

Determination of Rhodamine B Levels in Seasoning Powder Using TLC and HPLC Methods

Penetapan Kadar Rhodamin B Pada Bumbu Tabur Dengan Metode KLT Dan KCKT

Ariska Munthe ^a, Anny Sartika Daulay ^{a*}, Ridwanto ^a, Ainil Fithri Pulungan ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: anny.satika@gmail.com

Abstract

Rhodamine B is a colouring substance in the form of green or reddish-purple crystals, which are odourless and in the form of a bright red solution (fluorescent). Rhodamin B is a colouring substance that can only be used in the textile, paint, paper, or clothing industries, so it cannot be added to food. Rhodamine B is often used as a coloring agent in paper and textiles. This substance is the most dangerous; if consumed, it can cause problems with liver function and liver cancer. The stages of this research include a sample solution, making Rhodamin B standard stock solution, and making a mobile phase. Examination of qualitative analysis using thin layer chromatography and determination of Rhodamine B levels in seasoning performance liquid chromatography method. The results of the research showed that in the qualitative examination, there were two samples containing Rhodamin B. Rhodamin B levels were determined by determining the retention time and calculating Rhodamin B levels using the high-performance liquid chromatography method. The result of deciding Rhodamine B levels in the two samples containing Rhodamin B was sample A; $2,8915 \text{ mcg/g} \pm 2,9533 \text{ mcg/g}$, sampel B ; $19,6702 \text{ mcg/g} \pm 19,8209 \text{ Mcg/g}$. Then, the highest levels of Rhodamin B are found in sample B.

Keywords: Rhodamine B, KLT, KCKT. .

Abstrak

Rhodamin B merupakan zat pewarna berbentuk kristal berwarna hijau atau ungu kemerahan, tidak berbau dan dalam bentuk larutan berwarna merah terang (berfluoresensi). Rhodamin B adalah zat pewarna yang hanya dapat digunakan pada industri tekstil, cat, kertas atau pakaian sehingga tidak dapat ditambahkan kedalam makanan. Rhodamin B sering digunakan sebagai zat pewarna pada kertas dan tekstil, zat ini paling berbahaya bila di konsumsi bisa menyebabkan gangguan pada fungsi hati, bahkan kanker hati. Tahapan penelitian ini meliputi persiapan sampel, pembuatan larutan sampel, pembuatan larutan induk baku Rhodamin B, pembuatan fase gerak. Pemeriksaan analisis kualitatif dengan kromatografi lapis tipis dan penetapan kadar Rhodamin B pada sampel bumbu tabur dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari pemeriksaan analisis kualitatif terdapat 2 sampel yang mengandung Rhodamin B. Penetapan kadar Rhodamin B dengan penentuan waktu retensi dan perhitungan kadar Rhodamin B dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Hasil penentuan kadar Rhodamin B pada ke dua sampel yang positif mengandung Rhodamin B adalah sampel A; $2,8915 \text{ mcg/g} \pm 2,9533 \text{ mcg/g}$, sampel B; $19,6702 \text{ mcg/g} \pm 19,8209 \text{ mcg/g}$. Maka kadar Rhodamin B paling tinggi adalah sampel B.

Kata Kunci: Rhodamin B, KLT, KCKT.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 12/02/2025,
Revised: 10/04/2025
Accepted: 14/04/2025
Available Online: 15/04/2025

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i2.845>

Pendahuluan

Seiring dengan perkembangan teknologi yang semakin modern, gaya hidup dan pola pikir masyarakat juga semakin berkembang. Hal ini menyebabkan masyarakat cenderung lebih tertarik dengan segala sesuatu dalam bentuk instan termasuk dalam penggunaan bumbu dapur untuk kebutuhan sehari-hari. Tingginya permintaan produk bumbu instan dipasaran dimanfaatkan oleh produsen untuk menciptakan inovasi baru terkait produk bumbu instan, sehingga saat ini terdapat banyak jenis bumbu instan. Salah satu jenis bumbu instan yang paling diminati masyarakat yaitu bumbu tabur.

Bumbu tabur (*seasoning powder*) atau bumbu perasa yang fungsinya untuk memberikan rasa lezat pada makanan atau cemilan. Bumbu tabur memiliki bermacam-macam rasa dan warna sehingga dapat menambah daya tarik sendiri bagi penikmatnya dengan adanya penambahan bumbu tabur. Bumbu tabur merupakan bumbu instan yang digunakan untuk memberikan rasa gurih dan lezat pada makanan. Terdapat beberapa varian rasa bumbu tabur seperti keju, jagung bakar, barbeque, dan balado. balado yang biasanya ditambahkan pada makanan dan banyak dijumpai di pasaran, berdasarkan informasi nilai gizinya memiliki kandungan proteinnya 0 %. Bumbu tabur merupakan bumbu yang berbentuk seperti tepung halus dan kering [1].

Bumbu tabur memiliki warna yang mencolok membuat konsumen tertarik untuk mengkonsumsinya, bumbu tabur yang berwarna mencolok ini dicurigai mengandung pewarna sintetis yang berbahaya bagi kesehatan salah satunya mengandung pewarna sintetis yang berbahaya bagi kesehatan salah satunya adalah pewarna Rhodamin B [2].

Rhodamin B merupakan zat pewarna berbentuk kristal berwarna hijau atau ungu kemerahan, tidak berbau dan dalam bentuk larutan berwarna merah terang (berfluoresensi). Rhodamin B adalah zat pewarna yang hanya dapat digunakan pada industri tekstil, cat, kertas atau pakaian sehingga tidak dapat ditambahkan kedalam makanan. Rhodamin B sering digunakan sebagai zat pewarna pada kertas dan tekstil, zat ini paling berbahaya bila di konsumsi bisa menyebabkan gangguan pada fungsi hati, bahkan kanker hati. Bila mengonsumsi makanan yang mengandung Rhodamin B dalam tubuh akan terjadi penumpukan lemak, sehingga lama-kelamaan jumlahnya akan terus bertambah. Dampaknya baru akan kelihatan setelah puluhan tahun kemudian. Rhodamin B tidak layak dikonsumsi, jika sudah masuk kedalam tubuh maka akan mengendap pada jaringan hati dan lemak, tidak dapat dikeluarkan, dalam jangka waktu lama bisa bersifat karsinogenik [3].

