

Modifikasi Metode Penentuan Amina Aromatik Primer Tidak Tersulfonasi dalam Bahan Baku Zat Warna Tartrazin Dihitung sebagai Anilina secara Spektrofotometri UV-Sinar Tampak

*Rahmana Emran Kartasasmita dan Inayah

Kelompok Keilmuan Farmakokimia, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132

Abstrak

Senyawa amina aromatik primer tidak tersulfonasi merupakan suatu cemaran yang dapat ditemukan di dalam zat warna. Disebabkan toksisitasnya, kadar cemaran ini dibatasi pada tingkat maksimum tertentu, secara khusus ditetapkan sebagai anilina dengan batas maksimum sebesar 100 ppm. Pada kompendial resmi yang dikeluarkan oleh *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) penentuan senyawa amina aromatik primer tidak tersulfonasi dilakukan melalui reaksi diazotisasi dan kopling diazo dengan menggunakan senyawa garam natrium 2-naftol-3,6 disulfonat sebagai pereaksi pengkopling. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode alternatif pada penentuan kadar amina aromatik primer tidak tersulfonasi dalam tartrazin, sebagai zat warna yang paling banyak digunakan di Indonesia, menggunakan 2-naftol sebagai pereaksi pengkopling. Anilina diekstraksi dari tartrazin dengan menggunakan toluen pada pH 12,3 dan kemudian diekstraksi kembali dari fasa organik dengan menggunakan larutan asam hidroklorida 3 N. Anilina yang terlarut dalam bentuk garam klorida mengalami reaksi dengan asam nitrit, yang diperoleh secara *in situ* dengan mereaksikan natrium nitrit dan asam hidroklorida, membentuk suatu garam diazonium. Untuk menghilangkan kelebihan asam nitrit dilakukan penambahan urea ke dalam campuran reaksi. Garam diazonium kemudian dikopling dengan 2-naftol pada pH 9,0. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 540 nm. Metode ini memberikan kurva kalibrasi linier pada rentang konsentrasi 2-10 ppm dengan persamaan garis regresi $Y = 0,0952X - 0,0005$ dan $r^2 = 0,9997$. Batas deteksi dan batas kuantisasi metode ini dihitung secara statistik sebesar 0,16 dan 0,54 ppm. Perolehan kembali kadar anilina dalam tartrazin dengan menggunakan metode penambahan baku pada konsentrasi 0,6; 0,8 dan 0,9 ppm adalah 82,7; 86,7 dan 85,6% dengan nilai simpangan baku relatif (RSD) pada semua penetapan kurang dari 5%. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa metode ini dapat digunakan sebagai metode alternatif dari metode resmi yang terdapat dalam kompendium JECFA untuk penentuan amina aromatik primer tidak tersulfonasi dalam tartrazin.

Kata kunci: amina aromatik primer tidak tersulfonasi, anilina, tartrazin, 2- naftol, diazotisasi, kopling, spektrofotometri.

Abstract

Unsulfonylated primary aromatic amines are impurities which could be present in food colours. Due to their toxicities, the concentration of these impurities is limited to a certain maximum level, typically stated as aniline with the maximum level of 100 ppm. The official compendium of Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) describes the determination of unsulfonylated primary aromatic amines applying diazotization reaction in which 2-naphthol-3,6 disulfonic acid disodium salt is used as coupling reagent. The aim of this research was to obtain alternative method for the determination of unsulfonylated primary aromatic amines in tartrazine as the most applied food colours in Indonesia using 2-naphthol as coupling reagent. Aniline was extracted from tartrazine using toluene under pH value of 12.3 and then re-extracted from organic phase using a 3 N hydrochloric acid solution. Aniline dissolved as hydrochloric acid salt was reacted with nitrous acid produced *in situ* from sodium nitrite and hydrochloric acid to form a diazonium salt. To remove excess nitrous acid urea was added to reaction mixture. The diazonium salt was then coupled with 2-naphthol under pH value of 9.0. The Absorbance of the solution was then measured at 540 nm. This method gave a linear calibration curve in the concentration range of 2.0 to 10 ppm with a regression equation of $Y = 0.0952X - 0.0005$ and $r^2 = 0.9997$. The limit of detection and limit of quantification of this method were statistically calculated to be 0.16 and 0.54 ppm, respectively. The recovery of tartrazine at the concentration levels of 0.6, 0.8 and 0.9 were respectively determined using standard addition method and found to be 82.7, 86.7 and 85.6%. The relative standard deviations of all the determinations were less than 5%. Based on these results, it was concluded that this method was suitable to applied as alternative method to official method described in the official compendium of JECFA for the determination of unsulfonylated primary aromatic amines in tartrazine.

