

**PEMERIKSAAN KANDUNGAN PEMANIS DAN PEWARNA SINTETIK
DALAM ES LILIN TIDAK BERMEREK DAN TIDAK BERLABEL YANG
DIPRODUKSI OLEH INDUSTRI RUMAH TANGGA “X” KECAMATAN
AMBULU-JEMBER**

Ika Wahyuni

Farmasi

xiao_jin8@yahoo.co.id

Abstrak- Es lilin merupakan minuman yang banyak diminati di kecamatan Ambulu. Oleh karena kelayakan edar Es lilin tersebut masih diragukan, maka penelitian ini dilakukan. Berdasarkan hasil pengujian kualitatif pewarna dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), sampel berwarna merah mengandung *Rhodamin-B* dan zat warna yang belum diketahui. Sampel berwarna kuning mengandung *Methanill Yellow* dan *Tartrazine*. Sampel berwarna hijau mengandung *Apple green*. Berdasarkan analisa menggunakan metode Spektrofotometri, jumlah *Apple green* dalam sampel tidak melebihi persyaratan SNI 01-0222-1995. Sakarosa dianalisa dengan menggunakan metode Luff-Schoorl. Rentang kadar sakarosa dalam sampel berwarna merah, kuning dan hijau adalah 0,07- 0,08%, 0,07-0,09% dan 0,07-0,11%. Uji Kualitatif pemanis sintetik menunjukkan adanya kandungan Na-siklamat dalam sampel. Rentang kadar Asam siklamat dalam sampel berwarna merah, kuning, dan hijau yang diperoleh dari analisa dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah 3,25-3,33 g/kg, 3,20-3,29 g/kg, dan 3,25-3,33 g/kg. Batas penggunaan maksimum asam siklamat dalam es lilin adalah 3,0 g/kg. Berdasarkan hasil penelitian, es lilin yang diproduksi Industri Rumah Tangga “X” tidak layak edar.

Kata kunci : Pemanis, Pewarna, KCKT, KLT, Spektrofotometri

Abstract- “Es lilin” is one of the popular beverage in sub-district Ambulu. Because the feasibility of “Es Lilin” was still in doubt, the author conducted this study. Based on the qualitative test of colorants by Thin Layer Chromatography (TLC) method, the red samples contained Rhodamin-B and an unknown dye. The yellow samples contained Methanil Yellow and Tartrazine. And the green samples contained Apple green. Based on the Spectrophotometry analysis, the amount of Apple green in the samples did not exceed the requirement of SNI 01-0222-1995. Saccharosa was analyzed by Luff Schoorl method. The range of saccharosa in the red, yellow and green samples were 0.07- 0.08%, 0.07-0.09%, 0.07-0.11%, respectively. The qualitative test of synthetic sweeteners showed that the sample contained Sodium cyclamate. The range of cyclamic acid which was analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) in the red, yellow and green samples were 3.25-3.33 g/kg, 3.20-3.29 g/kg, and 3.25-3.33 g/kg respectively. Based on the results, “Es Lilin” which were produced by “X” home industry were not feasible, because the cyclamic acid in the “Es Lilin” was greater than 3.0 g/kg.

Keywords: Sweeteners, Colorants, HPLC, TLC, Spectrophotometry

PENDAHULUAN

Manusia membutuhkan energi dalam setiap aktivitas yang dijalankannya. Energi tersebut bisa diperoleh dari makanan dan minuman. Di dalam makanan dan minuman tersebut terdapat bahan aditif. Bahan aditif adalah bahan yang ditambahkan dan dicampurkan sewaktu pengolahan makanan untuk meningkatkan mutu. Contoh bahan aditif adalah pemanis dan pewarna sintetis.

Pemanis sintetis merupakan zat yang dapat menimbulkan rasa manis atau dapat membantu mempertajam penerimaan terhadap rasa manis tersebut, sedangkan kalori yang dihasilkannya jauh lebih rendah daripada gula. Meskipun telah banyak ditemukan pemanis sintetis, tetapi hanya beberapa saja yang boleh dipakai dalam bahan makanan (Winarno, 2004). Penggunaan pemanis sintetis dalam jumlah berlebih dari yang dipersyaratkan akan menimbulkan risiko bagi konsumen. Menurut hasil penelitian di Kanada penggunaan natrium sakarin yang berlebih dari yang disyaratkan, didapat bahwa penggunaan 5% sakarin dalam ransum tikus dapat merangsang terjadinya tumor di kandung kemih. Penelitian tentang siklamat pada tahun 1969 melaporkan bahwa siklamat dapat menyebabkan terjadinya kanker kandung kemih pada tikus percobaan yang diberi ransum siklamat. Hasil metabolisme siklamat, yaitu sikloheksilamin, mempunyai sifat karsinogenik. Pemanis sintetis lainnya adalah aspartam. Asam aspartat yang terkandung di dalamnya terbukti bersifat eksitotoksin yang menyebabkan sel-sel otak menjadi cepat mati (Wijaya, 2011; Winarno, 1994).

