

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1. Daging

Daging didefinisikan sebagai semua jaringan dari hewan yang terdiri dari hati, otak, jantung, ginjal, paru-paru, dan jaringan otot dari hewan yang sudah disembelih dan dapat dikonsumsi. Berdasarkan keadaannya daging dapat dikelompokkan menjadi (Soeparno, 2009) :

- a. Daging segar yang dilayukan
- b. Daging segar yang dilayukan kemudian didinginkan (daging dingin)
- c. Daging segar yang dilayukan, kemudian didinginkan dibeku (daging beku)
- d. Daging masak
- e. Daging asap
- f. Daging olahan

Daging segar adalah daging yang belum mengalami bentuk pengolahan apapun yang dapat dijadikan bahan baku dalam pengolahan bahan pangan. Sedangkan daging olahan adalah daging yang telah mengalami bentuk pengolahan dengan metode tertentu dengan atau tanpa bahan tambahan pangan misalnya sosis, dendeng, dan daging olahan dalam kaleng dan sebagainya (Desrosier, 1988). Komponen daging terdiri dari 75% air, 19% protein, 3,5% substansi non protein yang larut, dan 25% lemak. Komponen terbesar dari daging adalah protein, karena daging terdiri dari asam-asam amino yang lengkap dan seimbang (Soeparno, 2009).

1.1.1. Sosis

Sosis (dalam bahasa Inggris *sausage*) berasal dari bahasa latin *salsus* yang artinya asin yang terbuat dari daging cincang, lemak dan rempah serta bahan lainnya. Seiring perkembangan zaman yang semakin pesat ditemukan sosis berwarna putih yang didalamnya terdapat keju, serta sosis yang tidak perlu dimasak kembali (Dedi, 2012).

Dilihat dari jenisnya sosis dapat dibagi menjadi sosis ayam, sosis sapi, sosis babi, bahkan sekarang telah dikembangkan sosis yang terbuat dari sayur mayur dan sosis kambing. Kandungan utama sosis terdiri dari daging, lemak, dan air. Selain itu pada sosis juga ditambahkan bahan tambahan pangan (BTP) diantaranya garam, fosfat, pengawet (biasanya nitrit/nitrat), pewarna, asam askorbat, isolat protein dan karbohidrat (Soeparno, 1994)

1.2. Bahan Tambahan Pangan (BTP)

Pengertian BTP menurut peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/88 adalah bahan yang sengaja atau tidak sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk maksud teknologi pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, dan pengemasan untuk mempengaruhi sifat khas makanan tersebut (Kumara, 1986).

Tujuan penggunaan BTP adalah untuk mempertahankan kualitas pada saat penyimpanan, membuat lebih mudah saat dihidangkan, serta mempermudah dalam proses preparasi bahan pangan. Contoh dari BTP yang ditambahkan adalah

nitrit yang digunakan sebagai zat pengawet dan rhodamin B yang digunakan sebagai zat pewarna (Cahyadi, 2009).

BTP yang digunakan harus mempunyai sifat-sifat yaitu dapat mempertahankan nilai gizi makanan, tidak mengurangi zat-zat esensial, menarik bagi konsumen dan bukan merupakan penipuan (Winarno, 1980).

Berdasarkan tujuan penggunaannya dalam pangan, pengelompokan BTP yang diizinkan menurut peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/88 adalah sebagai berikut (Kumara, 1986) :

- a. Pewarna yaitu BTP yang memberikan warna pada makanan
- b. Pemanis buatan yaitu BTP yang memberikan rasa manis namun tidak memiliki nilai gizi
- c. Pengawet yaitu BTP yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba
- d. Antioksidan yaitu bahan tambahan pangan yang dapat mencegah terjadinya ketengikan
- e. Antikempal yaitu BTP yang dapat mencegah terjadinya penggumpalan pada makanan serbuk
- f. Penyedap rasa dan aroma yaitu BTP yang dapat memperkuat rasa dan aroma
- g. Pengatur keasaman yaitu BTP yang dapat menetralkan derajat asam makanan
- h. Pemutih dan pematang tepung yaitu BTP yang dapat memperbaiki mutu pemanggangan
- i. Pengemulsi yaitu BTP yang dapat membantu terbentuknya sistem dispersi

- j. Pengeras yaitu bahan tambahan pangan yang dapat mencegah kelunakan pada makanan
- k. Sekuestan yaitu BTP yang dapat mengikat logam pada makanan.

Dalam kehidupan sehari-hari BTP sudah umum digunakan namun sering terjadi kesalahan dalam menggunakannya karena banyak produsen pangan yang menggunakan BTP yang berbahaya bagi kesehatan serta melebihi dari dosis yang diizinkan dalam industri ataupun menggunakan BTP yang tidak diperbolehkan dalam aturan. Disamping itu harga zat pewarna untuk industri jauh lebih murah dibandingkan dengan harga zat pewarna untuk makanan. Hal ini disebabkan karena biaya masuk zat pewarna untuk zat pewarna jauh lebih tinggi dibandingkan dengan zat pewarna bukan non pangan. Hingga saat ini aturan zat pewarna di Indonesia diatur dalam SK menteri kesehatan republik Indonesia tanggal 22 oktober 1973 No.11332/A/SK/73 (Winarno, 1991).

