

**UJI KECERMATAN DAN KESEKSAMAAN  
METODE ANALISIS (*TARTRAZINE* DAN *SUNSET  
YELLOW*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE  
SPEKTROFOTOMETRI DERIVATIF**

**REFKI OKTA TRIADI**

**13151034**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG  
PROGRAM STUDI STRATA I FARMASI  
BANDUNG  
2017**

**UJI KECERMATAN DAN KESEKSAMAAN METODE  
ANALISIS (*TARTRAZINE* DAN *SUNSET YELLOW*) DENGAN  
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI  
DERIVATIF**

**REFKI OKTA TRIADI  
13151034**

**ABSTRAK**

Zat pewarna bahan tambahan pangan baik alami maupun sintesis digunakan untuk memberi atau memperbaiki warna (BPOM, 2013). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui parameter kecermatan dan keseksamaan metode analisis (*Tartrazine* dan *Sunset yellow*) dengan menggunakan metode spektrofotometri derivatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai keofisien korelasi, akurasi dan presisi untuk *Tartrazine* berturut-turut adalah 0,9993, 108.693%, dan 0,497%, sedangkan untuk *Sunset yellow* berturut-turut adalah 0,9988, 105.569%, dan 1,5264%. Hasil analisis kandungan *Tartrazine* dan *Sunset yellow* dalam minuman sirup berperisa adalah 15,9630 mg/Kg dan 2,0258 mg/Kg. Sesuai dengan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 37 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pewarna, *Tartrazine* dan *Sunset yellow* pada minuman sirup berperisa masih memenuhi persyaratan. Dapat disimpulkan bahwa metode spektrofotometri derivative dinyatakan valid dan dapat digunakan untuk penetapan kadar *Tartrazine* dan *Sunset yellow*.

Kata kunci : pewarna, minuman sirup berperisa, spektrofotometri derivatif

**ACCURACY AND PRECISSION ANALYSIS METHOD  
(TARTRAZINE AND SUNSET YELLOW) BY DERIVATIVE  
SPECTROFOTOMETRY**

**REFKI OKTA TRIADI  
13151034**

**ABSTRACT**

*Natural and synthetic dyes as food additives used to give improve the colour (BPOM, 2013). The purpose of this research is to know the parameters of accuracy and precission of the analysis method (Tartrazine and Sunset yellow) using derivative spectrophotometry. The results showed that the correlation coefficient, accuracy and precission of tartrazine were 0.9993, 108.693%, and 0.497% respectively, while sunset yellow were 0.9988, 105.569% and 1.5264% respectively. The analysis results showed that the content of Tartrazine and Sunset yellow in beverage syrup is 15.9630 mg / kg and 2.0258 mg / kg. In accordance with the Regulation Food and Drug of The Republic of Indonesia Number 37 of 2013 Concerning the Limit of Maximum Use of Supplemental Materials Dyes, Tartrazine and Sunset yellow on syrup beverages remain eligible. It was concluded that the developed derivative spectrumfotometric method is valid and can be used to determine Tartrazine and Sunset yellow.*

*Keywords: dye, fragrant syrup beverage, derivative spectrophotometry*

**UJI KECERMATAN DAN KESEKSAMAAN METODE  
ANALISIS (*TARTRAZINE* DAN *SUNSET YELLOW*) DENGAN  
MENGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI  
DERIVATIF**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan  
Program Strata Satu

**REFKI OKTA TRIADI  
13151034**

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

(Dr. Ida Musfiroh, M.Si., Apt.)

(Fenti Fatmawati, M.Si.)

## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah S.W.T karena atas berkah dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul **UJI KECERMATAN DAN KESEKSAMAAN METODE ANALISIS (TARTRAZINE DAN SUNSET YELLOW) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI DERIVATIF.**

Tugas akhir ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan S1 di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Dalam penyusunan tugas akhir ini tidaklah luput dari kesulitan dan hambatan, namun berkat bimbingan serta bantuan dari beberapa pihak, Tugas Akhir ini akhirnya dapat diselesaikan. Oleh karena itu penulis dengan hormat mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat:

1. Dr. Ida Musfiroh, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing utama yang dengan sabar memberikan bimbingan, arahan, masukan sehingga hambatan yang dihadapi dalam penulisan Tugas Akhir ini dapat teratasi dengan baik.
2. Fenti Fatmawati, M.Si selaku dosen pembimbing serta yang telah memberikan saran dan motifasi sehingga memudahkan dalam penyusunan tugas akhir ini.
3. Seluruh dosen beserta staf Sekolah Tinggi Farmasi Bandung yang telah membantu selama proses pendidikan.
4. Ibu, ayah, kakak dan adikku tercinta beserta keluarga yang setia mendukung, memberikan semangat, dan kasih sayang serta doanya selama ini.

