

**ANALISIS ASPARTAM DALAM MINUMAN RINGAN SECARA
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETRI**

DHARNITA CERNALIA

0606040633



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

DEPOK

2008

**ANALISIS ASPARTAM DALAM MINUMAN RINGAN SECARA
KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETRI**

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

Oleh:

DHARNITA CERNALIA

0606040633



UNIVERSITAS INDONESIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

DEPARTEMEN FARMASI

DEPOK

2008

45

SKRIPSI : ANALISIS ASPARTAM DALAM MINUMAN RINGAN

SECARA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS DENSITOMETRI

NAMA : DHARNITA CERNALIA

NPM : 0606040633

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, 23 DESEMBER 2008

Dra. Azizahwati, MS

Dra. Sabarijah WittoEng, SKM

PEMBIMBING I

PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana : 23 Desember 2008

Penguji I : Drs. Hayun MSi.....

Penguji II : Santi Purna Sari S.Si.,M.Si.....

Penguji III : DR. Katrin MS

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada sumber segala kebenaran dan ilmu pengetahuan, Tuhan Yang Maha Esa, karena atas segala rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi ini.

Skripsi yang berjudul Analisis Aspartam dalam minuman ringan disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi di Departemen Farmasi Universitas Indonesia. Penelitian dalam rangka penyusunan Skripsi ini dilakukan sepenuhnya di Laboratorium Kimia Kuantitatif, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Dra. Azizahwati MS selaku pembimbing I dan Ibu Dra. Sabarijah WittoEng SKM selaku pembimbing II atas bantuan, bimbingan dan saran selama penelitian ini berlangsung hingga tersusunnya skripsi ini.
2. Ibu Dr. Berna Elya selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi.
3. Bapak Dr. Abdul Mun'im MS selaku Ketua Program Ekstensi Farmasi FMIPA-UI

4. Dr. Yahdiana Harahap MS selaku Ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia FMIPA-UI
5. Bapak Drs. Hayun MSi selaku Kepala Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA-UI
6. Seluruh staff pengajar Departemen Farmasi FMIPA-UI terutama Bapak Drs. Hayun MSi dan Drs. Kawira yang telah memberikan konsultasi selama penelitian ini berlangsung.
7. Bapak Rustam Paun dan Bapak Ma'ruf yang telah memberikan bantuan dan dukungannya selama penelitian ini berlangsung.
8. Kedua orang tua penulis, tulang, opung boru, kakak-kakakku dan Daniel atas doa, dukungan dan bantuannya kepada penulis selama ini.
9. Seluruh rekan-rekan Farmasi Ekstensi 2005-2008, terutama rekan-rekan Laboratorium Kimia Analisis Kuantitatif yanita, mba vina, riswanto , lili, yesi, shelly dan mba lia yang telah memberikan dukungan dan semangatnya kepada penulis.
10. Kepada Lele, Manki, Pimon, Chibi, Pak De, Bu De, Mas Agung, dan Mas Andi yang telah memberikan bantuan, semangat dan keceriaan.

Penulis yakin dalam skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, namun penulis mengharapkan skripsi ini dapat memberikan manfaat yang cukup berarti terhadap perkembangan ilmu pengetahuan dimanapun.

Penulis

Dharnita Cernalia

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. LATAR BELAKANG.....	1
B. TUJUAN PENELITIAN.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. MINUMAN RINGAN.....	5
B. ASPARTAM.....	6
C. KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS.....	8
D. VALIDASI METODE ANALISIS.....	17
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA	
A. BAHAN DAN ALAT.....	21
B. CARA KERJA.....	22

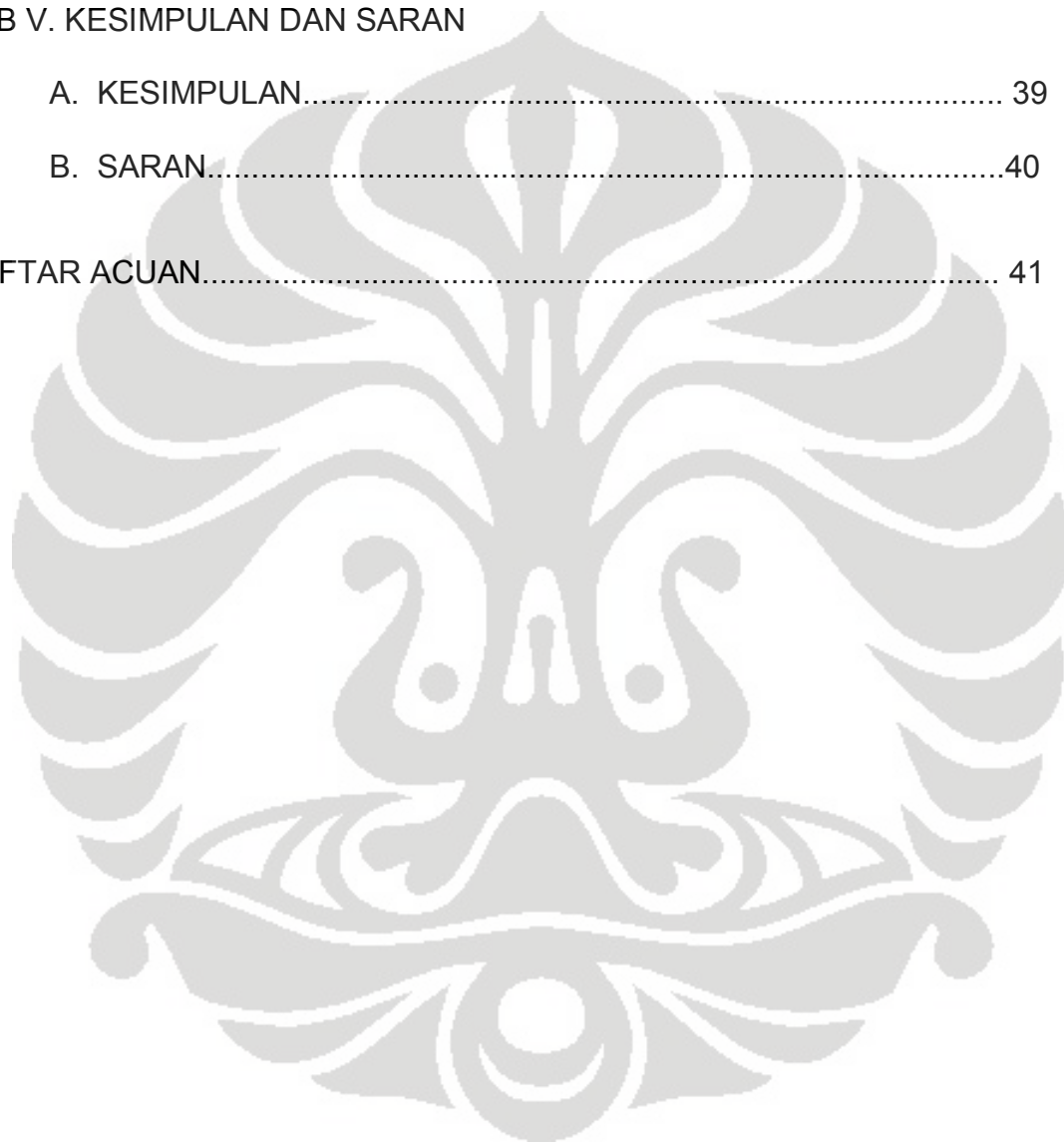
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL.....	29
B. PEMBAHASAN.....	32

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN.....	39
B. SARAN.....	40

DAFTAR ACUAN.....	41
-------------------	----



ABSTRAK

Penggunaan pemanis buatan dalam produk minuman sudah sedemikian meluas mencakup jenis pemanis buatan yang digunakan dan bentuk sediaan yang dibuat. Salah satu pemanis buatan yang digunakan pada produk minuman adalah aspartam, dimana memiliki tingkat kemanisan 180-200 kali gula biasa. Oleh karena adanya batasan penggunaan aspartam dalam asupan harian, perlu diteliti kandungan aspartam salah satunya yang terdapat dalam produk minuman ringan. Pada penelitian kali ini dilakukan analisis aspartam secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri. Kondisi analisis menggunakan lempeng silika gel F254 sebagai fase diam, campuran pelarut butanol : asam asetat : air (4:1:1) sebagai fase gerak dan dianalisis pada λ 262 nm. Hasil penelitian ini menunjukkan koefisien variasi kurang dari 2% dan akurasi 80-110%. Kurva kalibrasi dilakukan pada rentang 500-5000 $\mu\text{g/ml}$ menghasilkan linieritas 0,9982 dengan batas deteksi 1,0882 μg dan batas kuantitasi 3,6274 μg . Kadar aspartam dari sepuluh sampel minuman ringan, sampel mengandung aspartam pada sampel JO (3,4382 mg/g), sampel JM (3,4389 mg/g), sampel JJ (2,9287 mg/g) dan sampel KF (1,7839 mg/g), sedangkan sampel PI, NSH, NT, NHC, FS dan FB tidak dapat ditentukan.

Kata kunci: Bahan tambahan makanan, Analisis aspartam, Aspartam, minuman ringan, KLT Densitometri.

xi + 80 hal; 7 lamp; 30 gbr; 7 tab.

Bibliografi: 31 (1976-2008)

ABSTRACT

The use of sweetener in the beverage products has been spread out very significantly. One of the sweetener that is commonly used in beverage products is aspartam which 180-200 times sweeter than the ordinary sugar. Since there is a limitation of the aspartam usage in the daily calories intake, it's necessary to make a research about the aspartam content in the beverage products. In this experiment, aspartam analysis in beverages using Thin Layer Chromatography Densitometry. The analysis condition was performed by using silica gel F254 as the stationary phase, mixture solvents contents of butyl alcohol : acetic acid : water (4:1:1) as the mobile phase and analysis in λ 262 nm. This experiment showed lower than 2% precision and accuracy between 80-110%. Calibration curve was performed in the range of 500-5000 $\mu\text{g/ml}$, resulting good linearity 0.9982, limit of detection 1,0882 μg and limit of quantitative 3,6274 μg . Sample of aspartame contained JO (3.4382 mg/g), sample JM (3,4389 mg/g), sample JJ (2,9287 mg/g) and sample KF (1,7839 mg/g), whereas sample PI, NSH, NT, NHC, FS and FB can not determined.

Keywords : Food Additives, Aspartam Analysis, Aspartame, beverages, TLC Scanner.

x + 80 pages; 30 pictures; 7 enclosures; 7 tables

Bibliography: 31 (1976-2008)

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Kurva serapan aspartam 1000 µg/ml dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 200 – 400 nm	45
Gambar 2a. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak propanol-asam asetat glasial (4:1)	45
Gambar 2b. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak aseton-toluena-asam asetat glasial (2:2:1)	46
Gambar 2c. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak butanol-asam asetat glasial-air (4:1:1)	46
Gambar 2d. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak butanol-etanol-amoniak-air (10:1:0,2:2)	47
Gambar 2e. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak etanol-isopropanol 12,5%-amoniak (1:4:0,1)	47
Gambar 2f. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak etil asetat-metanol-asam formiat-air (15:3:1:0,1)	48
Gambar 2g. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak propanol-asam asetat glasial-asam formiat-air (15:2:3:1)..	48
Gambar 3. Kurva serapan bercak aspartam pada panjang gelombang 200-400 nm	49
Gambar 4. Kurva kalibrasi aspartam	49
Gambar 5. Kurva densitas perolehan kembali aspartam 80% dengan fase	

gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm	50
Gambar 6. Kurva densitas perolehan kembali aspartam 100% dengan Fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm	50
Gambar 7. Kurva densitas perolehan kembali aspartam 120% dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm	51
Gambar 8a. Kurva densitas sampel JO dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.	51
Gambar 8b . Kurva serapan bercak Sampel JO dibandingkan dengan standar aspartam pada λ 200-400 nm	52
Gambar 9a. Kurva densitas sampel JM dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.	52
Gambar 9b . Kurva serapan bercak sampel JM dibandingkan dengan standar aspartam pada λ 200-400 nm	53
Gambar 10a. Kurva densitas sampel JJ dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.	53
Gambar 10b . Kurva serapan bercak sampel JJ dibandingkan dengan standar aspartam pada λ 200-400 nm	54
Gambar 11a. Kurva densitas sampel KL dengan fase gerak butanol- asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.	54
Gambar 11b . Kurva serapan bercak sampel KL dibandingkan dengan standar aspartam pada λ 200-400 nm	55

Gambar 12. Kurva densitas standar aspartam dengan fase gerak butanol- asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.	55
Gambar 13. Kurva densitas standar fenilalanin dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.	56
Gambar 14. Kurva serapan bercak standar aspartam (A) dibandingkan dengan standar fenilalanin (B) pada λ 200-400 nm.....	56
Gambar 15. Kurva serapan bercak sampel FS dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.	57
Gambar 16. Kurva serapan bercak sampel PI dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.	57
Gambar 17. Kurva serapan bercak sampel NH dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.	58
Gambar 18. Kurva serapan bercak sampel FB dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.	58
Gambar 19. Kurva serapan bercak sampel NT dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.	59
Gambar 20. Kurva serapan bercak sampel NHC dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.	59

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1 . Data Rf pada beberapa macam fase gerak	64
Tabel 2 . Kurva Kalibrasi Aspartam	65
Tabel 3 . Perhitungan Limit Deteksi dan Limit Kuantitas Aspartam	66
Tabel 4 . Data uji keterulangan Aspartam	67
Tabel 5 . Data Uji Perolehan Kembali Aspartam	68
Tabel 6 . Data Identifikasi Sampel secara Kualitatif	69
Tabel 7 . Data Kadar Sampel	70

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 . Penggunaan Aspartam berdasarkan kategori pangan	72
Lampiran 2 . Perhitungan Kurva Kalibrasi	73
Lampiran 3 . Perhitungan Batas Deteksi dan Batas Kuantitas	74
Lampiran 4 . Perhitungan Uji Keterulangan	75
Lampiran 5 . Perhitungan Uji Perolehan Kembali	76
Lampiran 6 . Perhitungan Kadar	77
Lampiran 7 . Sertifikat Analisa Standar Aspartam	78



BAB I

PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Perkembangan dalam pengolahan produk pangan mengalami peningkatan. Pengolahan produk pangan akan memberikan hasil yang baik dengan menambahkan bahan tambahan makanan, seperti pemanis, pewarna, pengawet dan penstabil guna mempertahankan kualitas makanan, karakteristik dan juga keamanannya (1).

Bahan tambahan makanan seperti pemanis buatan sangat diperhatikan oleh konsumen, ahli kesehatan, bagian perdagangan dan perindustrian, karena dikonsumsi secara luas terutama oleh mereka yang menjalankan diet kalori dan dapat menimbulkan efek yang tidak baik untuk kesehatan, terutama anak-anak dan wanita hamil. Oleh karena pemakaian yang berlebihan atau tidak tepat dari bahan tambahan makanan tersebut, dapat menimbulkan masalah kesehatan, misalnya, pada penyakit turunan fenilketonuria yang sensitif dengan adanya fenilalanin, salah satu hasil metabolisme dari pemanis buatan aspartam, sehingga seluruh produk yang mengandung aspartam harus diberi label (2).

Penggunaan pemanis buatan dalam produk minuman sudah sedemikian meluas mencakup jenis pemanis buatan yang digunakan dan bentuk sediaan yang dibuat. Konsumsi dari minuman sudah merupakan

suatu kebiasaan, sehingga pemerintah melakukan pengaturan dalam penggunaan pemanis buatan untuk meningkatkan faktor keamanannya. Pemerintah dalam hal ini Badan Pengawasan Obat dan Makanan melakukan pengaturan dalam penggunaan pemanis buatan pada produk pangan sebagai Standar Nasional Indonesia (SNI). Peraturan pemerintah mengenai penggunaan pemanis buatan dalam produk pangan diatur dalam Permenkes No.722/MENKES/PER/IX/1988. Pemanis buatan yang akan diatur dalam standar ini dapat dilihat pada lampiran (3).

Salah satu pemanis buatan yang digunakan pada produk minuman adalah aspartam, dimana memiliki tingkat kemanisan 180-200 kali gula biasa. Aspartam digunakan dalam produk minuman sebagai penegas cita rasa terutama cita rasa buah (3). Menurut SNI, jumlah asupan harian yang dapat diterima sebanyak 50 mg/kg berat badan (4).

Banyaknya konsumsi yang berlebihan oleh masyarakat terutama anak-anak menyebabkan dampak yang tidak baik. Adanya batasan penggunaan aspartam dalam asupan harian dan dampak dalam konsumsi makanan dan minuman yang berlebihan, perlu diteliti kandungan aspartam dalam produk minuman ringan dan secara umum ingin mengetahui jumlah minuman yang mengandung aspartam yang dikonsumsi di tengah masyarakat.

Metode analisis yang digunakan untuk analisis Aspartam adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri. Metode ini dipilih karena zat yang diperiksa hanya diperlukan jumlah yang cukup kecil, peralatan

sederhana, waktu cukup singkat serta murah. Di samping itu tidak diperlukan ruang besar dan teknik pengerjaannya sederhana (5).

Sebelum dilakukan analisis kuantitatif Aspartam secara KLT densitometri, terlebih dahulu dilakukan optimasi dan validasi agar didapatkan metode analisis dengan tingkat sensitivitas yang cukup tinggi, sesedikit mungkin kesalahan dan dapat dipercaya.



