

PEMBUATAN STRIP TEST METHANYL YELLOW BERBASIS MEMBRAN NATA DE COCO YANG TERIMOBILISASI ANTOSIANIN HASIL EKSTRAKSI BUNGA ROSELLA (*HIBISCUS SABDARIFFA L.*)

PREPARATION OF METHANYL YELLOW TEST STRIP BASED ON NATA DE COCO MEMBRANE IMMOBILIZED ANTHOCYANIN EXTRACTED FROM ROSELLA FLOWER (*HIBISCUS SABDARIFFA L.*)

¹Yunda Lestari, ¹Hanandayu Widwiastuti*

¹Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Submitted: 03-07-2023

Accepted: 26-05-2025

Publish Online: 21-06-2025

Kata Kunci:

strip test, methanyl yellow, membran nata de coco, antosianin

Keywords:

test strip, methanyl yellow, nata de coco membrane, anthocyanin

Abstrak

Methanyl yellow merupakan zat warna sintetis yang digunakan pada industri tekstil dan dilarang penggunaannya pada produk pangan. Penyalahgunaannya masih ditemukan pada kerupuk, mie, tahu, dan minuman. Uji identifikasi methanyl yellow menggunakan uji reaksi warna, kromatografi lapis tipis, kromatografi kertas, TLC scanner, dan spektrofotometri UV-Vis. Maka pada penelitian ini dikembangkan metode uji strip test methanyl yellow dengan membran nata de coco terimobilisasi antosianin ekstrak bunga rosella. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui selektivitas dan sensitivitas strip test yang dihasilkan. Strip test terdiri dari membran nata de coco dan reagen ekstrak bunga rosella. Strip test yang dibuat memiliki waktu kontak optimum 10 detik. Pada analisis menggunakan FTIR didapatkan gugus fungsi O-H, C-H alkana, C=O, C=C alkena, C-O, dan C-H alkena pada strip test yang mengindikasikan senyawa antosianin. Pada strip test yang direaksikan dengan methanyl yellow gugus fungsi yang teridentifikasi memiliki serapan lebih lemah dibandingkan strip test yang belum direaksikan. Uji karakterisasi meliputi uji batas deteksi dengan kemampuan deteksi mulai konsentrasi 6 ppm dan hasil uji lifetime, hingga hari ke-21 strip test dapat digunakan, penyimpanan menggunakan botol gelap lebih baik dari botol bening. Sehingga strip test yang dihasilkan memberikan data yang baik dan dapat digunakan untuk pengukuran secara cepat.

Abstract

Methanyl yellow is a synthetic dye used in the textile industry and its use is prohibited in food products. Its abuse is still found in crackers, noodles, tofu, and beverages. Methanyl yellow identification test used color reaction test, thin layer chromatography, paper chromatography, TLC scanner, and UV-Vis spectrophotometry. So, in this study, the methanyl yellow test strip test method was developed using anthocyanin immobilized nata de coco membrane with rosella flower extract. The purpose of this study was to determine the selectivity and sensitivity of the resulting test strips. The test strip consisted of nata de coco membrane and rosella flower extract reagent. The test strip made has an optimum contact time of 10 seconds. In the analysis using FTIR, the functional groups O-H, C-H alkanes, C=O, C=C alkenes, C-O, and C-H alkenes on the test strip indicated anthocyanin compounds. In the test strip which was reacted with methanyl yellow the functional group identified had a weaker absorption than the test strip which had not been reacted. The characterization test includes a detection limit test with detection capability starting at a concentration of 6 ppm and lifetime test results, up to the 21st day the strip test can be used, storage using dark bottles is better than clear bottles. So that the resulting test strips provide good data and can be used for quick measurements.

PENDAHULUAN

Methanyl yellow merupakan pewarna buatan yang digunakan untuk memberi warna kuning, pada umumnya digunakan dalam industri tekstil, kertas, tinta, cat, dan plastik. Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, *Methanyl yellow* merupakan pewarna sintesis yang tidak boleh ditambahkan ke dalam makanan (Badan Pengawasan Obat & Makanan Republik Indonesia, 2015).

Methanyl yellow banyak disalahgunakan sebagai pewarna makanan seperti olahan kerupuk, mie, tahu, dan jajanan berwarna kuning lainnya. Seperti penelitian yang dilakukan Sahani dan Juliani pada tahun 2017, sebanyak 5 sampel tepung panir dari pasar tradisional Kota Makassar mengandung *methanyl yellow*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Indriani dan Suwita tahun 2018, ditemukan tujuh sampel yang diuji pada hari pertama positif mengandung *methanyl yellow* dan pada hari uji kedua ditemukan enam sampel positif mengandung pewarna *methanyl yellow*. Penelitian yang dilakukan oleh Simanjuntak tahun 2020 ditemukan sampel stik balado dari beberapa pedagang di Mojosongo, Surakarta positif mengandung *methanyl yellow*.

