

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **5.1. Hasil Analisis Kualitatif Pewarna Kuning Metanil Pada Tahu Kuning**

Pewarna kuning metanil adalah pewarna yang tidak boleh digunakan sebagai pewarna makanan, akan tetapi oleh para produsen nakal biasa ditambahkan dalam makanan salah satunya adalah tahu. Karena ditujukan agar membuat warna tahu menjadi lebih cerah dan lebih menarik. Pengujian bahan pewarna di dalam makanan sangatlah penting, guna menjamin keamanan pengguna makanan yang sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Selain itu, metode yang digunakan dalam pengujian ini harus dapat diandalkan sehingga dapat menjamin kebenaran hasil dan data yang telah diperoleh. Pada penelitian ini dilakukan analisis kualitatif dan analisis kuantitatif pewarna kuning metanil pada tahu kuning yang diambil di tiga pasar tradisional dan tiga pasar modern di daerah Bandung yaitu pasar tradisional (T1, T2, T3) dan pasar modern (M1, M2, M3).

Langkah pertama yang dilakukan adalah perlakuan sampel. Untuk sampel tahu kuning yang akan digunakan dipilih dua pedagang dari masing-masing pasar dan dua merek yang berbeda dari setiap pedagang. Timbang 5 gram tahu kuning kemudian ditambahkan 2 mL etanol sebagai pelarut, setelah itu didiamkan selama 10-15 menit kemudian di sentrifugasi selama 10 menit, cairan diuapkan dan residu ditambahkan beberapa tetes air kemudian diasamkan dengan menggunakan 2 mL

HCl 5%, untuk sampel tahu yang berasal dari pasar tradisional (T1, T2) dan pasar modern (M1, M2, M3), ketika ditambahkan HCl, tidak menunjukkan adanya perubahan warna. Tetapi untuk salahsatu sampel tahu yang berasal dari pasar tradisional (T3), ketika ditambahkan HCl terlihat perubahan warna menjadi warna keunguan. Hal ini menunjukkan secara kualitatif sampel tahu dari pasar tradisional (T3) mengandung senyawa kuning metanil (Fadila, 2013: 37).

Setelah perlakuan sampel, kemudian dilakukan pengisolasian zat warna dengan menggunakan metode SPE. Sebelumnya dibuat sampel tahu kuning yang baru dengan mengambil 2 gram tahu kuning yang sudah dibuburkan kemudian ditambahkan aquabides 5 mL ke dalam tabung reaksi, lalu di vortex selama 10 menit, dimasukan kedalam labu ukur 25 mL dan ad dengan menggunakan metanol hingga tanda batas. Kemudian lakukan pengisolasian zat warna dengan menggunakan metode SPE. Kolom SPE sebelumnya pengkondisian terlebih dahulu dengan menggunakan pelarut yang digunakan pada sampel yaitu metanol, kemudian lakukan retensi dengan memasukan larutan sampel kedalam SPE dimana analit yang diinginkan akan tertahan atau terjerap di silika dan matriks lain akan terbuang, kemudian dibilas dengan menggunakan metanol untuk membuang matriks lain yang tidak diinginkan yang masih terjerap pada silika, tahap terakhir dielusi dengan menggunakan fase gerak untuk menarik analit yang diinginkan. Akan tetapi data yang diperoleh dari hasil elusi hanya menghasilkan nilai AUC yang rendah dibandingkan dengan nilai AUC dari hasil retensi. Hal ini menunjukkan bahwa kuning metanil tidak terjerap secara sempurna di silika.

## 5.2. Analisis Kuantitatif Pewarna Kuning Metanil Pada Tahu Kuning

Analisis kuantitatif pewarna kuning metanil pada tahu kuning menggunakan metode kromatografi cair kinerja tinggi dengan panjang gelombang 419 nm dan laju alir 0,71 mL/menit dengan sistem gradien yaitu fase gerak 12% B selama 5 menit, 50% B selama 5 menit, 100% B selama 3 menit, lalu kembali ke 12% selama 7 menit, dengan total 20 menit yang diperlukan untuk analisis. Dimana sudah dilakukan preparasi alat terhadap fase gerak yang cocok sehingga menghasilkan kromatogram yang bagus. Hal ini, dikarenakan kondisi setiap alat yang digunakan dalam penetapan sistem gradien yang harus dicoba dari penentuan waktu dan fase gerak yang harus diatur berbeda-beda tergantung dari tipe alat kromatografi cair kinerja tinggi.