B. TUJUAN PENELITIAN

1. Untuk mendapatkan kondisi optimal untuk analisis Aspartam dalam minuman ringan secara KLT Densitometri.
2. Untuk mengetahui kadar Aspartam yang terdapat dalam beberapa sampel minuman ringan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. MINUMAN RINGAN

Minuman ringan adalah minuman yang tidak mengandung alkohol, merupakan minuman olahan dalam bentuk serbuk atau cair yang mengandung bahan makanan dan bahan tambahan lainnya baik alami maupun sintetik yang dikemas dalam kemasan siap untuk dikonsumsi (6).

Bahan tambahan yang dapat ditambahkan dalam minuman ringan, seperti : antioksidan, pengatur keasaman, pemanis buatan, pengemulsi, pemantap, pengental, pengawet, pewarna, penguat rasa. Pemakaian bahan tambahan digunakan sesuai dengan batasan yang telah ditentukan. Pemilihan bahan tambahan yang tepat dapat memberikan mutu produk lebih baik (7).

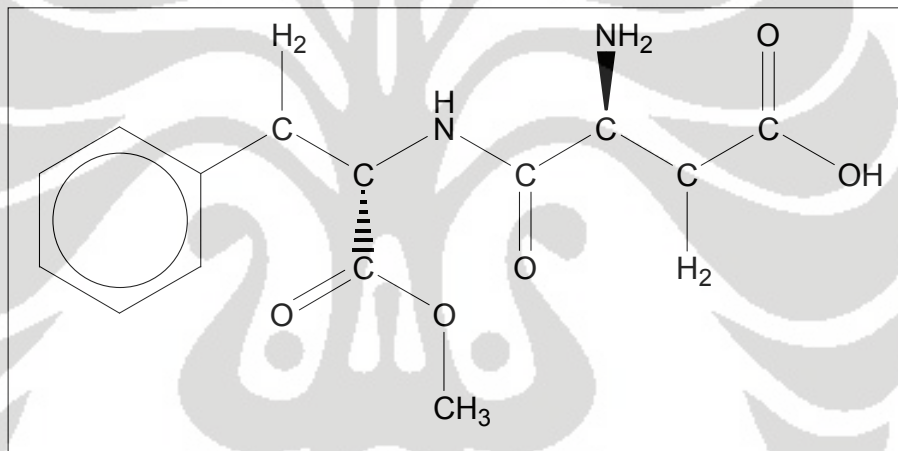
B. PEMANIS BUATAN

Pemanis buatan merupakan bahan tambahan yang dapat memberikan rasa manis pada produk pangan yang tidak atau sedikit mempunyai nilai gizi atau kalori. Syarat pemanis yang ideal adalah harus manis seperti sukrosa, tidak berwarna, tidak berbau, non karsinogenik dan tidak merusak makanan, harus larut dalam air dan

stabil pada range pH dan temperatur yang luas, lebih hemat secara ekonomi dibanding sukrosa, mudah dalam pembuatan dan penyimpanan (4,8,9). Pemanis buatan hanya boleh ditambahkan ke dalam produk pangan dalam jumlah tertentu sesuai dengan ketentuan seperti yang terdapat dalam lampiran 1.

1. ASPARTAM

a. Sifat Fisikokimia (10,11,12)



Gambar 1. Struktur Kimia Aspartam

Definisi : Aspartam mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 102,0% $C_{14}H_{18}N_2O_5$, dihitung dari bahan kering.

Rumus Molekul : $C_{14}H_{18}N_2O_5$

Bobot Molekul : 294,31

Nama Kimia : L-Aspartyl-L-phenylalanine methyl ester,

Pemerian : Serbuk kristal berwarna putih, tidak berbau dan sedikit higroskopis.

Kelarutan : Sedikit larut dalam air dan alkohol, praktis tidak larut dalam heksana dan metilen klorida.

Titik Didih : 248 – 250⁰C

Kegunaan : Pemanis buatan, penambah cita rasa.

b. Metode Analisis Aspartam

Metode yang dapat digunakan untuk analisis aspartam, yaitu :

1. Kromatografi Lapis Tipis (10)

Kromatografi Lapis Tipis menggunakan lempeng silika gel G R sebagai fase diam, fase gerak air-asam format-metanol-metilen klorida (2:4:30:64), pelarut asam asetat 30% dalam air, lempeng dianalisis dengan menyemprotkan larutan ninhidrin, kemudian dikeringkan pada 100-105 °C selama 15 menit.

2. Titrasi bebas air (13)

Larutkan 0,250 gram dalam 1,5 ml asam formiat anhidrat dan 60 ml asam asetat anhidrat. Titrasi dengan 0,1 M asam perklorat. Titik akhir ditentukan secara potensiometri. 1 ml asam perklorat 0,1 M setara dengan 29,43 mg C₁₄H₁₈N₂O₅.

3. Spektrofotometer (11)

Metode injeksi aliran Spektrofotometer telah dikembangkan untuk analisis aspartam dalam produk diet dengan menggunakan ninhidrin

sebagai pelarut kolorimetri. Reaksi ini dilakukan dengan medium metanol-isopropanol (1:1) dan juga mengandung Kalium Hidroksida. Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang 603 nm.

4. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (15)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dengan menggunakan kolom C18, ukuran partikel 10- μ m, laju alir 1-3 L/min, detektor UV 220 nm, fase gerak 60% eluen A / 40% eluen B Isokratik.

5. Megazyme Aspartam Assay Kit (K-ASPTM) (16)

Metode ini menggunakan reaksi enzimatik dimana bentuk aspartam akan dihidrolisis oleh enzim dan hasil hidrolisisnya akan memberikan penurunan absorpsi pada λ 340nm.

C. KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS (*THIN LAYER CHROMATOGRAPHY*)

1. Kromatografi (17)

Kromatografi didefinisikan sebagai suatu prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan didalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kerapatan muatan ion.

Teknik kromatografi umum membutuhkan zat terlarut terdistribusi di antara dua fase, satu diantaranya diam (fase diam), yang lainnya bergerak (fase gerak). Fase gerak membawa zat terlarut lainnya, yang tereluasi lebih awal atau lebih akhir. Umumnya zat terlarut dibawa melewati media pemisah oleh aliran suatu pelarut berbentuk cairan atau gas yang disebut eluen. Fase diam dapat bertindak sebagai zat penjerap seperti halnya penjerap alumina yang diaktifkan, silica gel dan resin penukar ion atau dapat bertindak melarutkan zat terlarut sehingga terjadi partisi antara fase diam dan fase gerak.

Bila fase diam berupa zat padat aktif, maka dikenal istilah kromatografi penyerapan (*adsorption chromatography*) dan bila berupa zat cair, maka teknik ini dikenal dengan kromatografi pembagian (*partition chromatography*) (5).

2. Penggunaan KLT

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sering digunakan untuk analisis kualitatif dan dapat juga digunakan untuk analisis kuantitatif. Saat ini metode KLT banyak digunakan untuk menganalisis kemurnian dari suatu senyawa secara sederhana, memisahkan dan mengidentifikasi komponen-komponen zat dalam suatu campuran, menganalisis komponen-komponen yang terkandung dalam suatu campuran senyawa secara kuantitatif.

Penggunaan metode KLT semakin luas dapat disebabkan metode ini memiliki banyak kelebihan, diantaranya adalah (18):

- a. Merupakan metode yang sederhana dan alat yang digunakan relatif lebih murah.
- b. Polaritas pelarut atau jenis campuran pelarut dapat diubah berdasarkan percobaan, mudah untuk mengubah fase gerak.
- c. Fase gerak diuapkan sebelum deteksi dilakukan sehingga tidak mengganggu determinasi posisi bercak larutan.
- d. KLT tidak memerlukan kemurnian sampel yang sama seperti yang diperlukan dalam KCKT. Ketidakmurnian sampel mula-mula dapat dipindahkan oleh fase gerak atau tertinggal pada bercak awal sehingga tidak mempengaruhi hasil akhir analisis. Jadi, metode purifikasi untuk analisis dengan KLT sederhana.
- e. Memungkinkan untuk mengelusi beberapa cuplikan sekaligus, sehingga waktu yang dibutuhkan untuk jumlah sampel yang banyak dapat lebih singkat.
- f. Jumlah cuplikan dan pelarut yang digunakan kecil.
- g. Memungkinkan dilakukan penotolan cuplikan berganda.
- h. Waktu yang diperlukan untuk analisis relatif lebih cepat.

Kekurangan KLT adalah keterulangan yang buruk bila analisis dilakukan pada lempeng yang berbeda. Hal ini disebabkan adanya kesulitan untuk membuat lempeng yang terulangan, bahkan dalam

satu pabrik sekalipun. Perbedaan keterulangan ini dapat disebabkan variasi dari ukuran partikel ataupun ketebalan lempeng (5).

Kriteria zat yang dapat dianalisa dengan KLT yaitu: dapat terdeteksi pada kromatogram, dapat dilarutkan, dapat dielusi dengan fase gerak, tidak bersifat *volatile*, sehingga tidak menguap selama proses elusi dan pengeringan kromatogram, harus stabil selama proses kromatografi, baik terhadap cahaya, udara, dan pelarut yang digunakan (19).

Hal-hal yang harus diperhatikan untuk pelarut yang digunakan yaitu : pelarut harus murni bila perlu disaring, campuran pelarut hanya boleh digunakan maksimum dua atau tiga kali, komposisi campuran dapat berubah karena penyerapan atau penguapan, komponen-komponen campuran pelarut mungkin bereaksi satu sama lain (4).

3. Sistem KLT (20)

Sistem KLT dapat diatur dengan mengubah sifat permukaan penjerap atau dengan mengubah-ubah kepolaran dari fase gerak. Mengubah fase gerak lebih mudah dan paling sering dilakukan.

a. Fase Diam

Penjerap untuk KLT umumnya yang paling banyak digunakan adalah silika gel (SiO_2) dan alumina (Al_2O_3). Silika gel merupakan penjerap yang bersifat asam, sehingga lebih sering digunakan untuk

memisahkan senyawa yang bersifat asam. Sedangkan alumina bersifat basa digunakan untuk senyawa yang bersifat basa. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya pengikatan secara kuat senyawa dengan penjerap karena ikatan ion diantara keduanya. Selain silika dan alumina juga digunakan penjerap lain seperti selulosa dan poliamida.

Dalam perkembangan KLT, telah diciptakan sistem penjerap yang lebih baik yang dikenal dengan *High Pressure Thin Layer Chromatography* (HPTLC), merupakan lempeng KLT yang dilapisi dengan silika gel dengan ukuran partikel yang lebih kecil ($5-7\mu\text{m}$) dan homogen, dengan tingkat ketebalan yang kecil ($200\mu\text{m}$). Lempeng ini memiliki tingkat pemisahan yang lebih baik, waktu pemisahan lebih singkat dan membutuhkan jumlah cuplikan yang lebih sedikit.

b. Fase Gerak

Polaritas dari pelarut yang digunakan sebagai fase gerak dalam KLT merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi lewatnya suatu komponen. Fase gerak yang polar akan bersaing dengan molekul yang bersifat polar dalam permukaan penjerap dan akan melarutkan bagian yang bersifat polar pula. Semakin polar fase gerak yang digunakan, semakin cepat pula membawa molekul-molekul yang bersifat polar melewati fase diam. Jika fase gerak

yang digunakan terlalu polar, lajunya akan semakin cepat dan menghasilkan sedikit atau bahkan tidak terjadi pemisahan dalam suatu campuran.

Fase gerak dapat diubah-ubah dengan cara mengkombinasi pelarut agar diperoleh kepolaran yang tepat untuk pemisahan tertentu.

4. Teknik Pengembangan (21)

Pada umumnya dilakukan secara mekanik, namun dikenal juga cara pengembangan lainnya seperti pengembangan melingkar, mendatar dan menurun.

a. Pengembangan mekanik

Pada prinsipnya lempeng KLT dimasukkan ke dalam bejana yang sudah dijenuhkan dengan fase gerak. Titik awal elusi harus berada kurang lebih 1 cm dari fase gerak. Fase gerak akan bergerak naik pada lempeng karena gaya kapilaritas. Metode ini membutuhkan peralatan yang sederhana.

b. Pengembangan melingkar

Zat yang akan dielusi ditotolkan beberapa sentimeter dari pusat lempeng yang berbentuk lingkaran. Fase gerak yang digunakan akan naik ke pusat lingkaran secara radial sampai ke tepi lingkaran.

c. Pengembangan mendatar

Prinsipnya sama seperti pengembangan mekanik, hanya pada metode ini posisi lempeng mendatar, eluen dihubungkan dengan lempeng menggunakan kertas khusus.

d. Pengembangan menurun

Cara pengembangan dengan arah berkebalikan dengan cara pengembangan mekanik. Cara pengembangan ini biasanya dilakukan pada kromatografi kertas. Pada cara ini, pergerakan fase gerak juga dipengaruhi gaya gravitasi, jadi proses elusi berjalan lebih cepat.

e. Pengembangan dua dimensi

Setelah elusi pertama selesai dilakukan, lempeng diangkat dan dikeringkan. Elusi selanjutnya dilakukan dengan memutar lempeng 90° dengan fase gerak yang lain. Dengan cara ini dapat dilakukan pemisahan campuran yang kepolarannya sangat berbeda.

5. Perhitungan Faktor Retardasi (R_f) (5,19)

Faktor retardasi (R_f) adalah ratio antara jarak yang ditempuh oleh zat dengan jarak yang ditempuh oleh eluen dari titik totolan. Nilai R_f adalah spesifik untuk suatu zat, tetapi sering berbeda dengan yang dimuat di literatur karena nilai ini dipengaruhi oleh

kondisi percobaan, seperti temperatur, ukuran spot, kualitas lempeng, kejenuhan *chamber*, waktu perambatan. Berikut rumus Faktor retardasi :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat dari titik totolan}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen dari titik totolan}}$$

6. Densitometri

Deteksi kromatogram merupakan tahap akhir yang penting dalam kromatografi. Teknik *in situ* merupakan cara deteksi yang umum digunakan mengidentifikasi dan mengkuantitasi kromatogram. Deteksi *in situ* dapat dilakukan dengan pengukuran densitometri. Densitometri merupakan metode yang sering digunakan pada KLT (23).

Pengukuran densitometri dapat dilakukan berdasarkan sifat absorpsifitas atau fluoresensi dari zat yang akan dianalisis (analit). Jika zat dalam bercak dapat mengabsorpsi spektrum UV atau dapat berfluoresensi, analisis dapat langsung dilakukan pada panjang gelombang yang sesuai. Zat yang tidak dapat mengabsorpsi sinar UV dapat dideteksi berdasarkan fluoresensi dari indikator fluoresens pada lempeng. Bila analit semakin dekat dengan panjang gelombang maksimum dari indikator fluoresens (254nm), maka sensitifitas pengukuran semakin tinggi. Sedangkan bila analit dapat berfluoresensi, mula-mula analit akan tereksitasi oleh sinar UV gelombang panjang, kemudian sinar emisi yang dipancarkan ketika zat kembali ke keadaan *steady state* dideteksi (24).

Metode pengukuran berdasarkan proses pemantulan dari fotometri resapan (*reflection-absorption photometry*), pemantulan dari fluorometri (*reflection-fluorometry*), dan transmisi dari fotometri resapan (*transmission-absorption photometry*). Batas panjang gelombang yang lazim digunakan antara 200-700 nm (24).

KLT densitometer merupakan suatu scanner kromatogram lapis tipis dengan suatu perangkat optik dan dilengkapi oleh sumber cahaya dan detektor seperti halnya spektrofotometer. Berdasarkan sistem optiknya, dikenal beberapa konfigurasi, yaitu: spektrodensitometer sistem sinar tunggal dengan panjang gelombang tunggal (*single beam*), sistem sinar tunggal dengan panjang gelombang ganda (*dual beam*), dan sistem sinar ganda (*double beam*) (25).

Pada model transmisi, lempeng kromatografi dilewati seberkas cahaya dan energi yang ditransmisikan kemudian diukur. Sedangkan pada model refleksi, cahaya disorotkan pada lempeng kromatografi dan berkas cahaya yang dipantulkan kemudian diukur. Metode refleksi terutama efektif jika analit berfluoresensi dan fluoresensi itu dapat diukur. Pada kedua cara tersebut energi yang ditransmisikan atau dipantulkan, dideteksi lalu dikonversi dalam bentuk puncak-puncak (26).

D. VALIDASI METODE ANALISIS (5)

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya.

Parameter tersebut adalah kecermatan (*accuracy*), keseksamaan (*precision*), selektivitas (*specificity*), linieritas (*linearity*), rentang (*range*), batas kuantitasi (*LOQ*) dan batas deteksi (*LOD*).

1. Kecermatan (*accuracy*)

Kecermatan adalah kedekatan hasil penetapan yang diperoleh dengan hasil sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai hasil perolehan kembali dari analit yang ditambahkan. Syarat akurasi yang baik adalah 98 – 102 %, sedangkan untuk sampel hayati (biologis / nabati) adalah ± 10 %.

Pertama, ketepatan dapat ditentukan dengan menganalisis sampel yang telah diketahui konsentrasinya, lalu membandingkan antara hasil estimasi dengan nilai yang sebenarnya. Pendekatan kedua adalah dengan membandingkan antara hasil tes yang diperoleh dari metode yang baru dengan hasil tes dari metode yang dianggap akurat. Pendekatan ketiga dan keempat didasarkan pada persentase perolehan kembali campuran analit kedalam matrix kosong atau produk. Teknik terakhir dikenal dengan metode adisi (28).

