



Identifikasi Rhodamin B pada Produk Pangan dan Kosmetik yang Beredar di Bandung

(Identification of Rhodamine B in Food Products and Cosmetics Circulated in Bandung)

ALIYA NUR HASANAH*, IDA MUSFIROH, NYI MEKAR SAPTARINI,
DRIYANTI RAHAYU

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jln. Raya Bandung Sumedang Km 21,5, Jatinangor.

Diterima 26 Maret 2012, Disetujui 20 Juni 2012

Abstrak: Rhodamin B merupakan pewarna yang digunakan untuk industri cat, industri tekstil dan industri kertas. Zat warna ini dapat menyebabkan iritasi sistem pernapasan dan mempunyai efek karsinogenik. Pada konsentrasi tinggi rhodamin B dapat menyebabkan kerusakan hati. Rhodamin B telah dilaporkan ditambahkan ke dalam kosmetik dan pangan seperti lisptik, *eye shadow*, *rouge*, terasi dan kerupuk. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan keberadaan rhodamin dalam produk-produk tersebut menggunakan KCKT dan spektrofotometri UV-Vis. Penelitian ini dilakukan melalui tahapan pengumpulan dan preparasi sampel, validasi metode analisis, kemudian analisis kandungan rhodamin B menggunakan KCKT dan spektrofotometri UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa empat sampel kerupuk (57,14%) dan empat sampel terasi (50%) mengandung rhodamin B tetapi tidak ditemukan adanya rhodamin B pada produk kosmetik. Hasil ini menunjukkan perlunya metode identifikasi yang cepat untuk mengontrol kandungan rhodamin dalam produk pangan.

Kata kunci: rhodamin B, spektrofotometri UV-Vis, KCKT, metode validasi.

Abstract: Rhodamine B is a colouring agent for paint industry, textile and paper. It causes irritation at respiration systems and has a carcinogenic effect. At high concentration rhodamine B causes liver damages. Nowadays, it has been reported being added into cosmetics and food product such as lipstick, eye shadow, rouge, food paste, and kerupuk. This research was conducted to determine rhodamine B in the products by using HPLC and spectrophotometry UV-Vis. It was done through sample collection, sample preparation, validation of analytical method, and analysis of rhodamine B using HPLC and spectrophotometry UV-Vis. The results of HPLC and spectrophotometry UV-Vis showed that four samples of kerupuk (57,14%) and four samples of food paste (50%) contained rhodamine B. However, rhodamine B was not found in cosmetics. The results showed the urgency of fast methods to identify rhodamine, thus its content in food products is carefully controlled.

Keywords: rhodamine B, spectrophotometry UV-Vis, HPLC, validation method.

PENDAHULUAN

PENGGUNAAN bahan tambahan atau zat aditif pada makanan semakin meningkat, terutama setelah adanya penemuan - penemuan termasuk keberhasilan dalam mensintesis bahan kimia baru yang lebih praktis, lebih murah, dan lebih mudah diperoleh. Penambahan bahan tambahan/zat aditif ke dalam makanan merupakan

hal yang dipandang perlu untuk meningkatkan mutu suatu produk sehingga mampu bersaing di pasaran. Penyalahgunaan zat pewarna sintetis untuk makananan sering terjadi, contohnya penggunaan zat pewarna untuk tekstil seperti rhodamin B dan *methanil yellow* pada beberapa jenis pangan seperti terasi dan sirop⁽¹⁾. Berdasarkan Keputusan Direktur Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Nomor 00386/C/SK/II/90 tentang zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya dalam obat, makanan dan kosmetika terdapat beberapa zat warna yang dilarang

* Penulis korespondensi, Hp. -
e-mail: aliya_nh@yahoo.com





penggunaannya; merupakan pewarna untuk tekstil; dalam sediaan kosmetika karena berpengaruh buruk terhadap kesehatan sang pemakai antara lain Jingga K1 (C.I. *Pigment Orange 5*, D&C *Orange No.17*), Merah K3 (C.I. *Pigment Red 53*, D&C *Red No.8*), Merah K10 (Rhodamin B, C.I. *Food Red 15*, D&C *Red No.19*) dan Merah K11 (C.I. 45170:1)⁽²⁾.

