**KAJIAN KANDUNGAN PEMANIS SINTETIS NATRIUM SAKARIN DAN NATRIUM SIKLAMAT DALAM MINUMAN CUP YANG TIDAK TERCANTUM KADARNYA DI PASAR**

**TRADISIONAL UJUNG BERUNG**

|  |
| --- |
| **TUGAS AKHIR** |

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Sidang Tugas Akhir

Di Jurusan Teknologi Pangan

**Oleh :**

**Ika Mila Susanti**

**08.302.0010**

****

**JURUSAN TEKNOLOGI PANGAN**

**FAKULTAS TEKNIK**

**UNIVERSITAS PASUNDAN**

**BANDUNG**

**2013**

**KATA PENGANTAR**



Assalamualaikum Wr. Wb...

Puji syukur penulis ucapkan atas kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya yang tiada hentinya, sehingga dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul “Kajian Kandungan Pemanis Sintetis Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat dalam Minuman Cup yang Tidak Tercantum kadarnya Di Pasar Tradisional Ujung Berung”.

Tugas Akhir ini merupakan salah satu kegiatan akademik yang wajib dilaksanakan oleh setiap mahasiswa Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan.

Tugas Akhir ini dapat terselesaikan berkat bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang
sebesar - besarnya kepada :

1. Ibu Dra Hj. Ela Turmala, M.Si. selaku pembimbing utama dan Koordinator Tugas Akhir yang sabar dalam membimbing dan memberikan arahan dalam penulisan laporan.
2. Bapak Dr. Ir. H. Willy Pranata W., M.Si. selaku pembimbing pendamping yang selalu sabar membimbing dan memberikan arahan dalam penulisan laporan.
3. Dr. Ir. Leni Herliani Afrianti, MP selaku penguji yang bersedia meluangkan waktu dan memberikan arahan dalam penulisan laporan.
4. Kedua orang tua tercinta, Bapak Triyata dan Ibu Sumilah serta adik tersayang Adhi Sulaiman yang selalu memberi dukungan secara moril dan materil serta menjadi sumber motivasi terbesar bagi penulis untuk terus berkarya.
5. Sahabat seperjuangan Gita, Putri, Dina, Dwi, Astri, Yulia, Nela, Anis, Debby, Aida, Iin, Arin, Lisda dan teman-teman seangkatan 2008 yang selalu memberi bantuan semangat dan dukungannya.
6. Teman kosan Rimayang Anggun P.R, Herlia, Eva yang selalu memberikan dukungan, bantuan dan semangat.
7. Seluruh dosen jurusan Teknologi Pangan yang telah memberikan ilmu yang sangat bermanfaat kepada penulis.
8. Seluruh karyawan dan staf di Jurusan Teknologi Pangan yang memberikan banyak bantuan dan suasana yang nyaman serta bersahabat.

Semoga amal baik berupa bantuan dan petunjuk selama penyusunan Tugas Akhir ini mendapat balasan dari Allah SWT.

Penulis sadar bahwa dalam penulisan Tugas Akhir ini masih jauh dari kata sempurna, untuk itu menulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Akhirnya penulis berharap semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya, maupun bagi semua pihak umumnya.

Bandung, Mei 2013

Penulis

**DAFTAR ISI**

 **Halaman**

**KATA PENGANTAR** i

**DAFTAR ISI** iii

**DAFTAR TABEL** v

**DAFTAR GAMBAR** vi

**DAFTAR LAMPIRAN** vii

**INTISARI** viii

***ABSTRACT*** ix

**I. PENDAHULUAN** 1

1.1. Latar Belakang Penelitian 1

1.2. Identifikasi Masalah 6

1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian 6

1.4. Manfaat Penelitian 6

1.5. Kerangka Pemikiran 6

1.6. Hipotesis Penelitian 10

1.7. Tempat dan Waktu Penelitian 10

**II. TINJAUAN PUSTAKA** 11

2.1. Bahan Tambahan Pangan (BTP) 11

2.2. Bahan Pemanis 16

2.2.1. Pemanis Alami 16

2.2.2. Pemanis Sintetis 17

2.3. Natrium Sakarin 20

2.4. Natrium Siklamat 24

2.5. Metode Analisis Pemanis Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat 27

2.5. 1. Metode Analisis Pemanis Natrium Sakarin 27

2.5.1.1. Preparasi Sampel 27

2.5.1.2. Analisis Kualitatif Natrium Sakarin 27

2.5.1.3. Analisis Kuantitatif Natrium Sakarin 28

2.5. 2. Metode Analisis Pemanis Natrium Siklamat 29

2.5.1.1. Analisis Kualitatif Natrium Siklamat 29

2.5.1.2. Analisis Kuantitatif Natrium Siklamat 30

2.6. Kromatografi 31

2.6.1. Prinsip Dasar Kromatografi Partisi Cair-cair 32

2.6.2. Kromatografi Partisi Cair-cair 33

2.6.3. Kromatografi Ekstraksi Fase Terbalik 34

2.6.4. Kromatografi Kertas 35

2.6.5. Teknik Kromatografi Kertas 35

2.6.6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) 36

2.6.7. Kromatografi Pasangan Ion 36

2.7. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) 37

2.7.1. Kromatografi Adsorpsi 39

2.7.2. Kromatografi Partisi 40

2.7.3. Kromatografi Penukar Ion 40

2.7.4. Kromatografi Eksklusi Ukuran 40

**III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN** 47

3.1. Bahan dan Alat Penelitian 47

3.2. Metode Penelitian 47

3.3. Deskripsi Penelitian 49

3.3.1. Survey Pasar 49

3.3.2. Pengambilan Sampel 49

3.3.3. Preparasi Sampel 50

3.3.4. Pembuatan Larutan Standar Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat 50

3.3.5. Pengkondisian Alat untuk Pemanis Sintetis Natrium Sakarin dan

Natrium Siklamat 51

**IV. HASIL ANALISIS DAN PEMBAHASAN** 53

4.1. Hasil Analisis dan Pembahasan Natrium Sakarin 53

4.2. Hasil Analisis dan Pembahasan Natrium Siklamat 58

**V. KESIMPULAN DAN SARAN** 66

**DAFTAR PUSTAKA** 68

**DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1. Jenis Bahan Tambahan Makanan yang Dibatas dan Dilarang Penggunaannya 15

Tabel 2.2. Intensitas Berbagai Pemanis Dibandingkan dengan Sukrosa

 (Gula Pasir) 19

Tabel 4.1. Hasil Analisis Natrium Sakarin 53

Tabel 4.2. Hasil Analisis Natrium Siklamat 57

Tabel L1.1. Hasil Pengukuran Larutan Standar Natrium Sakarin. 72

Tabel L1.2. Hasil Pengukuran Larutan Standar Natrium Siklamat. 74

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1. Struktur Kimia Natrium Sakarin 22

Gambar 2.2. Struktur Kimia Natrium Siklamat 26

Gambar 2.3. Diagram Blok Sistem KCKT 42

Gambar 2.4. Diagram Alir Kajian Kandungan Pemanis Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat pada Beberapa Minuman Cup Di Pasar Tradisional Ujung Berung 52

Gambar 4.1. Efek Subtitusi dari Sakarin 56

Gambar L4.1. Kromatogram Larutan Standar Natrium Sakarin 80 ppm 82

Gambar L4.2. Kromatogram Larutan Standar Natrium Sakarin 90.000 ppm 82

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Pembuatan Larutan Standar Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat 72

Lampiran 2. Pengujian Kandungan Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat dalam Berbagai Sampel 75

Lampiran 3. Perhitungan LOD (Batas Deteksi) dan LOQ (Batas Kuantitasi) Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat 79

Lampiran 4. Gambar Kromatogram Larutan Baku Standar 82

Lampiran 5. Gambar Kromatogram Sampel 83

Lampiran 6. Sampel Minuman Cup 84

**INTISARI**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menginformasikan kepada masyarakat luas tentang kandungan pemanis sintetis dalam minuman cup yang tidak tercantum kadarnya. Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengingatkan kepada masyarakat sebagai konsumen agar dapat lebih selektif dalam membeli produk minuman cup yang tidak tercantum kadar pemanisnya.

Metode yang digunakan pada analisis kandungan natrium sakarin dan natrium siklamat dalam minuman cup secara kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Hasil penelitian terhadap kadar natrium sakarin dan natrium siklamat pada 30 sampel minuman cup, dimana teh (merk x) mengandung natrium sakarin dengan konsentrasi dari 46,67 ppm sampai 72,15 ppm dan konsentrasi natrium siklamat dari 49.162 ppm sampai 148.617 ppm. Untuk sampel sari kelapa (merk y) mengandung natrium sakarin dari 35,08 ppm sampai 110,56 ppm dan konsentrasi natrium siklamat dari 77.113 ppm sampai 262.773 ppm. Dan pada sampel es teler (merk z) terdapat satu sampel yang mengandung natrium sakarin dengan konsentrasi 13,30 ppm dan konsentrasi natrium siklamat dari 71.394 ppm sampai 201.240 ppm dengan tanggal kedaluarsa yang berbeda-beda pada masing-masing sampel. Sedangkan konsentrasi natrium sakarin dan natrium siklamat menurut Permenkes RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 berturut-turut adalah 300 ppm dan 3000 ppm.

Kata Kunci : Pemanis Sintetis, Natrium Sakarin, Natrium Siklamat, Minuman Cup

***ABSTRACT***

*The purpose of this research is to inform the general public about the content of synthetic sweeteners in beverage cup that is not listed levels. The benefit of research is to remind the public as consumers to be more selective in buying products beverage cup that are not listed levels of sweetener.*

*The method used in analysis of content sodium saccharin and sodium cyclamate in beverages cup in a qualitative and quantitative manner by using High Performance Liquid Chromatography (HPLC).*

*The results on levels of sodium saccharin and sodium cyclamate on 30 samples of beverage cup, where tea (brand x) containing sodium saccharin with concentration of 46,67 ppm to 72,15 ppm and the concentration of sodium cyclamate from 49.162 ppm to 148.617 ppm. For samples of coconut juice
(brand y) containing sodium saccharin from 35,08 ppm to 110,56 ppm, and the concentration of sodium cyclamate from 77.113 ppm to 262.773 ppm. And the ice sample jazzed (brand z) are the samples containing sodium saccharin 13,30 ppm and the concentration of sodium cyclamate from 71.394 ppm to 201.240 ppm with expired different dates in each sample. While the concentration of sodium saccharin and sodium cyclamate by Permenkes RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 consecutive is 300 ppm and 3000 ppm.*

*Key Words: Synthetic Sweeteners, Sodium Saccharin, Sodium cyclamate, Beverage Cup*

I. PENDAHULUAN

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Latar Belakang Penelitian,
(2) Identifikasi Masalah, (3) Maksud dan Tujuan Penelitian, (4) Manfaat Penelitian, (5) Kerangka Pemikiran, (6) Hipotesis Penelitian, dan (7) Tempat dan Waktu Penelitian.

* 1. **Latar Belakang Penelitian**

Makanan jajanan adalah makanan dan minuman yang diolah oleh pengrajin makanan dan minuman di tempat penjualan dan disajikan sebagai makanan atau minuman yang siap santap yang dijual bagi umum selain yang disajikan jasa boga, rumah makan atau restoran dan hotel (Napitupulu, 2006).

Minuman ringan adalah minuman yang tidak mengandung alkohol, merupakan minuman olahan dalam bentuk bubur atau cair yang mengandung bahan makanan atau bahan tambahan lainnya, baik alami maupun sintetis yang dikemas dalam kemasan siap saji. Bahan tambahan tersebut dapat berupa pemanis buatan (Putra, 2011).

Seiring dengan kesibukan masyarakat kota, saat ini banyak sekali yang memilih membeli makanan diluar atau dengan kata lain, jajan. Perlu kita sadari bahwa sering kali makanan hasil buatan industri rumah tangga mengandung bahan tambahan makanan yang berbahaya, salah satunya adalah pemanis buatan yang diizinkan, tetapi dalam jumlah yang berlebihan (Yuliarti, 2007).

Pemanis merupakan senyawa kimia yang ditambahkan dan digunakan untuk keperluan produk olahan pangan, industri, serta minuman dan makanan kesehatan. Pemanis berfungsi untuk meningkatkan cita rasa dan aroma, memperbaiki
sifat-sifat fisik, sebagai pengawet, memperbaiki sifat-sifat kimia sekaligus merupakan sumber kalori bagi tubuh, mengembangkan jenis minuman dan makanan dengan jumlah kalori terkontrol, mengontrol program pemeliharaan dan penurunan berat badan, mengurangi kerusakan gigi, dan sebagai bahan subtitusi pemanis utama (Yuliany, 2005).

Lembaga Konsumen Jakarta (LJK) pernah menyampaikan bahwa 9 jenis makanan dari 48 jenis makanan khususnya makanan anak-anak menggunakan pemanis buatan yang efeknya negatif dapat mempengaruhi syaraf otak dan penyakit ganas (Susant, 2010).

Pemanis buatan banyak dipakai pedagang kecil dan industri rumahan karena dapat menghemat biaya produksi. Harga pemanis buatan jauh lebih murah dibandingkan dengan gula asli. Berdasarkan kajian Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) di beberapa sekolah dasar (SD) di Malang, Jawa Timur, menemukan ada konsumsi pada level yang tidak aman pada penggunaan bahan pemanis buatan natrium sakarin dan natrium siklamat. BPOM hanya melakukan kajian terhadap natrium siklamat dan natrium sakarin karena pemanis buatan ini digunakan tanpa batas oleh pedagang jajanan anak sekolah. Natrium sakarin dan natrium siklamat harganya jauh lebih murah dibandingkan dengan pemanis lainnya seperti aspartam, acesulfam, alitam, dan neotam (Simatupang, 2009).

Hasil uji yang dilakukan BPOM bahwa penggunaan pemanis natrium siklamat umumnya dikombinasikan dengan pemanis natrium sakarin. Namun sayangnya penggunaan natrium siklamat pada tataran yang paling rendah seperti yang dilakukan para penjual jajanan anak sekolah tidak diikuti dengan menerapkan cara produksi pangan yang baik (Suratmono, 2009).

Harga natrium sakarin yang lebih murah dibanding natrium siklamat, sehingga seringkali penggunaan natrium siklamat dicampur dengan natrium sakarin untuk memperoleh rasa manis dengan menggunakan sedikit bahan pemanis saja. Berdasarkan hasil uji penetapan kadar tanin, natrium sakarin, dan natrium benzoat pada minuman teh kemasan yang tidak mencantumkan pemanis buatan natrium sakarin pada label dan hanya mencantumkan pemanis buatan natrium siklamat 95 mg/180 ml diketahui mengandung natrium sakarin dengan kadar 16,5 ppm (Nugraheni, 2011).

Menurut hasil survey di pasar tradisional Ujung Berung, terutama di toko grosiran banyak yang menjual minuman cup sejenis teh, sari kelapa, dan es teler dengan berbagai merk, yang memasok para penjual minuman cup ini
disekolah-sekolah dan terminal di sekitar pasar Ujung Berung dengan harga yang cukup murah yaitu Rp 500, untuk ukuran cup kecil dan Rp 1000, untuk ukuran cup yang lebih besar. Di area sekitar pasar ujung berung ini terdapat terminal dan sekolah diantaranya SMP 8 Bandung dan SD Andirkidul 1 yang berlokasi sangat dekat dengan pasar Ujung Berung.

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.208/Menkes/Per/IV/1985 dan Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/Menkes/Per/IX/88, kadar maksimum natrium sakarin dan natrium siklamat berturut-turut sebesar 300 mg/kg dan 3 g/kg bagi mereka yang memerlukan makanan berkalori rendah. Penggunaan natrium sakarin melebihi batas maksimum yang diizinkan dapat menimbulkan gangguan terhadap kesehatan yaitu alergi dan kanker kandung kemih.

Pemanis alami yang biasa digunakan sehari-hari adalah gula tebu (gula pasir) dan gula merah. Gula tebu tergolong karbohidrat dan mempunyai nilai kalori yang tinggi dibandingkan pemanis sintetis seperti natrium sakarin dan natrium siklamat. Bahaya yang ditimbulkan jika pemanis alami dikonsumsi secara berlebihan dapat menyebabkan *obesitas* (kelebihan berat badan) (Wandy, 2012).

Penelitian yang dilakukan oleh US-FDA dengan *National Academy of Science* (NAS) pada tahun 1978, hasil penelitian diumumkan dan berkesimpulan bahwa natrium sakarin memang bersifat karsinogenik pada binatang meskipun tergolong mempunyai potensi yang rendah dan mempunyai potensi penyebab kanker pada manusia, sedangkan *impurities* yang terdapat didalamnya bukan bersifat karsinogenik (Yuliany, 2005).