2. Keseksamaan (*precision*)

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien relatif). Keseksamaan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. Ketertiruan adalah keseksamaan metode jika dikerjakan pada kondisi yang berbeda. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variasi $\leq 2\%$.

3. Selektivitas (*specificity*)

Selektivitas atau spesifisitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel.

4. Linearitas (*linearity*) dan Rentang (*range*)

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematika yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam

sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan dan linearitas yang dapat diterima. Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit.

5. Batas Kuantitasi (LOQ) dan Batas Deteksi (LOD).

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon yang signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama.

BAB III

ALAT, BAHAN DAN CARA KERJA

A. LOKASI

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis Kuantitatif, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

B. ALAT

Bejana KLT (CAMAG), mikrokapiler 5 μ L, Lempeng Silika gel F₂₅₄ (Merck), detektor (CAMAG *TLC Scanner III*), komputer dilengkapi dengan program Wincats, Spektrofotometer uv-vis (UV 1601 Shimadzu), kuvet, ultrasonifikasi Bronson, neraca analitik dan alat-alat gelas.

C. BAHAN

- Bahan : Standar Aspartam (Badan Pengawasan Obat dan Makanan), butanol (Mallinckrodt), Asam Asetat Glasial (J.T.Baker), aquadest (Brataco).
- Bahan pelarut : Asam asetat 30%, metanol (Merck), sepuluh sampel (daerah Jakarta Selatan dan Depok).

D. CARA KERJA

1. Penyiapan Sampel

Proses sampling minuman ringan yang dijadikan sampel dalam penelitian ini dilakukan berdasarkan merek yang beredar di pasaran (daerah Jakarta Selatan dan Depok) dan informasi kandungan bahan-bahan yang tertulis pada sampel tersebut.

2. Penetapan Panjang Gelombang maksimum dengan menggunakan Spektrofotometer uv

Larutan standar Aspartam dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut metanol. Lalu dibuat kurva serapan dengan mengukur serapan larutan standar pada panjang gelombang 200-400 nm. Dari kurva serapan dapat ditentukan panjang gelombang maksimum yang memberikan serapan maksimum.

3. Pemilihan Fase Gerak

Larutan standar Aspartam dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut metanol ditotolkan pada lempeng KLT yang telah diaktifkan dengan pemanasan 110°C selama 30 menit. Volume penotolan sebanyak 5 μL dengan titik totolan 1 cm dari tepi bawah, jarak penotolan 1 cm dan dikembangkan sepanjang 9 cm. Kemudian lempeng dielusi dengan menggunakan fase gerak sebagai berikut (29,30,31) :

a. Butanol : Asam asetat glasial : air (4:1:1)

- b. Butanol : etanol : amoniak : air (10:1:0,2:2)
- c. Aseton : toluena : Asam asetat glasial (2:2:1)
- d. Etil asetat : metanol : asam formiat : air (15:3:1:0,1)
- e. Etanol : isopropanol 12,5% : amoniak (1:4:0,1)
- f. Propanol : Asam asetat glasial (4:1)
- g. Propanol : asam asetat glasial : asam formiat : air (15:2:3:1)

Setelah pengembangan selesai, lempeng dikeringkan dan dianalisis dengan menggunakan *TLC scanner*.

4. Pemilihan Panjang Gelombang maksimum menggunakan *TLC scanner*

Larutan standar Aspartam dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut metanol ditotolkan pada lempeng KLT yang telah diaktifkan dengan pemanasan 110°C selama 30 menit. Volume penotolan sebanyak 5 μL dengan titik totolan 1 cm dari tepi bawah, jarak penotolan 1 cm dan dikembangkan sepanjang 9 cm dengan fase gerak terpilih.

Setelah pengembangan selesai, bercak pada lempeng dikeringkan dan dianalisis dengan menggunakan *TLC scanner*. Lalu dibuat kurva serapannya pada panjang gelombang 200-400nm. Dari kurva serapan dapat ditentukan panjang gelombang maksimum yang memberikan serapan maksimum.

5. Pembuatan Kurva Kalibrasi Aspartam

Larutan standar Aspartam dibuat dengan 500, 1000, 2000, 3000, 4000 dan 5000 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut metanol. Masing-masing konsentrasi ditotolkan pada lempeng KLT yang telah diaktifkan dengan pemanasan 110°C selama 30 menit. Volume penotolan sebanyak 5 μL dengan titik totolan 1 cm dari tepi bawah, jarak penotolan 1 cm dan dikembangkan sepanjang 9 cm pada kondisi analisis terpilih.

Setelah pengembangan selesai, lempeng dikeringkan dan dianalisis dengan menggunakan *TLC scanner* pada panjang gelombang maksimum. Diperoleh luas puncak (area), lalu dibuat kurva kalibrasi perbandingan antara luas puncak (area) dengan berat bercak sehingga didapat persamaan garis linier $y = a + bx$.

6. Penentuan Limit Deteksi dan Limit Kuantitas

Batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ) dari Aspartam dapat dihitung dengan perhitungan statistik melalui persamaan garis regresi linier dari kurva kalibrasi yang diperoleh.

7. Uji keterulangan

Larutan standar aspartam dibuat dengan konsentrasi 500, 2000 dan 5000 $\mu\text{g/ml}$ dalam pelarut metanol. Masing-masing konsentrasi sejumlah masing-masing enam titik totolan ditotolkan pada lempeng KLT yang telah diaktifkan dengan pemanasan 110°C selama 30 menit. Volume penotolan sebanyak 5 μL dengan titik totolan 1 cm dari tepi

bawah, jarak penotolan 1 cm dan dikembangkan sepanjang 9 cm pada kondisi analisis terpilih.

Setelah pengembangan selesai, lempeng dikeringkan dan dianalisis dengan menggunakan *TLC scanner* pada panjang gelombang maksimum. Kemudian dicatat luas puncak yang diperoleh untuk menghitung koefisien variasinya. Parameter keterulangan ditentukan dengan menghitung simpangan baku dan koefisien variasinya.

8. Uji Perolehan Kembali (UPK)

Pada penelitian ini, dilakukan UPK dengan menggunakan metode adisi, dimana dilakukan pemeriksaan terhadap Aspartam dalam sampel yang tidak ditambahkan standar Aspartam dan sampel yang ditambahkan standar Aspartam dengan konsentrasi rendah, sedang dan tinggi. Masing-masing konsentrasi ditambahkan sampel minuman ringan sebanyak 5,0 g, lalu digerus hingga homogen.

Pada konsentrasi rendah, ditimbang sampel sebanyak 5,0397 g, kemudian ditambahkan standar Aspartam dengan kadar 3000 µg/g. Kemudian, sampel dilarutkan dengan 20,0 ml asam asetat 30% dalam metanol dengan menggunakan pengadukan stirrer (4 rpm, 15 menit), lalu didiamkan hingga terjadi pemisahan. Ambil filtrat 10,0 ml lalu dipekatkan hingga mengental. Lalu diencerkan dengan 2 ml metanol

dan dimasukkan dalam labu ukur 5,0 ml kemudian cukupkan volume hingga tanda batas.

Prosedur yang sama juga dilakukan terhadap dua kadar yang berbeda untuk konsentrasi sedang dan tinggi. Kadar standar Aspartam dengan konsentrasi sedang dan tinggi berturut-turut adalah 3749,99 dan 4631,65 µg/g.

Masing-masing konsentrasi ditotolkan pada lempeng KLT yang telah diaktifkan dengan pemanasan 110⁰C selama 30 menit. Volume penotolan sebanyak 5 µL dengan titik totolan 1 cm dari tepi bawah, jarak penotolan 1 cm dan dikembangkan sepanjang 9 cm pada kondisi analisis terpilih. Setelah pengembangan selesai, lempeng dikeringkan dan dianalisis dengan menggunakan *TLC scanner* pada panjang gelombang maksimum. Catat luas puncak (area) yang diperoleh dan hitung persentase UPK.

9. Identifikasi dan Penetapan Kadar Aspartam dalam Sampel

Pada sampel bentuk padat, sampel digerus dan ditimbang sebanyak 5,0 g, lalu sampel dilarutkan dengan 20,0 ml metanol dengan menggunakan pengadukan stirrer (4 rpm, 15 menit), kemudian didiamkan hingga terjadi pemisahan. Ambil filtrat 10,0 ml lalu dipekatkan hingga mengental. Lalu diencerkan dengan 2 ml

metanol dan dimasukkan dalam labu ukur 5,0 ml kemudian cukupkan volume hingga tanda batas.

Pada sampel bentuk larutan, sampel dipipet sebanyak 50,0 ml, lalu sampel dilarutkan dengan 20,0 ml metanol dengan menggunakan pengadukan stirrer (4 rpm, 15 menit), kemudian filtrat dipipet 10,0 ml lalu dipekatkan hingga mengental. Lalu diencerkan dengan 2 ml metanol dan dimasukkan dalam labu ukur 5,0 ml kemudian cukupkan volume hingga tanda batas.

Masing-masing larutan ditotolkan pada lempeng KLT yang telah diaktifkan dengan pemanasan 110°C selama 30 menit. Volume penotolan sebanyak 5 μL dengan titik totolan 1 cm dari tepi bawah, jarak penotolan 1 cm dan dikembangkan sepanjang 9 cm pada kondisi analisis terpilih. Setelah pengembangan selesai, lempeng dikeringkan dan dianalisis dengan menggunakan *TLC scanner* pada panjang gelombang maksimum. Hitung kadar sampel dari luas puncak (area) dengan menggunakan persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

1. Penetapan Panjang Gelombang maksimum dengan Spektrofotometer UV-Vis

Larutan standar Aspartam dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dalam pelarut metanol memberikan panjang gelombang maksimum pada 258,5 nm dimana memberikan absorpsi maksimum yaitu 0,623. Gambar spektrum serapan dari Aspartam dapat dilihat pada Gambar 1.

2. Pemilihan Fase Gerak

Fase gerak terbaik yaitu butanol-asam asetat-air (4:1:1) diantara tujuh macam fase gerak lainnya. Data mengenai fase gerak dan R_f dapat dilihat pada Tabel 1 dan gambar kromatogram dari masing-masing fase gerak dapat dilihat pada Gambar 2a-2g.

3. Pemilihan Panjang Gelombang maksimum menggunakan *TLC scanner*

Panjang gelombang maksimum yang memberikan serapan maksimum Aspartam adalah 262 nm. Gambar spektrum serapan dari Aspartam dapat dilihat pada gambar 3 .

4. Pembuatan Kurva Kalibrasi Aspartam

Diperoleh persamaan garis regresi kurva kalibrasi yaitu $y = 57,08 + 65,74x$ dimana y adalah luas puncak Aspartam dan x adalah berat Aspartam (μg) dan nilai regresi linier (r) yaitu 0,9982. Data Kurva Kalibrasi Aspartam dapat dilihat pada Tabel 2 dan persamaan garis regresi linier Aspartam pada Gambar 4.

5. Penentuan Limit Deteksi dan Limit Kuantitas

Batas deteksi dan batas kuantitasi Aspartam berturut-turut adalah 1,0882 μg dan 3,6274 μg . Data perhitungan Limit Deteksi dan Limit Kuantitas dapat dilihat pada Tabel 3.

6. Uji keterulangan

Hasil dari keterulangan Aspartam mempunyai nilai koefisien kurang dari 2%. Data uji keterulangan Aspartam dapat dilihat pada Tabel 4.

7. Uji Perolehan Kembali (UPK)

Perolehan kembali rata-rata Aspartam pada tiga konsentrasi yaitu 84.0607%. Data perolehan kembali Aspartam dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 5-7.

8. Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dengan membandingkan nilai R_f dan luas puncak sampel dengan standar Aspartam. Setelah itu, dilakukan perbandingan spektrum serapan sampel dengan standar Aspartam.

Dilakukan penetapan kadar pada sampel yang memiliki nilai Rf dan spektrum serapan yang sama dengan standar Aspartam. Sesuai dengan spektrum serapan, beberapa sampel tidak memberikan spektrum serapan yang sama dengan standar Aspartam. Kemungkinan Aspartam yang terdapat didalam sampel telah terurai. Oleh karena itu, dilakukan identifikasi menggunakan standar Fenilalanin yang merupakan salah satu hasil urai dari Aspartam untuk memastikan bahwa sampel telah terurai. Sampel tersebut memberikan spektrum serapan yang sama dengan fenilalanin. Sampel-sampel tersebut adalah NS, NT, NH, PI, FS, FB. Tabel Identifikasi Rf sampel dan gambar spektrum serapan sampel dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 10-15.

9. Penetapan Kadar Aspartam dalam Sampel

Penetapan kadar sampel diperoleh dengan membandingkan nilai Rf dan area pada bercak dari sampel dengan standar aspartam. Setelah dilakukan identifikasi terhadap sepuluh sampel, terdapat empat sampel yang dapat ditetapkan kadar aspartamnya yaitu sampel JO (3,4382%) , sampel JJ (2,9287%), sampel JM (3,4389%) dan KL (1,7839%). Data kadar sampel dapat dilihat pada Tabel 7.

B. PEMBAHASAN

Penggunaan bahan tambahan makanan salah satunya pemanis buatan dapat mempertahankan kualitas makanan, karakteristik dan juga keamanannya (1). Pemanis buatan yang dapat memberikan tingkat kemanisan hingga ratusan kali gula biasa dan rendah kalori sering digunakan sebagai pemanis diet kalori. Pemanis buatan banyak ditambahkan pada produk-produk, seperti makanan, sereal, minuman ringan, permen. Minuman sangat dibutuhkan oleh masyarakat, sehingga sudah menjadi suatu kebiasaan untuk dikonsumsi.

Pada penelitian ini, metode analisis yang digunakan untuk analisis Aspartam adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri. Metode ini dipilih karena hanya memerlukan jumlah zat yang diperiksa cukup kecil, peralatan sederhana, waktu cukup singkat serta murah. Di samping itu tidak diperlukan ruang besar dan teknik pengerjaannya sederhana (5).

Penelitian ini dimulai dengan mencari serapan maksimum Aspartam dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum pada Aspartam dengan konsentrasi 1000 µg/mL adalah 258,5 nm.

Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum untuk analisis, selanjutnya dilakukan pemilihan fase gerak yang terbaik. Terdapat tujuh macam fase gerak. Setelah dilakukan uji fase gerak, dipilih tiga macam fase gerak. Dari ketiga macam fase gerak akan dipilih fase gerak terbaik.

Ketiga fase gerak tersebut adalah butanol-asam asetat-air (4 : 1 : 1), etil asetat-metanol-asam formiat : air (15:3:1:0,1) dan etanol-isopropanol 12,5%-amoniak (1:4:0,1). Fase gerak tersebut memberikan nilai Rf berturut-turut adalah 0,64 ; 0,43 dan 0,15. Sedangkan luas puncak berturut-turut adalah dan luas puncak 912,4 ; 98,0 dan 245,6. Fase gerak etil asetat : metanol : asam formiat : air memberikan luas puncak yang terlalu kecil, sedangkan etanol : isopropanol 12,5% : amoniak (1:4:0,1) memberikan nilai Rf yang terlalu kecil. Oleh karena itu, dilakukan analisis aspartam dengan fase gerak Butanol-asam asetat-air (4 : 1 : 1) yang memberikan nilai Rf dan area yang baik.

Pengukuran panjang gelombang aspartam pada KLT densitometri dengan menggunakan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada panjang gelombang 200-400 nm. Dihasilkan panjang gelombang maksimum pada 262 nm. Panjang gelombang ini dipilih sebagai panjang gelombang maksimum dimana dapat memberikan serapan maksimum.

Setelah itu dibuat kurva kalibrasi aspartam, dimana konsentrasi dibuat antara 500-5000 µg/ml. Dengan diketahui konsentrasi dan luas Puncak yang diperoleh, maka dapat dihitung persamaan kurva kalibrasi dari aspartam. Diperoleh persamaan garis linier $y = 57,07 + 65,74x$ dengan nilai regresi $r = 0,9982$. Kurva kalibrasi dibuat untuk menghitung kadar pada sampel yang akan dianalisis berdasarkan luas puncak yang dihasilkan pada bercak sampel. Perhitungan kadar pada sampel dapat diperoleh dengan memasukkan y yaitu luas puncak sampel yang

diperoleh, sehingga diperoleh X_i yaitu berat sampel (μg) berdasarkan kurva kalibrasi. Setelah itu, berat sampel (X_i) dibandingkan dengan berat sampel yang ditotolkan (X), maka akan diperoleh kadar dari sampel.

Setelah itu, dilakukan penentuan limit deteksi dan kuantitasi yang dapat dihitung dari persamaan kurva kalibrasi aspartam. Batas deteksi dan kuantitasi ini bertujuan untuk mengetahui jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan blanko dan kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama (5). Batas deteksi aspartam adalah $1,0882 \mu\text{g}$ dan batas kuantitas Aspartam adalah $3,6274 \mu\text{g}$ (Tabel 3).

Dilakukan uji keterulangan terhadap tiga konsentrasi (konsentrasi kecil, sedang dan besar) masing-masing konsentrasi ditotolkan sebanyak enam kali. Uji keterulangan untuk mengetahui penyebaran hasil individu dari sampel. Tiap konsentrasi dilakukan prosedur yang sama secara berulang dan percobaan dilakukan paling sedikit enam replika. Syarat dari seksama jika nilai dari koefisien variasi kurang dari 2% dimana sebaran dari tiap analit rendah. Nilai koefisien variasi dari aspartam dapat dilihat pada Tabel 4. Dalam penelitian ini, perolehan kembali dilakukan menggunakan metode adisi. Perolehan kembali dari aspartam berada pada range 80-110% yaitu 84.0607%. Perolehan kembali dari analit dapat dijadikan faktor koreksi, karena koefisien variasi atau keterulangan dari metode ini memberikan hasil kurang dari 2%.

