemanasan dalam suasana asam, sehingga akan terjadi pelunturan warna dari rhodamin B (Nisa *et al.*, 2022). Setelah itu dilakukan proses pencucian untuk melihat apakah benang wol masih berwarna merah muda atau tidak, jika masih berwarna merah muda dapat disimpulkan bahwa sampel positif mengandung rhodamin B dan jika setelah dicuci bersih benang wol kembali ke warna semula putih bersih maka dapat disimpulkan bahwa sampel tidak mengandung rhodamin B yang artinya negatif rhodamin B (Ahsyaf *et al.*, 2023). Dari 10 sampel yang dianalisis dengan metode benang

wol terdapat satu sampel positif mengandung rhodamin B. Namun metode benang wol hanya digunakan untuk skrining awal dan hasilnya bisa kurang selektif sehingga perlu dilakukan analisis lanjutan seperti Kromatografi Lapis tipis (KLT). Reaksi antara benang wol dengan rhodamin B dapat dilihat pada **Gambar 8**.



Gambar 7. Reaksi Benang Wol dengan Rhodamin B
(Nisa *et al.*, 2022)

Langkah preparasi untuk analisis KLT dan spektrofotometri UV-Vis dimulai dengan menimbang 500,0 mg kerupuk merah mentah, kemudian tambahkan HCl 4N 4 tetes. Asam klorida merupakan asam kuat yang dapat mendestruksi senyawa-senyawa yang ada di dalam sampel dan menstabilkan rhodamin B agar tetap dalam keadaan terionisasi sehingga akan terjadi perubahan warna menjadi merah kekuningan (Krisyan *et al.*, 2021). Proses selanjutnya yaitu analisis kualitatif menggunakan metode KLT. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisiko kimia sederhana yang dapat digunakan untuk penegasan terhadap senyawa kimia. Nilai R_f dan warna noda yang diperoleh pada KLT dapat memberikan identitas senyawa yang terkandung (Forestryana & Arnida, 2020). Prinsip kerja pemisahan pada KLT, yaitu: adsorpsi, desorpsi, dan elusi. Adsorpsi terjadi ketika larutan sampel ditotolkan ke fase diam (plat KLT) menggunakan *white tip*, komponen-komponen dalam sampel akan teradsorpsi di dalam fase diam. Desorpsi adalah

peristiwa ketika komponen terabsorpsi di fase diam yang didesak oleh fase gerak (eluen). Sedangkan elusi merupakan peristiwa ketika komponen ikut terbawa oleh eluen (Husna & Mita, 2020). Senyawa dikatakan positif apabila Rf sampel sejajar dengan Rf pembanding, sedangkan dikatakan negatif apabila nilai Rf sampel $\geq 0,2$ cm dengan Rf pembanding (Aditia *et al.*, 2021). Fase diam yang digunakan yaitu silika gel F254 yang bersifat polar. Silika gel F254 merupakan plat yang dapat menghasilkan fluorosensi pada panjang gelombang 254 nm karena adanya gugus kromofor pada bercak. Berdasarkan struktur rhodamin B dapat mengalami fluoresensi sehingga pada panjang gelombang 366 nm bercak rhodamin B akan berwarna kuning dan dapat dilihat secara visual (Husna & Mita, 2020). Langkah awal yang dilakukan untuk pemisahan senyawa dari sampel kerupuk merah mentah jenis padang yaitu penjenuhan *chamber*. *Chamber* yang telah jenuh ditandai dengan basahnyanya kertas saring hingga naik sampai ke atas *chamber*. Penjenuhan pada *chamber* bertujuan agar uap dalam *chamber* terjenuhkan dengan uap pelarut sehingga kecepatan eluen sama pada semua sisi permukaan plat KLT (Husna & Mita, 2020).

Selanjutnya plat di aktivasi dengan oven pada suhu 100°C selama 30 menit bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada plat (Dewi, 2018). Adanya uap air pada plat dapat meningkatkan polaritas dari plat dan akan menurunkan aktivitas plat sehingga mengakibatkan nilai Rf lebih besar dari pada sesungguhnya (Dewi, 2018). Plat KLT silika gel F254 diberi tanda 1 cm batas atas dan 1 cm batas atas yang berfungsi agar totolan tidak terendam dengan fase gerak, karena jika totolan terendam dengan fase gerak mengakibatkan proses pemisahan dalam totolan tidak merambat dengan sempurna (Khoirunnisa *et al.*, 2017). Proses elusi dilakukan hingga batas eluen mencapai batas atas plat KLT. Area noda sampel kerupuk merah mentah jenis padang dibandingkan dengan standar pembanding dan dihitung nilai Rf. Berdasarkan hasil KLT terdapat satu sampel yang positif, yaitu sampel A dimana memiliki bercak sejajar dengan standar. Sedangkan pada sampel lainnya tidak terdapat bercak. Rf sampel 0,79 sedangkan Rf standar memiliki nilai Rf yang sama yaitu 0,78 sehingga dapat dikatakan sampel A positif

mengandung rhodamin B. Selanjutnya sampel yang dikatakan positif secara kualitatif dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Rhodamin B dapat dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis karena rhodamin B memiliki gugus kromofor dan ausokrom.