Salah satu studi menjelaskan bahwa konsumsi Rhodamin B (RhB) dalam jangka panjang dapat menyebabkan pembesaran dan gangguan fungsi hati, yang berpotensi mengarah pada kanker hati [4,5]. Secara khusus, Rhodamin B telah terbukti merusak fungsi hati, yang dapat menyebabkan komplikasi kesehatan serius [5,6]. Selain itu, penelitian menunjukkan bahwa Rhodamin B dapat mendorong pertumbuhan sel kanker karena sifat karsinogeniknya, terutama jika terpapar dalam jangka waktu lama [7,8]. Mekanisme toksisitas yang terkait dengan Rhodamin B diyakini berhubungan dengan stres oksidatif dan gangguan fungsi seluler, yang menyebabkan kondisi yang mendukung terjadinya karsinogenesis [6].

Lebih lanjut, pengaturan Rhodamin B (RhB) sebagai zat terlarang dalam produk makanan menegaskan sifat bahayanya. Pemerintah Indonesia telah mengklasifikasikan Rhodamin B (RhB) sebagai zat berbahaya karena efek negatifnya terhadap kesehatan, termasuk iritasi saluran pencernaan dan kerusakan hati [7,9]. Kasus konsumen yang secara tidak sengaja mengonsumsi Rhodamin B (RhB) melalui produk makanan yang

terkontaminasi semakin menekankan risiko yang terkait dengan konsumsinya, yang berpotensi menyebabkan masalah kesehatan jangka panjang, termasuk kanker yang berkaitan dengan kerusakan hati [5,7].

Dalam regulasi keamanan pangan, banyak negara telah secara tegas melarang penggunaan Rhodamin B sebagai zat aditif makanan. Misalnya, Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 239/Menkes/Per/V/1985 mengklasifikasikan Rhodamin B sebagai bahan tambahan yang dilarang karena toksisitasnya dan potensi efek karsinogenik [10]. Selain itu, pedoman dari Food and Agriculture Organization (FAO) menekankan bahwa tidak ada *Acceptable Daily Intake* (ADI) untuk zat yang diakui berbahaya, termasuk Rhodamin B [7].

Berbagai studi menyoroiti prevalensi pewarna ini dalam produk makanan. Sebagai contoh, pemeriksaan laboratorium terhadap makanan ringan di Makassar mengungkapkan bahwa sampel kerupuk singkong mengandung 7.960 µg/g Rhodamin B, jauh melebihi ambang batas aman [11]. Analisis terhadap jajanan kaki lima di Indonesia juga secara konsisten mendeteksi keberadaan Rhodamin B pada produk seperti terasi dan sosis, sehingga menimbulkan kekhawatiran terhadap kontaminasi yang meluas di lingkungan makanan, terutama di pasar tradisional [12].

Untuk mengidentifikasi kandungan Rhodamin B dapat digunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) disebabkan fleksibilitasnya untuk dapat mendeteksi hampir semua senyawa, bahkan beberapa senyawa organik. Penentuan kadar Rhodamin B dapat dilakukan dengan metode antara lain dengan metode kromatografi preparatif, kromatografi cair kinerja tinggi, dan spektrofotometri sinar tampak [8].

Namun kebanyakan dari sistem KLT yang dipergunakan memiliki R_f yang berada dipelarut ataupun masih menghasilkan puncak yang berekor (tailing). Nilai R_f yang ideal adalah R_f antara 0,2-0,8. Selain itu sistem KLT yang dikembangkan diharapkan akan mampu memisahkan berbagai pewarna merah jenis lain yang terdapat dalam produk makanan [13].

Oleh karena itu Penentuan Rhodamin B dalam bumbu tabur dapat digunakan metode analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi karena metode analisisnya cepat, peka, akurat, tepat, dan pilihan fase gerak dan fase diamnya sangat luas, dapat digunakan untuk analisis bahan organik dan anorganik, dapat digunakan untuk sampel yang bersifat volatil maupun non-volatil, serta sampel yang stabil maupun tidak stabil secara thermal.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka peneliti tertarik melakukan untuk mengetahui keberadaan Rhodamin B dalam bumbu tabur dan apakah masih terdapat kandungan zat warna yang berbahaya seperti Rhodamin B pada bumbu tabur dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) [1].

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif yang dilakukan di laboratorium Farmasi Terpadu UMN Al-Washliyah dengan tujuan Untuk mengetahui ada tidaknya kandungan Rhodamin B dan untuk menentukan kadar Rhodamin B pada bumbu tabur. Rancangan penelitian ini meliputi cara pengumpulan dan pembuatan larutan sampel, pembuatan larutan standar Rhodamin B, pengujian ada tidaknya kandungan Rhodamin B dan menetapkan kadar Rhodamin B dengan metode Kromatografi Cair kinerja Tinggi.

Waktu Penelitian dan lokasi

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai bulan Mei 2024 di Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al- Washliyah Medan.