Identifikasi sampel dilakukan dengan membandingkan nilai Rf, luas puncak dan spektrum serapan dari sampel dengan standar aspartam. Pada Rf yang sama, beberapa sampel tidak memberikan spektrum yang sama dengan standar aspartam. Hal ini dapat terjadi kemungkinan banyak faktor. Jika dilihat dari faktor pengerjaannya, kemungkinan faktor penjuanan bejana sangat mempengaruhi proses elusi. Proses penjuanan bejana membutuhkan waktu 2-3 jam dan harus diperhatikan kondisi pada proses penjuanan seperti penambahan fase gerak yang kuantitatif, temperatur saat penjuanan, posisi bejana sewaktu penjuanan (fase gerak tidak boleh boleh digunjang). Dilihat dari penotolan sampel hingga proses elusi, dimana digunakan mikropipet dan lempeng silika gel F254, harus dipastikan bahwa mikropipet bersih dari pengotor. Hal ini dapat dihindari dengan membilas langsung setelah pemakaian mikropipet dengan metanol dan menyimpannya pada tempat khusus. Penotolan sampel pada lempeng yang telah diaktifkan terlebih dahulu. Proses pengaktifan dapat dilakukan dengan proses pemanasan menggunakan oven pada temperatur 110⁰C selama 1 jam. Hal ini dilakukan karena lempeng masih terdapat kandungan air. Proses pemanasan pun tidak boleh terlalu lama, karena lempeng akan mengalami hidrasi dan akan mempengaruhi proses elusi. Jika dilihat dari alat yang digunakan yaitu *TLC Scanner* yang menggunakan detektor sinar UV, kemungkinan sampel yang memberikan Rf yang sama merupakan campuran dari senyawa lainnya yang dapat dideteksi pada panjang

gelombang yang sama dengan aspartam oleh detektor, sehingga spektrum serapan tidak memberikan hasil yang serupa dengan standar aspartam. Selain itu, jika dilihat dari faktor lainnya, kemungkinan aspartam yang terdapat didalam minuman ringan tersebut telah terurai. Banyak faktor yang dapat menyebabkan keteruraian aspartam yang ada dalam sampel. Dilihat dari rumus kimia, aspartam merupakan suatu dipeptida yang terdiri dari asam aspartat, fenilalanin dan metil ester. Kemungkinan aspartam yang telah terurai telah mengalami hidrolisis menjadi fenilalanin, asam aspartat dan metanol. Dilihat dari rumus struktur aspartam, yang merupakan suatu dipeptida ester, gugus ester yang mudah terhidrolisis dengan adanya air, sehingga dalam larutan kemungkinan aspartam tidak menjadi bentuk utuh. Oleh karena itu, untuk memastikan bahwa sampel telah terurai, dilakukan identifikasi dengan membandingkan spektrum serapan sampel dengan standar fenilalanin.

Untuk sampel yang dapat ditetapkan kadarnya, dihitung dengan membandingkan nilai Rf dan luas puncak yang dihasilkan antara bercak dari sampel dengan standar aspartam. Dari sepuluh sampel, terdapat empat macam sampel yang dapat ditentukan kadarnya, yaitu sampel JO, JM, JJ, KF. Data penetapan kadar aspartam dalam sampel dapat dilihat pada Tabel 7.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Kondisi Optimum untuk analisis Aspartam dalam minuman ringan secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri dengan menggunakan fase diam yaitu lempeng silica gel F₂₅₄ dan butanol : asam asetat : air (4:1:1) sebagai fase gerak pada λ maksimum 262 nm.
2. Batas Deteksi Aspartam adalah 1,0882 μg dan batas kuantitas adalah 3,6274 μg . Nilai dari Koefesien Variasi kurang dari 2 %, sedangkan nilai perolehan kembali dari Aspartam adalah 84,0607 %.
3. Kadar Aspartam yang terdapat dalam minuman ringan yang dianalisis tidak melebihi dari kadar yang tertulis dari kemasan sampel. Dari sepuluh sampel minuman yang mengandung Aspartam, diperoleh kadar sampel JO (3.4382 mg/gr), JJ (2.9287 mg/gr), JM (3.4389 mg/gr) dan KL (1.7839 mg/ml). Sampel PI, NSH, NST, FB, FS dan NSHC tidak dapat ditentukan kadarnya.

B. SARAN

1. Dilakukan analisis Aspartam pada sampel yang tidak melalui registrasi.
2. Dilakukan analisis pada jenis pemanis buatan dan sampel yang berbeda.
3. Dilakukan analisis hasil keteruraian dari Aspartam.



DAFTAR ACUAN

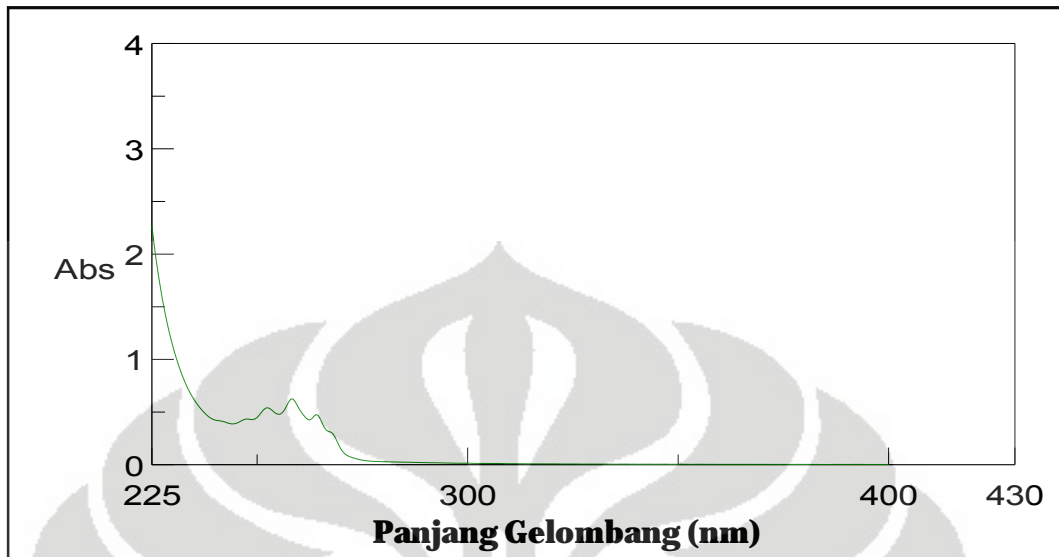
1. Branen, A.L. (Ed.). *Food Additives*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1990.
2. Ahmad H.A, Ali F.A dan Abdulrahman A.A. *Determination of Content Levels of Some Food Additives in Beverages Consumed in Riyadh City*. Department of Chemistry, College of Science, King Saud University, Vol. 18, *Science* (2), pp. 99-109, Riyadh. 2005.
3. Anonim. *Standar Nasional Indonesia*. Departemen Perindustrian, No. 0514177. hal : 3 – 4,39.
4. Anonim. *Peraturan Teknis Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan Dalam Produk Pangan*. Badan Pengawasan Obat dan Makanan. 2004.hal:4,9,33.
5. Harmita. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*.Cetakan pertama. Departemen Farmasi FMIPA. Universitas Indonesia.Jakarta. 2006. hlm. 205, 101, 144-161.
6. *Kajian Terhadap Minuman Ringan*
7. Enie, A.B. *Sosialisasi Bahan Tambahan Pangan Dalam Industri Minuman*. Spesialis Informasi Industri Pangan. Ditjen AgroKimia Deperin. Semarang. 2006.
8. Merie, S. *Sweetener Dalam Food Additives User's Handbook* (Jim Smith. Ed). New York : Glasgow, London. 1991. hal : 47,54-62.
9. Belitz, H.D. *Food Chemistry. Library of Congress Cataloging in Publication Data*. 1986. hal : 328.
10. Anonim. *British Pharmacopoeia*. Tahun 2007
11. Anonim. *Update on the Safety of Aspartame*. the European Commission Scientific Committee on Food (EC-SCF). 2002.
12. www.chemicaland21.com/arokorhi/lifescience/foco/ASPARTAME.htm

13. Mahindru, S.N. *Food Additives*. Hill Publishing Company Limited. New Delhi. 2000. hlm : 71.
14. Joaquim, A.N, Orlando, F.F dan Iolanda, C.V. *Flow injection spectrophotometric determination of aspartame in dietary products*. 1994.
15. HuTAO1, Da-Fu CUI, You-Shang ZHANG. *Synthesis and Characteristics of an Aspartame Analogue, L-Asparaginyl, L-3-Phenyllactic Acid Methyl Ester*. 36(6): 385–389. Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences Acta Biochimica et Biophysica Sinica. 2004.
16. Anonim. *Aspartame Assay Procedure*. Megazyme International Ireland Limited. 2004
17. Anonim. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-4. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995. Hal : 1002.
18. Touchstone, J.C; Dobbins M.F. *Practice of Thin Layer Chromatography*. 2nd edition. New York :John Wiley & Sons, Inc. 1983.
19. Gruenwede, D.W; John, R.W. *Food Analysis, Principles and Techniques Volume 4 Separation Techniques*. USA : Marcel Dekker, Inc. 1987.
20. Touchstone, J.C; Dexter, R. *Thin Layer Chromatography: Quantitative Environmental & Clinical Applications*. New York :John Wiley & Sons, Inc.1976.
21. Katz, E. *Quantitative Analysis Using Chromatographic Techniques*. New York :John Wiley & Sons, Inc.1987.
22. Bettelheim dan Landesberg. *TLC Separation Of Amino Acids*. Lab Chrom 7 Adapted from Laboratory Experiments for Organic and Biochemistry. Gannon University SIM.
23. Sherma, J; Fried, B. *Detection, Identification, and Documentation*. Dalam: Handbook of Thin Layer Chromatography 2nd Edition, Revised and Expanded, Vol 71, Chapter 29. New York: Marcel Dekker, Inc. 1996.

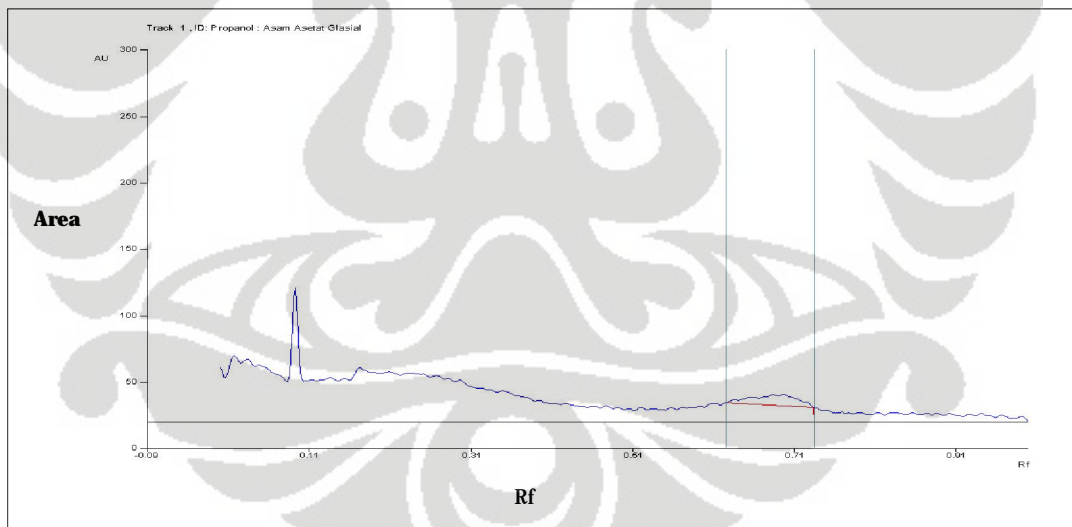
24. Poole, C.F; Khatib, S. *Quantitative Thin Layer Chromatography*. Dalam: Katz E. *Quantitative Analysis Using Chromatography Techniques*, Chapter 6. Norwalk: John Wiley & Sons, Ltd. 1987.
25. Anonim. *The Camag TLC Scanner 3* (<http://www.lenchrom.spb>)
26. Touchstone JC dan Sherma J. *Densitometry in Thin Layer Chromatography Practise and Applications*. New York : John Wiley & Sons, Inc.1979.
27. Indrayanto, Gunawan dan Yuwono, Mochammad. *Validation of TLC Analyses*. Airlangga University, Surabaya, Indonesia. *Encyclopedia of Chromatography*. Diterjemahkan oleh Marcel Dekker, Inc. 2003.
28. Green, J.M. *A practical guide to analytical validation*. *Anal. Chem.* 1996, 68, 305A–309A.
29. Lepri, L; Cincinelli, A. *Encyclopedia of Chromatograph*. DOI: 10.1081/E-Echr 120004570. Diterjemahkan oleh Marcel Dekker. Universitas degli Studi di Firenze, Firenze, Italy. 2002. Hal 57.
30. Irena, B; Mirosława, Z; Krzysztof. [*Journal of Planar Chromatography - Modern TLC. Volume17*](#). Silesian Technical University Department of Analytical and General Chemistry 7 M. Strzody Street 44-100 Gliwice Poland dan University of Bielsko-Biała Plac Fabryczny 43-300 Bielsko-Biała Poland. [February 2004](#).
31. Macherey, Nagel. *Separation of aspartame acesulfam and saccharin*.
Sumber : TLC department. 2008.



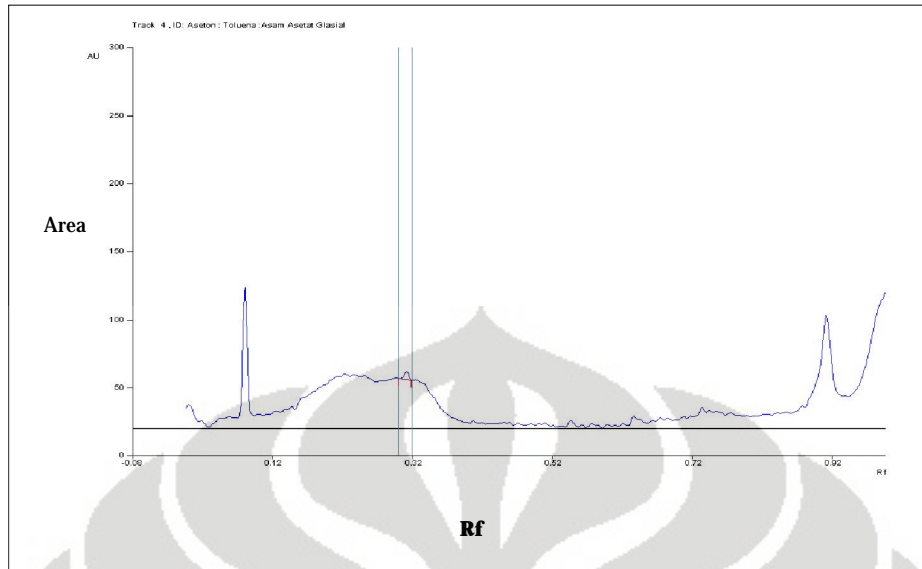
GAMBAR



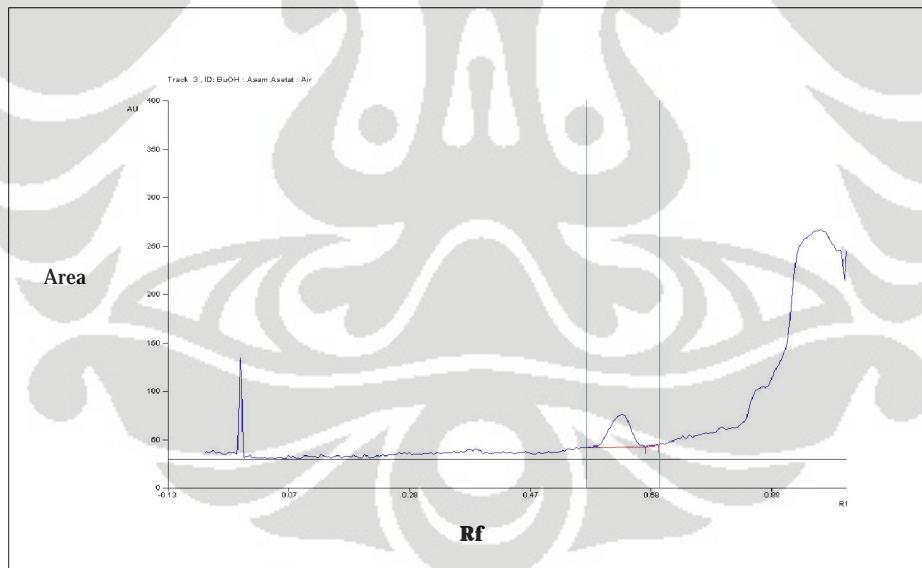
Gambar 1. Kurva serapan aspartam 1000 $\mu\text{g/ml}$ dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 200 – 400 nm



