

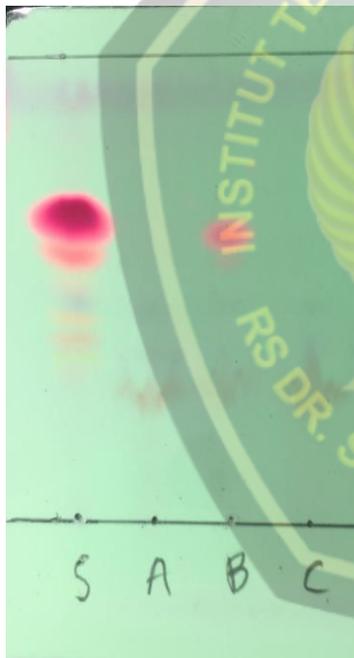
BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Rhodamin B

Pada penelitian ini terdapat 3 sampel, yaitu sampel a,b, dan c Hasil penelitian kualitatif identifikasi Rhodamin B menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) diperoleh hasil seperti pada gambar 4.1. berikut:



Tanpa sinar UV

A



Dengan sinar UV 254 nm

B



Dengan sinar UV 365 nm

C

Gambar 4.1 Hasil Kromatografi Lapis Tipis pada Plat KLT

Keterangan:

- S : Baku pembanding Rhodamin B
- A : Sampel A
- B : Sampel B
- C : Sampel C
- : Bercak noda pada sampel
- : Bercak noda baku pembanding Rhodamin B

Tabel 4.1 Hasil Identifikasi Rhodamin B menggunakan metode KLT

| Kode sampel | Jarak rambat (cm) | Tinggi bercak (cm) | Nilai Rf | Warna Bercak | | | Keterangan |
|-------------|-------------------|--------------------|----------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------|
| | | | | Visual | UV 254 | UV 365 | |
| Baku (S) | 5 | 3,2 | 0,64 | Merah muda | Merah berfluoresensi kuning | Merah berfluoresensi kuning | Positif (+) |
| A | 5 | - | - | Tidak terdapat bercak | Tidak terdapat bercak | Tidak terdapat bercak | Negatif (-) |
| B | 5 | 3,1 | 0,62 | Merah muda | Merah berfluoresensi kuning | Merah berfluoresensi kuning | Positif (+) |
| C | 5 | - | - | Tidak terdapat bercak | Tidak terdapat bercak | Tidak terdapat bercak | Negatif (-) |

4.1.2 Hasil Uji Kualitatif Natrium Benzoat

Tabel 4.2 hasil uji kualitatif Natrium Benzoat

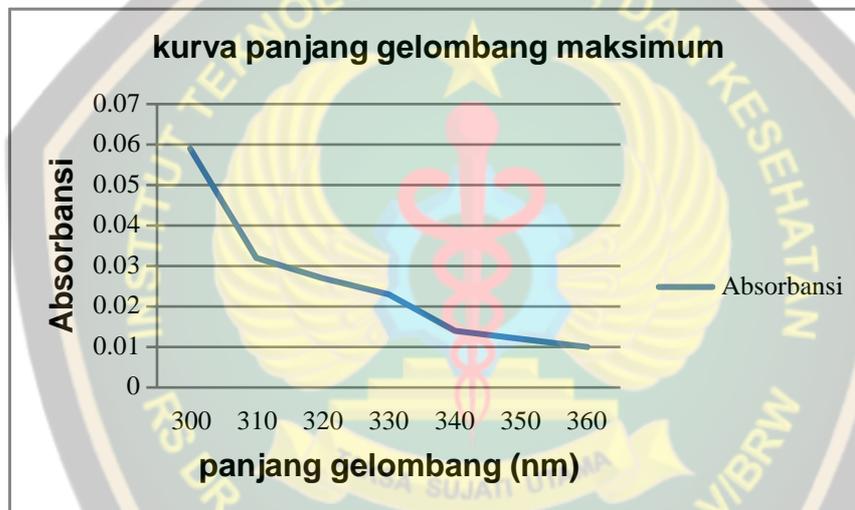
| No. | Sampel | Hasil | Keterangan |
|-----|--------|--------------------|------------|
| 1. | A | Endapan kecoklatan | Positif |
| 2. | B | Endapan kecoklatan | Positif |
| 3. | C | Endapan kecoklatan | Positif |

Pada pengujian kualitatif sampel yang didapat di uji sesuai dengan prosedur kerja yaitu ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 . Reaksi positif menunjukkan adanya endapan berwarna salmon (kecoklatan). (Siaka, 2009).