Keywords: unsulfonylated primary aromatic amine, aniline, tartrazine, 2-naphthol, diazotization, coupling, spectrophotometry

* Penulis korespondensi. E-mail: kartasasmita@fa.itb.ac.id

Pendahuluan

Senyawa amina aromatik primer tidak tersulfonasi merupakan cemaran bahan baku zat warna yang bersifat karsinogenik. Oleh sebab itu, *Codex Alimentarius Committee* (CAC) membatasi jumlahnya dalam bahan baku zat warna sebesar 0,01% dihitung sebagai anilina. Anilina dapat dianalisa secara spektrofotometri setelah mengalami reaksi diazotisasi dan kopling dengan suatu senyawa fenol atau senyawa amina aromatik lainnya.

Pada metode yang telah ditetapkan oleh JECFA (2006), amina aromatik primer tidak tersulfonasi diekstraksi menggunakan toluen dari sampel yang bersifat basa, kemudian diekstraksi kembali dalam asam, dan ditentukan secara spektrofotometri setelah dilakukan reaksi diazotisasi dengan menggunakan pereaksi asam nitrit dan reaksi kopling dengan menggunakan pereaksi garam dinatrium 2-naftol-3,6-disulfonat (JECFA 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode penentuan senyawa amina aromatik primer tidak tersulfonasi dihitung sebagai anilina dalam bahan baku zat warna tartrazin secara spektrofotometri ultraviolet-sinar tampak dengan menggunakan senyawa 2-naftol sebagai pereaksi pengkopling. Senyawa 2-naftol adalah senyawa fenol yang secara struktur mirip dengan 2-naftol-3,6-disulfonat, sehingga secara teoritis dapat bereaksi dengan anilina dalam kondisi yang distandarkan.

Percobaan

Bahan

Aniline-Pestanal (Sigma Aldrich), tartrazin (*food grade*), toluene p.a (Merck), asam hidroklorat, kalium bromida p.a (Merck), natrium karbonat (Merck), natrium hidroksida (Merck), natrium nitrit (Merck), 2-Naftol (Merck), urea, aquadest.

Sebagai larutan

Alat

Spektrofotometer Ultraviolet – Visibel (Beckman DU-600), kuvet, pH meter (Mettler Toledo), timbangan analitik (Mettler Toledo AG104), termometer, serta alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium kimia.

Penyiapan Larutan Pereaksi

Dilakukan penyiapan larutan pereaksi berupa larutan asam hidroklorat 3N, larutan asam hidroklorat 1 N, larutan kalium bromida 50%, larutan natrium karbonat 2N, larutan natrium hidroksida 1N, larutan

natrium hidroksida 0,1N, larutan urea 1%, larutan 2-naftol 0,05N, dan larutan natrium nitrit 0,5 N.

Penyiapan Larutan Baku Pembanding

Baku pembanding anilina ditimbang sebanyak 0,01 g dalam Beaker glass kecil, kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL, dan Beaker glass dibilas secara berulang dengan air. Pada suhu ruangan, sebanyak 30 mL asam hidroklorat 3 N ditambahkan kemudian digenapkan dengan air hingga 100 mL. Kemudian sebanyak 10 mL larutan tersebut dipipet ke dalam labu takar 100 mL dan digenapkan dengan air. Diperoleh konsentrasi akhir larutan sebesar 0,1 mg/mL (100 ppm). Larutan baku pembanding ini harus selalu dibuat segar.

