

Analisis Pemanis Buatan Natrium Siklamat pada Minuman Ringan dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Tiofany Sulistio Ningtyas^{1*}, Imelda Fajriati¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta Jl. Marsda Adisucipto Yogyakarta 55281

*Corresponding author

*E-mail: tiofany1994@gmail.com

Received 28 May 2019, Accepted 15 June 2019, Published Online 29 November 2019

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum dari penentuan natrium siklamat secara kromatografi cair kinerja tinggi, yang meliputi variasi fase gerak, komposisi fase gerak, dan laju alir fase gerak, parameter kromatografi, serta kadar natrium siklamat dalam sampel minuman ringan. KCKT yang digunakan adalah fase terbalik menggunakan dengan detektor UV dengan panjang gelombang 220 nm. Kolom yang digunakan adalah LiChrosper 100-RP18 dengan panjang kolom 250x4,0 mm, suhu kolom 40°C, dan tekanan 280 kgf/cm². Variasi fase gerak yang digunakan adalah metanol:akuabides dan asetoniril:akuabides dengan masing-masing komposisi fase gerak 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, dan 80:20 v/v serta variasi laju alir fase gerak 0,5 dan 1 mL/menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum didapatkan fase gerak asetonitril:akuabides (40:60 v/v) dengan laju alir 1 mL/menit. menghasilkan efisiensi, faktor kapasitas, resolusi, dan *tailing factor* berturut-turut sebesar 14000,01; 6,57; 1,19; dan 1,96. Kadar natrium siklamat dalam minuman ringan terdapat pada semua sampel yang diuji, dengan kadar tertinggi sampel A sebesar 142,59 ppm. Sampel B memiliki kadar natrium siklamat sebesar 26,68 ppm, sampel C sebesar 77,26 ppm, dan sampel D sebesar 8,69 ppm.

Kata kunci: pemanis buatan, natrium siklamat, KCKT

ABSTRACT

Analysis of Artificial Sweetener Sodium Cyclamate in Soft Drinks with High Performance Liquid Chromatography. The objective of this study was to determine the optimum conditions for the determination of sodium cyclamate by high performance liquid chromatography, which including variations in mobile phase, mobile phase composition, and flow rate of the mobile phase, chromatographic parameters, and the levels of cyclamate sodium in soft drink samples. The HPLC used is reversed phase using a UV detector with a wavelength of 220 nm. The column used is LiChrosper 100-RP18 with a column length of 250 x 4.0 mm, column temperature of 40°C, and pressure of 280 kgf / cm². The mobile phase variations used are methanol: aquabides and acetonyril: aquabides with composition ratio of mobile phase of 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, and 80:20 v / v and rate variation of mobile phase flow with level 0.5 and 1 mL / min. The results indicated that the optimum condition was obtained by combination of mobile phase of acetonitrile: aquabides (40:60 v / v) with flow rate of 1 mL / min with efficiency, capacity factor, resolution, and tailing factor of 14000.01; 6.57; 1.19; and 1.96 respectively. The concentration of sodium cyclamate detected in soft drinks on four samples that obtained in the market showed the highest concentration of sodium cyclamate quantified from sample A with 142.59 ppm. This concentration far exceeded the level that is permitted (100 ppm). In addition, asmpel B, C and D has cyclamate sodium concentration of 26.68 ppm, 77.26 ppm, and 8.69 ppm respectively.

Keywords: artificial sweeteners, sodium cyclamate, HPLC

1. PENDAHULUAN

Penggunaan bahan tambahan pangan sangat beragam, seperti pengawet, pemanis, penguat rasa, pengental, dan lain sebagainya. Bahan tambahan pangan banyak jenisnya baik yang alami dan sintetis. Banyaknya jenis bahan tambahan pangan telah mendorong industri pangan semakin mengembangkan variasi produk pangan. Industri makanan dan minuman lebih menyukai menggunakan bahan tambahan pangan dikarenakan harganya lebih murah dengan kualitas yang baik. Namun demikian, tidak semua industri makanan dan minuman memahami dengan benar manfaat dan efek samping bahan tambahan pangan tersebut.