4.1.3 Hasil Uji Kuantitatif Natrium Benzoat Metode Spektrofotometri UV-VIS

A. Penentuan panjang gelombang maksimum

Pada penelitian ini yang pertama dilakukan yaitu menentukan panjang gelombang maksimum Natrium benzoat. Diukur serapan maksimum pada panjang gelombang 300-360 nm. Pada larutan baku natrium benzoat dalam menentukan nilai absorbansi yang paling tinggi dapat dilihat pada grafik panjang gelombang pada gambar 4.2 dibawah ini:



Gambar 4.2 Grafik Panjang Gelombang Maksimum

Berdasarkan hasil grafik diatas, didapatkan nilai absorbansi maksimum yaitu 0,059 dengan panjang gelombang 300 nm.

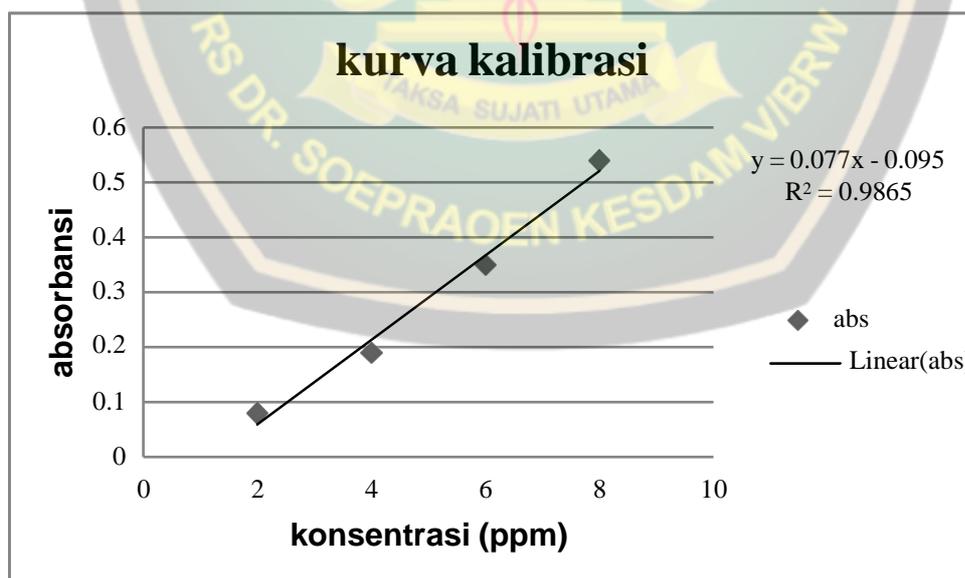
B. Penentuan Lineritas Kurva Kalibrasi

Hasil konsentrasi dan absorbansi larutan baku dengan panjang gelombang 300 nm dapat dilihat pada tabel 4.3 dibawah ini:

Tabel 4.3 Nilai Absorbansi Larutan Baku Natrium Benzoat

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi |
|-------------------|------------|
| 2 | 0,08 |
| 4 | 0,190 |
| 6 | 0,350 |
| 8 | 0,540 |

Berdasarkan tabel 4.3 diatas larutan baku natrium benzoat dibuat menggunakan 4 macam konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm pada panjang gelombang 300nm pada gambar 4.3 dibawah ini:



Gambar 4.3 kurva kalibrasi standart natrium benzoat

Berdasarkan hasil perhitungan persamaan regresi kurva kalibrasi pada gambar 4.3 diatas diperoleh persamaan garis $y = 0,077x - 0,095$ dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9865. Menunjukkan bahwa nilai tersebut mendekati 1 menyatakan hubungan linear antara konsentrasi dan serapan yang dihasilkan sesuai dengan kriteria penerimaan koefisien korelasi (r) yang baik.