Sedangkan pengawet yang diizinkan digunakan untuk pangan tercantum dalam peraturan Menteri Kesehatan Nomor 722/Menkes/Per/IX/88 tentang BTP, mencakup: asam benzoat, asam propionat, asam sorbat, belerang oksida, kalsium propionat, kalium benzoat, kalium bisulfit, kalium metabisulfit, kalium nitrat, kalium nitrit, kalium propionat, kalium sorbat, kalium sulfit, kalsium benzoat, etil *p*-hidroksi benzoat, kalsium sorbat, natrium benzoat, etil *p*-hidroksi benzoat, natrium bisulfit, natrium metabisulfit, natrium nitrat, natrium nitrit, natrium propionat, natrium sulfit, propil *p*-hidroksi benzoat (Afrianti, 2010).

Ada lima sebab yang dapat menyebabkan suatu bahan dapat berwarna (Winarno, 1991) :

- a. Pigmen alami terdapat pada tumbuhan dan hewan
- b. Reaksi karamelisasi yaitu warna coklat yang terbentuk apabila gula dipanaskan
- c. Reaksi Maillard yaitu timbul warna gelap
- d. Reaksi oksidasi
- e. Penambahan zat warna baik alami maupun sintetik

1.3. Pewarna Bahan Pangan

Pewarna bahan pangan dapat dijadikan sebagai indikator kesegaran atau pengolahan dapat ditandai dengan adanya warna yang seragam dan merata. Sejak dulu pewarna telah digunakan untuk bahan tambahan pangan misalnya daun pandan untuk warna hijau, dan kunyit untuk warna kuning. Namun dengan berkembangnya zaman meningkatnya ilmu pengetahuan dan teknologi telah ditemukan zat sintetis karena penggunaannya lebih praktis dan harganya lebih murah. Berdasarkan sumbernya zat pewarna dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu pewarna alami dan pewarna sintetis (Cahyadi, 2009).

1.3.1. Pewarna alami

Warna pada makanan dan minuman memberikan penampilan lain yang lebih menarik, oleh karena itu pada makanan sering ditambahkan pewarna. Pewarna alami memberikan nilai gizi dan nutrisi (karotenoid, riboflavin, kobalamin) merupakan bumbu (kunir, paprika) atau pemberi rasa (caramel) pada bahan olahan makanannya (Afrianti, 2010).

Pewarna alami yang biasa digunakan oleh masyarakat adalah kunyit, daun suji, kayu secang, angkak, bunga telang, kluwek abu merang dan tinta cumi. Namun pewarna alami kurang praktis karena untuk mendapatkannya memerlukan waktu yang cukup lama.

Banyak pewarna sintetis yang berpindah ke pewarna alami sebagai contohnya serbuk *beet* menggantikan pewarna sintetis FD & C No.2. Namun penggantian pewarna tersebut terdapat adanya kendala, sehingga para ahli peneliti saat ini bekerja sama untuk menghilangkan kendalanya seperti mencegah penggumpalan dan menjaga stabilitas pada saat penyimpanan (Cahyadi, 2009).

Tabel I.1 Sifat-sifat bahan pewarna alami (Cahyadi,2009)

Kelompok	Warna	Sumber
Caramel	Cokelat	Gula dipanaskan
Anthosianin	Jingga, merah, biru	Tanaman
Flavonoid	Tanpa kuning	Tanaman
Leucoantho sianin	Tidak berwarna	Tanaman
Tannin	Tidak bewarna	Tanaman
Batalain	Kuning, merah	Tanaman
Quinon	Kuning-hitam	Tanaman bakteri lumut
Xanthan	Kuning	Tanaman
Karotenoid	Tanpa kuning-merah	Tanaman/hewan
Klorofil	Hijau, cokelat	Tanaman
Heme	Merah,cokelat	Hewan

1.3.2. Pewarna sintetis

Pewarna sintetis adalah pewarna yang biasanya dibuat dipabrik dan berasal dari suatu zat kimia. Semua pewarna alami dapat digunakan pada pengolahan pangan, namun tidak semua pewarna sintetis dapat digunakan pada pengolahan pangan. Suatu pewarna sintetis dapat berbahaya apabila ditambahkan kedalam bahan makanan. Pada pembuatan zat pewarna organik sebelum mencapai produk

akhir, harus melalui suatu senyawa antara dulu yang seringkali tertinggal dalam hal akhir, atau terbentuk senyawa-senyawa baru yang berbahaya (Afrianti, 2010).