Identifikasi *methanyl yellow* dalam suatu produk umumnya dilakukan dengan uji reaksi warna menggunakan larutan asam kuat yakni HCl dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dan menggunakan reagen khusus pada test kit. Pada SNI Nomor 01-2895-1992 tentang Cara Uji Pewarna Tambahan Makanan, uji kualitatif pada pewarna tambahan makanan dapat dilakukan menggunakan metode kromatografi kertas dengan benang wol menggunakan prinsip penyerapan zat warna sampel oleh benang wol dalam kondisi asam melalui pemanasan, lalu dilakukan benang wol yang telah berwarna lalu dilarutkan (BSN, 1992).

Untuk itu diperlukan pengembangan metode untuk mengidentifikasi adanya pewarna *methanyl yellow* secara cepat dan sederhana tanpa perlu dilakukan di laboratorium dan tidak memerlukan alat laboratorium. Untuk itu dalam penelitian ini dikembangkan metode strip test untuk mengidentifikasi *methanyl yellow*. Strip test atau alat uji carik adalah contoh pengembangan dari test kit yang menggunakan media kertas atau media berpori yang diimobilisasi pereaksi tertentu. Tujuan alat uji ini untuk meningkatkan sensitifitas pengujian dan mempermudah aplikasi deteksi dengan cepat dan praktis (Sendra, *et al.*ll., 2019).

Strip test tersusun dari membran sebagai media dasar dan reagen yang diimobilisasi. Membran merupakan media reaksi antara reagen dengan sampel yang diuji. Bahan membran dalam penelitian ini menggunakan *nata de coco*, yang termasuk dalam membran selulosa bakterial karena dapat mengurangi penggunaan bahan kimia. Selulosa mikrobial memiliki tingkat kemurnian tinggi, bebas lignin serta derajat kristalinitas dan polimer yang tinggi (Lindu, *et al.*l., 2010). *Nata de coco* banyak dimanfaatkan menjadi membran ultrafiltrasi, membran mikrofiltrasi, bahan pembuatan sensor, dan lain sebagainya.

Membran yang dibuat diimobilisasi reagen tertentu. Imobilisasi membran adalah suatu proses pengikatan molekul pada reagen dalam bahan pendukung, sehingga molekul reagen tersebar ke dalam membran secara homogen. Reagen yang diimobilisasi ke dalam membran dibuat dari ekstrak kelopak bunga rosella. Kelopak bunga rosella mengandung zat aktif yakni gossypetin, antosianin dan glukosida hibisci. Antosianin dalam bunga rosella karena menimbulkan warna merah (Aryati *et al.*, 2020).

Antosianin cenderung tidak bewarna pada pH netral, pada pH sangat asam (< 3) akan memberikan warna merah maksimum, pada larutan alkali yakni pH 10,5 antosianin mengalami perubahan warna menjadi biru (Yazid & Munir, 2018). Selain itu pemilihan bunga rosella sebagai bahan reagen karena ketersediaannya yang mudah didapat dan harganya relatif murah. Antosianin pada ekstrak kelopak bunga rosella diharapkan dapat berikatan dengan *methanyl yellow* dan membentuk warna tertentu sebagai hasil pengukuran.

Dilakukan ekstraksi sebagai metode untuk mendapatkan antosianin dalam kelopak bunga rosella. Metode yang digunakan yakni maserasi karena metode ini sederhana dan tanpa melalui proses pemanasan (Putra *et al.*, 2014). Ekstrak yang dihasilkan perlu diuji skrining fitokimia untuk melihat kandungan senyawa pada ekstrak (Aryati *et al.*, 2020). Setelah itu reagen dengan konsentrasi tertentu diimobilisasikan ke dalam membran nata de coco dalam waktu tertentu, dan diuji dengan spektrofotometri UV-Vis untuk mengetahui konsentrasi *methanyl yellow* yang terikat di dalam membran. Untuk mengetahui mekanisme reaksi yang terjadi antara antosianin bunga rosella dengan *methanyl yellow* maka dilakukan penentuan gugus fungsi menggunakan instrumen FTIR (Fourier Transform Infra Red). Kemudian dilakukan karakterisasi strip test dengan menguji batas deteksi dan uji lifetime.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Pada penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Rancangan percobaan yang dilakukan diawali dengan preparasi reagen dengan mengekstraksi simplisia bunga rosella dengan metode maserasi. Ekstrak yang dihasilkan diuji secara kualitatif kandungan metabolit sekunder yakni saponin, tannin, flavonoid, dan antosianin. Lalu dilanjutkan preparasi bahan membran dengan melakukan perendaman *nata de coco* menggunakan larutan NaOH. Lalu membran diimobilisasi dengan ekstrak bunga rosella. Setelah itu dilakukan uji menggunakan instrument FTIR untuk melihat mekanisme ikatan antara antosianin dengan *methanyl yellow* pada strip test. Setelah itu dilakukan optimasi waktu kontak reagen pada strip test. Kemudian dilakukan karakterisasi strip test yakni penentuan uji batas deteksi dan uji *lifetime*.