5. Teman-teman seperjuangan Matrikulasi 2015 yang telah memberikan banyak dukungan, serta para sahabatku yang telah memberikan motivasi dan juga kerjasamanya selama ini.

Pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu pelaksanaan dan penyusunan tugas akhir ini secara langsung maupun tidak langsung.

Penulisan tugas akhir ini tidaklah luput dari kekurangan dan kesalahan, Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan tugas akhir ini. Akhir kata semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat.

Bandung,                      Agustus 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
ABSTRAK .....	i
ABSTRACT .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
<b>Bab I Pendahuluan</b> .....	<b>1</b>
I.1. Latar Belakang .....	1
I.2. Rumusan Masalah .....	4
I.3. Tujuan Penelitian .....	4
I.4. Manfaat Penelitian .....	5
I.5. Waktu Penelitian .....	5
<b>Bab II Tinjauan Pustaka</b> .....	<b>6</b>
II.1 Bahan Tambahan Pangan .....	6
II.2 Zat Pewarna .....	7
II.3 Spektrofotometri Ultraviolet-Visibel .....	17
II.4 Spektrofotometri Derivatif .....	18
II.5 Validasi Metode Analisis .....	20
<b>Bab III Metodologi Penelitian</b> .....	<b>24</b>
<b>Bab IV Alat Dan Bahan</b> .....	<b>25</b>
<b>Bab V Prosedur Penelitian</b> .....	<b>26</b>
V.1 Pembuatan Larutan Induk .....	26
V.2 Optimasi Metode .....	27

V.3 Validasi Metode.....	28
V.4 Penetapan Kadar Sampel.....	30
<b>Bab VI Hasil dan Pembahasan.....</b>	<b>32</b>
<b>Bab VII Kesimpulan dan Saran.....</b>	<b>43</b>
VII.1 Kesimpulan .....	43
VII.2 Saran .....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>45</b>



## DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	Halaman
Gambar II.1 Struktur kimia <i>tartrazine</i> .....	11
Gambar II.2 Struktur kimia <i>sunset yellow</i> .....	14
Gambar II.3 Kurva aplikasi metode evaluasi.....	19
Gambar VI.1 Spektrum <i>tartrazine</i> .....	32
Gambar VI.2 Spektrum <i>sunset yellow</i> .....	33
Gambar VI.3 Spektrum serapan maksimum.....	33
Gambar VI.4 Spektrum derivat pertama <i>tartrazine</i> .....	34
Gambar VI.5 Spektrum derivat pertama <i>sunset yellow</i> ..	35
Gambar VI.6 Spektrum overlay derivat pertama.....	35
Gambar VI.7 Kurva Kalibrasi <i>tartrazine</i> ....	36
Gambar VI.8 Kurva Kalibrasi <i>sunset yellow</i> .....	37

## DAFTAR TABEL

Nomor Tabel	Halaman
Tabel II.1	Sifat-sifat dari bahan pewarna alami.....8
Tabel II.2	Jenis-jenis bahan pewarna sintetis.....10
Tabel II.3	Batas maksimum kadar tartrazine.....12
Tabel II.4	Batas maksimum kadar sunset yellow.....15
Tabel II.5	Parameter validasi metode.....20
Tabel VI.1	Batas deteksi dan batas kuantitasi.....38
Tabel VI.2	Perolehan Kembali... ..39
Tabel VI.3	Absorbansi tartrazine dan sunset yellow .....40

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Lampiran	Halaman
Lampiran A Perhitungan nilai BD dan BK.....	47
Lampiran B Perhitungan akurasi.....	51
Lampiran C Perhitungan presisi. ....	56
Lampiran D Perhitungan kadar tartrazine.....	58
Lampiran E Perhitungan kadar sunset yellow.....	60

## **Bab I Pendahuluan**

### **I.1 Latar belakang**

Dewasa ini teknologi pengolahan pangan berkembang cukup pesat, termasuk di Indonesia. Untuk mendapatkan produk olahan yang bercita rasa lezat, tahan lama dan yang pasti berpenampilan menarik digunakan berbagai bahan pendukung yang sering disebut dengan bahan tambahan makanan (BTM, *food additives*). Salah satu bahan tambahan yang sering digunakan adalah zat pewarna.

Zat pewarna merupakan bahan tambahan pangan berupa pewarna alami dan pewarna sintesis yang ketika ditambahkan atau diaplikasikan pada pangan mampu memberi atau memperbaiki warna (BPOM, 2013).

Peraturan mengenai pemakaian zat pewarna dalam makanan atau minuman ditetapkan oleh masing-masing negara dengan tujuan untuk menjaga kesehatan dan keselamatan rakyat dari hal-hal yang dapat timbul karena pemakaian zat pewarna tertentu yang dapat membahayakan kesehatan. Peraturan dari suatu negara berbeda dengan negara lainnya, dimana suatu zat warna dilarang di satu negara belum tentu dilarang di negara lainnya. Misalnya amaranth yang dilarang di Amerika Serikat karena ditakutkan dapat menyebabkan kanker, masih diperbolehkan di negara-negara Eropa dan berbagai negara lainnya.

