

ANALISIS SIMULTAN KADAR ZAT PEWARNA YELLOW FCF RED ALLURA METHANIL YELLOW DAN TARTRAZINE DALAM MAKANAN DAN MINUMAN MENGGUNAKAN METODE HPLC

K.N. Yasmin*, Iswandi, dan D. Marlina

*Program Studi Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta,
Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia*
*e-mail: nisayasmin99@gmail.com

Article Received on: 15th October 2025

Revised on: 30th June 2026

Accepted on: 31st July 2026

ABSTRAK

Pewarna makanan adalah bahan tambahan pangan yang ditambahkan untuk meningkatkan penampilan dan memberikan warna pada makanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode penetapan kadar zat pewarna Yellow FCF, Red Allura, Methanil Yellow, dan Tartrazin secara simultan. Metode yang digunakan adalah *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan fase terbalik menggunakan kolom C18 dan detektor UV. Fase gerak yang digunakan adalah buffer fosfat dan asetonitril (1:1) dengan pH 8,8. Parameter optimasi meliputi panjang gelombang, pH fase gerak, komposisi fase gerak, dan laju alir. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penetapan kadar pewarna secara simultan dengan HPLC memperoleh hasil optimum pada panjang gelombang 468 nm, laju alir 0,71 mL/menit, dan validasi linearitas yang diperoleh adalah 0,9997-0,9998, akurasi 92%-130,5%, serta RSD 0,84-1,55%. Penelitian ini juga menemukan beberapa senyawa yang melebihi batas maksimum yang telah ditentukan, yaitu pewarna tartrazin pada sampel minuman bubuk, manisan mangga, dan tahu kuning. Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa metode HPLC yang dikembangkan efektif untuk analisis simultan kadar pewarna makanan.

Kata kunci: HPLC, Yellow FCF, Red Allura, Methanil Yellow, Tartrazin.

ABSTRACT

Food colorants are additives used to enhance the appearance and provide color to food. This study aims to develop a method for the simultaneous determination of the concentrations of Yellow FCF, Red Allura, Methanil Yellow, and Tartrazine. The method employed is High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with a reverse phase using a C18 column and UV detector. The mobile phase consists of phosphate buffer and acetonitrile (1:1) with a pH of 8.8. Optimization parameters include wavelength, mobile phase pH, mobile phase composition, and flow rate. The results indicated that the simultaneous determination of colorants using HPLC achieved optimal results at a wavelength of 468 nm, a flow rate of 0.71 mL/min, and linearity validation results ranging from 0.9997 to 0.9998, with accuracy between 92% and 130.5%, and RSD values of 0.84% to 1.55%. This study also found several compounds exceeding the maximum allowable limits, particularly Tartrazine in powdered beverage samples, mango candy, and yellow tofu. This research concludes that the developed HPLC method is effective for the simultaneous analysis of food colorants.

Keywords: HPLC, Yellow FCF, Red Allura, Methanil Yellow, Tartrazine.

PENDAHULUAN

Pewarna makanan merupakan bahan tambahan pangan yang ditambahkan ke dalam produk makanan untuk meningkatkan daya tarik visual dan memberikan warna yang menggugah selera. Dalam konteks ini, pewarna makanan menjadi perhatian utama ketika suatu produk menampilkan warna yang menarik, yang diharapkan dapat memengaruhi keputusan konsumen. Berbagai jenis zat pewarna yang umum digunakan dalam industri makanan dan minuman mencakup tartrazine, kuning kuinolin,

Yellow FCF, karmoisin, ponceau, eritrosin, merah allura, indigotin, biru berlian FCF, hijau FCF, dan coklat HT. Zat pewarna ini dapat dikategorikan sebagai pewarna alami, pewarna sintesis, pigmen anorganik, kombinasi senyawa organik dan logam, serta zat sintesis lainnya (Farid *et al.*, 2019).

Pewarna seperti Yellow FCF, allura, methanil yellow, dan tartrazine memiliki peranan penting dalam memberikan warna dan penampilan visual pada makanan dan minuman. Yellow FCF, sebagai contoh, adalah pewarna kuning yang sering digunakan dalam produk minuman berkarbonasi dan

makanan pencuci mulut, sedangkan allura merupakan pewarna merah yang umumnya terdapat dalam produk seperti permen dan minuman. Methanil yellow, yang juga dikenal sebagai methyl tartrazine, adalah pewarna kuning atau oranye yang sering ditemukan dalam minuman ringan dan makanan ringan (Nurfadhila *et al.*, 2023). Penggunaan pewarna ini diatur oleh regulasi ketat yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) untuk menjamin keamanan konsumen.

Di Indonesia, penggunaan zat pewarna dalam makanan dan minuman diatur melalui berbagai peraturan, termasuk Peraturan BPOM No. 11 Tahun 2019 tentang Pengawasan Bahan Tambahan Makanan. Dalam peraturan tersebut, terdapat batas maksimum penggunaan pewarna, di mana pewarna Yellow FCF dibatasi hingga 15 mg/kg, sedangkan pewarna allura red dalam produk berbasis susu, yogurt, dan puding dibatasi hingga 70 mg/kg. Namun, pewarna seperti methanil yellow dan tartrazine sering digunakan secara ilegal dalam industri mie, kerupuk, dan jajanan yang menonjolkan warna kuning mencolok. Sebagian besar pewarna azo memiliki nilai LD50 dalam kisaran 250-2000 mg/kg berat badan, yang menunjukkan potensi risiko kesehatan yang signifikan jika dikonsumsi dalam jumlah besar.

Regulasi lain yang relevan adalah Peraturan BPOM No. 29 Tahun 2021 tentang Persyaratan Bahan Tambahan Campuran, yang mengharuskan identifikasi jenis BTP pewarna melalui hasil uji kualitatif. Hal ini penting untuk memastikan bahwa zat pewarna yang digunakan dalam produk pangan memenuhi standar keamanan dan kualitas yang ditetapkan.

Metode analisis High Performance Liquid Chromatography (HPLC) telah terbukti efektif dalam memisahkan, mengidentifikasi, dan mengukur komponen-komponen dalam sampel kompleks. Pemilihan metode HPLC didasarkan pada sejumlah keunggulan, termasuk sensitivitas tinggi, kemampuan kolom yang dapat digunakan kembali, serta kemampuannya untuk menganalisis zat termolabil dan volatilitas rendah (Permatahati dan Yanti, 2021). Karakteristik penting dari HPLC mencakup efisiensi, kecepatan, peningkatan throughput, dan pengurangan biaya analisis. Tujuan penggunaan HPLC adalah untuk memisahkan molekul dalam waktu yang paling singkat (Hakan *et al.*, 2018).