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Ke dalam tabung reaksi dimasukkan 1 mL larutan baku pembanding anilina 100 ppm dan 9 mL asam hidroklorida 1 N diaduk dan dibiarkan selama 5 menit dalam Beaker glass yang berisi es/air es dan suhu dipertahankan di bawah 5°C. Kemudian sebanyak 1 mL larutan kalium bromida 50% dan 0,05 mL larutan natrium nitrit 0,5 N ditambahkan, diaduk dan disimpan kembali dalam Beaker glass yang berisi es/air es yang dipertahankan suhunya di bawah 5°C selama 10 menit sehingga terjadi reaksi diazotisasi. Setelah itu ke dalam tabung reaksi tersebut ditambahkan 5 mL urea 1% dan dibiarkan kembali selama 10 menit. Kemudian ke dalam labu takar 25 mL ditambahkan 1 mL larutan 2-Naftol 0,05 N dan 4 mL larutan Na_2CO_3 2 N. Kemudian ke dalam labu takar tersebut dituangkan larutan anilina yang telah mengalami reaksi diazotisasi secara perlahan-lahan dan digenapkan dengan aquadest hingga batas dan ditutup. Setelah labu ukur tertutup tersebut diaduk dengan baik dan disimpan selama 5 menit, dilakukan penelusuran absorbansi pada panjang gelombang antara 450-650 nm dengan menggunakan kuvet 40 mm.

pembanding digunakan campuran 10 mL asam hidroklorat 1 N, 5 mL larutan urea 1%, 4 mL larutan Na_2CO_3 2 N, dan 1 mL larutan 2-naftol dalam labu takar 25 mL yang kemudian digenapkan dengan air hingga batas.

Penyiapan Grafik/Kurva Kalibrasi

Ke dalam lima labu ukur 100 mL yang berbeda dimasukkan masing-masing larutan baku pembanding sebanyak 5; 10; 12,5; 15; 20; dan 25 mL. Setiap labu ukur digenapkan dengan asam hidroklorat 1 N hingga tanda.

Sebanyak 10 mL larutan dari setiap labu ukur diambil dan ditempatkan dalam tabung reaksi bersih dan

kering yang berbeda. Kemudian kelima tabung reaksi didinginkan dalam Beaker glass berisi es suhu dijaga kurang dari 5°C.

Ke dalam tiap tabung ditambahkan 1 mL larutan kalium bromida 50% dan 0,05 mL larutan natrium nitrit 0,5 N, diaduk dan dibiarkan selama 10 menit sehingga terjadi reaksi diazotisasi. Kemudian ditambahkan sebanyak 5 mL urea 1% diaduk dan didiamkan selama 10 menit.

Ke dalam lima labu ukur 25 mL ditambahkan 1 mL larutan 2-naftol dan 4 mL natrium karbonat. Ke dalam setiap labu ukur 25 mL yang telah berisi larutan 2-naftol dan natrium karbonat tersebut dimasukkan larutan anilina yang sudah mengalami diazotisasi, tabung reaksi yang semula berisi larutan anilina dibilas dengan tetesan-tetesan air, setelah itu labu ukur digenapkan dengan menggunakan air hingga batas 25 mL dan ditutup. Setelah labu ukur tertutup tersebut diaduk dengan baik dan disimpan selama 5 menit kemudian dilakukan pengukuran absorbansi larutan secara duplo pada panjang gelombang 540 nm dengan menggunakan kuvet 40 mm.

Sebagai larutan pembanding digunakan campuran 5 mL asam hidroklorat 1 N, 4 mL larutan natrium karbonat, 5 mL larutan urea 1% dan 1 mL larutan 2-naftol, yang diencerkan dengan menggunakan air hingga diperoleh volume akhir sebanyak 25 mL.