Di Indonesia itu sendiri, penggunaan zat pewarna diatur dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik

Indonesia nomor 37 tahun 2013 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pewarna.

Jenis pewarna yang sering ditemukan dalam beberapa produk pangan adalah pewarna sintetis. Pewarna sintetis secara komersial digunakan sebagai zat aditif makanan, dalam pengobatan dan kosmetika karena sangat menguntungkan serta dapat dengan mudah dicampurkan untuk mendapatkan warna yang ideal dan juga biaya yang rendah dibandingkan dengan pewarna alami (*Pedroet al*, 1997).

Namun penggunaan dengan jangka panjang dapat menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan tubuh. Kinoshita dalam Saprinto dan Hidayati (2006), telah melihat adanya efek karsinogenik pada iritasi kimia akibat paparan senyawa zat warna, salah satu percobaan adalah dengan cara memberi makanan hewan-hewan percobaan di laboratorium dengan senyawa zat pewarna *Butter yellow* yang dianggap karsinogen menunjukkan dosis  $\pm 3$  mg/hari pada tikus-tikus, menyebabkan sebagian mati sebelum 30 hari, sisanya mampu bertahan sampai hari ke- 150, setelah terkena macam-macam tumor hati. Efek kronis yang diakibatkan oleh zat warna azo yang dikonsumsi dalam jangka panjang waktu lama, pada percobaan dipakai ortoaminoazo-toulen dapat menyebabkan kanker hati. Para ilmuwan pada umumnya mempergunakan zat warna azo dalam penelitiannya, karena hampir 90% dari bahan pewarna pangan terdiri dari zat warna azo (Saprinto dan Hidayati, 2006). Salah satu kelompok zat warna azo adalah *Tartrazine* dan *Sunset yellow*, penelitian lain menunjukkan bahwa *Tartrazine* berhubungan dengan berbagai penyakit antara lain asma, hiperkatif pada anak, migraine (Li dkk, 2008) (Wahyuni, 2013).

Saat ini beberapa metode analisa yang sering digunakan untuk mengetahui kadar senyawa *Tartrazine* dan *Sunset yellow* dalam suatu sediaan diantaranya spektrofotometri UV-Vis, kromatografi cair, kapiler kromatografi, kromatografi ion, voltametri dan LC-MS (Li dkk, 2008), selain itu KLT dan kolom poliamida (Anonim, 1992).

Spektrofotometri mengalami perkembangan menjadi spektrofotometri konvensional dan spektrofotometri derivatif. Namun kenyataannya metode spektrofotometri konvensional memiliki keterbatasan dalam menganalisa suatu senyawa yang memiliki matriks kompleks, sehingga perlu dilakukan pemisahan analit dalam matriks (Owen, 2000). Pemisahan senyawa dari matriks dapat menjadi sumber kesalahan dalam menganalisis dan memakan waktu yang cukup panjang, oleh sebab itu diperlukan suatu metode yang lebih cepat dan murah namun memiliki tingkat ketelitian dan ketepatan yang tinggi, serta dapat mengatasi efek matriks tanpa harus melakukan pemisahan (Nurhidayati, 2007).

Metode spektrofotometri derivatif atau metode kurva turunan adalah salah satu metode spektrofotometri yang dapat digunakan untuk analisis campuran beberapa zat secara langsung tanpa harus melakukan pemisahan terlebih dahulu walaupun dengan panjang gelombang berdekatan. Beberapa keuntungan dari spektrum derivatif yaitu dapat melakukan analisa kuantitatif suatu komponen dalam campuran bahan yang panjang gelombang saling berdekatan dan juga bila dibandingkan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), metode spektrofotometri derivatif lebih sederhana, alat dan biaya operasionalnya lebih murah dan waktu analisisnya lebih cepat (Nurhidayati, 2007).

Berdasarkan uraian diatas maka penulis tertarik untuk menguji validasi metode spektrofotometri derivatif pada zat pewarna (*Tartrazine* dan *Sunset Yellow*) dalam sediaan sirup.

## **I.2 Rumusan masalah**

1. Apakah metode spektrofotometri derivatif dapat digunakan untuk menganalisa kandungan *Tartrazine* dan *Sunset Yellow* pada sediaan sirup?
2. Apakah kandungan *Tartrazine* dan *Sunset Yellow* dalam sediaan sirup telah memenuhi persyaratan dalam Peraturan Kepala BPOM RI No. 37 Tahun 2013 tentang batas maksimum penggunaan bahan tambahan pangan pewarna?
3. Apakah hasil uji validasi terhadap metode spektrofotometri derivatif untuk menganalisa kandungan *Tartrazine* dan *Sunset Yellow* dalam sediaan sirup dapat memenuhi syarat pengujian validasi?