Alat

Neraca analitik (OHAUS), spatula, labu ukur 100 ml (pyrex), labu ukur 10 ml (pyrex), pipet ukur 5 ml (pyrex), bola hisap, pipet tetes, toples kaca, alat penghalus (Mill RT-04), oven (Memmert Oven U055), beaker glass 100 ml (pyrex), beaker glass 250 ml (pyrex), tabung reaksi 10 ml (pyrex), rak tabung reaksi, hot plate (Thermo Scientific), corong gelas (IWAKI), waterbath (memmert), batang pengaduk, ayakan 40 mesh, mikropipet (NESCO dragon lab), plat tetes, botol plastik bening, botol kaca gelap, ultrasonik (DELTA D68H), pH meter (EUTECH), spektrofotometri UV-Vis (BIOBASE), kuvet, dan Spektrofotometri FTIR (Shimadzu).

Bahan

Methanyl yellow p.a (Merck), *nata de coco* (kara), simplisia kelopak bunga rosella, akuades (Hydrobatt), etanol 70%, NaOH p.a (Merck), indikator phenoftalin (Merck), HCl p.a. (Merck), FeCl₃ p.a (Merck), amil alkohol p.a (Merck), logam Mg (Merck), dan kertas saring whatman, kertas perkamen.

Ekstraksi Antosianin Bunga Rosella

Dihaluskan simplisia bunga rosela menggunakan alat penghalus. Diayak bubuk simplisia bunga rosela. Ditimbang sebanyak 50 gram bubuk simplisia bunga rosela. Dimasukkan ke dalam maserator. Ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml. Direndam selama 6 jam sambil sesekali diaduk. Didiamkan selama 18 jam. Dipisahkan maserat dengan cara filtrasi. Dilakukan penyarian kembali dengan etanol 70% sebanyak 250 ml. Dikumpulkan semua maserat lalu diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Skrining Fitokimia

Dilakukan skrining fitokimia senyawa saponin dengan cara diambil 100 mg ekstrak. Ditambahkan air panas sebanyak 10 ml, dididihkan selama 10 menit. Kemudian disaring dan filtrat dimasukkan ke tabung reaksi. Pada 5 ml sampel ditambahkan larutan HCl 2N, lalu dikocok. Diamati larutan, bila terbentuk busa konstan selama 30 detik maka mengandung senyawa saponin (Lestari *et al.*, 2014).

Kemudian dilakukan identifikasi senyawa tannin dengan cara diambil larutan uji dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Diamati perubahan warnanya, jika hasil positif ditandai dengan perubahan warnanya menjadi hijau kehitaman (Lestari *et al.*, 2014).

Lalu dilakukan identifikasi senyawa flavonoid dengan cara diambil ekstrak bunga rosella sebanyak 500 mg. Lalu ditambahkan 10 ml air panas dan dididihkan selama 10 menit. Kemudian ditambahkan potongan Mg, ditambahkan 1 ml larutan HCl 2N dan 2 ml amil alkohol. Dihomogenkan dan diamati perubahan yang terjadi, jika muncul warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol maka positif mengandung senyawa flavonoid (Lestari *et al.*, 2014).

Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa antosianin dengan cara ditimbang ekstrak bunga rosella sebanyak 500 mg. Kemudian ditambahkan larutan HCl 2N, dipanaskan selama 5 menit pada suhu 100°C. Jika berubah warna merah menunjukkan hasil positif. Kemudian diambil ekstrak, ditambahkan tetes demi tetes larutan NaOH 2 N. Jika berubah warna hijau biru menunjukkan hasil positif (Anggistia *et al.*, 2016).

Pembuatan Strip Test

Nata de coco dicuci dengan air mengalir. Lalu direndam selama 24 jam pada suhu kamar menggunakan larutan NaOH 2%. Dicuci kembali *nata de coco* dengan akuades dan ditetesi indikator phenoftalin untuk menunjukkan pH netral. Dipotong kecil-kecil *nata de coco* dengan ukuran 1x1 cm. Dikeringkan dalam oven dengan suhu 70 °C. Dilarutkan 7 g antosianin ekstrak bunga rosela dalam 100 ml akuades. Dikocok hingga homogen. Dipindahkan ke wadah dan membran yang sudah kering direndam dalam reagen selama 60 menit (Dini & Winata, 2016).

Optimasi Waktu Kontak Strip Test dengan *Methanyl yellow*

Diencerkan larutan *methanyl yellow* 100 ppm sebanyak 0,7 ml, ditambahkan etanol hingga tepat tanda batas. Diukur pH larutan *methanyl yellow* menggunakan pH meter yang telah terkalibrasi. Dicelupkan strip test ke dalam larutan *methanyl yellow* menggunakan variasi waktu

yakni 5 detik, 10 detik dan 15 detik. Ditentukan konsentrasi *methanyl yellow* yang terjerap dalam membran secara spektrofotometri UV-Vis (Dini & Winata, 2016).

Identifikasi Mekanisme Reaksi Membran Antosianin dan *Methanyl yellow*

Dipreparasi ekstrak bunga rosella, strip test dan strip test yang telah direaksikan dengan metanil yellow. Dimasukkan masing-masing sampel ke dalam instrument FTIR. Dilakukan pembacaan menggunakan sinar inframerah menengah. Dibaca spektrum yang dihasilkan dan ditentukan gugus fungsi dari masing-masing bilangan gelombang.