Di Indonesia peraturan mengenai zat pewarna yang diizinkan dan dilarang untuk pangan diatur melalui SK Menteri Kesehatan RI Nomor 722/Menkes/Per/XI/88 mengenai bahan tambahan pangan (Cahyadi, 2009). Ada beberapa syarat untuk penggunaan pewarna sintetis yang diperbolehkan yaitu (Winarno,1991) :

a. Lolos sertifikasi

Sertifikasi zat warna sintetis dilakukan melalui pengujian kimia, biokimia, toksikologi, dan analisis media zat warna

b. Pewarna aman

Kandungan arsen $< 0,00014\%$

Kandungan timbal $< 0,001\%$

Tidak mengandung logam berat

c. Memenuhi peraturan

Aturan FD&C color (food Drug and Cosmetic Act)

Digolongkan menjadi 3:

- 1) FD & C color, diijinkan untuk makanan, obat dan kosmetik
- 2) D & C color , diijinkan untuk obat dan kosmetik
- 3) Ext D & C , dilarang untuk bahan makanan

Tabel I.2 Bahan Pewarna Sintetis yang diizinkan di Indonesia (Cahyadi, 2009)

Pewarna		Nomer Indeks Warna (C.I.No)
Amaran	Amaranth: CI Food Red 9	16185
Biru berlian	Brilliant blue FCF : CI	42090
Eritrosin	Food Red 2 Erithrosin : C	45430
Hijau FCF	Food Red 14 Fast green FCF : CI	42053
Hijau S	Food green 3 Green S : Cl. Food	44090
Indigotin	Green 4 Indigotin : Cl.Food	73015
Ponceau 4R	Blue I Ponceau 4R : CI	16255
Kuning	Food Red 7	74005
Kuinelin	Quineline yellow Cl. Food yellow 13	15980
Kuning FCF	Sunset yellow FCF Cl. Food yellow 3	-
Riboflavin	Riboflavin	19140
Tetrazine	Tartrazine	-

Tabel I.3 Bahan Pewarna Sintetis yang dilarang di Indonesia (Cahyadi, 2009)

Pewarna		Nomer Indeks Warna (C.I.No)
Citrus Red No 2		12156
Ponceau 3R	(Red G)	16155
Ponceau SX	(Food Red No.1)	14700
Rhodamin B	(Food Red No.5)	45170
Guinea Green B	(Acid Green No.3)	42085
Magenta	(Basic Violet No.14)	42510
Chrysoidine	(Basic Orange No.2)	11270
Butter Yellow	(Solvent yellow No.2)	11020
Sudan I	(Food yellow No.2)	12055
Methanil Yellow	(Food Yellow No.14)	13065
(Ekx. D & c Yellow No.1)	(Ekx. D & c Yellow No.1)	41000
Oil Oranges SS	(Basic Yellow No.2)	12100
Oil Oranges XO	(Solvent Oranges No.7)	12140
Oil Yellow AB	(Solvent Oranges No.5)	11380
Oil Yellow OB		11390

Tabel I.4 Zat pewarna bagi makanan dan minuman yang diizinkan di Indonesia (Winarno, 1997)

Warna	Nama	Nomor indeks nama
1. Zat warna alam		
Merah	Alkanet	75520
Merah	<i>Cochineal red</i> (karmin)	75470
Kuning	<i>Annato</i>	75120
Kuning	Karoten	75130
Kuning	Kurkumin	75300
Kuning	Safron	75100
Hijau	Klorofil	755810
Biru	Ultramarin	77007
Coklat	Karamel	-
Hitam	<i>Carbon black</i>	77266
Hitam	Besi oksida	77499
Putih	Titanium dioksida	77891
2. Zat warna sintetik		
Merah	<i>Carmoisine</i>	14720
Merah	<i>Amaranth</i>	16185
Merah	<i>Erythrosim</i>	45430
Oranye	<i>Sunsetyellow FCF</i>	15985
Kuning	<i>Tartrazine</i>	19140
Kuning	<i>Quineline yellow</i>	47005
Hijau	<i>Fast green FCF</i>	42053
Biru	<i>Brilliant blue FCF</i>	42090
Biru	<i>Indigocarmine(indigotine)</i>	42090
Ungu	<i>Violet GB</i>	42640

1.4. Mekanisme Zat Pewarna Dalam Tubuh

Bahan pewarna sintesis yang telah dihasilkan oleh para ahli kimia berasal dari *coal-tar* yang jumlahnya ratusan dan sangat disenangi oleh para ahli teknologi untuk pewarnaan barang-barang industri baik yang berupa industri pangan dan nonpangan (Lee 2005).

Pewarna makanan selain dapat memberikan efek positif yaitu membuat penampilan suatu pangan lebih menarik, meratakan warna pangan, dan mengembalikan warna dari bahan dasar yang hilang, juga dapat menimbulkan efek negatif terhadap kesehatan tubuh manusia. Beberapa efek negatif dapat ditimbulkan apabila (Cahanardan Suhandana, 2006) :

- a. Bahan pewarna sintetis dimakan secara berulang dan dalam jangka waktu yang cukup lama
- b. Menggunakan bahan pewarna yang berlebihan, dan
- c. Menyimpanan bahan pewarna yang tidak sesuai aturan.

Zat pewarna diabsorpsi dalam pencernaan makanan dan sebagian dimetabolisme oleh flora usus. Dari saluran pencernaan dibawa langsung ke hati, melalui vena portal atau melalui sistem limfatik ke vena kava superior. Didalam hati senyawa dimetabolisme atau dikonjugasi, lalu ditransportasikan ke ginjal untuk diekskresikan bersama urin senyawa-senyawa tersebut dibawa dalam aliran darah sebagai berikut (Noviana, 2005) :

- a. Sebagai molekul-molekul yang tersebar dan melarut dalam plasma
- b. Sebagai molekul-molekul yang terikat reversibel dengan protein dan konstituen-konstituen lain dalam serum, dan
- c. Sebagai molekul-molekul bebas tanpa mengandung eritrosin dan unsur-unsur dalam pembentukan darah.