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah standart Rhodamin B (Merck), sampel Bumbu Tabur yang terjual di pasaran, Amoniak pro Analisis (Merck), Metanol pro analisis (Sigma-Aldrick) Etil Asetat pro analisis (J.T. baker), Aquades, Acetonitril pro analisis (Merck), Butan-1-ol pro analisis (Merck). Sedangkan untuk alat yang digunakan adalah HPLC (Rigol), perangkat komputer, software Imagej, timbangan analitik, corong (pyrex), labu ukur (Iwaki Pyrex), pipet tetes, bola hisap, pipet ukur (Iwaki Pyrex), beaker glass (Iwaki Pyrex), batang pengaduk, bejana camag, spatula, lempeng KLT Silika Gel GF254, kertas saring (Whatman)

Persiapan sample

Sampel yang digunakan yaitu bumbu tabur yang terdaftar dan tidak terdaftar BPOM yang terjual di pasaran, Sampel A,B,C,D,E,F,G.

Pembuatan Larutan Sampel

Timbang 1 gram bumbu Tabur menggunakan timbangan analitik, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan sampai tanda batas menggunakan metanol pro analisis [1].

Pembuatan Baku Pembanding Rhodamin B

Timbang 50 mg pewarna Rhodamin B menggunakan timbangan analitik, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 ml dan ditambahkan sampai tanda batas menggunakan metanol pro analisis [14].

Pembuat Fase Gerak (Eluen)

Masukkan dalam bejana Kromatografi berupa etil asetat : n-butanol: amonia 25% dengan perbandingan (20:55:25). Dibiarkan eluen sampai jenuh dengan cara dicelupkan kertas saring pada fase gerak. Bejana ditutup rapat, lalu fase gerak dibiarkan menguap atau naik hingga membasahi kertas saring [14].

Identifikasi analisis kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Tahap identifikasi sampel dengan metode KLT yaitu menggunakan silika gel GF254 yang berukuran 20 cm x 20 cm. Kemudian sampel bumbu tabur dan Rhodamin B ditotolkan menggunakan pipa kaliper di plat KLT dengan jarak pada jarak 1 cm dari bagian bawah plat. Kemudian masukkan ke dalam chamber yang berisi fase gerak etil asetat : N-butanol : ammonia 25% dengan perbandingan (20:55:25) v/v/v. Setelah eluen sampai tanda batas, angkat dan keringkan. Kemudian diamati menggunakan sinar UV 254 nm. Apabila secara visual noda berwarna merah muda dan di bawah sinar UV kuning atau orange, hal ini menunjukkan adanya Rhodamin B, maka hitung harga Rf [9].

Analisis Kuantitatif Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Pembuatan Fase Gerak

Buat campuran pelarut asetonitril-metanol-air dengan perbandingan (47:47:6), homogenkan dengan ultrasonic vibrator selama 15 menit. Larutan kemudian disaring dengan milipore 0,45 µm. Injeksikan ke dalam sistem kckt dengan panjang gelombang 554 nm, laju alir 1 ml/menit, volume injeksi 20 µl (tentukan waktu retensi, tailing factor, fronting) [15].

Pembuatan Larutan Standart Rhodamin B

Timbang seksama Rhodamin B sebanyak 50 mg, masukkan ke dalam labu ukur 50 ml, larutkan dengan metanol pro analisis sampai tanda batas kemudian homogenkan (1000 ppm) (LIB 1) [16].

Pembuatan Larutan Standart Rhodamin B

Dipipet sebanyak 5 ml larutan standar 1000 ppm masukkan kedalam labu ukur 50 ml, larutkan dengan metanol pro analisis sampai tanda batas kemudian homogenkan (100 ppm) (LIB II) [16].

Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan melarutkan larutan standar (LIB II) sebanyak 0,6 ml kedalam labu ukur 10 ml tambahkan metanol pro analisis sampai tanda batas, kocok sampai homogen. Larutan kemudian di saring dengan milipore 0,45 µm. Injeksikan ke dalam sistem KCKT dengan panjang gelombang 554 nm, laju alir 1 mL/menit, volume injeksi 20 µL. Tentukan waktu retensi yang diperoleh [15].

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Buat larutan kurva kalibrasi dari larutan standart (100 ppm) dengan membuat 6 konsentrasi yaitu konsentrasi larutan 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 pmm, 10 ppm, 12 ppm, masing – masing di masukkan ke dalam labu ukur 10 ml tambahkan dengan metanol pro analisis sampai tanda batas, kocok sampai homogen. Larutan kemudian di saring dengan milipore 0,45 µm. Injeksikan kedalam sistem KCKT dengan panjang gelombang 554 nm, laju alir 1 ml/menit, volume injeksi 20 µl [15].

Pembuatan larutan sampel

Sampel bumbu tabur di timbang sebanyak 1 g menggunakan timbangan analitik, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 ml, ditambahkan metanol pro analisis sampai tanda batas dan di homogenkan. Larutan kemudian di saring dengan milipore 0,45 μ m. Injeksikan kedalam sistem KCKT dengan panjang gelombang 554 nm, laju alir 1 ml/ menit, volume injeksi 20 μ m [16].

Hasil Dan Pembahasan

Persiapan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara purposive. Sampel bumbu tabur dikumpulkan dari Pasar simpang limun medan dan secara online. Sebanyak tujuh sampel dengan berbagai macam merek dan kemasan. Semua sampel yang dipilih merupakan bumbu tabur berwarna merah.

Hasil Analisis Kualitatif Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis merupakan metode pemisahan fisika kimia berdasarkan prinsip partisi dan absorpsi antara fase diam dan fase gerak. Prinsip dasar metode kromatografi lapis tipis berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan [17]. Kromatografi lapis tipis merupakan analisis kualitatif karena hanya untuk mengetahui keberadaan suatu zat dalam sampel tersebut. Cara analisis kromatografi lapis tipis berdasarkan perbandingan jarak tempuh noda yang diketahui dengan istilah Retention Factor. Retention Factor (R_f) adalah perbandingan jarak yang ditempuh oleh senyawa pada permukaan fase diam dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut sebagai fase gerak [18].