Dari hasil penelitian di Kanada, bahwa penggunaan 5% natrium sakarin dalam ransum tikus dapat merangsang terjadinya tumor di kandung kemih. Dengan alasan tersebut telah diusahakan larangan penggunaan natrium sakarin dalam *diet food and beverage* (Winarno, 1997).

Konsumsi natrium sakarin dalam dosis yang berlebih mampu memutuskan plasenta pada bayi. Selain itu secara khusus pengkonsumsian natrium sakarin akan menimbulkan dampak dermatologis bagi anak-anak yang alergi terhadap sulfamat kemudian akan memacu tumbuhnya tumor yang bersifat karsinogen. Sakarin dalam bentuk garam yaitu natrium sakarin di dalam tubuh tidak mengalami metabolisme sehingga natrium sakarin ini diekskresikan melalui urin tanpa perubahan kimia. Bagaimanapun natrium sakarin mampu keluar dari tubuh dalam bentuk utuh, namun tetap saja akan ada zat-zat tesebut yang masih tertinggal di dalam tubuh. Tertinggalnya sakarin dalam tubuh ini karena tidak bisa dimetabolisme oleh tubuh maka semakin lama akan mengalami penumpukan dalam tubuh dan mampu menjadi sesuatu yang berbahaya bagi tubuh
(Lestari, 2011).

Pada tahun 1969 dilaporkan hasil penelitian natrium siklamat menyebabkan timbulnya kanker kandung kemih pada tikus yang diberi ransum natrium sakarin dan natrium siklamat, sehingga pada tahun 1972 US-FDA mencabut natrium sakarin dari daftar *Generally Recognised As Safe (*GRAS). Adanya bukti cemaran natrium siklamat yaitu *cyclohexylamine* mempunyai sifat karsinogenik menyebabkan US-FDA segera mencabut natrium siklamat dari daftar GRAS dan menyarankan penghapusan bagi penggunaan natrium siklamat dalam makanan (Yuliany, 2005).

Selain itu, natrium siklamat memunculkan banyak gangguan bagi kesehatan, diantaranya migrain, sakit kepala, kehilangan daya ingat, bingung, insomnia, iritasi, asma, hipertensi sakit perut, alergi impotensi, gangguan seksual, kebotakan dan kanker otak (Simatupang, 2009).

Berdasarkan latar belakang diatas, semakin banyaknya penggunaan jenis pemanis sintetis natrium sakarin dan natrium siklamat pada minuman cup merupakan salah satu alasan perlunya dilakukan pengujian secara kualitatif dan kuantitatif pada minuman cup.

* 1. **Identifikasi Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas dapat diidentifikasi masalah, yaitu: apakah kadar pemanis sintetis (natrium sakarin dan natrium siklamat) yang terdapat pada minuman cup melebihi batas maksimum yang telah ditentukan oleh pemerintah?

* 1. **Maksud dan Tujuan Penelitian**

Maksud dari penelitian ini adalah untuk menentukan kadar pemanis sintetis natrium sakarin dan natrium siklamat yang terdapat pada minuman cup, mengingat bahaya yang ditimbulkannya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menginformasikan kepada masyarakat luas tentang kandungan pemanis sintetis dalam minuman cup yang tidak tercantum kadarnya.

* 1. **Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengingatkan kepada masyarakat sebagai konsumen agar dapat lebih selektif dalam membeli produk minuman cup yang tidak tercantum kadar pemanisnya.

* 1. **Kerangka Pemikiran**

Di Indonesia menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI
No. 722/Menkes/Per/1X/88 kadar maksimum natrium siklamat yang diperbolehkan dalam makanan berkalori rendah dan untuk penderita diabetes melitus adalah 3 g/kg atau 3000 ppm bahan makanan atau minuman. Menurut WHO batas konsumsi harian siklamat yang aman (ADI) adalah 11 mg/kg atau
11 ppm berat badan. Sedangkan pemakaian natrium sakarin menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No 208/Menkes/Per/1V/85 tentang pemanis buatan dan Peraturan Menteri Kesehatan RI No 722/Menkes/Per/1X/88 tentang bahan tambahan pangan, menyatakan bahwa pada makanan atau minuman olahan khusus yaitu berkalori rendah dan untuk penderita penyakit *diabetes melitus* kadar maksimum natrium sakarin yang diperbolehkan adalah 300 mg/kg.

Natrium sakarin merupakan pemanis buatan kelompok nonkalori. Natrium sakarin baru dinyatakan aman dikonsumsi setelah tercantum sebagai bahan tambahan yang aman dalam GRAS di Amerika Serikat pada tahun 1960 dengan catatan batas penggunaan maksimumnya diturunkan dari yang diajukan semula (Syah, 2005).

Natrium siklamat sebagai pemanis buatan berbentuk kristal putih, tidak berbau, tidak berwarna, dan mudah larut dalam air dan etanol, serta berasa manis. Natrium siklamat memiliki tingkat kemanisan relatif sebesar 30 kali tingkat kemanisan sukrosa dengan tanpa nilai kalori. Kombinasi penggunaannya dengan natrium sakarin dan atau asesulfam-K bersifat sinergis, dan kompatibel dengan pencitarasa dan bahan pengawet (SNI 01-6993-2004).

Natrium siklamat jika dikombinasikan dengan pemanis non kalori lainnya akan menghasilkan efek sinergis, memberi rasa manis lebih besar dibandingkan digunakan secara tunggal. Selain itu, *after taste* yang timbul dari penggunaan tunggal dapat ditutupi dengan penggunaan kombinasi pemanis. Contohnya campuran 10 bagian natrium siklamat dan 1 bagaian natrium sakarin sudah digunakan secara luas pada makanan dan minuman sejak tahun 1960
(Suratmono, 2009).

Negara (2011), menyatakan bahwa dari hasil penelitian menunjukkan bahwa 10 sampel minuman yang diperiksa di Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya, 5 sampel positif mengandung natrium sakarin, 3 sampel positif mengandung natrium siklamat, 2 sampel positif natrium sakarin dan natrium siklamat dan 4 sampel negatif mengandung natrium sakarin dan natrium siklamat. Kadar natrium sakarin pada sampel minuman berada pada range 0,00 – 110,99 mg/l sedangkan siklamat berada pada range 0,00 – 78,30 mg/l.

Pengujian pada minuman jajanan anak sekolah di 27 propinsi ditemukan hanya sekitar 8,2% contoh yang memenuhi persyaratan penggunaan BTP, terutama untuk zat pewarna, pengawet dan pemanis yang digunakan sebanyak 25,57% contoh minuman mengandung natrium sakarin dan 70,6% mengandung natrium siklamat (Cahyono, 2002).

Berdasarkan hasil penelitian mengenai “Penentuan Identifikasi Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat Dalam Minuman Es Sirup yang Beredar di Pasar Raya Padang”. Penetapan kadar dilakukan pada 3 sampel yang berbeda. Hasil penetapan kadar sampel A mengandung natrium siklamat sebanyak 0,0093 %, sampel B 0,01 %, sampel C 0,0124 %. Hasil ini menunjukkan bahwa kadar siklamat pada masing-masing sampel tidak melebihi kadar yang diperbolehkan menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.208/MenKes/Per/IV/85 Tentang Bahan Tambahan Makanan pada minuman ringan, yaitu 1 g/kg bahan atau 0,1% bahan (Danur, 2010).

Dinas Kesehatan melakukan inspeksi mendadak terhadap 40 Madrasah Ibtidaiyah (MI) di seluruh Kota Depok mengambil 720 sampel makanan yang dicurigai mengandung bahan makanan berbahaya. Hal itu dikatakan Kepala Seksi Pengawas Obat dan Makanan (POM), saat melakukan inspeksi mendadak jajanan anak sekolah di MI Sirojul Athfal, Jalan Pitara, Kecamatan Pancoran Mas, Kota Depok, Senin (28/5/12). Berdasarkan hasil uji laboratorium tahun lalu ditemukan adanya kandungan formalin sebanyak lima persen dari 60 sample yang diambil terdapat 1,67 persen makanan mengandung boraks dan 6,67 persen makanan mengandung natrium siklamat lebih dari ambang batas (Oktavia, 2012).

Berdasarkan hasil penelitian terhadap kadar pemanis sintetis pada sampel makanan jajanan (es mambo, sirup, es kelapa, muda, cincau dan manisan) dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) diketahui terdapat pemanis natrium sakarin dan natrium siklamat. Kandungan natrium sakarin pada sampel es mambo dengan kadar rata-rata 270,2 ppm, pada sampel manisan 16,46 ppm, dan pada sampel cincau dengan kadar rata-rata 34,97 ppm. Kandungan natrium siklamat pada sampel sirup dengan kadar rata-rata
270,2 ppm dan pada sampel es kelapa muda dengan kadar rata-rata 36,4 ppm
(Yuliany, 2005).

* 1. **Hipotesis** **Penelitian**

Berdasarkan kerangka pemikiran di atas, maka dapat dikemukakan hipotesis bahwa diduga terdapat pemanis sintetis (natrium sakarin dan natrium siklamat) yang digunakan dalam minuman cup.

* 1. **Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Maret 2013, tempat yang digunakan dalam penelitian ini adalah di Laboratorium Kimia Universitas Pendidikan Indonesia.

**II. TINJAUAN PUSTAKA**

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Bahan Tambahan Pangan (BTP), (1) Bahan Pemanis, (3) Natrium Sakarin, (4) Natrium Siklamat dan (5) Metode Analisis Pemanis Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat (6) Kromatografi, dan (7) Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

**2.1 Bahan Tambahan Pangan**

#### Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 722/Menkes/PER/IX/88, bahan tambahan pangan adalah setiap substansi yang tidak umum dikonsumsi sebagai makanan dan tidak umum dipakai sebagai suatu kandungan tertentu dari makanan, apakah ada atau tidak nilai gizinya, untuk suatu tujuan tertentu.

Bahan tambahan pangan (BTP) adalah bahan yang ditambahkan kedalam makanan untuk mempengaruhi sifat ataupun bentuk makanan. Bahan tambahan pangan itu bisa memiliki nilai gizi, atau tidak memiliki nilai gizi. Menurut ketentuan yang ditetapkan, ada beberapa kategori BTP. Pertama, bahan tambahan pangan yang bersifat aman, dengan dosis yang tidak dibatasi, misalnya pati. Kedua, bahan tambahan pangan yang digunakan dengan dosis tertentu, dan dengan demikian dosis maksimum penggunaannya juga telah ditetapkan. Ketiga, bahan tambahan pangan yang aman dan dalam dosis yang tepat, serta telah mendapatkan izin beredar dari instansi yang berwenang. Sebaiknya kita menggunakan bahan tambahan pangan secara tepat sebab apabila tidak demikian maka bahan tambahan pangan ini dapat pula mengakibatkan gangguan kesehatan. Gangguan kesehatan yang terjadi mungkin tidak akan langsung dirasakan, tetapi bisa pula muncul beberapa tahun setelah mengonsumsi makanan tersebut (Yuliarti, 2007).

Berdasarkan jenisnya bahan tambahan makanan dibagi menjadi dua bagian yaitu: (1) Dengan sengaja ditambahkan (*Intentional Additives*), yaitu bahan tambahan yang diberikan dengan sengaja dengan maksud dan tujuan tertentu, untuk meningkatkan konsistensi nilai gizi, citarasa, mengendalikan pengasaman, dan (2) Tidak sengaja ditambahkan (*Unitentional Aditives*), yaitu bahan tambahan makanan yang terdapat dalam makanan dalam jumlah yang sangat kecil sebagai akibat dari proses pengolahan (Napitupulu, 2006).

Penggunaan BTP pada industri pengolahan pangan sudah tidak dapat dihindari terutama untuk memenuhi kebutuhan konsumen akan produk olahan yang menarik, praktis, dapat disimpan lama, aman dan bergizi. Namun kenyataan penggunaannya melebihi batas maksimum yang diizinkan sehingga sangat beresiko pada konsumen maka perlu kehati-hatian dan mengacu pada peraturan yang berlaku. Peranan pemerintah dan segenap lapisan masyarakat dalam mengawasi penggunaan BTP di pasaran perlu ditingkatkan sehingga konsumen terhindar dari bahaya penggunaan BTP (Sarjana, 2009).

Penyimpangan atau pelanggaran mengenai penggunaan BTP yang sering dilakukan oleh produsen pangan, yaitu: Menggunakan bahan tambahan yang dilarang penggunaannya untuk makanan dan menggunakan BTP melebihi dosis yang diizinkan. Penggunaan bahan tambahan pangan beracun yang melebihi batas akan membahayakan kesehatan masyarakat, dan bahaya bagi pertumbuhan generasi yang akan datang. Karena itu produsen pangan perlu mengetahui mengenai sifat-sifat dan keamanan menggunakan BTP, serta mengetahui peraturan-peraturan yang telah dikeluarkan oleh pemerintah mengenai penggunaan BTP. Secara khusus tujuan penggunaan BTP di dalam pangan adalah untuk: (1) Mengawetkan makanan dengan mencegah pertumbuhan mikroba perusak pangan atau mencegah terjadinya reaksi kimia yang dapat menurunkan mutu pangan, (2) Membentuk makanan menjadi lebih baik, renyah dan lebih enak di mulut, (3) Memberikan warna dan aroma yang lebih menarik sehingga menambah selera, (4) Meningkatkan kualitas pangan dan (5) Menghemat biaya (Syah, 2005).

Di Indonesia telah disusun peraturan tentang Bahan Tambahan Makanan yang di izinkan ditambahkan dan yang dilarang (Bahan Tambahan Kimia) oleh Departemen Kesehatan diatur dengan Peraturan Menteri Kesehatan RI
No. 722/Menkes/Per/IX/88, terdiri dari golongan:

1. Antioksidan (*antioxidant*)

2. Antikempal (*anticaking agent*)

3. Pengatur keasaman (*acidity regulator*)

4. Pemanis buatan (*artificial sweeterner*)

5. Pemutih dan pematang telur (*flour treatment agent*)

6. Pengemulsi, pemantap, dan pengental (*emulsifier, stabilizer, thickener*)

7. Pengawet (*preservative*)

8. Pengeras (*firming agent*)

9. Pewarna (*colour*)

10. Penyedap rasa dan aroma, penguat rasa (*flavour, flavour enhancer*)

11. Sekuestran (*sequestrant*)

Beberapa bahan tambahan yang dilarang digunakan dalam makanan, menurut Permenkes RI No. 1168/Menkes/Per/X/1999/ sebagai berikut :

1. Asam Borat (*Boric Acid*) dan senyawanya

2. Asam Salisilat dan garamnya (*Salicylic Acid and its salt*)

3. Dietilpirokarbonat (*Diethylpirocarbonate* DEPC)

4. Dulsin (*Dulcin*)

5. Kalium Klorat (*Potassium Chlorate*)

6. Kloramfenikol (*Chloramphenicol*)

7. Minyak Nabati yang dibrominasi (*Brominated vegetable oils*)

8. Nitrofurazon (*Nitrofurazone*)

9. Formalin (*Formaldehyde*)

10. Kalium Bromat (*Potassium Bromate*)

Beberapa bahan pengawet, bahan pemanis sintetis, bahan tambahan makanan dan pembentuk cita rasa dibatasi atau dilarang penggunaannya karena tergolong karsinogenik. Beberapa bahan tambahan tersebut dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Jenis Bahan Tambahan Makanan yang Dibatasi dan yang Dilarang Penggunaannya

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **No.** | **KELOMPOK** | **JENIS BAHAN TAMBAHAN** | **KETERANGAN** |
| 1. | Bahan Pengawet | Dietilpirokarbonat (DEP)KloroformNitrofuranAsam benzoatMetil p-hidroksi benzoatPropil p-hidroksi benzoatNatrium nitrit | DilarangDilarangDilarangDibatasiDibatasiDibatasiDibatasi |
| 2. | Bahan Pemanis Sintetis | Dulsin dan P. 4000Natrium Siklamat (≤ 1$\frac{1}{2}$ g/org/hari)Natrium Sakarin (≤ 1 g/org/hari atau ≤ 15 mg/kg bb/hari) | DilarangDibatasiDibatasi |
| 3. | Pembentuk Cita Rasa | KoumarinSafrolMinyak kalamusSinamil antranilat | DilarangDilarangDilarangDilarang |
| 4. | Bahan Antioksidan | Asam askorbatBHATert-butihidrokinonTokoferol | DibatasiDibatasiDibatasiDibatasi |
| 5.  | Bahan Anti busa | Dimetilpolisiloksan | Dibatasi |
| 6. | Bahan Pengental | Metilsellulosa, CMCAsam alginat | DibatasiDibatasi |
| 7. | Bahan Pemantap | Propilenglikol | Dibatasi |
| 8. | Bahan Pemutih | Benzoilperoksida | Dibatasi |
| 9. | Bahan Pewarna | Amaran karminKurkumin | DibatasiDibatasi |

(Sumber: Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 239/Menkes/Per/V/1985)

**2.2 Bahan Pemanis**

Menurut SNI 01-6993-2004 pemanis buatan adalah bahan tambahan pangan yang dapat menyebabkan terutama rasa manis pada produk pangan yang tidak atau sedikit mempunyai nilai gizi atau kalori.