1.5. Rhodamin B

Rhodamin B adalah senyawa kimia dengan rumus molekul $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$ memiliki berat molekul sebesar 479.000 gram/mol. Merupakan zat warna sintetis berupa zat kristal berwarna merah keunguan dalam larutan berwarna merah terang berpendar (Ratini dan Wisnu, 1987).

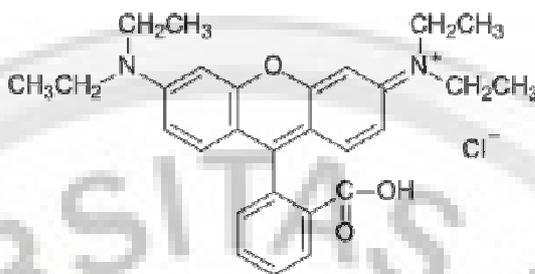
Menurut peraturan pemerintah Permenkes No.239/Menkes/Per/V/85 tentang zat pewarna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya.

Pewarnaan pangan baik berupa makanan atau minuman berwarna merah disarankan untuk menggunakan pewarna sintetis yang disarankan yang sesuai dengan Permenkes No.722/Menkes/Per/88 tentang bahan makanan, misalnya: karmin, dan merah allura (Afrianti, 2010).

Rhodamin B dapat menyebabkan iritasi pada saluran pernafasan, iritasi pada kulit, iritasi pada mata, iritasi pada saluran pencernaan, keracunan, gangguan hati, serta kanker. Menurut WHO rhodamin B berbahaya karena sifat kimia dan kandungan logam beratnya yaitu klorin (Cl). Apabila klorin tertelan, senyawa ini akan mencapai kestabilan dalam tubuh dengan cara mengikat senyawa lain dalam tubuh, hal inilah yang bersifat racun. Selain itu, Rhodamin B juga memiliki senyawa pengalkilasi ($\text{CH}_3\text{-CH}_3$) yang bersifat radikal bebas sehingga dapat berikatan dengan protein, lemak, dan DNA dalam tubuh (Kusmayadi, 2011).

Rhodamin B dalam penggunaannya telah dilarang namun masih ada produsen yang menambahkan rhodamin B kedalam produknya karena harga zat pewarna untuk pangan lebih mahal dibandingkan dengan zat pewarna nonpangan (tekstil, kulit), selain itu biasanya hasil pewarnaan dari zat pewarna tekstil lebih menarik dibandingkan dengan pewarna pangan. Selain itu menurut lembaga pembinaan dan perlindungan konsumen (LP2K), penggunaan zat pewarna pada makanan secara tidak bertanggung jawab akan mengakibatkan kemunduran kerja otak, sehingga anak-anak menjadi malas, sering pusing dan menurunnya konsentrasi belajar. Rhodamin B termasuk senyawa yang dapat memberikan warna karena adanya gugus kromofor yaitu quinoid. Kuantitas warna yang

dihasilkan dari rhodamin B sangat tajam karena adanya gugus ausokrom, dimana gugus ausokrom tersebut adalah dimetil amin (Sastrawijaya, 2000).



Gambar. I.1 Struktur Rhodamin B (*Mudah Dan Aktif Belajar Kimia*)

Tabel I.5 Data karakteristik Rhodamin B (Farmakope Indonesia, 1995)

No	Subjek	Keterangan
1	Berat molekul	479
2	Rumus molekul	$C_{28}H_{31}ClN_2O_3$
3	Titik lebur	$165^{\circ}C$
4	Kelarutan	Sangat larut dalam air dan alkohol ; sedikit larut dalam asam klorida dan natrium hidroksida.
5	Nama kimia	<i>N</i> -[9-(2-karboksifenil) -6- (dietil amino) -3H-xanthen- 3-ylidene]- <i>N</i> -etiletanaminium klorida.
6	Sinonim	Tetraetilrhodamin; D&C Red No 19; Rhodamin B Klorida; C.I basic violet 10; CI. 45170.
7	Deskripsi	Kristal hijau atau serbuk merah violet.

1.5.1. Dampak rhodamin B

Dampak dari mengkonsumsi rhodamin B dalam jumlah besar dan jangka waktu yang lama adalah terjadinya akumulasi pada tubuh serta menyebabkan iritasi, macam-macam iritasi tersebut adalah (Noviana, 2005) :

- a. Iritasi kulit apabila terkena kulit
- b. Saluran pencernaan apabila tertelan
- c. Pada mata apabila terkena mata, dan

- d. Gejala keracunan berupa air seni berwarna merah muda.

Berbagai penelitian dan uji membuktikan bahwa penggunaan dari rhodamin B dapat menyebabkan kerusakan organ hati dimana pada hati ditandai dengan terjadinya piknotik (sel yang melakukan pinositosis) dan sitolisis dari sitoplasma (Noviana, 2005).