## **I.3 Tujuan penelitian**

1. Untuk mengetahui parameter kecermatan dan keseksamaan metode analisis (*Tartrazine* dan *Sunset Yellow*) dengan metode spektrofotometri derivatif.
2. Untuk mengetahui kandungan *Tartrazine* dan *Sunset Yellow* dalam sediaan sirup telah memenuhi persyaratan dalam Peraturan Kepala BPOM RI No. 37 Tahun 2013 tentang batas maksimum penggunaan bahan tambahan pangan pewarna.

## **I.4 Manfaat**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan metode alternatif untuk analisis zat pewarna (*Tartrazine dan Sunset Yellow*) yang lebih kuantitatif.

### **I.5 Waktu dan tempat**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret - Juni tahun 2017 di Laboratorium Farmakokimia Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.



## **Bab II Tinjauan pustaka**

### **II.1 Bahan tambahan pangan**

Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan, dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lainnya yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan atau pembuatan makanan atau minuman (BPOM, 2013). Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012, bahan tambahan pangan adalah bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan.

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun 2012 Tentang Bahan Tambahan Pangan, fungsi bahan tambahan pangan yaitu sebagai antibuih, antikempal, antioksidan, bahan pengkarbonasi, garam pengemulsi, gas untuk kemasan, humektan, pelapis, pemanis, pembawa, pembentuk gel, pembuih, pengatur keasaman, pengawet, pengembang, pengemulsi, pengental, penguat rasa, peningkat volume, penstabil, perentensi warna, perisa, perlakuan tepung, pewarna, propelan, dan sekuestran.

Pada umumnya bahan tambahan dapat dibagi menjadi dua bagian besar yaitu :

1. Aditif sengaja yaitu aditif yang diberikan dengan sengaja maksud dan tujuan tertentu, misalnya untuk meningkatkan

konsistensi, nilai gizi, cita rasa mengendalikan keasaman atau kebasaaan, memantapkan bentuk dan rupa, dan lain sebagainya.

2. Aditif tidak sengaja yaitu aditif yang terdapat dalam makanan dengan jumlah sangat kecil sebagai akibat dari proses pengolahan (Winarno, 1992).

Adapun tujuan penambahan bahan tambahan pangan (BTP) secara umum adalah untuk :

- 1) Meningkatkan nilai gizi makanan,
- 2) Memperbaiki nilai estetika dan sensori makanan, dan
- 3) Memperpanjang umur simpan (*shelf life*) makanan (Saparinto dan Hidayati, 2006)

## **II.2 Zat pewarna**

Menurut Elbe dkk (1996), zat pewarna merupakan suatu bahan kimia baik alami maupun sintetik yang memberikan warna. Warna makanan memiliki peran penting pada makanan yang dihidangkan. Selain memiliki daya tarik yang dapat diamati oleh indra penglihatan, warna berperan penting dalam membentuk cita rasa makanan. Warna makanan berasal dari beberapa sumber, masing-masing adalah sebagai berikut :

1. Warna makanan yang berasal dari penambahan zat warna sintetis.
2. Warna makanan yang berasal dari reaksi pencokelatan atau browning.
3. Warna makanan yang berasal dari pigmen tanaman dan bahan asli tanaman (Pitojo dan Zumiati, 2009).

### II.2.1 Pewarna alami

Pewarna alami adalah pewarna yang dibuat melalui proses ekstraksi, isolasi, atau derivatisasi (sintesis parsial) dari tumbuhan, hewan, mineral atau sumber alami lain, termasuk pewarna identik alami (BPOM, 2013).

Beberapa pewarna alami yang berasal dari tanaman dan hewan, diantaranya adalah klorofil, myoglobin dan hemoglobin, anthosianin, flavonoid, tannin, betalain, quinon dan xanthan, serta karotenoid (Saparinto dan Hidayati, 2006).

Tabel II.1  
Sifat-sifat dari Beberapa Bahan Pewarna Alami

Kelompok	Warna	Sumber	Kelarutan	Stabilitas
Anthosianin	Jingga Merah Biru	Tanaman	Air	Peka terhadap panas
Karamel	Coklat	Gula dipanaskan	Air	Stabil
Flavonoid	Tanpa Kuning	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Leucoanthosianin	Tidak berwarna	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Tannin	Tidak berwarna	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Betalain	Kuning, merah	Tanaman	Air	Sensitive terhadap panas

Tabel II.1  
(Lanjutan)