Di samping segi rasa, penampilan dari produk juga merupakan faktor yang mendukung konsumen untuk membeli makanan dan minuman. Pewarna ditambahkan untuk memperbaiki penampilan makanan. Contoh pewarna yang diijinkan penggunaannya ke dalam makanan dan minuman antara lain *Sunset yellow*, *Ponceau 4R*, *Green S*, dan lain-lain. Pewarna tersebut memiliki batas maksimum penggunaan. Saat ini, zat pewarna yang terdapat di dalam makanan dan minuman umumnya bukanlah zat pewarna yang aman untuk dikonsumsi. Harga menjadi salah satu alasan produsen untuk menggunakan pewarna tekstil untuk ditambahkan pada produk makanan ataupun minuman, dimana zat pewarna tekstil relatif lebih murah dan biasanya warna yang dihasilkan lebih menarik dibandingkan dengan zat pewarna makanan. Penyalahgunaan zat pewarna

berbahaya ini juga disebabkan karena ketidaktahuan produsen dan pedagang tentang pewarna apa saja yang diperbolehkan dan yang tidak diperbolehkan untuk ditambahkan pada bahan makanan maupun minuman. Contoh pewarna sintetik yang berbahaya dan banyak disalahgunakan untuk pewarna makanan atau minuman adalah *Rhodamin-B* dan *Methanil Yellow*.

Salah satu contoh produk yang mengandung pewarna dan pemanis adalah es lilin. Pada penelitian ini, sampel yang digunakan adalah es lilin yang dibeli dari Pedagang A, B, dan C. Es lilin tersebut diproduksi oleh Industri yang sama, yaitu Industri Rumah Tangga “X” di Kecamatan Ambulu-Jember. Es lilin tersebut memiliki warna yang cerah, rasa yang manis serta harga yang murah. Es lilin yang tidak berlabel dan tidak bermerek tersebut telah banyak dikonsumsi oleh anak-anak. Rata-rata satu anak mengkonsumsi es lilin lebih dari 3 kali tiap minggu, oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui pemanis dan pewarna sintetik yang digunakan. Pemanis sintetik yang akan diteliti antara lain sakarin, aspartam dan siklamat karena pemanis sintetik tersebut memiliki harga yang murah sehingga dimungkinkan untuk ditambahkan ke dalam es lilin yang dijual dengan harga yang murah pula. Pemanis sintetik akan dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Pengujian pemanis sintetik secara kualitatif dan kuantitatif dilakukan dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Sedangkan untuk mengetahui jenis pewarna sintetik dalam es lilin tersebut maka digunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Jika pewarna sintetik yang diteliti termasuk pewarna sintetik yang dilarang menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI tanggal 1 Mei 1985 No. 239/Menkes/Per/V/1985, maka pewarna sintetik tersebut tidak akan dilanjutkan pengujian kuantitatif, karena pewarna sintetik tersebut dilarang penggunaannya dalam makanan atau minuman meskipun dalam kadar yang sangat kecil.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui es lilin yang tidak berlabel dan tidak bermerek dari Industri Rumah Tangga “X” layak edar atau tidak jika ditinjau dari jenis serta kadar pemanis dan pewarna sintetik yang terdapat di dalam es lilin tersebut dengan mengacu pada SNI 01-0222-1995 tentang “Bahan Tambahan Makanan”.

METODE PENELITIAN

Populasi pada penelitian ini adalah Industri Rumah Tangga “X” di Kecamatan Ambulu. Industri Rumah Tangga “X” ini memproduksi es lilin kemudian es lilin tersebut dititipkan kepada pedagang A, B, dan C. Es lilin yang dijual oleh ketiga pedagang tersebut dianggap sebagai sampel. Pengambilan sampel diulangi seminggu kemudian.

Analisis Kualitatif Pewarna dilakukan dengan KLT. Fase gerak yang digunakan adalah butanol : *aquadem* : etanol : NH₄OH = 50 : 25 : 25 : 10. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF 254. Langkah-langkah analisis kualitatif adalah sebagai berikut:

- a. Menotolkan larutan yang telah dipekatkan dan warna pembanding yang cocok (contoh: Jika larutan yang diteliti berwarna merah, maka gunakan warna pembanding merah) sebanyak 5 µl pada lempeng KLT
- b. Memasukkan lempeng KLT ke dalam *chamber* berisi eluen yang sudah jenuh dan mengeluasi lempeng tersebut.
- c. Membandingkan Rf sampel yang diteliti dengan Rf warna pembanding.

Setelah diketahui pewarna sintetik yang terdapat di dalam es lilin, maka dilakukan pengujian apakah jumlah pewarna sintetik yang terdapat di dalam es lilin tersebut melebihi batasan atau tidak menurut SNI 01-0222-1995 tentang “Bahan Tambahan Makanan”. Es lilin dilakukan pengujian ini jika es lilin tersebut mengandung pewarna sintetik yang diijinkan. Langkah-langkah pengujian adalah sebagai berikut: Standar warna ditimbang seksama ± 10 mg (pewarna tunggal) atau ± 30 mg (pewarna campuran), ditambah *aquadem* sampai volume 100,0 ml dan dikocok hingga homogen. Larutan tersebut diamati absorbansinya dengan Spektrofotometer. Masing-masing sampel pedagang A, B, dan C diamati absorbansinya dengan Spektrofotometer dan dibandingkan absorbansinya terhadap standar pewarna.

Selain pewarna, peneliti juga meneliti kandungan gula reduksi dalam sampel. Langkah-langkah analisis gula reduksi adalah sebagai berikut:

- a. Mengambil 25,0 ml larutan sampel dan dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer*, ditambah 25,0 ml larutan Luff Schoorl.