1.6. Pengawet Bahan Pangan

Pengawet pada bahan pangan ditujukan untuk mencegah terjadinya ketengikan serta menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada bahan pangan. Tetapi tidak jarang produsen pangan menggunakannya pada makanan yang relatif awet dengan tujuan untuk memperpanjang masa simpan atau memperbaiki tekstur. Pengawet yang ditambahkan kedalam bahan pangan juga harus memenuhi aturan yang telah ditetapkan oleh pemerintah, karena ada pengawet yang boleh digunakan namun karena melebihi batas penggunaannya, sehingga pengawet ini dilarang karena dapat menimbulkan efek negatif bagi yang mengkonsumsinya. Ada beberapa alasan dimana bahan pangan ditambahkan pengawet antara lain (Yulianti, 2007) :

- a. Apabila bahan pangan mudah rusak pada penyimpanan,
 - b. Apabila bahan pangan tersebut awet namun untuk tujuan memperbaiki tekstur, dan
 - c. Jika produk pangan tersebut tidak habis sekali konsumsi oleh konsumen.
- Produk pangan yang tidak habis sekali konsumsi sangat berpotensi

terjadinya peningkatan jumlah mikroba sejak kemasannya dibuka sampai bahan pangan tersebut habis dikonsumsi.

Contoh bahan pangan yang ditambahkan pengawet adalah daging, yang salah satu komponennya berupa protein. Daging mudah rusak pada penyimpanan yang lama, sehingga perlu ditambahkan pengawet (Norman, 1988).

1.6.1. Pengawet alami

Sejak zaman dahulu telah dilakukan pengawetan oleh masyarakat untuk mengawetkan bahan pangan. Namun kini semakin berkembangnya zaman dimana pengetahuan dan teknologi semakin canggih, sebagian orang atau produsen pangan lebih beralih ke zat pengawet sintetis yang hanya ditambahkan ke bahan pangan tanpa memerlukan waktu yang panjang untuk mengawetkannya. Macam-macam pengawet alami yang ditujukan untuk mengawetkan makanan yaitu (Winarno, 1922) :

- a. Garam : ditujukan untuk mengawetkan ikan dengan cara diasinkan
- b. Karagenan : ditujukan untuk mengenyalkan baso dan mie basah
- c. Buah picung : ditujukan untuk mengawetkan ikan
- d. Biji kepayang : ditujukan untuk mengawetkan ikan
- e. Gambir : ditujukan untuk mengawetkan makanan
- f. Kitosan : ditujukan untuk mengawetkan makanan.

1.6.2. Pengawet sintetis

Di Indonesia para produsen bahan pangan telah banyak menggunakan pengawet untuk produksi makanannya. Hal ini terutama pada makanan yang

dijajakan di pinggir jalan. 80% dari jajanan (makanan dan minuman) sekolah dinyatakan mengandung bahan berbahaya bagi kesehatan (BPOM, 2003).

Masyarakat cenderung untuk mengkonsumsi bahan pangan yang bersifat instan, namun mereka belum mengetahui dampak yang ditimbulkan dari penggunaan zat pengawetnya, walaupun dinyatakan bahwa zat pengawet merupakan BTP yang bersifat inert untuk digunakan (Harmita, 2009).

Dalam Permenkes No. 722 tahun 1988 telah dicantumkan batas maksimum penggunaan bahan pengawet untuk masing-masing jenis/bahan makanan. Menurut Badan Pengawasan Pangan Obat dan Makanan (BPOM) ada beberapa jenis bahan pengawet yang boleh digunakan dalam produksi makanan, contohnya adalah sebagai berikut (BPOM, 2003) :

Tabel 1.6 Jenis Pengawet Yang Boleh Digunakan Dalam Makanan

No.	Nama	Penggunaan	Batas Maksimum
1	Natrium benzoat	Digunakan untuk acar dalam botol, keju, margarin dll	200 mg-1 gr/kg
2	Natrium bisulfit	Digunakan pada potongan kentangan goreng beku	50 mg-500 mg/kg
3	Natrium metabisulfit	Digunakan pada potongan kentangan goreng beku	50 mg-100 mg/kg
4	Natrium nitrat	Digunakan untuk daging olahan	50 mg-500 mg/kg
5	Natrium nitrit	Digunakan untuk daging olahan	50 mg-125 mg/kg
6	Natrium propionat	Digunakan untuk olahan keju, roti	2 gr-3 gr/kg
7	Sulfit	Digunakan untuk potongan kentang goreng beku	50 mg-500 mg/kg
8	Nisin	Digunakan untuk keju olahan dengan sosis	12,5 mg/kg
9	Asam benzoat	Digunakan pada kecap	600 mg-1 gr/kg
10	Asam propionat	Digunakan untuk olahan keju dan roti	2 gr-3 gr/kg
11	Asam sorbat	Digunakan untuk olahan keju dan roti	3 gr/kg