Analisis secara kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis diawali dengan menentukan panjang gelombang maksimum rhodamin B. Panjang gelombang maksimum merupakan faktor penting karena pada panjang gelombang dapat memberikan perubahan nilai absorbansi paling besar dalam setiap kadarnya. Panjang gelombang maksimum pada penelitian ini diperoleh 543 nm dengan nilai absorbansi 0,764. Pada penelitian Pereiz *et al.*, (2023) menyatakan panjang gelombang maksimum rhodamin B adalah 545 nm. Pergeseran panjang gelombang tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti perbedaan jenis instrumen, baku pembanding maupun pelarut yang digunakan, maupun perbedaan pelarut. Pergeseran panjang gelombang tersebut mengarah pada pergeseran hipsokromik karena terjadi penurunan panjang gelombang (Mahendra *et al.*, 2018). Pergeseran dapat terjadi karena adanya perbedaan adanya pelarut. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol *p.a*, sedangkan pada penelitian Pereiz *et al.*, (2023) dan Taupik *et al.*, (2021) menggunakan pelarut metanol *p.a*.

Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum, langkah selanjutnya adalah penentuan kurva baku standar. Penentuan kurva baku menggunakan seri konsentrasi 1; 1,5; 2; 2,5; 3; dan 3,5 ppm pada panjang gelombang 543 nm. Dari hasil absorbansi pada masing-masing seri konsentrasi selanjutnya dibuat kurva regresi antara konsentrasi dengan absorbansi sehingga diperoleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9971. Nilai koefisien (r) menunjukkan adanya hubungan linieritas antara dua variabel. Persamaan regresi dikatakan linier atau baik karena hasilnya mendekati satu. Selain itu nilai r dikatakan linier apabila r hitung lebih besar dari r tabel yaitu 0,8114. Apabila r hitung lebih besar daripada r tabel maka data dikatakan tidak valid (Elfasyari *et al.*, 2020). Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi kadar sampel kerupuk yang dinyatakan positif mengandung rhodamin B setelah dilakukan analisis kualitatif dengan benang

wol dan KLT. Pada penelitian ini pembacaan absorbansi pada sampel yang positif dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dengan tujuan meminimalisir terjadinya kesalahan saat analisis sampel. Jika sudah diperoleh absorbansi dan nilai kadar dari sampel yang dinyatakan positif, selanjutnya dilakukan perhitungan statistika yang meliputi nilai rata-rata, SD, CV, dan LE. Nilai rata-rata $\pm$ LE sampel A adalah $0,0524 \pm 0,0002$ % b/b, SD = 0,0004 dan CV = 0,7633%. Dari hasil perhitungan dapat disimpulkan nilai SD sampel dari penelitian dikatakan baik karena nilai SD lebih kecil dibandingkan nilai rata-rata (Hidayat & Khotimah, 2022). Sedangkan CV yang diperoleh dikatakan baik karena hasilnya kurang dari 2% (Muryanto, 2020).

Penelitian terdahulu terkait analisis rhodamin B pada kerupuk merah dengan metode spektrofotometri UV-Vis sudah pernah diteliti oleh Khairunnisa *et al.*, (2022), Dawile S., & Fatimawali, (2013), dan Kumalasari, (2015). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut dapat dikatakan bahwa kerupuk merah yang beredar di pasaran masih dijumpai mengandung rhodamin B. Hal ini dapat disebabkan beberapa faktor, diantaranya masih terdapat pedagang “nakal” yang menambahkan rhodamin B ke dalam kerupuk serta kurangnya edukasi kepada masyarakat terkait bahayanya rhodamin B terlarang apabila dicampur dengan makanan. Efek samping rhodamin B jika ditambahkan dalam kerupuk sangat berbahaya karena bersifat karsinogenik jika dikonsumsi dalam jangka waktu yang panjang (Kumalasari, 2015). Selain itu, Rhodamin B dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernafasan, pada kulit, mata, pencernaan, keracunan, dan gangguan fungsi hati (Khairunnisa *et al.*, 2022).