Timbulnya penyalahgunaan zat pewarna tersebut antara lain disebabkan oleh ketidaktahuan masyarakat mengenai zat pewarna untuk pangan dan juga karena harga zat pewarna untuk industri tekstil jauh lebih murah dibandingkan dengan zat pewarna untuk pangan⁽³⁾. Pemerintah Indonesia melalui Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes) No.239/Menkes/Per/V/85 menetapkan 30 zat pewarna berbahaya, rhodamin B termasuk salah satu zat pewarna yang dinyatakan sebagai zat pewarna berbahaya dan dilarang digunakan pada produk pangan^(4,5).

Penggunaan zat pewarna ini dilarang di Eropa mulai 1984 karena rhodamin B termasuk karsinogen yang kuat. Efek negatif lainnya adalah menyebabkan gangguan fungsi hati atau bahkan bisa menyebabkan timbulnya kanker hati⁽⁴⁾. Berdasarkan suatu penelitian terhadap rhodamin B yang dilakukan pada mencit, diketahui bahwa rhodamin B menyebabkan terjadinya perubahan sel hati dari normal menjadi nekrosis dan jaringan di sekitarnya mengalami disintegrasi. Kerusakan pada jaringan hati ditandai dengan adanya piknotik (sel yang melakukan pinositosis) dan hiperkromatik dari nukleus, degenerasi lemak dan sitolisis dari sitoplasma^(6,7).

Namun demikian, penyalahgunaan rhodamin B sebagai zat pewarna pada makanan masih sering terjadi di lapangan dan diberitakan di beberapa media massa. Hasil penelitian Soleh pada tahun 2003 menyatakan bahwa dari 25 sampel makanan dan minuman jajanan yang beredar di wilayah kota Bandung, terdapat 5 sampel yang positif mengandung zat warna yang dilarang pemerintah yaitu Rhodamin B yaitu produk sirup jajanan, kerupuk dan terasi merah⁽⁸⁾. Menurut hasil pemantauan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) bersama Kementerian Pendidikan Nasional dan Institut Pertanian Bogor (IPB) terhadap kantin di lebih dari 170.000 sekolah ditemukan hanya 0,9% kantin yang sehat. Sementara itu, hasil pencuplikan BPOM pada Januari sampai April 2010 di 128 sekolah dasar di Jakarta menunjukkan sekitar 21% mengandung bahan berbahaya, salah satunya rhodamin B⁽⁹⁾.

Oleh karena itu penelitian mengenai identifikasi rhodamin B dalam produk-produk tersebut perlu dilakukan agar masyarakat mendapatkan jaminan kesehatan dalam menggunakan sediaan kosmetik dan makanan. Metode yang digunakan meliputi

pengumpulan bahan baku dan sampel, validasi metode spektrofotometri UV-Vis dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), serta identifikasi rhodamin B dalam kosmetik dan makanan dengan spektrofotometer UV-Vis dan KCKT. Metode ini dipilih karena menghasilkan sensitifitas yang tinggi, sehingga dapat digunakan untuk mengetahui kandungan rhodamin dalam produk pangan dan kosmetik yang umumnya ditambahkan dalam jumlah sedikit.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Senyawa baku rhodamin B, sampel makanan (terasi, kerupuk berwarna merah), sampel kosmetik (lipstik, *eye shadow* dan *rouge*), aquades, etanol (Merck), formaldehid (Brataco), metanol (Merck), methanol pro HPLC (Merck), aquabidestilata, asetonitril pro HPLC (Merck).

Alat. Spektrofotometer UV (SEPCORD 200-222U170), timbangan analitik (Dragon 204), KCKT (Ultimate 3000) yang dilengkapi dengan detektor UV, *Manual Sample Injector Valve for Ultimate 3000*, kolom *Acclaim Polar C-18* dengan panjang kolom 250 mm dan ukuran partikel 5 μm , pH meter (Ohmeter).