Quinon	Kuning – hitam	Tanaman	Air	Stabil terhadap panas
Xanthon	Kuning	Tanaman bakteri lumut	Air	Stabil terhadap panas
Karotenoid	Tanpa kuning dan merah	Tanaman atau hewan	Lipida	Stabil terhadap panas
Klorofil	Hijau, coklat	Tanaman	Lipida dan air	Sensitive terhadap panas
Heme	Merah, coklat		Air	Sensitive terhadap panas

Sumber : Saporinto dan Hidayati (2006) pada buku analisis dan aspek kesehatan bahan tambahan pangan edisi kedua

### II.2.2 Pewarna sintetis

Pewarna sintetis yang dipakai secara komersil dikenal juga sebagai tinambah warna bersertifikat. Ada dua jenis zat warna, yaitu pewarna *dye* FD&C dan *lake* FD&C. FD&C menunjukkan senyawa yang sudah disetujui untuk digunakan dalam makanan (F, food), obat (D, drug) dan kosmetik (C, cosmetic) oleh peraturan federal Amerika Serikat (Demam, 1997).

Di Indonesia, peraturan mengenai penggunaan zat pewarna sintetis yang diizinkan dan dilarang untuk pangan telah diatur dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 37 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum

Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pewarna. Berikut contoh pewarna sintetis yang diizinkan oleh Pemerintah. :

Tabel II.2  
Jenis-Jenis Bahan Pewarna Sintetis

No	Nama Bahan Tambahan Makanan	Kode	Warna
1.	Tartrazin	CI. No. 19140 ( <i>Tartrazine</i> )	Kuning
2.	Kuning kuinolin	CI. No. 47005 ( <i>quinolone Yellow</i> )	Kuning
3.	Kuning FCF	CI. No. 15985 ( <i>sunset yellow FCF</i> )	Orange
4.	Karmosin	CI. No. 14720 ( <i>Azorubine (carmoisine)</i> )	Merah
5.	Ponceau 4R	( <i>Ponceau 4R (cochineal red A)</i> )	Merah Hati Keunguan
6.	Eritrosin	CI. No. 45430 ( <i>Erythrosine</i> )	Merah Permen
7.	Merah allura	CI. No. 16035 ( <i>Allura red AC</i> )	Merah Jingga
8.	Indigotin	CI. No. 73015 ( <i>Indigotine (indigo carmine)</i> )	Biru
9.	Biru berlian	CI. No. 42090 ( <i>Briliant blue FCF</i> )	Biru
10.	Hijau FCF	CI. No. 42053 ( <i>fast green FCF</i> )	Hijau
11.	Coklat HT	CI. No. 20285 ( <i>Brown HT</i> )	Coklat

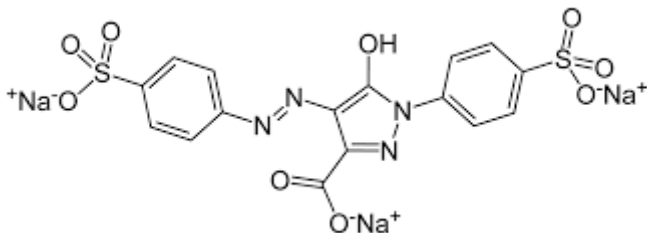
*Sumber : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Tahun 2013*

### II.2.2.1 Tartrazine

*Tartrazine* merupakan jenis pewarna sintetik yang terdaftar atau diizinkan oleh pemerintah digunakan untuk pewarna makanan dan minuman. Selain untuk makanan dan minuman *Tartrazine* juga digunakan untuk kosmetik dan obat-obatan.

Sifat-sifat atau karakteristik dari *Tartrazine* :

- Organoleptik
  - Bentuk : serbuk atau tepung.
  - Warna : kuning jingga.
- Kelarutan : mudah larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol 95%, mudah larut dalam gliserol dan glisol.
- Berat molekul : 534,4 g/mol
- Rumus kimia :  $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$
- Rumus struktur kimia :



Gambar II.1:  
Struktur Kimia *Tartrazine*

*Tartrazine* adalah pewarna makanan kuning yang telah digunakan selama bertahun-tahun. *Tartrazine* dapat menghasilkan reaksi intoleran dalam beberapa individu. Penggunaan *Tartrazine* pada jangka waktu panjang atau lama dapat memberikan efek berbahaya.

Reaksi merugikan telah dilaporkan termasuk urtikaria (ruam kulit alergi), rhinitis (pilek), asma, purpura (kulit memar keunguan) dan anafilaksis sistemik (shock). Reaksi samping ini lebih umum pada penderita asma dan orang-orang yang peka terhadap aspirin (Anonim, 2012).