Zat pemanis buatan merupakan zat yang dapat menimbulkan rasa manis atau dapat membantu penerimaan terhadap rasa manis tersebut, sedangkan kalori yang dihasilkan jauh lebih rendah daripada gula (Simatupang, 2009).

Berdasarkan proses produksi bahan pemanis dapat dibagi menjadi 2 golongan, yaitu pemanis alami dan pemanis sintetis (buatan). Pemanis
alami biasanya berasal dari tanaman. Tanaman penghasil pemanis yang
utama adalah tebu (*Saccharum officinarum L*.) dan bit (*Beta vulgaris L*.).
Bahan pemanis yang dihasilkan oleh kedua tanaman tersebut
dikenal sebagai gula alam atau sukrosa. Pemanis sintetis merupakan
bahan tambahan yang dapat menyebabkan rasa manis pada pangan,
tetapi tidak memiliki nilai gizi. Beberapa pemanis sintetis yang telah dikenal
dan banyak digunakan adalah natrium sakarin, natrium siklamat dan aspartam (Putra, 2011).

2.2.1. Pemanis Alami

Pemanis alami adalah pemanis yang tanpa melalui proses kimia. Berikut bahan pemanis alami untuk menggantikan peran gula.

a. Madu, bahan ini terbuat dari nektar yang dikumpulkan oleh lebah dari
bunga-bunga yang dihisap. Lebih manis dari gula. Jika ingin menikmati teh dengan menggunakan madu, cukup tambahkan 1 sendok kecil.

b. Nektar agave, terbuat dari sari daun tanaman agave yang berbentuk sirop. Tidak mengandung alkohol dan lebih manis dari gula

c. Blackstrap molasser, yang didapat dari hasil rebusan tebu yang ketiga yang didinginkan. Mengandung nutrien seperti kalsium, zat besi, potasium dan magnesium.

d. Sirup mapel, Terbuat dari sari pohon mapel yang biasanya disajikan untuk melengkapi panekuk.

e. Stevia, jenis pemanis ini banyak tersedia di pasaran. Sumber pemanis terdapat di daunnya yang terkadang di jual dalam bentuk daun utuh, bubuk atau cairan. Tidak berkalori dan lebih manis dari gula. Sangat cocok untuk penderita diabetes (Ailang, 2011).

2.2.2. Pemanis Sintetis

Pemanis buatan (sintetis) merupakan bahan tambahan yang dapat memberikan rasa manis dalam makanan, tetapi tidak memiliki nilai gizi. Sebagai contoh natrium sakarin, natrium siklamat, aspartam, dulsin, sorbitol sintetis dan nitro-propoksi-anilin. Diantara berbagai jenis pemanis buatan sintetis, hanya beberapa saja yang diizinkan penggunaannya dalam makanan sesuai Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 208/Menkes/Per/IV/1985, diantaranya natrium sakarin, natrium siklamat, dan aspartam dalam jumlah yang dibatasi atau dengan dosis tertentu (Yuliarti, 2007).

Bahan pemanis banyak digunakan dalam makanan untuk memperbaiki rasa dan bau bahan makanan tersebut sehingga timbul rasa yang dapat meningkatkan selera dan kelezatan dari makanan tersebut. Bahan pemanis sintetis memiliki beberapa keunggulan diantaranya memiliki kandungan kalori rendah dibandingkan dengan gula, tahan terhadap suhu tinggi sampai 200oC sekaligus pada suhu rendah, tidak mempengaruhi rasa makanan, dan dapat mengurangi resiko gigi berlubang (Yuliany, 2005).

Penggunaan pemanis sintetis yang semakin luas ini perlu ditinjau permasalahan yang ditimbulkannya, terutama adanya kritik masyarakat dalam hubungannya dengan kesehatan konsumen. Sebagaimana diketahui natrium siklamat merupakan jenis pemanis sintetis yang paling banyak dikonsumsi di Indonesia, tetapi masih merupakan kontroversi dalam penggunaannya, karena diragukan keamanannya bagi kesehatan konsumen. Penggunaan bahan pemanis sintetis sebaiknya dengan dosis di bawah ambang batas yang telah ditentukan (Yuliany, 2005).

Penentuan nilai *Acceptable Daily Intake* (ADI) diperoleh dengan menjumlah bahan (dalam satuan mg/kg berat badan) yang aman dikonsumsi dan diasumsikan tidak menimbulkan gangguan kesehatan, dampak atau resiko keracunan. Berdasarkan hasil percobaan pada data toksikologi hewan percobaan diketahui nilai ADI dalam dosis tanpa dampak. Penerapannya pada manusia berbeda hewan percobaan. Pada manusia penerapannya menggunakan faktor angka keamanan tertentu, yakni angka 100. Nilai ADI tidak mutlak, melainkan dapat berubah mengikuti informasi hasil penelitian baru yang mendukung (Fachruddin, 1998).

Rasa manis sangat subjektif dan tergantung beberapa faktor seperti suhu, pH, media yang digunakan, konsentrasi bahan pemanis, dan sensitivitas penguji rasa manis tersebut. Kriteria bahan pemanis yang ideal sekurang-kurangnya harus memiliki rasa manis seperti sukrosa, tidak berwarna, tidak berbau, tidak bersifat karsinogen dan memiliki rasa yang menyenangkan tanpa penundaan waktu timbulnya rasa manis. Pemanis juga harus larut dalam air, stabil secara kimia dan stabil juga terhadap suhu (Yuliany, 2005).

Intensitas berbagai pemanis dibandingkan dengan sukrosa (gula pasir) dapat dilihat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2. Intensitas Berbagai Pemanis Dibandingkan dengan Sukrosa (Gula Pasir)

|  |  |
| --- | --- |
| **Bahan Pemanis** | **Intensitas Kemanisan Dibanding Sukrosa** |
| SukrosaLaktosaMaltosaGalaktosaD-glukosaD-fruktosaGula invertD-xylosaSorbitolMannitolDulsitolGliserolGlisinaNatrium 3-metisiklopentil sulfamatp-anisilureaSiklamatKhloroformGlycyrrhizinAcesulfame-KAspartam5-nitro 2-metoksianilin5-metil sakarinp-etoksiphenilurea (dulcin)6-chloro sakarinn-heksilchloromalonamidaNatrium sakarinSteviosida2-amino 4-nitrotoluenaNaringin dihidrochalconP-nitro suksinanildaPhyllodulcin1-bromo 5 nitroanilin5-nitro 2-etoksianilinPerillatineNeohesperidin dihidrochalcone Talin5-nitro-propoksi-anilin | 10,40,50,60,70,10,7-0,90,70,50,70,40,80,7151830-804050130100-20016720070-350100-350300200-7003003003003504007009502.0002.0002.5004.100 |

(Sumber : Fachruddin, 1998).

**2.3 Natrium Sakarin**

Natrium Sakarin ditemukan pertama kali di USA pada tahun 1879 oleh dua orang ahli kimia (Remsen dan Fehlberg) yang teknik sintesanya masih digunakan leh beberapa industri hingga saat ini. Pada mulanya natrium sakarin digunakan sebagai antiseptik dan pengawet tetapi potensial sebagai pemanis. Natrium sakarin pertama kali diperkenalkan sebagai bahan tambahan di USA tahun 1990 kemudian berkembang secara cepat. Di Eropa penggunaan natrium sakarin setelah perang dunia II sangat meningkat dan diterima secara meluas sebagai pemanis buatan pada makanan diet walaupun mengalami pengulangan pengujian dan penelitian terhadap keamanannya (Napitulu, 2006).

Natrium sakarin (C7H4NaNO3S.2H2O) sebagai pemanis buatan berbentuk kristal putih, tidak berbau atau berbau aromatik lemah, dan mudah larut dalam air, serta berasa manis. Natrium sakarin memiliki tingkat kemanisan relatif 300 sampai dengan 500 kali tingkat kemanisan sukrosa dengan tanpa nilai kalori. Kombinasi penggunaannya dengan pemanis buatan rendah kalori lainnya bersifat sinergis. Natrium sakarin berfungsi sebagai penegas cita rasa (*flavor enhancer*) terutama cita rasa buah. Natrium sakarin tidak dimetabolisme oleh tubuh, lambat diserap oleh usus, dan cepat dikeluarkan melalui urin tanpa perubahan. Hasil penelitian menyebutkan bahwa natrium sakarin tidak bereaksi dengan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), tidak bersifat karsinogenik, tidak menyebabkan karies gigi, dan cocok bagi penderita diabetes. *Joint Expert Committee on Food Additives* (JEFCA) menyatakan natrium sakarin merupakan bahan tambahan pangan yang aman untuk dikonsumsi manusia dengan nilai ADI 5,0 mg/kg berat badan. Sejak bulan Desember 2000, *Food and Drug Administration* (FDA) telah menghilangkan kewajiban pelabelan pada produk pangan yang mengandung natrium sakarin, dan 100 negara telah mengijinkan penggunaannya. *Codex Alimentarius Commission* (CAC) mengatur maksimum penggunaan natrium sakarin pada berbagai produk pangan berkisar antara 80 mg/kg sampai dengan 5.000 mg/kg produk (SNI 01-6993-2004).



Gambar 2.1. Struktur Kimia Natrium Sakarin

Natrium sakarin memiliki rumus Molekul (C7H4NaNO3S.2H2O) dengan nama kimia 2,3-Dihidro-3-Oxobenzisosulfonasol atau benzosulfimida. Natrium sakarin memiliki berat molekul 183,1 dengan bentuk serbuk hablur, tidak berwarrna atau berwarna putih, tidak berbau hingga berbau aromatik lemah, larutan zat (1:10000) masih berasa manis. Natrium sakarin larut dalam air mendidih, etanol, amonia, dan alkali. Natrium sakarin digunakan sebagai zat tambahan atau dipakai sebagai pengganti gula dalam minuman ataupun makanan dan terutama digunakan untuk penderita obesitas (Napitulu, 2006).

Kelarutan natrium sakarin adalah 0,425 bagian dalam 100 bagian air atau sekitar 1 : 235. Natrium sakarin mempunyai titik leleh pada suhu 225oC – 228oC dan panas pembakaran sebesar 4,753 Kkal/gram (Widjajaseputra, 2012).

Pada tahun 1968 National Academy of Science, menyatakan bahwa sebetulnya konsumsi natrium sakarin oleh orang dewasa sebanyak 1 gram atau lebih rendah tidak akan menyebabkan gangguan kesehatan. Tetapi kemudian muncul laporan dari hasil penelitian yang menunjukkan bahwa natrium sakarin dalam dosis tinggi dapat menyebabkan kanker pada binatang percobaan tetapi karena percobaan tersebut dianggap tidak cukup maka perlu di ulangi dan dilengkapi. Ternyata hasil penelitian ulang memantapkan hasil sebelumnya. Pada tahun 1972 US-FDA mencabut natrium sakarin dari daftar GRAS dan menentukan batas jumlah sementara yang memungkinkan penggunaan lebih lanjut dalam makanan sampai hasil penelitian baru diperoleh (Yuliany, 2005).

Dua hasil penelitian baru yang diterbitkan tahun 1972 oleh Wisconsin Alumni Research Fondation dan 1973 oleh US-FDA, sangat memprihatinkan konsumen. Kedua penelitian tersebut melakukan uji terhadap tikus-tikus yang sedang menyusui dengan diberi dosis natrium sakarin dan keturunan tikus-tikus tersebut selama hidupnya juga diberi dosis natrium sakarin. Hasilnya menunjukkan bahwa ternyata dengan pemberian natrium sakarin dapat menyebabkan timbulnya kanker pada kantong air kemih tikus-tikus tersebut. Kemudian timbul argumentasi yang menunjukkan kemungkinan penyebab kanker tersebut bukan berasal dari gulanya sendiri, melainkan dari kotoran (*impurities*) yang terdapat dalam natrium sakarin (Yuliany, 2005).

Atas keraguan tersebut, pada tahun 1977 dikeluarkan hasil penelitian baru dari Canada’s Health Protection Branch yang meneliti pengaruh cemaran terutama *orthotoluene sulfonamide* (OTS) yang mengkonfirmasikan bahwa senyawa cemaran bukan penyebab terjadinya kanker dalam kantong kemih. Zat yang bertanggung jawab terhadap terjadinya kanker adalah natrium sakarin itu sendiri (Yuliany, 2005).

Kontroversi tersebut timbul karena adanya penjelasan bahwa tikus-tikus yang dicoba di Canada ternyata diberi dosis natrium sakarin kira-kira ekuivalen dengan 800 kaleng diet soda perhari. Karena itulah timbul kontroversi besar.

Terjadilah desakan, khususnya dari kalangan industri dan ilmuwan, yang menyatakan bahwa penelitian mengenai natrium sakarin perlu dilakukan kembali. Selanjutnya US-FDA mengadakan kontrak dengan National Academy of Science (NAS) untuk meneliti kembali natrium sakarin dan kaitannya dengan kanker. Pada tahun 1978, hasil penelitian diumumkan dan berkesimpulan bahwa natrium sakarin memang bersifat karsinogenik pada binatang meskipun tergolong mempunyai potensi yang rendah dan mempunyai potensi penyebab kanker pada manusia, sedangkan *impurities* yang terdapat didalamnya bukan bersifat karsinogenik (Yuliany, 2005).

Kontroversi mengenai kasus ini masih berlangsung hingga kini sedangkan pemerintah Indonesia mengeluarkan peraturan Menteri Kesehatan RI No. 208/Menkes/Per/IV/1985 tentang pemanis buatan dan No. 722/Menkes/Per/IX/1988 tentang Bahan Tambahan Makanan, bahwa pada makanan atau minuman olahan khusus yaitu berkalori rendah dan untuk penderita penyakit diabetes *mellitus*, kadar maksimum natrium sakarin yang diperbolehkan adalah 300 mg/kg atau 300 ppm (Yuliany, 2005).

**2.4 Natrium Siklamat**

Natrium siklamat pertama kali ditemukan oleh seorang ilmuwan dari University of Illinois pada tahun 1937, penemuan tersebut sebenarnya merupakan suatu ketidaksengajaan karena ia salah meletakkan rokok pada tumpukan kristal. Setelah rokok dihisapnya kembali, ada sesuatu yang terasa sangat manis pada bibirnya hal ini ternyata disebabkan oleh derivat (turunan) dari *cyclohexyl sulfamic acid* yang terasa sangit manis dan lezat. Dari kejadian tersebut lahirlah senyawa baru pemanis sintetis natrium siklamat yang mempunyai yang mempunyai intensitas kemanisan 30 kali dari tingkat kemanisan gula tebu murni (Yuliany, 2005).

Natrium siklamat berbentuk kristal putih, tidak berbau, tidak berwarna, dan mudah larut dalam air dan etanol, serta berasa manis. Natrium siklamat memiliki tingkat kemanisan relatif sebesar 30 kali tingkat kemanisan sukrosa dengan tanpa nilai kalori. Kombinasi penggunaannya dengan natrium sakarin atau asesulfam-K bersifat sinergis, dan kompatibel dengan pencitarasa dan bahan pengawet. Natrium siklamat berfungsi sebagai penegas cita rasa (*flavor enhancer*) terutama cita rasa buah. Pemberian natrium siklamat dengan dosis yang sangat tinggi pada tikus percobaan dapat menyebabkan tumor kandung kemih,paru, hati, dan limpa, serta menyebabkan kerusakan genetik dan atropi testikular. Informasi yang dikumpulkan oleh *Calorie Control Council* (CCC) menyebutkan bahwa konsumsi natrium siklamat tidak menyebabkan kanker dan mutagenik. Pada tahun 1984, FDA menyatakan bahwa natrium siklamat tidak bersifat karsinogenik. JEFCA menyatakan natrium siklamat merupakan bahan tambahan pangan yang aman untuk dikonsumsi manusia dengan ADI sebanyak 11,0 mg/kg berat badan. CAC mengatur maksimum penggunaaan natrium sakarin pada berbagai produk pangan berkisar antara 100 mg/kg sampai dengan 2.000 mg/kg produk. Kanada dan USA tidak mengizinkan penggunaan natrium siklamat sebagai bahan tambahan pangan (SNI 01-6993-2004).