C. Penetapan kadar sampel

Penetapan kadar dilakukan pada sampel A,B, dan C diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan serapan panjang gelombang 300 nm. Nilai absorbansi dapat dilihat pada tabel 4.4 dibawah ini:

Tabel 4.4 Hasil Penetapan Kadar Natrium Benzoat pada sampel

| Sampel | Absorbansi | Kadar (Mg/Kg) | Kadar (%) | Standart batas SNI 1000mg/kg (0,1%) | Kesimpulan |
|--------|------------|---------------|-----------|-------------------------------------|------------|
| A | 0,191 | 1.855 | 0,1855 | >0,1% | TMS |
| B | 0,117 | 1.375 | 0,1375 | >0,1% | TMS |
| C | 0,130 | 1.460 | 0,146 | >0,1% | TMS |

Keterangan : TMS= Tidak Memenuhi Syarat

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan 3 sampel saus yang berbeda pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan metode purposive sampling. Yaitu saus A,B, dan C yang diduga mengandung pewarna Rhodamin B dan kadar natrium benzoat yang melebihi ketentuan SNI yang tidak boleh lebih dari 1000 mg/kg. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya pewarna Rhodamin B dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Penentuan kadar Natrium Benzoat menggunakan metode spektrofotometri UV – VIS.

Pada analisis Rhodamin B dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis hasil positif menunjukkan noda merah berfluoresensi kuning jika disinari dengan lampu UV 254 dan 365 nm. (Sari,2015). Pelarut yang berfungsi sebagai fase gerak bisa menggunakan sistem biner seperti n-heksana–etilasetat, n-heksana–aseton, dan kloroform–metanol. Terkadang juga ditambahkan asam asetat atau dimetilamina untuk memisahkan senyawa asam dan basa secara berurutan. Maka dari itu pada penelitian ini menggunakan etil asetat dalam fase gerak. Dari 3 sampel didapat 1 sampel yang dicurigai mengandung pewarna Rhodamin B dengan melihat pada gambar 4.1 pada baku pembanding Rhodamin B (sampel S) dan sampel B terdapat bercak merah berfluoresensi kuning jika disinari dengan lampu UV 254 dan 365 nm. Sedangkan pada sampel A dan C tidak terdapat bercak,

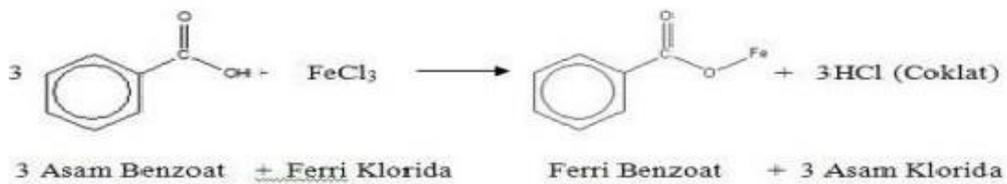
hal ini dinyatakan negatif sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa Rhodamin B akan memberikan warna merah muda jika dilihat secara visual (Ditjen POM, 2011).

Selain itu untuk memastikan juga dilihat perbandingan nilai Rf nya. Pada tabel 4.1 didapat nilai Rf baku pembanding Rhodamin B sebesar 0,64 dan untuk sampel B nilai Rf nya sebesar 0,62. Dimana perbandingan nilai Rf sampel B berada dalam rentang ($\leq 0,2 - 0,5$) dengan pembanding

sehingga dapat disimpulkan sampel B positif (+) mengandung pewarna

Rhodamin B. (Samosir dkk., 2018). Dalam penelitian ini untuk pengujian Rhodamin B hanya dilakukan uji kualitatif saja, dikarenakan penulis menghadapi beberapa keterbatasan seperti alat dalam penelitian.