Namun, meskipun HPLC menawarkan banyak keuntungan, terdapat tantangan yang perlu diatasi dalam penggunaannya. Penelitian sebelumnya oleh Hakan *et al.* (2018) telah mengembangkan metode yang lebih cepat dan ramah lingkungan untuk

penentuan empat pewarna makanan secara bersamaan, menggunakan elusi gradien yang dioptimalkan dalam waktu 15,1 menit. Meskipun demikian, penelitian tersebut tidak memberikan solusi yang komprehensif terhadap masalah efisiensi analisis dan keselamatan penggunaan pewarna ilegal yang masih menjadi isu penting di pasar. Gap yang ada mencakup kebutuhan untuk mengembangkan metode analisis yang lebih efisien dan aman, yang dapat diterapkan secara luas untuk memantau kadar pewarna dalam produk pangan.

Penelitian Nurfadhila *et al.*, 2023, menunjukkan bahwa penggunaan zat pewarna tartrazine pada jajanan pasar melebihi batas maksimum yang diserap oleh tubuh, yang dapat menyebabkan keracunan serta masalah kesehatan lainnya. Temuan ini didukung oleh penelitian (Agbokponto *et al.*, 2022), yang menemukan konsentrasi tartrazine dan sunset yellow melebihi batas aman dalam sampel minuman ringan. Selain itu, penelitian Zuraidda *et al.*, 2017, menyoroti bahwa metanil yellow banyak ditemukan pada jajanan, dengan akses yang mudah menjadi salah satu faktor pendukung penggunaannya.

Berdasarkan penjabaran di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode HPLC yang lebih efisien untuk menetapkan kadar zat pewarna pada makanan dan minuman yang dijual di supermarket atau grosir, khususnya untuk pewarna Yellow FCF, allura, metanil yellow, dan tartrazine. Penelitian ini diharapkan dapat mengisi gap yang ada dalam literatur dengan mengembangkan metode HPLC yang lebih aman dan efisien, serta memberikan informasi yang lebih mendalam mengenai kadar pewarna dalam produk pangan yang beredar di pasaran. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya berkontribusi pada pengembangan metode analisis yang lebih baik, tetapi juga pada peningkatan keselamatan konsumen melalui pengawasan yang lebih ketat terhadap penggunaan pewarna makanan.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini mencakup standar zat pewarna Yellow FCF, Allura, Methanil Yellow, dan Tartrazine. Semua bahan standar diambil dari supplier terkemuka dengan grade kemurnian HPLC untuk memastikan akurasi analisis. Water for injection (aqua pro injection) digunakan sebagai pelarut untuk larutan standar dan preparasi sampel. Asetonitril yang digunakan adalah dari Merck, yang juga memiliki grade HPLC. Ammonium fosfat disiapkan dengan pH yang disesuaikan (5,6; 7,8; dan 8,8) untuk

digunakan sebagai buffer dalam proses kromatografi. Sampel makanan dan minuman yang diuji diambil secara acak dari supermarket yang ada di kota Solo, dengan tujuan untuk memastikan representativitas produk yang umum dijumpai di pasaran. Jenis sampel makanan dan minuman yang digunakan dalam penelitian ini akan dicatat secara spesifik untuk mendukung reproduibilitas penelitian.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi berbagai alat laboratorium yang esensial untuk analisis HPLC. Timbangan analitik dari Boeco digunakan untuk menimbang bahan-bahan dengan presisi tinggi, dengan tipe dan spesifikasi yang akan dicantumkan. Beaker glass (Pyrex Iwaki) dan labu ukur (Oberoi) dari berbagai ukuran (10, 25, 50, 100, 500, dan 1000 mL) digunakan untuk menyiapkan larutan. Kolom HPLC yang digunakan adalah Eclipse Plus C-18 5 μ m (150 x 4,6 mm), yang dipilih karena kemampuannya dalam memisahkan senyawa dengan baik; informasi manufaktur akan dicantumkan untuk memastikan kejelasan. HPLC Knauer dengan detektor UV (autosampler) digunakan untuk analisis kromatografi; informasi mengenai merk, tipe, dan negara asal juga akan disertakan. Selain itu, alat sonikator, pH meter, dan vortex juga digunakan untuk mempersiapkan larutan dan memastikan homogenitas sampel, dan spesifikasi alat-alat ini akan ditambahkan untuk kejelasan.

Cara Kerja

Pembuatan Larutan Buffer Fosfat pH 5,6; 7,8; dan 8,8

Sebanyak 2,64 g amonium hidrogen ortofosfat ditimbang dan dimasukkan ke dalam beaker glass berukuran 250 mL. Setelah dilarutkan dengan **water for injection**, larutan tersebut dipindahkan ke labu ukur 1 L. pH dari buffer fosfat diukur, dan jika nilai pH belum memenuhi kriteria yang diinginkan, maka ditambahkan asam atau basa untuk menyesuaikan pH. Larutan kemudian disaring menggunakan filter 0,45 μ m dan disonikasi selama 30 menit untuk memastikan homogenitas.

Preparasi Standar

Larutan baku induk untuk masing-masing pewarna, yaitu Yellow FCF, Allura, Methanil Yellow, dan Tartrazine, ditimbang sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 100 mL. Setelah itu, larutan diencerkan hingga tanda dengan menggunakan water for injection.

Pembuatan Larutan Baku Campuran

Larutan pewarna masing-masing sebanyak 0,3 mL Yellow FCF, 0,3 mL Allura, 0,5 mL Methanil

Yellow, dan 0,3 mL Tartrazine dicampurkan ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL. Campuran tersebut kemudian diencerkan dengan menggunakan campuran buffer ammonium fosfat dan asetonitril dalam perbandingan 5:5 hingga mencapai batas tanda.

Pembuatan Kurva Kalibrasi

Konsentrasi standar kalibrasi untuk Yellow FCF, Tartrazine, dan Allura adalah 0,3; 0,5; 0,75; 1; 1,5; dan 1,25 ppm. Sedangkan untuk Methanil Yellow, konsentrasi standar kalibrasi yang digunakan adalah 0,5; 1; 1,25; 2; 3; dan 4 ppm. Larutan-larutan ini dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 10 mL.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Tahap ini dilakukan untuk menentukan panjang gelombang yang akan digunakan pada detektor HPLC. Pengukuran absorbansi dilakukan pada larutan baku setiap senyawa dengan spektrofotometer UV-Vis dalam rentang 300-700 nm.