Pemanis buatan yang digunakan oleh industri makanan dan minuman, seperti sakarin, natrium siklamat, dan aspartam memiliki tingkat kemanisan yang lebih tinggi daripada gula. Walaupun natrium siklamat relatif aman terhadap penderita diabetes melitus, belum tentu semua pemanis buatan aman dikonsumsi dan tidak memberikan efek samping bagi kesehatan (BSN, 2004). Salah satu produk yang mengandung pemanis buatan adalah minuman ringan seperti, teh, sari kelapa, dan minuman rasa buah. Minuman ringan tersebut dikemas dalam kemasan siap saji sehingga diduga menggunakan bahan tambahan pangan dan salah satunya adalah pemanis buatan. Penggunaan pemanis buatan seperti natrium siklamat sangat dimungkinkan dalam minuman ringan yang beredar di masyarakat dengan dosis yang tidak beraturan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah minuman ringan yang beredar di pasaran mengandung pemanis buatan natrium siklamat dengan kadar yang melebihi ambang batas atau tidak. Pada penelitian ini dilakukan analisis kandungan pemanis buatan siklamat dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi. Beberapa kondisi optimum juga ditentukan dalam penelitian ini, antara lain optimasi perbandingan komposisi fase gerak dan laju alir dengan variasi perbandingan komposisi methanol/asetonitril dan akuabides serta variasi laju alir. Sejauh

penelusuran pustaka, penelitian ini belum pernah dilakukan dimana dalam beberapa penelitian terdahulu hanya dilakukan optimasi menggunakan satu fase gerak, seperti metanol dan air atau asetonitril dan air.

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini, antara lain seperangkat alat KCKT merk Shimadzu LC-20AT, kolom LiChrospher 100 RP-18 endcapped (5 μ m, Merck) dengan panjang kolom 250x4,0 mm, pompa shimadzu, elmasonic S ultrasonic, spektrofotometer UV-Vis 1800 Double Beam Shimadzu, neraca analitik merk Ohaus, membran filter PTFE 0,45 μ m dan 0,2 μ m, dan seperangkat alat gelas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain metanol pro KCKT, asetonitril pro KCKT, standar natrium siklamat, akuabides, dan sampel.

2.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku standar natrium siklamat dibuat 1250 ppm sebanyak 100 mL dengan cara ditimbang standar natrium siklamat sebesar 125 mg menggunakan neraca analitik. Lalu, larutan baku 500 ppm standar natrium siklamat diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Lalu, dibuat kurva serapannya dan ditentukan panjang gelombang maksimum

2.3 Prosedur Penyiapan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Masing-masing unit diatur. Alat KCKT digunakan kolom LiChrospher 100 RP-18 endcapped (5 μ m, Merck) dengan panjang kolom 250x4,0 mm, detektor UV-Vis, dan panjang gelombang yang digunakan adalah 220 nm. Setelah alat KCKT difungsikan, maka pompa dijalankan dan fase gerak dibiarkan mengalir sampai terbentuk base line yang stabil.

2.4 Penentuan Kondisi Optimum Fase Gerak

Pada tahap ini kromatografi komposisi fase gerak divariasikan menjadi 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, dan 80:20 v/v untuk mendapatkan kondisi optimumnya. Fase gerak yang digunakan terdiri dari dua, yaitu metanol:akuabides dan asetonitril:akuabides. Pada tahap ini, metanol, asetonitril, dan akuabides disaring menggunakan membran filter PTFE 0,45 µl dan diultrasonic selama 15 menit. Larutan standar natrium siklomat diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam kolom. Laju alir yang digunakan pada penentuan kondisi optimum fase gerak sebesar 1 mL/menit.

2.5 Penentuan Kondisi Optimum Laju Alir

Laju alir divariasikan menjadi 0,5 mL/menit dan 1 mL/menit untuk mendapatkan kondisi optimumnya. Pada tahap ini, fase gerak metanol:akuabides dan asetonitril:akuabides pada kondisi optimum dicari kondisi optimum laju alirnya. Larutan standar natrium siklomat diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam kolom.

2.6 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan natrium siklomat dengan konsentrasi 250, 500, 750, 1000, dan 1250 ppm. Masing-masing larutan disaring menggunakan membran filter PTFE 0,2 µm, dan diultrasonic selama 15 menit. Lalu, diinjeksikan ke dalam KCKT sebanyak 20 µl. Panjang gelombang maksimum yang digunakan sebesar 220 nm. Kemudian didapatkan data luas area dari kromatogram dan dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi vs luas area.

2.7 Preparasi Sampel

Sebanyak 1 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian diencerkan dengan akuabides hingga tanda batas. Lalu, sampel disaring menggunakan membran filter PTFE 0,2 µm dan diultrasonic selama 15 menit.