METODE. Pengumpulan Sampel. Sampel makanan dan sampel kosmetik yang dicurigai mengandung rhodamin B dibeli dari tiga pasar tradisional di daerah Bandung masing-masing sejumlah tiga *batch* berbeda. Sampel makanan dan kosmetik yang digunakan adalah yang berwarna merah.

Identifikasi Rhodamin B Dengan Spektro UV-Vis dan KCKT. Penentuan panjang gelombang (λ) rhodamin B dilakukan dengan cara mengukur larutan baku rhodamin B dengan konsentrasi tertentu pada rentang λ 400-800 nm. Dalam analisis diambil satu λ maksimum untuk pengukuran. Pada penelitian ini juga dilakukan uji validasi untuk metode analisis kategori III (identifikasi) berdasarkan USP dan *International Conferences on Harmonisation (ICH)* untuk melihat kebenaran metode yang digunakan meliputi uji presisi dengan parameter nilai koefisien variasi (KV), spesifisitas dan penentuan batas deteksi (LOD). Optimasi kondisi KCKT dilakukan dengan membuat perubahan pada komposisi fase gerak sampai diperoleh kondisi yang optimum yang dihitung berdasarkan nilai resolusi dan persen KV untuk waktu retensi dan luas area di bawah kurva. Kondisi KCKT yang digunakan pada tahapan optimasi adalah kolom *Acclaim Polar C18*, ukuran partikel 5 μm , panjang kolom 250 mm, detektor Vis 546 nm, laju alir 1 mL/menit, volume injeksi 20 μL . Komposisi fase gerak yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1.



Tabel 1. Komposisi variasi fase gerak.

Fase Gerak	Metanol	Air	Dapar posfat pH 3,05
1	70	23	7
2	75	18	7
3	70	23	7
4	60	33	7
5	85	8	7
6	85	13	2
7	85	10	5
8	80	13	7

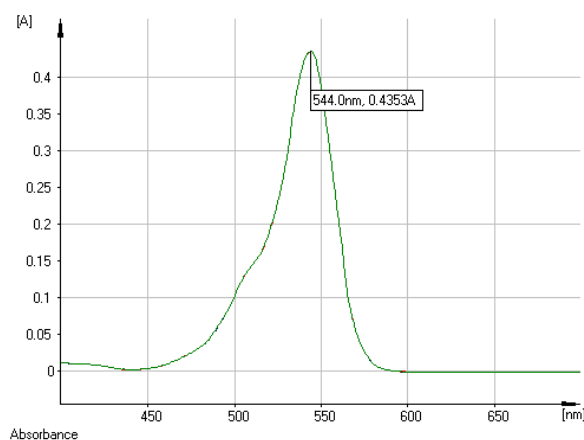
Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Uji validasi dilakukan untuk metode analisis kategori III (identifikasi) berdasarkan USP dan International Conferences on Harmonisation (ICH) untuk melihat kebenaran metode yang digunakan meliputi uji presisi dengan nilai KV untuk parameter presisi, spesifisitas, dan penentuan LOD.

Pemeriksaan Rhodamin B Dalam Sampel Kosmetik dan Makanan. Masing-masing bahan ditimbang (untuk sampel kerupuk dan terasi sebanyak ± 25 gram serta sampel lipstik, *eye shadow* dan *rouge* sebanyak ± 10 gram) kemudian digerus hingga halus dan diekstrak dengan menggunakan etanol (untuk sampel kerupuk sebanyak ± 50 mL, sampel terasi sebanyak ± 30 mL dan sampel lipstik, *eye shadow* serta *rouge* sebanyak ± 20 mL) selama ± 2 jam. Hasil ekstraksi kemudian diperiksa dengan spektrofotometer UV-Vis pada rentang λ 400-800 nm. Puncak maksimum pada λ 543,355 nm⁽¹⁰⁾ menunjukkan adanya senyawa rhodamin B. Sampel juga dianalisis menggunakan metode KCKT yang telah divalidasi sebelumnya untuk perbandingan hasil. Konfirmasi terhadap puncak maksimum dilakukan melalui *spiking* larutan baku rhodamin terhadap satu sampel terasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengumpulan Bahan Baku dan Sampel. Larutan baku rhodamin B 1000 ppm dibuat sebagai larutan induk dengan cara menimbang 0,1 gram rhodamin B baku, dilarutkan dalam etanol kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan etanol sampai tanda batas. Larutan rhodamin baku berbagai konsentrasi yaitu 4 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm dan 16 ppm dibuat dari larutan induk menggunakan pelarut etanol. Sampel makanan dan kosmetik yang diperiksa adalah 7 sampel kerupuk, 8 sampel terasi, 7 sampel lipstik dan 10 sampel *eyeshadow* dan *rouge* masing-masing sejumlah tiga batch.