Optimasi Metode HPLC

Optimasi Panjang Gelombang

Langkah ini diterapkan untuk mengidentifikasi panjang gelombang optimum. Larutan baku campuran disaring dan disonikasi selama 15 menit. Kemudian, sebanyak 10 μ L larutan baku campuran diinjeksi ke dalam kolom HPLC dengan laju alir 0,71 mL/menit dan suhu kolom 30°C. Fase gerak yang digunakan adalah campuran ammonium fosfat dan asetonitril (5:5) dengan pH sekitar 8,8. Panjang gelombang yang diuji berkisar antara 418-508 nm, dan kondisi terbaik dipilih pada panjang gelombang 508 nm.

Optimasi pH Fase Gerak

Langkah ini dilakukan untuk memperoleh nilai pH larutan ammonium fosfat yang memberikan pemisahan senyawa dengan baik. Setelah disaring dan disonikasi selama 15 menit, sebanyak 10 μ L larutan baku campuran diinjeksi ke dalam kolom HPLC dengan laju alir 0,71 mL/menit dan suhu kolom 30°C. pH fase gerak yang diuji adalah 5,6; 7,8; dan 8,8. Kondisi terbaik yang memberikan pemisahan optimal adalah pada pH 8,8.

Optimasi Perbandingan Fase Gerak

Pada langkah ini, peneliti mencari komposisi fase gerak yang optimal untuk pemisahan senyawa. Larutan baku campuran disaring dan disonikasi selama 15 menit, kemudian sebanyak 10 μ L larutan baku campuran diinjeksi ke dalam kolom dengan kondisi optimasi laju alir 0,71 mL/menit dan suhu kolom 30°C. Komposisi fase gerak yang diuji adalah ammonium fosfat dan asetonitril dengan perbandingan (5:5, 8:2, 7:3).

Optimasi Laju Alir

Tahap ini menentukan laju alir optimum yang memberikan pemisahan senyawa yang baik. Setelah disaring dan disonikasi selama 15 menit, sebanyak 10 µL larutan baku campuran diinjeksi ke dalam kolom dengan panjang gelombang 508 nm, perbandingan fase gerak 5:5, dan pH fase gerak 8,8 dengan suhu kolom 30°C. Laju alir yang diuji meliputi 0,71; 1,0; dan 1,2 mL/menit. Kondisi yang memberikan performa terbaik dipilih pada laju alir 0,71 mL/menit.

Validasi Metode Analisis

Linieritas

Dari larutan induk masing-masing pewarna, dibuat berbagai konsentrasi. Setiap larutan disaring dengan saringan 0,45 µm, kemudian dimasukkan ke dalam vial HPLC dan diinjeksi sebanyak 10 µL dengan kondisi yang terpilih. Kromatogram yang diperoleh dihitung koefisien relasi (r) melalui persamaan $y = a + bx$ antara konsentrasi baku dengan area. Koefisien korelasi (r) diterima apabila diperoleh nilai $r > 0,999$.

Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Beberapa larutan konsentrasi dibuat dan disaring dengan membran filter 0,45 µm. Larutan-larutan ini kemudian dimasukkan ke dalam vial HPLC dan diinjeksi sebanyak 10 µL pada HPLC dengan kondisi terpilih. Kromatogram yang diperoleh digunakan untuk menghitung persamaan regresi antara kadar baku dengan area analit.

Akurasi

Uji akurasi dilakukan dengan metode penambahan baku (standard addition method) pada tingkat 80%, 100%, dan 120%. Sampel ditimbang, ditambahkan water for injection, dan dihomogenkan, lalu disentrifugasi pada 2500 rpm selama 5 menit. Setelah itu, sampel divortex selama 1 menit, disaring dengan penyaring berpori 0,45 µm, dan dimasukkan ke dalam vial HPLC untuk diinjeksi sebanyak 10 µL. Respon area dari kromatogram masing-masing sampel dimasukkan ke dalam persamaan kurva kalibrasi untuk mendapatkan kadar. Akurasi dinyatakan sebagai persentase pemulihan (% recovery) dari hasil sampel uji terhadap kadar analit sebenarnya yang ditambahkan.

Presisi

Presisi diuji dengan menyuntikkan salah satu konsentrasi larutan baku Yellow FCF, Allura, Methanil Yellow, dan Tartrazine sebanyak 6 kali. Kromatogram yang dihasilkan dihitung koefisien variasi (KV) dari area baku, di mana koefisien variasi tidak boleh lebih dari 2%. Presisi metode dilakukan dengan menghitung koefisien variasi (KV) dari kromatogram yang dihasilkan pada tahap akurasi.

Spesifisitas

Dari larutan induk masing-masing pewarna, dibuat berbagai macam konsentrasi. Setiap larutan disaring dengan saringan 0,45 µm, kemudian dimasukkan ke dalam vial HPLC dan diinjeksi sebanyak 10 µL pada alat HPLC dengan kondisi terpilih. Kromatogram yang terpilih dihitung untuk hasil resolusi (R_s), waktu retensi (t_R), faktor selektivitas, dan jumlah N .

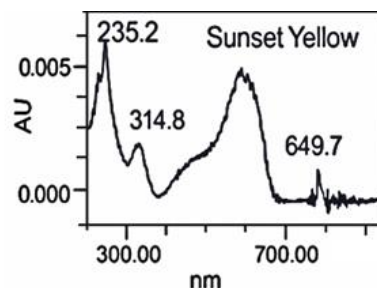
Penetapan Kadar Senyawa Yellow FCF, Allura, Methanil Yellow, dan Tartrazine pada Sampel

Sampel padatan (makanan ringan dan sejenisnya) yang telah dihomogenkan dengan blender ditimbang sekitar ± 3 gram, kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge berukuran 15 mL. Setelah itu, ditambahkan 10 mL larutan pereaksi ke dalam tabung dan homogenkan menggunakan alat vortex selama 1 menit. Tabung disonikasi selama 5 menit, dikocok manual selama 1 menit, dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 2500 rpm. Ambil lapisan jernih di bagian atas setelah disentrifugasi, pipet sebanyak 1 mL, dan masukkan ke labu ukur berukuran 10 mL. Larutan disaring menggunakan penyaring syringe PTFE 0,45 µm. Larutan yang sudah disaring kemudian ditempatkan ke vial HPLC, dan sebanyak 10 µL dari larutan tersebut diinjeksi ke alat HPLC dengan metode yang telah dioptimalkan sebelumnya. Prosedur ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali untuk menghasilkan keakuratan hasil. Persamaan regresi untuk setiap senyawa digunakan untuk menghitung kadar senyawa dalam sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

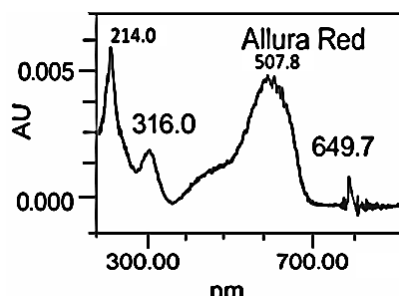
Setiap senyawa pewarna memiliki panjang gelombang maksimum yang berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum untuk pewarna Methanil adalah 418 nm, Tartrazine 428 nm, Yellow FCF 488 nm, dan Red Allura 508 nm.