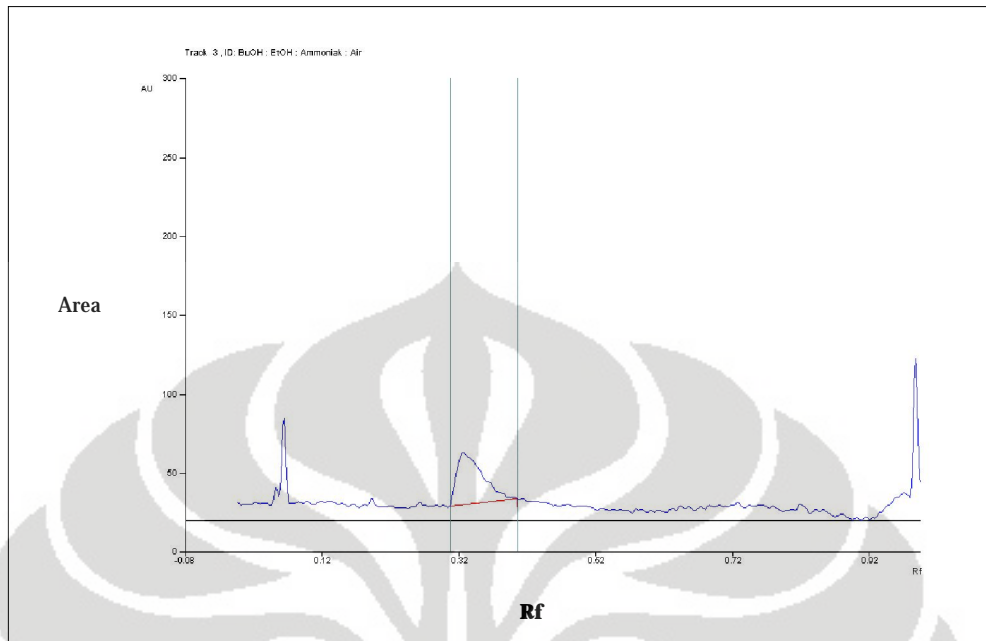
Gambar 2a. Kurva densitas standar aspartam 2000 $\mu\text{g/ml}$ dengan fase gerak propanol-asam asetat glasial (4:1)



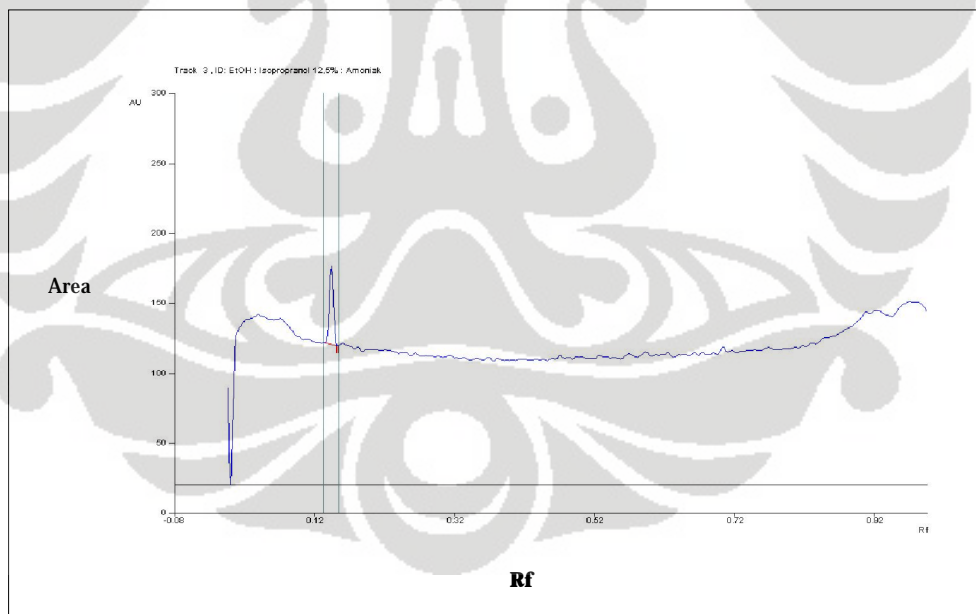
Gambar 2b. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak aseton-toluena-asam asetat glasial (2:2:1)



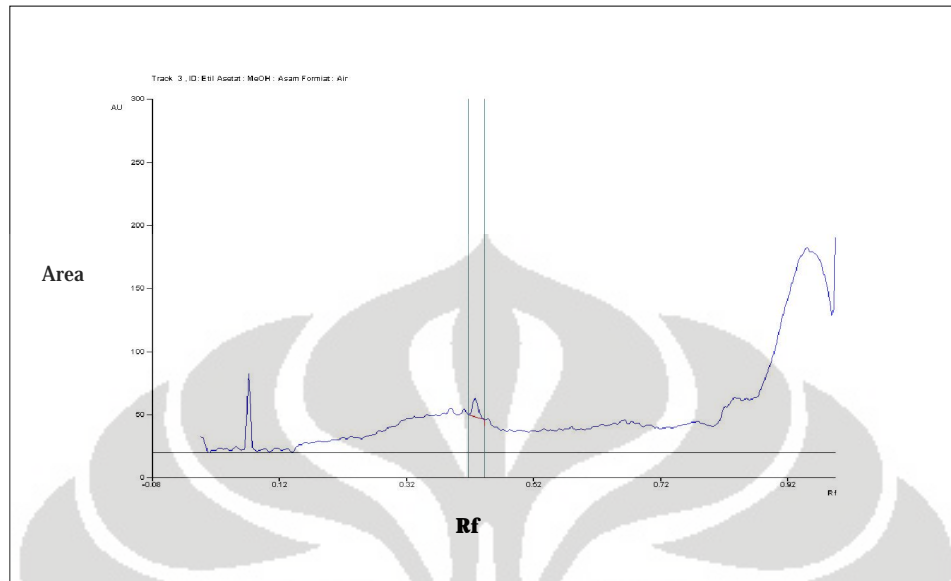
Gambar 2c. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak butanol-asam asetat glasial-air (4:1:1)



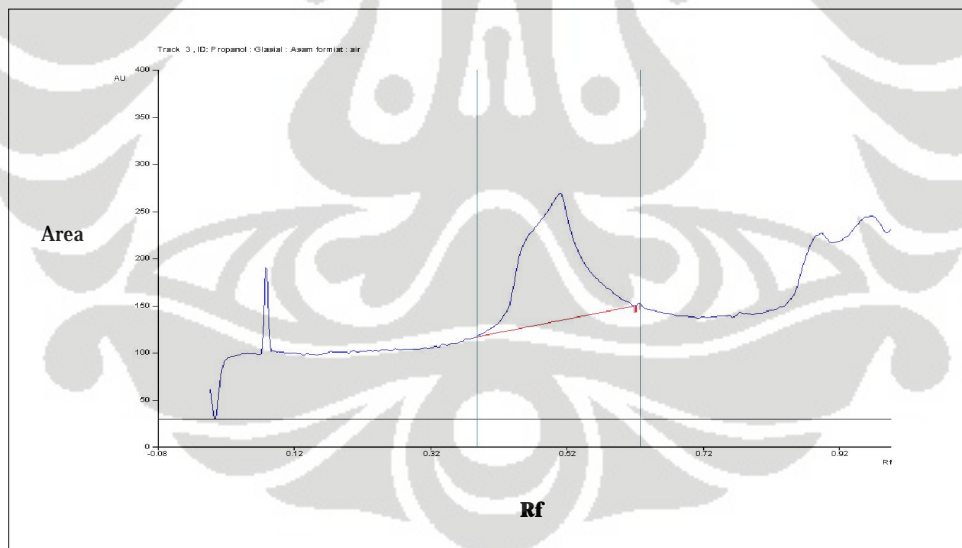
Gambar 2d. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak butanol-etanol-amoniak-air (10:1:0,2:2)



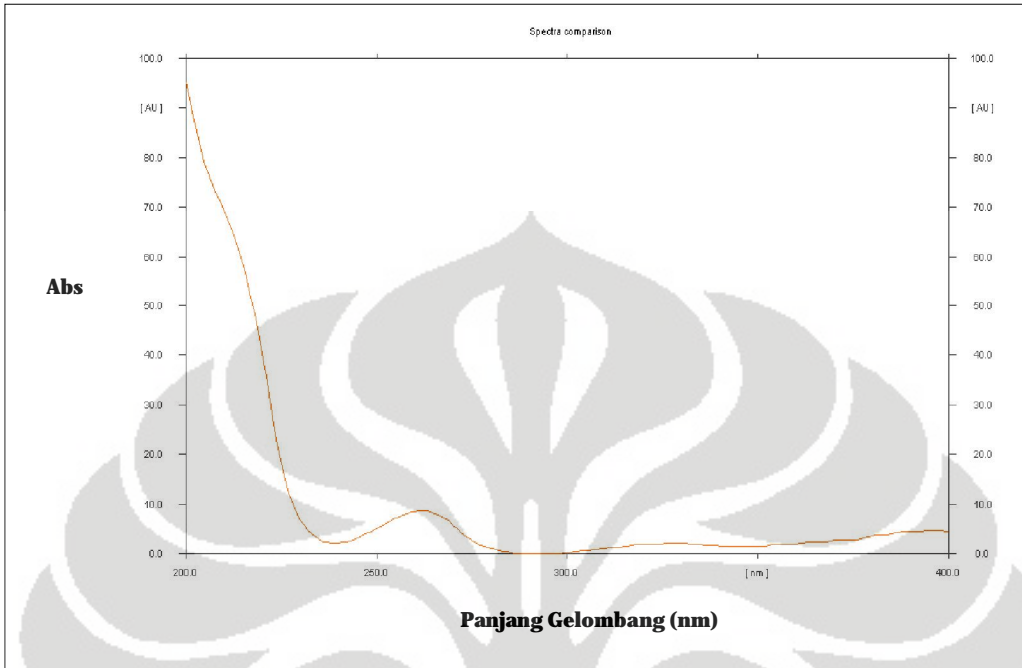
Gambar 2e. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak etanol-isopropanol 12,5%-amoniak (1:4:0,1)



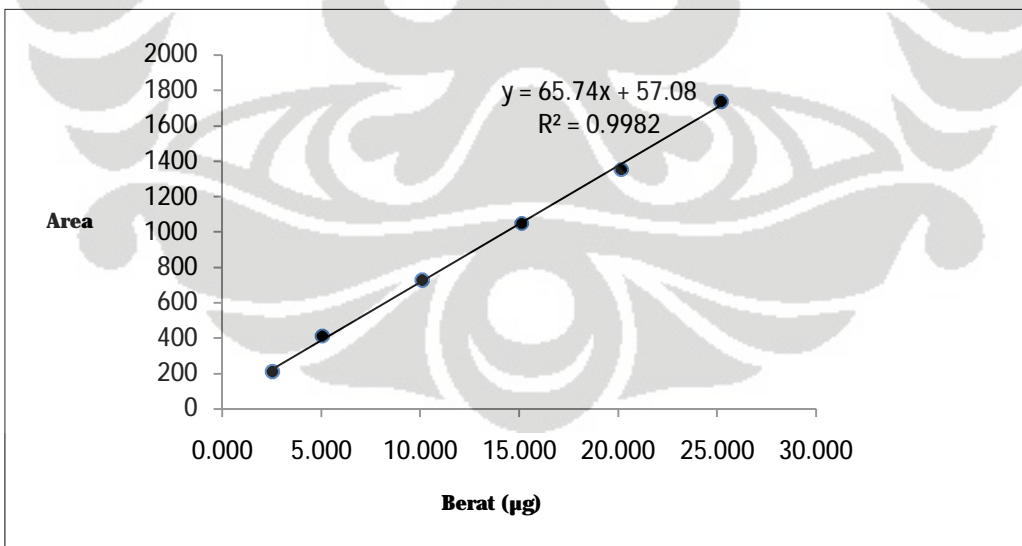
Gambar 2f. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak etil asetat-metanol-asam formiat-air (15:3:1:0,1)



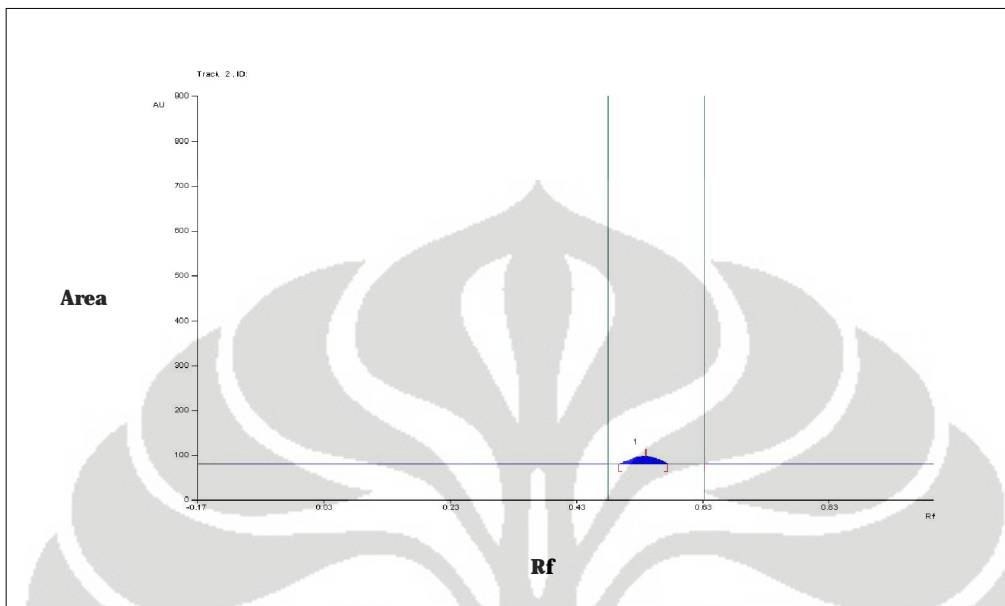
Gambar 2g. Kurva densitas standar aspartam 2000 µg/ml dengan fase gerak propanol-asam asetat glisial-asam formiat-air (15:2:3:1)



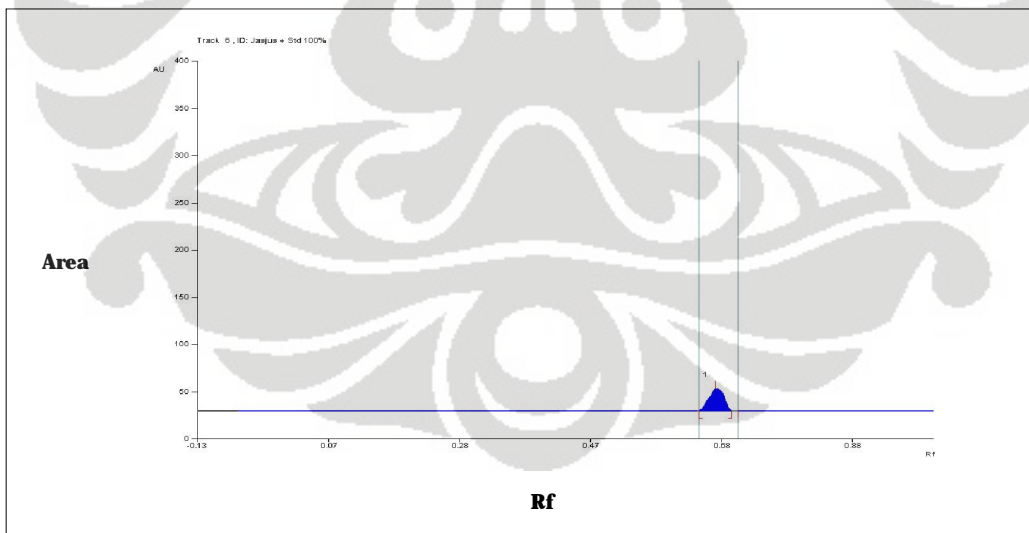
Gambar 3. Kurva serapan bercak aspartam pada panjang gelombang 200-400 nm



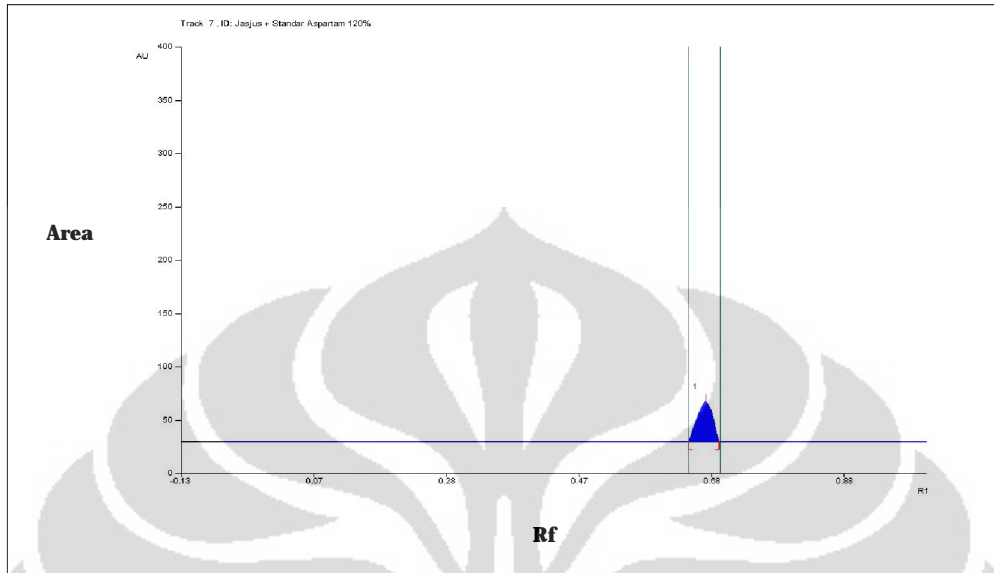
Gambar 4. Kurva kalibrasi aspartam



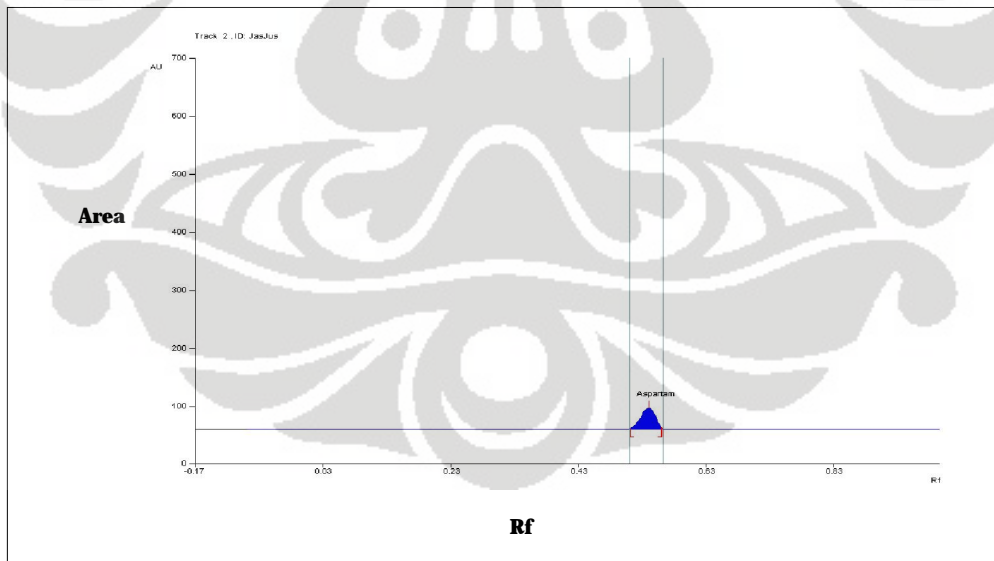
Gambar 5. Kurva densitas perolehan kembali aspartam 80% dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm



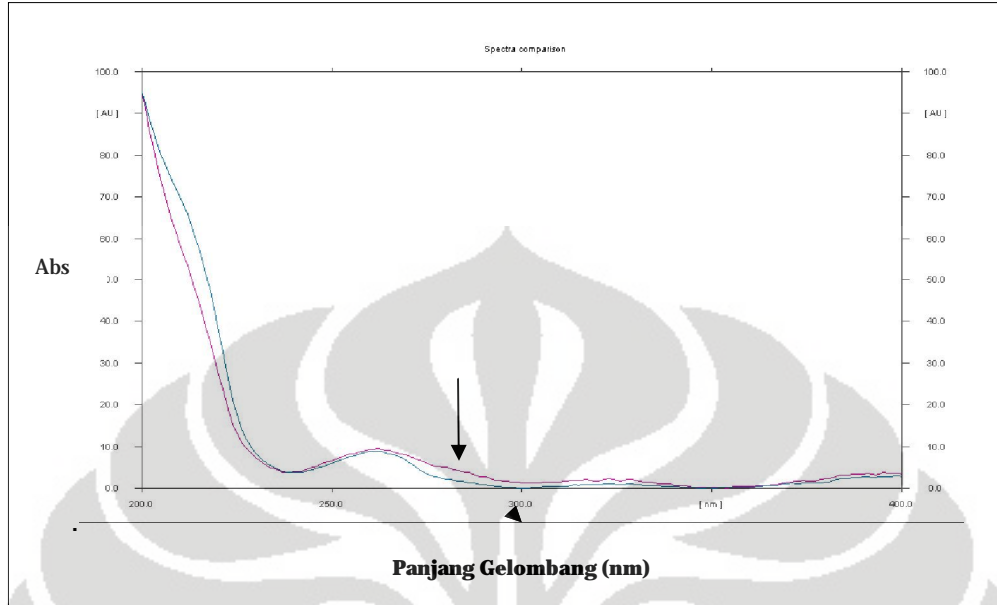
Gambar 6. Kurva densitas perolehan kembali aspartam 100% dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm



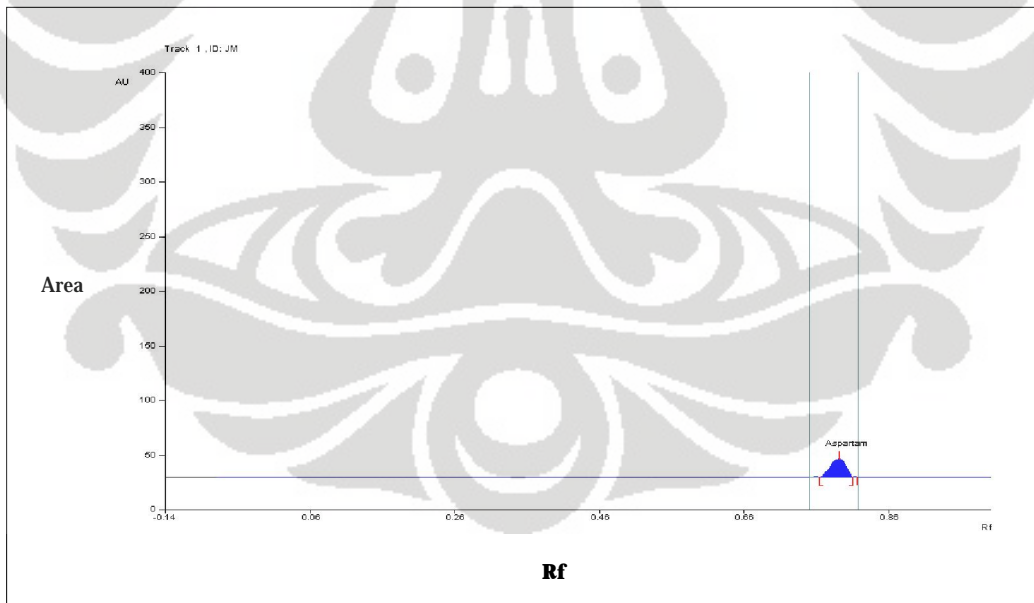
Gambar 7. Kurva densitas perolehan kembali aspartam 120% dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm



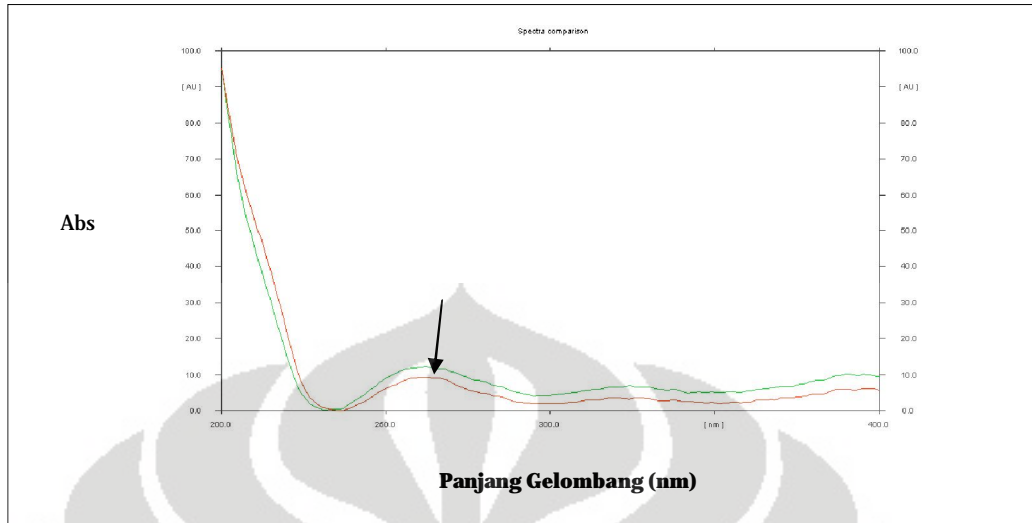
Gambar 8a. Kurva densitas sampel JO dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.



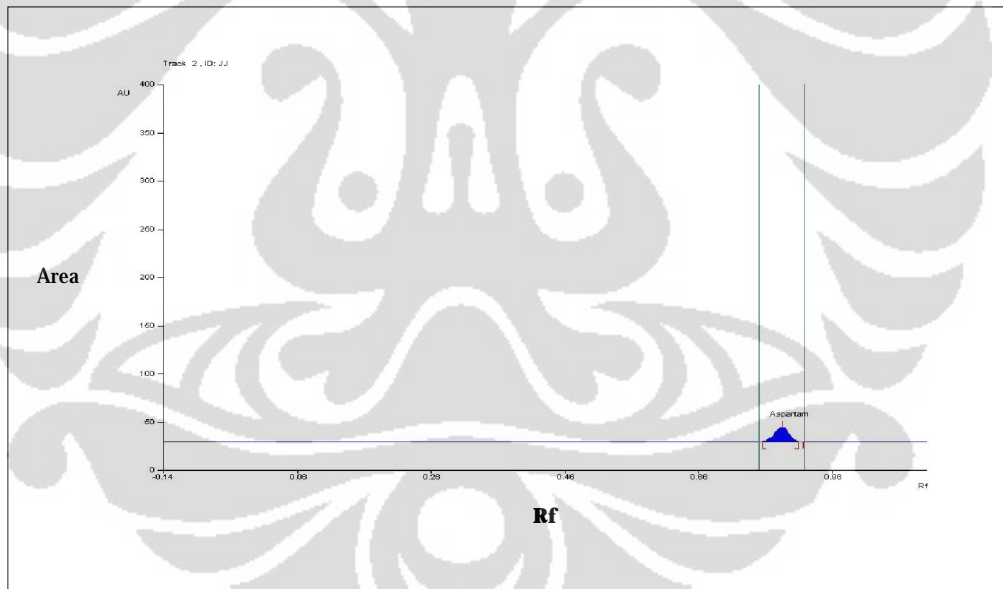
Gambar 8b . Kurva serapan bercak Sampel JO dibandingkan dengan standar aspartam pada λ 200-400 nm



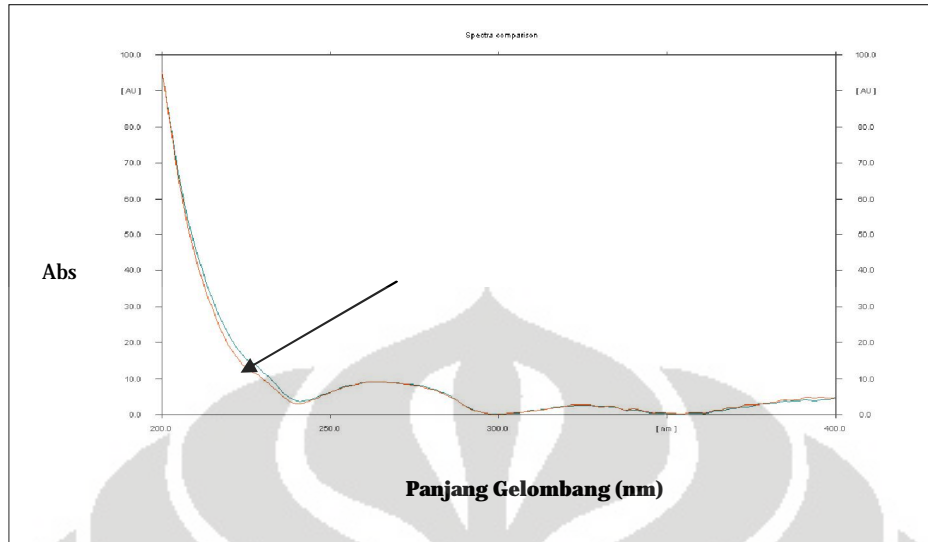
Gambar 9a. Kurva densitas sampel JM dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.



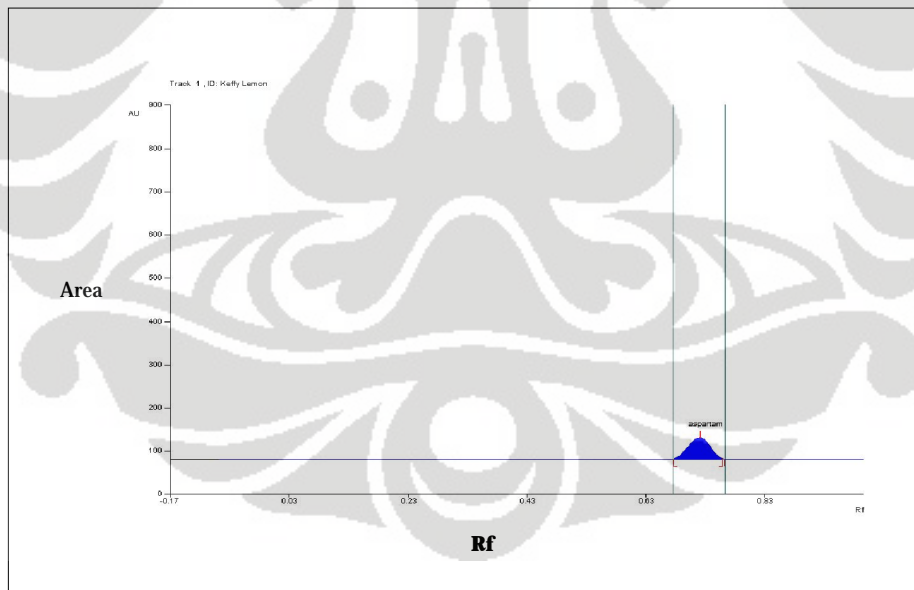
Gambar 9b . Kurva serapan bercak sampel JM dibandingkan dengan standar aspartam pada λ 200-400 nm



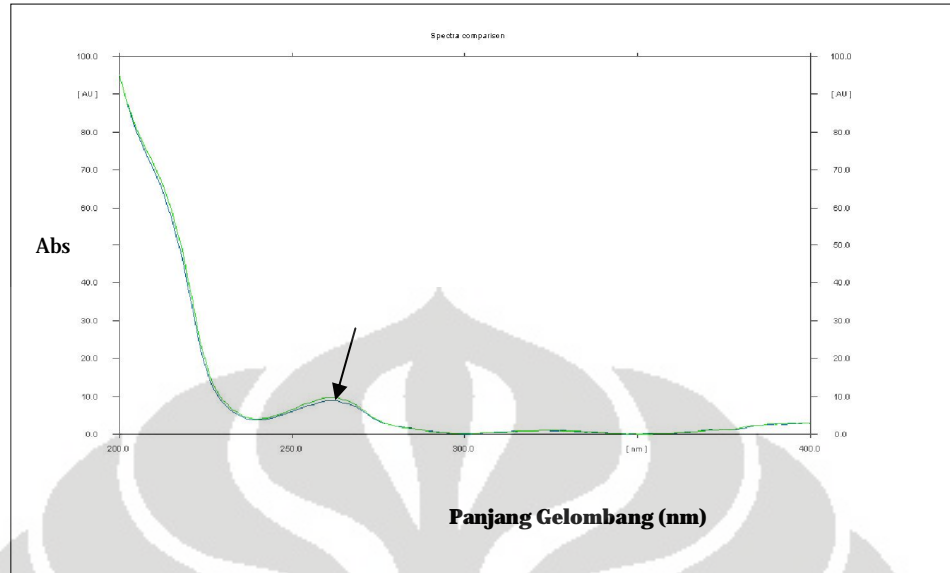
Gambar 10a. Kurva densitas sampel JJ dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.



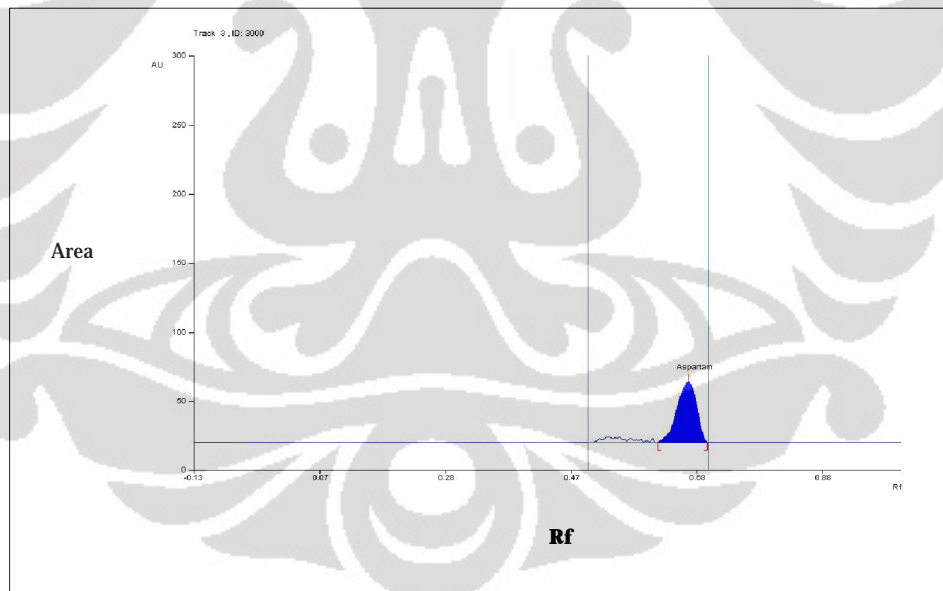
Gambar 10b . Kurva serapan bercak sampel JJ dibandingkan dengan standar aspartam pada λ 200-400 nm



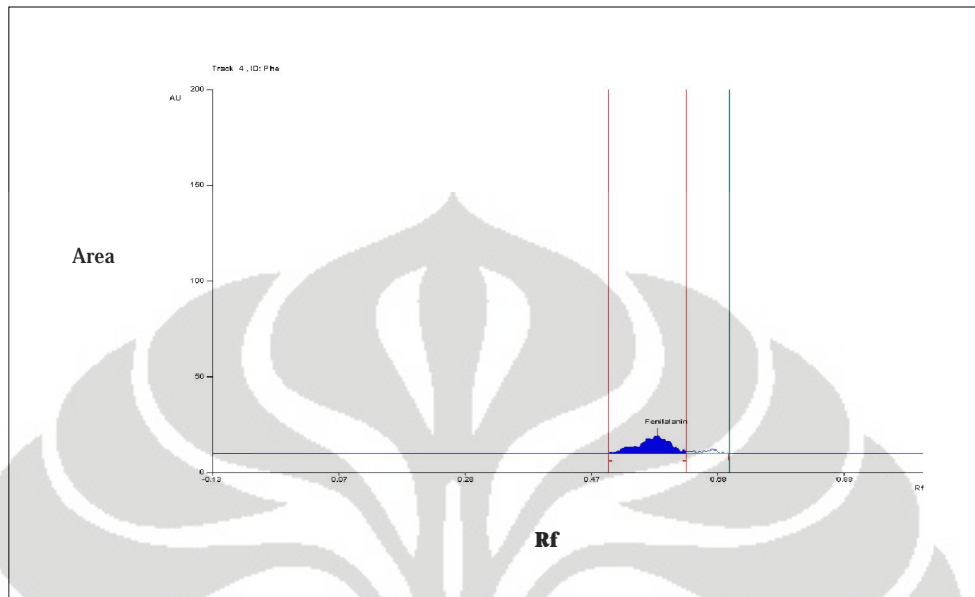
Gambar 11a. Kurva densitas sampel KL dengan fase gerak butanol- asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.