Penentuan Konsentrasi *Methanyl yellow* pada Membran Strip Test Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Dibuat larutan induk *methanyl yellow* 100 ppm dengan cara ditimbang 0,01 gram *methanyl yellow*. Dilarutkan dengan sedikit etanol 70%. Ditambahkan etanol 70% hingga tepat tanda batas. Dikocok hingga homogen (Sigar *et al.*, 2012). Kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 1 sampai 10 ppm.

Kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum dengan cara Dikalibrasi spektrofotometri UV-Vis. Dimasukkan etanol 70% ke dalam kuvet. Diukur blanko dengan spektrofotometri UV-Vis. Dimasukkan larutan baku *methanyl yellow* 10 ppm ke dalam kuvet. Diukur menggunakan rentang panjang gelombang 200-800 nm. Dimasukkan larutan uji ke dalam kuvet dan diukur menggunakan rentang panjang gelombang yang sama. Diamati absorbansinya, panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum (Sigar *et al.*, 2012). Setelah itu dibuat kurva standar dan ditentukan persamaan regresi linear yang dihasilkan.

Lalu ditentukan konsentrasi *methanyl yellow* pada membran strip test dengan cara Direndam strip test yang telah dioptimasi waktu kontak dengan *methanyl yellow* menggunakan 10 ml etanol. Dimasukkan larutan uji ke dalam kuvet dan diukur absorbansi larutan pada panjang gelombang maksimum. Dihitung konsentrasi dengan menggunakan persamaan regresi linear (Sigar *et al.*, 2012).

Karakterisasi Strip Test Antosianin Ekstrak Bunga Rosella

Karakterisasi strip test meliputi uji batas deteksi dan uji lifetime. Uji batas deteksi dilakukan dengan cara disiapkan beberapa strip test yang akan diuji. Direaksikan masing-masing strip test dengan larutan *methanyl yellow* konsentrasi 1-10 ppm. Diamati perubahan warna pada masing-masing strip test, perubahan warna tiap strip test pada konsentrasi tertentu dibuat range konsentrasi. Dilakukan pengulangan pengujian sebanyak tiga kali (Sendra *et al.*, 2019)

Uji lifetime dilakukan dengan cara disiapkan beberapa strip test yang dimasukkan ke dalam botol bening dan botol gelap, lalu disimpan di tempat kering. Direaksikan dengan larutan *methanyl yellow* pada hari ke 7, 14 dan 21. Diamati pada masing-masing strip test perubahan warna yang terjadi (Sendra *et al.*, 2019).

HASIL PENELITIAN

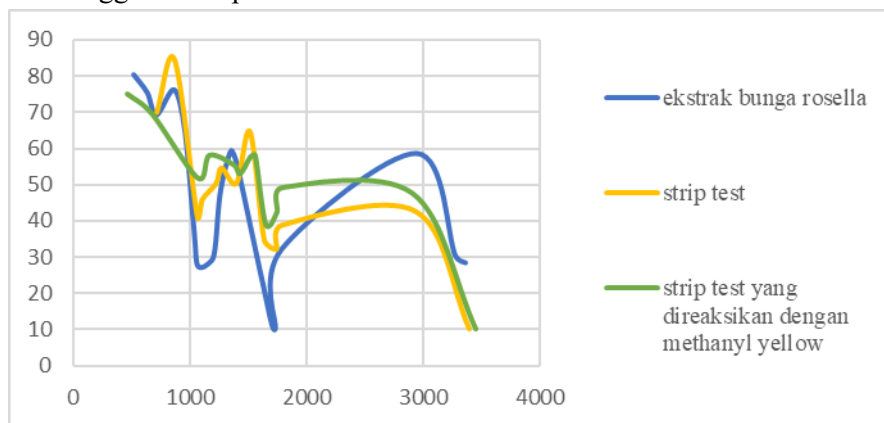
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan ekstrak kental bunga rosella berwarna merah kehitaman dan berbau aromatis sebanyak 23,7 gram. Total

rendemen yang didapatkan sebesar 47,1%. Berikut hasil uji skrining fitokimia ekstrak bunga rosella yang dihasilkan yakni :

Tabel 1 Hasil uji skrining fitokimia dari ekstrak bunga rosella.

No.	Senyawa	Hasil	Keterangan
1.	Saponin	Positif	Terbentuk busa yang stabil
2.	Tannin	Positif	Terbentuk warna hijau kehitaman pada larutan uji
3.	Flavonoid	Positif	Terbentuk warna merah pada lapisan amil alkohol
4.	Antosianin	Positif	Perubahan warna merah pada penambahan larutan HCl 2N. Perubahan warna hijau pada penambahan larutan NaOH 2N.

Dari strip test metanil yellow yang telah dibuat, berikut hasil analisis strip test metanil yellow menggunakan spektrofotometer FTIR.