Gambar 1. Panjang Gelombang Yellow FCF

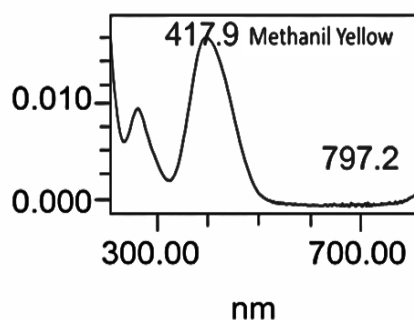
Panjang gelombang maksimum untuk Yellow FCF berada pada 488 nm, yang sedikit berbeda dari penelitian sebelumnya yang melaporkan panjang

gelombang antara 232 nm, 448 nm, 358 nm, dan 482 nm (Alp *et al.*, 2018; (Maria de Souza Santos Cheibub *et al.*, 2020) Perbedaan ini dapat disebabkan oleh variasi dalam kondisi analisis atau komposisi sampel yang diuji.



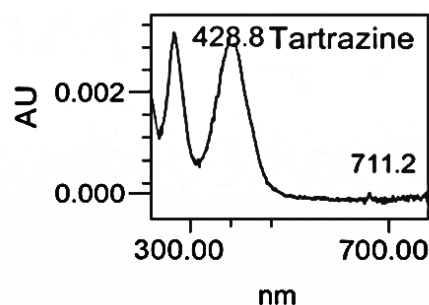
Gambar 2. Panjang Gelombang Red Allura

Panjang gelombang maksimum untuk Red Allura pada penelitian ini adalah 508 nm, yang juga menunjukkan perbedaan dengan hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan panjang gelombang maksimum antara 254 nm, 482 nm, dan 501 nm (Alp *et al.*, 2018; Homady and Fayidh, 2022). Hasil ini menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini dapat menghasilkan data yang valid meskipun terdapat perbedaan dengan penelitian sebelumnya.



Gambar 3. Panjang Gelombang Methanil Yellow

Panjang gelombang maksimum untuk Methanil Yellow yang diperoleh dalam penelitian ini adalah 418 nm. Penelitian sebelumnya menemukan panjang gelombang maksimum untuk Methanil Yellow berkisar antara 437 nm, 280 nm, dan 430 nm (Putri dan Sanjaya, 2022). Hasil ini menunjukkan konsistensi dengan penelitian sebelumnya, meskipun terdapat variasi kecil.



Gambar 4. Panjang Gelombang Tartrazine

Panjang gelombang maksimum untuk Tartrazine adalah 428 nm. Penelitian sebelumnya melaporkan panjang gelombang untuk Tartrazine berada pada 430 nm, 428 nm, dan 427 nm (Lansamigi *et al.*, 2021). Temuan ini menunjukkan bahwa hasil penelitian ini konsisten dengan penelitian sebelumnya dan mendukung validitas metode yang digunakan.

Tahap Optimasi

Optimasi Panjang Gelombang

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 239 nm adalah panjang gelombang optimal untuk Yellow FCF, Red Allura, Methanil, dan Tartrazine diperoleh pada waktu retensi yang cepat, diikuti oleh 239 nm adalah panjang gelombang yang memberikan hasil absorbansi maksimal. Data 239 nm anjan tailing memenuhi persyaratan yang diizinkan (< 1) pada 239 nm adalah panjang gelombang 508 nm.

Tabel 1. Optimasi Panjang Gelombang

Panjang gelombang	Yellow FCF	Red allura	Methanil yellow	Tartrazin
418	tt	tt	.15.745	7.610
428	8.432	tt	14.670	7.540
438	9.079	tt	14.540	7.351
448	9.416	tt	14.440	7.349
458	9.920	tt	14.328	7.320
468	10.105	tt	14.211	7.311
478	10.354	tt	13.928	7.114
488	10.519	tt	13.765	7.117

Tabel 2. Optimasi pH Fase Gerak

Senyawa	pH	Rt	K'	N	Rs	a
Tartrazin	5,6	7,678	6,678	1,633	Tt	Tt
Yellow FCF		10,561	9,561	3,089	6,125	1,432
Red allura		11,675	10,675	3,775	3,006	1,116
Methanil		16,881	15,881	7,893	5,016	1,487
Tartrazin	7,8	7,643	6,643	1,618	Tt	Tt
Yellow FCF		10,345	10,345	2,964	1,979	1,557
Red allura		11,356	10,356	3,572	2,807	1,001
Methanil		16,561	15,561	7,597	5,995	1,502
Tartrazin	8,8	7,675	6,675	1,632	Tt	Tt
Yellow FCF		10,451	9,451	3,025	5,128	1,416
Red allura		11,146	10,146	3,441	5,051	1,074
Methanil		16,062	15,062	7,146	4,237	1,484

Tabel 3. Optimasi Perbandingan Fase Gerak

Senyawa	Perbandingan Fase Gerak	Rt	K'	N	Rs	a
Tartrazin	5:5	7,548	6,548	1,578	tt	tt
Yellow FCF		10,452	9,452	3,031	2,688	1,443
Red allura		11,263	10,263	3,513	2,474	1,086
Methanil		15,777	14,777	6,895	8,519	1,440
Tartrazin	8:2	7,549	6,549	1,578	tt	tt
Yellow FCF		10,463	9,463	3,032	6,506	1,445
Red allura		11,264	10,264	3,514	1,104	1,085
Methanil		15,978	14,978	6,895	6,872	1,459
Tartrazin	7:3	7,634	6,634	1,614	tt	tt
Yellow FCF		10,464	9,464	3,138	1,896	1,426
Red allura		11,615	10,615	3,453	2,221	1,122
Methanil		15,797	14,797	6,912	23,561	1,426