Setelah melakukan pengujian senyawa Rhodamin B, kemudian sampel dilanjutkan identifikasi kualitatif Natrium Benzoat pada saus yang beredar di pasar Kecamatan Kesamben dilakukan untuk mengetahui ada tidak nya natrium benzoat pada sampel saus. Menurut Maidah (2015), uji positif natrium benzoat yaitu larutan FeCl_3 yang didapat membentuk endapan berwarna kecoklatan bila beraksi dengan benzoat. endapan yang terbentuk adalah besi (III) benzoat dengan persamaan reaksi yang terjadi sebagai berikut:



Kemudian sampel dilakukan Identifikasi natrium benzoat dengan metode spektrofotometri uv-vis untuk menentukan kadar natrium benzoat pada sampel. Langkah awal untuk melakukan identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis adalah dengan menentukan Panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum diukur dari rentang panjang gelombang 200-400 nm. Akan tetapi pada saat penelitian Panjang gelombang 200-290 tidak dapat terbaca oleh alat spektrofotometri UV-Vis. Hal ini terjadi karena spektrofotometri tidak dapat membaca senyawa natrium benzoat pada Panjang gelombang tersebut. Kemudian senyawa natrium benzoat dapat mulai terbaca pada rentang 300-360nm. Alasan penggunaan panjang gelombang maksimum antara lain seperti, pada panjang gelombang maksimal, kepekaannya juga maksimal karena Rhodamin dapat terbaca secara maksimal pada panjang gelombang tersebut.. Setelah dilakukan pengukuran panjang gelombang, didapatkan hasil Panjang gelombang maksimumnya adalah 300nm dengan nilai absorbansi 0,059. Syarat senyawa yang dapat diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis adalah senyawa organik yang dapat memberikan serapan yaitu senyawa yang memiliki gugus kromofor. Gugus kromofor adalah gugus fungsional tidak jenuh

yang memberikan serapan pada daerah sinar tampak (Dachriyanus, 2004).

Selanjutnya dilakukan pengukuran konsentrasi natrium benzoat dengan membuat kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi dapat terbentuk dengan menggunakan larutan standart yang telah dibuat pengenceran dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm dengan panjang gelombang 300 nm. Pada gambar 4.3 pengukuran larutan seri didapatkan hasil kurva kalibrasi dengan persamaan garis $y = 0,077x - 0,095$ dengan nilai $r = 0,9865$. Hasil tersebut sedikit berbeda dengan penelitian Hermaningsih dan Jayadi (2021) yang mendapatkan Panjang gelombang maksimum sebesar 314 nm dan nilai koefisien korelasi yang sangat bagus yaitu 0,9939 (Hernaningsih dan Jayadi, 2021).

Nilai koefisien korelasi (r) yang mendekati 1 menyakatan hubungan linear dan konsentrasi serapan yang dihasilkan peningkatan nilai absorbansi analit berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasinya yang sesuai dengan kriteria penerimaan koefisien korelasi (r) yang baik (Shargel, 2015). Tujuan dari uji linieritas adalah untuk membuktikan hubungan linier antara konsentrasi zat yang sebenarnya dengan respon alat. perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar, di sekitar panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hukum Lambert-Beer akan terpenuhi, jika dilakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali (Gandjar dan Rohman, 2012).

Panjang gelombang maksimal yang telah diperoleh digunakan untuk mengukur kadar selluruh sampel pada spektrofotometri UV-Vis dan dilakukan perhitungan menggunakan persamaan garis pada kurva linier, dan diperoleh nilai absorbansi 0,191 dengan kadar 1.855 mg/kg pada sampel A, nilai absorbansi 0,117 dengan kadar 1.365 mg/kg pada sampel B dan nilai absorbansi 0,130 dengan kadar 0,146 mg/kg pada sampel C.

Dari kurva baku yang diperoleh dapat digunakan untuk penetapan kadar sampel natrium benzoat pada sampel saus. Menurut SNI 01-2976-2006 dan PerMenKes 722/MenKes/Per/IX/1999 batas penggunaan natrium benzoat dalam makanan adalah tidak lebih dari 1000 mg/kg. Berdasarkan tabel 4.4 penetapan kadar natrium benzoat pada sampel diperoleh kadar tertinggi yaitu pada sampel A dengan kadar 1.855 mg/kg dan kadar terendah pada sampel B sebesar 1.365 mg/kg. Dapat disimpulkan bahwa kadar natrium benzoat melebihi ambang batas menurut SNI dan PerMenKes No. 722/MenKes/PER/IX/88 sehingga sehingga tidak aman untuk dikonsumsi apalagi dalam jangka panjang.