Metode kromatografi lapis tipis yang digunakan dalam penelitian mengidentifikasi kandungan Rhodamin B yang beredar di pasaran. Pengambilan sampel dilakukan terhadap 7 (tujuh) jenis bumbu tabur yang berbeda. Pengambilan sampel bumbu tabur dilakukan dengan metode purposive sampling yaitu berdasarkan pertimbangan sesuai kriteria inklusi (kriteria sampel yang diinginkan peneliti berdasarkan tujuan penelitian). Kriteria inklusi yang dipilih yaitu bumbu tabur berwarna kemerahan baik bermerek maupun tidak bermerek yang dicurigai mengandung pewarna Rhodamin B. Rhodamin B dilarang penggunaannya didalam makanan. Setelah sampel diperoleh selanjutnya dilakukan preparasi sampel dan analisis kualitatif untuk mengetahui keberadaan kandungan pewarna Rhodamin B pada sampel dengan metode yang digunakan yaitu kromatografi lapis tipis. Pengujian kromatografi lapis tipis dilakukan dengan dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam adalah fase yang terikat pada pendukung silika gel, pada penelitian ini digunakan plat silika gel sedangkan fase gerak adalah yang melalui fase diam (eluen). Dalam hal ini digunakan beberapa campuran pelarut berupa N-butanol: etil asetat: amoniak 25% dengan perbandingan 55 : 20 : 25 [13].

Plat silika gel yang digunakan dalam penelitian ini adalah plat silika gel GF254. Plat silika gel GF254 adalah plat yang dapat menghasilkan fluoresensi pada panjang gelombang 254 nm karena adanya gugus kromofor pada noda. Ukuran plat silika gel yang digunakan adalah 20 cm x 20 cm, plat yang digunakan terlebih dahulu diaktivasi. Kegunaan aktivasi adalah untuk membuka pori-pori dan menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT [19]. Cara penotolan sampel dilakukan pada plat yang sudah ditentukan pada garis batas bawah yang berjarak 2 cm dari garis atas KLT. Pembuatan garis dilakukan dengan menggunakan pensil yang terbuat dari grafit. Penotolan sampel dilakukan pada garis dengan menggunakan pipa kapiler dengan diameter 1 mm [14]. Jarak Masing-masing noda adalah 2 cm.

Plat yang telah selesai dilakukan penotolan kemudian dimasukkan kedalam chamber yang berisi eluen. Penggunaan KLT dihentikan jika eluen telah mencapai garis batas. Eluen yang digunakan pada Kromatografi lapis tipis melarutkan campuran zat dengan mengangkat atau membawa komponen yang akan dipisahkan melewati sorben fase diam, sehingga memberikan selektivitas yang memadai untuk campuran senyawa yang dipisahkan.

Pergerakan bercak dan jumlah noda sampel pada plat KLT terjadi berdasarkan kepolaran. Analit yang dipisahkan harus dapat larut dalam eluen, Analit akan bergerak sesuai kepolarannya. Plat KLT terbuat dari silika gel bersifat polar, maka analit yang lebih muda terbawa oleh eluen adalah senyawa yang nonpolar sehingga senyawa yang polar akan memberikan bercak noda dengan nilai R_f yang lebih kecil, karena senyawa polar menempuh jarak yang lebih kecil dibandingkan dengan nonpolar. Hasil Analisis Kualitatif

Rhodamin B Pada Bumbu Tabur yang beredar dipasar simpang limun medan dan secara online secara Klt dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji kualitatif menggunakan kromatografi Lapis tipis

Kode Sampel	Pengamatan		Nilai Rf	Kesimpulan
	Visual	Sinar UV 254 nm		
Rhodamin B	Merah Muda	Berfluoresensi kuning	0,487	Standart
Sampel A	Merah Muda	Berfluoresensi kuning	0,4	Positif
Sampel B	Merah Muda	Berfluoresensi kuning	0,487	Positif
Sampel C	Ungu	Tidak Berfluoresensi	-	Negatives
Sampel D	Ungu	Tidak Berfluoresensi	-	Negatives
Sampel E	Ungu	Tidak Berfluoresensi	-	Negatives
Sampel F	Ungu	Tidak Berfluoresensi	-	Negatives
Sampel G	Ungu	Tidak Berfluoresensi	-	Negatives

Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa terdapat 7 sampel dan 1 pembanding didapatkan sampel A dan B positif mengandung Rhodamin B. Bisa dilihat dari nilai Rf sampel A sebesar 0,4, sampel B sebesar 0,487. Pada plat silika selanjutnya akan dideteksi dengan sinar UV 254 nm untuk mendeteksi senyawa yang terkandung didalam sampel apabila senyawa tersebut dapat berfluoresensi. Dan Pendeteksian senyawa yang terkandung didalam sampel C,D,E,F,G diperoleh tidak berfluoresensi maka dinyatakan negatif, hal ini menunjukkan sampel A dan B mengandung Rhodamin B dikarenakan zat warna Rhodamin B akan berfluoresensi berwarna orange di bawah sinar UV dan berwarna merah muda dilihat secara visual. Suatu sampel dikatakan positif mengandung zat pewarna Rhodamin B apabila memiliki harga Rf standar Rhodamin B yaitu 0,2-0,8 [20].

Hasil Analisis Kuantitatif Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Pada pengujian Rhodamin B pada sampel bumbu tabur diperoleh hasil 2 positif mengandung Rhodamin B yaitu sampel A dan B. Uji berikutnya yang dilakukan yaitu analisis kuantitatif dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi. Uji yang dilakukan pada KCKT untuk melihat kadar dari suatu sampel. Analisis kandungan Rhodamin B dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi mempunyai selektivitas yang tinggi sehingga didapatkan hasil yang diinginkan dan sempurna selain itu proses analisis KCKT memiliki beberapa keunggulan antara lain waktu relatif singkat, volume sampel yang digunakan sedikit, dapat menganalisis senyawa organik dan anorganik, serta kolom yang dapat digunakan kembali [21].