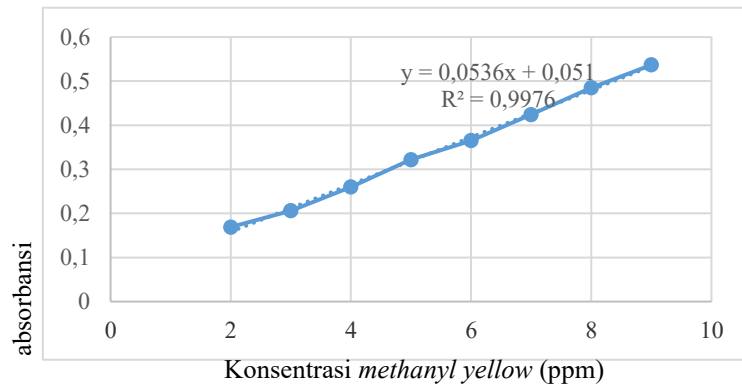


Gambar 1. Hasil analisis menggunakan spektrofotometer FT-IR

Tabel 2. Hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometer FT-IR.

No.	Gugus Fungsi	Bilangan Panjang Gelombang (cm ⁻¹)		
		Ekstrak Bunga Rosella	Strip Test	Strip Test yang Direaksikan dengan <i>Methanyl yellow</i>
1.	O – H	3363,01	3395,81	3445,73
2.	C – H alkana	29,42,27	2932,29	2900,91
		1350,62	1399,11	1424,79
3.	C=O	1728,57	1742,83	1645,85
4.	C=C alkana	1623,03	1635,86	–
5.	C – O	1185,18	1062,53	1061,10
		1065,38		
6.	C – H alkana	708,83	714,53	–

Analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui waktu kontak strip test dengan *methanyl yellow* yang optimal dan dihasilkan kurva baku *methanyl yellow* sebagai berikut.

Gambar 2. Kurva baku *methanyl yellow*

Hasil optimasi waktu kontak strip test dengan *methanyl yellow* yakni :

Tabel 3. Tabel hasil optimasi waktu kontak strip test dengan *methanyl yellow* menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

No.	Waktu Kontak Strip Test (detik)	Absorbansi	Konsentrasi <i>Methanyl yellow</i> yang Terjerap (ppm)
1.	5	0,099	0,89
2.	10	0,116	1,21
3.	15	0,108	1,06

Hasil karakterisasi strip test metanil yellow yakni, parameter uji batas deteksi menunjukkan kemampuan mendeteksi adanya larutan *methanyl yellow* pada konsentrasi 6 ppm. Untuk parameter uji *lifetime* menunjukkan bahwa dalam membran strip test pada waktu penyimpanan hari ke – 7, 14 dan 21 kandungan antosianin tetap ada.

PEMBAHASAN

a. Ekstraksi Antosianin Bunga Rosella

Ekstraksi bunga rosella dilakukan untuk menarik komponen kimia yakni antosianin yang terdapat pada bunga rosella, metode yang digunakan yakni maserasi. Sebagai pelarut digunakan etanol 70% karena bersifat tidak toksik dan polar, karena kepolaran pelarut akan berpengaruh pada konsentrasi antosianin yang terekstrak. Maserat yang dihasilkan lalu diuapkan dengan suhu 40°C, karena antosianin stabil pada suhu 40 – 50 °C atau antosianin dapat mempertahankan stabilitas pigmen warnanya pada suhu tersebut. Pada suhu di atas 50°C antosianin mengalami kerusakan atau terdegradasi akibat dari dekomposisi struktur pigmen oleh suhu panas, antosianin terdekomposisi dari bentuk aglikon menjadi kalkon (Nasrullah, *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan ekstrak kental bunga rosella berwarna merah kehitaman dan berbau aromatis sebanyak 23,7 gram. Total rendemen yang didapatkan sebesar 47,1%, total rendemen menunjukkan kandungan dari zat-zat yang terkandung di dalam bunga rosella yang terekstrak oleh pelarut. Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2017) (Kementerian Kesehatan RI, 2017), rendemen ekstrak bunga rosella tidak kurang dari 19,1%. Sehingga ekstrak yang dihasilkan telah memenuhi persyaratan ekstrak bunga rosella sesuai Farmakope Herbal Indonesia.

b. Skrining Fitokimia

Dilakukan skrining fitokimia pada ekstrak bunga rosella secara kualitatif meliputi senyawa saponin, tannin, flavonoid, dan antosianin. Skrining ini dilakukan untuk mengetahui adanya golongan senyawa metabolit sekunder di dalam ekstrak bunga rosella. Berdasarkan hasil uji, ekstrak bunga rosella mengandung senyawa saponin, tannin, flavonoid, dan antosianin. Hasil uji identifikasi antosianin yakni terbentuk warna merah pada penambahan larutan HCl, karena pada pH asam antosianin akan berwarna merah, perubahan ini dibentuk oleh kation flavilium yang mana dalam struktur antosianin lebih banyak jumlah gugus metoksi daripada gugus hidroksinya. Pada penambahan larutan NaOH, larutan berubah menjadi warna hijau, karena pada suasana basa, antosianin akan berwarna biru-hijau karena struktur karbinol pseudobase, struktur kalkon terbentuk pada pH tinggi dan menyebabkan terbentuknya anion quinonoidal sehingga antosianin kehilangan warna merahnya (Khoo *et al.*, 2017).

