

**STUDI PAPARAN DAN METABOLIT SAKARIN (PEMANIS BUATAN)
PADA JAJANAN ANAK-ANAK**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains**

**VERA FARAH BARARAH
0303030622**



2008

**STUDI PAPARAN DAN METABOLIT SAKARIN (PEMANIS BUATAN)
PADA JAJANAN ANAK-ANAK**

VERA FARAH BARARAH

0303030622



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN KIMIA

DEPOK

2008

LEMBAR PERSETUJUAN

SKRIPSI : STUDI PAPAN DAN METABOLIT SAKARIN (PEMANIS
BUATAN) PADA JAJANAN ANAK-ANAK

NAMA : VERA FARAH BARARAH

NPM : 0303030622

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2008

Dr. rer. nat. Budiawan
PEMBIMBING I

Prof. Dr. Sumi Hudyono PWS
PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana :

Penguji I :

Penguji II :

Penguji III :



Skripsi ini penulis persembahkan untuk

*Ibunda tercinta (Almh) Hj. Diah Badariah, Ayahanda tersayang (Alm)
H.H.R. Taufieq terima kasih untuk semua cinta, kasih sayang, perhatian,
dan ilmu yang telah diberikan pada ananda.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Pengasih atas segala berkah dan karunia-Nya sehingga penulisan skripsi ini dapat selesai pada waktunya.

Penulis menghaturkan terima kasih kepada Bapak Dr. rer. nat. Budiawan selaku Pembimbing I dan Bapak Prof. Dr. Sumi Hudoyono PWS selaku Pembimbing II, yang dengan sabar membimbing, memberi saran, dan segala bantuan selama penelitian berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini. Penulis juga berterima kasih kepada Bapak Dr. M. Ridla Bakri selaku Ketua Departemen, dan Ibu Ir. Widyastuti Samadi M.Si selaku Pembimbing Akademik, serta seluruh staf pengajar Departemen Kimia FMIPA UI yang selalu tulus dalam memberi bekal ilmu.

Ucapan terima kasih juga penulis haturkan kepada :

1. Bapak Drs. Sidik selaku kepala sekolah SDIT Al-Mughni Jakarta dan Ibu Dra. Andalas Tuti selaku kepala sekolah SDN Sukamaju 1 Depok yang telah membantu penulis dalam melaksanakan sampling, serta adik-adikku yang telah rela menjadi responden dalam penelitian ini.
2. Bapak Drs. Sunardi, MSi selaku Kepala Lab. Instrumen Kimia UI dan seluruh staf Laboratorium Afiliasi Kimia FMIPA UI, atas bantuan dan kerja samanya dalam penggunaan HPLC.
3. Mbak Neera yang selalu membantu dan memberikan masukan-masukan yang sangat berguna bagi penulis.

4. Mbak Emma, Mbak Tri, Mba Ina, Mba Cucu, Bapak Hedi, dan Pak Tris serta Pak Amin atas bantuannya dalam mempersiapkan sarana dan prasarana penelitian.
5. Teman-teman yang selalu ada dan saling memberi semangat saat penulis berjuang di Kimia: Anita, Rila, Irwan, Novena, Dina Aulia, Riki, Farid, Hudan, Santi, Ela, Andika, Krisnu, Dhina, Redy, Andy. S, serta seluruh rekan Kimia 2003 dan 2004, dan lainnya yang tidak dapat disebut satu-satu namanya.
6. Sahabat-sahabatku Tia, Dewi, dan Anggrit yang selalu memberikan semangat dan masukan untuk penulis, terima kasih untuk persahabatan yang indah ini.
7. Keluargaku Aba', Kak Maman dan Kak Lia, Kak Alex dan Kak Ita, Kak Dewi dan Kak Nana, Kak Fahd, dan Yopi atas pengertiannya dan selalu memberikan perhatian dan kasih sayangnya buat penulis, juga untuk Samy, Naira, dan Nadine yang selalu bisa menghibur dan membuat penulis tertawa.

Penulis menyadari skripsi ini masih banyak kekurangannya. Semoga yang penulis sampaikan dapat bermanfaat bagi para pembaca dan penulis sendiri di kemudian hari.

Penulis

2008

ABSTRAK

Sakarin merupakan pemanis buatan yang masih banyak digunakan masyarakat, karena sakarin mudah didapat dan harganya murah. Sakarin diisolasi dari sampel pangan dengan menggunakan Carrez dan *cartridge* C-18, sedangkan isolasi sakarin dalam urin menggunakan *cartridge* C-18. Berdasarkan hasil penelitian didapat kondisi optimum untuk pengukuran sakarin dengan HPLC detektor UV-Vis adalah dengan komposisi eluen metanol : buffer fosfat 10mM pH 4 perbandingan 10:90 dan panjang gelombang 220 nm. *Recovery* yang didapatkan dengan menggunakan *cartridge* C-18 sebesar 95,96%. Batas deteksi (LOD) dalam penelitian ini mencapai 0,193 ppm sedangkan batas kuantifikasi (LOQ) mencapai 0,644 ppm. Hasil penelitian membuktikan sakarin teridentifikasi pada sampel pangan yang dijual bebas tanpa izin produksi dan juga teridentifikasi dalam sampel urin siswa SDN Sukamaju 1 Depok dan siswa SDIT Al-Mughni Jakarta. Kadar sakarin tertinggi dalam sampel urin responden SDN Sukamaju 1 Depok adalah 93,37 mg/L dan untuk kadar sakarin tertinggi dalam sampel urin responden SDIT Al-Mughni Jakarta adalah 62,47 mg/L.

Kata kunci: Pemanis buatan, sakarin, HPLC UV-Vis, urin

x + 60 hlm; tab; Imp.

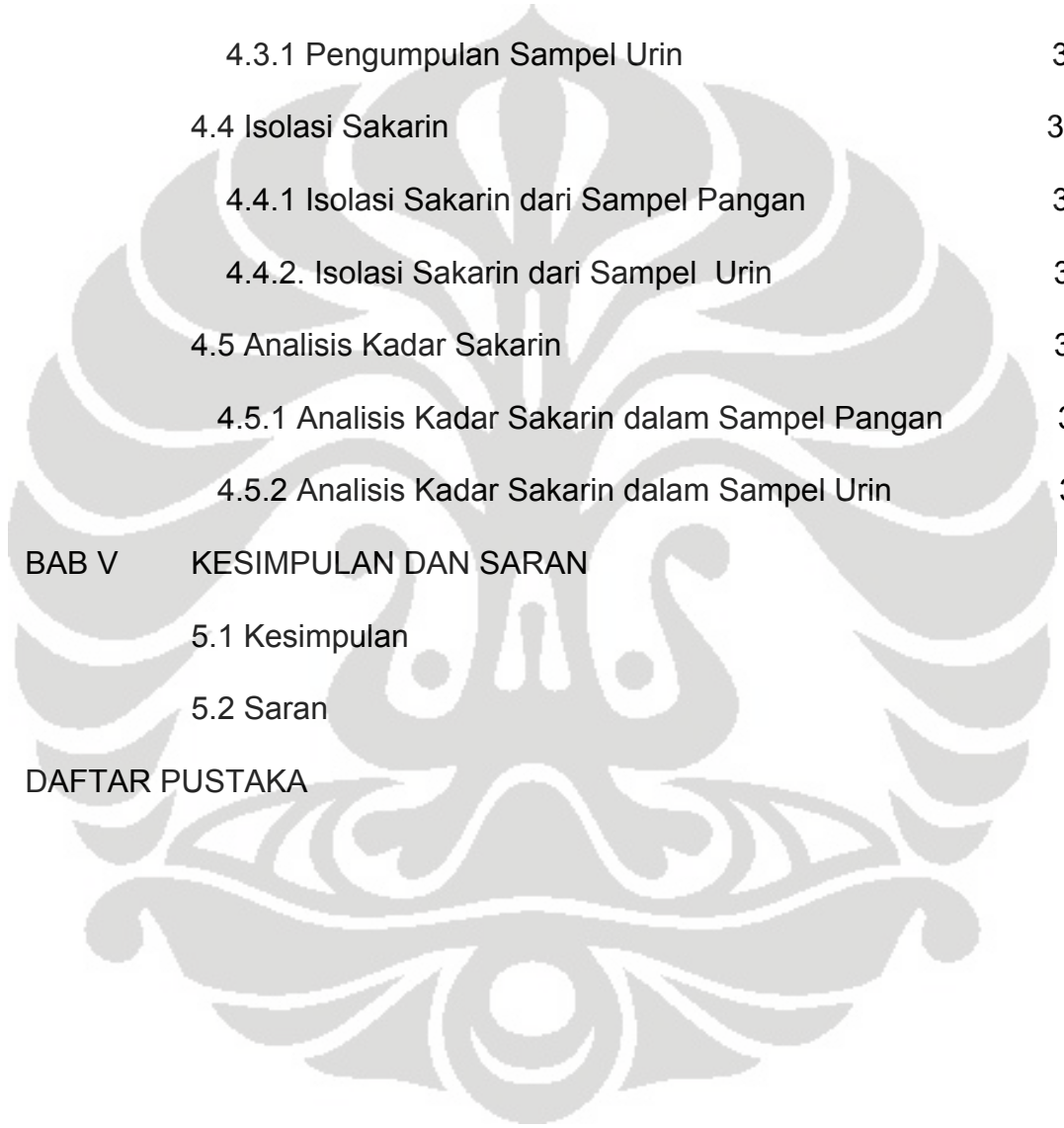
Bibliografi 15 (1978-2005)



DAFTAR ISI

Kata Pengantar	i
Abstrak	iii
Daftar Isi	v
Daftar Gambar	viii
Daftar Tabel	ix
Daftar Lampiran	x
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Ruang Lingkup Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Pemanis Buatan	7
2.1.1 Pemanis Buatan nutritif	8
2.1.2 <i>Sugar Alcohol</i>	8
2.1.3 Pemanis Buatan Non-Nutritif	8
2.2 Sakarin	10
2.2.1 Sifat Fisik-Kimia	11
2.2.2 Sumber Paparan Sakarin	12
2.2.3 Toksikokinetika	13

	2.2.4 Efek Sakarin Terhadap Kesehatan	14
	2.2.4.1 Efek Akut	14
	2.2.4.2 Efek Kronik	15
	2.3 Biomonitoring	15
BAB III	BAHAN DAN CARA KERJA	19
	3.1 Lokasi	19
	3.2 Bahan	19
	3.3 Peralatan	20
	3.4 Cara Kerja	20
	3.4.1 Pembuatan Larutan	20
	3.4.1.1 Pembuatan Larutan Standar	20
	3.4.2 Verifikasi Metode	21
	3.4.2.1 Penentuan Nilai <i>Recovery</i>	21
	3.4.2.1.1 Penentuan Nilai <i>Recovery</i>	23
	3.4.2.2 Pencarian Kondisi Optimum	22
	3.4.3 Pengambilan Sampel	23
	3.4.3.1 Pengambilan Sampel Pangan	23
	3.4.3.2 Pengambilan Sampel Urin	23
	3.4.4 Isolasi Sakarin dari Sampel Pangan	25
	3.4.4.1 Sampel Pangan Cair	25
	3.4.5 Isolasi Sakarin dari Sampel Urin	25
	3.4.6 Analisis Sampel dengan HPLC	25
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	29



4.1	Penentuan Kondisi Optimum	29
4.2	Verifikasi Metode	30
4.3	Pengumpulan Sampel	32
4.3.1	Pengumpulan Sampel Pangan	32
4.3.1	Pengumpulan Sampel Urin	33
4.4	Isolasi Sakarin	34
4.4.1	Isolasi Sakarin dari Sampel Pangan	34
4.4.2	Isolasi Sakarin dari Sampel Urin	34
4.5	Analisis Kadar Sakarin	35
4.5.1	Analisis Kadar Sakarin dalam Sampel Pangan	35
4.5.2	Analisis Kadar Sakarin dalam Sampel Urin	37
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1	Kesimpulan	43
5.2	Saran	44
	DAFTAR PUSTAKA	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Struktur 2D 3D sakarin	12
Gambar 2 Skema umum penelitian	27
Gambar 3 Skema isolasi metabolit sakarin pada sampel urin	28
Gambar 4 Kromatogram standar sakarin pada $\lambda = 220\text{nm}$ & 265 nm	31
Gambar 5 Kurva kalibrasi standar sakarin	33
Gambar 6 Kandungan sakarin dalam sampel pangan	36
Gambar 7 Kromatogram sampel pangan & kromatogram <i>spike</i>	37
Gambar 8 Kromatogram pangan yang memiliki izin produksi dan kromatogram eluen	37
Gambar 9 Kromatogram sakarin pada sampel urin	38
Gambar 10 Kromatogram sakarin pada sampel urin ditambah Standar sakarin	38
Gambar 11 Grafik kadar sakarin pada siswa SDN Sukamaju 1 Depok	39
Gambar 12 Grafik kadar sakarin pada siswa SDIT Al-Mughni Jakarta	40

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Penggunaan Sakarin dalam Pangan	12
Tabel 2. Kriteria Lokasi <i>Sampling</i>	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan LOD dan LOQ	49
Lampiran 2 Perhitungan Presisi	50
Lampiran 3 Perhitungan <i>Recovery</i>	51
Lampiran 4 Kromatogram Perbandingan Eluen	52
Lampiran 5 Skema kerja sampel pangan	53
Lampiran 6 Data Responden	54
Lampiran 7 Perhitungan Anova	56
Lampiran 8 Data Kuesioner	57
Lampiran 9 Kuesioner	59

BAB I PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Saat ini masih banyak penggunaan pemanis buatan dalam berbagai makanan maupun minuman yang dijual bebas dengan kadar yang diperkirakan melebihi ambang batas. Umumnya makanan dan minuman ini disukai oleh anak kecil karena dikombinasikan dengan warna-warna yang menarik dan dibentuk sebagai minuman dingin yang dibekukan seperti es krim ataupun serbuk es.