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi adalah teknik pemisahan fisik suatu campuran zat – zat kimia (analit) yang berdasarkan pada perbedaan distribusi masing-masing komponen campuran yang terpisah pada fase diam dibawah pengaruh fase gerak. Prinsip dasar metode kromatografi cair kinerja tinggi adalah pemisahan komponen analit berdasarkan kepolarannya, setiap komponen senyawa yang keluar akan terdeteksi dengan detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram [22].

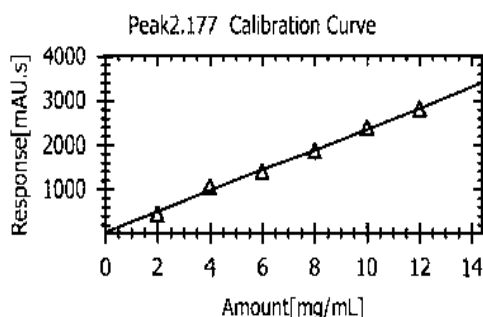
Kromatografi cair kinerja tinggi merupakan teknik kromatografi yang digunakan untuk menentukan kadar dari suatu sampel. Metode kromatografi cair kinerja tinggi menggunakan eluen dari campuran pelarut acetonitril-metanol-air dengan perbandingan 47:47:6. Pada penentuan hasil larutan uji dilakukan dengan melarutkan larutan standar LIB II sebanyak 0,6 ml kedalam labu ukur 10 ml dicukupkan dengan metanol pro analisis sampai tanda batas. Larutan kemudian disaring dengan milipore 0,45 µm. Injeksikan ke dalam sistem KCKT dengan panjang gelombang 554 nm, laju alir 1 ml/menit, volume injeksi 20 µl. Sehingga di peroleh waktu retensi yaitu pada waktu 2,1 menit.

Hasil Pembuatan Kurva Kalibrasi

Untuk mencari konsentrasi sampel dapat dicari dengan menggunakan kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi adalah kurva yang menghubungkan absorbansi dengan konsentrasi standar. Kurva kalibrasi akan memperoleh luas area dari larutan sampel, setelah di dapat luas area dari larutan sampel maka ditentukan konsentrasinya dengan menggunakan rumus regresi linier berdasarkan kurva kalibrasi yaitu $y = ax + b$ [23].

Hasil pembuatan kurva kalibrasi larutan standar Rhodamin B dibuat larutan untuk kurva kalibrasi dengan konsentrasi larutan 2 ppm, 4 ppm, 6ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm yang masing masing dilarutkan

dengan metanol pro analisis di dalam labu ukur 10 ml. Hasil grafik kurva kalibrasi Rhodamin B dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. kurva kalibrasi Rhodamin B

Berdasarkan hasil data, kurva kalibrasi Rhodamin B uji linieritas dilakukan dengan menggunakan enam konsentrasi larutan baku Rhodamin B, kemudian larutan kurva dibuat antara konsentrasi analit (X) dan luas area (y), dan kurva linier ditetapkan sebagai $y = ax + b$, dimana a adalah intersept (perpotongan garis dengan sumbu y) dan b adalah kemiringan (garis regresi). Koefisien korelasi (r) dihitung dan hasil persamaan regresi linear adalah $y = 231,081x + 25,37625$.

Koefisien korelasi adalah simpangan setiap titik pada garis yang diperoleh dari titik tersebut. Ditentukan koefisien determinasi atau (r^2) yang merupakan kuadrat dari koefisien korelasi yang memiliki kisaran nilai dari 0 hingga 1 [24]. Koefisien korelasi yang diperoleh yaitu $r^2 = 0,9986$. Jika persamaan garis yang ditarik memiliki nilai r^2 yang mendekati 1, kurva kalibrasi yang dihasilkan memiliki linieritas garis yang baik.

Hasil Penetapan Kadar Sampel

Metode Kromatografi cair kinerja tinggi digunakan untuk menentukan kadar Rhodamin B dalam sampel. Kromatografi cair kinerja tinggi adalah analisis sistem kromatografi yang fase gerak dialirkan dengan cepat melalui pompa dan hasilnya ditangkap dengan detektor. Metode kromatografi cair kinerja tinggi dapat digunakan baik untuk analisis kuantitatif maupun kualitatif. Dan dapat digunakan untuk memisahkan berbagai senyawa organik dan anorganik, senyawa biologis, analisis ketidak murnian, dan analisis senyawa yang tidak menguap.

Metode kromatografi cair kinerja tinggi digunakan untuk memeriksa kadar Rhodamin B. Fase gerak asetonitril, metanol untuk HPLC, aquabidest digunakan dengan kecepatan alir 1 ml /menit. Kolom silika C18 digunakan dalam fase diam, detektor UV yang digunakan pada panjang gelombang 554 nm.