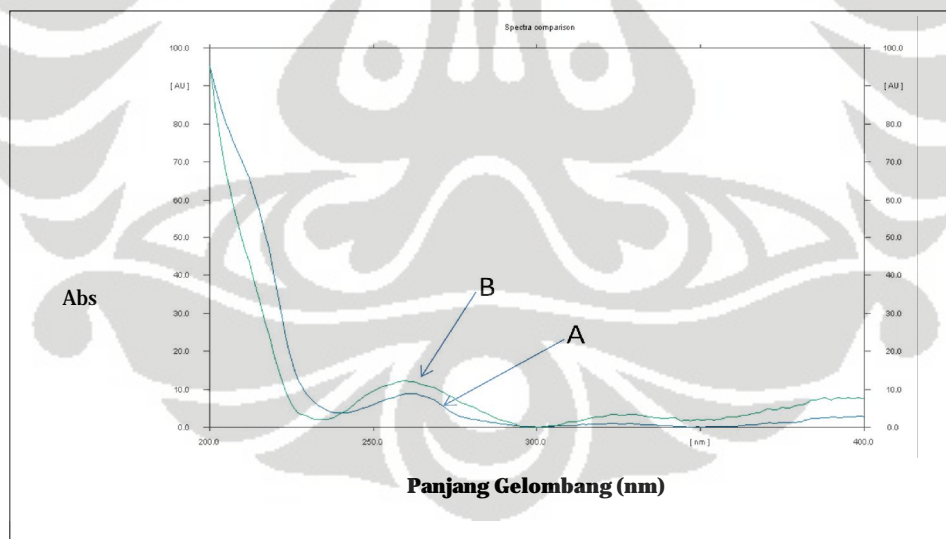
Gambar 11b . Kurva serapan bercak sampel KL dibandingkan dengan standar aspartam pada λ 200-400 nm



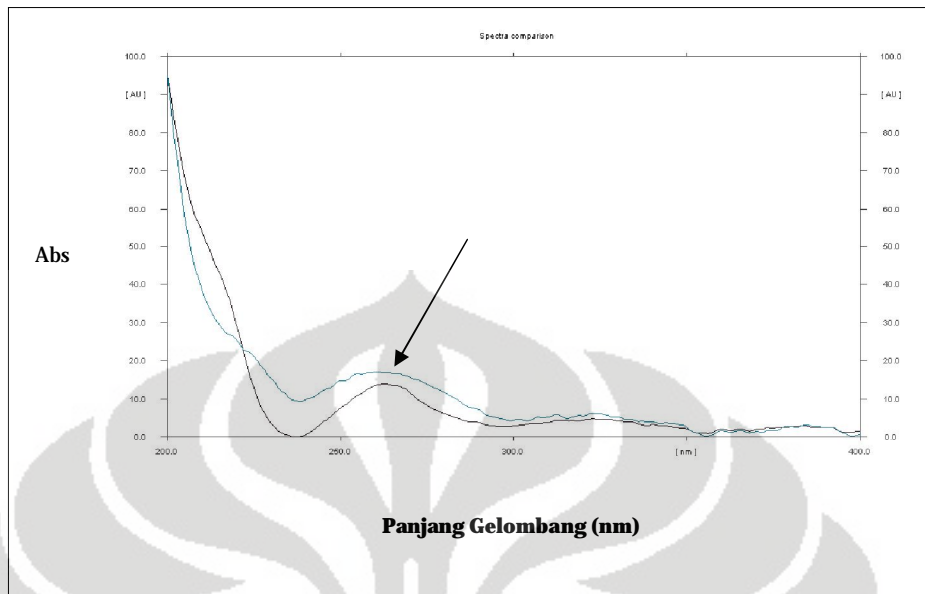
Gambar 12. Kurva densitas standar aspartam dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.



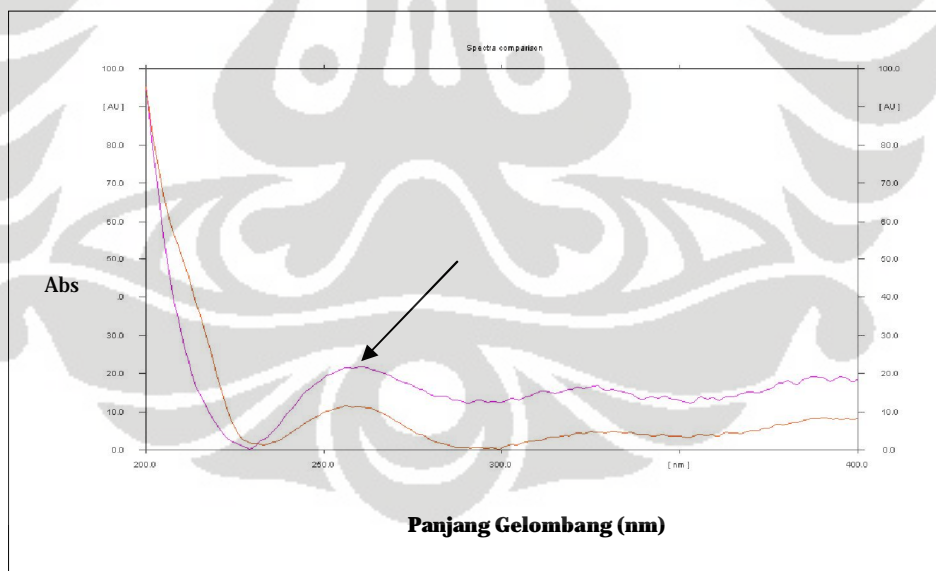
Gambar 13. Kurva densitas standar fenilalanin dengan fase gerak butanol-asam asetat-air (4:1:1) pada λ 262 nm.



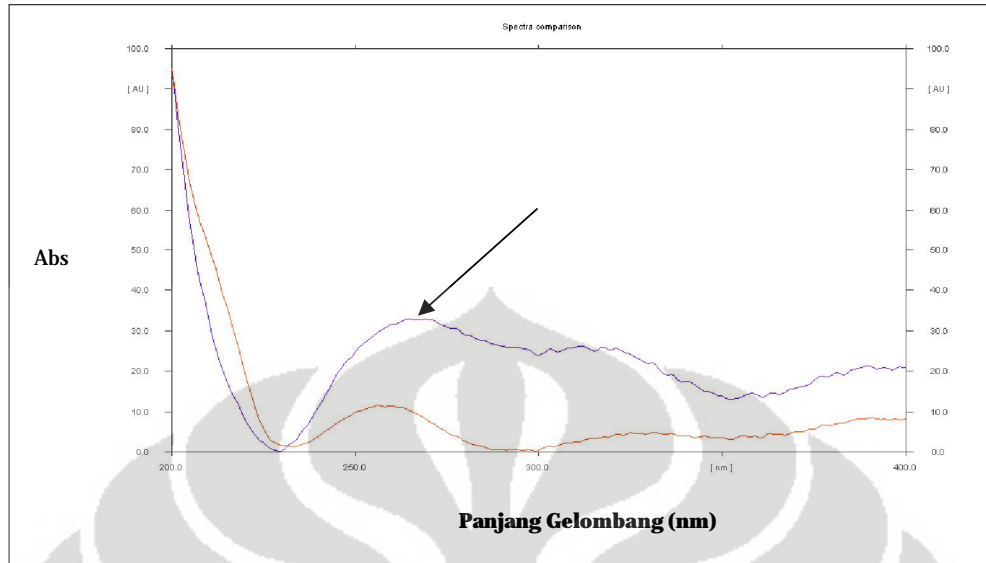
Gambar 40. Kurva serapan bercak standar aspartam (A) dibandingkan dengan standar fenilalanin (B) pada λ 200-400 nm.



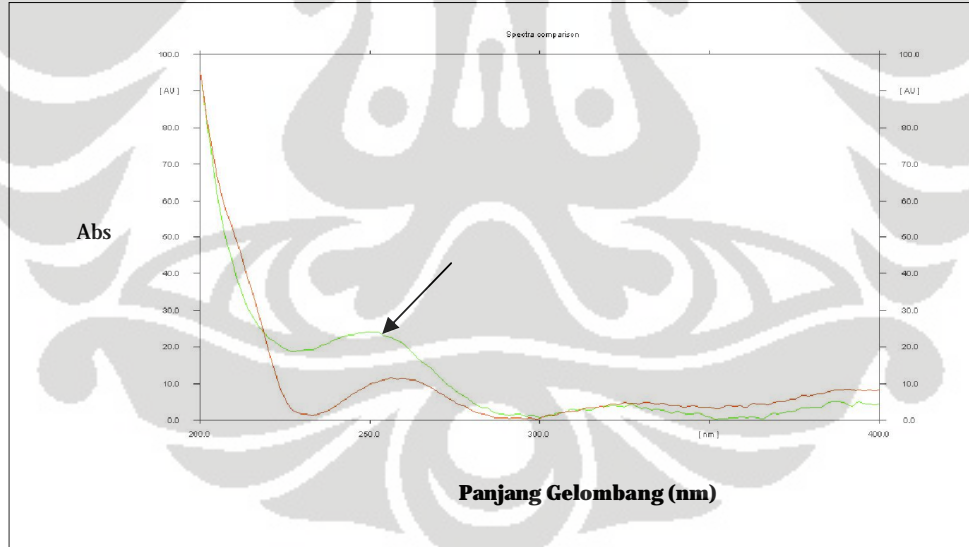
Gambar 15. Kurva serapan bercak sampel FS dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.



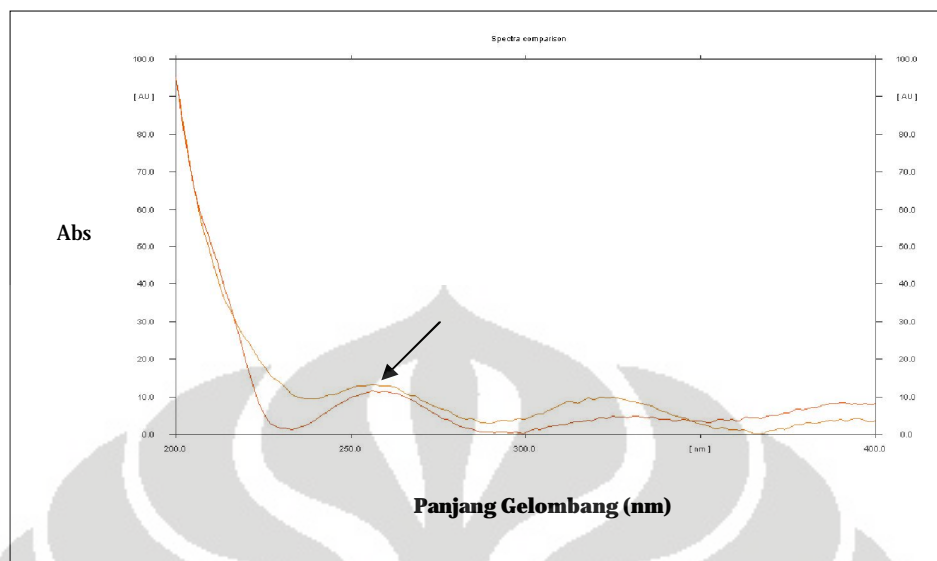
Gambar 16. Kurva serapan bercak sampel PI dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.



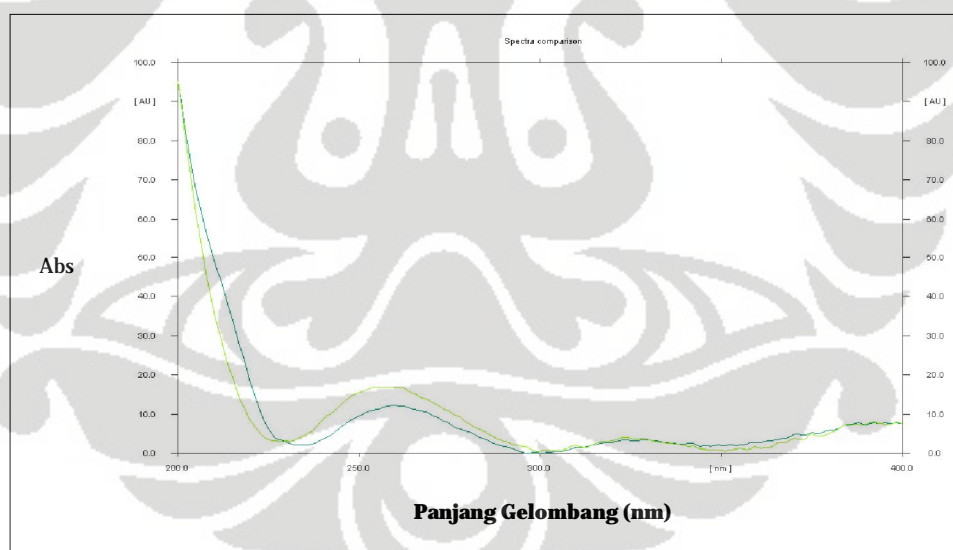
Gambar 17. Kurva serapan bercak sampel NH dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.



Gambar 18. Kurva serapan bercak sampel FB dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.



Gambar 19. Kurva serapan bercak sampel NT dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.



Gambar 20. Kurva serapan bercak sampel NHC dibandingkan dengan standar fenilalanin pada λ 200-400 nm.



TABEL

Tabel 1
Data Rf pada beberapa macam fase gerak

No	Fase gerak	Rf
1	Propanol : Asam asetat glasial (4:1)	0,70
2	Butanol : Asam asetat glasial : air (4:1:1)	0,64
3	Butanol : etanol : amoniak : air (10:1:0,2:2)	0,33
4	Aseton : toluena : Asam asetat glasial (2:2:1)	0,32
5	Etil asetat : metanol : asam formiat : air (15:3:1:0,1)	0,43
6	Etanol : isopropanol 12,5% : amoniak (1:4:0,1)	0,15
7	Propanol : asam asetat glasial : asam formiat : air (15:2:3:1)	0,51



Tabel 2

Kurva Kalibrasi Aspartam

Konsentrasi (ppm)	Berat (μg) [x]	Luas Puncak [y]
504,4	2,522	208.32
1008,8	5,044	409.69
2017,6	10,088	727.92
3026,4	15,132	1047.5
4035,2	20,176	1351.5
5044	25,22	1737.8

Persamaan garis regresi linier :

$$y = 65.74x + 57.07$$

$$r = 0,9982$$

Tabel 3

Perhitungan Limit Deteksi dan Limit Kuantitas Aspartam

Konsentrasi (ppm)	(μg) [x]	[y]	[yi]	(y-yi) ²	LOD (μg)	LOQ (μg)
504,4	2,522	208,32	222.82	210.13	1,0882	3,6274
1008,8	5,044	409,69	388.56	446.41		
2017,6	10,088	727,92	720.05	61.88		
3026,4	15,132	1047,45	1,051.55	16.77		
4035,2	20,176	1351,50	1,383.04	994.56		
5044	25,22	1737,84	1,714.53	543.43		
				$\Sigma=2273,18$		

Keterangan :

X = berat standar Aspartam (μg)

y = Luas Puncak / area yang diperoleh

yi = Luas puncak berdasarkan persamaan kurva kalibrasi.