Tabel 4. Optimasi Laju Alir

Senyawa	Laju alir (mL/Menit)	Rt	K'	N	Rs	a
Tartrazin	0,71	7,789	6,789	1,680	tt	tt
Yellow FCF		10,432	9,432	3,014	15,908	1,389
Red allura		11,321	10,321	3,550	14,928	1,094
Methanil		14,840	13,840	6,100	21,405	1,341
Tartrazin	1,00	7,947	6,947	1,749	tt	tt
Yellow FCF		10,909	9,909	3,296	16,355	1,426
Red allura		11,475	10,475	3,647	15,392	1,057
Methanil		14,987	13,987	6,221	23,143	1,335
Tartrazin	1,20	7,987	6,987	1,767	Tt	Tt
Yellow FCF		10,981	9,981	3,340	17,620	1,248
Red allura		11,789	10,789	3,849	17,497	1,081
Methanil		14,732	13,732	6,011	25,838	1,273

Optimasi pH Fase Gerak

Variasi pada pH fase gerak, yaitu 5,6; 7,8; dan 8,8, menunjukkan bahwa pemisahan senyawa yang efektif terjadi pada pH 8,8, seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 2. Pada pH 7,8, resolusi untuk Yellow FCF hanya mencapai 1,979, yang tidak memenuhi syarat untuk pengembangan metode (<2). Meskipun semua senyawa terpisah dengan baik pada pH 5,6,

waktu retensi yang lama membuat pH ini kurang ideal. Oleh karena itu, pH 8,8 dipilih sebagai kondisi optimal untuk fase gerak buffer fosfat.

Optimasi Perbandingan Fase Gerak

Berdasarkan Tabel 3, waktu retensi dengan komposisi fase gerak 7:3 lebih lama dibandingkan dengan komposisi 5:5 dan 8:2 pada panjang

gelombang 508 nm dan pH 8,8. Ini menunjukkan bahwa perubahan komposisi fase gerak buffer fosfat dan asetonitril tidak mempengaruhi waktu retensi senyawa secara signifikan. Nilai resolusi dan selektivitas menunjukkan konsistensi yang baik di berbagai komposisi fase gerak, dengan sedikit variasi pada Methanil dan peningkatan kecil pada Red Allura di komposisi 5:5. Oleh karena itu, kondisi optimum untuk fase gerak adalah buffer fosfat dan asetonitril dalam perbandingan 5:5.

Optimasi Laju Alir

Hasil dari tabel di atas menunjukkan bahwa laju alir 0,71 mL/menit pada panjang gelombang 508 nm, pH 8,8, dan perbandingan fase gerak (5:5) memberikan performa yang lebih baik pada waktu retensi yang cepat dan jumlah plat teoritis untuk beberapa senyawa. Namun, laju alir 1,0 dan 1,2 mL/menit menunjukkan pemisahan senyawa yang baik, meskipun terdapat penurunan pada selektivitas pewarna Yellow FCF dan Red Allura.

Validasi Metode

Linieritas

Berdasarkan hasil analisis, persamaan regresi linier untuk uji linearitas Yellow FCF adalah $y = 36650x + 3310,2$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9998. Uji linearitas untuk Red Allura adalah $y = 39469x + 1028,4$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9983, Methanil $y = 111936x + 6198,3$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9997, dan Tartrazine $y = 36097x + 1590$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9997. Semua nilai koefisien korelasi ini menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memenuhi syarat linieritas yang baik (Harary, 2024).

LOD dan LOQ

Uji LOD dan LOQ dilakukan untuk mengetahui batas minimal suatu zat yang masih dapat terdeteksi namun tidak perlu terkuantifikasi. Pengujian LOD dan LOQ dilakukan dengan mengukur deret baku dari Yellow FCF, Red Allura, Methanil Yellow, dan Tartrazine. Hasilnya menunjukkan bahwa ada hubungan yang baik antara konsentrasi dan respon area puncak untuk masing-masing zat pewarna.

Akurasi

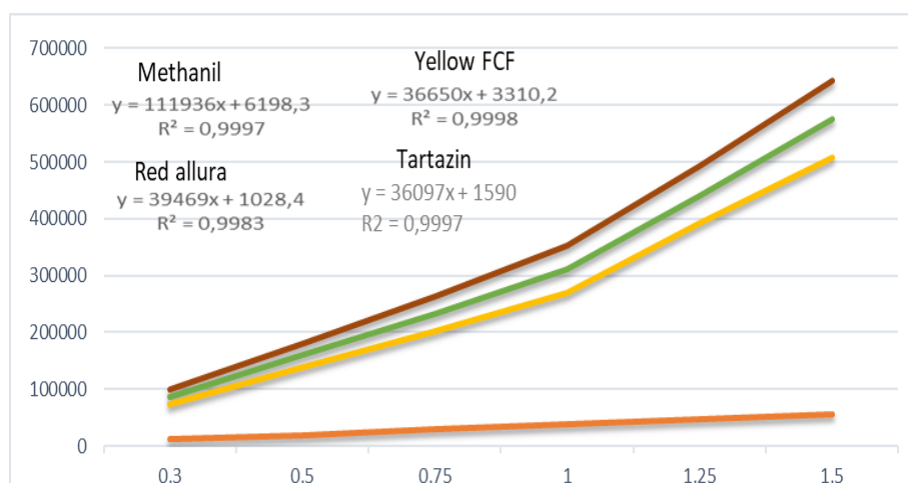
Uji akurasi dilakukan dengan metode penambahan baku pada tingkat 80%, 100%, dan 120%. Tabel 6 menunjukkan bahwa nilai rata-rata persentase pemulihan adalah antara 105% - 113%, yang masih memenuhi persyaratan untuk kategori konsentrasi yang lebih besar dari 10 ppm dengan rentang 64% - 150% (ICH, 2022). Oleh karena itu, metode pengujian yang dilakukan oleh peneliti memiliki nilai akurasi yang tinggi.

Presisi

Uji presisi dilakukan untuk mengetahui konsistensi hasil analisis. Hasil presisi yang diperoleh menunjukkan bahwa koefisien variasi (KV) untuk Yellow FCF adalah 1,55%, Red Allura 2,03%, Methanil Yellow 1,85%, dan Tartrazine 0,84%. Semua nilai KV masih memenuhi syarat yang diperbolehkan yaitu <2% (Rohman dan Gandjar, 2017).

Spesifisitas

Uji spesifisitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan metode dalam mengukur keempat pewarna secara akurat. Hasil pengujian menunjukkan bahwa metode yang digunakan dapat mengukur kadar Yellow FCF, Red Allura, Methanil Yellow, dan Tartrazin.