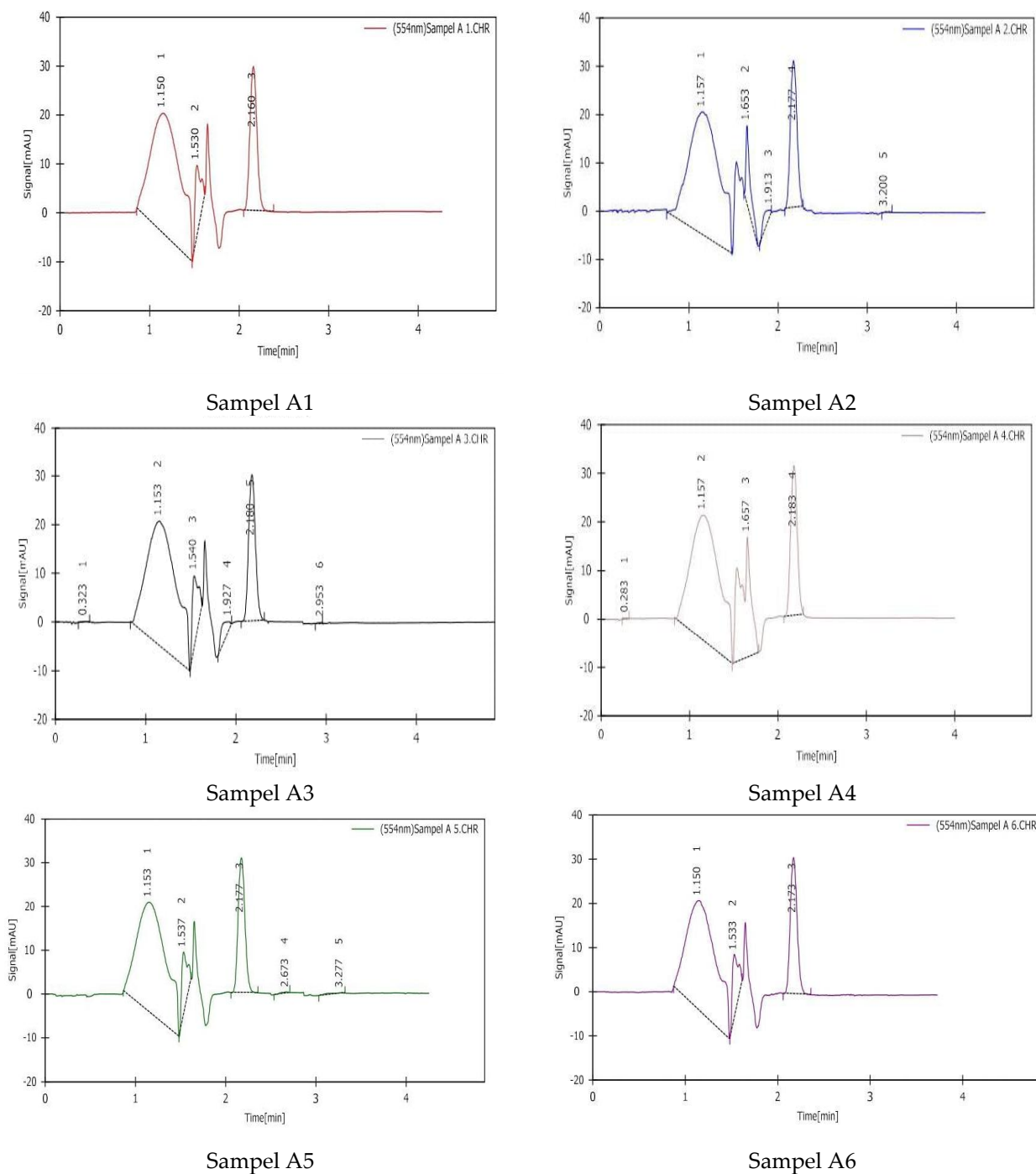
Tabel 2. Hasil Analisis Data Uji Kuantitatif

Nama Sampel		Kadar (mcg/g)	Kadar Rata (mcg/g)
A	A1	2,9316	2,6495
	A2	2,8973	
	A3	1,2854	
	A4	2,9279	
	A5	2,9347	
	A6	2,9204	
B	B1	19,6868	19,7455
	B2	19,7580	
	B3	19,7322	
	B4	19,8091	
	B5	19,7070	
	B6	19,7801	

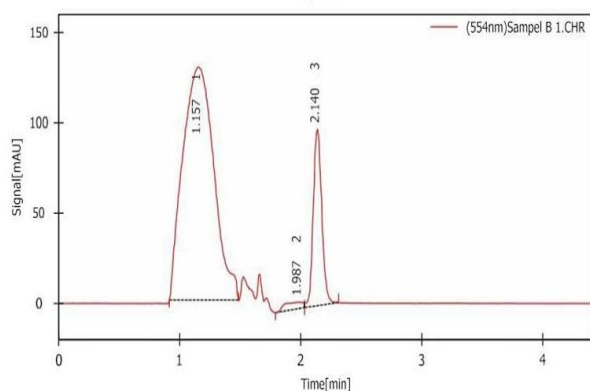
Berdasarkan data pada tabel 2 diperoleh hasil perhitungan kadar Rhodamin B dalam sampel dengan cara memasukkan nilai luas area sampel ke dalam regresi baku Rhodamin B yang di peroleh yaitu $y = 231,0810$

$\times + 25,3762$. Sampel yang paling tinggi mengandung Rhodamin B adalah sampel B dengan kadar sebesar 19,7455 mcg/g dan kadar Rhodamin B paling kecil adalah sampel A dengan kadar sebesar 2,6495 mcg/g. Dalam hal ini jika dilihat sampel B memiliki warna muda cerah sehingga kadarnya lebih tinggi dan sampel A memiliki warna jingga sehingga kadarnya paling kecil.