2.8 Penetapan Kadar Sampel

Sampel diinjeksikan sebanyak 20 µl ke dalam KCKT dengan panjang gelombang maksimum 220 nm. Fase gerak yang digunakan adalah

asetonitril:akuabides (40:60 v/v) dengan laju alir 1 mL/menit, berdasarkan penentuan kondisi optimum dalam pemilihan komposisi fase gerak dan kecepatan laju alir.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum natrium siklomat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang *ultraviolet* 200-400 nm. Pengukuran tersebut menghasilkan panjang gelombang 220 nm. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, panjang gelombang maksimum natrium siklomat berada antara 200 dan 268 nm (Wiedyaningsih, 2009; Wibowotomo, 2010; Rahmah, 2012; Liedyawati, 2013; dan Dwiputra, 2014).

3.2 Optimasi Fase Gerak

3.2.1 Fase Gerak Metanol : Akuabides

Penentuan kondisi optimum KCKT pada pemisahan senyawa natrium siklomat dilakukan variasi perbandingan komposisi fase gerak metanol:akuabides pada 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, dan 80:20 (v/v) dengan laju alir 1 ml/menit. Penentuan kriteria pemisahan dan puncak kromatogram ditunjukkan dengan parameter kromatogram, yaitu faktor kapasitas, efisiensi, resolusi, dan *tailing factor*.

Tabel 1. Tabel Parameter Optimasi Fase Gerak Metanol:Akuabides

Komposisi Fase Gerak (v/v)	Rt	k'	N	Rs	Tf
30:70	5,99	3,82	0	0	0
40:60	5,68	13,21	280,37	0	0
50:50	5,06	2,67	205,77	1,00	1,70
60:40	4,42	2,18	110,26	0,40	0
70:30	3,86	1,74	255,87	0,55	0
80:20	3,37	1,29	407,48	0,25	0

Keterangan: Rt: waktu retensi; k': faktor kapasitas; N: efisiensi; Tf: *tailing factor*

Penentuan optimasi fase gerak metanol:akuabides dipilih kondisi optimum dengan komposisi fase gerak metanol:akuabides (80:20 v/v) dikarenakan memiliki nilai efisiensi yang paling baik, yaitu sebesar 407,48. Nilai

efisiensi yang semakin besar menunjukkan pemisahan yang terjadi semakin baik. Fase gerak metanol:akuabides (80:20 v/v) juga memiliki faktor kapasitas yang berada pada rentang $0,5 \leq k \leq 20$ yaitu, sebesar 1,29. Nilai faktor kapasitas tersebut menunjukkan seberapa kuat komponen-komponen dalam sampel yang dibawa oleh fase gerak berinteraksi dengan kolom. Natrium siklamat merupakan senyawa polar sehingga dapat larut dalam akuabides dan metanol. Natrium siklamat dapat terelusi dengan baik pada komposisi fase gerak metanol:akuabides (80:20 v/v) sehingga natrium siklamat kepolarannya sesuai dengan komposisi fase gerak methanol:akuabides (80:20 v/v). Dikarenakan tingkat kepolaran natrium siklamat dengan komposisi fase gerak metanol:akuabides (80:20 v/v), maka natrium siklamat dapat larut dengan baik dan terbawa keluar kolom.

3.2.1 Fase Gerak Asetonitril : Akuabides

Optimasi fase gerak menggunakan komposisi asetonitril:akuabides dilakukan dengan perbandingan komposisi yang sama seperti metanol:akuabides.. Asetonitril melarutkan lebih baik senyawa organik. Daya larutnya menunjukkan kemampuan suatu pelarut untuk mengelusi zat terlarut dari kolom (Badrunanto, 2013).

Tabel 2. Tabel Parameter Optimasi Fase Gerak Asetonitril : Akuabides

Komposisi Fase Gerak (v/v)	Rt	k'	N	Rs	Tf
30:70	12,43	7,64	12849,10	0,53	0
40:60	10,91	6,57	14000,01	1,19	1,96
50:50	6,81	11,18	12256,02	0,21	1,19
60:40	15,26	9,01	169,85	3,45	1,11
70:30	12,73	4,93	225,15	1,83	1,23
80:20	11,02	49,32	346,71	1,30	1,54

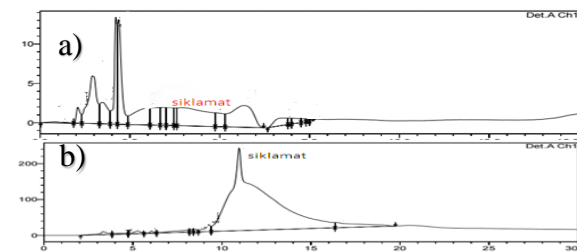
Keterangan: Rt: waktu retensi; k': faktor kapasitas; N: efisiensi; Tf: *tailing factor*