Gambar 2.2. Struktur Kimia Natrium Siklamat

Pada tahun 1969 dilaporkan hasil penelitian natrium siklamat menyebabkan timbulnya kanker kandung kemih pada tikus yang diberi ransum natrium siklamat dan natrium sakarin. Cemaran natrium siklamat yaitu *cyclohexylamine* mempunyai sifat karsinogenik. Karena itu, pembuangannya melalui urin dapat merangsang Letal Dosis (LD50) (50% hewan percobaan mati) sebesar 12,0 g/kg berat badan. Adanya bukti tersebut menyebabkan US-FDA segera mencabut natrium siklamat dari daftar GRAS dan menyarankan penghapusan bagi penggunaan natrium siklamat dalam makanan (Yuliany, 2005).

Diberbagai negara, sampai saat ini natrium siklamat masih tetap diizinkan, terutama sebagai kombinasi dengan pemanis buatan lain. Lebih dari 50 negara di dunia, telah melakukan kajian secara ilmiah dan menyimpulkan bahwa natrium siklamat aman digunakan dan dapat dimanfaatkan dalam berbagai penggunaan. Di Eropa siklamat termasuk *list sweetener* yang diizinkan. Meskipun banyak kajian ilmiah membuktikan keamanan siklamat, namun beberapa negara membatasinya. Kontroversi mengenai natrium siklamat berdasarkan pada satu penelitian yang menemukan tumor kandung kemih pada beberapa tikus yang diberi makan natrium siklamat pada dosis tinggi. Dengan alasan inilah USA melarang natrium siklamat pada tahun 1970 dan beberapa negara membatasi penggunaannya. Sejak 1970, kajian terbaru dilakukan dan beberapa negara mempertimbangkan kembali penggunaan natrium siklamat (Suratmono, 2009).

**2.5 Metode Analisis Pemanis Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat**

2.5.1 Metode Analisis Pemanis Natrium Sakarin

Prosedur pemeriksaan natrium sakarin melalui beberapa tahap yaitu preparasi sampel, uji kualitatif dan uji kuantitatif.

2.5.1.1. Preparasi sampel

 Preparasi sampel dilakukan dengan cara 3 ml HCl ditambahkan ke dalam 25 ml sampel dalam separator. Jika terdapat vanili, dibuang dengan diekstraksi dengan bebarapa bagian petrolium eter dan petrolium eter dibuang. Kemudian diekstrak dengan 50 ml, 25ml, dan 25 ml bagian dietil eter + petrolium eter (1+1) dan campuran ekstrak dicuci dengan 5 ml air dan pelarut dibuang dengan penguapan.

2.5.1.2. Analisis Kualitatif Natrium Sakarin

a. Uji FeCl3

Residu dilarutkan ke dalam air panas, kemudian ditambahkan 3 tetes H2SO4 2N dan dipanaskan sampai mendidih dan ditambahkan KMnO4 2N sampai terbentuk warna merah muda yang konstan. Kemudian ditambahkan sedikit NaOH dan dimasukkan ke dalam cawan penguap. Residu diuapkan sampai kering kemudian dilarutkan dalam air panas dan diasamkan dengan HCl encer (keasaman diuji dengan kertas lakmus). Kemudian ditambahkan FeCl3 0.5% tetes demi tetes, jika terjadi perubahan warna menjadi ungu, maka sampel positif mengandung natrium sakarin.

b. Uji Fenol-Asam Sulfat

Sebanyak 5 ml reagen fenol-asam sulfat ditambahkan ke dalam sampel dan dipanaskan ke dalam penangas air selama 10 menit. Residu dilarutkan dalam air panas dan ditambahkan NaOH 10% sampai suasana basa. Jika terbentuk warna magenta atau ungu kemerahan maka sampel positif mengandung natrium sakarin.

c. Uji Resorcinol – Asam Sulfat

Sebanyak 5 tetes resorsinol – asam sulfat (1:1) ditambahkan ke dalam sampel dan dipanaskan sampai terbentuk warna merah. Kemudian dilarutkan dalam aquades dan ditambahkan NaOH 10% sampai suasana basa. Ditambahkan tetes demi tetes larutan I2, jika terbentuk warna hijau fluoresen maka sampel positif mengandung natrium sakarin.

2.5.1.3. Analisis kuantitatif Natrium Sakarin

Analisis kuantitatif penentuan kadar natrium siklamat dapat dilakukan dengan menggunakan metode umum untuk minuman non-alkohol dan metode
Fenol-H2SO4 kolorimetri.

a. Metode umum untuk minuman tidak beralkohol

Prinsipnya berdasarkan natrium sakarin yang diekstraksi dari sampel dan diasamkan dengan dietil eter. Pelarut dibuang residunya dan direaksikan dengan HCl untuk mengetahui volumenya. Sebuah aliquot direaksikan dengan reagen Nessler dan warna dari sampel diukur pada absorbansi 425 nm.

b. Metode Kolorimetri Fenol-H2SO4

Prinsipnya berdasarkan natrium sakarin yang diekstrak dari sampel dengan kloroform dan benzena kemudian pelarut diuapkan. Residu yang diperoleh direaksikan dengan fenol H2SO4 dan dipanaskan pada suhu 175oC selama 2 jam. Setelah larutan bersifat basa dengan penambahan NaOH kemudian diukur dengan absorbansi 558 nm (Food Safety and Standards Authority of India, 2012).

c. Metode Spektrofotometri UV

Pengukuran berdasarkan interaksi sinar radiasi dengan suatu zat dengan panjang gelombang 190-380 nm (Mulachella, 2011).

d. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Menggunakan seperangkat alat KCKT dengan dengan detektor UV 200 nm dengan laju alir 1 ml/menit (BPOM, 2011).

2.5.2 Metode Analisis Pemanis Natrium Siklamat

2.5.2.1 Analisis Kualitatif Natrium Siklamat

Analisis kualitatif natrium siklamat dapat dilakukan dengan uji sodium nitrit dan metode kromatografi lapis tipis untuk minuman.

a. Uji sodium nitrit

Uji sodium nitrit ini dilakukan dengan cara 2 gram barium klorida ditambahkan ke dalam 100 ml sampel dan ditambahkan air untuk mencampur. Kemudian ditambahkan 2-5 gram klorida dan dikocok untuk menghomogenkan larutan. Larutan dibuat basa dengan ditambahkan NaOH 10%, lalu dikocok, diamkan selama 2 jam dan disaring. Filtrat diasamkan dengan 10 ml HCl dan ditambahkan 0,2 gram NaNO2 dan panaskan di *hot plate*. Sampel positif mengandung natrium siklamat jika terbentuk endapan putih BaSO4.

b. Metode kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Prinsipnya berdasarkan sampel minuman yang diekstraksi dengan etil asetat, ekstrak yang terkonsentrasi dikenakan KLT pada gel silika dan bintik divisualisasikan. Natrium sakarin, natrium siklamat, 5 - nitro-2 propoxyaniline
dan dulsin akan terdeteksi (Food Safety and Standards Authority of India, 2012).

2.5.2.2 Analisis Kuantitatif Natrium Siklamat

a. Metode Gravimetri

Prinsipnya berdasarkan reaksi antara HCl dengan BaCl2 hingga terbentuk endapan dan ditambahkan NaNO2. Endapan yang terbentuk dipanaskan ke dalam tanur pada suhu 600oC selama 1 jam.

b. Metode Nitrimetri

Prinsipnya berdasarkan penentuan reaksi diazotasi dengan larutan garam NaNO3 dalam suasanan asam. Cara ini khusus untuk sulfonamida.

c. Metode Titrasi

Natrium siklamat dilarutkan dalam asam asetat glasial dengan cara pemanasan kemudian dititrasi dengan asam perklorat menggunakan indikator kristal violet sampai larutan berubah dari biru menjadi hijau.

d. Metode Kolorimetri

Mempergunakan alat kolorimetri dengan lampu inverted ultraviolet dengan panjang gelombang 350 nm (Nurlita, 1997).

e. Metode Spektrofotometri

Mempergunakan alat spektrofotometer untuk mengukur serapan larutan pada panjang gelombang maksimum 314 nm (BPOM, 2003).

f. Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Menggunakan seperangkat alat KCKT dengan dengan detektor UV 200 nm dengan laju alir 1 ml/menit (BPOM, 2011).

**2.6 Kromatografi**

Kromatografi adalah suatu metode pemisahan fisik, dimana
komponen-komponen yang dipisahkan didistribusikan diantara dua fase, salah satu fase tersebut adalah suatu lapisan stasioner dengan permukaan yang luas, yang lainnya sebagai fluida yang mengalir lembut disepanjang landasan stasioner. Fase stasioner bisa berupa padatan maupun cairan, sedangkan fasa bergerak bisa berupa cairan maupun gas (Day R.A., 2002).

Kromatografi adalah suatu istilah umum yang digunakan untuk
bermacam-macam teknik pemisahan yang didasarkan atas partisi sampel diantara suatu rasa gerak yang bisa berupa gas ataupun cair dan rasa diam yang juga bisa berupa cairan ataupun suatu padatan. Penemu kromatografi adalah Tswett yang pada tahun 1903, mencoba memisahkan pigmen-pigmen dari daun dengan menggunakan suatu kolom yang berisi kapur (CaSO4). lstilah kromatografi diciptakan oleh Tswett untuk melukiskan daerah-daerah yang berwarna yang bergerak kebawah kolom. Pada waktu yang hampir bersamaan, D.T. Day juga menggunakan kromatografi untuk memisahkan fraksi-fraksi petroleum, namun Tswett lah yang pertama diakui sebagai penemu dan yang menjelaskan tentang proses kromatografi (Putra, 2004).

Ditahun 1903, Tswett menemukan teknik kromatografi. Teknik ini bermanfaat sebagai cara untuk menguraikan suatu campuran. Dalam kromatografi, komponen-komponen terdistribusi dalam dua fase. Salah satu fase adalah fase diam. Transfer massa antara fase bergerak dan fase diam terjadi bila molekul-molekul campuran serap pada permukaan partikel-partikel atau terserap dalam pori-pori partikel atau terbagi kedalam sejumlah cairan yang terikat pada permukaan atau didalam pori yang disebut sorpsi (penyerapan). Laju perpindahan suatu molekul zat terlarut tertentu didalam kolom atau lapisan tipis zat penyerap secara langsung berhubungan dengan bagian molekul-molekul tersebut diantara fase bergerak dan fase diam. Jika ada perbedaan penahan secara selektif, mereka masing-masing komponen akan bergerak sepanjang kolom dengan laju yang tergantung pada karakteristik masing-masing penyerapan. Jika pemisahan terjadi, masing-masing komponen keluar dari kolom pada interval waktu yang berbeda, mengingat bahwa proses keseluruhannya adalah fenomena migrasi secara differensial yang dihasilkan oleh tenaga pendorong tidak selektif berupa aliran fase bergerak (Khopkar, 2008).

2.6.1 Prinsip Dasar Kromatografi Partisi Cair-cair

Dalam kromatografi partisi cair-cair, suatu pemisahan dipengaruhi oleh distribusi sampel antara fase cair diam dan fase cair bergerak dengan membatasi kemampuan pencampuran. Jika suatu zat terlarut dikocok dalam sistem 2 pelarut yang tidak bercampur (melarutkan) maka zat terlarut akan terdistribusi diantara kedua fase.

Martin dan Synge melakukan teknik ekstraksi cair-cair secara fraksional dengan cara mengepak kolom silika gel kemudian meletakkan larutan campurannya pada kolom dan mengelusinya dengan pelarut tidak bercampur, seperti butanol. Cairan yang tertahan di dalam kolom adalah fase diam sedangkan cairan yang bergerak sepanjang kolom adalah fase bergerak. Pemisahan didasarkan pada pemanfaatan perbedaan koefisien partisi zat terlarut, oleh karena itu teknik ini dikenal sebagai kromatografi partisi.

Pada saat pelarut merambat sepanjang kertas (kertas saring) yang digunakan dalam kromatografi kertas, kertas akan menghilangkan air pelarut (kertas saring dapat mengabsorbsi sampai 20% air). Dalam atmosfer yang tidak jenuh, menghilangkan air akibat air yang terkondensasi akan menyebabkan komposisi pelarut menjadi tidak seragam. Oleh karena itu atmosfer harus dipelihara atau dijaga agar tetap jenuh dengan pelarut. Jika digunakan pelarut yang tidak mudah menguap, maka akan terjadi fenomena yang dikenal sebagai Demixion, yaitu terbentuknya dua garis permukaan (*front*) cairan pada kertas (Khopkar, 2008).

2.6.2 Kromatografi Partisi Cair-cair

Teknik ini terdiri dari suatu kolom yang berisi zat padat penunjang halus di mana pada permukaan terdapat pelarut sebagai fase diamnya. Fase kedua yaitu fase bergerak yang tidak bercampur dengan cairan dari fase diamnya akan mengalir sepanjang kolom. Komponen-komponen dari campuran akan terpartisi pada kedua fase akibat adanya perpindahan diantara kedua fase tersebut. Komponen-komponen yang terpartisi lebih banyak pada fase diam akan tertahan lebih lama di dalam kolom dibandingkan komponen yang lebih banyak terpartisi pada fase gerak.

Pada pemisahan pelarut, maka biasanya pelarut hidrofilik bertindak sebagai pelarut yang berfungsi sebagai fase diam, sedangkan pelarut hidrofobik sebagai sebagai fase bergerak. Pelarut dapat diklasifikasikan berdasarkan ikatan hidrogennya. Pelarut-pelarut dengan sifat sebagai donor ataupun akseptor pasangan elektron mempunyai kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen intermolekuler. Pasangan pelarut yang dipilih harus mempunyai daya saling melarutkan yang kecil. Ada kalanya pH diatur dengan penambahan buffer terhadap media air pada kolom agar berlangsung pengompleks dan air dapat digantikan oleh pelarut organik yang hidrofilik. Dalam urutan makin mengecilnya kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen, maka pelarut yang sering digunakan adalah air > formamida > metanol > asam asetat > etanol > 1-propanol > aseton > n-propanol > t-butanol > fenol > n-butanol > amil alkohol > etil asetat > eter > butil asetat > kloroform > benzena > toluena sikloheksana > eter > petrolium > minyak parafin (Khopkar, 2008).

2.6.3 Kromatografi Ekstraksi Fase Terbalik

Sesuai dengan namanya, maka fase yang digunakan dalam kromatografi partisi cair-cair adalah terbalik. Disini pelarut hidrofobiklah yang digunakan sebagai fase diam pada penunjangnya. Sedangkan sebagai fase bergeraknya adalah pelarut hidrofilik. Ada suatu teknik tertentu untuk melapisi zat padat penunjang dengan pelarut hidrofobik (materi penolak air). Biasanya fase penunjang merupakan silika gel, alumina, kelf, teflon atau kieselguhr. Zat tersebut dibuat hidrofobik dengan cara mengalirkan uap klorosilan. Kemudian zat padat penunjang yang permukaannya sudah bersifat hidrofobik ini dicelupkan ke dalam suatu pengekstraksi yang tepat dan bersifat hidrofobik agar terbentuk penyelimutan permukaan yang seragam (Khopkar, 2008).

2.6.4 Kromatografi Kertas

Pada tahun 1944, Consden, Gordon dan Martin memperkenalkan teknik dengan menggunakan kertas penyaring sebagai penunjang fase diam dan fase bergerak, berupa cairan yang terserap diantara struktur pori kertas. Sampel sebanyak lebih kurang 1 µl didepositkan pada kertas saring yang akan mengalir bersama sistem pelarut. Meskipun zat yang ter-*recovery* tidak betul-betul murni, dimanfaatkan juga untuk uji kualitatif dan kuantitatif. Keterbatasan metode ini adalah relatif lama dan resolusinya yang rendah (Khopkar, 2008).

2.6.5 Teknik Kromatografi Kertas

Proses pengeluaran asam mineral dari kertas disebut *desalting*. Larutan ditempatkan pada kertas dengan menggunakan mikropipet pada jarak 2-3 cm dari salah satu ujung kertas dalam bentuk coretan garis horizontal. Setelah kertas dikeringkan, kemudian diletakkan didalam ruang yang sudah dijenuhkan dengan air atau dengan pelarut yang sesuai. Penjenuhan dapat dilakukan 24 jam sebelum analisis. Terdapat tiga teknik pelaksanaan analisis. *Descending* adalah salah satu teknik dimana cairan dibiarkan bergerak menuruni kertas akibat gravitasi. Pada teknik *ascending*; pelarut bergerak ke atas dengan gaya kapiler. Nilai Rf harus sama baik dengan *descending* maupun *ascending*. Sedangkan yang ketiga dikenal dengan cara radial atau kromatografi kertas sirkuler. Kondisi-kondisi berikut harus diperhatikan untuk memperoleh nilai Rf yang reprodusibel. Temperatur harus dikendalikan dalam variasi tidak boleh lebih dari 0,5oC. Kertas harus didiamkan dahulu paling tidak 24 jam dengan atmosfer pelarutnya, agar mencapai kesetimbangan sebelum pengaliran pelarutnya pada kertas. Dilakukan beberapa pengerjaan yang paralel, Rf nya tidak boleh berbeda lebih dari ± 0,02.