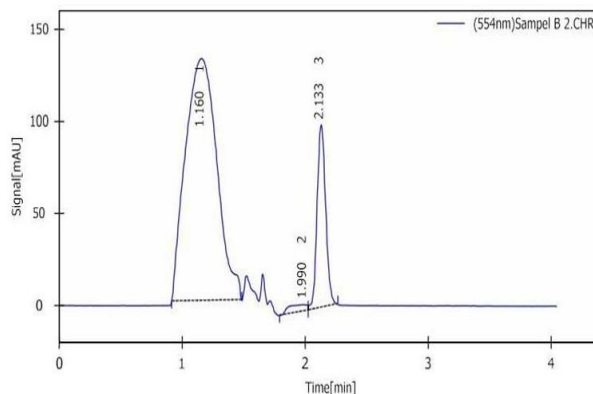
Penggunaan Rhodamin B pada makanan dalam waktu lama (kronis) akan mengakibatkan gangguan fungsi hati atau kanker, namun demikian bila terpapar Rhodamin B dalam jumlah besar maka dalam waktu singkat akan terjadi gejala akut keracunan Rhodamin B. Pewarna sintetis Rhodamin B adalah pewarna tekstil dan cat yang tidak boleh digunakan sebagai pewarna makanan. Namun dari hasil penelitian diatas masih ditemukan adanya pewarna Rhodamin B pada makanan (bumbu tabur) yang dibeli di pasar simpang limun medan dan secara online.



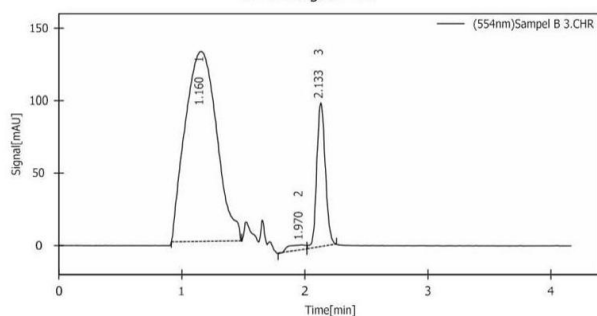
Gambar. Kromatogram KCKT Sampel A (Sampel A1- Sampel A6)



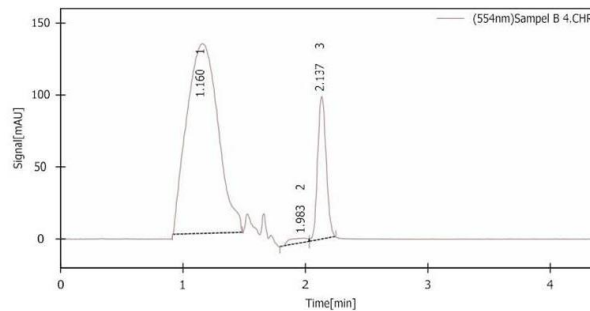
Sampel B1



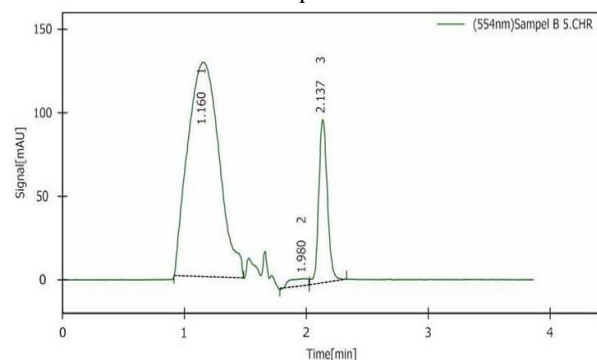
Sampel B2



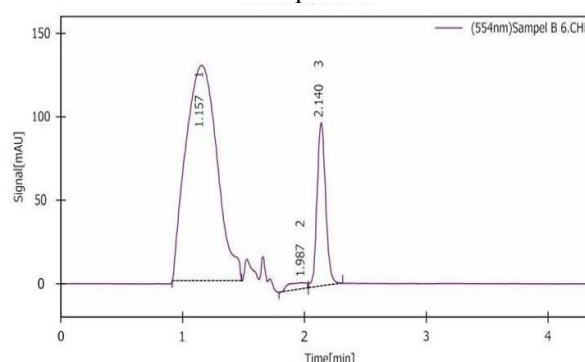
Sampel B3



Sampel B4



Sampel B5



Sampel B6

Gambar . Kromatogram KCKT Sampel B (sampel B1-sampel B6).

Kesimpulan

Hasil analisis menunjukkan bahwa dari tujuh sampel bumbu tabur yang diuji, dua sampel terdeteksi mengandung Rhodamin B. Analisis kuantitatif menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) menunjukkan bahwa kadar Rhodamin B pada sampel A berada dalam rentang $2,8915 \text{ mcg/g} \leq X \leq 2,9533 \text{ mcg/g}$, sementara sampel B memiliki kadar yang lebih tinggi, yaitu $19,6702 \text{ mcg/g} \leq X \leq 19,8209 \text{ mcg/g}$. Temuan ini mengindikasikan adanya potensi penggunaan Rhodamin B dalam bumbu tabur yang beredar di pasaran, sehingga diperlukan pengawasan lebih lanjut terhadap penggunaannya dalam produk pangan. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk menggunakan metode analisis yang berbeda guna meningkatkan akurasi dan sensitivitas dalam penentuan kadar Rhodamin B serta memperluas cakupan sampel agar memperoleh data yang lebih representatif.

Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan secara independen dan objektif, tanpa adanya konflik kepentingan atau intervensi eksternal yang dapat memengaruhi validitas dan integritas hasil. Jika sampel yang digunakan

dalam penelitian diperoleh dari produk komersial, maka identitas merek telah dianonimkan untuk menjaga kerahasiaan dan menghindari bias. Seluruh prosedur analisis pangan dalam penelitian ini mengikuti pedoman yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Republik Indonesia dan/atau standar yang setara dari *Food and Drug Administration* (FDA), guna memastikan kepatuhan terhadap standar etika dan regulasi yang berlaku.