Grafik diperoleh dengan memplot hubungan antara absorbansi dengan bobot anilina dalam 25 mL larutan anilina. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien determinasi (r^2) dan koefisien variansi fungsi regresi pada analisis regresi linier $Y=bX + a$ (Harmita 2004).

Berdasarkan kurva kalibrasi yang diperoleh, dilakukan perhitungan dan uji kaji statistik meliputi linieritas, batas deteksi, dan batas kuantisasi menggunakan metode yang digunakan oleh Gottwald (2000).

Penentuan Keseksamaan

Menggunakan metode “spike”/ penambahan baku, masing-masing sejumlah volume tertentu larutan baku pembanding yang setara dengan konsentrasi akhir anilina pada larutan uji 0,8 µg/mL, ditambahkan ke dalam 2 g sampel bahan baku pewarna uji diberikan perlakuan sebagaimana penyiapan dan evaluasi larutan uji dengan enam replikasi dan diukur absorbansinya pada λ 540 nm. Untuk penentuan keseksamaan dihitung rata-rata, simpangan baku dan koefisien variansi dari rata-rata (Harmita 2004).

Penentuan Kecermatan

Menggunakan metode “spike” (penambahan baku), masing-masing sejumlah volume tertentu larutan baku pembanding yang setara dengan konsentrasi akhir anilina pada larutan uji sebesar 0,6; 0,8; dan 0,9 µg/mL, ditambahkan ke dalam 2 g sampel bahan baku pewarna uji diberikan perlakuan sebagaimana penyiapan dan evaluasi larutan ujidengan masing-masing tiga replikasi dan diukur absorbansinya pada λ 540 nm. Untuk penentuan kecermatan dihitung persen perolehan kembali (Harmita 2004).

Penyiapan dan Evaluasi Larutan Uji

Sebanyak 2 g sampel bahan baku pewarna dimasukkan ke dalam corong pisah yang berisi 100 mL air, kemudian dinding corong pisah dibasuh dengan 50 mL air, setelah itu dikocok untuk melarutkan sampel dan ditambahkan larutan NaOH 1 N sebanyak 10 mL.

Larutan pewarna diekstraksi dengan menggunakan 25 mL toluen sebanyak empat kali, kemudian fraksi toluen digabungkan dan dibilas dengan 10 mL larutan NaOH 0,1 N untuk membasuh zat warna yang tersisa.

Ekstrak fraksi toluen yang diperoleh kemudian dibilas dengan 10 mL larutan asam hidroklorat 3 N sebanyak tiga kali kemudian ekstrak diencerkan dengan menggunakan air hingga 100 mL dan diaduk dengan baik. Larutan yang dihasilkan disebut dengan larutan U.

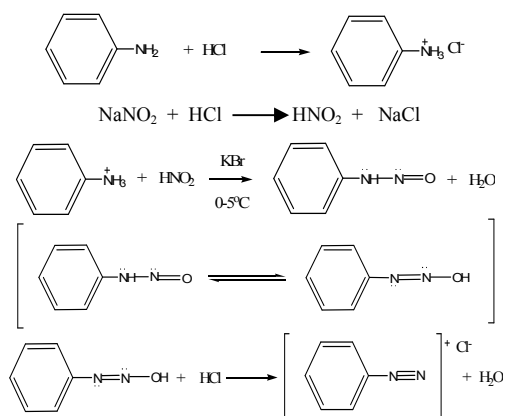
Sebanyak 10 mL larutan U dipipet kedalam tabung yang bersih dan kering, setelah itu didinginkan dalam Beaker glass berisi es selama 10 menit. Ke dalam Beaker glass yang telah didinginkan ditambahkan 1 mL larutan KBr dan diperlakukan sebagaimana penyiapan untuk pembuatan kurva kalibrasi, dimulai dengan penambahan 0,05 mL larutan natrium nitrit.