Bidang Pengawasan Keamanan Pangan dan Bahan Berbahaya Badan Pengawasan Obat dan Makanan (POM) RI mengungkapkan, di Indonesia masih banyak permasalahan terkait dengan penggunaan pemanis buatan. Meskipun sudah ada ketentuan batas maksimum yang diizinkan, penggunaan pemanis buatan masih sering melebihi batas maksimum yang diperbolehkan. Produk-produk yang melanggar ketentuan ini umumnya dibuat oleh para pedagang makanan jajanan serta industri rumah tangga yang belum mendapat pembinaan atau penyuluhan.

Digunakannya pemanis buatan oleh pedagang kecil dan industri rumahan disebabkan dapat menghemat biaya produksi.

Harga pemanis buatan jauh lebih murah dibandingkan dengan harga gula asli serta penggunaannya hanya sedikit ditambahkan untuk memperoleh rasa manis yang kuat.

Hasil kajian terbatas yang dilakukan Badan POM di beberapa sekolah dasar (SD) menemukan banyaknya anak yang mengkonsumsi makanan dan minuman yang mengandung kadar pemanis buatan sakarin dengan tingkat yang tidak aman. Dari anak-anak SD yang diteliti, ditemukan konsumsi siklamat mencapai 240 % dari nilai ADI (*acceptable daily intake*), sedangkan konsumsi sakarin sebesar 12,2 % dari nilai ADI (Kompas,2006)

ADI diartikan sebagai jumlah maksimum senyawa kimia yang bisa dikonsumsi setiap hari secara terus-menerus tanpa menimbulkan resiko pada kesehatan. Senyawa kimia yang dimaksud adalah bahan tambahan pangan, dalam hal ini pemanis buatan. Nilai ADI dinyatakan dalam miligram per kilogram berat badan. Badan POM hanya melakukan kajian terhadap siklamat dan sakarin karena disinyalir pemanis buatan ini digunakan tanpa batas oleh pedagang jajanan anak sekolah. Pemanis buatan sakarin banyak digunakan karena harganya jauh lebih murah dibandingkan dengan pemanis buatan lainnya, seperti aspartam, acesulfam, alitam, dan neotam. Karena tidak mempertimbangkan toksisitas sinergis, maka level yang aman untuk penggunaan pemanis buatan hanya 45 persen nilai ADI.

Penggunaan siklamat di negara Amerika dan Jepang sudah dilarang, demikian juga sebagian besar negara di Eropa.

Sedangkan untuk sakarin, meski tidak dilarang di Amerika dan Jepang, penggunaan sakarin mulai banyak berkurang karena keamanannya dianggap meragukan. Pada hewan percobaan, sakarin dianggap bisa menimbulkan kanker kandung kemih.

Di Indonesia masih ada 13 jenis pemanis buatan yang diizinkan penggunaannya dalam produk-produk makanan dan minuman. Ketigabelas jenis pemanis buatan itu adalah aspartam, acesulfam-K, alitam, neotam, siklamat, sakarin, sukralosa, dan isomalt serta lima lagi yang termasuk ke dalam kelompok poliol, yaitu xilitol, maltitol, manitol, sorbitol, dan laktitol. Sakarin merupakan pemanis buatan yang mempunyai harga paling murah dibandingkan dengan pemanis buatan yang lain. Oleh sebab itu, sakarin banyak digunakan oleh pedagang kecil (BPOM, 2003).

Pemanis buatan banyak menimbulkan bahaya bagi kesehatan manusia. Siklamat dan sakarin diduga dapat menyebabkan kanker kandung kemih dan migrain (Reuber, M. D. 1978). Pada umumnya pemanis buatan sakarin tidak menghasilkan energi atau kalori bagi tubuh, karena pemanis buatan tidak dapat dicerna oleh tubuh (Sihombing, 1988), sedangkan gula biasanya dicerna dan dapat masuk kedalam metabolisme tubuh untuk kemudian diubah menjadi kalori. Kalori yang berlebihan dan tidak

terpakai akan disimpan dalam bentuk lemak, sehingga pemanis buatan hanya menimbulkan rasa manis tanpa menghasilkan energi atau kalori.

1.2 Tujuan Penelitian

1.2.1 Tujuan Umum

Memberi informasi kepada masyarakat mengenai kadar pemanis buatan sakarin yang terdapat pada makanan dan minuman anak-anak.

1.2.2 Tujuan Khusus

Menentukan kadar pemanis buatan sakarin pada jajanan anak-anak serta mendeteksi *biomarker* sakarin pada urin anak-anak sekolah dasar.

1.3 Ruang Lingkup Penelitian

Pada penelitian ini akan dianalisis kadar pemanis buatan sakarin yang terdapat pada makanan dan minuman, yang diduga

dapat beresiko terhadap kesehatan anak-anak jika dikonsumsi melebihi batas yang telah ditentukan, serta mengidentifikasi produk metabolismenya dalam tubuh manusia melalui pemeriksaan urin anak-anak sekolah dasar.

Sakarin diduga merupakan pemanis buatan yang banyak digunakan dalam makanan dan minuman anak-anak. Kadar sakarin dalam tubuh anak-anak dianalisis dari sampel urin siswa sekolah dasar yang sering mengonsumsi jajanan yang diduga mengandung sakarin dengan dosis yang tinggi. Untuk mengetahui adanya faktor pengaruh lain, dilakukan *survey* terlebih dahulu terhadap siswa SD dengan mengisi kuesioner yang berhubungan dengan pola hidup dan frekuensi mengonsumsi jajanan. Data yang diperoleh akan digunakan dalam metode *biomonitoring* untuk mengetahui kadar individu yang terpapar sakarin dari jajanan anak-anak.

Pengukuran dilakukan dengan HPLC-UV-Vis terhadap produk metabolit sakarin dalam sampel urin.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. PEMANIS BUATAN

Manusia bisa merasakan manis jika ada molekul yang melekat tepat pada *reseptor*, yaitu struktur penerima stimulasi dari luar yang terdapat pada membran sel lidah. Melekatnya molekul ini memicu proses berantai yang pada akhirnya menghasilkan zat transmisi saraf. Zat ini berfungsi sebagai sinyal yang memberi tahu otak bahwa kita sedang memakan sesuatu yang manis. Jadi sebenarnya, zat apapun yang tepat melekat pada *reseptor* rasa manis kita, akan dianggap gula oleh otak.

Pemanis buatan memiliki kadar rasa manis yang beratus-ratus kali lipat dibandingkan dengan gula biasa, sehingga pemanis buatan dapat menjadi bahan makanan tambahan pangan yang tepat jika ditinjau dari segi komersil. Produsen pangan dapat menggunakan lebih banyak air dan menurunkan biaya produksi. Selain itu para konsumen pun dapat mengurangi jumlah kalori yang dikonsumsi dan menjaga berat badan atau kadar gula darah bagi penderita kencing manis (diabetes).

Terdapat 3 tipe pemanis buatan yaitu:

2.1.1. Pemanis nutritif

Pemanis nutritif adalah pemanis yang dapat dicerna oleh tubuh sehingga menghasilkan energi atau kalori bagi tubuh yaitu sekitar 4 kalori per gram. Contoh pemanis nutritif adalah gula putih, gula jawa, madu, dan sirup. Semua contoh tersebut memiliki rasa manis karena adanya glukosa dan fruktosa baik yang berdiri sendiri ataupun yang bergabung seperti sukrosa.

2.1.2. *Sugar alcohol*

Sugar alcohol biasanya didapat dengan cara diproduksi secara komersil dari dekstrosa. Contoh *sugar alcohol* adalah sorbitol, manitol, dan maltitol. *Sugar alcohol* juga menghasilkan energi untuk tubuh dan mungkin dapat mempengaruhi kadar gula darah.

2.1.3. Pemanis non-nutritif

Pemanis non-nutritif biasanya disebut juga pengganti gula atau pemanis buatan, yang tidak menghasilkan energi dan kalori serta tidak mempengaruhi kadar gula darah. Contoh pemanis tipe ini adalah sakarin, siklomat, aspartam, sukralose, dan asesulfam kalsium.

Saat ini pemanis buatan non-nutritive yang masih diperbolehkan penggunaannya adalah:

- Aspartam, yaitu bahan pemanis rendah kalori pengganti gula biasa (sukrosa) yang ditemukan secara tidak sengaja pada tahun 1965 oleh James Schlatter. Aspartam biasanya digunakan dalam makanan sereal sarapan, *softdrink*, *desserts*, dan permen yang dikenal sebagai *Equal* di dalam rumah tangga. Intensitas kemanisannya 200 kali gula, namun lebih jarang digunakan sebagai pemanis dikarenakan harganya yang lebih mahal jika dibandingkan dengan pemanis buatan yang lain.
- Siklamat, yang dalam penggunaannya sering dikombinasikan dengan pemanis lain. Siklamat mempunyai sifat rasa yang menyenangkan dan mampu menutupi rasa pahit yang tidak dikehendaki. Intensitas kemanisannya 30-80 kali gula. Siklamat stabil pada suhu tinggi, sehingga sering digunakan untuk makanan panas maupun dingin.
- Aseulfam kalsium (*acesulfame K*) diizinkan secara luas penggunaannya dalam produk pangan seperti tablet, *dessert*, *pudding*, permen, dan minuman ringan. Intensitas kemanisan *acesulfame K* sekitar 130 kali gula. Nilai ADI yang diperbolehkan adalah 15 mg/kg berat badan. Sementara pencampuran dengan pemanis lain, khususnya aspartam dan siklamat, dapat meningkatkan intensitas kemanisannya.

2.2. SAKARIN

Sakarin dan garamnya telah digunakan sebagai pemanis sejak beberapa tahun yang lalu. Sakarin dalam bentuk seperti sodium sakarin dan kalsium sakarin secara luas digunakan sebagai pemanis non-kalori dalam berbagai minuman dan makanan, khususnya produk untuk penderita diabetes, serta berbagai produk non-makanan. Rata-rata dalam sehari manusia mengkonsumsi sakarin kurang lebih 1 mg/kg berat badan. Sakarin, atau juga dikenal dengan *o-benzoic-sulfimide*, adalah pemanis buatan yang telah lama digunakan oleh masyarakat. Senyawa ini ditemukan tahun 1879 oleh Ira Remsen dan Constantin Falhberg, ketika masih kuliah di Universitas Johns Hopkins.

Sakarin memiliki rasa manis 300 kali lebih manis dibandingkan dengan sukrosa, tetapi memiliki *aftertaste* (rasa pahit ikutan). Sakarin tidak bisa dimetabolisme dalam tubuh manusia, sehingga tidak dapat menghasilkan energi atau kalori. Sakarin telah menjadi kontroversi dalam beberapa tahun terakhir, karena sakarin diduga kuat memiliki hubungan dengan kanker (Frank, 1995). Akan tetapi penelitian lebih lanjut belum dapat memastikan apakah ada hubungan antara mengkonsumsi sakarin dengan kanker. *Codex Alimentarius Commission* (CAC) mengatur penggunaan sakarin maksimum pada berbagai

produk pangan berkisar antara 80 sampai dengan 5.000 mg/kg produk (CAC 2002).

2.2.1 Sifat Fisik Kimia Sakarin

Nama kimia : *saccharine, 3-benzisothiazolinone 1,1-dioxide, o-benzoic sulphimide, benzoic sulphimide, 3-hydroxybenzisothiazole-s,s-dioxide, saccharine acid, garantose, glucid, gluside, candiset, natreen, sacarina, saccharina, saxin, sucre edulcor, syncal, sykose, zaharina.*

Rumus molekul : $C_7H_5NO_3S$

CAS No. : 81-07-2.

Berat molekul : 183,19

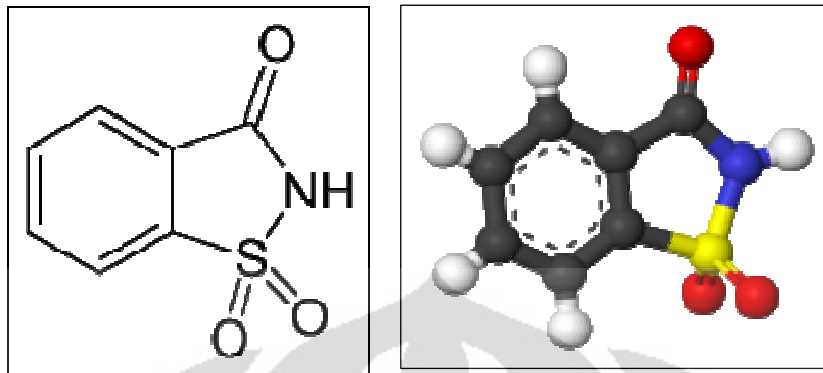
Titik leleh : 230°C

Titik didih : 299°C

Nilai densitas : 0,828 g/cm³

Kelarutan : larut dalam air, sedikit larut dalam etanol.

Deskripsi : kristal berwarna putih atau serbuk kristalin berwarna putih yang mudah mengembang, tak berbau atau tidak memiliki aroma yang tajam.



Gambar 1. Struktur 2D dan 3D Sakarin

2.2.2. Sumber Paparan Sakarin

Sakarin sebagai pemanis buatan sering digunakan pada jajanan yang dijual bebas. Sakarin sering digunakan terutama pada jajanan anak, karena sifatnya yang dapat memberikan rasa manis seperti gula biasa dengan harga yang lebih murah dibandingkan dengan gula dan pemanis buatan lainnya, sehingga lebih menguntungkan. Biasanya sakarin terdapat pada jajanan anak-anak berupa minuman kaleng, sirup, jeli, dan es krim dengan berbagai rupa.