Acknowledgment

Keberhasilan penelitian ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Kami menyampaikan rasa terima kasih yang mendalam, khususnya kepada Universitas Muslim Nusantara, atas bantuan dan fasilitasi yang sangat berarti dalam mendukung kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

Supplementary Materials

Referensi

- [1] Nasution AY. Shredded Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) as a Source of Protein in Balado Seasoning. *JPK J Prot Kesehat* 2021;10:96–100.
- [2] Febrianti DR, Hakim MR. Analisis Kualitatif Rhodamin B Dalam Bumbu Tabur Pada Penjual Jajanan di Kecamatan Banjarmasin Utara Kota Banjarmasin. *J Pharmascience* 2018;5.
- [3] Lisnawaty NHAZ. Analisis zat Rhodamin B pada saus tomat yang beredar di kantin kampus Universitas Halu Oleo Kendari Tahun 2019 n.d.
- [4] Anjasmara PA, Romdhoni MF, Purbowati MR. Pengaruh Pemberian Rhodamin B Peroral Subakut Terhadap Perubahan Ketinggian Mukosa Gaster Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus Norvegicus* Strain Wistar). *Saintika Med* 2018;13:58. <https://doi.org/10.22219/sm.v13i2.5225>.
- [5] Kurniaty S, Salamah N. Validation of Rhodamin B Analysis Method in Beef Sausage With Visible Spectrophotometry Instruments. *J Halal Sci Res* 2023;4:13–9. <https://doi.org/10.12928/jhsr.v4i1.6842>.
- [6] Sulistina DR, Martini S. The Effect of Rhodamine B on the Cerebellum and Brainstem Tissue of *Rattus Norvegicus*. *J Public Health Res* 2020;9. <https://doi.org/10.4081/jphr.2020.1812>.
- [7] Agsari AD, Guntarti A. Traditional Literature Review: Investigation of Rhodamine B on Street Foods and Sauce Products in Indonesia. *J Halal Sci Res* 2023;4:1–12. <https://doi.org/10.12928/jhsr.v4i1.6987>.
- [8] Fauziah S, Komarudin D, Dewi C. Identifikasi Dan Penetapan Kadar Rhodamin B Pada Eye Shadow Secara Kromatografi Lapis Tipis Dan Spektrofotometri Ultraviolet-Visible. *J Ilm Kesehat* 2020;19:81–6.
- [9] Nisa MF, Jayadi L, Fajar I. Analysis of Rhodamine B Dyes in Cotton Sugar in Pasuruan Regency. *J Pendidik Kesehat* 2022;11:33. <https://doi.org/10.31290/jpk.v11i1.2718>.
- [10] Wally P. The Effectiveness of Soursop (*Annona muricata* L.) Boiling Water On Blood Biochemical Levels Of Mouse (*Mus musculus*) Induced Rhodamin B. *Int J Multidiscip Res Lit* 2022;1:422–32.
- [11] Ridjal ATM, Kasma AY. Study of Rhodamine B Dyes Content in Snacks of Karuwisi Traditional Market Makassar, South Sulawesi, Indonesia. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 1027, IOP Publishing; 2022, p. 12012.
- [12] Asra R, Rusdi R, Nazla, Nessa. UV-VIS Spectrophotometer Analysis of Rhodamine B in Shrimp Paste. *Int J Res Publ Rev* 2022;04:1866–9. <https://doi.org/10.55248/gengpi.2023.4151>.
- [13] Sari SP, Ikayanti R, Widayanti E. Kromatografi Lapis Tipis (KLT): Pendekatan Pola Kromatogram Untuk Mengkonfirmasi Rhodamin B Pada Perona Pipi. *J Syifa Sci Clin Res* 2022;4.
- [14] Rahman A, Rahmadani R, Hakim AR. Analisis Rhodamin B Pada Perona Mata (Eye Shadow) Yang Beredar Di Wilayah Kota Palangka Raya Dengan Metode KLT Dan Spektrofotometri Uv-Vis. *Sains Med* 2023;1:325–34.
- [15] Rachmawati W. Identifikasi Zat Warna Rhodamin B pada Kosmetik Pemerah Pipi dan Eye Shadow dengan Metode KLT dan KCKT. *J Farm Galen* 2014;1.
- [16] Komarudin D, Fauziah S, Pramintari R. Analisis Rhodamin B pada Sediaan Lipstik dan Perona Mata Secara KCKT. *J Ilm Kesehat* 2019;18:88–92.

- [17] Mosy FF, Kuswandani K. Identifikasi Senyawa Jamu Pegal Linu yang Beredar di Kabupaten Bantul dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Surya Med J Ilm Ilmu Keperawatan Dan Ilmu Kesehat Masy* 2019;14:80–5.
- [18] Darmawansyah A. Pemisahan Senyawa Terpenoid Ekstrak n-Heksan Daun Kaembu-Embu (*Blumea balsamifera*) Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi. *Sains J Kim Dan Pendidik Kim* 2023;12:24–30.
- [19] Koirewoa YA, Fatimawali F, Wiyono W. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica* L.). *Pharmacon* 2012;1.
- [20] Purwanti R, Christiandari H. Analisa Kualitatif Zat Warna Rhodamin B pada Lipstik dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *J Permata Indones* 2019.
- [21] Rosydiati & Saleh EK. Karakterisasi Puncak Kromatogram dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Terhadap Perbedaan Fase Gerak, Laju Alir, dan Penambahan Asam dalam Analisis Indole Acetic Acid (IAA) 2019.
- [22] Zainal TH, Wahyudin E, Rifai Y. Penetapan kurva standar senyawa Tetra Hidroxy Ethyl Disulphate (THES) dalam plasma marmut (*Cavia porcellus*) menggunakan KCKT. *Maj Farm Dan Farmakol* 2018;22:90–2.
- [23] Purnama RC, Primadhamanti A, Yanti F. Uji Adsorben Limbah Kulit Singkong Terhadap Ion Logam Pb (Timbal) Dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom. *J Anal Farm* 2020;5:127–34.
- [24] Batubara I, Wahyuni WT. Analisis Bahan Hayati Prinsip Analisis Kimia Pada Bahan Hayati. PT Penerbit IPB Press; 2022.