- b. Larutan ditambah beberapa butir batu didih, *Erlenmeyer* dihubungkan dengan pendingin balik, kemudian dididihkan. Dusahakan 2 menit sudah mendidih. Pendidihan larutan dipertahankan selama 15 menit.
- c. Jika pada larutan tersebut timbul endapan merah bata, maka dapat dikatakan bahwa sampel positif mengandung gula reduksi.

Jika sampel positif mengandung gula reduksi, maka dilanjutkan dengan penetapan kadar sakarosa. Analisis sampel menggunakan cara titrasi Luff Schoorl dengan menggunakan titran $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \pm 0,1 \text{ N}$. Titran tersebut dibakukan dengan menggunakan larutan $\text{KIO}_3 \pm 0,1 \text{ N}$. Langkah-langkah pembakuan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ adalah sebagai berikut:

- a. Larutan baku primer ($\text{KIO}_3 \pm 0,1 \text{ N}$) yang telah dibuat, dipipet dengan pipet volume 10,0 ml dan dipindahkan ke dalam *erlenmeyer*.
- b. Menambahkan 5 ml H_2SO_4 4N dan 10 ml KI 10% ke dalam *erlenmeyer* tersebut.
- c. Larutan yang berada di dalam *erlenmeyer* tersebut dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \pm 0,1 \text{ N}$ sampai warna berubah menjadi kuning muda. Larutan dititrasi cepat-cepat dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \pm 0,1 \text{ N}$ dan digoyang pelan-pelan.
- d. Setelah warna berubah menjadi kuning muda, segera ditambah larutan amilum 2 ml. Larutan berubah warna menjadi biru dan ditambah larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \pm 0,1 \text{ N}$ tetes demi tetes dan dikocok kuat, sampai warna biru hilang.
- e. Mengamati dan mencatat volume titran pada buret.
- f. Mengulangi langkah a-e minimal 4 kali pengulangan

Analisis sakarosa dalam sampel dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- a. Mengambil 25,0 ml larutan sampel yang belum diinversi dan dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditambah 25,0 ml larutan Luff Schoorl. Dibuat pula percobaan blanko yaitu 25,0 ml larutan Luff Schoorl ditambah 25,0 ml *aquadem*.
- b. Setelah ditambah beberapa butir batu didih, *Erlenmeyer* dihubungkan dengan pendingin balik, kemudian dididihkan. Dusahakan 2 menit sudah mendidih.

Pendidihan larutan dipertahankan selama 15 menit, kemudian cepat-cepat didinginkan, lalu ditambahkan 25 ml H₂SO₄ 26,5% dengan hati-hati melalui dinding *erlenmeyer* dan ditambahkan 10 ml KI 10%.

- c. Larutan tersebut dititrasi dengan larutan Na₂S₂O₃.5H₂O ± 0,1 N. Larutan dititrasi dengan cara dititrasi cepat-cepat dan digoyang pelan sampai warna larutan berubah menjadi coklat muda.
- d. Setelah warna larutan berubah menjadi coklat muda, maka segera ditambah larutan amilum sebanyak 2 ml. Larutan tersebut akan berubah warna menjadi biru, kemudian dititrasi kembali tetes demi tetes dan *erlenmeyer* dikocok kuat sampai warna putih kebiruan.
- e. Larutan ditambah NH₄CNS 10% sebanyak 10 ml, dikocok kuat-kuat. Larutan akan berubah menjadi warna biru kembali. Kemudian dititrasi dengan larutan Na₂S₂O₃.5H₂O ± 0,1 N sampai warna biru hilang/ putih gading.
- f. Diamati dan dicatat volume titran yang dibutuhkan untuk titrasi ini.
- g. Setelah sampel yang belum diinversi selesai dianalisis, maka dilakukan analisis sampel setelah diinversi. Langkah-langkah inversi adalah sebagai berikut:
 - h.1 Mengambil 50 ml sampel kemudian ditambah HCl 30%.
 - h.2 Memanaskan di atas penangas air pada suhu 67-70°C selama 10 menit. Kemudian didinginkan cepat-cepat sampai suhu 20°C.
 - h.3 Lalu dinetralkan dengan NaOH 45%
- h. Setelah sampel diinversi, maka diulangi langkah-langkah titrasi seperti b-h.
- i. Kadar sakarosa sampel dihitung dengan cara:

(kadar gula reduksi setelah inversi-kadar gula reduksi sebelum inversi) x 0,95

Setelah meneliti kandungan pemanis alami dalam sampel, maka dilanjutkan dengan meneliti kandungan pemanis sintetik dalam sampel. Analisis kualitatif pe manis sintetik dilakukan dengan membandingkan waktu retensi menggunakan instrumen KCKT. Breeze pump-1500, kolom LiChrospher 100 RP-18, panjang kolom 250 mm, detektor UV (Waters-2489), laju aliran 0,8 ml/menit, tekanan 1000-1100 atm. Fase gerak yang digunakan adalah *aquabidestilata* : Metanol *pro* HPLC dengan perbandingan 72,5: 27,5. Jika sudah diketahui kandungan pemanis sintetiknya, maka dilanjutkan pengujian kualitatif dengan cara lain untuk memastikan. Langkah-langkah pengujian adalah sebagai berikut:

a. Sakarin

Langkah-langkah pengujian selanjutnya adalah sebagai berikut:

- a.1 Sampel diasamkan dengan HCl, kemudian diekstraksi dengan 25 ml eter
- a.2 Setelah larutan terpisah, eter diuapkan, kemudian ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 dan 40 mg resorsinol.
- a.4 Dipanaskan perlahan-lahan dengan api kecil sampai berubah menjadi hijau kotor.
- a.5 Kemudian larutan didinginkan dan ditambahkan 10 ml *aquadem* dan larutan NaOH 10% berlebih. Bila terbentuk warna hijau fluoresens berarti sampel positif mengandung sakarin (Anonim, 1992).

b. Siklamat

Langkah-langkah pengujian selanjutnya adalah sebagai berikut:

- b.1 Pada sampel ditambahkan larutan HCl 4N dan larutan $BaCl_2$ 10%.
- b.2 Dibiarkan 30 menit, kemudian disaring dengan kertas saring
- b.4 Filtrat hasil penyaringan ditambahkan 10 ml $NaNO_2$ 10%
- b.5 Bila timbul endapan dari $BaSO_4$ berarti sampel mengandung siklamat (Anonim, Standar Nasional Indonesia, 1992).

c. Aspartam

Fase gerak yang digunakan adalah asam asetat glasial : butanol : *aquadem* = 1 : 2 : 1. Untuk menampakkan noda, maka digunakan larutan ninhidrin 0,2% dalam air yang dipanaskan selama 30 menit dan larutan brom 1% dalam CCl_4 . Noda dilihat di bawah lampu UV 254 nm (Wijaya, 2011).

Apabila telah diketahui jenis pemanis sintetik dalam sampel, maka perlu diteliti apakah pemanis sintetik dalam bentuk asam atau garamnya (yaitu Natrium). Langkah-langkah pengujian adalah sebagai berikut:

- a. Kawat Nikel yang sudah bersih dimasukkan ke dalam tabung yang berisi larutan sampel dan dipanaskan pada api bunsen.
- b. Diamati perubahan warna api bunsen (Shevla, Setiono, Pudjaatmaka, 1985)

Analisis kuantitatif pemanis sintetik dalam sampel dilakukan dengan menggunakan instrumen KCKT. Sebelum dilakukan penetapan kadar, maka metode analisis divalidasi terlebih dahulu. Parameter validasi yang diamati antara lain linieritas, presisi, akurasi, batas deteksi dan batas kuantitasi.

Parameter yang diperlukan untuk mengevaluasi linieritas adalah koefisien korelasi r pada garis regresi linier $y = a + b x$ dan koefisien variasi dan standar deviasi relatif dari fungsi (V_{x_0}), dapat dihitung dari kurva baku kerja. Pembuatan baku induk dan baku kerja adalah sebagai berikut:

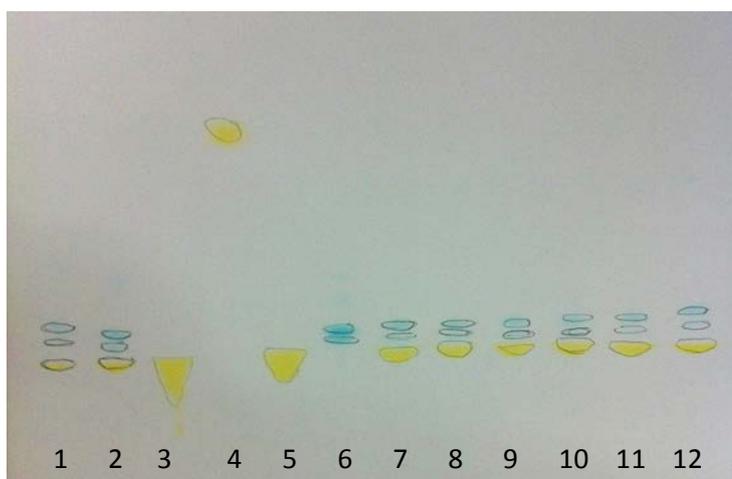
1. Standar pemanis ditimbang seksama sejumlah tertentu, dilarutkan dengan *aquadem*, dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur, dan ditambahkan *aquadem* sampai volume tertentu. Larutan dikocok hingga homogen
2. Larutan baku induk disaring dengan cara saring kering, sekitar 20% filtrat yang pertama kali tersaring dibuang dan sisanya digunakan untuk pembuatan larutan baku kerja.
3. Larutan baku induk standar pemanis sintetis dilakukan beberapa macam pengenceran dengan *aquadem*.
4. Masing-masing larutan baku kerja tersebut dikocok sampai homogen, kemudian disaring dengan filter 0,45 μm dan disuntikkan ke dalam KCKT sebanyak 10 μL .
5. Diamati dan dicatat waktu retensi dan nilai area yang keluar kemudian dibuat kurva baku dan persamaan regresinya

Langkah-langkah menentukan persen *recovery* (perolehan kembali) adalah sebagai berikut: Sampel ditimbang sejumlah tertentu dan ditambahkan baku kerja sejumlah tertentu, selanjutnya ditambahkan *aquadem* sampai volume tertentu dan dikocok hingga homogen. Larutan disaring dengan cara saring kering. Sekitar 20% filtrat yang pertama kali tersaring dibuang dan sisanya ditampung. Kemudian filtrat tersebut disaring dengan membran filter 0,45 μm kemudian disuntikkan ke KCKT. Diperoleh hasilnya, kemudian dihitung nilai % perolehan kembali.