Identifikasi Rhodamin B Dengan Spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengukuran larutan baku rhodamin B dengan konsentrasi 8



Gambar 1. Spektrum serapan larutan baku rhodamin 12 ppm.

ppm memberikan serapan maksimum pada λ 544 nm. Panjang gelombang serapan maksimum yang didapat berbeda dengan literatur λ 543,355 nm⁽¹⁰⁾. Perbedaan λ 1 nm masih dalam batas toleransi yang diperkenankan dalam Farmakope Indonesia Edisi IV tahun 1995 yaitu kurang lebih 3 nm. Hal ini berarti bahwa λ 544 nm masih dapat digunakan untuk analisis rhodamin B pada sampel.

Validasi Metode Spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini juga dilakukan uji validasi untuk metode analisis kategori III (identifikasi) berdasarkan USP dan *International Conferences on Harmonisation* (ICH) untuk melihat kebenaran metode yang digunakan meliputi uji presisi dengan parameter nilai KV, spesifisitas dan penentuan LOD.

Presisi adalah ukuran kedekatan nilai data satu dengan yang lainnya dalam suatu pengukuran pada kondisi analisis yang sama. Presisi menunjukkan distribusi masing-masing hasil uji di sekitar nilai rata-rata. Presisi sering kali dinyatakan sebagai persen *Relative Standard Deviation* (RSD) atau *Coefficient of Variation* (CV). Hasil penentuan uji presisi ditunjukkan oleh Tabel 2.

Pada penentuan presisi dihitung nilai simpangan baku dan KV-nya. Hasilnya memberikan nilai simpangan baku sebesar 0,037, 0,035, 0,032 serta KV rata-rata sebesar 0,46%, 0,29% dan 0,2%. Hasil ini menunjukkan bahwa KV yang didapat memenuhi kriteria yaitu $<2\%$ ⁽¹¹⁾. Dengan demikian metode spektrofotometri ultraviolet-visibel yang digunakan pada penelitian ini mempunyai ketelitian yang baik untuk penetapan kadar rhodamin B.

LOD ditentukan dari persamaan regresi linear kurva kalibrasi. Dari persamaan kurva kalibrasi tersebut diperoleh LOD 0,268 ppm. Rumus perhitungan LOD adalah sebagai berikut:

Tabel 2 Hasil penentuan uji presisi Spektrofotometri UV-Vis.

No	Konsentrasi sebenarnya (ppm)	Panjang gelombang maksimum	Konsentrasi hasil analisis (ppm)	Simpangan baku	Koefisien variasi (%)
1	8	544 nm	8,04	0,037	0,46
		544 nm	7,97		
		544 nm	8,026		
2	12	544 nm	12,023	0,035	0,29
		544 nm	12,037		
		544 nm	11,97		
3	16	546 nm	16,014	0,032	0,2
		545 nm	15,977		
		545 nm	15,95		

$$\text{LOD} = \frac{3S_b}{a} \quad (1)$$

Keterangan: S_b = Simpangan baku respon analitik dari blanko, a = slope.