Tabel 1. Penggunaan sakarin dalam pangan:

Jenis Pangan	Maksimum Penggunaan
Minuman Berbasis susu	400 mg/kg
Permen Karet	3000 mg/Kg
Gula dan Sirup	300 mg/Kg
Kopi, Teh dan Sereal Panas	200 mg/Kg
Permen Keras/Permen Lunak	3000 mg/Kg
Selai, Jelli	200 mg/Kg

2.2.3. Toksikokinetika (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi)

Toksikokinetika sakarin mempelajari bagaimana cara senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh dan apa yang terjadi terhadapnya setelah memasuki tubuh.

Sakarin yang masuk ke dalam tubuh melalui saluran ingesti (penelanan) berasal dari makanan dan minuman yang dikonsumsi. Pada pH yang rendah atau dalam suasana asam biasanya sakarin masuk dalam bentuk yang tidak terionisasi. Nilai *Acceptable Daily Intake* (ADI), yaitu nilai asupan yang dapat diterima oleh tubuh perharinya, untuk sakarin adalah 0-5 mg/kg berat badan. Sakarin lebih banyak diserap pada pH yang rendah (untuk babi pada pH 1,4 dan untuk kelinci pada pH 1,9), sedangkan pada pH tinggi sangat lambat diserap, namun lebih cepat dikeluarkan dalam urin.

Sweatman dan Renwick (1980) telah melakukan penelitian tentang distribusi dan farmakokinetik sakarin dalam beberapa jaringan. Dari penelitian yang dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa pada tikus yang diberi 1-10% sakarin selama 22 hari ternyata konsentrasi sakarin dalam jaringan ginjal dan kandung kemih lebih tinggi dibandingkan konsentrasi sakarin dalam plasma. Sementara

konsentrasi sakarin dalam hati, paru-paru, lemak, dan otot lebih sedikit daripada konsentrasi sakarin dalam plasma.

Pada mamalia, termasuk manusia, sakarin tidak dimetabolisme oleh tubuh, sehingga sakarin yang masuk ke dalam tubuh mudah diserap oleh usus dan diekskresikan melalui urin dalam bentuk sakarin itu sendiri. (IPCS, WHO 1999)

Pada konsentrasi sakarin yang tetap pada tikus, sebesar 1-10% dari sakarin yang dikonsumsi ternyata tidak menunjukkan adanya bioakumulasi sakarin dalam berbagai jaringan. Sebanyak 0,3% dari sakarin yang dikonsumsi akan diekskresikan melalui urin pada interval waktu antara 48-72 jam, dan ternyata ditemukan sakarin yang tidak termetabolisme oleh tubuh (*Byard et.al 1974*). Sebagai jalur ekskresi utama untuk sakarin yang tidak terserap, ekskresi sakarin melalui urin dapat digunakan sebagai ukuran penyerapan *gastrointestinal* dari sakarin yang tidak mengalami biotransformasi.

2.2.4 Efek Sakarin Terhadap Kesehatan

2.2.4.1 Efek Akut

Toksisitas sakarin yang ringan pada tubuh dapat menyebabkan iritasi kulit (alergi) dan gangguan tenggorokan berupa batuk dan radang tenggorokan.

2.2.4.2 Efek Kronis

Toksisitas sakarin pada tingkat yang tinggi dapat menyebabkan kehilangan nafsu makan, menyebabkan mual, muntah, dan kanker kandung kemih pada hewan uji. Akan tetapi belum ada bukti yang menunjukkan secara jelas hubungan antara mengkonsumsi sakarin dan resiko kesehatan pada manusia jika dikonsumsi dengan dosis normal. Dugaan sakarin dapat menyebabkan kanker kandung kemih masih menjadi kontroversi, karena hal ini baru terbukti sebatas pada hewan uji, sehingga IARC menggolongkan sakarin ke dalam senyawa Grup 3, yaitu senyawa yang tidak dapat diklasifikasikan sebagai karsinogen pada manusia.

2.3 Pemantauan Biologik (*Biomonitoring*)

Biomonitoring ialah suatu teknik ilmiah untuk mengukur risiko paparan suatu bahan kimia alami atau sintetis pada manusia atau makhluk hidup berdasarkan pada *sampling* jaringan atau cairan tubuh individu tersebut (Kamrin, 2004). Definisi lainnya ialah suatu pengukuran senyawa kimia spesifik pada jaringan manusia, yang menggambarkan jumlah senyawa tersebut yang terserap dan tertahan dalam tubuh (Galbraith, 2005).

Tujuan *biomonitoring* adalah untuk memberikan informasi data yang meyakinkan bahwa paparan dalam lingkungan (kerja) dapat/tidak mengakibatkan risiko kesehatan, mengkaji efek atau akibat dari paparan suatu zat terhadap individu atau populasi masyarakat, dan untuk mengetahui batas jumlah bahan kimia tersebut di dalam tubuh yang dapat menyebabkan efek merugikan di dalam tubuh.

Biologic Marker (biomarker) ialah zat yang ditemukan dari dalam cairan tubuh berdasarkan proses absorpsi, biotransformasi, distribusi, dan ekskresi yang dipengaruhi oleh faktor endogen (genetik dan status kesehatan) dan faktor eksogen (beban kerja, stimulan, campuran zat, obat, alkohol, dan kebiasaan merokok). Bioindikator untuk *biomarker* dapat berupa senyawa kimia itu sendiri (zat asal) yang berupa *xenobiotic*, produk penguraian senyawa tersebut, metabolit atau senyawa kimia hasil metabolisme/biotransformasi senyawa kimia, protein *adduct* dan DNA *adduct*. Dalam studi *biomonitoring*, penggunaan *biomarker* atau indeks paparan biologik telah ditinjau dan digunakan secara luas, baik dari sudut pandang pemantauan di lingkungan kerja (*occupational monitoring*) maupun dari sudut epidemiologi (EHC, 2001).

Manfaat *biomarker* dapat digunakan sebagai bukti adanya paparan yang telah terjadi dan sebagai prediksi kejadian (efek yang timbul) di masa yang akan datang. *Biomarker* yang dipilih bergantung

pada beberapa faktor, antara lain sumber paparan, jalur paparan, jangka waktu efek atau penyakit, metabolit toksik, mekanisme toksisitas, metabolisme per individu, dan banyaknya waktu, serta teknik *biomonitoring* yang tersedia.

Paparan adalah kontak bahan asing (eksogenus/xenobiotik) terhadap tubuh atau organ sasaran makhluk hidup, yang memiliki intensitas dan besaran yang dapat terukur (konsentrasi).

Paparan dibedakan menjadi 2 jenis, yaitu:

1. Paparan Langsung

Paparan langsung adalah paparan yang terjadi secara langsung antara sumber paparan (zat/bahan) dengan manusia.

2. Paparan Tidak Langsung

Paparan tidak langsung yaitu paparan yang terjadi melalui tahapan (media antara) sebelum kontak dengan manusia.

Jalur paparan secara umum ada 3, yaitu:

1. Saluran Pernafasan (Inhalasi)

Saluran pernafasan berperan penting dalam paparan lingkungan dan tempat kerja terhadap kontaminan udara.

Beberapa obat-obatan (seperti inhaler aerosol) masuk melalui jalur ini.

2. Saluran Pencernaan

Saluran pencernaan berperan penting dalam paparan lingkungan dari kontaminan makanan dan minuman serta jalur utama masuknya obat-obatan.

3. Dermal (Kulit)

Kulit berperan penting dalam paparan lingkungan dari tempat kerja. Banyak obat-obatan dan produk konsumen digunakan langsung terhadap kulit.

Dalam melakukan *biomonitoring* media/spesimen biologi yang digunakan adalah:

- a. Darah (seluruh bagian darah, sel darah merah, sel darah putih, plasma dan serum, serta protein darah)
- b. Urin (*spot urine specimens, sampel first morning voids, sampel urin 24 jam*).
- c. Media lainnya (udara pernafasan, saliva, rambut dan kuku, tulang dan gigi, air susu, jaringan adiposa, dll).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 LOKASI

Pada penelitian ini, proses pengumpulan sampel urin dilakukan di 2 sekolah yaitu, Sekolah Dasar Negeri (SDN) Sukamaju 1 Depok dan Sekolah Dasar Islam Terpadu (SDIT) Al-Mughni Jakarta, sedangkan pengumpulan sampel pangan hanya dilakukan di SDN Sukamaju 1 Depok saja. Pemilihan kedua sekolah tersebut atas dasar pertimbangan lokasi dan kebiasaan yang dilakukan oleh murid dalam mengkonsumsi jajanan .

Proses isolasi sakarin dalam pangan dan isolasi sakarin dalam urin dilakukan di laboratorium penelitian Departemen Kimia FMIPA UI, sedangkan untuk analisis deteksi sakarin menggunakan HPLC UV-Vis di laboratorium instrumentasi Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia.

3.2 BAHAN

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini antara lain standar sakarin (Sigma-Aldrich p.a), KH_2PO_4 (merck p.a),

metanol (merck p.a), asetonitril (J.T Baker kromatografi), aquabides, eluen metanol:buffer fosfat 10 mM pH 4, serta sampel pangan dan sampel urin dari responden anak-anak sekolah dasar sebanyak 50 sampel.

3.3 PERALATAN

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain peralatan gelas, *ice box*, sarung tangan, rak tabung, botol sampel, *syringe* TERUMO, lemari pendingin, *Liquid Chromatography column cartidge C-18* merk *Oasis* jenis *HLB*, *ultrasonic bath*, kolom HPLC LiChroCART 250-4 5µm RP-18 Merck, instrumen HPLC merk Shimadzu LC 6A, instrumen detektor UV-Vis merk Shimadzu SPD 20A.

3.4 CARA KERJA

3.4.1 Pembuatan Larutan

3.4.1.1 Pembuatan Larutan Standar

Sebanyak 0,1 g standar sakarin dilarutkan dengan akuabides dalam labu ukur 100mL dan diencerkan hingga tanda batas sehingga didapat larutan standar 1000 ppm. Dari larutan

tersebut dibuat larutan standar dengan konsentrasi 100 ppm – 0,025 ppm. Kurva kalibrasi dibuat dari larutan standar tersebut.

3.4.2 Verifikasi Metode

Metode yang digunakan untuk verifikasi merupakan metode yang diambil dari *Method Analysis Food Additives FSA-UK 2002*, yang mengacu pada metode yang telah distandarisasi di Eropa dengan kode EN 12985 untuk sakarin.

Tujuan verifikasi metode adalah pengujian ulang terhadap beberapa parameter melalui penentuan:

1. *Recovery*, yaitu untuk mengetahui berapa persen sakarin yang akan terukur setelah diperlakukan seperti sampel.
2. LOD, yaitu batas deteksi dari alat yang digunakan dengan menggunakan perhitungan berdasarkan kurva kalibrasi.
3. LOQ, yaitu batas kuantifikasi dari alat yang digunakan dengan menggunakan perhitungan berdasarkan kurva kalibrasi.

3.4.2.1 Penentuan Nilai *Recovery*

Pada penentuan nilai *recovery* dilakukan pengulangan (duplo) terhadap perlakuan.

3.4.2.1.1 Penentuan Nilai *Recovery*

Larutan standar sakarin 80 ppm dipipet sebanyak 5 mL, kemudian diencerkan dalam labu ukur 10 mL dengan akuabides. Selanjutnya, 5 mL larutan ini dilewatkan ke *cartridge C-18* dengan laju alir 1 mL/menit, kemudian dielusi dengan 2 mL akuabides, Filtrat yang dihasilkan diencerkan dengan akuabides dalam labu ukur 10 mL.

3.4.2.2 Pencarian Kondisi Optimum

Kondisi optimum HPLC ditentukan untuk mencari komposisi eluen yang tepat. Panjang gelombang yang digunakan yaitu 220 nm dan 265 nm. Untuk eluen dibuat 3 komposisi metanol:buffer fosfat 10 mM pH 4 yang berbeda yaitu perbandingan 20:80 ; 10:90 ; dan 5:95. Fasa gerak yang akan digunakan sebelumnya telah disaring dengan membran berpori-pori 0,45 μm dan dilakukan *degassing* selama 15 menit. Pada penentuan kondisi optimum dilakukan pengulangan (duplo) terhadap masing-masing panjang gelombang dan variasi eluen.

3.4.3 Pengambilan Sampel

3.4.3.1 Pengambilan Sampel Pangan

Sampel yang diambil adalah minuman anak-anak yang banyak dijual di sekolah dasar, karena diduga mengandung kadar pemanis buatan yang tinggi. Sampel pangan berasal dari jajanan yang berada disekitar SDN Sukamaju 1 Depok. Sampel pangan yang diambil adalah 2 jajanan yang dijual oleh pedagang kaki lima (tanpa izin produksi) yaitu berupa minuman teh dan sirup, serta 2 jajanan yang telah memiliki izin produksi yang dijual di warung-warung di sekitar SD tersebut yaitu minuman teh dan sirup rasa buah.

3.4.3.2 Pengambilan Sampel Urin

Sampel urin yang diambil merupakan sampel urin anak-anak sekolah dasar. Jumlah sampel urin yang akan diukur ± 25 sampel yang diambil dari beberapa siswa di SD tempat sampel makanan dan minuman diambil.

Sekolah yang dijadikan subjek merupakan sekolah yang tidak mempunyai kantin sehingga para siswanya mengkonsumsi jajanan yang dijual bebas di luar sekolah yang merupakan jajanan *home industri* yaitu SDN Sukamaju 1 Depok, serta mengambil

sampel dari sekolah yang mempunyai kantin dan menggunakan jasa *catering* untuk para siswanya sehingga tidak mengkonsumsi jajanan dari pedagang kaki lima, yaitu sekolah SDIT Al-Mughni Jakarta.