Penetapan kadar pemanis sintetis dalam sampel dilakukan dengan cara sampel ditimbang sejumlah tertentu kemudian ditambah *aquadem* sampai tanda pada labu ukur. Larutan sampel disaring dengan cara saring kering. Sekitar 20% filtrat hasil penyaringan yang keluar pertama kali dibuang, dan sisanya ditampung. Kemudian disaring dengan filter 0,45 μm dan diinjeksikan ke dalam KCKT sebanyak 10 μL . Diamati dan dicatat waktu retensi dan nilai area yang keluar kemudian dibuat kurva baku dan persamaan regresinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil KLT, sampel es lilin berwarna hijau yang dibeli dari pedagang A, B, dan C, mengandung pewarna sintetik *Apple Green*. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 1. Pewarna ini termasuk pewarna sintetik yang diijinkan penggunaannya di dalam makanan maupun minuman. Peneliti membandingkan absorbansi larutan es lilin tersebut dan larutan baku *Apple Green* untuk mengetahui apakah jumlah pewarna *Apple green* dalam es lilin melebihi batas penggunaan maksimum atau tidak.



Gambar 1. Hasil KLT Es Lilin Berwarna Hijau

Keterangan: 1. *Green S* (Rf= 0,33 ; 0,36 ; 0,40); 2. *Apple Green* (Rf= 0,34 ; 0,37 ; 0,40); 3. *Tartrazine* (Rf= 0,33); 4. *Methanil Yellow* (Rf= 0,79); 5. *Sunset Yellow* (Rf= 0,34); 6. *Brilliant Blue* (Rf= 0,36 ; 0,40); 7-12. Sampel Es Lilin (Rf= 0,34 ; 0,37 ; 0,40)

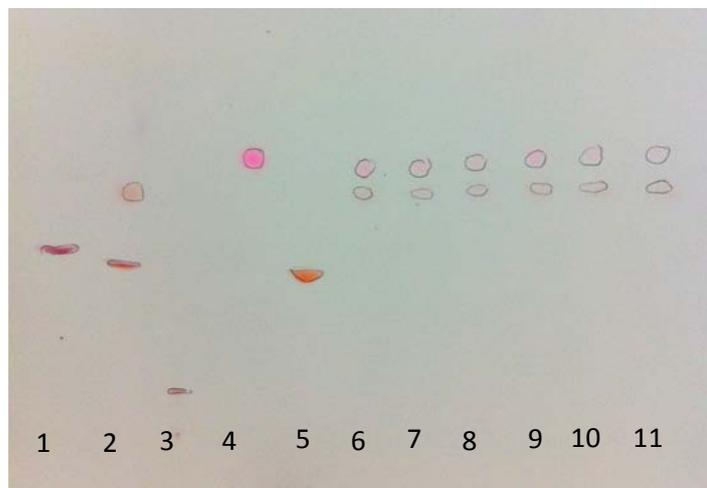
Tabel 1. Hasil Analisis dengan Instrumen Spektrofotometer

Keterangan	Absorbansi	
	$\lambda = 422,50 \text{ nm} \rightarrow$	$\lambda = 628,50 \text{ nm} \rightarrow$
<i>Apple Green</i> 29,08 bpj	$\rightarrow 0,921$	$\rightarrow 0,445$
Pedagang A Minggu 1	$\rightarrow 0,569$	$\rightarrow 0,271$
Pedagang A Minggu 2	$\rightarrow 0,620$	$\rightarrow 0,269$
Pedagang B Minggu 1	$\rightarrow 0,585$	$\rightarrow 0,267$
Pedagang B Minggu 2	$\rightarrow 0,458$	$\rightarrow 0,221$
Pedagang C Minggu 1	$\rightarrow 0,483$	$\rightarrow 0,225$
Pedagang C Minggu 2	$\rightarrow 0,508$	$\rightarrow 0,241$

Berdasarkan data absorbansi pada tabel 1, maka peneliti dapat menyimpulkan bahwa pewarna sintetik pada es lilin hijau pedagang A, B, dan C tidak melebihi persyaratan.

Es lilin berwarna merah yang dibeli dari pedagang A, B, dan C mengandung *Rhodamin B* dan pewarna sintetik yang tidak diketahui. *Rhodamin B* tidak diijinkan untuk ditambahkan ke dalam makanan dan minuman, dapat

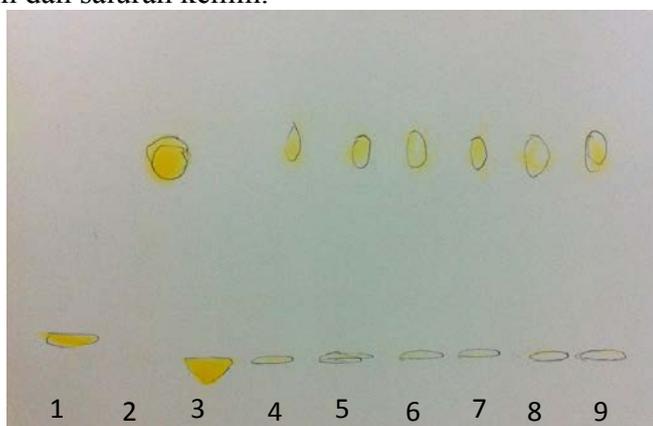
merangsang terjadinya kanker hati karena zat warna tersebut dapat terakumulasi dalam hati. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil KLT Es Lilin Berwarna Merah

Keterangan: 1. Amaranth (Rf= 0,32); 2. Cherry Red (Rf= 0,30; 0,43); 3. Carmin (Rf= 0,07); 4. Rhodamin-B (Rf= 0,43); 5. Ponceau 4R (Rf= 0,28); 6-11. Sampel Es Lilin (Rf= 0,43; 0,48)

Es lilin berwarna kuning yang dibeli dari pedagang A, B, dan C mengandung *Methanil Yellow* dan *Tartrazine*. Pewarna *Tartrazine* diijinkan untuk ditambahkan ke dalam makanan dan minuman. Pewarna *Methanil Yellow* dilarang penggunaannya dalam makanan dan minuman, karena dapat menimbulkan kanker kandung kemih dan saluran kemih.