Optimasi Kondisi Analisis Rhodamin B menggunakan KCKT. Penetapan kondisi penelitian dengan menggunakan KCKT dilakukan terhadap parameter kromatografi meliputi resolusi, waktu retensi, dan laju alir fase gerak dari berbagai variasi komposisi. Nilai resolusi yang dihasilkan harus $>1,5^{(12)}$. Fase gerak yang memberikan kondisi optimum adalah asetonitril:dapar fosfat pH 3,05: air (70:7:23) karena komposisi fase gerak tersebut menghasilkan peak yang tajam dan terpisah dengan baik antara rhodamin dan pelarutnya. Nilai resolusi yang dihasilkan dari penelitian ini adalah 3,21. Hasil penetapan optimasi kondisi KCKT untuk rhodamin adalah kolom *Acclaim Polar Advantage C18*, ukuran partikel 5 μm , panjang kolom 250 mm, fase gerak asetonitril: dapar fosfat pH 3,05: air (70: 7 : 23), deteksi dengan detektor Vis 546 nm dan 544 nm, laju alir 1 mL/menit, volume injeksi 20 μL .

Uji selektivitas dilakukan dengan menghitung nilai resolusi dari puncak kromatogram sampel dan puncak kromatogram lainnya yang terpisah (tidak tumpang tindih). Nilai selektivitas ini menggambarkan pemisahan antar 2 puncak kromatogram dimana nilai resolusi yang baik adalah lebih besar dari 1,5⁽¹²⁾. Hasil uji selektivitas dari fase gerak asetonitril : air : dapar

fosfat (70 : 23 :7) adalah 3,21. Nilai resolusi tersebut memenuhi syarat. Pengujian selektivitas dilakukan dengan melakukan pengukuran pewarna merah yaitu pewarna merah cabe dan dihasilkan puncak pada waktu retensi 6,96 menit yang menandakan bahwa metode analisis yang dilakukan selektif terhadap rhodamin (waktu retensi 3,92 menit).

Hasil uji kesesuaian sistem ditunjukkan pada Tabel 3. Berdasarkan hasil uji keterulangan, % KV untuk waktu retensi adalah 0% dan untuk luas area kromatogram adalah 1,365%. Hal ini menunjukkan bahwa hasil analisis uji keterulangan memenuhi persyaratan validasi karena memiliki nilai KV $<2\%^{(11)}$.

Validasi Metode Analisis Rhodamin B Menggunakan KCKT. Hasil uji presisi dari rhodamin dengan tiga konsentrasi yakni 8, 10 dan 14 $\mu\text{g/mL}$ dengan tiga kali ulangan. Hasil uji presisi dapat dilihat pada Tabel 4. Berdasarkan hasil analisis, presisi memenuhi kriteria validasi. Dimana konsentrasi rhodamin 8, 10 dan 14 $\mu\text{g/mL}$ memiliki presisi dengan nilai KV 0,78 %; 1,365 % dan 1,54%.

Pemeriksaan Rhodamin B pada Sampel Kosmetik dan Makanan dengan Spektrofotometer UV-Vis. Hasil identifikasi rhodamin B pada beberapa sampel dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada rentang λ 400-700 nm dapat dilihat di Tabel 5. Sampel yang positif mengandung rhodamin B karena memiliki serapan maksimum sekitar 544 nm, yaitu kerupuk A, kerupuk B, kerupuk C, kerupuk E, terasi A, terasi C,

Tabel 3. Hasil uji kesesuaian sistem KCKT.

Replikasi	Rhodamin 10 $\mu\text{g/mL}$	
	Luas Area	Waktu Retensi (menit)
1	26500000	3,927
2	26700000	3,92
3	26000000	3,92
rata-rata	26400000	26400000
SD	360555,1	0,004041
%KV	1,365739	0

Tabel 4. Hasil uji presisi KCKT.