Gambar 5. Persamaan Regresi Linier

Tabel 5. Hasil LOD dan LOQ

Senyawa	LOD	LOQ	Kalibrasi	r
Yellow FCF	1,052	3,507	$y = 37847x + 2591,7$	0,9982
Red allura	1,115	3,716	$y = 40608x + 277,27$	0,9992
Methanil	1,424	4,747	$y = 111936x + 6198,3$	0,9997
Tartrazin	7,444	2,481	$y = 30750x + 5031$	0,9786

Tabel 6. Akurasi

No	Perlakuan Akurasi	Persenan perolehan kembali			
		Yellow FCF	Red allura	Methanil	Tartrazin
1	Akurasi 80 %	92,3 %	92,4 %	98%	90,1%
		90,2 %	91,7 %	87,5%	91,9 %
		94,6%	91,8%	88,5 %	91,6 %
2	Akurasi 100 %	108,2 %	105,9 %	104,9 %	103,1%
		101,3%	108,5%	105,6%	104,5%
		105,1%	108,8%	105,6%	101,7%
3	Akurasi 120 %	131,8%	153,2 %	127,5%	122,7%
		131,2%	138,3%	123,6%	120,6%
		135,2%	124,8%	131,8%	126,9%

Tabel 7. Presisi

Senyawa	Linieritas	SD	RSD (100%)
Yellow FCF	$y = 32,990.5690x + 2,989.5239$	1,56	1,55
Red allura	$y = 41,036.7716x + 936.9254$	2,03	2,03
Methanil	$y = 119,507.2203x + 6,480.3102$	1,84	1,85
Tartrazin	$y = 38,027.5333x + 1,752.3607$	0,84	0,84

Hasil pengujian kadar pewarna Yellow FCF, Red Allura, Methanil Yellow dan Tartrazin pada sampel Minuman dan Makanan

Gambar 6. merupakan data kromatogram yang menunjukkan bahwa senyawa Yellow FCF menunjukkan puncak serapan yang tinggi dalam sampel yang dianalisis, yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut hadir dalam konsentrasi yang signifikan dalam sampel. Puncak serapan yang tinggi ini juga menunjukkan bahwa senyawa Yellow FCF memiliki intensitas yang kuat pada panjang gelombang yang diukur, yang memungkinkan pengenalan dan analisis yang akurat. Adanya puncak yang jelas memudahkan identifikasi keberadaan dan jumlah senyawa ini.

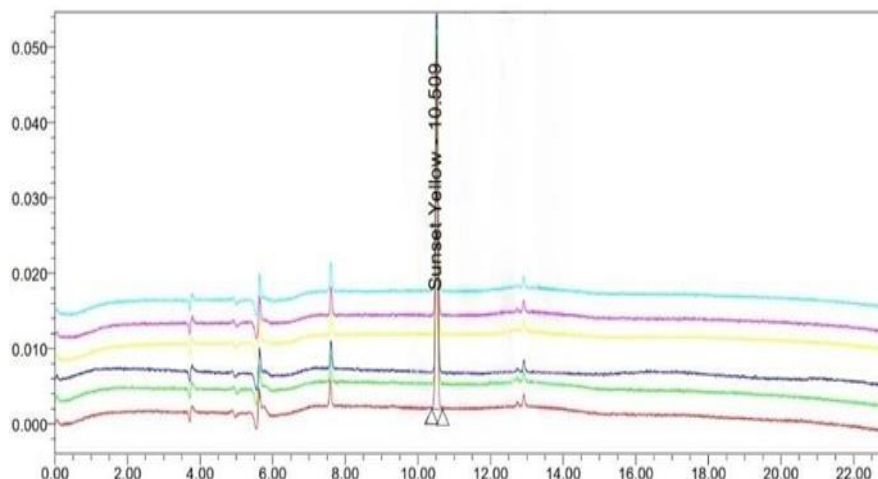
Gambar 7 kromatogram menunjukkan bahwa senyawa Red Allura memiliki puncak serapan yang tinggi dalam sampel yang dianalisis, yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut hadir dalam konsentrasi yang signifikan dalam sampel. Puncak serapan yang tinggi ini juga menunjukkan bahwa senyawa red allura memiliki intensitas yang kuat pada panjang gelombang yang diukur, yang memungkinkan pengenalan dan analisis yang akurat.

Gambar 8. Kromatogram pada puncak serapan yang teramati menunjukkan bahwa Tartrazin memiliki nilai jumlah yang tinggi dalam sampel

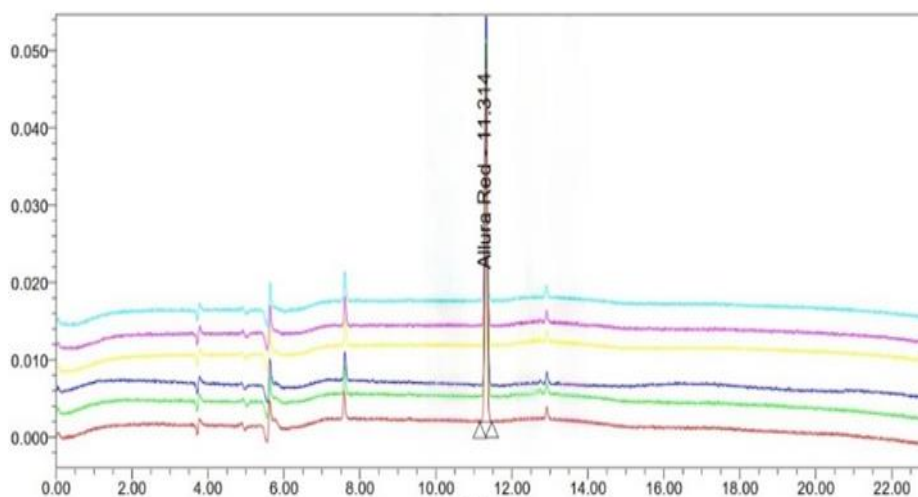
yang dianalisis, yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut hadir dalam konsentrasi yang signifikan dalam sampel. Selain itu, puncak serapan yang tinggi ini menunjukkan bahwa senyawa tartrazin memiliki intensitas yang kuat pada panjang gelombang yang diukur, yang memungkinkan pengenalan dan analisis yang akurat.

Gambar 9. puncak serapan yang teramati menunjukkan bahwa Methanil memiliki puncak serapan yang tinggi yang dapat dianalisis, menunjukkan bahwa senyawa tersebut hadir dalam konsentrasi yang signifikan. Selain itu, puncak serapan yang tinggi ini menunjukkan bahwa senyawa methanil memiliki intensitas yang kuat pada panjang gelombang yang diukur, yang memungkinkan pengenalan dan analisis yang akurat.