Gambar 3. Hasil KLT Es Lilin Berwarna Kuning

Keterangan: 1. Sunset Yellow (Rf= 0,37); 2. Methanil Yellow (Rf= 0,71); 3. Tartrazine (Rf= 0,33); 4-9. Sampel Es Lilin (Rf= 0,33 ; 0,71)

Selain pewarna sintetik, peneliti juga menganalisis kandungan sakarosa dalam sampel. Semua sampel ketika diuji untuk mengetahui ada tidaknya gula reduksi, timbul endapan merah bata. Jika timbul endapan merah bata, maka sampel positif mengandung gula reduksi. Jadi semua sampel es lilin berwarna

merah, kuning, dan hijau dari pedagang A, B, dan C positif mengandung gula reduksi.

Na₂S₂O₃.5H₂O dibakukan dengan KIO₃ 0,10017757 N. Hasil pembakuan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pembakuan Na₂S₂O₃.5H₂O

Volume KIO ₃ (ml)	Volume Na ₂ S ₂ O ₃ .5H ₂ O (ml)
10,0	0,00-9,75
10,0	0,00-9,70
10,0	0,00-9,70
10,0	0,00-9,65
10,0	0,00-9,68
10,0	0,00-9,53 (tidak masuk rentang)

$$X = 9,6766666667$$

$$SD = 0,075277265$$

$$\text{Rentang} = 9,601389401 - 9,751943932$$

$$X \text{ baru} = 9,70 \text{ ml}$$

$$V_1 N_1 = V_2 N_2$$

$$10,0 \text{ ml} \times 0,10017757 \text{ N} = 9,70 \text{ ml} \times N_2$$

$$N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = N_2 = 0,10331845 \text{ N}$$

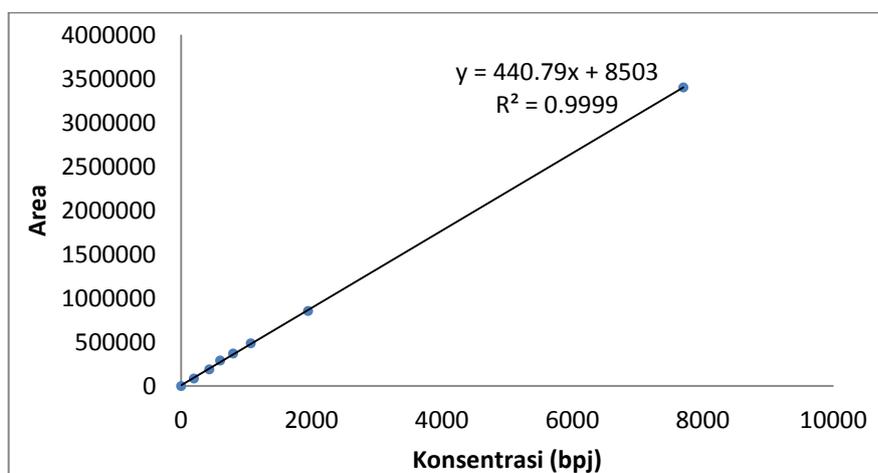
Hasil penetapan kadar sakarosa es lilin berwarna hijau, merah, dan kuning dengan metode Titrasi Luff Schoorl disajikan pada tabel 3. Rentang kadar sakarosa dalam es lilin berwarna hijau 0,07-0,11%, es lilin berwarna merah 0,07-0,08%, es lilin berwarna kuning 0,07-0,09%.

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Sakarosa Es Lilin

Es Lilin	Pedagang	Volume sampel (ml)	Selisih Vol. thio setelah inversi (ml)	Selisih Vol. Thio sebelum inversi (ml)	Kadar sakarosa (%)
Hijau	A Minggu 1	25,0	11,19	1,40	0,11
	A Minggu 2	25,0	10,91	1,10	0,10
	B Minggu 1	25,0	8,33	1,30	0,07
	B Minggu 2	25,0	7,63	1,15	0,07
	C Minggu 1	25,0	8,53	1,40	0,08
	C Minggu 2	25,0	8,17	1,05	0,07
Merah	A Minggu 1	25,0	8,17	1,05	0,07
	A Minggu 2	25,0	9,25	1,20	0,08
	B Minggu 1	25,0	8,23	1,30	0,07
	B Minggu 2	25,0	8,27	1,10	0,07
	C Minggu 1	25,0	8,45	1,05	0,07
	C Minggu 2	25,0	8,10	1,35	0,07
Kuning	A Minggu 1	25,0	8,63	1,55	0,07
	A Minggu 2	25,0	10,91	1,80	0,08
	B Minggu 1	25,0	8,22	1,25	0,09
	B Minggu 2	25,0	9,80	1,35	0,09
	C Minggu 1	25,0	9,88	1,55	0,08
	C Minggu 2	25,0	8,85	1,40	0,08