2.6.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Teknik ini dikembangkan pada tahun 1983 oleh Ismailloff dan Schraiber. Adsorbent dilapiskan pada lempeng kaca yang bertindak sebagai penunjang fase diam. Fase bergerak akan merayap sepanjang fase diam dan terbentuklah kromatogram. Ini dikenal juga sebagai kromatografi kolom terbuka. Metode ini sederhana, cepat dalam pemisahan dan sensitif. Kecepatan pemisahan tinggi dan mudah untuk memperoleh kembali senyawa-senyawa yang terpisahkan.

Biasanya yang sering digunakan sebagai materi pelapisnya adalah silika-gel, tetapi kadangkala bubuk selulosa dan tanah diatome, *kieselguhr* juga dapat digunakan. Untuk fase diam hidrofilik dapat digunakan pengikat seperti semen pasir, kanji, dispersi, koloid plastik, silika terhidrasi. Untuk meratakan pengikat dan zat pada pengadsorpsi digunakan suatu aplikator. Saat ini telah banyak tersedia kromatografi lapis tipis siap pakai yang dapat berupa gelas kaca yang telah terlapisi, kromatotube dan sebagainya. Kadar air dalam lapisan ini harus terkendali agar didapat hasil analisis yang reprodusibel (Khopkar, 2008).

2.6.7 Kromatografi Pasangan Ion

Kromatografi pasangan ion didasarkan pada pembentukan suatu pasangan ion antara sampel dan fase bergerak maupun fase diamnya. Biasanya silika-gel digunakan sebagai penunjang fase diam berair yang mengandung ion pengimbang dan bufer. Pelarut lain yang tidak bercampur digunakan sebagai pengelusi (*eluent*). Dalam kromatografi pasangan ion (PIC), metode fase terbalik juga dapat dilakukan, sebagai fase diamnya adalah fase nonpolar. Untuk pemisahan
asam-asam misalnya , basa organik seperti tetrabutil amonium fosfat ditambahkan pada pengelusi (*eluent*) seperti metanol, sedangkan pada pemisahan basa-basa, maka asam sulfonat heptana-1 dapat digunakan. Sedangkan ion-ion organik dengan rantai karbon yang panjang (> C10) digunakan sebagai ion penyeimbang dalam pemisahan sabun-sabunan dengan kromatografi. Selama pemisahan tingkat disosiasi sampel dan ion penyeimbang dikendalikan dengan memvariasikan pH fase bergerak (Khopkar, 2008).

**2.7 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

Kromatografi merupakan teknik dimana suatu zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi. Ini dikarenakan zat-zat terlarut tersebut terdistribusi secara berbeda pada saat melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan zat terlarut ini diatur oleh distribusi masing-masing zat terlarut tersebut dalam fase gerak dan fase diam. Penggunaan kromatografi cair secara sukses terhadap suatu masalah yang dihadapi membutuhkan penggabungan secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang, diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom, dan ukuran sampel (Rohman, 2007).

Teknik kromatografi kolom merupakan teknik yang paling sering digunakan. Popularitasnya disebabkan oleh kekuatan pemisahannya yang tinggi, selektifitasnya yang sangat baik, dan banyaknya solut yang dapat dipisahkan dengan metode ini. Serupa dengan KLT, pemisahan dengan KCKT dapat dilakukan dengan baik pada fase normal atau fase terbalik menggunakan fase diam silika atau silika fase terikat. Meskipun demikian, berbeda dengan KLT yang banyak menggunakan fase normal, kebanyakan KCKT menggunakan fase terbalik untuk analisis solut. KCKT fase terbalik menggunakan fase terbalik menggunakan pelarut yang kurang toksik (air dan pelarut-pelarut yang dapat bercampur dengan air) sehingga mengurangi polusi lingkungan (Rohman, 2007).

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan salah satu metode kimia dan fisikokimia. KCKT termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fasa gerak cairan dan fasa diam cairan atau padat. Banyak kelebihan metode ini jika dibandingkan dengan metode lainnya antara lain: mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, mudah melaksanakannya, kecepatan analisis dan kepekaan yang tinggi, dapat dihindari terjadinya dekomposisi atau kerusakan bahan yang dianalisis, resolusi yang baik, dapat digunakan
bermacam-macam detektor, kolom dapat digunakan kembali, dan mudah melakukan *sample recovery* (Putra, 2004)

Kromatografi cair merupakan metode kromatografi yang mana fase geraknya adalah cairan dan fase diamnya berupa padatan organik atau anorganik. Sesuai dengan bentuk matriks fase diam, kromatografi cair secara kasar dapat dibagi kedalam kromatografi planar dan kromatografi kolom. Berdasarkan pada polaritas relatif fase diam dan fase geraknya, kromatografi cair dapat dibagi menjadi fase kromatografi normal fase normal (*normal phase*) dan jenis kromatografi fase terbalik (*reversed phase*). Jika kromatografi cair terdiri atas fase diam yang lebih polar dibanding dengan fase geraknya maka dikatakan kromatografi fase normal. Sebaliknya, jika kromatografi cair terdiri atas fase diam yang lebih nonpolar dibanding dengan fase geraknya maka dikatakan kromatografi fase terbalik (Rohman, 2007).

Ada berbagai jenis KCKT, yaitu kromatografi adsorpsi, kromatografi partisi, kromatografi penukar ion, dan kromatografi eksklusi ukuran (kromatografi permeasi gel).

2.7.1. Kromatografi Adsorpsi

Pemisahan kromatografi adsorpsi biasanya menggunakan fase normal dengan menggunakan fase diam silika gel alumina; meskipun demikian, sekitar 90% kromatografi ini memakai silika sebagai fase diamnya. Fase gerak yang digunakan berupa pelarut non polar yang ditambah dengan pelarut polar seperti air atau alkohol rantai pendek untuk meningkatkan kemampuan elusinya sehingga tidak timbul pengekoran puncak, misal n-heksan ditambah dengan metanol (Rohman, 2007).

2.7.2. Kromatografi Partisi

Kromatografi partisi kebanyakan menggunakan fase diam silika yang dimodifikasi secara kimiawi atau fase terikat. Sejauh ini yang digunakan untuk memodifikasi silika adalah hidrokarbon-hidrokarbon non-polar seperti dengan oktadesilsilana, oktasilana, atau dengan fenil. Fase diam yang paling poluler digunakan adalah oktadesilsilan (ODS atau C-18) dan kebanyakan pemisahannya adalah fase terbalik (Rohman, 2007).

2.7.3. Kromatografi Penukar Ion

KCKT-penukar ion didasarkan pada interaksi antara solut yang bermuatan dengan permukaan fase diam yang bermuatan berlawanan dengan muatan solut. Retensi solut-solut yang terikat secara elektrostatik dapat dengan mudah dipengaruhi oleh penambahan garam-garam dalam fase gerak atau dengan memodifikasi pH fase gerak (Rohman, 2007).

2.7.4. Kromatografi Eksklusi Ukuran

Kromatografi eksklusi ukuran disebut juga dengan kromatografi permiasi gel dan dapat digunakan untuk memisahkan atau menganalisis senyawa dengan berat molekul > 2000 dalton. Fase diam yang digunakan dapat berupa silika atau polimer yang bersifat porus sehingga solut dapat melewati fase diam porus (lewat diantara partikel), atau berdifusi lewat fase diam. Molekul solut yang mempunyai BM jauh lebih besar, akan terelusi terlebih dahulu, kemudian molekul-molekul yang berukuran medium, dan terakhir adalah molekul yang berukuran jauh lebih kecil. Hal ini disebabkan solut dengan BM yang besar tidak melewati porus, akan tetapi lewat diantara partikel fase diam. Dengan demikian, dalam pemisahan dengan eksklusi ukuran ini tidak terjadi interaksi kimia antara solut dan fase diam seperti tipe kromatografi yang lain (Rohman, 2007).

Sistem KCKT terdiri dari dua sub sistem pemisahan dan sub sistem pendeteksian (detektor). Sistem pemisahan terdiri dari beberapa modul yaitu sistem pemasokan pelarut dengan bagian utamanya pompa yang mengalirkan pelarut dan sampel (yang diinjeksikan melalui injektor) ke dalam kolom. Sistem pendeteksian terdiri dari detektor yang dihubungkan pada ujung akhir kolom (Yuliany, 2005).

Sistem peralatan KCKT pada dasarnya terdiri atas delapan komponen pokok yaitu: wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukkan sampel kolom detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung penghubung, dan suatu komputer atau integrator atau perekam. Skema sistem peralatan KCKT dapat dilihat pada gambar 2.3.



(Sumber: Rohman, 2007)

Gambar 2.3. Diagram blok sistem KCKT secara umum

1. Wadah Fase Gerak pada KCKT

Wadah fase gerak harus bersih dan lembab. Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilang gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama dipompa dan detektor sehingga akan mengacaukan analisis. Pada saat membuat pelarut untuk fase gerak, maka sangat dianjurkan untuk menggunakan pelarut, bufer, dan reagen dengan kemurnian yang sangat tinggi, dan lebih terpilih lagi jika
pelarut-pelarut yang digunakan untuk KCKT berderajat KCKT (HPLC *grade*). Adanya pengotor dalam reagen dapat menyebabkan gangguan pada sistem kromatografi. Adanya partikel yang kecil dapat terkumpul dalam kolom atau dalam tabung yang sempit, sehingga dapat mengakibatkan suatu kekosongan pada kolom atau tabung tersebut. Sehingga, fase gerak sebelum digunakan harus disaring terlebih dahulu untuk menghindari partikel-partikel kecil ini
(Rohman, 2007).

2. Fase Gerak pada KCKT

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel. Untuk fase normal (fase diam lebih polar daripada fase gerak), kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut. Sementara untuk fase terbalik (fase diam kurang polar daripada fase gerak), kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut.

Elusi dapat dilakukan dengan cara isokratik (komposisi fase gerak tetap selama elusi) atau dengan cara bergradien (komposisi fase gerak berubah-ubah selama elusi). Elusi bergradien digunakan untuk meningkatkan resolusi campuran yang kompleks terutama jika sampel mempunyai kisaran polaritas yang luas.

Fase gerak yang paling sering digunakan untuk pemisahan dengan fase terbalik adalah campuran larutan buffer dengan metanol atau campuran air dengan asetonitril (Rohman, 2007).

3. Pompa pada KCKT

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT adalah pompa yang mempunyai syarat sebagaimana syarat pelarut yakni: pompa harus *inert* terhadap fase gerak. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, teflon dan batu nilam. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 3 ml/menit. Untuk tujuan preparatif, pompa yang digunakan harus mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan 20 ml/menit.

Tujuan penggunaan pompa atau sistem penghantaran fase gerak adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reprodusibel, konstan, dan bebas dari gangguan. Ada 2 jenis pompa dalam KCKT yaitu: pompa dengan tekanan konstan, dan pompa dengan aliran fase gerak yang konstan. Tipe pompa dengan aliran fase gerak yang konstan sejauh ini lebih umum dibandingkan dengan tipe pompa dengan tekanan konstan (Rohman, 2007).

4. Penyuntikan Sampel pada KCKT

Sampel-sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik yang terbuat dari tembaga tahan karat dan katup teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel (*sample loop*) internal atau eksternal.

Pada saat pengisian, sampel melewati keluk sampel dan kelebihannya dikeluarkan ke pembuangan. Pada saat penyuntikan, katup diputar sehingga fase gerak mengalir melewati keluk sampel dan sampel mengalir menuju kolom (Rohman, 2007).

5. Kolom

Kolom KCKT pada umumnya terbuat dari pipa baja tahan karat. Panjang kolom antara 10-30 cm dengan diameter dalam 4,5 – 5,0 mm. Kolom diisi dengan kemasan yang sesuai diperlukan untuk pemisahan tertentu. Dikenal dengan dua jenis kolom yaitu kolom preparatif dan kolom analitik. Kolom yang digunakan untuk pemisahan analitik umumnya mempunyai diameter yang kecil (2 - 4 mm). Kolom dapat dipanaskan sampai 60oC agar dihasilkan pemisahan yang lebih efisien (Yuliany, 2005).

6. Fase diam pada KCKT

Kebanyakan fase diam pada KCKT berupa silika yang dimodifikasi secara kimiawi, silika yang tidak dimodifikasi, atau polimer-polimer stiren divinil benzen. Permukaan silika adalah polar dan sedikit asam karena residunya gugus silanol (Si-OH).

Silika dapat dimodifikasi secara kimiawi menggunakan reagen-reagen seperti klorosilan. Reagen-reagen ini akan bereaksi dengan gugus silanol dan menggantinya dengan gugus-gugus fungsional yang lain. Hasil reaksi yang diperoleh disebut dengan silika fase terikat yang stabil untuk memisahkan campuran enansiomer, akan tetapi jenis fase diam ini mahal dan mempunyai waktu hidup pendek. Tersedianya berbagai macam fase diam jenis fase terikat dan polimer telah memunculkan berbagai macam KCKT (Rohman, 2007).

7. Detektor

Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi 2 golongan yaitu: detektor universal (yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak spesifik, dan tidak bersifat selektif) seperti detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa; dan golongan detektor yang spesifik yang hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia. Idealnya suatu detektor harus mempunyai karakteristik antara lain: mempunyai respon terhadap solut yang cepat reprodusibel, mempunyai sensitifitas yang tinggi yaitu mampu mendeteksi solut pada kadar yan sangat kecil, stabil dalam pengoperasiannya, sinyal yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi solut pada kisaran yang luas, dan tidak peka terhadap perubahan suhu dan kecepatan alir fase gerak (Rohman, 2007).

8. Komputer, Integrator, atau Rekorder

Alat pengumpul data seperti komputer, integrator, atau rekorder dihubungkan dengan detektor. Alat ini mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu mem-plotkannya sebagai suatu kromatogram yang selanjutnya dapat dievaluasi oleh seorang analis (pengguna).

Recorder saat ini jarang digunakan karena rekorder tidak dapat mengintegrasikan data, sementara itu baik integrator maupun komputer mampu mengintegrasikan puncak-puncak dalam kromatogram. Komputer mempunyai keuntungan lebih karena komputer secara elektronik mampu menyimpan kromatogram untuk evaluasi di kemudiaan hari (Rohman, 2007).

Kecermatan dan keseksamaan merupakan faktor yang sangat penting dalam analisis kuantitatif. Kecermatan ditandai dengan penentuan kembali senyawa murni dari campurannya dengan matriks. Perolehan kembali ini harus mendekati 100% dengan deviasi sekitar 5%, sedangkan keseksamaan ditandai dengan nilai simpangan baku relatif atau koefisien variansi tidak lebih dari 2%
(Yuliany, 2005).

**III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Bahan dan Alat Penelitian,
(2) Metode Penelitian, dan (3) Deskripsi Percobaan.

**3.1 Bahan dan Alat Penelitian**

3.1.1 Bahan-bahan yang digunakan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah minuman cup yang tidak tercantum kadarnya yaitu sebanyak 30 sampel minuman cup dengan 3 merk yang berbeda.

Bahan-bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah larutan standar natrium sakarin yang diperoleh dari BPOM dan larutan standar natrium siklamat yang diperoleh dari kimia farma. Selain itu, bahan yang digunakan untuk keperluan analisis antara lain metanol (HPLC grade, Merck), asetonitril
(HPLC grade, Merck), dan aquabidest.

3.1.2 Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah labu ukur, pipet ukur, pipet mikro, gelas kimia, timbangan analitik, corong, membran filter (kertas whatman No.42), *syiringe* 20 µl (penyuntik sampel), seperangkat alat KCKT Hitachi seri D-7000 buatan Jerman, kolom *reverse phase* (C18) dengan panjang 125 mm dan diameter dalam 4 mm, dan komputer.

**3.2 Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan adalah metode *sampling* purposif dikenal juga sebagai *sampling* pertimbangan, terjadi apabila pengambilan sampel dilakukan berdasarkan pertimbangan perorangan atau pertimbangan peneliti. Cara sampling ini sangat cocok untuk studi kasus, dimana banyak aspek dari kasus tunggal yang representatif diamati dan dianalisis (Sudjana, 2005).