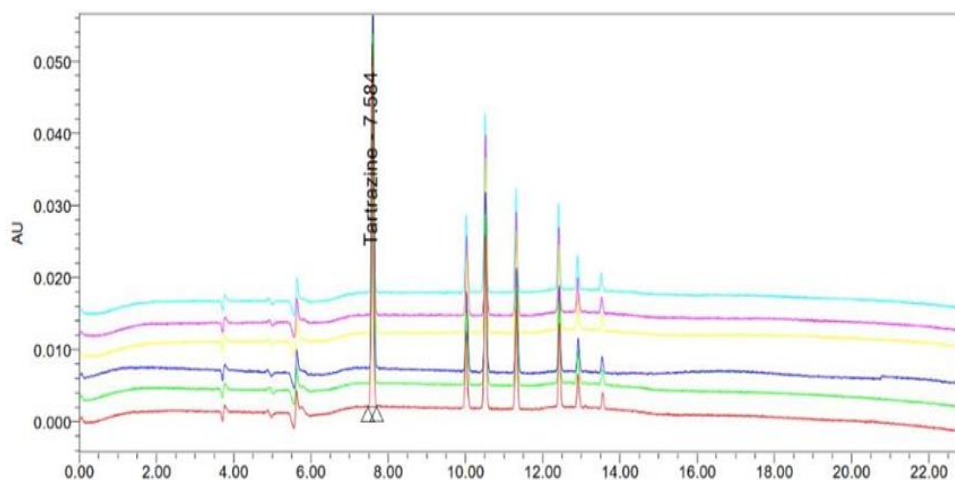
Gambar 10 Hasil kromatogram simultan adanya beberapa puncak absorbansi yang berbeda yaitu Tartrazine pada 7.351 menit, Sunset Yellow pada 10.507 menit, Allura Red pada 11.317 menit. Semua puncak ini menunjukkan konsentrasi zat pewarna dalam sampel yang telah diuji. Namun pada kromatogram simultan ini tidak menunjukan pewarna methanil yellow dikarenakan senyawa methanil yellow tersebut tidak terdeteksi dalam konsentrasi yang signifikan dalam sampel yang dianalisis.



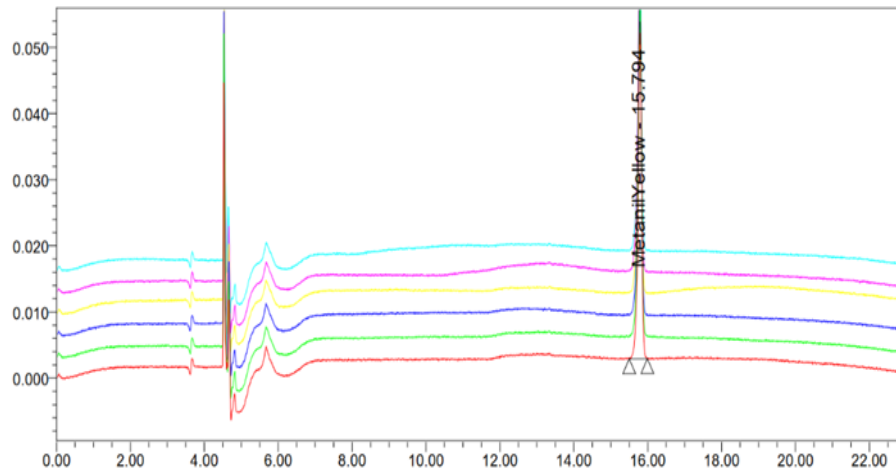
Gambar 6. Kromatogram uji kesesuaian sistem dengan pewarna Sunset Yellow pada pH fase gerak 8,8 dengan fase gerak buffer fosfat dan asetonitril (5:5) dengan laju alir 0,71 mL/menit



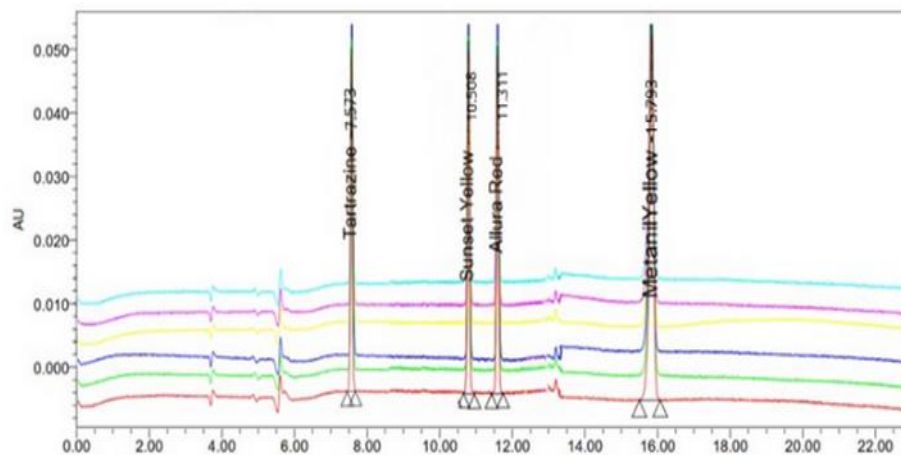
Gambar 7. Kromatogram uji kesesuaian sistem dengan pewarna Red Allura pada pH fase gerak 8,8 dengan fase gerak buffer fosfat dan asetonitril (5:5) dengan laju alir 0,71 mL/menit



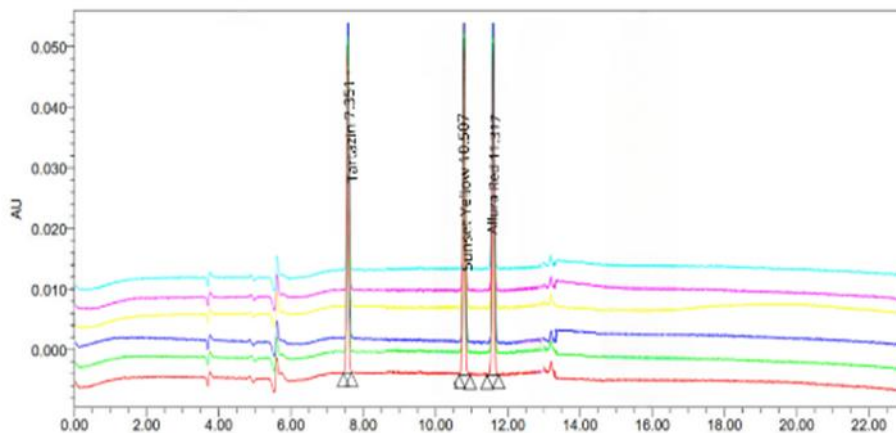
Gambar 8. Kromatogram uji kesesuaian sistem dengan pewarna Tartrazin pada pH fase gerak 8,8 dengan fase gerak buffer fosfat dan asetonitril (5:5) dengan laju alir 0,71 mL/menit



