

## **Analisis Kadar Zat Pewarna Tartrazin pada Minuman Ringan Berkarbonasi Khas Pekalongan dengan Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)**

**AT Meta Lansamigi<sup>1\*</sup> Achmad Vandian Nur<sup>2</sup>, W Wirasti<sup>3</sup>, Khusna Santika Rahmasari<sup>4</sup>**

<sup>1,2,3,4</sup>Program Studi Sarjana Farmasi, Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan, Indonesia

\*email: [avnomad@gmail.com](mailto:avnomad@gmail.com)

### **Abstract**

Tartrazine is a coloring agent which is a mixture of phenolic compounds, polycyclic hydrocarbons, and heterocyclics. Because it dissolves easily in water, tartrazine is commonly used as a coloring agent in beverages. The addition of tartrazine in the drink aims to give it a more attractive color, namely lemon yellow. The purpose of this study was to analyze the tartrazine content in carbonated drinks and to determine whether the tartrazine content in the sample was in accordance with the BPOM Regulation No. 11 of 2019. Qualitative testing using colour reaction with FeSO<sub>4</sub>. Quantitative testing using the high performance liquid chromatography (HPLC) method with a mobile phase of acetonitrile, methanol and aquabides with a ratio (65,5 : 23,5 : 11). The data obtained is the AUC value. Data analysis using linear regression. The result of qualitative analysis with a color test using FeSO<sub>4</sub> reagent which produces a color until it is cloudy and is present on the surface. While the quantitative analysis using HPLC obtained the average levels in the orange sample 1,109 mg/kg and pineapple sample 0,933 mg/kg.

Key words: Analysis, levels, tartrazine, dye, HPLC

### **Abstrak**

Tartrazin merupakan zat pewarna campuran dari senyawa fenol, hidrokarbon polisiklik, dan heterosiklik. Pada umumnya tartrazin digunakan sebagai bahan pewarna minuman karena mudah larut dalam air. Penambahan tartrazin dalam minuman bertujuan untuk memberikan warna yang lebih menarik yaitu kuning lemon. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis kandungan tartrazin dalam minuman berkarbonasi dan untuk mengetahui apakah kadar tartrazin dalam sampel sudah sesuai dengan peraturan BPOM No.11 Tahun 2019. Pengujian secara kualitatif dengan metode uji warna menggunakan FeSO<sub>4</sub>. Pengujian secara kuantitatif menggunakan metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) dengan fase gerak asetronitril, metanol, dan aquabides dengan perbandingan (65,5 : 23,5 : 11). Data yang didapat adalah nilai AUC. Analisis data menggunakan regresi linier. Hasil dari analisis kualitatif dengan uji warna menggunakan reagen FeSO<sub>4</sub> yang menghasilkan warna sampel keruh dan terdapat endapan. Sedangkan pada analisis kuantitatif menggunakan HPLC didapatkan rata-rata kadar pada sampel rasa jeruk 1,109 mg/kg dan pada sampel nanas 0,933 mg/kg.

Kata kunci : Analisis, kadar, tartrazin, pewarna, HPLC

### **1. Pendahuluan**

Minuman berkarbonasi atau yang sering disebut minuman ringan (*soft drink*) menjadi salah satu minuman favorit sebagai pelepas dahaga karena rasanya enak dan segar. Minuman berkarbonasi mudah kadaluarsa maka minuman ini seringkali diberi tambahan pengawet untuk menjaga kualitasnya. Selain itu definisi dari minuman yang

memiliki kandungan gas karbon dioksida disebut sebagai minuman berkarbonasi. Kandungan karbon dioksida didalamnya, membuat minuman ini memiliki ciri khas gelembung-gelembung air yang menempel didinding wadahnya. Salah satu pewarna minuman yang sering digunakan adalah tartrazin [1].

Sejak penemuan *Soft drink* di Amerika Serikat (AS, 1830), terjadi peningkatan konsumsi yang sangat tinggi dari tahun ke tahun, yang diikuti negara-negara lain. Pada tahun 1986, konsumsi sekitar 28 galon per kapita/tahun, lalu meningkat menjadi 41 galon pada tahun 1997. Minuman ini bahkan dikonsumsi 74% dari populasi anak-anak/remaja laki-laki dan 64% anak-anak/remaja perempuan [2].