12	Belerang dioksida	Digunakan untuk acar, jelly,	20 mg-500 mg/kg
13	Metil- <i>p</i> hidroksibenzoat	Digunakan untuk selai, jelly, acar	200 mg-1 gr/kg
14	Etil- <i>p</i> hidroksibenzoat	Digunakan untuk selai dan jelly	1 gr/kg
15	Propil- <i>p</i> hidroksibenzoat	Digunakan untuk selai, jelly	250 mg-1 gr/kg
16	Kalium benzoat	Digunakan untuk acar dalam botol	200 mg-1 gr/kg
17	Kalium bisulfit	Digunakan untuk potongan kentang goreng beku	50 mg-500 mg/gr
18	Kalium metabisulfit	Digunakan untuk potongan kentang goreng beku	50 mg-100 mg/kg
19	Kalium nitrat	Digunakan untuk daging olahan	50-500 mg/kg
20	Kalium nitrit	Digunakan untuk daging olahan	50 mg-125 mg/kg
21	Kalium propionat	Digunakan untuk keju olahan dengan sosis	3 gr/kg
22	Kalium sorbat	Digunakan untuk keju olahan	500 mg-1 gr/kg
23	Kalium sulfit	Digunakan untuk potongan kentang goreng beku	50 mg- 500 mg/kg
24	Kalsium benzoat	Digunakan untuk selai, saus tomat	200 mg- 1 gr/kg
25	Kalsium propionat	Digunakan untuk olahan keju dan roti	2 gr-3gr/kg

1.6.3. Mekanisme zat pengawet dalam tubuh

Zat pengawet memiliki ambang batas dalam penggunaannya apabila mengkonsumsi bahan-bahan pengawet tidak secara berlebihan atau masih di bawah ambang batas, tubuh memiliki detoksifikasi bahan pengawet sintetis yang sangat efektif. Sistem detoksifikasi manusia terdapat pada ginjal dan hati. Bahan pengawet yang ada dalam tubuh manusia akan disaring pada ginjal dan dikeluarkan ureter yang akan ikut terbuang melalui urin. Sekitar 75 – 80% zat-zat tersebut dikeluarkan dalam jangka waktu sekitar 10 jam. Dan di dalam tubuh, bahan-bahan pengawet di atas akan bergabung dengan glisin di dalam hati dan membentuk asam hippurat yang akan dikeluarkan lewat urin. Jika masih ada yang

tertinggal, bahan–bahan pengawet ini akan bergabung dengan asam glukuronat yang akan termetabolisme lewat urin (Maulidya dan Nurma, 2012).

Pemakaian pewarna sintetis dalam pangan walaupun memiliki efek positif bagi produsen dan konsumen, diantaranya dapat membuat jangka waktu pakai bahan pangan semakin panjang, memperbaiki tekstur, serta menghambat pertumbuhan mikroorganisme, selain itu dapat juga menimbulkan efek negatif yaitu penggunaan natrium nitrit dalam jumlah yang melebihi batas menimbulkan efek membahayakan kesehatan, karena nitrit dapat berikatan dengan amino dan amida yang terdapat pada protein daging membentuk turunan nitrosoamin yang bersifat toksis. Nitrosoamin merupakan salah satu senyawa yang diduga dapat menimbulkan kanker (Doul, 1986; dan Winarno, 1984).

1.7. Natrium Nitrit



Gambar. I.2 Struktur Natrium nitrit (*Mudah Dan Aktif Belajar Kimia*)

Natrium nitrit atau sodium nitrit adalah senyawa nitrogen yang reaktif. Nitrit merupakan salah satu jenis bahan tambahan makanan yang banyak digunakan sebagai pengawet. Nitrit adalah suatu bahan berwarna putih sampai kekuningan, berbentuk bubuk atau granular dan tidak berbau. Berat jenisnya 2,17 (25 °C) g/mL dengan kelarutan dalam air sebesar 820 g/L (20 °C) dan bersifat alkali (pH 9). Titik leleh sodium nitrit 271 – 281 °C, titik didih 320 °C, suhu bakar 510 °C, dan suhu penguraian > 320 °C. Natrium nitrit atau Sodium nitrit memiliki

kerapatan 2,168 g/cm dan berat molekul 69,0 g/mol. Sifat kimia sodium nitrit (Apriliani, 2012) :

- a. Sangat mudah larut dalam air
- b. Bersifat higroskopis
- c. Teroksidasi oleh udara membentuk nitrat
- d. Terurai oleh panas mengeluarkan NO_x dan Na₂
- e. Meledak bila kontak dengan sianida, garam ammonium, selulosa, litium dan tiosulfat.

Menurut peraturan Menteri Kesehatan RI nomor 722/Menkes/Per/IX/88 tentang bahan tambahan makanan menyatakan bahwa kadar nitrit yang diijinkan pada produk akhir daging olahan adalah 200 ppm (200 mg per kg bahan). Sedangkan USDA (*United States Departement Of Agriculture*) membatasi penggunaan maksimum nitrit sebagai garam sodium atau potasium yaitu 239,7 g/100 L larutan garam, 62,8 g/100 kg daging untuk daging kering atau 15,7 g/100 kg daging cacahan untuk sosis (Diana, 2012).