Gambar 9. Kromatogram uji kesesuaian sistem dengan pewarna Methanil Yellow pada pH fase gerak 8,8 dengan fase gerak buffer fosfat dan asetonitril (5:5) dengan laju alir 0,71 mL/menit



Gambar 10. Kromatogram uji kesesuaian sistem simultan pada pH fase gerak 8,8 dengan fase gerak buffer fosfat dan asetonitril (5:5) dengan laju alir 0,71 mL/menit



Gambar 11. Kromatogram uji kesesuaian sistem sampel makanan pada pH fase gerak 8,8 dengan fase gerak buffer fosfat dan asetonitril (5:5) dengan laju alir 0,71 mL/menit

Analisis kadar pewarna dalam sampel makanan dan minuman menunjukkan bahwa konsentrasi Tartrazine diperoleh 1080,34 mg/kg melebihi batas maksimum yang diizinkan, yaitu 50 mg/kg yang jelas menunjukkan bahwa produk tersebut tidak aman untuk dikonsumsi. Temuan ini menekankan perlunya perhatian dari pihak berwenang untuk mengawasi penggunaan zat pewarna dalam produk makanan.

SIMPULAN

Hasil penelitian mengidentifikasi kadar Tartrazine dalam sampel makanan ringan yang diperoleh dari Supermarket di Banjarsari menunjukkan bahwa beberapa sampel, terutama sampel makanan yang melebihi batas maksimum yang diizinkan (50 mg/kg). Temuan ini perlu ditindak lanjuti pentingnya pengawasan terhadap penggunaan zat pewarna dalam produk makanan untuk melindungi kesehatan konsumen. Metode HPLC yang digunakan terbukti efektif, namun diperlukan kebijakan regulasi yang lebih ketat mengenai penggunaan pewarna sintetis. Penelitian lanjutan disarankan untuk mengevaluasi dampak kesehatan dari konsumsi produk dengan kadar pewarna tinggi serta mengembangkan metode analisis yang lebih sensitif.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbokponto, J. E., Kpaibe, A. P. S., Yemoa, L. A., Assanhou, A. G., Ganfon, H., Gbassi, G. K., & Aké, M. 2022. Simultaneous Determination by HPLC-UV Vis of Tartrazine and Sunset Yellow in Soft Drinks Sold in Benin. *American Journal of Analytical Chemistry*, 13(08): 277–288.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2014*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Brazeau J. 2018. Identification and Quantitation of Water-Soluble Synthetic Colors in Foods by Liquid Chromatography/Ultraviolet-Visible Method Development and Validation. *ACS Omega*, 3(11): 6577-6586.
- Farid, M., Andi Bunga Wati., Andi Reza Alief Chairin Noor. 2019. Analisis kandungan rhodamin B pada kerupuk udang di Pasar Masomba Palu, *Jurnal Kolaboratif Sains*, 2(1): 597-604.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2017. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. h. 419, 425.
- Hakan, B., Yaşar, D., Yaylı, A., Ocak, N., Ocak., Miraç, U. 2018. Simultaneous determination of sunset yellow FCF, allura red AC, quinoline yellow WS, and tartrazine in food samples by RP-HPLC. *Journal of Chemistry*. 2018(4):2-6.
- Homady, A. D. and Fayidh, M. A. 2022. An Integrated Suggestion to Decolourize Allura Red AC Dye in the Wastewater of Pharmaceutical Industries Using a Local Bacterial Isolates. *International Journal of Drug Delivery Technology*, 12(3): 1196-1200.
- ICH. 2022. ICH Q14: Analytical procedure development. *ICH Harmonised Tripartite Guideline*. 2(2): 29-31.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Lansamigi, A. M., Achmad, V. N., W. Wirasti., Rahmasar, K. S. 2021. Analisis Kadar Zat Pewarna Tartrazin pada Minuman Ringan Berkarbonasi Khas Pekalongan dengan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Prosiding Seminar Nasional Kesehatan*, 1(1): 685-691.
- Maria, D. S. S. C., Eduardo, S. B. D. L., Barbara, J. A., Raquel, A. D., Annibal, D. P. N., 2020. Development and validation of a multipurpose and multicomponent method for the simultaneous determination of six synthetic dyes in different foodstuffs by HPLC-UV-DAD. *Food Chemistry*. 323(2020): 2-10.
- Nurfadhila, L., Utami, M. R., Martia, E., Nisa, D. Q., Nailuvar, R. 2023. Analisis Tartrazin pada Makanan dan Minuman. *Jurnal Health Sains*, 4(3): 109–116.
- Permatahati, D. M., & Yanti, L. P. D. 2021. Metode Identifikasi Rhodamine B pada Makanan dan Kosmetik. *Bima Nursing Journal*. 1(2): 62-69.
- Putri, M. F. and Kasih, C. A. 2020. Jajanan Sehat Dan Kaya Kalsium Untuk Keluarga: Substitusi Tepung Bandeng Presto Sebagai Bahan Kastangel. *JKKP (Jurnal Kesejahteraan Keluarga dan Pendidikan)*, 1(7): 98-105.
- Putri, R. and Sanjaya, H. 2022. Degradasi Zat Warna Methanil Yellow Menggunakan Metoda Fotosonolisis dengan Bantuan Katalis ZnO. *Jurnal Periodic Jurusan Kimia UNP*, 1(11): 98-100.
- Rahmah, Z. 2019. Analisis Rhodamin B Pada Saus Yang Beredar Di Pasaran Lhoksukon Aceh Utara Secara Kualitatif Dan Kuantitatif. *Skripsi*. Fakultas farmasi dan kesehatan. Institut kesehatan Helvetia, Medan, h.: 29.

- Suprianto. 2023. Pengembangan Metode Penetapan Kadar Campuran Pemanis, Pengawet dan Pewarna secara Simultan dalam Sirup Esen dengan Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Tesis*. Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, h.: 42.
- Zaharieva,. Dimitar, T., and Dancho, D. 2020. Development and Validation of HPLC/DAD Method for Simultaneously Determination of Six Prohibited Substances in Model Matrices. *Acta Chromatographica*, 4(32): 278-280.
- Zuraida, R., Saputra, O., Sahli, Z., dan Aprilia, A. 2017. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Pedagang Jajanan Anak Sekolah Dasar terhadap Penggunaan Pewarna Metanil Yellow di Kecamatan Sukarame Bandar Lampung Tahun 2015. *Jurnal Agromedicine*, 1(4): 2-5.