Pada saat pengambilan sampel, siswa yang akan dijadikan subjek diwawancarai terlebih dahulu untuk mengetahui latar belakangnya. Wawancara dilakukan dengan kuesioner yang berisi beberapa pertanyaan yang berhubungan dengan:

1. Nama
2. Alamat
3. Jenis kelamin
4. Usia
5. Riwayat penyakit
6. Jajanan yang dikonsumsi
7. Frekuensi mengkonsumsi

Urin yang diambil merupakan urin *on the spot*. Sampel urin dikumpulkan dalam botol yang steril dan telah diberi HCl 6 M, lalu dibawa ke laboratorium dengan menggunakan *cool box* agar lebih tahan lama, kemudian disimpan dalam lemari pendingin.

3.4.4 Isolasi Sakarin dari Sampel Pangan

3.4.4.1 Isolasi Sampel Pangan Jenis Cair

Larutan sampel cair dipipet sebanyak 10 mL, kemudian diencerkan dalam labu ukur 100 mL dengan akuabides hingga tanda batas. Selanjutnya larutan disaring dengan membran berpori-pori 0,45 μm .

3.4.5 Isolasi Sakarin dari Sampel Urin

Sebanyak 5 mL urin dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian diencerkan dengan akuabides hingga tanda batas. Larutan sampel disaring dengan kertas saring dan filtratnya ditampung. Sebanyak 5 mL filtrat yang dihasilkan dilewatkan ke kolom *cartridge* C-18 dengan laju alir 1 mL/menit, kemudian kolom *cartridge* C-18 tersebut dielusi dengan 2 mL akuabides. Filtrat yang dihasilkan ditampung dalam labu ukur 10 mL lalu diencerkan dengan akuabides hingga tanda batas.

3.4.6 Analisis Sampel dengan HPLC

Masing-masing sampel yang telah disaring dengan membran berpori-pori 0,45 μm , kemudian dianalisis menggunakan instrumen HPLC dengan kondisi:

Kolom : LiChroCART C-18 (250-4 diameter dalam 5 μ m)

Detektor : UV 220 nm

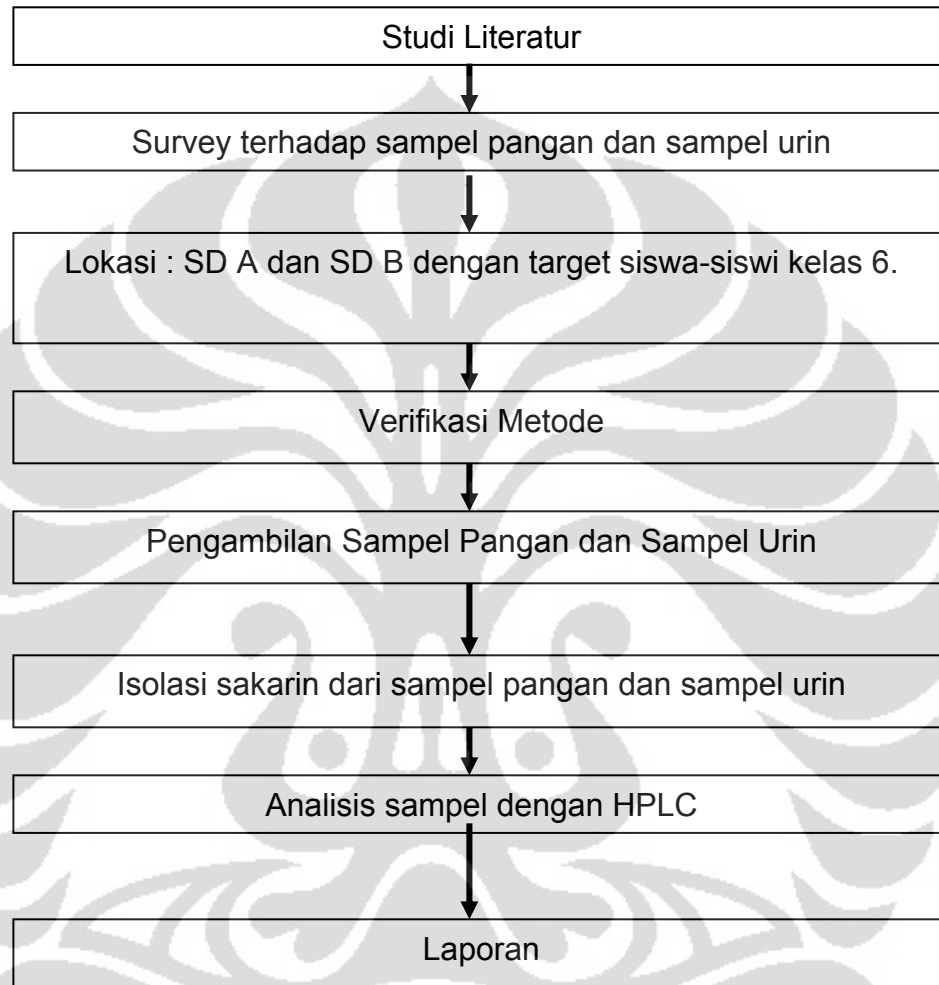
Laju alir : 1 mL/menit

Volume Injeksi : 20 μ L

Fasa Gerak : Metanol : Buffer fosfat 10 mM pH 4 (10:90)

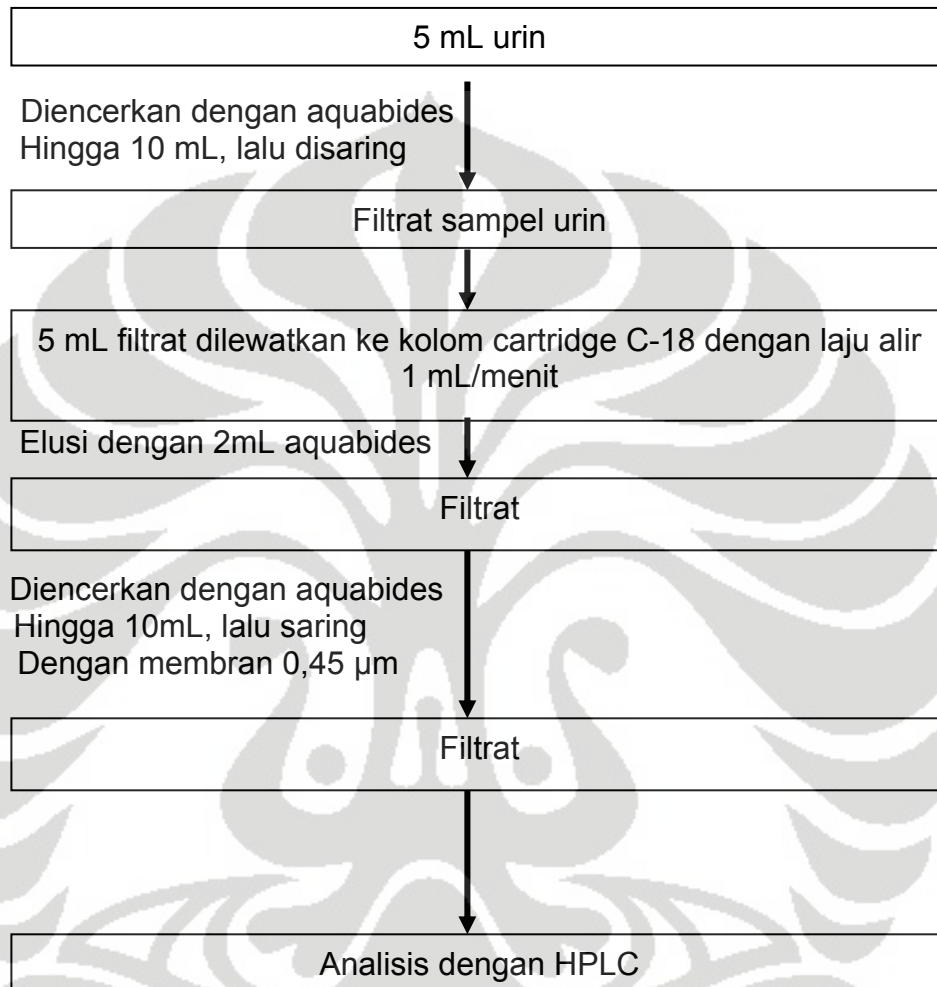
Setiap akan memulai analisis dengan HPLC, kolom yang akan digunakan sebelumnya telah dicuci dengan asetonitril selama \pm 30 menit dengan laju alir 1 mL/menit, dilanjutkan dengan metanol:akuabides dengan komposisi 10:90 selama \pm 30 menit dengan laju alir 1 mL/menit.

Skema Umum Penelitian



Gambar 2. Skema Umum Penelitian

Skema Kerja Isolasi Sakarin Pada Sampel Urin



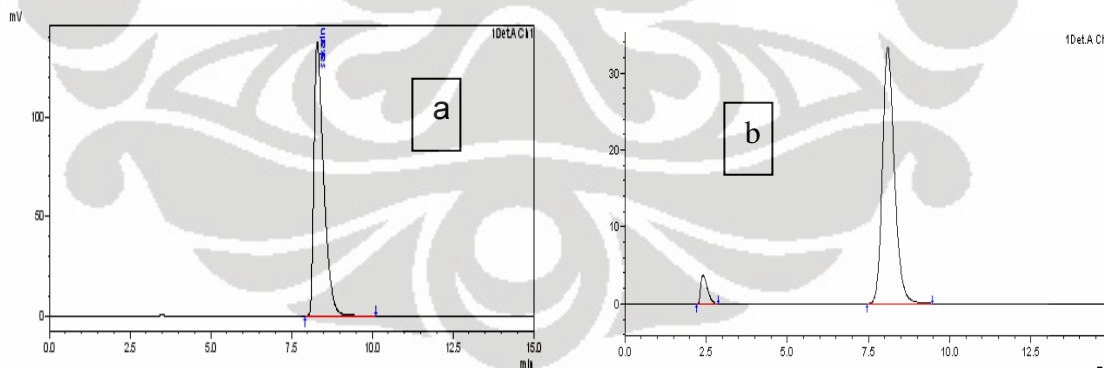
Gambar 3. Skema Kerja Isolasi Metabolit Sakarin pada Sampel Urin

BAB IV

HASIL & PEMBAHASAN

4.1 Penentuan Kondisi Optimum

Pada penelitian ini terlebih dahulu dicari kondisi optimum untuk pengukuran sakarin menggunakan HPLC dengan detektor UV-Vis. Pada penentuan panjang gelombang digunakan dua panjang gelombang yaitu 220 nm dan 265 nm. Ternyata didapatkan sensitifitas dan intensitas yang tinggi terjadi pada panjang gelombang 220 nm. Hal ini membuktikan bahwa absorbansi maksimum dari sakarin pada panjang gelombang 220 nm. Oleh karena itu, untuk pengukuran selanjutnya digunakan panjang gelombang 220 nm.



Gambar 4 . Kromatogram standar sakarin pada panjang gelombang 220 nm (a) dan 265 nm (b)

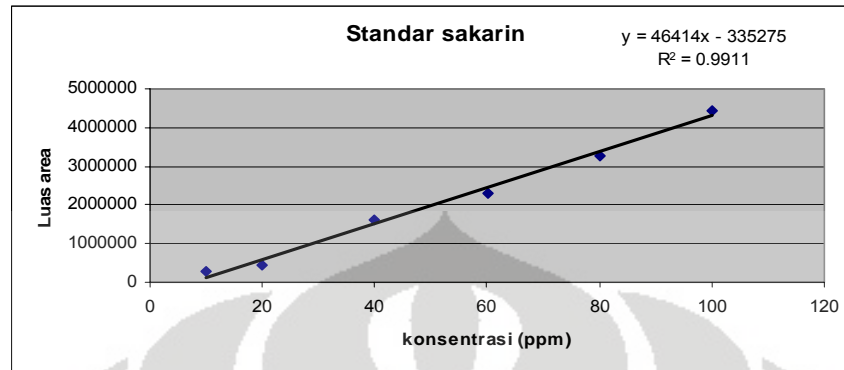
Setelah didapat panjang gelombang maksimum, larutan standar sakarin dialirkan menggunakan 3 variasi eluen atau fasa gerak HPLC untuk

memperoleh kondisi pemisahan yang optimum, efisien, dan efektif. Variasi komposisi metanol:buffer fosfat 10 mM pH 4 yang digunakan adalah 20:80; 10:90; dan 5:95 (kromatogram terlampir).

Berdasarkan variasi eluen didapat perbandingan fase gerak optimum yaitu metanol:buffer fosfat 10 mM pH 4 dengan perbandingan 10:90 dan didapatkan waktu retensi sakarin pada 8,47 menit. Hal ini disebabkan buffer fosfat bersifat lebih polar daripada metanol, sehingga sakarin yang bersifat polar lebih mudah terbawa dalam fase gerak dengan jumlah buffer fosfat yang lebih banyak dan mempercepat waktu retensi sakarin tanpa mengganggu puncak kromatogram yang lain.

4.2 Verifikasi Metode

Pada penelitian ini dilakukan verifikasi terhadap metode yang akan digunakan dengan mencari nilai *recovery*, batas deteksi (LOD), batas kuantifikasi (LOQ) instrumen, koefisien variasi persamaan, serta uji linearitas. Verifikasi pada penelitian ini dimulai dengan pembuatan kurva kalibrasi standar sakarin yang terdiri dari 6 macam variasi konsentrasi dengan rentang 10 ppm – 100 ppm. Kurva yang diperoleh memiliki nilai linearitas yang baik yaitu 0,9911 dengan persamaan kurva kalibrasi $y = 46414x - 335275$. Kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 5. Setelah didapat persamaan kalibrasi dan nilai linearitas yang baik, selanjutnya dilakukan uji batas deteksi dan batas kuantitasi.



Gambar 5. Kurva kalibrasi standar sakarin.