1.7.1. Dampak natrium nitrit

Penggunaan nitrit sebagai bahan pengawet diizinkan di Indonesia, namun terkadang ada produsen yang menambahkan nitrit melebihi ambang batas yang ditentukan, sehingga menimbulkan dampak yang membahayakan bagi kesehatan tubuh manusia. Dimana nitrit dapat berikatan dengan amino dan amida yang terdapat pada protein daging membentuk turunan nitrosoamin yang bersifat toksis. Nitrosoamin Merupakan salah satu senyawa yang diduga dapat menyebabkan kanker (Doul, 1986; Winarno, 1984).

Dampak negatif dari penggunaan nitrit yang berlebih dapat menyebabkan keracunan, dimana keracunan tersebut dapat bersifat kronis dan akut (Achmad, 2012).

1.8. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan dua zat atau lebih yang menggunakan pelarut tidak saling bercampur. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya.. Berdasarkan fase yang terlibat terdapat dua jenis proses ekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair (ECC) dan ekstraksi padat-cair (Harbone, 1987; Dirjen POM, 1986)

Pada ekstraksi cair-cair fase yang digunakan adalah dua cairan yang tidak saling bercampur, biasanya digunakan air dan pelarut organik. Dalam proses ekstraksi cair-cair terjadi perpindahan zat dari satu fase ke fase yang lain. Prinsip yang dikenal "*like dissolve like*" sangat berperan, artinya suatu senyawa akan larut dengan senyawa yang memiliki kemiripan sifat dengannya (Harbone, 1987).

Pada ekstraksi cair-cair fase yang digunakan adalah pelarut yang tidak saling bercampur, sehingga komponen larut pada fase pertama dan sisanya pada fase kedua. Lalu keduanya dikocok, sampai terjadi pemisahan sempurna, dimana komponen kimia akan terpisah kedalam sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap. Adapun tujuan dilakukannya ekstraksi adalah sebagai berikut (Harbone, 1987) :

- a. Sengaja dilakukan ekstraksi yang telah diketahui senyawa kimianya

- b. Untuk menentukan kelompok senyawa kimia tertentu
- c. Organisme baik hewan atau tumbuhan digunakan untuk pengobatan tradisional
- d. Sifat senyawa yang belum di isolasi dengan cara apapun.

1.9. Spektrofotometri Sinar Tampak

Spektrofotometri sinar tampak adalah pengukuran absorbansi energi cahaya oleh suatu kimia pada panjang gelombang tertentu (Day, 2002). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm (Darchryanus, 2004).

Spektrofotometer sinar tampak lebih digunakan untuk analisis kuantitatif dibandingkan analisis kualitatif karena Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis. Lambert-Beer menentukan konsentrasi dari analit didalam larutan dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu (Rohman, 2007).

Hukum Lambert-Beer dinyatakan dalam rumus sbb :

$$A = e.b.c \quad (2)$$

dimana :

A = absorban

e = absorptivitas molar

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu. Ada beberapa alasan menggunakan panjang gelombang maksimal pada pengukuran spektrofotometri sinar tampak yaitu (Rohman, 2007) :

- a. Pada panjang gelombang maksimal, kepekaannya juga maksimal karena pada panjang gelombang maksimal tersebut, perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.
- b. Disekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum lambert-beer akan terpenuhi.
- c. Ketika digunakan panjang gelombang maksimal jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali (Rohman dan Abdul, 2007).

Ada beberapa tahapan yang harus dilakukan dalam analisis dengan menggunakan spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak yaitu :

- a. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum

Untuk memperoleh panjang gelombang maksimum dapat diperoleh dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku dengan konsentrasi.

- b. Waktu kerja

Waktu kerja ditentukan dengan mengukur hubungan antara waktu pengukuran dengan absorbansi larutan.

c. Pembuatan kurva kalibrasi

Kurva kalibrasi yang lurus menandakan hukum Lambert Beer terpenuhi, dilakukan dengan membuat seri larutan baku dalam berbagai konsentrasi diukur lalu dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi.

d. Pembacaan absorbansi sampel

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometri hendaknya terletak antara 0,2 sampai 0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca transmittan.

e. Perhitungan kadar

Dilakukan dengan menggunakan metode regresi, yaitu yang didasarkan pada harga serapan dan larutan standar yang dibuat dalam beberapa konsentrasi, paling sedikit menggunakan 5 rentang konsentrasi meningkat yang dapat memberikan serapan linier, kemudian diplot menghasilkan suatu kurva kalibrasi, konsentrasi suatu sampel dapat diukur dengan menggunakan kurva kalibrasi (Rohman, 2007).

1.9.1. Analisis rhodamin B

Analisis zat pewarna dalam makanan dan minuman dapat ditentukan dengan dua cara yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif rhodamin B menggunakan teknik pemisahan yaitu kromatografi lapis tipis sedangkan analisis kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak (BPOM, 2006).

Analisis kuantitatif pada rhodamin B membandingkan kurva absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 450-750 nm. Kemudian kadarnya dihitung dengan menggunakan persamaan regresi $y = bx + a$ (Kenkel, 1994).