Pengujian pemanis sintetis dilakukan dengan instrument KCKT. Fase gerak yang digunakan adalah *Aquabidestilata* : Metanol *pro HPLC*= 72,5 : 27,5, kecepatan alir 0,8 ml/menit, dan diamati pada λ 267 nm. Waktu retensi Natrium-siklamat 2,280; Aspartam 3,446; dan sakarin 5,019. Salah satu larutan sampel dari tiap pedagang disuntikkan ke KCKT untuk mengetahui jenis zat pemanis sintetis yang terdapat di dalam es lilin tersebut. Larutan sampel memiliki waktu retensi yang hampir sama dengan waktu retensi natrium siklamat. Selain dengan KCKT, pengujian zat pemanis sintetis juga dilakukan dengan reaksi pengendapan. Jika terbentuk endapan, maka larutan positif mengandung Siklamat. Ketika semua sampel diuji, pada sampel terbentuk endapan. Peneliti juga memastikan bahwa pemanis sintetis yang digunakan bukan dalam bentuk asam siklamat, melainkan dalam bentuk Natrium siklamat. Pengujian dilakukan dengan cara uji nyala api. Jika nyala api berubah menjadi warna kuning menyala, maka sampel positif mengandung Natrium. Ketika semua sampel diuji, nyala api bunsen yang pertama berwarna biru berubah menjadi kuning menyala. Berdasarkan uji pengendapan dan uji nyala api, maka dapat disimpulkan jenis pemanis sintetis yang digunakan adalah Natrium Siklamat.

Setelah diuji secara kualitatif, maka dilanjutkan dengan penetapan kadar Natrium siklamat. Metode analisis divalidasi terlebih dahulu. Berdasarkan data kromatogram baku kerja natrium siklamat, diperoleh rasio pada masing-masing kadar yang dapat dilihat pada Tabel 5, kemudian dibuat kurva regresi luas puncak terhadap kadar baku kerja Natrium siklamat yang dapat dilihat pada gambar 4:



Gambar 4. Kurva Regresi Area Terhadap Kadar Baku Kerja Natrium Siklamat

Persamaan regresi yang diperoleh antara kadar dan area adalah $y = 8503 + 440,79x$, dengan nilai koefisien regresi $r=0,9999$ dan $V_{xo}= 1,71\%$. Persyaratan linieritas adalah $r \geq 0,999$ dan $V_{xo} \leq 2\%$. Jadi kurva memenuhi persyaratan linieritas.

Penentuan batas deteksi dilakukan dengan menyuntikkan larutan baku Natrium siklamat konsentrasi tertentu. Jika larutan tersebut menghasilkan puncak, maka dilakukan pengenceran terus menerus sampai pada akhirnya larutan baku natrium siklamat tidak menghasilkan puncak. Konsentrasi larutan baku natrium siklamat yang terakhir menghasilkan puncak menunjukkan bahwa konsentrasi terkecil yang dapat dideteksi oleh alat adalah konsentrasi tersebut. Batas deteksi Natrium siklamat berdasarkan hasil praktikum adalah 68,29 bpj . Berdasarkan hasil perhitungan dari kurva baku, batas deteksi dan batas kuantitasi Natrium Siklamat adalah 81,79 bpj dan 272, 63 bpj.

Rentang % perolehan kembali yang diperoleh pada penentuan akurasi Natrium siklamat dalam sampel yang ditambahkan baku kerja Natrium siklamat adalah 95,44-102,33%. Persyaratan % perolehan kembali adalah 80-120%. Jadi % perolehan kembali hasil praktikum memenuhi persyaratan.

Tabel 4. Hasil Penentuan % perolehan kembali Es Lilin

Es Lilin	Minggu	Kadar Sampel (bpj)	Konsentrasi Baku yang ditambahkan (bpj)	Rata-rata Area Total	Konsentrasi Baku yang ditemukan (bpj)	% Perolehan kembali
Hijau	Minggu 1	59998	270,79	231454,00	270,95	100,06
		60038	287,14	234538,33	275,13	95,82
		59405	292,40	241190,67	295,53	101,01
	Minggu 2	75662	323,02	280072,67	325,14	100,66
		75132	229,71	236068,33	219,24	95,44
		75412	258,82	250350,00	258,68	99,95
Merah	Minggu 1	71662	313,86	272693,67	313,92	100,02
		70024	222,13	225450,33	213,26	96,01
		64532	280,36	243203,00	275,41	98,24
	Minggu 2	64738	258,42	232673,00	258,93	100,20
		68704	259,62	241785,00	264,30	101,80
		67412	259,60	240184,33	265,66	102,33
Kuning	Minggu 1	76662	266,40	257454,67	266,43	100,01
		75912	237,20	242169,00	234,67	98,93
		74134	290,73	265071,33	293,54	100,97
	Minggu 2	64038	277,56	243292,00	279,40	100,66
		67132	250,85	236068,33	250,77	99,97
		65418	264,40	239218,33	264,93	100,20

Penentuan presisi dilakukan dengan menghitung harga koefisien variasi (KV) dari area kromatogram baku kerja Natrium siklamat. Dari hasil perhitungan, didapatkan rentang KV untuk baku kerja adalah 0,45-2,19%, sedangkan rentang KV untuk persen perolehan kembali adalah 0,10-2,84%, sedangkan rentang nilai KV kadar sampel adalah 0,19-4,87 %. Persyaratan presisi yaitu $2\% \leq KV \leq 5\%$. Jadi presisi memenuhi persyaratan.