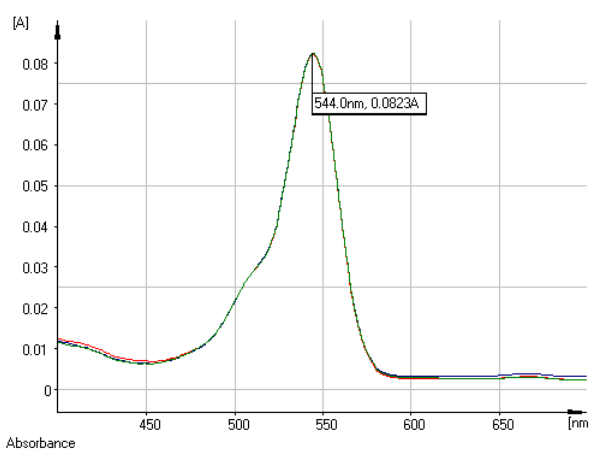
Replikasi	Konsentrasi		
	8 ppm	10 ppm	14 ppm
1	19600000	26500000	36400000
2	19700000	26700000	37500000
3	19400000	26000000	36700000
Rata-rata	19566667	26400000	36866667
SD	152752,5	360555,1	568624,1
%KV	0,780677	1,365739	1,54238

**Tabel 5. Hasil identifikasi rhodamin B dalam sampel dengan spektrofotometer UV-Vis.**

Sampel	Panjang gelombang maksimum (nm)	Absorbansi (A)	Hasil
Lipstik A	528	0.2246	-
Lipstik B	484	0.67245	-
Lipstik C	484	0.1089	-
Lipstik D	526	1.8151	-
Lipstik E	510	0.0584	-
Lipstik F	514	0.5175	-
Lipstik G	485	0.2439	-
Kerupuk A	545	0.1054	+
Kerupuk B	543	0.0747	+
Kerupuk C	546	0.0312	+
Kerupuk D	482	0.2021	-
Kerupuk E	546	0.1613	+
Kerupuk F	400	0.0101	-
Kerupuk G	400	0.0151	-
Terasi A	544	0.1518	+
Terasi B	439	0.1296	-
Terasi C	546	0.5229	+
Terasi D	400	0.3518	-
Terasi E	545	1.5806	+
Terasi F	546	1.5828	+
Terasi G	534	0.2214	-
Terasi H	468	0.0818	-
Eyeshadow A	552	0.5713	-
Eyeshadow B	506	0.3556	-
Eyeshadow C	523	0.5018	-
Eyeshadow D	511	0.2179	-
Rouge E	553	1.0596	-
Rouge F	553	0.6876	-
Rouge G	476	0.0678	-
Rouge H	501	0.1568	-
Rouge I	534	0.2376	-
Rouge J	553	0.5877	-

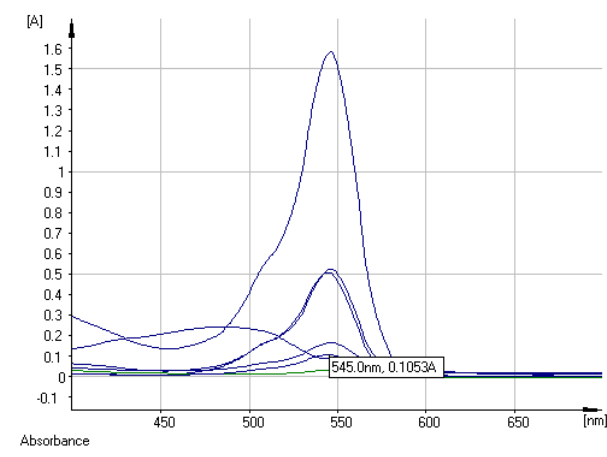
Tabel 6. Hasil identifikasi rhodamin B dalam sampel dengan KCKT.