Sampel purposif adalah pengembangan lain dari sampel sembarang (*convenience sampling*). Dalam sampel sembarang, tidak ada dasar pertimbangan atau dasar siapa yang akan tepilih sebagai responden. Sementara dalam teknik penarikan purposif, sampel yang diambil didasarkan pada pertimbangan tertentu dari peneliti. Sesuai dengan namanya, pemilihan sampel didasarkan pada alasan atau tujuan tertentu. Dengan demikian, peneliti secara sengaja mengambil sampel dengan argumentasi yang bisa dipertanggungjawabkan secara ilmiah
(Eryanto, 2007).

Metode yang digunakan pada analisis kandungan natrium sakarin dan natrium siklamat dalam minuman cup yang tidak tercantum kadarnya secara kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

**3.3 Deskripsi Penelitian**

Deskripsi percobaan yang dilakukan dalam metode penelitian ini meliputi beberapa tahap yaitu survey pasar, pengambilan sampel, preparasi sampel, pembuatan larutan standar, pengkondisian alat, pengujian kandungan pemanis sintetis dalam sampel, dan pengolahan data.

3.3.1. Survey Pasar

Survey pasar yang digunakan pada metode ini adalah sampling purposifatau dikenal dengan sampling pertimbangan peneliti. Survey pasar yang dilakukan meliputi survey beberapa pasar tradisional skala besar yang berada di Bandung diantaranya pasar Cicaheum, pasar Dewi Sartika, Pasar Ujung Berung, dan pasar Ciroyom, sehingga diambil satu pasar yang mewakili beberapa pasar tradisional yang ada di Bandung yaitu pasar Ujung Berung. Kondisi pasar Ujung Berung yang strategis yaitu dekat dengan terminal dan beberapa sekolah diantaranya SMP 8 Bandung dan SD Andirkidul 1 sehingga pasar Ujung Berung dianggap dapat mewakili beberapa pasar tradisional yang ada di Bandung.

3.3.2. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel ini dilakukan di grosir-grosir minuman cup yang berlokasi di pasar tradisional Ujung Berung. Sampel yang dipilih adalah minuman cup yang tidak tercantum kadar pemanisnya yang banyak dijual di pasar yaitu teh (merk X), sari kelapa (merk Y), dan es teler (merk Z). Cara pengambilan sampel dilakukan dengan cara membeli minuman cup yang memiliki tanggal kedaluarsa berbeda-beda pada setiap cupnya. Sampel yang terpilih selanjutnya dilakukan penelitian di laboratorium.

3.3.3. Preparasi Sampel

Semua sampel yang akan dianalisis pada penelitian ini dilakukan praperlakuan khusus yang bertujuan untuk memisahkan senyawa dalam sampel yang akan dianalisis dari bahan-bahan yang akan menimbulkan gangguan pada saat dilakukan pengujian dan pengukuran. Praperlakuan yang dilakukan adalah dengan cara menyaring sampel menggunakan membran filter (kertas whatman
no. 42) dan disonikasi selama 10 menit.

3.3.4. Pembuatan Larutan Standar Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat

a. Pembuatan Larutan Standar Natrium Sakarin

Membuat larutan standar natrium sakarin sebesar 200 ppm yaitu dengan cara menimbang 5 mg natrium sakarin kemudian dilarutkan dan diencerkan dalam labu takar 25 ml dengan menggunakan aquabidest sampai tanda batas. Dari larutan tersebut dipepet sebanyak 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, dan 6 ml kemudian dilarutkan dan diencerkan dalam labu takar 10 ml dengan menggunakan aqubidest sampai tanda batas. Kemudian larutan tersebut diukur luas area dan waktu retensinya dengan menggunakan KCKT.

b. Pembuatan Larutan Standar Natrium Siklamat

Membuat larutan standar natrium siklamat sebesar 200.000 ppm yaitu dengan cara menimbang 10 g siklamat kemudian dilarutkan dan diencerkan dalam labu takar 50 ml dengan menggunakan aquabidest sampai tanda batas. Dari larutan tersebut dipepet sebanyak 1,5 ml; 3 ml; 4,5 ml; 6 ml; 7,5 ml; dan 9 ml kemudian dilarutkan dan diencerkan dalam labu takar 10 ml dengan menggunakan aqubidest sampai tanda batas. Kemudian larutan tersebut diukur luas area dan waktu retensinya dengan menggunakan KCKT.

3.3.5. Pengkondisian Alat untuk Pemanis Sintetis Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat

Kondisi optimum KCKT pada penelitian ini menurut metode Yuliany 2005 yang dimodifikasi yang dicapai dengan menggunakan kolom oktadesilsilana (C18) dengan ukuran partikel 5 µm, panjang kolom 125 mm dan diameter dalam 4 mm (pada suhu 27oC). Metode isoktratik dilakukan pada penelitian ini dengan fase gerak Asetonitril : Air (5 : 95) dengan laju alir 1 ml/menit, detektor yang digunakan adalah ultravoiolet pada panjang gelombang 200 nm serta volume sampel yang diinjeksikan 20 µl.

**Deskripsi Penelitian**

Survey Pasar

Pengambilan Sampel

Preparasi Sampel

Pengkondisian Alat

Analisis Kuantitatif

(Perhitungan dan Pengolahan Data Sampel Mengandung Pemanis Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat)

Hasil Analisis

Analisis Kualitatif

(Pengujian Sampel)

Gambar 3.1 Diagram Alir Kajian Kandungan Pemanis Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat Pada Beberapa Minuman Cup di Pasar Tradisional Ujung Berung

**IV. HASIL ANALISIS DAN PEMBAHASAN**

Bab ini akan menguraikan mengenai : (1) Hasil Analisis dan Pembahasan Natrium Sakarin dan (2) Hasil Analisis dan Pembahasan Natrium Siklamat.

**4.1 Hasil Analisis** **dan Pembahasan Natrium Sakarin**

Hasil analisis kadar natrium sakarin pada sampel teh (merk x), sari kelapa (merk y), dan es teler (merk z) dalam cup dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Analisis Kadar Natrium Sakarin dalam Beberapa Sampel

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Sampel****(Kemasan Cup)** | **Tanggal Kedaluarsa** | **Luas Kurva (AU)** | **Konsentrasi (ppm)** |
| Teh (Merk X) | 07-04-2013 | 7265062 | 46,67 |
| 14-04-2013 | 9681199 | 63,75 |
| 30-04-2013 | 9421613 | 61,92 |
| 05-05-2013 | 8968045 | 58,71 |
| 28-05-2013 | 8023986 | 52,03 |
| 04-06-2013 | 8503596 | 55,42 |
| 22-06-2013 | 9586197 | 63,08 |
| 26-06-2013 | 10868662 | 72,15 |
| 04-07-2013 | 9049788 | 59,29 |
| Sari Kelapa (Merk Y) | 01-02-2014 | 8482887 | 110,56 |
| 28-02-2014 | 3145969 | 35,08 |
| 27-03-2014 | 3160300 | 35,29 |
| 02-05-2014 | td | td |
| 04-05-2014 | td | td |
| 01-06-2014 | td | td |
| 04-06-2014 | td | td |
| 14-06-2014 | 6299498 | 79,68 |
| 19-06-2014 | td | td |
| 01-07-2014 | td | td |
| Es Teler (Merk Z) | 06-04-2014 | 2545753 | 13,30 |
| 30-04-2014 | td | Td |
| 01-05-2014 | td | Td |
| 03-05-2014 | td | td |
| 06-05-2014 | td | td |
| 01-06-2014 | td | td |
| 05-07-2014 | td | td |
| 18-07-2014 | td | td |
| 18-08-2014 | td | td |
| 07-09-2014 | td | td |

Keterangan: AU = Absorban unit; td = tidak terdeteksi.

Hasil analisis natrium sakarin pada sampel teh (merk x) memiliki konsentrasi yang berbeda-beda pada setiap tanggal kedaluarsanya dimana konsentrasi terendah yaitu pada tanggal 07-04-2013 sebesar 46,67 ppm dan konsentrasi tertinggi yaitu pada tanggal 26-06-2013 sebesar 72,15 ppm. Pada sampel sari kelapa (merk y) terdapat 4 sampel yang positif mengandung natrium sakarin, dengan konsentrasi tertinggi pada tanggal kedaluarsa 01-02-2014 sebesar 110,56 ppm dan konsentrasi terendah pada tanggal 28-02-2014 sebesar 35,08 ppm. Untuk sampel es teler hanya satu sampel yang positif mengandung natrium sakarin yaitu pada tanggal kedaluarsa 06-04-2014 sebesar 13,30 ppm. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa keseluruhan sampel tidak melebihi batas maksimum penggunaan natrium sakarin yang tercantum dalam permenkes RI
No. 722/Menkes/Per/IX/1988 untuk minuman ringan yaitu sebesar 300 ppm.

Hasil analisis 6 sampel sari kelapa dan 9 sampel es teler tidak mengandung natrium sakarin, hal ini dapat disebabkan karena penggunaan jenis pemanis lain yang mungkin ditambahkan dalam sampel sari kelapa dan es teler. Penggunaan natrium sakarin pada minuman cup lebih jarang dibandingkan dengan natrium siklamat, hal ini disebabkan karena natrium sakarin mempunyai *aftertaste* pahit sementara natrium siklamat tidak memiliki *aftertaste*. Penggunaan natrium sakarin yang berbeda-beda kadarnya dalam setiap kali produksi menunjukkan bahwa tidak ada takaran yang pasti dalam penambahan natrium sakarin, meskipun penggunaan natrium sakarin masih dibawah ambang batas.

Pemanis sintetis natrium sakarin memiliki rasa manis 300 kali lebih dari rasa manis sukrosa, karena memiliki rasa manis yang sangat kuat maka pemakaian pemanis sintetis dirasakan lebih efisien daripada pemakaian pemanis alami.
Natrium sakarin digunakan secara luas di Indonesia sebagai pengganti gula karena mempunyai sifat yang stabil, nilai kalorinya rendah, dan harganya relatif murah. Selain itu, natrium sakarin banyak dipergunakan untuk pengganti sukrosa bagi penderita diabetes *mellitus* atau untuk bahan makanan yang berkalori rendah. Penggunaan natrium sakarin biasanya dicampur dengan pemanis lain seperti natrium siklamat. Hal ini dimaksudkan untuk menutupi rasa tidak enak dari natrium sakarin dan memperkuat rasa manis (Yuliany, 2005).

Rasa manis disebabkan oleh senyawa organik alifatik yang mengandung gugus hidroksi (OH), beberapa asam amino, aldehid dan gliserol. Perubahan yang kecil dalam struktur kimia dapat merubah rasa dari senyawa tersebut, misalnya rasa manis menjadi pahit atau hambar. Penambahan gugus nitro pada posisi meta akan membuat senyawa menjadi sangat pahit sedangkan subtitusi gugus metil pada imino menghasilkan senyawa yang hambar. Efek subtitusi pada sakarin dapat dilihat pada gambar 4.1 (Zuhra, 2006).



 Gambar 4.1 Efek Subtitusi dari Sakarin

Natrium sakarin merupakan salah satu zat pemanis buatan yang sering digunakan oleh produsen makanan dan minuman pada produk industri.
Kadang-kadang ada beberapa produsen yang menggunakan zat pemanis buatan melebihi batas standar yang diperbolehkan (Sinulingga, 2011).

Natrium sakarin yang terserap kedalam tubuh tidak akan mengalami metabolisme sehingga akan diekskresikan melalui urin tanpa perubahan kimia (Yuliany, 2005).

Natrium sakarin memiliki nilai kalori 0 kkal/g atau setara dengan 0 kJ/g dan ADI (*acceptable daily intake*) 5 mg/kg berat badan. Batas maksimum penggunaan natrium sakarin berdasarkan kategori pangan gula dan sirup lainnya (misanya: *xylose, maple, syrup, sugar topping*) yaitu 300 mg/kg (SNI 01-6993-2004).

Penentuan nilai ADI diperoleh dengan penjumlahan bahan (dalam satuan mg/kg berat badan) yang aman dikonsumsi orang dan diasumsikan tidak menimbulkan gangguan kesehatan, dampak atau resiko keracunan. Pada manusia penerapan penggunaan faktor angka keamanan yaitu angka 100. Sehingga dapat dirumuskan sebagai berikut:



Keterangan : Dosis tanpa dampak diperoleh dari hasil penelitian

Batas maksimum penggunaan (BMP) dari suatu bahan tambahan makanan dapat dihitung berdasarkan nilai ADI dengan rumus sebagai berikut:

BMP = $\frac{ADI x B}{K}$ x 1.000 (mg/kg)

Keterangan: B = Berat badan (kg)

 K = Konsumsi makanan (g)

Perhitungan batas maksimal penggunaan (BMP) umumnya menggunakan patokan berat tubuh orang dewasa. Oleh karena itu, perlu penyesuaian batasan maksimal penggunaan bila bahan tambahan makanan tersebut hendak digunakan untuk anak-anak. Bagaimanapun anak-anak lebih rendah daya tahannya atau toleransinya terhadap zat-zat tersebut dibanding orang dewasa (Fachruddin, 1998).

Batas maksimum penggunaan natrium sakarin yang dihitung berdasarkan nilai ADI yaitu untuk anak-anak yang memiliki berat badan 17 kg adalah 85 ppm dan untuk orang dewasa yang memiliki berat badan rata-rata 55 kg adalah 275 ppm. Hasil analis kadar natrium sakarin pada sampel berkisar antara
13,30 - 110,56 ppm, sehingga semua sampel masih berada dibawah batas maksimum penggunaan untuk orang dewasa. Sedangkan untuk anak-anak terdapat satu sampel yang melebihi batas maksimum penggunaan.

Penggunaan natrium sakarin yang berlebihan, dapat menimbulkan bahaya bagi kesehatan manusia, anatara lain: migran, sakit kepala, kehilangan daya ingat, bingung, insomnia, iritasi, asma, hipertensi, diare, sakit perut, alergi, impotensi, gangguan seksual, kebotakan, kanker otak, dan kanker kandung kemih
(Sinulingga, 2011).

**4.2 Hasil Analisis dan Pembahasan Natrium Siklamat**

Hasil analisis kadar natrium siklamat pada sampel teh (merk x), sari kelapa (merk y), dan es teler (merk z) dalam cup dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Analisis Kadar Natrium Siklamat dalam Beberapa Sampel

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Sampel****(Kemasan Cup)** | **Tanggal Kedaluarsa** | **Luas Kurva (AU)** | **Konsentrasi (ppm)** |
| Teh (merk x) | 07-04-2013 | 41846533 | 138.516 |
| 14-04-2013 | 39119750 | 127.979 |
| 30-04-2013 | 37717176 | 122.560 |
| 05-05-2013 | 19836013 | 53.464 |
| 28-05-2013 | 42728666 | 141.925 |
| 04-06-2013 | 44460496 | 148.617 |
| 22-06-2013 | 42023067 | 139.198 |
| 26-06-2013 | 19696424 | 52.925 |
| 04-07-2013 | 18722697 | 49.162 |
| 05-07-2013 | 20628766 | 56.528 |
| Sari Kelapa (Merk Y) | 01-02-2014 | 32089834 | 201.629 |
| 28-02-2014 | 38343841 | 249.962 |
| 27-03-2014 | 36104870 | 232.659 |
| 02-05-2014 | 25956078 | 77.113 |
| 04-05-2014 | 40001477 | 262.773 |
| 01-06-2014 | 33845211 | 215.195 |
| 04-06-2014 | 36964853 | 239.305 |
| 14-06-2014 | 37169981 | 120.445 |
| 19-06-2014 | 39485976 | 258.789 |
| 01-07-2014 | 36528518 | 235.933 |
| Es Teler(Merk Z) | 06-04-2014 | 30035263 | 92.876 |
| 30-04-2014 | 26951193 | 80.958 |
| 01-05-2014 | 45985429 | 154.509 |
| 03-05-2014 | 48206081 | 163.090 |
| 06-05-2014 | 49325973 | 167.417 |
| 01-06-2014 | 32039447 | 201.240 |
| 05-07-2014 | 31054535 | 193.628 |
| 18-07-2014 | 31019665 | 193.359 |
| 18-08-2014 | 24956089 | 73.249 |
| 07-09-2014 | 24475986 | 71.394 |

Keterangan: AU = Absorban unit

Hasil analisis natrium siklamat pada sampel teh (merk x) memiliki konsentrasi yang berbeda-beda pada setiap tanggal kedaluarsanya dimana konsentrasi tertinggi yaitu pada tanggal 04-06-2013 sebesar 148.617 ppm dan konsentrasi terendah yaitu pada tanggal 04-07-2013 sebesar 49.162 ppm. Pada sampel sari kelapa (merk y) konsentrasi tertinggi pada tanggal kedaluarsa
04-05-2014 sebesar 262.773 ppm dan konsentrasi terendah pada tanggal
02-05-2014 sebesar 77.113 ppm. Untuk sampel es teler (merk z) konsentrasi tertinggi pada tanggal kedaluarsa 01-06-2014 sebesar 201.240 ppm dan konsentrasi terendah pada tanggal 07-09-2014 sebesar 71.394 ppm.

Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa keseluruhan sampel tersebut melebihi batas maksimum penggunaan natrium siklamat yang ditetapkan oleh Permenkes RI No. 722/Menkes/Per/IX/1988 untuk minuman ringan sebesar 3000 ppm. Penggunaan natrium siklamat berbeda-beda dalam setiap kali produksinya. Diperkirakan hal ini terjadi akibat tidak menggunakan takaran yang yang tepat atau pasti.

Penggunaan pemanis natrium siklamat dengan kadar yang sangat tinggi dapat disebabkan karena harganya yang relatif murah dengan tingkat kemanisan 30-80 kali dibandingkan sukrosa, sehingga dengan menggunakan natrium siklamat dalam jumlah sedikit sudah terasa manis. Kecenderungan konsumen yang memilih untuk membeli produk dengan harga yang lebih murah menjadi peluang bagi para produsen untuk menggunakan pemanis natrium siklamat. Dengan demikian untung yang diperoleh akan lebih besar tanpa menghiraukan bahayanya.

Natrium siklamat memiliki nilai kalori 0 kkal/g atau setara dengan 0 kJ/g dan ADI (*acceptable daily intake*) 11 mg/kg berat badan. Batas maksimum penggunaan natrium siklamat berdasarkan kategori pangan gula dan sirup lainnya yaitu 3000 mg/kg (SNI 01-6993-2004).

Batas maksimum penggunaan natrium siklamat yang dihitung berdasarkan nilai ADI yaitu untuk anak-anak yang memiliki berat badan 17 kg adalah 187 ppm dan untuk orang dewasa yang memiliki berat badan rata-rata 55 kg adalah 605 ppm. Hasil analis kadar natrium siklamat pada semua sampel berkisar antara 49.162 – 262.773 ppm, sehingga semua sampel berada diatas batas maksimum penggunaan untuk anak-anak dan orang dewasa.

Konsumsi natrium siklamat secara berlebih dapat menyebabkan banyak gangguan kesehatan diantaranya migrain, sakit kepala, kehilangan daya ingat, bingung, insomnia, iritasi, asma, hipertensi, sakit perut, alergi, impotensi, gangguan seksual, kebotakan dan kanker otak (Simatupang, 2009).

Dalam memilih pemanis buatan untuk produksi makanan dan minuman, produsen biasanya mencampur lebih dari satu macam pemanis buatan. Hal tersebut selain untuk menghilangkan *after taste* yang kurang enak dari satu jenis pemanis buatan tertentu dan untuk menekan harga pokok produksi. Harga pemanis buatan yang paling murah adalah natrium siklamat yaitu sekitar Rp. 27.500,-/kg. Sedangkan asesulfam-K lebih kurang Rp. 150.000,-/kg dan aspartam sekitar Rp. 250.000,-/kg (Lefina, 2009).

Berbeda dengan natrium sakarin yang dalam penggunaanya akan memberikan efek rasa pahit, pada penggunaan natrium siklamat dalam makanan atau minuman tidak akan memberikan efek rasa pahit. Rasa manis yang dihasilkan dari penggunaan natrium siklamat tanpa adanya rasa ikutan pahit inilah yang menjadi dasar dari penggunaan natrium siklamat. Harga natrium siklamat yang lebih murah dibandingkan dengan harga gula dan pemanis lainnya menyebabkan banyaknya penggunaan natrium siklamat oleh para produsen demi mendapatkan keuntungan yang lebih besar (Lestari, 2011).

Natrium siklamat stabil dalam pemanasan, cahaya, dan udara pada rentang pH yang cukup lebar antara 5,5-7,5. Praktis tidak larut dalam alkohol, eter, benzen dan kloroform tapi sangat mudah larut dalam air. Natrium siklamat lebih manis dibandingkan Ca-siklamat. Data stabilitas siklamat menunjukkan tidak adanya pengurangan kekuatan rasa manis atau kerusakan fisik setelah lebih dari 10 tahun (Yuliany, 2005).

Meningkatnya konsentrasi natrium siklamat dalam larutan akan menurunkan nilai rasa manis relatif dari natrium siklamat. Hasil yang terbaik biasanya diperoleh dengan menggunakan kombinasi natrium siklamat dan natrium sakarin. Natrium sakarin akan meningkatkan kekuatan rasa manis natrium siklamat sehingga rasa pahit dari natrium sakarin akan ditutupi. Kombinasi tersebut juga memberikan efek sinergis. Campuran yang biasa digunakan mengandung 10 bagian natrium siklamat dan 1 bagian natrium sakarin (Yuliany, 2005).

Bahan pemanis sintetis yang ditambahkan kedalam makanan bertujuan sebagai pangan bagi penderita diabetes *mellitus* karena tidak menimbulkan kelebihan gula darah. Memenuhi kebutuhan kalori rendah untuk penderita kegemukan, yang merupakan salah satu faktor penyebab penyakit jantung dan juga penyebab utama kematian, untuk orang yang kurang aktif secara fisik disarankan untuk mengurangi masukan kalori per harinya (Yuliany, 2005).

Analisis kandungan natrium sakarin dan natrium siklamat dapat dilakukan dengan metode KCKT disebabkan adanya gugus kromofor pada struktur kimia natrium siklamat sehingga dapat terdeteksi oleh detektor Uv-vis. Kromofor merupakan semua gugus atau atom dalam senyawa organik yang mampu menyerap sinar ultraviolet dan sinar tampak. Panjang gelombang maksimal juga dipengaruhi oleh pelarut dan struktur molekul kimia yang mengandung kromofor. Pada molekul organik dikenal pula istilah auksokrom yang merupakan gugus fungsional yang mempunyai elektron bebas seperti: OH; **-**O. –NH2; dan –OCH3. Terikatnya gugus auksokrom pada gugus kromofor akan mengakibatkan pergeseran pita absorpsi menuju panjang gelombang yang lebih besar (pergeseran batokromik) disertai peningkatan intensitas (pergeseran hiperkromik)
(Rohman, 2007).

Analisis ini menggunakan tipe kromatograsi fase terbalik (*reverse phase*) disebabkan karena senyawa yang polar akan lebih baik pemisahannya pada kromatografi fase terbalik dan senyawa yang mudah terionkan (ionik) yang tidak dapat terpisahkan pada HPLC fase normal dapat dipisahkan menggunakan sistem HPLC fase terbalik. Selain itu, fase diam yang digunakan dalam kromatografi fase normal mempunyai keterbatasan. Keterbatasannya adalah kepolaran komponen yang dianalisis harus lebih rendah dibandingkan kepolaran fase diam sehingga pemisahan sangat tergantung pada perbedaan polaritas antara fase diam dan komponen yang dipisahkan. Jika perbedaan tersebut sangat kecil, maka tidak terjadi pemisahan atau pemisahan kurang efisien. Karena alasan tersebut, maka digunakanlah fase terikat non polar yang dibuat dengan mereaksikan klorosilan dengan gugus silanol dari silika (Sholihah, 2010).

Mekanisme pemisahan yang terjadi didasarkan pada kompetensi antara fase gerak dan sampel berikatan dengan kolom. Zat yang keluar terlebih dahulu, adalah zat yang yang lebih polar daripada zat yang lainnya, sedangkan zat yang tertahan lebih lama dari kolom, merupakan zat yang lebih non polar. Semakin polar fase gerak, waktu tambat sampel semakin lambat dan semakin non polar fase gerak, sampel semakin cepat keluar (Harahap, 2004).

Senyawa-senyawa non polar dalam campuran akan cenderung membentuk interaksi dengan gugus hidrokarbon karena adanya dispersi gaya van der Waals. Senyawa-senyawa ini juga akan kurang larut dalam pelarut karena membutuhkan pemutusan ikatan hidrogen sebagaimana halnya senyawa-senyawa tersebut berada dalam molekul-molekul air. Oleh karenanya, senyawa-senyawa ini akan menghabiskan waktu dalam larutan dan akan bergerak lambat dalam kolom. Ini berarti bahwa molekul-molekul polar akan bergerak lebih cepat melalui kolom (Ramadhani, 2010).

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel. Fase gerak yang paling sering digunakan untuk pemisahan fase terbalik adalah campuran larutan bufer dengan metanol atau air dan asetonitril. Asetonitril memiliki kekuatan pelarut (adsorpsi) 0,65 dan kekuatan pelarut (partisi) 5,8 sedangkan air memiliki kekuatan pelarut (adsorpsi) > 1 dan kekuatan pelarut (partisi) 10,2 (Rohman, 2007).

Fase gerak yang digunakan dalam penelitian ini adalah asetonitril dan air
dengan perbandingan 5 : 95. Fase gerak ini dipilih berdasarkan percobaan yang dilakukan terhadap beberapa jenis dan komposisi fase gerak, sehingga diketahui bahwa respon fase gerak asetonitril dan air dengan perbandingan 5 : 95 lebih terlihat dibandingkan dengan menggunakan fase gerak yang lain. Asetonitril dan air secara berturut-turut memiliki konstanta dielekrik 37 dan 80 dimana semakin tinggi nilai konstanta dielektrik suatu larutan maka akan bersifat semakin polar. Bila pasangan fase gerak ini digunakan maka waktu retensi analit akan menurun dengan meningkatnya kandungan pelarut polar.

Fase diam yang digunakan dalam analisis ini adalah Oktadesil silika (ODS atau C18) karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi. Oktadesil silika (ODS atau C18) memiliki karakteristik nonpolar, akan tetapi gugus silanol yang tidak direaksikan akan menyebabkan solut-solut yang polar terutama solut basa akan mengekor. Kisaran pH terbatas pada kisaran antara 2,5 – 7,5 (Rohman, 2007).

Detektor yang digunakan dalam analisis ini adalah detektor UV-Vis. Detektor ini adalah detektor yang paling banyak digunakan dalam KCKT sehingga banyak metode yang dikembangkan untuk memasang atau menambahkan gugus kromofor yang akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu (Rohman, 2007).

**V. KESIMPULAN DAN SARAN**

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Kesimpulan, dan (2) Saran

**5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian terhadap kadar pemanis sintetis natrium sakarin dan natrium siklamat pada sampel minuman cup dapat diambil kesimpulan bahwa pada sampel teh (merk x) mengandung natrium sakarin dengan konsentrasi dari 46,67 ppm sampai 72,15 ppm dan konsentrasi natrium siklamat dari 49.162 ppm sampai 148.617 ppm. Untuk sampel sari kelapa (merk y) mengandung natrium sakarin dari 35,08 ppm sampai 110,56 ppm dan konsentrasi natrium siklamat dari 77.113 ppm sampai 262.773 ppm. Dan pada sampel es teler (merk z) terdapat satu sampel yang mengandung natrium sakarin dengan konsentrasi 13,30 ppm dan konsentrasi natrium siklamat dari 71.394 ppm sampai 201.240 ppm dengan tanggal kedaluarsa yang berbeda-beda pada masing-masing sampel. Namun demikian konsentrasi natrium sakarin pada semua sampel masih dibawah ambang batas sedangkan konsentrasi natrium siklamat pada semua sampel jauh diatas ambang batas yang tercamtum dalam Permenkes RI No.722/Menkes/Per/IX/1988 yaitu 300 ppm untuk natrium sakarin dan 3000 ppm untuk natrium siklamat.

**5.2 Saran**

1. Sebaiknya perlu dilakukan penentuan kadar pemanis sintetis natrium sakarin dan natrium siklamat pada jenis makanan dan minuman yang lain.

2. Perlu dilakukan pengujian jenis pemanis sintetis yang lain yang terkandung dalam makanan dan minuman.

3. Perlu adanya alat uji secara cepat (*rapid test*) yang lebih *simple* dan mudah dibawa yang dapat mendeteksi senyawa natrium sakarin dan natrium siklamat misalnya dengan biosensor atau *paper test*.

4. Sebaiknya penggunaan pemanis sintetis natrium sakarin dan natrium siklamat diganti dengan pemanis alami misalnya pemanis dari daun stevia yang memiliki tingkat kemanisan 200-300 kali dibandingkan sukrosa.

5. Sebaiknya pemerintah lebih meningkatkan pengawasan terhadap peredaran dan penggunaan pemanis sintetis dalam minuman.

6. Perlunya sosialisasi mengenai bahaya yang ditimbulkan oleh senyawa natrium sakarin dan natrium siklamat, sehingga para produsen tidak lagi menggunakannya secara berlebih.

7. Sebaiknya para konsumen lebih selektif dalam membeli produk minuman yang ada di pasaran dan sebaiknya tidak terlalu sering mengkonsumsi minuman cup yang mengandung pemanis buatan.

**DAFTAR PUSTAKA**

## Ailang. 2011. Gantikan Gula Dengan Pemanis Alami. <http://www.klikini.com/> gantikan-gula-dengan-pemanis-alami.html/. Diakses pada Tanggal 30 Juni 2012.

## Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2003. Intruksi Kerja Laboratorium Pangan dan Bahan Berbahaya, Tentang Penetapan Kadar Siklamat dalam Minuman. BPOM. Bandung. Hal 3.

## Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2011. Intruksi Kerja Laboratorium Pangan dan Bahan Berbahaya, Tentang Penetapan Kadar Sakarin dan Siklamat dalam Makanan dan Minuman. BPOM. Bandung. Hal 1-3.

## Badan Standardisasi Nasional. SNI 01-6993-2004 Tentang Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan – Persyaratan Penggunaannya dalam Produk Pangan. Jakarta. Hal 37-38.

## Cahyono, B. 2002. Food Safety dan Implementasi Quality System Industri Pangan di Era Pasar Bebas. [http://perpustakaan.bappenas.go.id/ lontar/file?file. =digital/78129-[\_Konten\_]- Artikel%20A.82-27-02.pdf](http://perpustakaan.bappenas.go.id/%20lontar/file?file.%20=digital/78129-%5b_Konten_%5d-%20Artikel%20A.82-27-02.pdf). Diakses pada Tanggal 7 Juli 2012.

## Danur, AM., Yustini A., Rina V. 2010. Penentuan Identifikasi Sakarin dan Siklamat dalam Minuman Es Sirup yang Beredar di Pasar Raya Padang. Universitas Andalas. Padang. Hal 1.

## Day R.A. dan Underwood, A.L. 2002. Analisis Kimia Kuantitatif. Erlangga. Jakarta. Hal 487

## Departemen Kesehatan RI. 1985. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 239/Menkes/PER/V/1985 Tentang Batas Penggunaan Bahan Tambahan Makanan. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.

## Dirjen Pengawas Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI .1999. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. No. 1168/Menkes/PER/X/99 Tentang Perubahan Atas Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 722/Menkes/Per/IX/1988/ Tentang Bahan Tambahan Makanan. Jakarta.

## Dirjen Pengawas Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI .1988. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. No. 722/Menkes/PER/IX/88 Tentang Bahan Tambahan Makanan. Jakarta.

## Dirjen Pengawas Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI .1985. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. No. 208/Menkes/PER/IV/85 Tentang Pemanis Buatan. Jakarta.

## Eryanto. 2007. Teknik Sampling. LKiS. Yogyakarta. Hal 250-251.

## Fachruddin, L. 1998. Memilih dan Memanfaatkan Bahan Tambahan Makanan. Trubus Agriwidya. Ungaran. Hal 11-28.

## Food Safety and Standards Authority of India . 2012. Manual of Methods Analysisof Foods “Foods Additives”. Ministry of Health and Family Walfare Government of India. New Delhi. Hal 48-55.

## Harahap, H.Y. dan Citra, N.A. 2004. Penetapan Kadar Sakarin, Asam Benzoat, Asam Sorbat, Kofeina, dan Aspartam di dalam Beberapa Minuman Ringan Bersoda. Departemen Farmasi FMIPA-UI. Jakarta.

## Khopkar, S.M. 2008. Konsep Dasar Kimia Analitik. UI-Press. Jakarta. Hal 155-166.

## Lefina. 2009. Penyebab Rasa Manis Makanan & Minuman Kita. [http://forum.kompas.com/kesehatan/16742-lanjutan-waspada-penyebab-rasa -manis-makanan-minuman-kita.html](http://forum.kompas.com/kesehatan/16742-lanjutan-waspada-penyebab-rasa%20-manis-makanan-minuman-kita.html). Diakses pada Tanggal 22 Maret 2013.