Larutan Baku Induk dibuat dengan menimbang Natrium Siklamat kemudian ditambahkan air bebas mineral sampai volume tertentu di labu ukur. Lalu larutan dikocok sampai homogen. Larutan baku induk tersebut disaring dengan cara saring kering menggunakan kertas saring biasa. Sekitar 20% filtrat yang pertama keluar, dibuang dan sisanya ditampung dalam *beaker glass*. Larutan Baku Kerja dibuat dengan melakukan beberapa kali pengenceran dari larutan baku induk. Larutan Baku Kerja yang digunakan sebanyak 8 larutan dengan berbagai macam konsentrasi. Larutan baku kerja disaring dengan membran filter 0,45 μm dan disuntikkan sejumlah 10 μL ke instrumen KCKT. Kurva baku kerja dapat dilihat pada gambar 6. Berikut konsentrasi baku kerja beserta areanya disajikan dalam Tabel 5.

Tabel 5 Hasil Larutan Baku Kerja Natrium Siklamat

Konsentrasi (bpj)	Area
0	0
195,53	85958,00
598,32	291098,33
797,76	370836,00
1068,43	486888,00
432,10	189985,00
1946,14	855763,00
7700,83	3402706,33

Rentang kadar Asam siklamat yang terdapat pada es lilin berwarna hijau tersebut adalah 3,20-3,29 g/kg, es lilin berwarna merah 3,25-3,33 g/kg, dan es lilin berwarna kuning 3,24-3,33 g/kg. Persyaratan maksimal penggunaan asam siklamat adalah 3,0 g/kg menurut SNI 01-0222-1995. Penggunaan asam siklamat di dalam es lilin Pedagang A, B, dan C yang diproduksi oleh Industri Rumah Tangga “X” melebihi persyaratan. Hasil penetapan kadar asam siklamat dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Penetapan Kadar Asam Siklamat dalam Sampel Es Lilin

Es Lilin	Sampel	Rata-rata Area	Rata-rata Kadar Na-siklamat (g/kg)	Rata-rata Kadar Asam Siklamat (g/kg)
Hijau	A Minggu 1	106218,67	3,59	3,20
	A Minggu 2	118275,17	3,64	3,24
	B Minggu 1	155224,67	3,62	3,22
	B Minggu 2	136404,17	3,66	3,26
	C Minggu 1	149394,84	3,63	3,24
	C Minggu 2	155721,00	3,70	3,29
Merah	A Minggu 1	144654,84	3,66	3,26
	A Minggu 2	203474,50	3,74	3,33
	B Minggu 1	132517,84	3,67	3,28
	B Minggu 2	138597,25	3,65	3,25
	C Minggu 1	140056,00	3,65	3,25
	C Minggu 2	195660,75	3,70	3,29
Kuning	A Minggu 1	243247,5	3,73	3,33
	A Minggu 2	111430,50	3,67	3,27
	B Minggu 1	175721,75	3,70	3,30
	B Minggu 2	172078,59	3,64	3,24
	C Minggu 1	146921,34	3,69	3,28
	C Minggu 2	142339,67	3,64	3,24

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini adalah Es Lilin Industri “X” tidak layak edar. Es lilin berwarna merah tidak layak edar karena mengandung pewarna sintetik yang dilarang, yaitu *Rhodamin-B*, dan jumlah asam siklamat melebihi batasan maksimal yang dipersyaratkan (3,0 g/kg). Es lilin berwarna kuning tidak layak edar karena mengandung pewarna sintetik yang dilarang, yaitu *Methanill Yellow*, dan jumlah asam siklamat melebihi batasan maksimal yang dipersyaratkan.. Es Lilin berwarna hijau tidak layak edar karena jumlah asam siklamat yang ditambahkan melebihi batasan maksimal, meskipun jumlah pewarna *Apple green* tidak melebihi batasan maksimal yang dipersyaratkan.

Saran dari peneliti yaitu melakukan analisis cemaran logam berat dan mikroba pada es lilin tersebut. Hal ini dikarenakan peneliti tidak mengetahui bagaimana proses pembuatan es lilin dan apa saja bahan yang dipergunakan untuk membuatnya. Mungkin saja air yang digunakan dalam pembuatan adalah air dari sumur, karena di Kecamatan Ambulu masih banyak rumah yang memiliki sumur.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. (1992). Standar Nasional Indonesia- Cara Uji Pemanis Buatan. Badan Standarisasi Nasional.

Anonim. (1995). Standar Nasional Indonesia- Bahan Tambahan Makanan. Badan Standarisasi Nasional.

Shevla, Setiono, Pudjaatmaka. (1985). Buku Teks Analisis Kualitatif Makro dan Semimikro. Jakarta: Kalman Media Pustaka.

Wijaya, D. (2011). Waspadai Zat Aditif Dalam Makananmu. Jogjakarta: Buku Biru.

Winarno. (1994). Bahan Tambahan untuk Makanan dan Kontaminan. Jakarta: Sinar Harapan.

Winarno. (2004). Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.