Jenis-jenis kandungan yang terdapat dalam minuman ringan (*soft drink*) menurut *Australian Beverages Council* antara lain : Carbonated water, bahan pemanis, bahan penambah rasa, asam, kafein, pewarna. Resiko mengonsumsi minuman ringan bersoda yaitu : kelebihan berat badan, karies gigi, diabetes dan osteoporosis dan fraktur tulang [2]. Tartrazin merupakan jenis pewarna sintetik yang terdaftar atau diizinkan oleh pemerintah digunakan untuk pewarna makanan dan minuman. Tartrazin merupakan pewarna kuning lemon sintesis yang umum digunakan sebagai pewarna makanan. Selain untuk makanan dan minuman tartrazin juga digunakan untuk kosmetik dan obat-obatan.

Tartrazin adalah pewarna makanan kuning yang telah digunakan selama bertahun-tahun, namun telah ditemukan efek samping yang dapat menghasikan reaksi intoleran dalam beberapa individu. Penggunaan tartrazin dalam jangka waktu yang panjang dapat memberikan efek yang berbahaya. Reaksi yang telah dilaporkan diantaranya, urtikaria (ruam kulit alergi), rhinitis (pilek), asma purpura (kulit memar keunguan) dan anafilaksis sistemik (shock) [3].

Batas normal pewarna tartrazin yang diizinkan oleh Pemerintah Indonesia berdasarkan dengan Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor : 772/MEN.KES.PER/IX/88 Tentang bahan tambahan makanan adalah 70µg/mL produk siap dikonsumsi untuk minuman dan makanan cair (Departemen Kesehatan RI,1998). Sedangkan berdasarkan ADI (*Acceptable daily intake*) 0 – 7,5 mg/kg berat badan (BPOM Nomor 11 Tahun 2019). Dampak tartrazin dalam bagi kesehatan, tartrazine dapat menimbulkan reaksi alergi dan intoleransi seperti halnya pada semua pewarna *azodye*, terutama bagi orang yang menderita asma dan intoleransi terhadap aspirin [4].

## 2. Metode

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya alat – alat gelas dengan kualitas pyrex, seperangkat alat HPLC LC-2010C (*Shimadzu SPD20A*) fase tebal dengan detector UV, kolom C18 dimensi 250 × 4,6 mm dan ukuran pori 5 µm (*YMC Triart C18*), spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu UV-Vis 1280*), ultrasonik (*Biobase*), srynge filter diameter 0, 45µm, syringe filter diameter 0, 22µm dan timbangan analitik (*Ohaus*). Bahan penelitian yang harus disiapkan adalah dua sampel minuman ringan berkarbonasi khas Pekalongan, FeSO<sub>4</sub>, aquabidestilata, standar tartrazin, asetonitril p.a, dan methanol p.a.

## Cara Kerja

### A. Analisis Kualitatif Metode Uji Warna

#### Pembuatan larutan sampel

Sampel diambil sebanyak 2 mL, ditambahkan dengan reagen  $\text{FeSO}_4$  1 mL, amati perubahan yang terjadi, sampel menunjukkan positif mengandung tartrazin apabila terdapat endapan dalam sampel.

### B. Analisis Kuantitatif Metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

#### Penyiapan sampel

Sampel minuman ringan berkarbonasi produk lokal khas Pekalongan. Sebelum dianalisis, sampel terlebih dulu dipreparasi menggunakan ultrasonik untuk menghilangkan gelembung gasnya.

#### Pembuatan fase gerak

Fase gerak pada penelitian ini adalah asetonitril, metanol dan aquabides dengan perbandingan (65,5 : 23,5 : 11). Larutan fase gerak kemudian disaring dengan menggunakan srynge filter 0,45 $\mu\text{m}$ . Setelah disaring, larutan disonikator selama 15 menit.

#### Pembuatan larutan baku tartrazin

Ditimbang seksama 10 mg tartrazin. Masukkan kedalam gelas beaker dan tambahkan dengan sedikit metanol. Kemudian masukkan kedalam labu ukur 10 mL, dan tambahkan dengan metanol sampai tanda batas.

#### Penentuan panjang gelombang maksimum

Dilakukan secara scanning serapan larutan baku tartrazin dengan konsentrasi 5  $\mu\text{g/mL}$  pada panjang gelombang 400-800 nm.