Senyawa saponin, tannin dan flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik. Senyawa fenolik memberikan gambaran adanya antosianin pada bunga rosella. Antosianin tergolong senyawa flavonoid yang merupakan bagian dari kelompok besar senyawa polifenolik (Herfayati, 2020). Stabilitas antosianin juga dipengaruhi oleh struktur antosianin dan komponen-komponen lain yang ada pada ekstrak. Antosianin dapat membentuk kompleks dengan komponen senyawa polifenolik, karena biasanya komponen flavonol dan flavon berkonjugasi dengan antosianin, dan stabilitas antosianin tetap terjaga (Hidayah, 2014).

c. Pembuatan Strip Test

Pada penelitian ini strip test dibuat menggunakan *nata de coco* sebagai membran yang akan diimobilisasikan dengan antosianin dari ekstrak bunga rosella. *Nata de coco* dipilih sebagai bahan membran karena tidak memerlukan zat kimia tambahan dan tidak menimbulkan limbah baru. Perendaman pada *nata de coco* menggunakan larutan NaOH bertujuan menghilangkan komponen non-selulosa dan kontaminan bakteri, karena adanya komponen non selulosa dapat menghambat pembentukan ikatan hidrogen yang terjadi antar rantai molekul selulosa. Membran *nata de coco* kemudian diimobilisasi dengan reagen yang terbuat dari ekstrak bunga rosella.

Setelah itu dilakukan penempelan membran pada media yang sesuai agar mudah diaplikasikan pada sampel. Optimasi media penempelan dilakukan pada kertas saring, kertas foto dan kertas perkamen. Ketika membran diletakkan di atas kertas saring, reagen yang terimobilisasi pada membran akan terserap oleh kertas saring, sehingga warna membran akan memudar dan kertas saring menjadi berwarna merah muda. Ketika membran diletakkan di atas kertas foto, lama kelamaan membran menjadi berwarna hijau ketika sudah kering. Hal ini dikarenakan pada pembuatan kertas foto digunakan bahan kimia yang bersifat basa, sehingga ketika membran yang mengandung antosianin bereaksi dengan permukaan kertas foto akan berwarna hijau. Pada kertas perkamen, reagen pada membran tidak terserap ke dalam kertas perkamen dan setelah mengeringpun membran tidak mudah terlepas dari kertas perkamen. Sehingga media penempelan yang dipakai yakni kertas perkamen, karena kertas perkamen tidak menyerap reagen yang diimobilisasikan dan membran melekat dengan baik.

d. Identifikasi Mekanisme Reaksi Membran Antosianin dan *Methanyl yellow*

Pengukuran dengan FTIR biasanya dilakukan menggunakan panjang gelombang antara 2,5 – 50 μm atau bilangan gelombang 4000 – 200 cm^{-1} . Pita absorpsi inframerah bersifat khas dan spesifik terhadap setiap tipe gugus fungsi. Pengukuran dengan spektrofotometri FTIR dilakukan pada ekstrak bunga rosella, strip test dan strip test yang telah direaksikan dengan *methanyl yellow*. Berikut ini hasil analisis menggunakan spektrofotometri FTIR.

Pada ekstrak bunga rosella terdapat gugus fungsi O–H, C–H alkana, C=O, C=C alkena, C–O, dan C–H alkena, dapat disimpulkan dalam ekstrak bunga rosella mengindikasikan adanya senyawa antosianin. Berdasarkan hasil analisis strip test menggunakan FTIR dapat disimpulkan bahwa strip test mengandung gugus fungsi yang sama dengan ekstrak bunga rosella yakni mengandung antosianin dan gugus fungsi *nata de coco* juga teridentifikasi pada strip test. Berdasarkan literature *nata de coco* memiliki gugus fungsi O–H, C–H alkana, C–O, C–H alkena (Lindu *et al.*, 2010).

Dari hasil analisis FTIR menunjukkan adanya penurunan intensitas serapan pada strip test yang telah diaplikasikan. Menurunnya intensitas serapan dikarenakan adanya reaksi antara antosianin dengan *methanyl yellow*, sehingga juga terjadi pergeseran bilangan gelombang pada gugus fungsi. Sehingga hasil analisis strip test yang telah direaksikan dengan *methanyl yellow* mengindikasikan keberadaan gugus fungsi O–H, C–H alkana, C=O, dan C–O.

e. Penentuan Konsentrasi *Methanyl yellow* Pada Membran Strip Test Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk mengetahui konsentrasi *methanyl yellow* yang terjerap pada membran dari strip test. Pada pengukuran menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk mendapatkan nilai absorbansivitas yang memberikan sensitivitas pengukuran tertinggi. Panjang gelombang maksimum *methanyl yellow* yang dihasilkan yakni 437 nm. Dari hasil pengukuran larutan baku didapatkan kurva baku dengan nilai intercept (a) = 0,051 dan nilai slope (b) = 0,0536 dengan nilai korelasi (r) = 0,9976. Nilai korelasi yang didapat sebesar 0,9976, karena nilainya mendekati angka 1 maka dapat dikategorikan sangat baik (Suhartati, 2017).