## Lestari, D. 2011. Analisis Adanya Kandungan Pemanis Buatan (Sakarin dan Siklamat) pada Jamu Gendong di pasar Gubug Grobokan. Fakultas Tarbiyah Institut Agama Islam Negeri Walisongo. Semarang. Hal 13-22.

## Mulachella, F.F. 2011. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Sakarin. http://www. faikshare.com/2011/05/analisis-kualitatif-kuantitatif-sakarin.html. Diakses pada Tanggal 25 November 2012.

Napitupulu, L.H. 2006. Analisis Zat Warna dan Pemanis Buatan pada Es Krim yang Dijajakan Dibeberapa Pasar Di Kota Medan Tahun 2006. Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatera Utara. Medan. Hal 25-26.

Negara, Y. A. K. 2011. Penggunaan Sakarin dan Siklamat pada Minuman yang Dijajakan Pedagang di Sekolah Dasar Wilayah Puskesmas Driyorejo Gresik. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 1.

## Nugraheni, T., dkk. 2011. Penetapan Kadar Tanin, Natrium Sakarin dan Natrium Benzoat pada Minuman Teh Kemasan. Laboratorium Analisis Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. Hal 6.

## Nurlita, F. 1997. Kadar Natrium-Siklamat dalam Minuman yang Dijual di Pasaran Kota Singaraja. Universitas Udayana. Bali. Hal 70.

## Oktavia, Y. 2012. 720 Sampel Jajanan Mencurigakan Diambil dari 40 Sekolah. http://www.pikiran-rakyat.com/node/190271. Diakses pada Tanggal 20 November 2012.

Putra, A. 2011. Penetapan Kadar Siklamat pada Beberapa Minuman Ringan Kemasan Gelas dengan Metoda Gravimetri. Fakultas Farmasi Universitas Andalas. Padang. Hal 3.

Putra, E.D.L. 2004. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Bidang Farmasi. Jurusan Farmasi, Fakultas Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. Hal 1-2.

Ramadhani, A., Dekna, A., Gusnilawati, Reviana, E., dan Rezki Pratama. 2010. Hight Performance Liquid Chromatography (HPLC) dan Gas Kromatografi (GC). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Padang. Padang.

## Rohman, A., dan Ibnu, G.G. 2007. Metode Kromatografi untuk Analisis Makanan. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hal 13-16.

## Rohman, A., dan Ibnu, G.G. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hal 379-394.

## Sarjana, P. 2009. Bahan Tambahan Makanan (BTM) yang Beresiko Terhadap Gizi dan Kesehatan. Universitas Udayana. Bali. Hal 372.

## Sholihah, I. 2010. Laporan Praktikum Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

## Simatupang, H. 2009. Analisa Penggunaan Zat Pemanis Buatan pada Sirup yang Dijual Di Pasar Tradisional Kota Medan Tahun 2009. Skripsi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sumatra Utara. Medan. Hal 2-21.

## Sinulingga, R. 2011. Penentuan Kadar Sakarin dalam Beberapa Jenis Minuman Jajanan yang Dipasarkan di SD Negeri No. 064025 Jalan Flamboyan Kelurahan Simpang Selayang Kecamatan Medan Tuntungan Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Tesis Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara. Medan.

## Sudjana. 2005. Metoda Statistika. Trarsito. Bandung. Hal 168.

## Suratmono. 2009. Penggunaan Data Hasil Pengujian untuk Meningkatkan Pengaturan Keamanan Pangan: Studi Kasus Siklamat pada Pangan Jajanan Anak Sekolah. Tesis Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 6-41.

## Susant. 2010. Bahaya Pemanis Buatan pada Jajanan Anak. <http://herrysusant>. wordpress. com/2010/04/21/ bahaya- pemanis -buatan-pada-jajanan-anak/. Diakses pada Tanggal 20 November 2012.

Syah, D. dkk. 2005. Manfaat dan Bahaya Bahan Tambahan Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor. Hal 5-71.

## Taslim, C. 2012. Stevia Kaya Manfaat. <http://hembusanangin>lembut. wordpress.com/.2012/03/20/647/. Diakses pada Tanggal 27 Maret 2013.

## Wandy. 2012. Bahayanya Bahan Pemanis pada Kesehatan. <http://wandylee.wordpress.com/tag/bahaya-pemanis/>. Diakses pada Tanggal 7 Januari 2012.

## Widjajaseputra, A.I. 2012. Penggunaan Sakarin Sebagai Bahan Pemanis Sintetik. Jurusan teknologi Pangan dan Gizi Fakultas teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala. Surabaya. Hal 32.

## Winarno, F.G. 1997. Kimia Pangan dan Gizi. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

## Yuliany, F. 2005. Penentuan Kadar Beberapa Pemanis Sintetis dalam Makanan Jajanan dengan Metode KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). Tugas Akhir Fakultas Teknik Universitas Pasundan. Bandung. Hal 16-59.

## Yuliarti, N.2007. Awas! Bahaya Di balik Lezatnya Makanan. Andi. Yogyakarta. Hal 7-27.

## Zuhra, C.F. 2006. Flavor (Citarasa). Departemen Kimia fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. Medan.

**Lampiran 1. Pembuatan Larutan Standar Natrium Sakarin**

**dan Natrium Siklamat**

1. Pembuatan Larutan Standar Natrium Sakarin

Membuat larutan standar natrium sakarin sebesar 200 ppm yaitu dengan cara menimbang 5 mg sakarin kemudian dilarutkan dan diencerkan dalam labu takar 25 ml dengan menggunakan aquabidest sampai tanda batas. Dari larutan tersebut dipipet sebanyak 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, dan 6 ml kemudian dilarutkan dan diencerkan dalam labu takar 10 ml dengan menggunakan aquabidest sampai tanda batas. Kemudian larutan tersebut diukur luas area dan waktu retensinya dengan menggunakan KCKT.

Hasil dari pengukuran larutan standar natrium sakarin dapat dilihat pada tabel L1.1.

Tabel L1.1 Hasil Pengukuran Larutan Standar Natrium Sakarin

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Konsentrasi (ppm)** | **Waktu Retensi** | **Luas Area (AU)** |
| 20 | 0,9 | 3223117 |
| 40 | 0,9 | 6361552 |
| 60 | 0,94 | 9445262 |
| 80 | 0,96 | 12172288 |
| 100 | 0,95 | 14733268 |
| 120 | 0,96 | 17454337 |

Keterangan: AU = Absorban unit

Gambar L1.1. Grafik Kurva standar Natrium Sakarin

1. Pembuatan Larutan Standar Natrium Siklamat

Membuat larutan standar natrium siklamat sebesar 200000 ppm yaitu dengan cara menimbang 10 g siklamat kemudian dilarutkan dan diencerkan dalam labu takar 50 ml dengan menggunakan aquabidest sampai tanda batas. Dari larutan tersebut dipepet sebanyak 1,5 ml; 3 ml; 4,5 ml; 6 ml; 7,5 ml; dan 9 ml kemudian dilarutkan dan diencerkan dalam labu takar 10 ml dengan menggunakan aqubidest sampai tanda batas. Kemudian larutan tersebut diukur luas area dan waktu retensinya dengan menggunakan KCKT.

Hasil dari pengukuran larutan standar natrium siklamat dapat dilihat pada tabel L1.2.

Tabel L1.2 Hasil Pengukuran Larutan Standar Natrium Siklamat

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Konsentrasi (ppm)** | **Waktu Retensi** | **Luas Area (AU)** |
| 30000 | 1,63 | 14285174 |
| 60000 | 1,64 | 21353385 |
| 90000 | 1,66 | 28709782 |
| 120000 | 1,65 | 36279629 |
| 150000 | 1,65 | 45849574 |
| 180000 | 1,66 | 52419485 |

Keterangan: AU = Absorban unit

Gambar L1.2. Grafik Kurva standar Natrium Siklamat

**Lampiran 2. Perhitungan Kandungan Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat dalam Sampel**

**Pengujian Kandungan Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat dalam Sampel Teh (Merk X) dengan Tanggal Kedaluarsa 07-04-2013**

**Natrium Sakarin :**

 Y = 141426x + 665143

7265062 = 141426x + 665143

 x = $\frac{7265062- 665143}{141426}$

 x = $\frac{6599919}{141426}$

 x = 46,67 ppm

Kadar Sampel = 46,67 ppm

**Natrium Siklamat:**

Y = 258,79x + 6.106

 Y = 258,79x + 6000000

41846533 = 258,79x + 6000000

 x = $\frac{41846533 - 6000000}{258,79}$

 x = $\frac{35846533}{258,79}$

 x = 138516,91 ppm

Kadar Sampel = 138.516 ppm

**Perhitungan Standar Deviasi Natrium Sakarin**

**1. Teh (Merk X)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Xi | xi-x | (xi-x)2 |
| 46,67 | -12,40 | 153,76 |
| 63,75 | 4,68 | 21,90 |
| 61,92 | 2,85 | 8,12 |
| 58,71 | -0,36 | 0,13 |
| 52,03 | -7,04 | 49,56 |
| 55,42 | -3,65 | 13,32 |
| 63,08 | 4,01 | 16,08 |
| 72,15 | 13,08 | 171,09 |
| 59,29 | 0,22 | 0,05 |
| 57,69 | -1,38 | 1,90 |
| 59,07 |   | 435,92 |

SD **=** $\sqrt{\frac{Σ |xi-x|^{2}}{n-1}}$

$ = \sqrt{\frac{435,92}{10-1}}$

 = 6,96

**Perhitungan Standar Deviasi Natrium Siklamat**

**1. Teh (Merk X)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Xi | xi-x | (xi-x)2 |
| 138.516 | 35.429 | 1.255.214.041 |
| 127.979 | 24.892 | 619.611.664 |
| 122.560 | 19.473 | 379.197.729 |
| 53.464 | -49.623 | 2.462.442.129 |
| 141.925 | 38.838 | 1.508.390.244 |
| 148.617 | 45.530 | 2.072.980.900 |
| 139.198 | 36.111 | 1.304.004.321 |
| 52.925 | -50.162 | 2.516.226.244 |
| 49.162 | -53.925 | 2.907.905.625 |
| 56.528 | -46.559 | 2.167.740.481 |
| 103.087 |   | 17.193.713.378 |

SD **=** $\sqrt{\frac{Σ |xi-x|^{2}}{n-1}}$

$ = \sqrt{\frac{17.193.713.378}{10-1}}$

 = 43.708

**2. Sari Kelapa (merk Y)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Xi | xi-x | (xi-x)2 |
| 201.629 | -7.751 | 60.078.001 |
| 249.962 | 40.582 | 1.646.898.724 |
| 232.659 | 23.279 | 541.911.841 |
| 77.113 | -132.267 | 17.494.559.289 |
| 262.773 | 53.393 | 2.850.812.449 |
| 215.195 | 5.815 | 33.814.225 |
| 239.305 | 29.925 | 895.505.625 |
| 120.445 | -88.935 | 7.909.434.225 |
| 258.789 | 49.409 | 2.441.249.281 |
| 235.933 | 26.553 | 705.061.809 |
| 209.380 |   | 34.579.325.469 |

SD **=** $\sqrt{\frac{Σ |xi-x|^{2}}{n-1}}$

$ = \sqrt{\frac{34.579.325.469}{10-1}}$

 = 61.985

**3. Es teler (merk Z)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Xi | xi-x | (xi-x)2 |
| 92.876 | -46.296 | 2.143.319.616 |
| 80.958 | -58.214 | 3.388.869.796 |
| 154.509 | 15.337 | 235.223.569 |
| 163.090 | 23.918 | 572.070.724 |
| 167.417 | 28.245 | 797.780.025 |
| 201.240 | 62.068 | 3.852.436.624 |
| 193.628 | 54.456 | 2.965.455.936 |
| 193.359 | 54.187 | 2.936.230.969 |
| 73.249 | -65.923 | 4.345.841.929 |
| 71.394 | -67.778 | 4.593.857.284 |
| 139.172 |   | 25.831.086.472 |

SD **=** $\sqrt{\frac{Σ |xi-x|^{2}}{n-1}}$

$ = \sqrt{\frac{25.831.086.472}{10-1}}$

 = 53.574

**Lampiran 3. Perhitungan LOD (Batas Deteksi) dan LOQ (Batas Kuantitasi) Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat**

**Persamaan Kurva Standar Natrium Sakarin :**

**y = 141426x + 665143**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Larutan Standar (ppm)** | **y** | **Y** | **y-Y** | **(y-Y)2** |
| 20 | 3223117 | 3493663 | -270546 | 73195138116 |
| 40 | 6361552 | 6322183 | 39369 | 1549918161 |
| 60 | 9445262 | 9150703 | 294559 | 86765004481 |
| 80 | 12172288 | 11979223 | 193065 | 37274094225 |
| 100 | 14733268 | 14807743 | -74475 | 5546525625 |
| 120 | 17454337 | 17636263 | -181926 | 33097069476 |
|  |  |  |  | 𝝨= 237427750084 |

Keterangan:

y : Absorban secara praktis, berdasarkan hasil analisis.

Y : Absorban secara teoritis, berdasarkan hasil perhitungan dibawah ini:

Y1 = 141426 (20) + 665143 = 3493663

Y2 = 141426 (40) + 665143 = 6322183

Y3 = 141426 (60) + 665143 = 9150703

Y4 = 141426 (80) + 665143 = 11979223

Y5 = 141426 (100) + 665143 = 14807743

Y6 = 141426 (120) + 665143 **=** 17636263

* Sy/x =$ \sqrt{\frac{Σ (y-Y)^{2}}{n-2}}$

 **=** $ \sqrt{\frac{237427750084}{6-2}}$

 **=** $\sqrt{59356937521}$

 **=** 243632,8

* LOD = $ \frac{3S\_{y/x}}{141426}$ = $\frac{3(243632,8)}{141426}$ =$\frac{730898.4}{141426}$ = 5,17 ppm
* LOQ = $\frac{10S\_{y/x}}{141426}$ = $\frac{10(243632,8)}{141426}$ =$\frac{2436328}{141426}$ = 17,23 ppm

**Persamaan Kurva Standar Natrium Siklamat :**

**y = 256,24x + 6.106**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Konsentrasi Larutan Standar (ppm)** | **y** | **Y** | **y-Y** | **(y-Y)2** |
| 30.000 | 14285174 | 13763700 | 521474 | 271935132676 |
| 60.000 | 21353385 | 21527400 | -174015 | 30281220225 |
| 90.000 | 28709782 | 29291100 | -581318 | 337930617124 |
| 120.000 | 36279629 | 37054800 | -775171 | 600890079241 |
| 150.000 | 45849574 | 44818500 | 1031074 | 1063113593476 |
| 180.000 | 52419485 | 52582200 | -162715 | 26476171225 |
|  |  |  |  | 𝝨= 2330626813967  |

Keterangan:

y : Absorban secara praktis, berdasarkan hasil analisis.

Y : Absorban secara teoritis, berdasarkan hasil perhitungan dibawah ini:

Y1 = 258,79 (30000) + 6.106 = 13763700

Y2 = 258,79 (60000) + 6.106 = 21527400

Y3 = 258,79 (90000) + 6.106 = 29291100

Y4 = 258,79 (120000) + 6.106 = 37054800

Y5 = 258,79 (150000) + 6.106 = 44818500

Y6 = 258,79 (180000) + 6.106 = 52582200

* Sy/x =$ \sqrt{\frac{Σ (y-Y)^{2}}{n-2}}$

 **=** $ \sqrt{\frac{2330626813967}{6-2}}$

 **=** $\sqrt{582656703492}$

 **=** 763319,5

* LOD = $ \frac{3S\_{y/x}}{6.10^{6}}$ = $\frac{3(763319,5)}{6.10^{6}}$ = $\frac{2289958.5}{6.10^{6}}$ = 0,38 ppm
* LOQ = $\frac{10S\_{y/x}}{6.10^{6}}$ = $\frac{10(763319,5)}{6.10^{6}}$ =$ \frac{7633195}{6.10^{6}}$ = 1,27 ppm

**Lampiran 4. Gambar Kromatogram Larutan Baku Standar**

**1. Natrium Sakarin**

Gambar 4.1 Kromatogram Larutan Standar Natrium Sakarin 80 ppm

**2. Natrium Siklamat**

Gambar 4.1 Kromatogram Larutan Standar Natrium Siklamat 90.000 ppm

**Lampiran 6. Sampel Minuman Cup**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No.** | **Nama Sampel** | **Gambar** |
| 1. | Teh (Merk X) | E:\TA\Revisi Sidang\sAMPEL\DSC_1406.JPG |
| 2. | Sari Kelapa (Merk Y) | E:\TA\Revisi Sidang\sAMPEL\DSC_1408.JPG |
| 3. | Es Teler (Merk Z) | E:\TA\Revisi Sidang\sAMPEL\DSC_1410.JPG |