#### Pengamatan waktu retensi

Pengamatan waktu retensi dilakukan dengan cara menginjeksikan 20 $\mu\text{L}$  larutan baku tartrazin dengan kecepatan laju alir 1,5 mL/menit.

#### Pembuatan Kurva Baku

Dilakukan dengan membuat 5 seri konsentrasi 5  $\mu\text{g/mL}$ , 10  $\mu\text{g/mL}$ , 15  $\mu\text{g/mL}$ , 20  $\mu\text{g/mL}$ , 25  $\mu\text{g/mL}$  dalam metanol. Sebelumnya larutan tersebut disaring dengan syringe filter ukuran 0,22  $\mu\text{m}$  dan disonikator selama 15 menit. Setelah disaring diinjeksikan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  dengan kecepatan alir 1,5 mL/menit.

#### Penetapan Kadar

Memipet larutan hasil penyiapan sampel yang sebelumnya disaring menggunakan mikro filter 0,22  $\mu\text{m}$ , dan disonikator selama 15 menit. Diinjeksikan dengan sistem HPLC dengan volume injeksi 20  $\mu\text{L}$  dan laju alir 1,5 mL/menit.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### Hasil

##### A. Hasil Uji Warna

Analisis uji warna diawali dengan preparasi sampel, didapatkan 2 sampel minuman berkarbonasi khas Pekalongan. Setiap sampel di saring menggunakan kertas saring dengan tujuan agar sampel terpisah dari zat pengotor, kemudian di ambil setiap sampel sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 1 ml reagen  $\text{FeSO}_4$  sehingga terjadi perubahan yaitu terdapat endapan.

Berikut adalah tabel dari hasil uji warna baku tartrazin dan sampel yang direaksikan dengan  $\text{FeSO}_4$ . [6]

Tabel.1.1 Hasil pengamatan uji warna

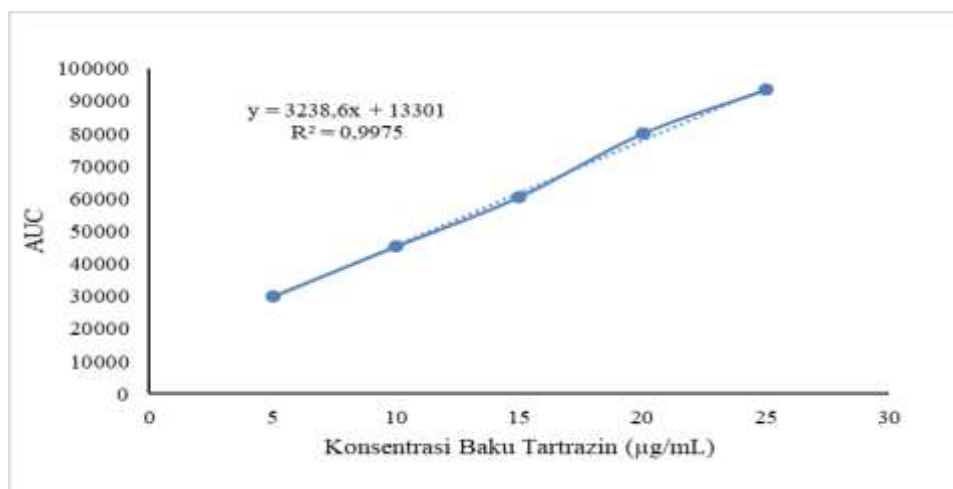
Sampel	Hasil pengamatan
Jeruk	(+) endapan
Nanas	(+) endapan
Baku tartrazin	(+) Kemerah-merahan + endapan

##### B. Hasil Uji HPLC

Pengujian sampel dengan metode HPLC dilakukan untuk mengetahui berapakah kadar tartrazin yang terdapat dalam sampel yang positif mengandung pewarna tartrazin. Pengujian terdiri dari data kurva baku tartrazin (Tabel 2.), daftar kurva baku tartrazin (Gambar 1.), dan data % kadar tartrazin (Tabel 3).