Kemudian dilakukan pengukuran hasil optimasi waktu kontak strip test dengan *methanyl yellow*. Hasil pengukuran menunjukkan pada waktu kontak 10 detik menghasilkan absorbansi terbesar, karena absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi sehingga waktu kontak 10 detik menghasilkan konsentrasi *methanyl yellow* terbesar. Pada waktu kontak 10 detik konsentrasi *methanyl yellow* yang terjerap pada membran strip test sebesar 1,21 ppm. Sedangkan pada waktu kontak 5 detik konsentrasi *methanyl yellow* yang terjerap pada membran strip test sebesar 0,89 ppm dan pada waktu kontak 15 detik *methanyl yellow* yang terjerap pada membran strip test sebesar 1,06, pada waktu kontak 15 detik sebagian warna membran memudar karena pelarut *methanyl yellow* adalah etanol dan antosianin dapat larut dalam etanol sehingga antosianin sedikit larut pada waktu kontak 15 detik.

f. Karakterisasi Strip Test

Karakterisasi strip test *methanyl yellow* meliputi uji batas deteksi dan uji *lifetime*. Uji batas deteksi dilakukan dengan mereaksikan strip test dengan larutan *methanyl yellow* dari konsentrasi terendah sampai tertinggi untuk melihat sensitifitas dan performa strip test yang dihasilkan (Sendra *et al.*, 2019). Berdasarkan hasil yang didapatkan pada konsentrasi larutan *methanyl yellow* 1 – 5 ppm membran *nata de coco* tetap berwarna merah. Pada konsentrasi 6 – 10 ppm warna membran lebih pekat dibandingkan dengan membran yang direaksikan dengan larutan *methanyl yellow* 1 – 5 ppm. Sehingga strip test *methanyl yellow* ini menunjukkan kemampuan mendeteksi adanya larutan *methanyl yellow* pada konsentrasi 6 ppm, untuk konsentrasi *methanyl yellow* di bawah 6 ppm tidak menghasilkan perubahan warna.

Uji *lifetime* atau ketahanan dilakukan untuk mengukur kemampuan metode uji agar tetap stabil oleh pengaruh variasi dan perubahan berbagai parameter pada metode uji, sehingga tidak menurunkan kualitas hasil uji yang dilakukan (Nisa *et al.*, 2020) Hasil uji *lifetime* pada strip test *methanyl yellow*, pada waktu penyimpanan hari ke – 7, 14 dan 21 baik yang disimpan di dalam botol bening maupun botol gelap tidak terjadi perubahan warna pada membran strip test. Hasil analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan semakin hari maka absorbansi *methanyl yellow* semakin turun baik penyimpanan di dalam botol terang maupun botol gelap. Namun terdapat perbedaan pada penyimpanan botol bening dan botol gelap yakni konsentrasi *methanyl yellow* yang terjerap pada penyimpanan botol gelap menunjukkan hasil yang lebih tinggi.

Perbedaan konsentrasi ini dapat dipengaruhi oleh kandungan antosianin dalam membran *nata de coco* pada strip test. Antosianin dipengaruhi oleh cahaya, temperatur, pH, dan keberadaan enzim yang dapat menyebabkan ketidakstabilan pada strukturnya. Antosianin akan lebih stabil pada suhu di bawah 50°C (Nasrullah *et al.*, 2020). Sehingga dari hasil uji *lifetime* menunjukkan pada penyimpanan strip test *methanyl yellow* menggunakan botol gelap karena dapat meminimalisir faktor yang dapat mendegradasi struktur antosianin.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil optimasi waktu kontak strip test dengan *methanyl yellow* yakni pada waktu kontak 10 detik menunjukkan waktu optimum untuk pengukuran dengan konsentrasi *methanyl yellow* yang terjerap dalam membran *nata de coco* pada strip test sebesar 1,21 ppm.

Pada ekstrak bunga rosella dan strip test gugus fungsi O–H, C–H alkana, C=O, C=C alkena, C–O, dan C–H alkena. Sedangkan pada strip test yang direaksikan dengan *methanyl yellow* menunjukkan adanya gugus fungsi O–H, C–H alkana, C=O, dan C–O, hal ini dikarenakan adanya reaksi dengan *methanyl yellow* sehingga juga membuat intensitas serapan menurun.

Berdasarkan hasil karakterisasi strip test, jumlah terkecil *methanyl yellow* yang dapat bereaksi yakni 6 ppm. Pada uji *lifetime* menunjukkan hingga hari ke-21 strip test tidak terjadi perubahan warna pada membran *nata de coco* dan strip test masih dapat digunakan, namun terjadi penurunan konsentrasi *methanyl yellow* yang terjerap pada minggu kedua dan ketiga penyimpanan, stabilitas strip test yang baik yakni disimpan dalam botol gelap.