Sampel	Waktu retensi (menit)	Hasil
Rhodamin B	3,8	+
Lipstik A	5	-
Lipstik B	4	-
Lipstik C	4,3	-
Lipstik D	5,8	-
Lipstik E	4,9	-
Lipstik F	5,2	-
Lipstik G	6	-
Kerupuk A	3,81	+
Kerupuk B	3,8	+
Kerupuk C	3,82	+
Kerupuk D	4,5	-
Kerupuk E	3,78	+
Kerupuk F	5	-
Kerupuk G	5,3	-
Terasi A	3,75	+
Terasi B	5	-
Terasi C	3,8	+
Terasi D	3,4	-
Terasi E	3,79	+
Terasi F	3,81	+
Terasi G	6,2	-
Terasi H	3,2	-
Eyeshadow A	4,5	-
Eyeshadow B	6,2	-
Eyeshadow C	4,9	-
Eyeshadow D	2,9	-
Rouge E	4,7	-
Rouge F	3,2	-
Rouge G	5,1	-
Rouge H	5,5	-
Rouge I	6	-
Rouge J	2,9	-

**Gambar 2. Spektrum hasil spiking larutan baku rhodamin ke dalam sampel.**

terasi E, dan terasi F. Dalam upaya mengkonfirmasi hasil spektrum dilakukan spiking larutan baku rhodamin B ke dalam satu larutan sampel terasi. Spektrum hasil spiking dapat dilihat pada Gambar 2.

Pemeriksaan Rhodamin B pada Sampel Kosmetik dan Makanan dengan KCKT. Identifikasi rhodamin B dalam sampel makanan dan kosmetik

**Gambar 3. Spektrum hasil overlay berbagai larutan sampel.**

dengan KCKT dilakukan dengan kondisi analisis yang sudah divalidasi. Hasil analisis dengan metode KCKT dapat dilihat pada Tabel 6. Beberapa sampel positif mengandung rhodamin B karena memiliki waktu retensi dengan rhodamin baku yaitu kerupuk A, kerupuk B, kerupuk C, kerupuk E, terasi A, terasi C, terasi E, dan terasi F.



SIMPULAN

Metode KCKT dan spektrofotometri UV-Vis yang dikembangkan memenuhi kriteria validasi dan dapat digunakan untuk identifikasi rhodamin B dalam produk makanan dan kosmetik. Hasil identifikasi dengan KCKT dan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan bahwa terdapat empat sampel kerupuk dan empat sampel terasi yang mengandung rhodamin B. Tidak terdapat rhodamin B pada produk kosmetik yang dianalisis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (Dirjen Dikti) atas bantuan dana penelitian melalui skema penelitian Hibah Bersaing tahun 2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Sardjimah A. Analisis zat warna. Buku Panduan Kuliah Analisis Obat, Kosmetika dan Makanan. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga; 1996. 56, 77.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Perubahan lampiran peraturan Menteri Kesehatan Nomor: 239/Menkes/Per/V/85 tentang zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya. Jakarta: Direktur Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan; 1994.
- Hidayati CSD. Bahan tambahan pangan. Yogyakarta: Kanisius; 2006. 51.
- Syah, *et al.* Manfaat dan bahaya bahan tambahan pangan. Bogor: Himpunan Alumni Fakultas Teknologi Pertanian IPB; 2005. 4.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan (Permenkes) No.239/Menkes/Per/V/85. Jakarta: Direktur Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan; 1992.
- Siswati P. Uji toksisitas zat warna rhodamine terhadap jaringan hati mencit (*Mus musculus*) galur Australia. diambil dari: URL:<http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jbptitbpp-gdl-s2-2000-pihipsiswa-1841>. diakses 20 Juni, 2011.
- Pohanish R. Sittig's handbook of toxic and hazardous chemicals and carcinogens. USA: Elsevier; 2008. 12.
- Cahyadi W. Analisis Dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: Bumi Aksara; 2005. 102-6.
- Kompas. 2011. Jajanan di Sekolah Rawan Zat Berbahaya. diambil dari URL:<http://health.kompas.com/index.php/read/2011/03/02/10150018/Jajanan.di.Sekolah.Rawan.Zat.Berbahaya>. diakses 5 Desember, 2011.
- Aldrich. Aldrich chemical catalogue. Milwaukee: Aldrich Chemical Company; 1992. 112.
- Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2004. 1(3):117-33.
- Harmita. Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi. Jakarta : Departemen Farmasi FMIPA UI; 2006. 57, 139, 151, 158-62, 165-6.