Absorbansi larutan uji diukur secara duplo pada panjang gelombang 540 nm menggunakan kuvet 40 mm, dengan menggunakan blanko yang dibuat dari 10 mL larutan U, 5 mL larutan urea 1%, 4 mL larutan natrium karbonat 2 N dan 1 mL larutan 2-naftol 0,05 N yang diencerkan dengan air hingga 25 mL. Berdasarkan grafik kalibrasi akan diperoleh bobot anilina dari hasil pengamatan absorbansi larutan uji.

Hasil dan Pembahasan

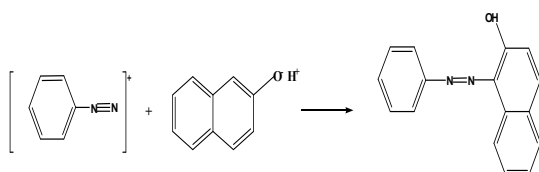
Senyawa anilina merupakan suatu senyawa amina primer ($R-NH_2$) yang dapat mengalami reaksi diazotisasi dan kemudian digabung dengan pereaksi 2-naftol membentuk suatu senyawa berwarna yang

menyerap radiasi di daerah sinar tampak. Diazotisasi adalah pembentukan garam diazonium melalui reaksi amina aromatik dengan asam nitrit. Pada penelitian ini anilina dilarutkan dalam HCl dan direaksikan dengan asam nitrit menghasilkan benzendiazonium klorida. Asam nitrit dihasilkan secara *in situ* melalui reaksi natrium nitrit ($\text{Na}^+ \text{ONO}^-$) dengan HCl. Garam diazonium yang terbentuk sangat reaktif, oleh karena itu campuran reaksi harus didinginkan (Fessenden dan Fessenden 1994). Reaksi yang terjadi diawali dengan reaksi nitrosasi amina dilanjutkan dengan tautomerisasi dari nitrosamina yang terbentuk dan diakhiri dengan dekomposisi senyawa diazo-hidroksida menjadi garam diazonium (Connors 1975).



Gambar 1. Pembentukan garam benzendiazonium klorida.

Garam diazonium yang stabil dalam suasana asam dan suhu terkendali di bawah 5°C , kemudian digabung dengan senyawa 2-naftol yang sebelumnya telah dilarutkan dalam natrium hidroksida. Dalam kondisi optimum reaksi kopling akan terjadi melalui suatu mekanisme substitusi elektrofilik aromatik pada posisi *ortho*, melalui reaksi sebagai berikut:

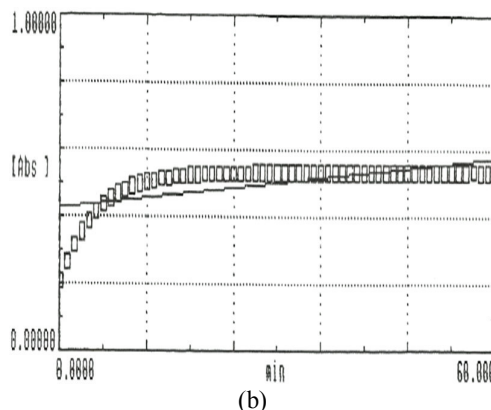
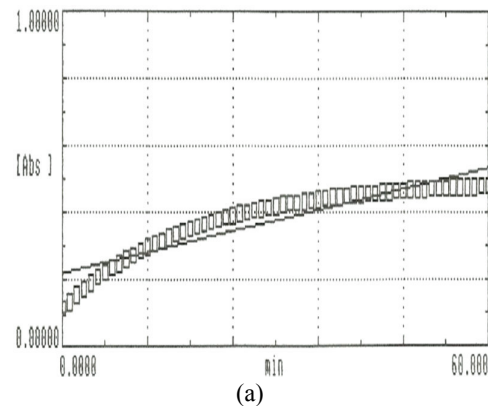
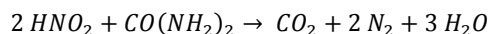


Gambar 2. Reaksi kopling garam benzendiazonium klorida dengan 2-naftol.