Pewarna kuning *Tartrazine* yang digunakan dalam obat-obatan dan makanan dapat menyebabkan gejala reaksi alergi (urtikaria, rhinitis, atau asma) dapat terjadi setelah paparan bahan kimia yang digunakan untuk warna, bumbu, atau mengawetkan makanan dan obat-obatan, tapi *Tartrazine* (FD & C kuning No 5) adalah warna yang paling dicurigai. Intoleransi terhadap *Tartrazine* pertama kali dilaporkan pada tahun 1959, dan bagian dalam induksi dari urtikaria telah diakui sejak tahun 1975. *Non-thrombocytopenic purpura* juga dilaporkan karena hipersensitivitas terhadap *Tartrazine* yang menunjukkan kemungkinan bahwa *Tartrazine* dapat bertindak sebagai haptens yang terikat pada sel endotel pembuluh darah kecil (Miller, 1982).

Batas normal penggunaan pewarna *Tartrazine* diatur dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 37 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pewarna :

Tabel II.3  
Batas Maksimum Kadar Tartrazine

Nama Zat	Jenis atau Bahan Makanan	Kadar Maksimum (mg/Kg)
Tartrazine CI. No.19140	Minuman berbasis air berperisa tidak berkarbonat, termasuk punches dan ades	70

Tabel II.3  
(Lanjutan)

Buah Kering	70
Jem, jeli dan marmalad	300
Larutan gula dan sirup, juga gula invert	70
Minuman berbasis air berperisa yang berkarbonat	70
Sirup, squash, minuman konsentrat dan serbuk minuman	300
Bubuk atau campuran untuk sup dan kaldu	70
Makanan pencuci mulut berbahan dasar telur (custard)	70

*Sumber : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Tahun 2013*

#### II.2.2.2 *Sunset yellow*

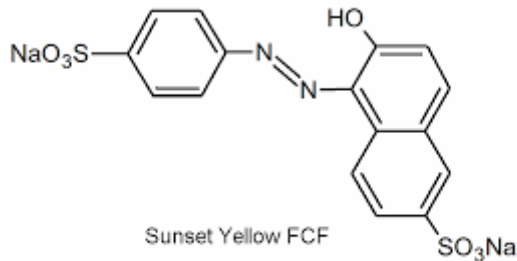
*Sunset yellow* merupakan salah satu pewarna yang juga sering digunakan, bahkan penggunaannya sering dikombinasikan dengan *Tartrazine*. *Sunset yellow* juga merupakan jenis pewarna sintetik yang terdaftar atau diizinkan oleh pemerintah digunakan untuk pewarna makanan dan minuman, kosmetik dan obat-obatan.

Sifat-sifat atau karakteristik (monografi) dari *Snsset Yellow* :

- Organoleptik
  - Bentuk : serbuk atau granul
  - Warna : orange



- Kelarutan : mudah larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol 95 %, mudah larut dalam glicerol dan glikol.
- Berat molekul : 452.37 g/mol
- Kegunaan : zat pewarna sintetik
- Rumus kimia :  $C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$
- Rumus struktur kimia :



Gambar II.2:  
Struktur Kimia Sunset Yellow FCF

*Sunset yellow* sebagian kecil diserap pada saluran pencernaan dan sebagian besar dosis oral diekskresikan melalui tinja. *Sunset Yellow* kemungkinan akan dipecah oleh reduksi azo-usus. Urin juga didominasi produk azo-reduksi (sulphanilic asam, asam 1-amino-2-naftol-6-sulfanot, dan bentuk bentuk N-asetilasi) (Anonim, 2009).

Batas normal peanggunaan pewarna *Sunset Yellow* diatur dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor 37 tahun 2013 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pewarna :

Tabel II.4  
Batas Maksimum Kadar Sunset Yellow

NO	Nama Zat	Jenis atau Bahan Makanann	Kadar Maksimum (mg/Kg)
1.	Kuning FCF CI. No. 15985 ( <i>Sunset yellow FCF</i> )	Minuman berbasis air berperisa tidak berkarbonat, termasuk punches dan ades	70
		Buah bergula	300
		Jem, jeli dan marmalad	300
		Larutan gula dan sirup, juga gula invert (sebagian)	70
		Minuman berbasis air berperisa yang berkarbonat	70
		Sirup, squash, minuman konsentrat dan serbuk minuman.	300
		Kembang gula karet / permen karet	100
		Serbuk minuman berkarbonat	300
		Makanan pencuci mulut berbahan dasar telur (misalnya custard)	70

Sumber : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia

Tahun 2013

### **II.3 Spektrofotometri ultraviolet-visibel**

Spektrofotometri ultraviolet-visibel merupakan salah satu teknik analisis spektrofotometri yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik sinar ultraviolet dan sinar tampak dengan memakai instrumen spektrofotometer (Rohman, 2007). Sinar ultraviolet memiliki panjang gelombang antara 200-400 nm sedangkan sinar tampak memiliki panjang gelombang antara 400-800 nm (Moffat dkk., 2005).