Tabel 2. Data kurva baku tartrazin dengan AUC

Konsentrasi baku tartrazin $\mu\text{g}/\text{ml}$	AUC
5	29914
10	45330
15	60567
20	80086
25	93500



Gambar 1. Kurva Baku Tartrazin

Tabel 3. Analisis kadar tartrazin dalam sampel

Sampel	Replikasi	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar (b/v) ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar dalam 350	Kadar tartrazin ( $\mu\text{g/kg BB}$ )	Rata-rata bobot sediaan	SD
Sampel jeruk1		15,62	156,2	54,67	1,093	1,109	0,015
	2	16,08	160,8	56,28	1,125		
	3	15,88	158,8	55,58	1,111		
Sampel nanas	1	13,85	138,5	48,475	0,969	0,993	0,063
	2	13,52	135,2	47,32	0,946		
	3	14,38	143,8	50,33	1,066		

### Pembahasan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah produk minuman ringan berkarbonasi khas Pekalongan bahwa sampel minuman tersebut tidak terdaftar dalam BPOM. Analisis uji warna diawali dengan preparasi sampel, didapatkan 2 sampel minuman berkarbonasi khas Pekalongan. Setiap sampel di saring menggunakan kertas saring dengan tujuan agar sampel terpisah dari zat pengotor, kemudian di ambil setiap sampel sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 1 mL reagen  $\text{FeSO}_4$  sehingga terjadi perubahan terdapat endapan.

Sampel yang di uji mengandung tartrazin dengan adanya perubahan yaitu terdapat endapan. Sampel jeruk berwarna oranye berubah terdapat endapan, kemudian sampel nanas yang semula berwarna kuning setelah ditambahkan  $\text{FeSO}_4$  terdapat pula endapan. Kemudian untuk baku tartrazin sendiri yang semua berwarna kuning lemon setelah penambahan  $\text{FeSO}_4$  berubah warna menjadi kemerah-merahan dan terdapat endapan. Penelitian selanjutnya yaitu analisis kadar tartrazin dengan menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) [6].

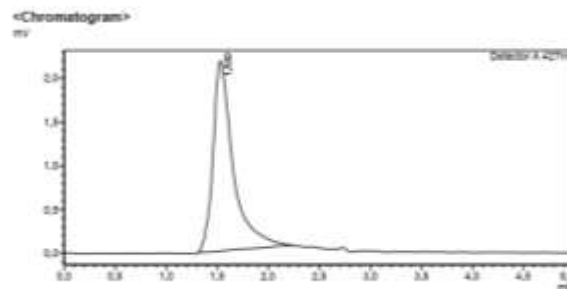
Pada analisis kadar tartrazin dengan metode HPLC, fase gerak yang digunakan adalah campuran pelarut asetonitril, metanol dan aquabides (65,5 : 23,5 : 11). Fase gerak ini dipilih karena menggunakan HPLC fase terbalik maka dari itu menggunakan fase gerak yang lebih polar yaitu asetonitril, metanol dan aquabides sehingga senyawa yang di analisis diharapkan dapat melarutkan senyawa tartrazin dalam sampel yang akan dianalisis dan senyawa tartrazin ikut tertarik dengan eluennya serta dapat memudahkan proses analisis yang dilakukan [4].

Larutan baku yang digunakan adalah larutan baku tartrazin dengan konsentrasi  $1000\mu\text{g/mL}$ . Pembuatan baku tartrazin 5 seri larutan konsentrasi  $5\mu\text{g/mL}$ ,  $10\mu\text{g/mL}$ ,  $15\mu\text{g/mL}$ ,  $20\mu\text{g/mL}$ ,  $25\mu\text{g/mL}$ . Hasil dari AUC masing-masing konsentrasi, didapatkan nilai R sebesar 0,99. Parameter linearitas kurva baku yang baik ditentukan dengan nilai koefisien kolerasi (R) sebesar  $\geq 0,99$ . Grafik kurva baku tartrazin dapat dilihat pada gambar 1.