Hasil perhitungan data menunjukkan bahwa batas deteksi instrumen HPLC-UV-Vis yang digunakan dapat mendeteksi senyawa sakarin dari sampel dengan baik hingga konsentrasi terendah sebesar nilai LOD (*Limit of Detection*) yaitu 0,193 ppm dan dapat menghitung secara kuantitatif sakarin sebesar nilai LOQ (*Limit of Quantification*) yaitu 0,644 ppm (dapat dilihat pada lampiran 1).

Jika konsentrasi sakarin yang diukur di bawah nilai LOD, instrumen tidak akan dapat mendeteksi senyawa tersebut. Nilai LOQ menunjukkan batas kuantifikasi yang layak diperhitungkan. Dengan demikian meskipun kadar senyawa tersebut di bawah nilai LOQ tetapi masih diatas nilai LOD maka senyawa tersebut masih dapat terdeteksi dengan baik, meskipun secara kuantifikasi kurang baik.

Untuk penentuan nilai *recovery* sakarin, standar sakarin 80 ppm yang tersedia diperlakukan seperti sampel dan didapat nilai *recovery* dengan menggunakan kolom *cartridge* C-18 sebesar 95,96%. Untuk uji presisi dilakukan dengan tiga variasi konsentrasi standar sakarin

(100 ppm, 80 ppm, dan 40 ppm). Masing-masing konsentrasi diukur sebanyak tiga kali. Hasil nilai koefisien variasi yang didapat di bawah 2,0 % yang berarti metode ini mempunyai presisi yang baik (perhitungan dapat dilihat pada lampiran 2). Setelah dilakukan verifikasi metode dengan mendapatkan nilai *recovery*, LOD, LOQ, dan uji presisi, selanjutnya metode ini bisa diaplikasikan pada penentuan kadar sakarin pada sampel pangan cair dan sampel urin..

4.3 Pengumpulan Sampel

Sampel pangan yang digunakan pada penelitian ini diambil dari jajanan yang berada disekitar SDN Sukamaju 1 Depok, sedangkan untuk sampel urin berasal dari siswa-siswi kelas 6 SDN Sukamaju 1 Depok dan siswa-siswi kelas 6 SDIT Al-Mughni Jakarta.

4.3.1 Pengumpulan Sampel Pangan

Sampel pangan juga dibedakan antara sampel pangan buatan *home industri* dengan sampel pangan yang dijual umum dipasaran yang memiliki izin produksi. Hal ini untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan kadar sakarin yang signifikan dari kedua sumber pangan tersebut.

Sampel pangan yang dipilih untuk minuman yang dijual tanpa izin produksi adalah minuman teh dan minuman sirup, sedangkan untuk

sampel yang memiliki izin produksi yaitu minuman teh dan minuman sirup rasa buah.

4.3.2 Pengumpulan Sampel Urin

Pada pengumpulan sampel urin, SDN Sukamaju 1 Depok dipilih sebagai subyek, karena siswa sekolah tersebut memiliki resiko terjadinya paparan pemanis buatan yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh tidak tersedianya fasilitas kantin untuk siswa-siswinya, sehingga mereka banyak mengkonsumsi jajanan yang dijual di luar sekolah dengan komposisi yang tidak diketahui dan dengan kadar yang diduga melebihi batas yang diizinkan.

Tabel 2. Kriteria lokasi *sampling* urin

No.	SDN Sukamaju 1 Depok	SDIT Al-Mughni Jakarta
1	Tidak memiliki kantin	Memiliki kantin dan fasilitas catering
2	Terdapat jajanan di luar sekolah	Tidak ada jajanan di luar sekolah
3	Siswa/i kelas 6	Siswa/i kelas 6
4	Jenis kelamin laki-laki & perempuan	Jenis kelamin laki-laki & perempuan
5	Frekuensi paparan (sering, kadang-kadang, atau tidak pernah)	Frekuensi paparan (sering, kadang-kadang, atau tidak pernah)

Pada penelitian ini digunakan sampel urin dari siswa-siswi dua SD yang berbeda. Hal ini untuk melihat apakah ada perbedaan kadar sakarin antara kedua sekolah tersebut. Dipilihnya anak-anak sebagai responden

disebabkan mereka lebih rentan terpapar sakarin, yang diduga berasal dari minuman yang mereka konsumsi hampir setiap hari. Hal ini disebabkan anak-anak memiliki daya tahan tubuh yang lebih lemah dibandingkan dengan orang dewasa. Dalam penelitian ini dipilih siswa kelas 6 karena mereka diasumsikan telah lama mengonsumsi makanan dan minuman tersebut.

4.4 Isolasi Sakarin

4.4.1 Isolasi Sakarin dari Sampel Pangan

Sampel pangan yang diperoleh diisolasi sakarinnya sesuai dengan metode yang tersedia. Pada sampel jenis cair hanya dilakukan pengenceran saja. Hal ini disebabkan komponen-komponen yang terdapat pada sampel cair tidak terlalu kompleks, sehingga tidak perlu ditambahkan reagen apapun untuk mendapatkan sakarin dalam sampel tersebut.

4.4.2 Isolasi Sakarin dari Sampel Urin

Sampel urin yang diperoleh disimpan dalam lemari pendingin hingga waktu isolasi. Pada proses isolasi sakarin dari sampel urin tidak ditambahkan reagen apapun. Hal ini disebabkan sakarin tidak termetabolisme dalam tubuh manusia sehingga metabolit yang dihasilkan tetap dalam bentuk sakarin itu sendiri.

Maka, perlakuan yang diberikan adalah urin disaring dengan kertas saring untuk menghilangkan pengotor-pengotor yang terdapat dalam urin. Selanjutnya filtrat yang dihasilkan dilewatkan pada kolom *cartidge* C-18 dengan laju alir 1 mL/menit. Hal ini untuk mengurangi komponen-komponen non-polar yang terdapat dalam urin agar tidak membebani kolom pada saat disuntikkan ke dalam HPLC dan dapat mengefisienkan waktu pengukuran.

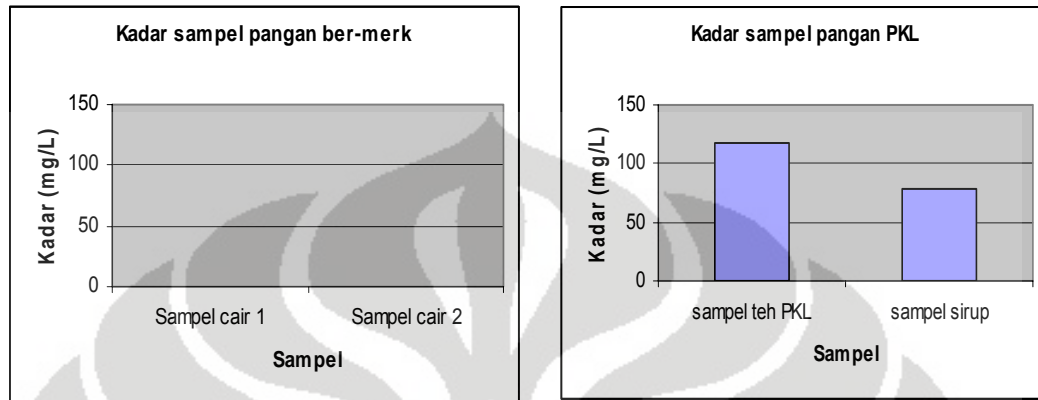
4.5 Analisis Kadar Sakarin

4.5.1 Analisis Kadar Sakarin dalam Sampel Pangan

Sampel pangan yang diperoleh dan telah diisolasi sakarinnya dianalisis menggunakan instrumen HPLC dengan detektor UV-Vis. Semua eluen yang digunakan dalam HPLC telah disaring dengan membran berpori-pori 0,45 μm dan telah dilakukan *degassing* selama 15 menit. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 6.

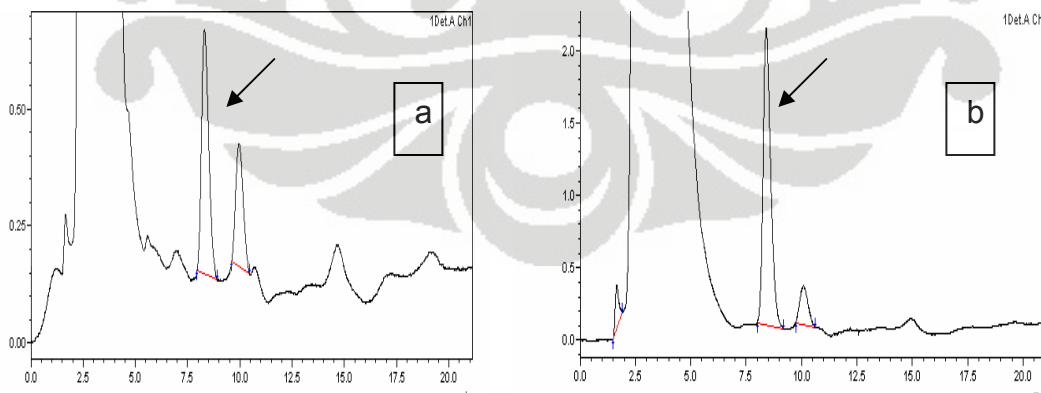
Berdasarkan grafik tersebut terlihat bahwa sakarin tidak terdeteksi pada sampel pangan yang telah memiliki izin produksi, sedangkan pada sampel pangan pedagang kaki lima (PKL) diketahui mengandung sakarin. Sampel dengan kadar sakarin tertinggi adalah minuman teh dengan kadar sebesar 117,107 mg/L sampel, yang diikuti oleh sampel minuman sirup dengan kadar sebesar 78,27 mg/L sampel. Hal ini

mungkin disebabkan oleh mudah larutnya sakarin dalam air, sehingga penggunaan sakarin banyak terdapat pada sampel pangan jenis cair.

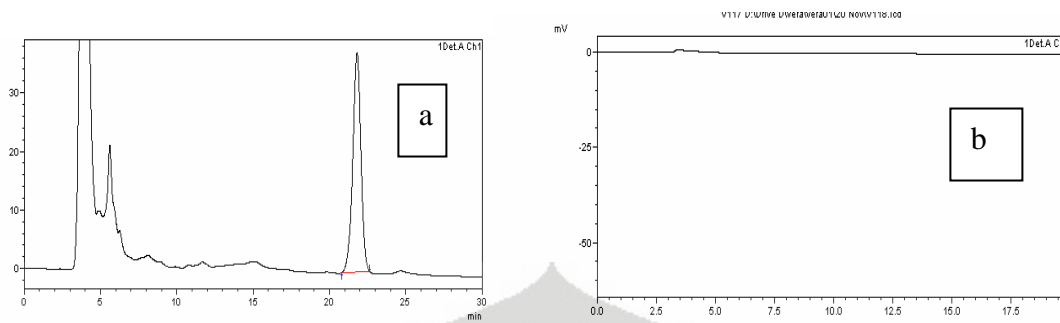


Gambar 6. Grafik kandungan sakarin pada sampel pangan

Pada analisis pemanis sakarin ini, untuk lebih menyakinkan, dilakukan *spike* (standar internal), dengan menambahkan standar sakarin yang telah diketahui konsentrasinya. Dari percobaan ternyata dihasilkan puncak yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan sampel sebelumnya yang tidak ditambahkan standar sakarin. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam sampel tersebut memang mengandung pemanis sakarin.



Gambar 7. Kromatogram sampel pangan (a) sampel pangan yang ditambah standar sakarin (b)



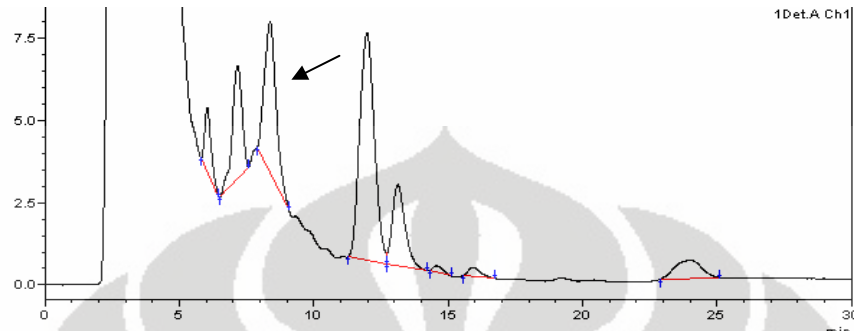
Gambar 8. Kromatogram sampel pangan yang memiliki izin produksi (a)
Kromatogram eluen (b)

4.5.2 Analisis Kadar Sakarin pada Sampel Urin

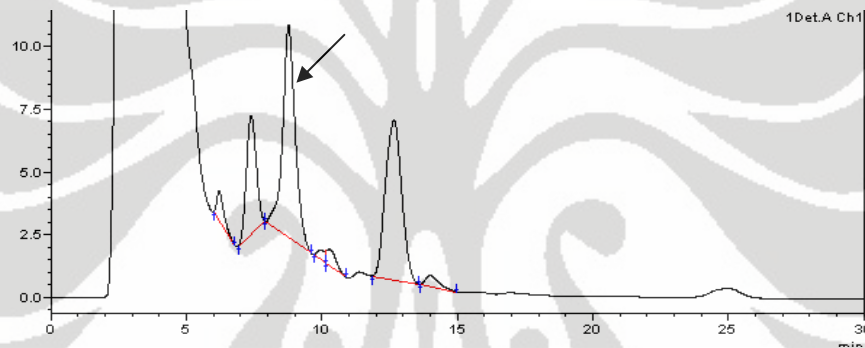
Sampel urin yang telah diisolasi dilanjutkan dengan menganalisis kadar sakarin dalam urin menggunakan HPLC UV-Vis. Hasil deteksi dengan HPLC-UV-Vis terhadap sampel menunjukkan adanya sakarin pada semua sampel. Hal ini dibuktikan dengan adanya puncak kromatogram pada waktu retensi sakarin dan kromatogram yang dihasilkan memiliki profil yang sama dengan profil kromatogram standar sakarin. Pada kromatogram sampel urin juga ditemukan puncak kromatogram lainnya, namun belum dapat dipastikan senyawa apa yang ikut terdeteksi. Hal ini disebabkan oleh banyaknya komponen yang terdapat dalam urin.