Penentuan optimasi fase gerak metanol : akuabides dipilih kondisi optimum dengan komposisi fase gerak asetonitril : akuabides (40:60 v/v) dikarenakan memiliki nilai efisiensi yang paling baik, yaitu sebesar 14000,01. Nilai efisiensi yang semakin besar menunjukkan pemisahan yang terjadi semakin baik. Fase gerak asetonitril:akuabides (40:60 v/v) juga memiliki faktor kapasitas yang berada pada rentang $0,5 \leq k$

≤ 20 yaitu, sebesar 6,57. Nilai faktor kapasitas tersebut menunjukkan seberapa kuat natrium siklamat yang dibawa oleh fase gerak berinteraksi dengan kolom. Komposisi fase gerak asetonitril : akuabides (40:60 v/v) natrium siklamat dapat terelusi dengan baik sehingga dapat dikatakan natrium siklamat kepolarannya sesuai dengan komposisi fase gerak asetonitril:akuabides (40:60 v/v). Dikarenakan tingkat kepolaran natrium siklamat dengan komposisi fase gerak asetonitril : akuabides (40:60 v/v), maka natrium siklamat dapat larut dengan baik dan terbawa keluar kolom.

3.3 Optimasi Laju Alir

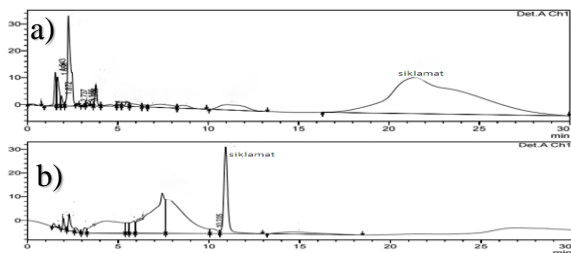
Optimasi dilakukan pada laju alir 0,5 mL/menit dan 1 mL/menit karena standar laju alir untuk kolom berdiameter internal 4,6 mm seperti halnya kolom Lichrosper 18 RP-100 adalah sekitar 1 mL/menit. Selain itu, fase diam dengan ukuran partikel kurang lebih 5 μm akan menghasilkan efisiensi pemisahan terbaik pada laju alir 1-1,5 mL/menit (Budiarti, 2014).



Keterangan: a) laju alir 0,5 mL/menit; b) 1 mL/menit
Gambar 1. Kromatogram fase gerak metanol : akuabides (80:20 v/v)

Optimasi laju alir pada fase gerak metanol : akuabides (80:20 v/v) dipilih laju alir 1 mL/menit sebagai kondisi yang optimum dikarenakan pada laju alir tersebut tidak membutuhkan waktu yang lama untuk analisis dan dari puncak yang dihasilkan tidak mengalami pelebaran yang terlalu signifikan. Karena pada laju alir 0,5 mL/menit dihasilkan puncak yang terlalu lebar. Pada laju alir 0,5 mL/menit terlihat bahwa luas area kromatogram semakin besar. Hal tersebut dapat terjadi karena semakin besar laju alir yang digunakan, maka waktu retensi akan semakin cepat. Pada laju alir 0,5 mL/menit menghasilkan

luas area yg besar, waktu retensi yang lebih lama, dan mengalami pelebaran puncak, sehingga tidak dapat digunakan untuk analisis.



Keterangan: a) laju alir 0,5 mL/menit; b) 1 mL/menit
Gambar 2. Kromatogram Fase Gerak Asetonitril : Akuabides (40:60 v/v)

Tabel 1. Tabel Optimasi Laju Alir dari Fase Gerak Metanol : Akuabides dan Asetonitril : Akuabides dengan Laju Alir 1 mL/menit

Pelarut Komposisi	Rt	k'	N	Rs	Tf
A (80:20)	3,37	1,29	407,48	0	0,25
B (40:60)	10,91	6,57	14000,01	1,19	1,96

Keterangan: A: Metanol : Akuabides; B: Asetonitril : Akuabides; Rt: waktu retensi; k': faktor kapasitas; N: efisiensi; Tf: tailing factor

Berdasarkan tabel, efisiensi yang paling baik dihasilkan oleh campuran asetonitril : akuabides dengan nilai efisiensi sebesar 14000,01. Faktor kapasitas dari masing-masing fase gerak sudah memenuhi persyaratan, yaitu pada rentang $0,5 \leq k \leq 20$. Akan tetapi, faktor kapasitas asetonitril lebih baik daripada methanol : akuabides. Ini berarti natrium siklamat yang dibawa oleh fase gerak asetonitril:akuabides berinteraksi kuat dengan kolom (fasa diam). Resolusi yang paling baik juga ditunjukkan oleh campuran asetonitril:akuabides dengan nilai 1,194. Seperti yang diketahui semakin besar harga resolusi maka semakin baik pula pemisahannya. Pada masing-masing fase gerak mengalami tailing. Sehingga dipilih fase gerak asetonitril:akuabides (40:60 v/v) sebagai fase gerak yang optimum dengan laju alir 1 mL/menit.