Kelebihan asam nitrit (HNO_2), yang dalam larutan asam akan membentuk kation nitrosonium (NO^+) (Connors 1975), dapat mengganggu pembentukan zat warna yang dihasilkan. Hal tersebut dapat mengakibatkan peningkatan absorbansi secara terus menerus sehingga metode ini tidak dapat digunakan

dalam analisis secara kuantitatif. Pengaruh penambahan urea dapat dilihat pada Gambar 3.

Kelebihan asam nitrit dapat dihilangkan dengan penambahan urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) (De Almeida-Filho 1983; Susanty 2011). Adapun reaksi yang terjadi dapat dijelaskan dalam persamaan reaksi sebagai berikut.

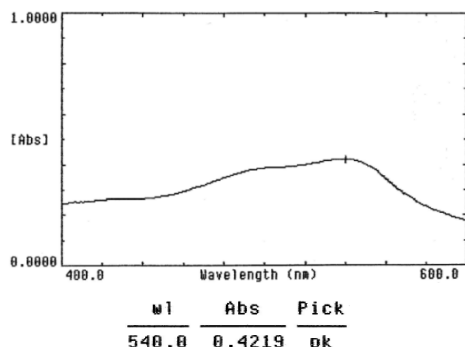


Gambar 3. Pengaruh penambahan urea terhadap absorbansi (a) sebelum dan (b) setelah penambahan urea.

Dilakukan penelusuran panjang gelombang absorbansi pada suasana basa, dan diperoleh absorbansi maksimum pada panjang gelombang 540 nm. Hal tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.

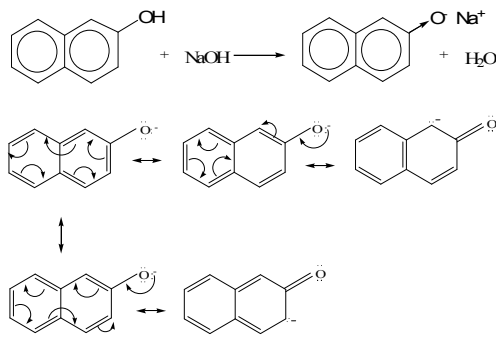
Berdasarkan hasil optimisasi, nampak bahwa pada pH 9 reaksi pembentukan warna berjalan optimum. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai absorbansi yang tinggi sebesar 0,7606 dan laju penurunan absorbansi yang rendah yaitu sebesar 0,0017 dA/min. Hal ini terjadi karena 2-naftol (pK_a 9,5) akan mengalami ionisasi pada suasana basa. Pada penelitian ini 2-naftol dilarutkan dalam larutan NaOH, sehingga gugus hidroksida pada 2-naftol yang terionisasi

membentuk suatu fenolat (fenoksida). Atom oksigen bersifat menarik elektron karena keelektronegatifannya yang lebih tinggi dibandingkan dengan atom karbon.



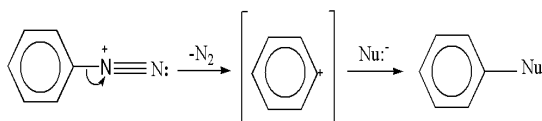
Gambar 4. Spektrum sinar tampak dari senyawa hasil reaksi penggabungan.

Hal tersebut menyebabkan terjadinya efek induksi negatif (-I effect) dan terjadinya efek mesomerik negatif (-M effect) pada suatu senyawa asam aromatik. Hal ini menyebabkan delokalisasi elektron sehingga memungkinkan terjadinya reaksi substitusi elektrofolik aromatik antara garam benzendiazonium klorida dan 2-naftol pada posisi *ortho*. Efek mesomerik atau resonansi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Resonansi elektron pada senyawa 2-naftol yang terionkan.

Namun, pada suasana sangat basa garam diazonium yang sangat tidak stabil akan melepaskan gugus N_2 (merupakan gugus pergi yang baik) dengan adanya suatu nukleofil (Nu^-) misalnya hidroksida (OH^-) sehingga reaksi kopling tidak akan terjadi (Fessenden dan Fessenden 1994). Perbandingan pengaruh pH terhadap absorbansi dan laju penurunan absorbansi dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 7.



Gambar 6. Lepasnya gugus N_2 dengan adanya suatu nukleofilik.

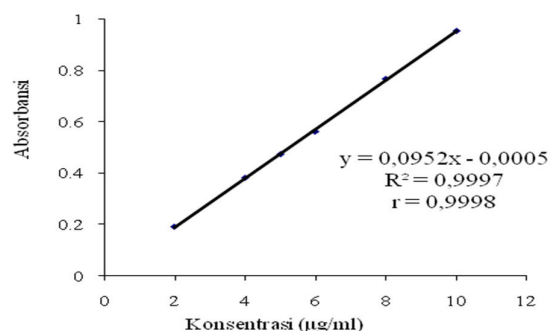
Tabel 1. Perbandingan Pengaruh pH terhadap Absorbansi dan Laju Penurunan Absorbansi

Kadar Anilina ($\mu\text{g/ml}$)	pH	Absorbansi (λ 540 nm)	dA/min
8	7	0,3144	0006
8	8	0,4752	-0,0009
8	9	0,7606	-0,0017
8	9,5	0,9723	-0,0109
8	10	-	terbentuk endapan

Kurva kalibrasi linier hasil pengukuran larutan baku anilina pada konsentrasi 2-10 $\mu\text{g/ml}$ dapat dilihat pada Gambar 8, sedangkan perhitungan berbagai parameter uji linieritas dan kuadratik kurva kalibrasi dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Baku Anilina yang Telah Direaksikan

C ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi pada λ 540 nm
2	0,1912
4	0,3833
5	0,4758
6	0,5623
8	0,7661
10	0,9523



Gambar 7. Kurva kalibrasi hasil reaksi larutan baku anilina pada λ 540 nm.

Tabel 3. Parameter Pengujian Linieritas Kurva Kalibrasi

Parameter	Nilai
Pers. regresi linier	$Y = 0,0952x - 0,0005$
b	0,0952
a	-0,0005
X rata-rata	5,8333
Sy/x	0,0052
(Sy/x)/b	0,0541
V _{x0} (%)	0,9274
r	0,9998
BD (µg/mL)	0,1623
BK (µg/mL)	0,5410

Berdasarkan perbandingan hasil pengujian V_{x0} terhadap persamaan garis regresi linier dan kuadratik yang diperoleh dengan menggunakan metode Gottwald, dapat disimpulkan bahwa kurva kalibrasi

tersebut lebih mendekati model linier dibandingkan model kuadratik.

Tabel 4. Parameter Pengujian Kuadratik Kurva Kalibrasi

Parameter	Nilai
Pers. Kuadratik	$Y = 1,97.10^{-4}x^2 + 9,29.10^{-2}x - 5,45.10^{-3}$
X rata-rata	5,8333
E (sensitivitas)	0,0952
Sy/x	0,0057
(Sy/x)/b	0,0594
V _{x0} (%)	1,0191

Diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,0952x - 0,0005$ dengan nilai koefisien determinasi (r^2) sebesar 0,9997 pada rentang 2-10 µg/mL, dengan nilai koefisien korelasi regresi (r) sebesar 0,9998 yang