Pada analisis kadar sakarin dalam urin juga dilakukan *spike* (standar internal), untuk memastikan puncak kromatogram dari sakarin pada sampel adalah standar sakarin yang sama. Hal ini terlihat dengan adanya kenaikan tinggi puncak kromatogram setelah penambahan standar internal pada sampel. Hal ini membuktikan bahwa senyawa yang terdeteksi pada waktu

retensi tersebut merupakan senyawa sakarin yang sama dengan standar sakarin yang digunakan.

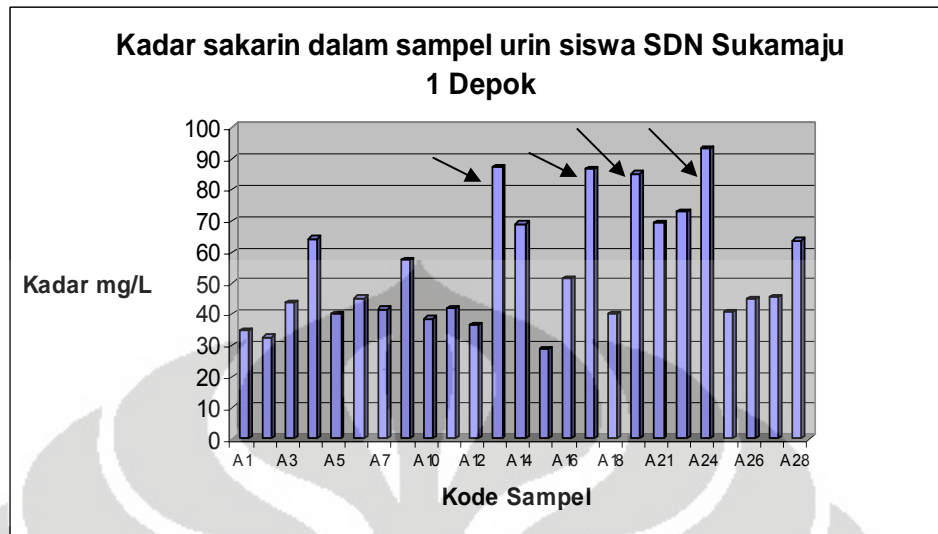


Gambar 9. Kromatogram sakarin dalam urin



Gambar 10. Kromatogram sakarin yang ditambah standar sakarin

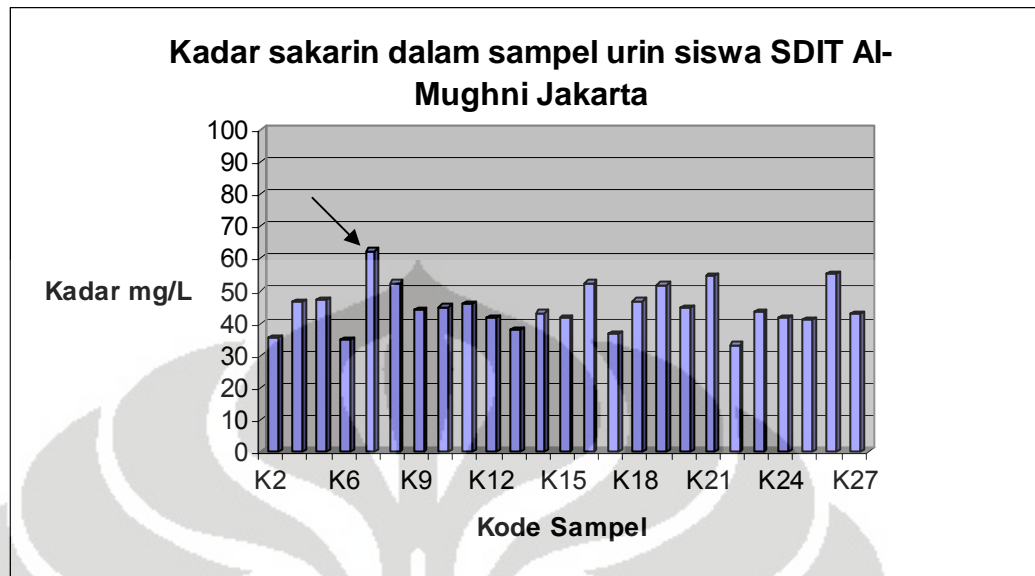
Berdasarkan kromatogram pada Gambar 9 dan 10 terlihat bahwa terdapat peningkatan luas area pada kromatogram menit ke 8,47. Hal ini membuktikan bahwa pada sampel urin tersebut mengandung pemanis buatan sakarin. Dengan demikian, metode ini dapat digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa sakarin pada sampel urin dengan HPLC detektor UV-Vis. Setelah terbukti sakarin dapat terdeteksi pada kondisi tersebut, maka dilakukan hal yang sama pada sampel urin lainnya. Hasil analisis sampel urin ditampilkan pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik kadar sakarin pada responden SDN Sukamaju 1 Depok

Berdasarkan grafik tersebut, terlihat bahwa pada sampel A13, A17, A19, dan A24 terdapat kandungan pemanis buatan sakarin yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh seringnya anak-anak tersebut membeli jajanan yang dijual bebas dalam bentuk minuman seperti teh dan sirup yang dibuat sendiri oleh pedagang tersebut.

Berdasarkan data sampel pangan yang dijual bebas diketahui bahwa kandungan sakarin tertinggi pada pangan jenis cair. Pada grafik terlihat kandungan sakarin pada siswa-siswi SD A bervariasi dengan kadar tertinggi 93,37 mg/L urin sedangkan yang terendah sebesar 28,89 mg/L urin, dengan rerata kadar sakarin pada SD A sebesar 54,24 mg/L urin. Bervariasinya kandungan sakarin disebabkan tidak semua siswa mengonsumsi jajanan yang sama, sehingga kadar sakarin yang tinggi hanya ditemukan pada anak yang sering mengonsumsi jajanan jenis cair.



Gambar 12. Grafik kadar sakarin pada responden SDIT Al-Mughni Jakarta

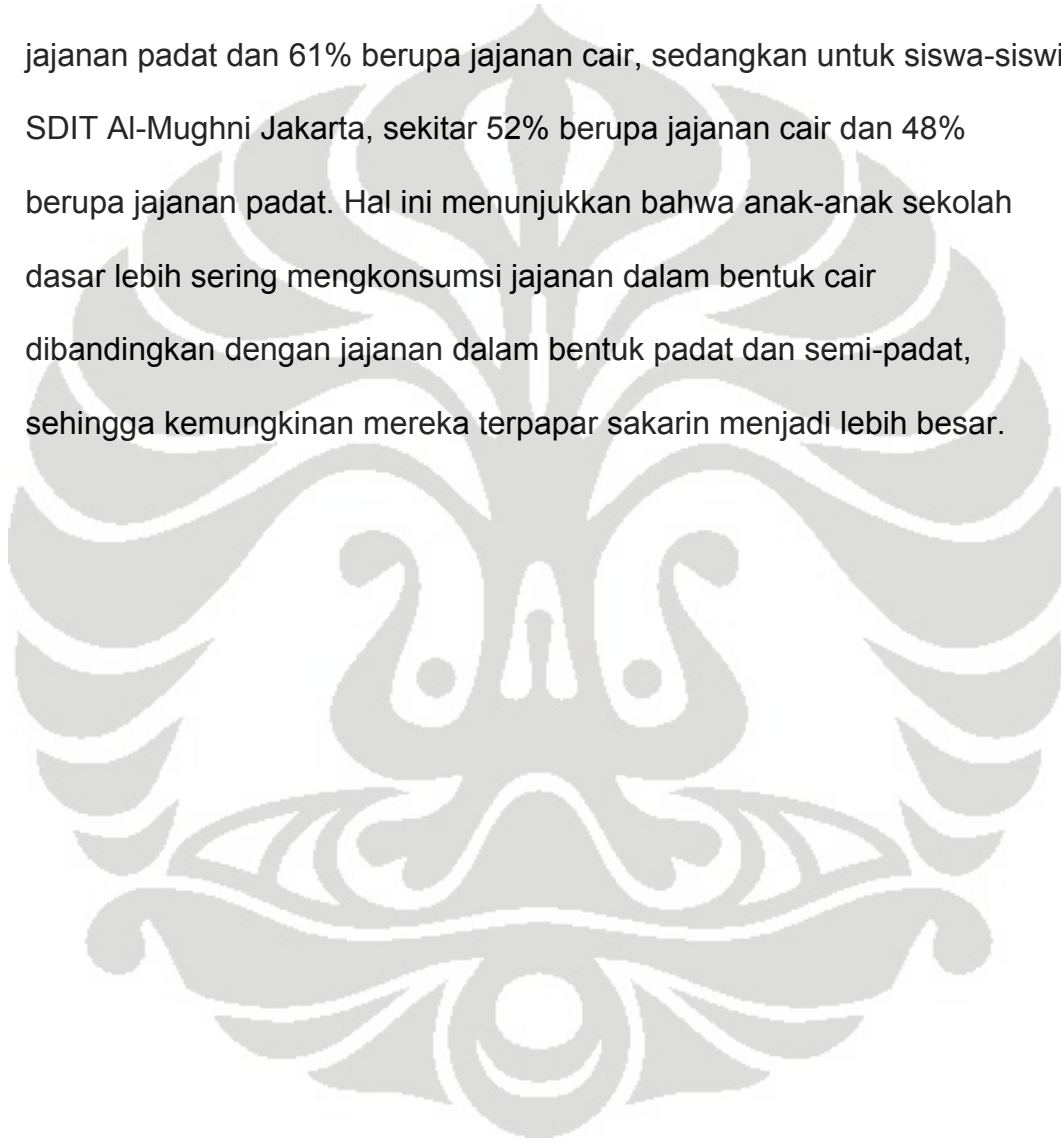
Berdasarkan grafik tersebut terlihat bahwa kandungan sakarin tertinggi pada sampel K7 sebesar 62,47 mg/L urin dan kandungan sakarin terendah pada sampel K22 sebesar 33,26 mg/L urin. Pada responden SDIT Al-Mughni Jakarta, ternyata ditemukan kandungan sakarin meskipun mereka tidak mengonsumsi jajanan di luar sekolah. Hal ini mungkin disebabkan banyaknya minuman dan makanan yang dijual di toko-toko, meskipun memiliki izin produksi, tetapi menggunakan sakarin sebagai pengganti gula, namun dengan kadar yang lebih kecil dibandingkan dengan minuman yang dijual bebas tanpa izin. Hal ini disebabkan para produsen biasanya menggunakan 2 macam pemanis buatan dalam satu produk mereka.

Berdasarkan data tersebut terlihat bahwa kadar rerata kandungan sakarin dari responden SDN Sukamaju 1 Depok lebih tinggi dibandingkan dengan kadar rerata kandungan sakarin pada responden SDIT Al-Mughni Jakarta. Hal ini juga didukung oleh perhitungan *anova single factor* dan didapat nilai F hitungnya sebesar 5,427 dan F_{crit} sebesar 4,05. Hal ini berarti nilai $F_{crit} < F$ yang berarti H_0 ditolak (perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5), yang berarti terdapat perbedaan kandungan sakarin antara siswa-siswi SDN Sukamajau 1 Depok dengan kandungan sakarin pada siswa-siswi SDIT Al-Mughni Jakarta. Hal ini mungkin disebabkan oleh pengaruh jajanan yang mereka konsumsi.

Berdasarkan *survey* yang dilakukan terhadap siswa SDN Sukamaju 1 Depok, sekitar 32 % responden kadang-kadang mengalami gangguan tenggorokan dan 36 % sering mengalami gangguan tenggorokan. Untuk responden SDIT Al-Mughni Jakarta, sekitar 57 % sering mengalami gangguan tenggorokan dan 31 % kadang-kadang mengalami gangguan tenggorokan. Gangguan tenggorokan yang biasanya dialami adalah batuk dan radang tenggorokan. Hal ini mungkin disebabkan oleh rasa manis dari pemanis buatan sakarin yang hingga 300 kali lebih manis dibandingkan dengan rasa manis dari gula sukrosa. Responden SDIT Al-Mughni Jakarta lebih sering mengalami gangguan tenggorokan disebabkan pada sampel pangan yang memiliki izin produksi menggunakan lebih dari satu pemanis buatan, sehingga ada

kemungkinan pencampuran pemanis tersebut dapat meningkatkan intensitas kemanisannya.

Dari data kuesioner didapatkan bentuk jajanan yang lebih sering dikonsumsi siswa-siswi SDN Sukamaju 1 Depok, sekitar 39% berupa jajanan padat dan 61% berupa jajanan cair, sedangkan untuk siswa-siswi SDIT Al-Mughni Jakarta, sekitar 52% berupa jajanan cair dan 48% berupa jajanan padat. Hal ini menunjukkan bahwa anak-anak sekolah dasar lebih sering mengkonsumsi jajanan dalam bentuk cair dibandingkan dengan jajanan dalam bentuk padat dan semi-padat, sehingga kemungkinan mereka terpapar sakarin menjadi lebih besar.