Spektrofotometri ultraviolet-visibel dibagi menjadi atas empat metode analisis yaitu analisis zat tunggal, analisis multikomponen, spektrofotometri perbedaan (*Difference Spectrophotometry*), dan spektrofotometri derivatif (Moffat dkk., 2005).

#### **II.3.1 Komponen spektrofotometer ultraviolet-visibel**

Biasanya spektrofotometer telah mempunyai *software* untuk mengolah data yang dapat dioperasikan melalui komputer yang telah terhubung dengan spektrofotometer (Moffat, dkk., 2005).

Menurut Satiadarma dkk., (2004) dan Rohman (2007), komponen spektrofotometer Ultraviolet-Visibel adalah sebagai berikut :

1. Sumber-sumber lampu : lampu deuterium digunakan untuk daerah ultraviolet pada panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visible pada panjang gelombang antara 350-900 nm.
2. Monokromator : digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis.
3. Optik-optik : dapat didesain untuk memecah sumber sinar melewati 2 kompartemen.

4. Detektor : digunakan sebagai alat yang menerima sinyal dalam bentuk radiasi elektromagnetik, mengubah, dan meneruskannya dalam bentuk sinyal listrik ke rangkaian sistem penguat elektronika. Respon tiap jenis detektor terhadap bagian dari spectrum radiasi tidak sama, sehingga spektrofotometer menggunakan detektor yang paling cocok untuk daerah pengukurannya.

#### **II.4 Spektrofotometri derivatif**

Spektrofotometri derivatif merupakan transformasi spektrum serapan menjadi spektrum derivatif pertama, kedua, atau spektrum derivatif orde lebih tinggi (Ditjen BKAK, 2014). Spektrofotometri derivatif merupakan metode manipulatif terhadap spektrum pada spektrofotometri ultraviolet-visibel (Moffat, dkk., 2005).

Pada spektrofotometri konvensional, spektrum serapan merupakan plot serapan ( $A$ ) terhadap panjang gelombang ( $\lambda$ ). Pada spektrofotometri derivatif, plot  $A$  lawan  $\lambda$ , ditransformasikan menjadi plot  $dA/d\lambda$  lawan  $\lambda$  untuk derivatif pertama, dan  $d^2A/d\lambda^2$  lawan  $\lambda$  untuk derivatif kedua, dan seterusnya.

$$\begin{aligned} A &= f(\lambda), \text{ order nol} \\ dA/d\lambda &= f'(\lambda), \text{ order pertama} \\ d^2A/d\lambda^2 &= f''(\lambda), \text{ order kedua, dan seterusnya (Moffat, dkk.,} \\ &2005). \end{aligned}$$

Spektrum derivatif merupakan sebuah plot perubahan serapan dengan panjang gelombang. Spektrum derivatif pertama dilambangkan dengan  $dA/d\lambda$ , spektrum derivatif kedua dilambangkan dengan  $d^2A/d\lambda^2$ , dan seterusnya (Ditjen POM, 1995).

Menurut Talsky (1994) hal ini dapat dilihat dari persamaan hukum Lambert-Beer berikut ini :

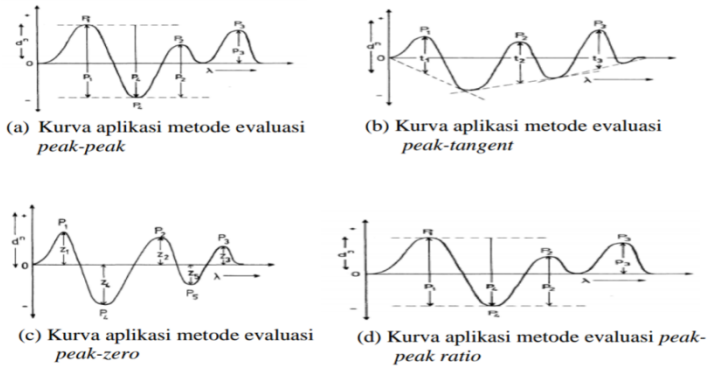
$$dA/d\lambda = \frac{dA(1\%,1\text{cm})}{d\lambda} \times bc$$

$$dA^2/d\lambda^2 = \frac{d^2 A(1\%,1 \text{ cm})}{d\lambda^2} \times bc$$

$$d^n = \frac{d^n A(1\%,1 \text{ cm})}{d\lambda^n} \times bc$$

Ada empat metode umum yang digunakan untuk evaluasi spektra pada spektrofotometri derivatif yaitu metode *peak-peak*, metode *peak-tangent*, metode *peak-zero (zero crossing)*, dan metode *peak-peak ratio* (rasio spektra) (Talsky, 1994; Nurhidayati, 2007).