SARAN

Dapat dilakukan studi lebih lanjut menggunakan konsentrasi *methanyl yellow* yang lebih rendah dalam uji menggunakan strip test. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pembuatan strip test *methanyl yellow* berbasis membran *nata de coco* dengan menggunakan reagen alami lain. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan strip test berbahan membran selulosa untuk mendeteksi adanya bahan tambahan pangan berbahaya lainnya.

REFERENSI

- Anggistia, M. D., Widiyandari, H., & Anam, K. (2016). Identifikasi dan Kuantifikasi Antosianin dari Fraksi Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L) dan Pemanfaatannya sebagai Zat Warna Dye-Sensitized Solar Cell (DSSC). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 50-57.
- Aryati, D. L., Rohadi, & Pratiwi, E. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*H. sabdariffa* L.) Merah Pada berbagai suhu Pemanasan. *Jurnal Teknologi Panga dan Hasil Pertanian*, 1-9.
- Badan Pengawas Obat & Makanan Republik Indonesia. (2015). *Pengetahuan Bahan Berbahaya*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Produk dan Bahan Berbahaya.
- Badan Standarisasi Nasional. (1992). *Standar Nasional Indonesia Nomor 01-2895-1992 tentang Cara Uji Pewarna Tambahan Makanan*. Jakarta: Deprindag.
- Dini, B., & Winata, I. A. (2016). Pembuatan Test Strip Boraks Berbasis Membran Selulosa Bakterial (*Nata de coco*) yang Diimobilisasi Reagen Kurkuin dan Aplikasinya Terhadap Sampel Makanan. *Berkala Sainstek*, 10-14.
- Herfayati, P., Pandia, S., & Nasution, H. (2020). Karakteristik Antosianin dari Kulit Buah Nipah (*Nypa fructican*) sebagai Pewarna Alami dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal Teknik Kimia USU*.
- Hidayah, T. (2014). Uji Stabilitas Pigmen dan Antioksidan Hasil Ekstraksi Zat Warna Alami Dari Kulit Buah Naga (*Hylocereus undatus*). *Thesis*.
- Indriani, A. D., & Suwita, I. K. (2018). Keamanan Pangan Mie Basah Kuning (Kandungan Boraks, Formalin, Methanil Yellow) Di Beberapa Pasar Tradisional Kota Malang. *Jurnal Gizi KH*, 42-51.
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Khoo, Azlan, & Lim. (2017). Anthocyanidins and Anthocyanins: Colored Pigments as Food, Pharmaceutical Ingredients, and the Potential Health benefits. *Food Nutr. Res. Vol 61*.
- Lestari, P. P., Kusriani, D., & Anam, K. (2014). Anthocyanin Identification of Methanol-HCl Extract Active Fraction in Rosella (*Hibiscus Sabdariffa* L) and Its Potential as Xanthine Oxidase Inhibitor. *Jurnal Sains dan Matematika*.
- Lindu, M., Puspitasari, T., & Ismi, E. (2010). Sintesis dan Karakterisasi Selulosa Asetat Dari *Nata de coco* Sebagai Bahan Baku Membran Ultrafiltrasi. *Jurnal Sains Materi Indonesia*, 17-23.

-
- Nasrullah, Husain, H., & Syahrir, M. (2020). Pengaruh Suhu dan Waktu Pemanasan Terhadap Stabilitas Pigmen Antosianin Ekstrak Asam Sitrat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrizus*) dan Aplikasi Pada Bahan Makanan. *Jurnal Chemical Vol. 21*, 150-162.
- Nisa, C., Saputra, P., & Setiawati, E. (2020). Pengembangan dan Validasi Metode Uji Cadmium (Cd) Pada Air Permukaan Secara Spektrometri Serapan Atom Nyala. *Prosiding PPIS*.
- Putra, A. B., Bogoriani, Diantariani, & Sumadewi, N. L. (2014). Ekstraksi Zat Warna Alam Dari Bonggol Tanaman Pisang (*Musa paradisiaca* L.) Dengan Metode Maserasi, Refluks, dan Sokletasi. *Jurnal Kimia*, 113-119.
- Sahani, W., & Juliani, Y. (2017). Kandungan Zat Pewarna *Methanyl yellow* Pada Tepung Panir Yang Di Jual Di Pasar Tradisional Kota Makassar. *Jurnal Sulolipu : Media Komunikasi Sivitas Akademika dan Masyarakat*.
- Sendra, B. D., Arumsari, A., & Effendi, D. H. (2019). Optimasi Pembuatan Alat Carik Methanyl Yellow dengan Matriks Membran Selulosa Asetat. *Prosiding Farmasi*, 213-217.
- Sigar, E. S., Citraningtyas, G., & Yudistira, A. (2012). Analisis Zat Warna *Methanyl yellow* Dalam Minuman Es Sirup Di Kawasan Kota Manado. *Jurnal UNSRAT*.
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-Dasar Spektrofotometer UV-Vis dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung: AURA.
- Yazid, E. A., & Munir, M. M. (2018). Potensi Antosianin Dari Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Sebagai Alternatif Indikator Titrasi Asam Basa. *Jurnal Sains Vol. 8 No. 15*, 1-7.