1.9.2. Analisis natrium nitrit

Analisis zat pengawet dalam makanan dapat ditentukan dengan dua cara yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif natrium nitrit menggunakan alat pemisahan yaitu menggunakan sentrifugasi, kemudian direaksikan dengan beberapa larutan sedangkan analisis kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak (Bassett dkk Ed. IV).

Pada natrium nitrit membandingkan kurva absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 450-750 dilakukan secara kualitatif. Kemudian kadarnya dihitung dengan menggunakan persamaan regresi $y = a + bx$ nm (Kenkel, 1994).

1.9.3. Verifikasi metode

Verifikasi merupakan suatu proses evaluasi kecermatan dan keseksamaan yang dihasilkan oleh suatu prosedur dengan nilai yang dapat diterima. Verifikasi metode adalah suatu penilaian terhadap parameter tertentu berdasarkan pada pengujian dilaboratorium untuk memastikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaan. Sesuai ISO/IEC 17025/2005, verifikasi metode analisis ditunjukkan untuk mengetahui dan mengkonfirmasi bahwa metode analisis memenuhi spesifikasi sesuai dengan tujuan yang diharapkan. Hal ini dilakukan untuk menjamin bahwa setiap pengukuran serupa pada masa yang akan datang menghasilkan nilai yang mendekati sebenarnya dari jumlah analit yang terdapat pada sampel (Harvey 2000).

Verifikasi metode analisis penting dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis yang digunakan sudah valid dan apabila ada kesalahan masih dalam batas yang diizinkan (Gandjar, 2012).

1.9.4. Kalibrasi dan linieritas

Kalibrasi suatu metode meliputi perbandingan nilai yang akan diukur oleh sistem dibawah kondisi-kondisi yang telah ditetapkan secara ketat dengan nilai-nilai standar yang ditentukan sebelumnya. Seberapa responsif metode terhadap sedikit perubahan dalam konsentrasi suatu analit, menunjukkan terhadap kepekaan metode, kepekaan dapat dilihat sebagai kemiringan suatu kurva respons dan merupakan fungsi suatu cara kalibrasi instrumen (Watson, 2010).

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima.

Linieritas merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode untuk mendapatkan hasil uji yang baik langsung maupun dengan definisi transformasi matematis yang baik, proporsional dengan konsentrasi analit dalam sampel pada range tertentu (Zhang, X-M dkk 2004). Linieritas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda, kemudian data yang diperoleh diproses dengan metode kuadrat kecil untuk ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep dan

koefisien relasinya (r). Linieritas metode analisis dapat diuji dengan membuat plot residual yang dihasilkan oleh persamaan regresi linier pada respon konsentrasi dalam satu seri kalibrasi (Thompson, 2002). Linieritas harus dievaluasi berupa pemeriksaan visual terhadap plot absorbansi yang merupakan fungsi dari konsentrasi analit. Penyiapan konsentrasi-konsentrasi yang berbeda dengan menggunakan berat baku yang berbeda akan menghasilkan kesalahan terhadap kajian linieritas analit (Gandjar, 2012).

1.9.5. Presisi (keseksamaan)

Presisi biasanya diangkat dengan RSD atau *relative standard deviation* yaitu ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel. Presisi harus dilakukan pada tiga tingkatan yang berbeda yaitu keterulangan (*repatibility*), presisi antara (*intermediate percision*) dan ketertiruan (*reproducibility*) (Gandjar, 2012).

1.9.6. Akurasi (ketepatan)

Akurasi merupakan kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi atau nilai sebenarnya. Ketepatan dinyatakan sebagai nilai perolehan kembali (*recovery*) dan sangat tergantung pada sebaran galat sistematik dalam keseluruhan tahapan analisis (Harmita, 2009). Terdapat tiga cara untuk menentukan akurasi (Gandjar, 2012)

- a. Membandingkan hasil analisis dengan CRM (*certified reference material*)
- b. *Recovery* dengan memasukan analit kedalam matriks blanko (*spiked placebo*)

- c. Penambahan baku pada matriks yang mengandung sampel (*standard edition method*).

1.9.7. Batas deteksi

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah pada sampel yang dapat terdeteksi, walaupun belum tentu dapat dikuantifikasi. Pengertian dari batas deteksi secara umum dalam kimia analisis adalah kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko (y_b) ditambah dengan tiga simpangan baku blanko ($3s_b$). Batas deteksi dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali kemudian dihitung simpangan baku. Berikut adalah formula yang digunakan untuk perhitungan (Gandjar, 2012) :

$$Q = \frac{kxsb}{sl} \quad (3)$$

Q = LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi)

K = 3 untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantitasi

S_b = simpangan baku respon analitik dari blanko

Sl = arah garis linier (kepekaan arah) (dari kurva antara respon terhadap konsentrasi) (b pada persamaan garis $y = bx + a$).

1.9.8. Batas kuantitasi

Batas kuantitasi adalah konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan (Swartz, 2006). Batas kuantifikasi sering dinyatakan sebagai 10 kali standar deviasi relatif pada metode (Moffat dkk, 2011). Sebagaimana LOD dan LOQ juga merupakan konsentrasi (dengan akurasi dan presisi yang dilaporkan) (Gandjar, 2012).