Pada metode *peak-peak*, absorpsinya diukur dari puncak maksimum sampai minimum yang ditunjukkan P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, dan P<sub>3</sub> pada gambar (a) sedangkan pada metode *peak-tangent*, absorpsinya diukur dari puncak maksimum sampai pertengahan puncak minimum yang dapat ditunjukkan pada t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub>, dan t<sub>3</sub> pada gambar (b). Pada metode *peak-zero*, absorpsinya diukur dari puncak maksimum sampai titik nol kurva yang ditunjukkan pada z<sub>1</sub>, z<sub>2</sub>, z<sub>3</sub>, z<sub>4</sub>, dan z<sub>5</sub> pada gambar (c) sedangkan pada metode *peak-peak ratio*, absorpsinya diukur sebagai perbandingan antara P1 dengan P2 yang ditunjukkan pada gambar (d) (Talsky, 1994). Kurva aplikasi metode evaluasi spektra derivatif dapat dilihat pada gambar dibawah ini.



Gambar II.3:  
Kurva Aplikasi Metode Evaluasi

## II.5 Validasi metode analisis

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

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

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

4. Metode baku digunakan di Laboratorium yang berbeda, dikerjakan oleh analis yang berbeda, atau dikerjakan dengan alat yang berbeda.
5. Untuk mendemonstrasikan kesetaraan antar 2 metode, seperti antara metode baru dan metode baku.

Berikut beberapa parameter menurut USP (*United States Pharmacopeia*) dan ICH (*International Conference on Harmonization*).

Tabel II.5  
Parameter Validasi Metode

Parameter	USP	ICH
Presisi dan akurasi	✓	✓
Linieritas dan rentang	✓	✓
BD dan BK	✓	✓
Spesifitas	✓	✓
Kekasaran	✓	–
Ketahanan	✓	✓
Kesesuaian sistem	–	✓

(Sumber : Swartz and Krull, 1997)

#### 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. Untuk pengujian senyawa

obat, akurasi diperoleh dengan membandingkan hasil pengukuran dengan bahan rujukan standar (*standard reference material, SRM*).

## 2. Presisi

Presisi merupakan ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relative dari jumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistic. Sesuai dengan ICH, presisi harus dilakukan pada 3 tingkatan yang berbeda yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*), dan ketertiruan (*reproducibility*).

## 3. Spesifisitas

Spesifisitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi, dan komponen matriks. ICH membagi spesifisitas dalam 2 kategori, yakni uji identifikasi dan uji kemurnian atau pengukuran.

## 4. 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 secara spesifik menyatakan apakah analit diatas 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 ( $3S_b$ ).

## 5. 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.



Sebagaimana LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi (dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan).

#### 6. 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.

#### 7. Kisaran (*range*)

Kisaran suatu metode didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dan tertinggi yang mana suatu metode analisis menunjukkan akurasi, presisi, dan linieritas yang mencukupi. Kisaran-kisaran konsentrasi yang diuji tergantung pada jenis metode dan kegunaannya.

#### 8. Kekasaran (*ruggedness*)

Kekasaran merupakan tingkat reproduksibilitas hasil yang diperoleh dibawah kondisi yang bermacam-macam yang diekspresikan sebagai persen standart deviasi relatif (% RSD). Kondisi-kondisi ini meliputi laboratorium, analisis, alat, reagen, dan waktu percobaan yang berbeda.

#### 9. Ketahanan (*robustness*)

Ketahanan merupakan kapasitas metode untuk tetap tidak terpengaruh oleh adanya variasi parameter metode yang kecil. Ketahanan dievaluasi dengan melakukan variasi parameter-

parameter metode seperti persentase pelarut organik, pH, kekuatan ionik, suhu, dan sebagainya.

#### 10. Stabilitas

Untuk memperoleh hasil-hasil analisis yang reproduibel dan reliabel, maka sampel, reagen dan baku yang digunakan harus stabil pada waktu tertentu (misalkan 1 hari, 1 minggu, 1 bulan, atau tergantung kebutuhan).

#### 11. Kesesuaian sistem

Sebelum melakukan analisis setiap hari, seorang analis harus memastikan bahwa sistem dan prosedur yang digunakan harus mampu memberikan data yang dapat diterima. Hal ini dapat dilakukan dengan percobaan kesesuaian sistem yang didefinisikan sebagai serangkaian uji untuk menjamin bahwa metode tersebut dapat menghasilkan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Persyaratan-persyaratan kesesuaian sistem biasanya dilakukan setelah dilakukan pengembangan metode dan validasi metode (Gandjar, 2007).

### **Bab III Metodologi penelitian**

Metodologi yang dilakukan pada analisis pewarna (*Tartrazine* dan *Sunset Yellow*) dengan metode spektrofotometri derivatif, meliputi : pembuatan larutan baku, penentuan panjang gelombang maksimum, penentuan panjang gelombang *zero crossing*, pembuatan kurva baku, validasi metode (batas deteksi, batas kuantifikasi, akurasi, presisi, dan linieritas dan rentang), dan penetapan kadar sampel.