Hasil penelitian sampel pada tahu didapatkan kadar 4,936 mg/kg. Sehingga, sampel tersebut tidak memenuhi persyaratan pewarna makanan menurut Permenkes RI No. 239/Menkes/PER/V/1985, karena pewarna kuning metanil termasuk ke dalam salah satu zat warna yang dilarang digunakan sebagai pewarna makanan (Ditjen POM, Departemen Kesehatan RI, 1985:7).

**Tabel V. 1** Data penetapan kadar kuning metanil

Sampel	Luas Area	Kadar Kuning Metanil dalam Sampel Tahu Kuning (mg/kg)	Rata-Rata
1	8729407	4,932	4,936
2	8741503	4,940	

Analisis kuning metanil pada tahu kuning ini menggunakan metode KCKT dengan merk Agilent 1220 Infinity LC. Dimana fase gerak yang digunakan ada fase gerak A yang berisi diamonium fosfat sebanyak 1, 584 gram, dilarutkan dengan 300 mL aquabidestila. Kemudian ditambahkan  $\text{NH}_4\text{OH}$  hingga pH larutan menjadi 8,8 sebagai larutan buffer diamonium fosfat, dan fase gerak B yang berisi asetonitril dan buffer diamonium fosfat dengan perbandingan (50 : 50). Untuk solute yang bersifat asam kuat, asam lemah, basa lemah, pH sangat penting untuk diperhatikan karena jika tidak akan mengalami ionisasi. Kolom yang digunakan pada alat KCKT ini yaitu oktadesil silika (ODS/C18) dengan merk Zorbax SB-C18. Kolom ini sering digunakan, karena kolom ini cenderung bersifat non polar. Kemudian detektor yang digunakan yaitu detektor UV-Vis, karena kuning metanil merupakan pewarna tekstil yang memiliki panjang gelombang 419 nm dan memiliki gugus kromofor.

### **5.3. Kinerja Analitik**

Ketepatan kerja suatu metode yang digunakan dapat ditentukan dari beberapa faktor antara lain, uji kesesuaian sistem, linieritas, akurasi, presisi, LOD, dan LOQ.

#### **5.3.1. Uji kesesuaian sistem**

Kesesuaian sistem merupakan serangkaian uji untuk menjamin bahwa metode tersebut dapat menghasilkan akurasi dan presisi yang dapat diterima. Parameter-parameter yang digunakan meliputi : nilai standar deviasi relatif (RSD)

dari serangkaian injeksi pada instrumen (Gandjar, 2007: 472). Uji kesesuaian sistem dilakukan dengan mengukur larutan kuning metanil, pengukuran dilakukan berulang-ulang sebanyak 6 kali pengukuran. Simpangan baku relatif (RSD) tidak lebih dari 2%. Hasil uji kesesuaian sistem yang diperoleh:

Tabel V. 2 Data uji kesesuaian sistem

PENYUNTIKAN KE	LUAS AREA	WAKTU RETENSI
1	45393419	13.37
2	46207027	13.727
3	46887131	13.763
4	46344268	13.793
5	46394494	13.797
6	47197233	13.797
<b>RATA-RATA</b>	46403928.67	13.70783333
<b>SD</b>	620703.588	0.167747926
<b>RSD</b>	1.337609995	1.223737712

Berdasarkan tabel diatas, simpangan baku relatif yang diperoleh 1,337%. Hasil tersebut sesuai dengan literatur yaitu simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

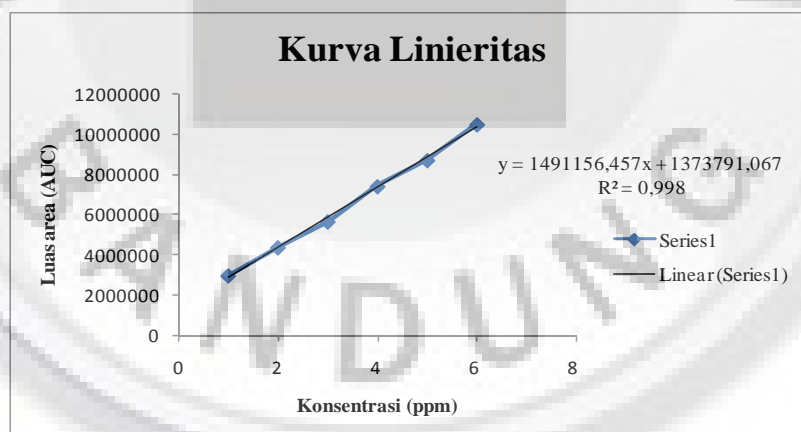
### 5.3.2. Linieritas

Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam suatu sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linieritas yang dapat diterima (Harmita, 2004: 128). Berdasarkan data evaluasi kurva kalibrasi deret

standar kuning metanil pada 6 konsentrasi antara 1 sampai 6 ppm diperoleh persamaan regresi linier  $y = 1491156,457x + 1373791,067$  dengan nilai koefisien korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,998. Nilai koefisien yang diperoleh menunjukkan hasil yang baik karena hampir mendekati 1. Hal ini menunjukkan bahwa ada respon yang baik analitik dengan konsentrasi yang diukur. Hasil uji linieritas dapat dilihat pada kurva Gambar V.1

Tabel V.3 Hasil data linieritas

C	Luas Area	Waktu Retensi
1 ppm	2973803	13.573
2 ppm	4368834	13.55
3 ppm	5653955	13.56
4 ppm	7398012	13.573
5 ppm	8695102	13.58
6 ppm	10467326	13.583



Gambar V.1 Kurva linieritas

### 5.3.3. Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen

perolehan kembali (recovery) analit yang ditambahkan (Harmita, 2004:117). Hasil evaluasi menunjukkan bahwa metode yang sesuai memiliki kisaran persentase perolehan kembali (% recovery) yang menyatakan tingkat akurasi yang memenuhi syarat. Nilai recovery yang memenuhi syarat menunjukkan bahwa metode tersebut memiliki ketepatan yang baik dalam menunjukkan tingkat kesesuaian dari rata-rata suatu pengukuran yang sebanding dengan nilai sebenarnya (true value).

Penentuan kecermatan dilakukan dengan mengukur larutan kuning metanil konsentrasi 2, 4, dan 6 ppm, masing-masing konsentrasi diukur sebanyak 3 kali pengukuran. Rata-rata perolehan kembali analit harus berada pada rentang antara 98 – 102% pada tiap konsentrasi, Hasil pengukuran dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Berdasarkan tabel 4, persen perolehan kembali pada pengujian kuning metanil dalam tahu kuning tidak memenuhi kriteria kecermatan dengan nilai akurasi yang seharusnya berada diantara 98-102%. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh suhu, sangat tergantung pada konsentrasi analit dalam matriks sampel yang digunakan. Vander wielen, dkk yang menyatakan bahwa selisih kadar pada berbagai penentuan harus 5% atau kurang pada setiap konsentrasi analit akan mempengaruhi persen perolehan kembali (Harmita, 2004: 118).

#### **5.3.4. Presisi**

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang

homogen (Harmita, 2004: 121). Uji presisi dilakukan untuk melihat kedekatan antara hasil uji yang dilakukan secara berulang pada sampel. Pengujian dilakukan dengan mengukur larutan kuning metanil konsentrasi 2 ppm, pengukuran dilakukan berulang-ulang sebanyak 6 kali pengukuran. Simpangan baku relatif (RSD) tidak lebih dari 2% pada tiap konsentrasi. Hasil presisi yang diperoleh dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

Berdasarkan tabel 5, simpangan baku relatif yang diperoleh 1,721%. Hasil tersebut sesuai dengan literatur yaitu simpangan baku relatif tidak lebih dari 2%.

### **5.3.5. Limit deteksi dan limit kuantitasi (LOD dan LOQ)**

Limit deteksi bertujuan untuk mengetahui jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blanko, sedangkan limit kuantitasi bertujuan untuk mengetahui batas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan juga memenuhi criteria cermat dan seksama (Harmita, 2004: 130). Limit deteksi dan limit kuantitasi didapatkan dari nilai AUC larutan baku kerja dari masing-masing konsentrasi. Hasil dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

Berdasarkan tabel 6, menunjukkan bahwa batas analit terkecil dalam sampel yang masih dapat dideteksi oleh KCKT yang digunakan adalah 0,305 ppm dan hasil pengukuran yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama dengan nilai 1,019 ppm. Nilai tersebut yang digunakan sebagai batas untuk menentukan sampel mana saja yang akan dihitung kadar kuning metanil dalam sampel tahu kuning.