$S(y/x) = 23,8389$

Tabel 4

Data uji keterulangan Aspartam

[ppm]	(μg) (x)	Area (y)	Xi		(x-Xi) ²	SD (%)	KV (%)
504.4	2.522	208.5	2.304	2.313	7.0037E-05	0.0357	1.546
		210.3	2.332		0.00036176		
		211.5	2.350		0.00138975		
		209.4	2.318		2.8362E-05		
		209.9	2.326		0.00016728		
		204.7	2.247		0.0043811		
2018	10.088	742.3	10.427	10.646	0.048121	0.193	1.818
		778.1	10.972		0.1058658		
		745.1	10.469		0.03124409		
		757.8	10.663		0.00027172		
		757.6	10.660		0.00018066		
		759.4	10.687		0.00166707		
5044	25.22	1652.7	24.279	23.836	0.1969602	0.464	1.947
		1571.2	23.039		0.63410574		
		1607	23.584		0.06328864		
		1650	24.238		0.16218227		
		1631.2	23.952		0.01360874		
		1629.1	23.920		0.00717456		

Tabel 5

Data Uji Perolehan Kembali Aspartam

X	y_o	y	X_i	UPK	UPK
(g)			(μg)	(%)	rata-rata
					(%)
3.779775	295.2	560.52	3.168746196	83.83425458	84.0607
		559.81	3.157942788	83.54843311	
		561.37	3.181679854	84.17643521	
4.70745	295.2	611.72	3.947808886	83.86300197	
		609.31	3.911138162	83.08400858	
		613.2	3.970328667	84.34138795	
5.825	295.2	676.47	4.9330493	84.68754163	
		680.64	4.996500304	85.77682926	
		670.91	4.848447961	83.23515813	

Keterangan :

X = berat Standar Aspartam yang ditambahkan (gram)

X_i = Berat berdasarkan persamaan Kurva kalibrasi (μg)

X_{ii} = berat sampel yang dikonversi (μg)

y_o = Luas Puncak sampel sebelum ditambahkan

y = Luas Puncak / area yang diperoleh

Tabel 6
Data Identifikasi Sampel secara Kualitatif

Nama Sampel	Rf	
	Sampel	Standar Fenilalanin
PI	0,51	0,48
NSH	0,49	0,48
NST	0,50	0,48
FB	0,49	0,48
FS	0,53	0,58

Tabel 7
Data Kadar Sampel

Sampel	X (g)	Y	Xi (μg)	Xii (μg)	kadar (mg/g)	kadar etiket (mg/g)	Deviasi (%)
JO	5.014	295.2	14493.6092	17241.8210	3.43825573	3.75	8.31318
JM	5.001	294.6	14457.0906	17198.3779	3.43891903	3.75	8.29549
JJ	5.019	260.1	12357.2732	14700.4028	2.92871714	3.75	21.9008
KL	50	1289	74980.5234	89197.9867	1.78395973	-	-
NSH	5.008	-	-	-	-	-	-
NSHC	5.035	-	-	-	-	-	-
Deviasi rata-rata						=	12.83652

Keterangan :

X = berat sampel (gram) atau (ml)

Xi = Konsentrasi berdasarkan persamaan Kurva kalibrasi (μg)

Xii = berat sampel yang dikonversi (μg)

y = Luas Puncak / area yang diperoleh



LAMPIRAN

Lampiran 1

Penggunaan Aspartam berdasarkan kategori pangan

ADI: 50 mg/kg berat badan.

Kategori pangan	Batas penggunaan maksimum (mg/kg)
Minuman berbasis susu, beraroma, dan/atau terfermentasi (misalnya: susu coklat, kakao, eggnog, yogurt minuman, minuman berbasis whey)	600
Susu fermentasi dan produk susu hasil hidrolisa enzim renin (tawar)	2000
Krimer minuman (krimer bukan susu)	CPPB
Krim pasteurisasi	CPPB
Krim whipping atau whipped atau krim rendah lemak yang disterilkan, di UHT	CPPB
Krim yang digumpalkan	CPPB
Krim tiruan	1000
Susu bubuk dan krim bubuk (tawar)	CPPB
Susu dan krim bubuk tiruan	2000
Campuran susu dan krim bubuk tawar dan beraroma	CPPB
Keju tanpa pemeraman (keju mentah)	CPPB
Keju tiruan	1000
Makanan penutup atau pencuci mulut berbahan dasar susu (misalnya: es susu, puding, buah atau yogurt beraroma)	3000
Emulsi lemak, termasuk produk mix (campuran kering) dan/atau produk beraroma berbasis emulsi lemak	CPPB
Makanan penutup atau pencuci mulut berbasis lemak, termasuk produk siap santap dan produk mix (campuran kering)	3000
Es, termasuk sherbet dan sorbet	3000
Buah beku	CPPB
Buah kering	3000
Buah dalam cuka, minyak dan larutan garam	300
Buah yang dipasteurisasi dalam kaleng atau buah dalam botol	1000
Jem, jeli dan marmalade	1000
Produk oles berbasis buah-buahan (misalnya: chutney)	2000
Buah bergula	2000
Bahan baku berbasis buah-buahan, meliputi bubur buah, puree,	3000

toping buah dan santan kelapa	
Makanan penutup atau pencuci mulut (dessert) berbasis buah-buahan, termasuk dessert berbasis air beraroma buah	3000
Produk buah fermentasi	2000
Buah buah untuk isi pastry, termasuk produk siap makan dan instan, tetapi tidak termasuk puree	3000
Buah yang dimasak atau digoreng	2000
Sayuran, kacang-kacangan, dan biji-bijian beku	1000
Sayuran, rumput laut, kacang-kacangan dan biji-bijian kering	1000
Sayuran dan rumput laut dalam cuka, minyak, larutan garam atau kecap kedelai adalah produk yang diperoleh dengan menambahkan larutan garam pada sayuran segar	300
Sayuran dalam kaleng, botol atau dalam retort pouch	1000
Puree dan produk oles sayuran, kacang-kacangan, dan biji-bijian	3000
Bahan baku dan bubur (pulp) sayuran, kacang-kacangan dan biji-bijian (misalnya: makanan penutup dan saus sayuran, sayuran bergula)	1000
Produk fermentasi sayuran	2500
Sayuran dan rumput laut yang dimasak atau digoreng	1000
Kakao campuran (bubuk) dan kakao mass/kue	3000
Kakao campuran (sirup)	3000
Produk oles kakao, termasuk bahan pengisi	3000
Kakao dan produk coklat	2500
Coklat imitasi, produk coklat pengganti	3000
Kembang gula termasuk permen keras dan permen lunak, nougats, dan lain-lain.	10000
Permen karet	10000
Dekorasi (misalnya: untuk fine bakery wares), toping (non-buah) dan saus-saus manis	1000
Sereal untuk sarapan, termasuk gandum	5000
Makanan penutup berbasis sereal dan pati (misalnya: puding beras, puding tapioka)	1000
Roti dan produk bakeri	4000
Produk fine bakery (manis, asin, savoury)	5000
Produk olahan dari daging unggas, dan hewan buruan (utuh atau potongan)	300
Produk olahan dari daging unggas dan hewan buruan yang dihancurkan	300
Ikan olahan dan produk ikan, termasuk kerang-kerangan, hewan air berkulit keras dan cumi-cumi	300

Ikan dan produk ikan termasuk kerang-kerangan, hewan air berkulit keras dan cumi-cumi yang mengalami semi-pengawetan	300
Produk telur kering dan/atau telur yang dikoagulasi dengan pemanasan	1000
Makanan penutup berbahan dasar telur (misalnya: custard) 1000 Gula dan sirup lainnya (misalnya: xylose, maple syrup, sugar toppings)	3000
Sediaan pemanis buatan, termasuk yang mengandung pemanis dengan intensitas tinggi	CPPB
Bumbu-bumbuan (termasuk garam pengganti) dan rempah-rempah (misalnya: campuran bumbu untuk mi instan)	2000
Mustards	350
Sup dan kaldu	600
Saus emulsi (misalnya: mayonnaise, salad dressing)	2000
Saus non emulsi (misalnya: kecap, saus keju, saus krim, brown gravy)	2000
Campuran sup dan kaldu	350
Saus encer (misalnya: kecap kedelai, kecap ikan)	350
Salad (misalnya: makaroni salad, salad kentang) dan sandwich spread	1000
Makanan khusus untuk pengobatan	800
Formula khusus untuk penurunan berat badan dan pelangsingan	800
Makanan khusus (misalnya: suplemen makanan untuk tujuan diet)	2000
Suplemen makanan	5500
Jus buah-buahan dan jus sayur-sayuran	2000
Nektar buah-buahan dan nektar sayur-sayuran	2000
Minuman berkarbonasi	600
Minuman non-karbonasi, termasuk punches dan ades	600
Kopi, kopi pengganti, teh, herbal infusions, sereal panas lainnya dan minuman dari biji/buah selain kakao	CPPB
Bir dan minuman dari gandum	600
Cider dan perry	600
Minuman anggur	600
Wines (selain dari anggur)	700
Mead	700
Minuman beralkohol dengan kadar alkohol lebih dari 15%	700
Makanan ringan siap santap	500

CPPB = Cara Produksi Pangan yang Baik

Lampiran 2

Perhitungan Kurva Kalibrasi

Dari kurva kalibrasi didapatkan persamaan :

$y = a + bx$, dimana :

y = Luas puncak / Area

x = berat (μg)

a = intersep

b = slope

r = koefisien korelasi

a dan b dihitung dengan rumus :

$$a = \frac{\sum y - (n \cdot \bar{y})}{-n}$$

$$b = \frac{\sum xy - (n \cdot \bar{x} \cdot \bar{y})}{\sum x^2 - (n \cdot \bar{x}^2)}$$

Koefisien korelasi (r) dihitung dengan rumus :

$$r = \frac{\sum xy - (n \cdot \bar{x} \cdot \bar{y})}{\sqrt{(\sum x^2 - (n \cdot \bar{x}^2))(\sum y^2 - (n \cdot \bar{y}^2))}}$$

Lampiran 3

Perhitungan Batas Deteksi (LOD) dan Batas Kuantitas (LOQ)

Rumus :

$$S_{y/x} = \frac{\sum (y - \bar{y})^2}{n - 2}$$

$$LOD = \frac{3 \cdot S_{y/x}}{b}$$

$$LOQ = \frac{10 \cdot S_{y/x}}{b}$$

Keterangan :

b = slope dari kurva kalibrasi; $y = a + bx$

$S_{y/x}$ = Simpangan baku residual

Y = Luas puncak yang diperoleh

y' = Luas puncak berdasarkan persamaan kurva kalibrasi

n = jumlah data

Lampiran 4

Perhitungan Uji Keterulangan

Perhitungan uji keterulangan dilakukan dengan mencari simpangan baku atau standar deviasi (SD) dan koefisien variasi.

Simpangan baku atau standar deviasi :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (-)^2}{n-1}}$$

Koefisien variasi (RSD atau KV (%))

$$KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \%$$

Keterangan :

x = Berat/ μ L (μ g)

\bar{x} = Berat/ μ L rata-rata (μ g)

n = Jumlah data

Lampiran 5

Perhitungan Uji Perolehan Kembali

Uji perolehan Kembali (UPK) dihitung dengan rumus :

$$\text{UPK} = \frac{x}{x_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

x = Berat (μg) sampel berdasarkan hasil perhitungan menggunakan persamaan kurva kalibrasi

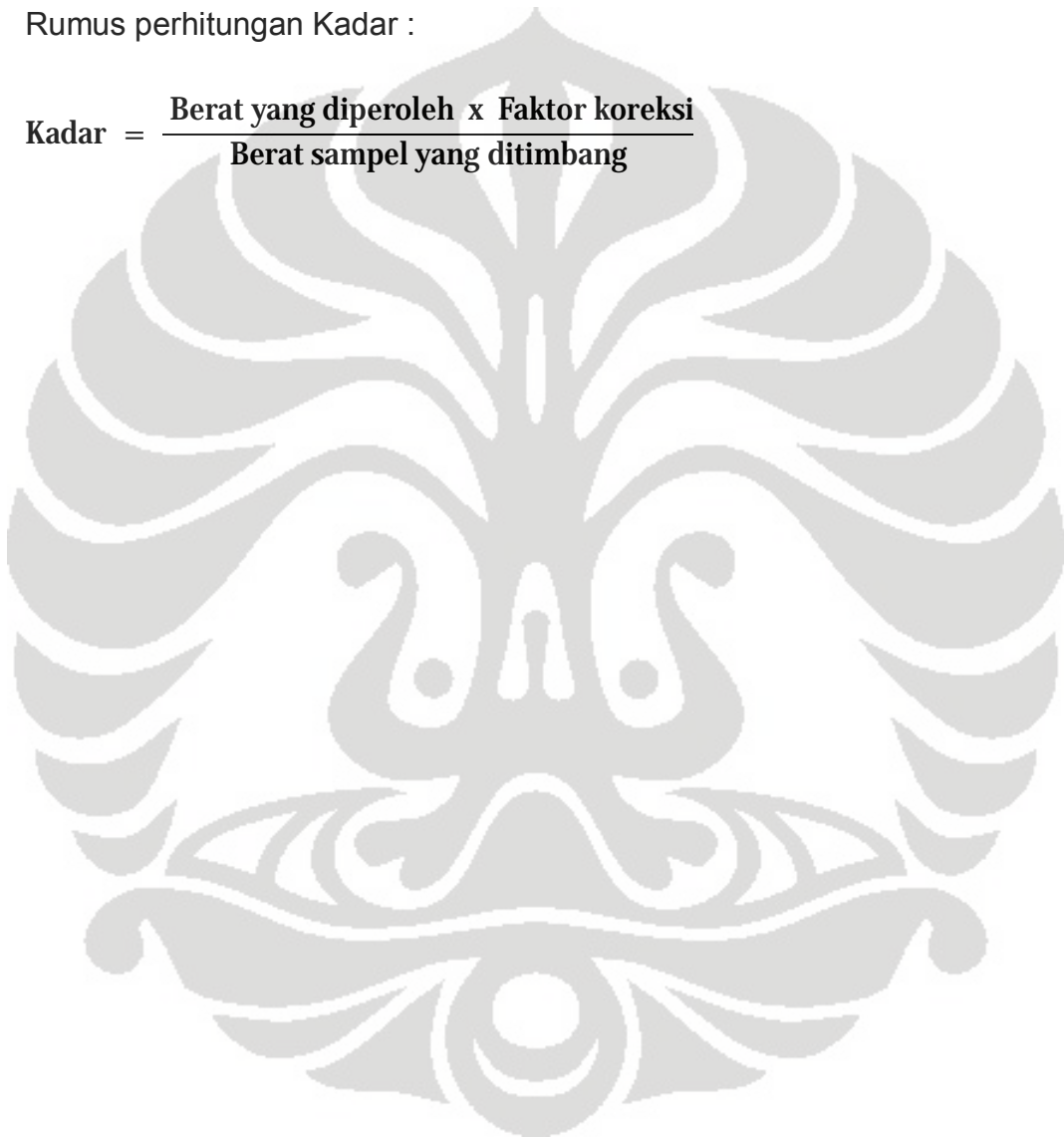
x_0 = berat (μg) standar yang ditambahkan

Lampiran 6

Perhitungan Kadar

Rumus perhitungan Kadar :

$$\text{Kadar} = \frac{\text{Berat yang diperoleh} \times \text{Faktor koreksi}}{\text{Berat sampel yang ditimbang}}$$



Lampiran 6

Sertifikat Analisa Standar Aspartam

BADAN POM RI

SERTIFIKAT PENGUJIAN
No. Sertifikat: PO.05.06.7.7.06.

ASPARTAMUM
No. Kontrol: 105366

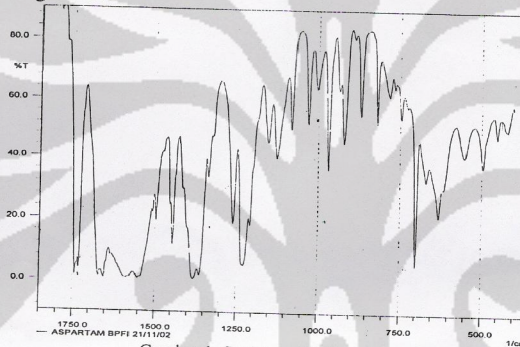
Tujuan penggunaan :

Baku Pembanding *Aspartamum* no. kontrol 105366 dapat digunakan sebagai baku pembanding dalam identifikasi menggunakan spektrofotometer inframerah dan spektrofotometer ultraviolet, serta uji kemurnian secara kromatografi cair kinerja tinggi.

Pemerian : Serbuk putih atau hablur kecil; tidak berwarna.

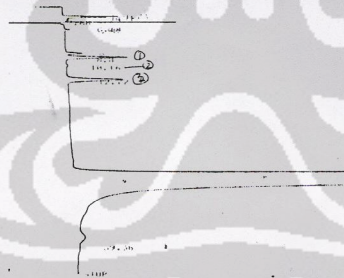
Identifikasi :

Secara spektrofotometri inframerah: Dispersi ± 2 mg zat dalam cakram kalium bromida (± 200 mg) seperti yang tercantum dalam gambar 1.



Gambar 1. Spektrum IR *Aspartamum*

Susut pengeringan : 5,27% (n=2; RSD=2,41%) pada pengeringan dalam hampa udara selama 4 jam.



Gambar 2. Kromatogram Uji kemurnian KCKT *Aspartam*

Kemurnian :

Secara kromatografi cair kinerja tinggi : Kadar cemaran total 1,72%.

Penetapan kadar :

Secara titrimetrik : 98,38% $C_{14}H_{18}N_2O_5$ (n=6; RSD= 0,15%) dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Kesimpulan : *Aspartamum* no. kontrol 105366 dapat digunakan sebagai Baku Pembanding sesuai dengan tujuan penggunaan.

Wadah dan penyimpanan : Dalam wadah tertutup rapat.

Koordinator Laboratorium Bahan Baku Pembanding

Dra. Anny Sulistiyawati
NIP. 140 187 015



BADAN PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN REPUBLIK INDONESIA
Jl. Percetakan Negara No. 23 Jakarta Pusat 10560 Telp. 4245075 Fax : 4201477 4246160