BAB V

KESIMPULAN & SARAN

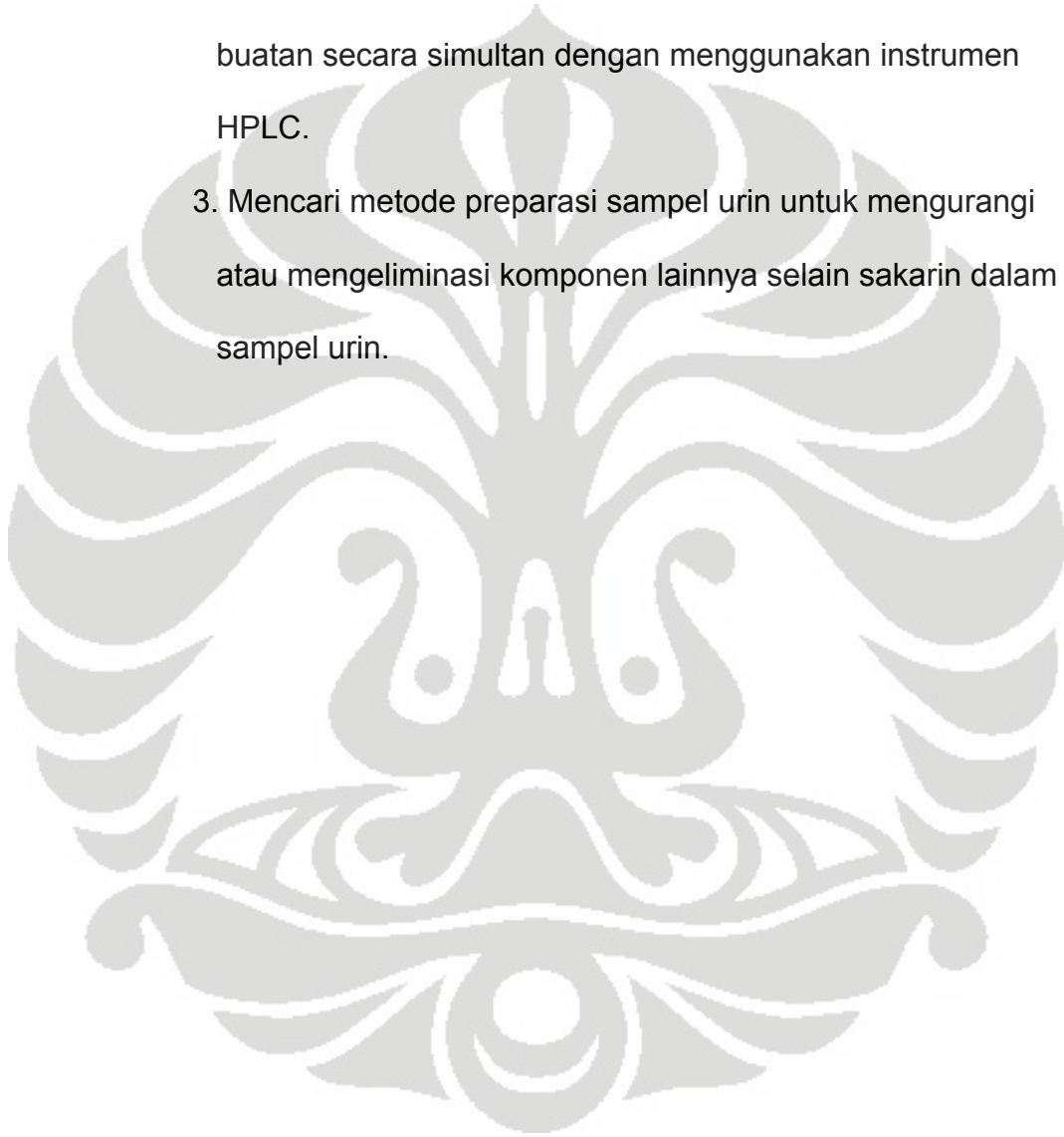
5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Sakarin dapat terdeteksi menggunakan instrumen HPLC kolom fasa terbalik dengan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 220nm, eluen metanol:buffer fosfat 10mM pH 4 dengan komposisi 10:90, dan laju alir 1 mL/menit. Dengan metode ini didapat nilai LOD 0,193 ppm, LOQ 0,644 ppm, dan nilai koefisien variasi di bawah 2,0%.
2. Jajanan anak-anak yang dijual bebas tanpa izin produksi di sekitar SDN Sukamaju 1 Depok terbukti mengandung sakarin, dengan kadar tertinggi pada sampel minuman teh sebesar 117,107 mg/L sampel.
3. Hasil analisis sakarin dalam sampel urin menunjukkan bahwa kadar sakarin pada SDN Sukamaju 1 Depok lebih tinggi dibandingkan dengan kadar sakarin pada SDIT Al-Mughni Jakarta.

5.2 Saran

1. Memvariasikan jenis sampel makanan dan minuman agar lebih mewakili jajanan anak-anak.
2. Pengembangan analisis berbagai macam pemanis buatan secara simultan dengan menggunakan instrumen HPLC.
3. Mencari metode preparasi sampel urin untuk mengurangi atau mengeliminasi komponen lainnya selain sakarin dalam sampel urin.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2001. Chapter 1 Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Part 172, 173, and 180.
<http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx> (25 Juli 2007 17.00 WIB)
- Anonim. 2005. Pemanis Buatan yang Perlu Diwaspadai.
www.Kompas.com (25 Juli 2007 16.30 WIB)
- Arnold, D, L. 1983. Two Generation Saccharin Bioassay. *Environmental Health perspective*. Vol 50 pp 27-36.
- Becker, Rick. Sarah, Brozen. Darrel, Smith. 2003. *What is Biomonitoring*. ACC's Public Health Team
- Codex Alimentarius Commission. 2002. Draft Codex General Standard for Food Additives. *Table one Additives permitted for Use Under Specified Condition in Certain Food Categories or Individual Food Items*
- European Standard EN: 12856 : 1994 *Determination of acesulfam-K, aspartame, and saccharin – High performance liquid chromatographic method*
- Frank, C.Lu. 1995. *Toksikologi Dasar*. Edisi 2. UI Press: Jakarta
- Ferdiaz, Dedi, Sri Irawati Susilit. 2003. *Penggunaan Pemanis Buatan Dalam Produk Pangan*. Direktorat Standarisasi Produk Pangan

Deputi Bidang Pengawasan Keamanan Pangan & Bahan Berbahaya BPOM. Jakarta

Galbraith, David A. 2005. Human Biomonitoring : An Review.

Principal Chem Risk. San Fransisco.

Kamrin, Michael A. 2004. *Biomonitoring Basics*. Michigan State University

Sihombing, Geertruida. 1988. *Sakarin Sebagai Pemanis*. Pusat Penelitian Penyakit Menular. Badan Penelitian dan Pengembangan Depkes RI. Jakarta.

Sweatman, T.W. & Renwick, A.G. 1980. The Tissue Distribution and Pharmacokinetics of Saccharin in Rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*,53. 18-31

Reuber, M. D. 1978. Carcinogenicity of Saccharine. *Environ Health Perspect.* Vol 25. 173-200. 1978

Wilson, L. D, H. M. Crews, A. M. Davies. Urinary Monitoring of Saccharin and acesulfam K as biomarkers of exposure to these addtives. *Food addtives and contaminant.* Vol 16, Number 6 pp 227-238. 1999

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

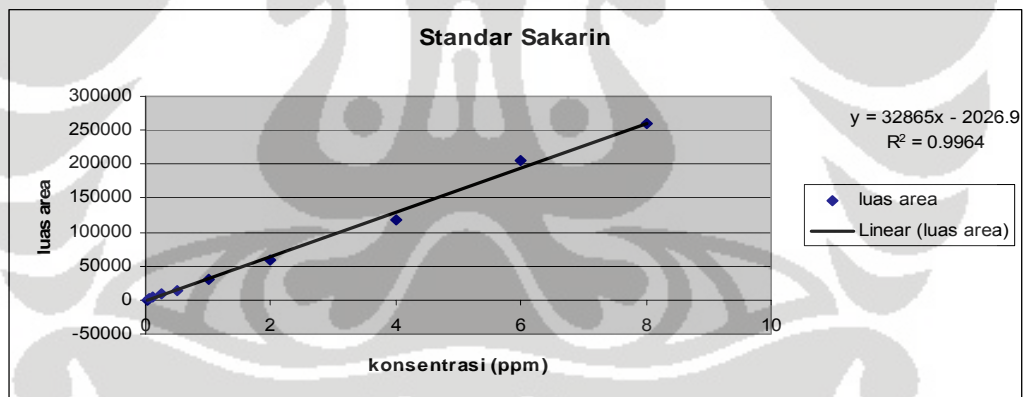




LAMPIRAN

1. Perhitungan LOD dan LOQ

Konsentrasi (ppm)	luas area (y)	luas area (y')	y-y'	(y-y') ²
8	260301	260893.1	-592.1	350582.41
6	205469	195163.1	10305.9	106211574.8
4	117498	129433.1	-11935.1	142446612
2	59112	63703.1	-4591.1	21078199.21
1	29731	30838.1	-1107.1	1225670.41
0.5	14525	14405.6	119.4	14256.36
0.25	8080	6189.35	1890.65	3574557.423
0.1	3865	1259.6	2605.4	6788109.16
0.05	1177	-383.65	1560.65	2435628.423
0.025	535	-1205.275	1740.275	3028557.076
				287153747.3



$$S_y = \sqrt{\sum (y-y')^2 / n-2} = 2218.3$$

$$\text{LOD} = (3 \cdot S_y) / b = 0.193 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = (10 \cdot S_y) / b = 0.644 \text{ ppm}$$

2. Perhitungan Presisi

Konsentrasi	y	y'	y-y'	(y-y') ²	SD	KV (%)
100 ppm	4451265	4456287.67	-5022.667	25227183.79	19692.771	0.44%
	4486307		30019.333	901160353.8		
	4431291		-24996.667	624833361.1		
				1551220899		
80 ppm	1693259	1704035.33	-10776.333	116129352.9	6600.824	0.39%
	1709212		5176.667	26797881.23		
	1709635		5599.667	31356270.51		
				174283504.7		
40 ppm	3169348	3099454	69894	4885171236	43313.866	1.39%
	3073904		-25550	652802500		
	3055110		-44344	1966390336		
				7504364072		

Keterangan:

y = Luas area kromatogram konsentrasi standar yang diperoleh

y' = Nilai rata-rata y

SD = Simpangan Baku = $\sqrt{\sum (y-y')^2 / n-1}$

KV (%) = Koevisien Variasi = $\frac{SD \times 100\%}{y'}$

3. Perhitungan Nilai *Recovery*

- Standar sakarin

Luas area = 1801911

Konsentrasi = 47,32 ppm

- Standar sakarin dengan *cartridge C-18*

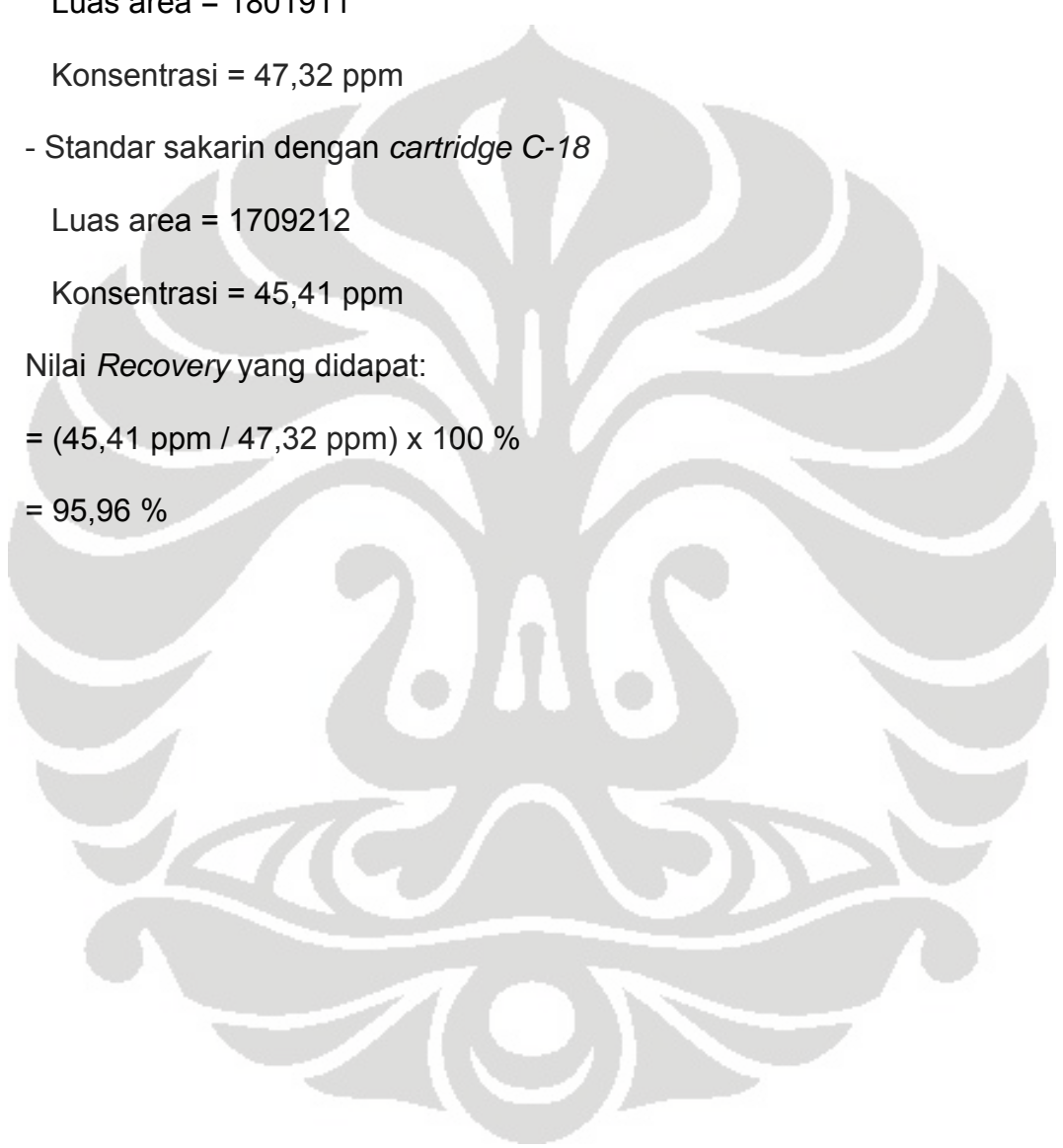
Luas area = 1709212

Konsentrasi = 45,41 ppm

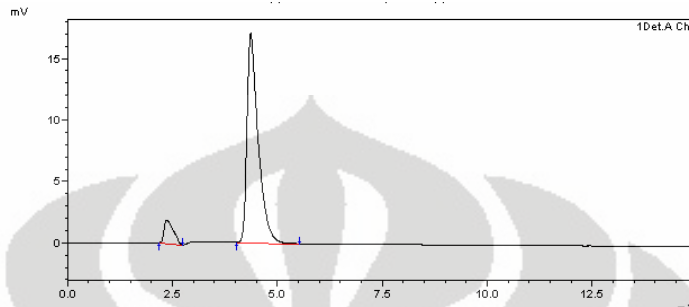
Nilai *Recovery* yang didapat:

= $(45,41 \text{ ppm} / 47,32 \text{ ppm}) \times 100 \%$

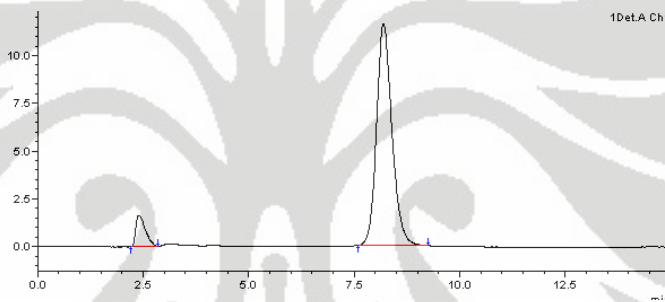
= 95,96 %



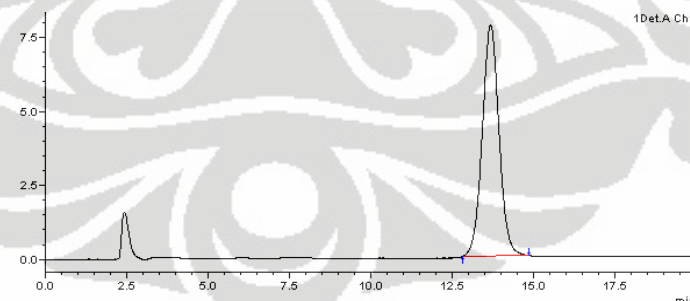
5. Kromatogram perbandingan eluen



Gambar 18. Kromatogram sakarin pada eluen metanol:buffer fosfat 10mM pH 4 (5:95)



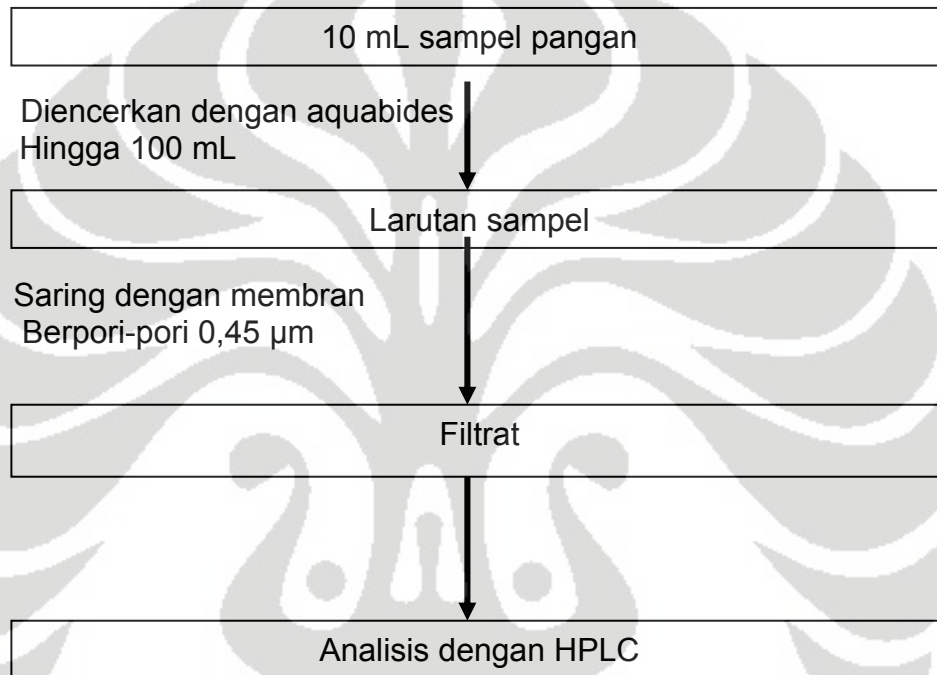
Gambar 19. Kromatogram sakarin pada eluen metanol:buffer fosfat 10mM pH 4 (10:90)



Gambar 20. Kromatogram sakarin pada eluen metanol:buffer fosfat 10mM pH 4 (20:80)

6. Skema kerja sampel pangan

Skema Kerja Isolasi Sakarin Pada Sampel Pangan



7. Data responden

SDN Sukamaju 1 Depok

N0.	Kode Sampel	Usia	Frekuensi Jajan	Jenis Jajanan	Gangguan Tenggorokan	Kadar (mg/L urin)
1	A1	12 thn	Sering	Cair dan Padat	Kadang-kadang	34.871
2	A2	11 thn	Sering	Padat	Kadang-kadang	32.762
3	A3	11 thn	Sering	Padat	Sering	43.575
4	A4	12 thn	Sering	Cair	Sering	64.261
5	A5	11 thn	Sering	Padat	Sering	40.312
6	A6	11 thn	Sering	Cair dan padat	Tidak pernah	45.209
7	A7	11 thn	Sering	Cair dan padat	Tidak pernah	41.720
8	A9	11 thn	kadang-kadang	Cair	Sering	57.554
9	A10	12 thn	Sering	Padat	Tidak pernah	38.679
10	A11	12 thn	Sering	Padat	Sering	41.821
11	A12	12 thn	Sering	Padat	Kadang-kadang	36.487
12	A13	11 thn	Sering	Cair	Tidak pernah	87.178
13	A14	11 thn	Sering	Cair	Sering	68.995
14	A15	11 thn	Sering	Padat	Tidak pernah	28.895
15	A16	12 thn	Kadang-kadang	Cair	Sering	51.455
16	A17	11 thn	Sering	Cair	Sering	86.748
17	A18	12 thn	Kadang-kadang	Padat	Kadang-kadang	40.020
18	A19	12 thn	Sering	Cair	Tidak pernah	85.217
19	A21	11 thn	Sering	Cair	Tidak pernah	69.425
20	A23	11 thn	Sering	Cair	Kadang-kadang	72.815
21	A24	11 thn	Sering	Cair	Kadang-kadang	93.379
22	A25	12 thn	kadang-kadang	Cair	Kadang-kadang	40.683
23	A26	11 thn	Kadang-kadang	Cair	Sering	45.009
24	A27	12 thn	Kadang-kadang	Cair	Tidak pernah	45.452
25	A28	11 thn	Sering	Cair	Kadang-kadang	63.747

SDIT Al-Mughni Jakarta

No	Kode Sampel	Usia	Frekuensi Jajan	Jenis Jajanan	Gangguan tenggorokan	Kadar (mg/L urin)
1	K2	11 thn	Kadang-kadang	Padat	Kadang-kadang	35.407
2	K3	11 thn	Kadang-kadang	Padat	Kadang-kadang	46.649
3	K5	11 thn	Kadang-kadang	Padat	Sering	47.291
4	K6	11 thn	Kadang-kadang	Padat	Kadang-kadang	34.572
5	K7	12 thn	Sering	Cair	Kadang-kadang	62.471
6	K8	11 thn	Sering	Padat	Sering	52.412
7	K9	11 thn	Kadang-kadang	Cair	Kadang-kadang	44.239
8	K10	11 thn	Kadang-kadang	Cair	Kadang-kadang	44.985
9	K11	12 thn	Kadang-kadang	Cair	Kadang-kadang	45.889
10	K12	11 thn	Kadang-kadang	Cair	Sering	41.477
11	K13	11 thn	Kadang-kadang	Padat	Tidak pernah	37.862
12	K14	12 thn	Kadang-kadang	Cair	Sering	43.198
13	K15	12 thn	Sering	Cair dan padat	Sering	41.626
14	K16	11 thn	Kadang-kadang	Cair	Sering	52.411
15	K17	11 thn	Sering	Cair dan padat	Sering	36.451
16	K18	12 thn	Sering	Padat	Kadang-kadang	46.945
17	K19	12 thn	Sering	Cair dan padat	Kadang-kadang	51.936
18	K20	12 thn	Kadang-kadang	Padat	Kadang-kadang	44.763
19	K21	12 thn	Kadang-kadang	Cair	Sering	54.607
20	K22	12 thn	Kadang-kadang	Padat	Sering	33.260
21	K23	11 thn	Kadang-kadang	Cair	Kadang-kadang	43.681
22	K24	11 thn	Sering	Cair dan padat	Kadang-kadang	41.512
23	K25	12 thn	Kadang-kadang	Padat	Tidak pernah	41.146
24	K26	12 thn	Kadang-kadang	Cair	Tidak pernah	55.463
25	K27	12 thn	Kadang-kadang	Cair	Kadang-kadang	42.938

8. Perhitungan Anova:

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance
SDN Sukamaju	24	1321388	55057.83	3.71E+08
SDIT Al-Mughni	24	1087771	45323.79	48099111

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1.14E+09	1	1.14E+09	5.427866	0.024262	4.051749
Within Groups	9.64E+09	46	2.09E+08			
Total	1.08E+10	47				

Ho = tidak ada perbedaan antara kadar sakarin dalam sampel urin siswa SDN Sukamaju 1 Depok dengan sampel urin siswa SDIT Al-Mughni Jakarta

H1 = terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar sakarin dalam sampel urin siswa SDN Sukamaju 1 Depok dengan SDIT Al-Mughni Jakarta.

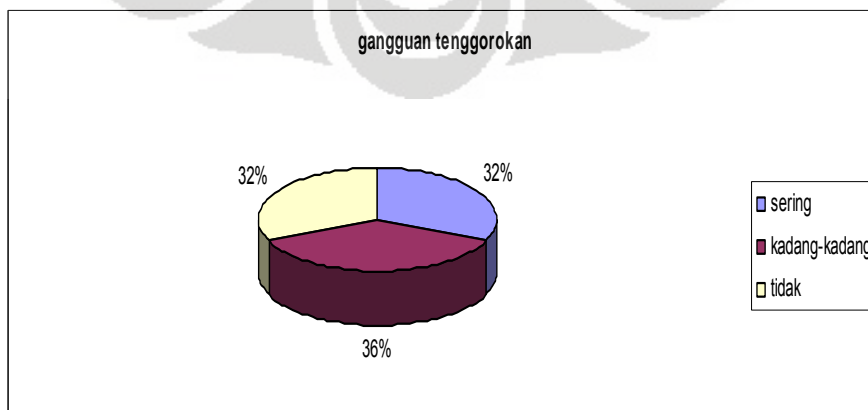
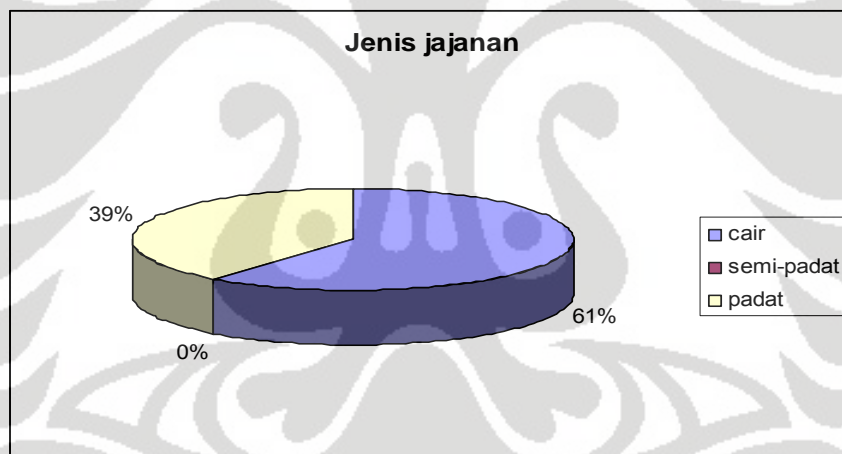
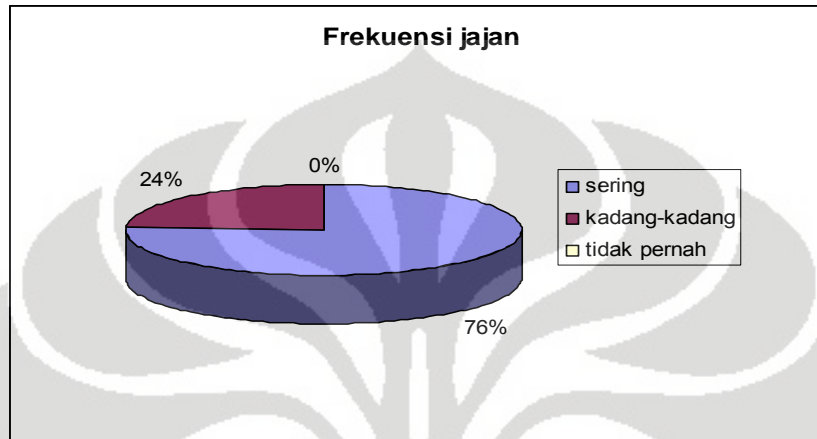
$$F_{hit} = 5,427$$

$$F_{crit} = 4,05$$

$F_{hit} < F_{crit}$, hal ini berarti Ho ditolak.

9. Data Kuesioner

SDN Sukamaju 1 Depok



SDIT Al-Mughni Jakarta