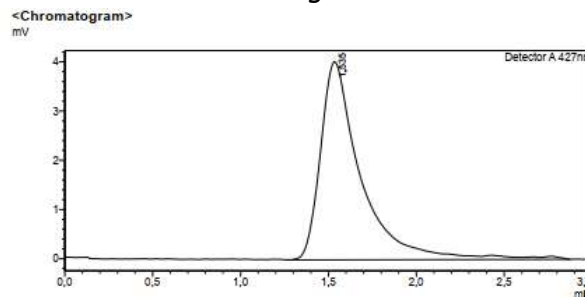
Analisis kuantitatif menggunakan metode HPLC, sehingga diperlukan panjang gelombang maksimum untuk membaca serapan tartrazin dalam sistem HPLC. Dari hasil

pengukuran panjang gelombang maksimum, didapatkan nilai panjang gelombang sebesar 427 nm. Panjang gelombang tersebut digunakan untuk mendeteksi kandungan pewarna tartrazin yang terdapat pada sampel dalam sistem HPLC [5].

Pengamatan waktu retensi dilakukan dengan cara menginjeksikan 20 $\mu$ L larutan baku tartrazin dengan kecepatan laju alir 1,5 mL/menit. Hasil pengamatan waktu retensi baku tartrazin dan sampel dapat dilihat pada gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Kromatogram baku tartrazin



Gambar 3. Kromatogram sampel

Dari hasil analisis menggunakan metode HPLC, didapatkan nilai AUC. Nilai AUC digunakan untuk menghitung kadar sampel dengan cara memasukkan nilai AUC kedalam persamaan regresi linier. Hasil kadar tartrazin dapat dilihat pada tabel 2. Berdasarkan peraturan BPOM Nomor 11 Tahun 2019 tentang penambahan bahan pangan, kadar tartrazin yang diperbolehkan yaitu 70mg/kg. Kedua sampel tersebut memenuhi persyaratan didapatkan pada sampel jeruk 1,109 mg/kg dan sampel nanas 0,993 mg/kg. Kadar pewarna tartrazin yang berlebihan dapat mengakibatkan alergi, rhinitis, obesitas, dan anafilaksis sistemik [3].

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan analisis kadar tartrazin pada produk minuman berkarbonasi yang dihasilkan di Pekalongan pada analisis kualitatif dengan uji warna 2 sampel positif mengandung pewarna tartrazin ditunjukkan dengan perubahan sampel menjadi endapan. Pada analisis kuantitatif dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) kedua sampel dengan kadar tidak melebihi persyaratan BPOM dengan % kadar berturut-turut sebesar pada sampel minuman berkarbonasi rasa jeruk 1,109 mg/kg, pada sampel minuman berkarbonasi rasa nanas 0,993 mg/kg. Sampel minuman ringan yang memenuhi persyaratan kadar tartrazin yang ditetapkan oleh BPOM RI Nomor 11 Tahun 2019, yaitu kedua sampel minuman ringan berkarbonasi memiliki kadar yang tidak melebihi batas persyaratan (70mg) jika hanya dikonsumsi tiap kemasan.

### Referensi

- [1] Rahmawati, Kosman, R., Effendi, N., Ismayani, N., (2014), Analisis Kadar Pengawet Natrium Benzoat Pada Produk Minuman Berkarbonasi Dengan Metode HPLC. *06 (02)*, 112-171
- [2] Tania, Mery., (2016), Hubungan Pengetahuan Remaja Dengan Perilaku Konsumsi Minuman Ringan Di SMKN 2 Baleendah Bandung. *Jurnal Ilmu Keperawatan*, 4(1) : 19-24.
- [3] Bernama, B.G., (2016), Analisis Zat Warna Tartrazin Pada Jajanan Minuman Ringan Tak Berlabel Yang Dijual Pedagang Kaki Lima Di Banda Aceh, *J. Ris. Kim* 9 (2) : 1-5.
- [4] Mukjizat, GA., Wisnuwardhani, HA., Hamdani, S., (2015), Studi Paparan Tartrazin Dalam Minuman Pada Mahasiswa Jurusan Farmasi Universitas Islam Bandung Angkatan 2010 Dan 2011 Menggunakan Metode *Food Frequency Questionnaire*. *Prosiding Penelitian SPeSIA*, 129-135.
- [5] Mustika, MW., Kurniaty, N., Sukanta, H., (2015), Analisis Kadar Tartrazin Dalam Minuman Ringan Tidak Berlabel Pada Sekolah Dasar Di Bandung Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis, *Prosiding Penelitian SPeSIA*, 87-92.
- [6] Suni, B., (2018), Penggunaan Zat Pewarna Sintesis Pada Sirup Yang Dijual Di Pasar Modern Kota Makassar. *09 (02)*, 11-17