Tabel 5. Persentase Perolehan Kembali

Kadar Anilina (µg/ml)	Absorbansi Hasil Pengukuran	Kadar Anilina Terukur	Rataan Kadar Anilina Terukur (Cu)	Rataan Kadar Anilina Sampel (Cs)	Cu-Cs	Rataan Persentase Perolehan kembali (%)
0,6	0,0501	0,5315	0,5266	0,0302	0,4964	82,74
	0,0499	0,5294				
	0,0489	0,5189				
0,8	0,0674	0,7132	0,7237	0,0302	0,6935	86,69
	0,0696	0,7363				
	0,0682	0,7216				
0,9	0,074	0,7826	0,8004	0,0302	0,7702	85,58
	0,0754	0,7973				
	0,0777	0,8214				

lebih tinggi dari persyaratan, yaitu $\geq 0,98$ dan koefisien variansi regresi (V_{x0}) yang diperoleh sebesar 0,9274 lebih rendah dari yang dipersyaratkan yaitu $\leq 5,0$. Adapun batas deteksi sebesar 0,1623 µg/mL menunjukkan bahwa metode analisa dapat digunakan untuk menentukan uji batas secara kualitatif pada kadar yang sama atau lebih besar dari kadar tersebut, sedangkan batas kuantisasi sebesar 0,5410 µg/mL menunjukkan kadar cemaran terkecil yang mampu ditentukan secara kuantitatif dengan metode analisa yang telah dikembangkan. Batas deteksi dan batas kuantisasi tersebut lebih kecil dari batas anilina yang masih diperbolehkan

yaitu 0,01% (b/b) setara dengan 0,8 µg/mL jika dikonversikan terhadap metode yang telah dikembangkan ini. Berdasarkan evaluasi terhadap sampel bahan baku tartrazin diperoleh kadar anilina sebesar 0,0302 µg/mL.

Pada uji akurasi dengan menggunakan metode spike terhadap bahan baku tartrazin diperoleh hasil rata-ran persentase perolehan kembali untuk kadar baku anilina sebesar 0,6; 0,8; dan 0,9 µg/ml berturut-turut adalah 82,74; 86,69; dan 85,58% dan nilai koefisien variansi (RSD) masing-masing sebesar 1,23; 1,84 dan 3,07%.

Tabel 6. Perhitungan Koefisien Variansi

Kadar Anilin (µg/ml)	Absorbansi Hasil Pengukuran	Kadar Anilin Terukur	Rataan Kadar Anilin Terukur	Kadar Anilin Sampel Tartrazin	C _{hitung} - C _{sampel}	SD	KV
0,6	0,0501	0,5315	0,5266	0,0302	0,5013	0,0068	1,28
	0,0499	0,5294			0,4992		
	0,0489	0,5189			0,4887		
0,8	0,0674	0,7132	0,7141		0,6830	0,0132	1,84
	0,0696	0,7363			0,7061		
	0,0682	0,7216			0,6914		
	0,0665	0,7038			0,6736		
	0,0662	0,7006			0,6704		
	0,0670	0,7090			0,6788		
0,9	0,0740	0,7826	0,7822		0,7524	0,0240	3,07
	0,0754	0,7973			0,7671		
	0,0777	0,8214			0,7912		
	0,0729	0,7710			0,7408		
	0,0714	0,7553			0,7251		
	0,0724	0,7658			0,7356		

Kesimpulan

Metode penentuan amina aromatik primer tidak tersulfonasi dihitung sebagai anilina dalam bahan baku zat warna tartrazin dapat dilakukan secara spektrofotometri menggunakan 2-naftol sebagai pereaksi pengkopling.

JECFA, 2006, Combined Compendium of Food Additive Specifications, FAO, Roma, 215-216.

Susanty S, 2011, Modifikasi Metode Bratton Marshall untuk Penetapan Kadar Sulfasetamida dalam Sediaan Tetes Mata, ITB, Bandung.

Daftar Pustaka

Connors KA, 1975, A Textbook of Pharmaceutical Analysis, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, 216-220.

De Almeida-Filho J, De Souza, JM, 1983, A Simple Urine Test for Sulfonamides, Bulletin of The World Health Organization 61(1): 167-168.

Fessenden RJ, Fessenden JS, 1994, Organic Chemistry 5th ed., Brooks/Cole Publishing Company, California, 515-519.

Gottwald W, 2000, Statistik für Anwender, Wiley-VCH, Weinheim, 89 – 109.

Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya, Majalah Ilmu Kefarmasian 1(3): 117-135.