3.4 Penentuan Natrium Siklamat dalam Sampel

Penentuan kurva kalibrasi natrium siklamat dilakukan terlebih dahulu dengan

pembuatan larutan standar natrium siklamat. Variasi konsentrasi natrium siklamat sebesar 250, 500, 750, 1000, dan 1250 ppm. Kurva kalibrasi menunjukkan persamaan regresi linier sebesar $y = 58,516x + 12785$ dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9658.

Penentuan kadar natrium siklamat menggunakan KCKT dilakukan dengan kondisi fase gerak asetonitril:akuabides (40:60 v/v) dengan laju alir 1 mL/menit. Pada penentuan kadar natrium siklamat sampel yang digunakan adalah minuman ringan sebanyak empat buah jenis sampel. Sampel diberi kode, yaitu A, B, C, dan D. Kadar masing-masing sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar natrium siklamat dalam sampel

Sampel	W (gram)	F _p	Luas Area	Kadar (ppm)
A	1,185	10	507156	142,59
B	1,125	10	100645	26,68
C	1,147	10	270501	77,26
D	1,536	10	51871	8,69

Keterangan: A: Sampel minuman ringan es kopyor; B: Sampel minuman ringan es nata de coco; C: Sampel minuman es teler; D: Sampel minuman energy

Berdasarkan hasil perhitungan, Kadar sampel A sebesar 142,59 ppm. Kadar tersebut sudah melebihi ambang batas yang sudah ditetapkan, yaitu sebesar 100 ppm (BSN, 2004). Sampel B memiliki kadar natrium siklamat sebesar 26,68 ppm, sampel C sebesar 77,26 ppm, dan sampel D sebesar 8,69 ppm.

KESIMPULAN

Kondisi optimum hasil optimasi metode penetapan kadar natrium siklamat menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi adalah menggunakan fase gerak asetonitril:akuabides (40:60 v/v) dengan laju alir 1 mL/menit, panjang gelombang maksimum sebesar 220 nm, menggunakan kolom LiChrosper 100 RP-18 dengan panjang kolom 250x4,0 mm, suhu kolom 40°C, dan tekanan 280 kgf/cm².

Efisiensi yang paling baik dihasilkan oleh campuran asetonitril-akuabides (40:60 v/v)

dengan nilai efisiensi sebesar 14000,01. Faktor kapasitas asetonitril:akuabides sudah memenuhi persyaratan, yaitu sebesar 6,57. Resolusi yang paling baik juga ditunjukkan oleh campuran asetonitril:akuabides dengan nilai 1,19. *Tailing factor* dari fase gerak asetonitril:akuabides sebesar 1,967. Kadar sampel A sebesar 142,59 ppm. Kadar tersebut sudah melebihi ambang batas yang sudah ditetapkan, yaitu sebesar 100 ppm (BSN, 2004). Untuk sampel B memiliki kadar natrium siklamat sebesar 26,68 ppm, sampel C sebesar 77,26 ppm, dan sampel D sebesar 8,69 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- BSN. 2004. *Cara Uji Pemanis Buatan*. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta
- Dwiputra, Bintang. 2014. *Optimasi dan Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Pada Penetapan Kadar Siklamat dalam Minuman Ringan*. Skripsi. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Liedyawati, Wenny. 2013. *Penentuan Kelayakan Edar Es Lilin Tidak Bermerk dan Tidak Berlabel Di Kecamatan X Kabupaten Banyuwangi Berdasarkan Pemanis dan Pewarna yang Digunakan*. Jurnal Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya.
- Rahmah, Aulya. 2012. *Analisis Kadar Siklamat dan Aspartam pada Minuman Ringan Menggunakan HPLC dengan Fasa Gerak Metanol-Buffer Phospat*. Jurnal Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.
- Wibowotomo, Budi. 2008. *Pengembangan Metode Penetapan Kadar Siklamat Berbasis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Guna Diimplementasikan dalam Kajian Paparan*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Widyaningsih, Rizki. 2009. *Analisis Siklamat pada Agar-Agar yang Beredar di Pasar Wage Purwokerto dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Jurnal. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto.