

Analisis Kadar Siklamat dan Aspartam pada Minuman Ringan Menggunakan HPLC dengan Fasa Gerak Metanol-Buffer Phospat

Aulya Rahmah¹, Budhi Oktavia², Desy Kurniawati³

Program Studi Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang

¹au_rayn_90@yahoo.com, ²budhi_okt@yahoo.com, ³desy_kimiaunp22@yahoo.com

Abstrak — Siklamat dan aspartam merupakan pemanis buatan yang digunakan sebagai penegas cita rasa (flavor enhancer) terutama cita rasa buah. Siklamat dan aspartam ini sering di gunakan sebagai zat tambahan dalam bahan makanan dan minuman yang beredar di pasaran, sehingga dapat di konsumsi oleh masyarakat. Kadar yang diperbolehkan untuk mengkonsumsi siklamat dan aspartam masing-masing adalah 11 mg/kg dan 40 mg/kg berat badan. Untuk itu, diperlukan suatu metoda yang efektif dalam menganalisis kadar siklamat dan aspartam pada makanan dan minuman tersebut.

Analisis kadar siklamat dan aspartam pada penelitian ini menggunakan metoda HPLC detektor UV_Vis dengan menggunakan fasa gerak metanol : buffer phospat (20 : 80) dan fasa diamnya menggunakan kolom ODS C18. pH buffer phospat yang digunakan adalah 6,2 pada panjang gelombang 263nm. Dimana waktu retensi untuk siklamat dan aspartam masing-masing adalah 6,67 menit dan 5,20 menit.

Kadar siklamat pada minuman yang beredar di pasaran terdapat pada 4 macam sampel dari 5 macam sampel yang diuji, dimana kadar tertinggi terdapat pada sampel B dengan kadar 794,1 ppm. Sementara aspartam, dari 5 sampel yang di uji tidak satupun yang mengandung aspartam. Sedangkan untuk sampel yang beredar di sekolahan, dari 3 sampel yang di uji, tidak satupun yang mengandung siklamat dan aspartam.

Kata kunci — siklamat, aspartam, metanol, buffer phospat, HPLC

I. PENDAHULUAN

Di dalam kategori produk pangan, pemanis termasuk ke dalam golongan bahan tambahan kimia selain bahan-bahan lainnya seperti antioksidan, pemutih, pengawet, pewarna, dan sebagainya. Pada dasarnya pemanis buatan (artificial sweeteners) merupakan senyawa yang secara substansial memiliki tingkat kemanisan lebih tinggi, yaitu berkisar antara 30 sampai dengan ribuan kali lebih manis dibandingkan sukrosa. (Indrie Ambarsari, 2009)

Pemanis yang sering digunakan dalam tambahan produk pangan adalah siklamat dan aspartam. Siklamat dan aspartam merupakan pemanis sintetis non-kalori yang paling besar jumlahnya dikonsumsi di Indonesia. Menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia, penggunaannya hanya diperbolehkan untuk penderita diabetes ataupun orang yang membutuhkan makanan berkalori rendah (Farida, 1989). Tetapi pada kenyataannya penggunaan siklamat dan aspartam meluas pada berbagai kalangan dan beragam produk (Winarno dan Birowo, 1988).

Penggunaan siklamat dan aspartam perlu diwaspadai karena dalam takaran yang berlebih dapat menimbulkan efek samping yang merugikan kesehatan manusia. Dalam penelitian ini akan dilakukan penentuan siklamat dan aspartam menggunakan metoda kromatografi yang dikenal dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Pemilihan metode HPLC ini disebabkan karena analisa dengan HPLC ini dapat dilakukan dengan cepat, daya pisah

baik, peka, penyiapan sampel mudah, dan dapat dihubungkan dengan detektor yang sesuai (Joachim Weiss, 1995).

Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh pH dan konsentrasi eluen dalam penentuan kadar siklamat dan aspartam menggunakan HPLC. Selain itu juga untuk menentukan kadar siklamat dan aspartam dalam beberapa sampel minuman yang beredar di pasaran.

II. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat: Alat-alat yang digunakan adalah HPLC agilent 1120 compact LC dengan kolom ODS C-18, spektrofotometer UV-VIS, peralatan gelas, oven, kertas pH, kertas saring, neraca analitik, botol reagen, labu ukur, erlenmeyer, botol semprot, batang pengaduk, pipet tetes.

Bahan: Bahan yang digunakan adalah siklamat standar, aspartam standar, metanol, buffer fosfat, natrium fosfat monobasis, natrium fosfat dibasis.

B. Prosedur Kerja

1) Prosedur Secara Umum

Fasa gerak diinjeksikan dengan aliran 1 ml/menit, pada panjang gelombang yang telah ditentukan terlebih dahulu sehingga di dapat base line yang stabil. Setelah itu sampel diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam kolom HPLC sehingga akan diperoleh

kromatogram yang kemudian di print dan diambil sebagai data untuk analisis.

2) *Pembuatan larutan baku siklamat, aspartam dan buffer fosfat*

a) Pembuatan larutan baku siklamat 5000 ppm
Dibuat larutan standar dari bahan baku pembanding siklamat kadar 5000 ppm dengan menimbang 500 mg siklamat. Kemudian dilarutkan dalam gelas kimia dan di masukkan dalam labu ukur 100 ml menggunakan pelarut aquadest.

b) Pembuatan larutan baku aspartam 5000 ppm
Dibuat larutan standar dari bahan baku pembanding aspartam kadar 5000 ppm dengan menimbang 500 mg aspartam. Kemudian dilarutkan dalam gelas kimia dan dimasukkan dalam labu ukur 100 ml menggunakan pelarut aquadest.

c) Pembuatan larutan standar siklamat 250 ppm
Dibuat larutan standar siklamat dari larutan baku siklamat 5000 ppm dengan memipet 0,5ml larutan siklamat 5000 ppm. Kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 ml menggunakan pelarut aquadest.

d) Pembuatan larutan aspartam 500 ppm
Dibuat larutan standar aspartam dari larutan baku 5000 ppm dengan memipet 1ml aspartam. Kemudian dilarutkan dalam labu ukur 10 ml menggunakan pelarut aquadest.

3) *Penetapan panjang gelombang pengukuran*

Masing-masing larutan bahan baku pembanding tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 200-300 nm menggunakan spektrofotometer, lalu dibuat kurva serapannya. Kemudian ditentukan panjang gelombang untuk analisis.

4) *Penentuan kondisi optimum untuk penentuan siklamat dan aspartam secara HPLC*

a) Penentuan pH maksimum pada perbandingan eluen 50:50

Campuran metanol dan buffer fosfat dengan perbandingan 50:50 dengan berbagai kondisi pH buffer yaitu : pH 5.7, pH 6.2, pH 6.7, pH 7.2, pH 7.7. kemudian di pilih kondisi pH yang memberikan hasil pemisahan terbaik.

b) Penentuan kondisi optimum pada pH maksimum
Larutan campuran bahan baku pembanding siklamat dan aspartam disuntikkan sebanyak 20 µl ke dalam kolom menggunakan fasa gerak campuran metanol dan buffer phospat dengan berbagai kondisi yaitu : 10 : 90, 30 : 70, 50 : 50, 70 : 30, 90 : 10 pada pH maksimum.

5) *Penentuan kurva regresi linier dari larutan standar siklamat dan aspartam*

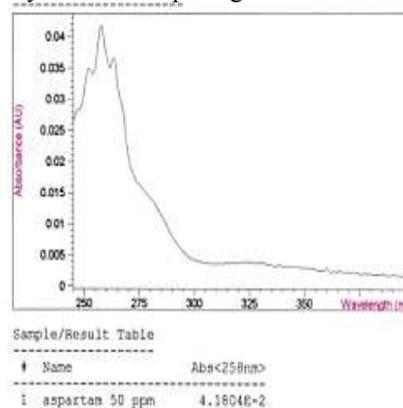
Campuran larutan siklamat dan aspartam dengan variasi konsentrasinya siklamat 250 mg/L, 500 mg/L, 750 mg/L, 1000 mg/L dan 1250 mg/L, serta variasi konsentrasi aspartam 500 mg/L, 1000 mg/L, 1500 mg/L, 2000 mg/L dan 2500 mg/L diinjeksikan sebanyak 20 µL kedalam kolom HPLC menggunakan kondisi optimum analisa yang telah ditentukan sebelumnya. Kurva kalibrasi dibuat berdasarkan konsentrasi (mg/L) dan luas puncak yang dihasilkan

6) *Penentuan kadar siklamat dan aspartam secara HPLC*

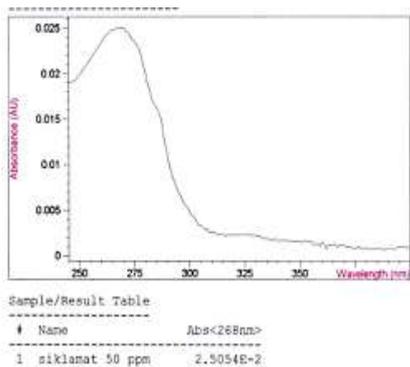
Kondisi terpilih kemudian digunakan pada analisis sampel. Menggunakan kondisi terpilih, 20 µl sampel diinjeksikan kedalam kolom dan dicatat waktu tambat puncak-puncak yang dihasilkan sampel. Jika puncak-puncak tersebut mempunyai waktu tambat yang kurang lebih sama dengan waktu tambat puncak bahan baku pembanding, maka dapat disimpulkan bahwa pada sampel terdapat zat-zat tersebut.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum melakukan penelitian atau penentuan pH maksimum dan konsentrasi optimum untuk pemisahan siklamat dan aspartam menggunakan HPLC, terlebih dahulu dilakukan pengukuran panjang gelombang untuk masing-masing senyawa di atas menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran panjang gelombang ini di lakukan karena HPLC yang digunakan memakai detektor UV-Vis sehingga perlu diketahui terlebih dahulu berapa panjang gelombang masing-masing senyawa tersebut. Pada pengukuran masing-masing senyawa tersebut didapat panjang gelombang maksimum (λ max) untuk siklamat adalah 268 nm dan untuk aspartam 258 nm. Dimana hasil pengukuran untuk masing-masing senyawa terlihat pada gambar di bawah ini.

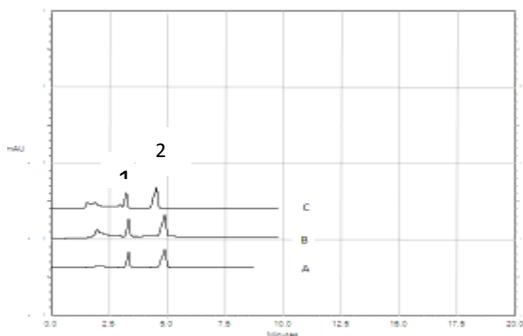


Gambar 1. Spektrogram aspartam 50 ppm



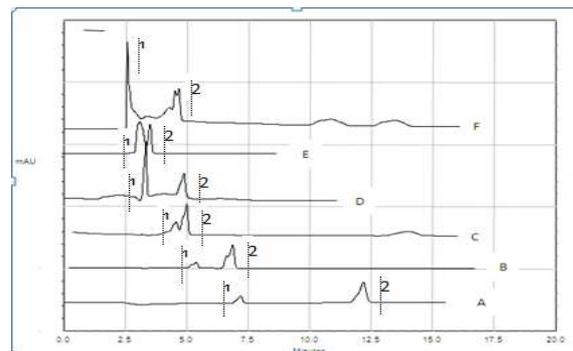
Gambar 2. Spektrogram siklamat 50 ppm

Dari variasi pH buffer fosfat yang digunakan, dalam pengukuran siklamat dan aspartam ini di dapat pH maksimum dari buffer fosfat yang baik untuk pemisahan siklamat dan aspartam adalah pada pH = 6,2. Ini dapat dilihat dari tinggi puncak dan luas puncak yang di berikan kromatogram pada masing-masing variasi pH yang di hasilkan. Hasil yang di peroleh dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 3. Variasi pH buffer fosfat laju alir 1 ml/menit, $\lambda = 258\text{nm}$, kolom ODS C- 18, fasa gerak Metanol : Buffer Fosfat, A(metanol : buffer fosfat pH 5,7), B(metanol : buffer fosfat pH 6,2), C(metanol : buffer fosfat pH 6,7). 1 (aspartam), 2 (siklamat)

Sedangkan untuk variasi fasa gerak yang digunakan, didapatkan kondisi optimum fasa gerak untuk penentuan siklamat dan aspartam adalah Metanol : Buffer fosfat (20:80). Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada kromatogram berikut ini ;



Gambar 4. Variasi komposisi fasa gerak terhadap waktu retensi. laju alir 1 ml/menit, $\lambda = 263\text{ nm}$, kolom ODS C 18, fasa gerak metanol:buffer fosfat, A (metanol:buffer fosfat 10:90), B(metanol:buffer fosfat 20:80), C(metanol:buffer fosfat 30:70), D(metanol:buffer fosfat 50:50), E(metanol:buffer fosfat 70:30),F(metanol:buffer fosfat 90:10), 1(aspartam), 2(siklamat)

Berdasarkan gambar, kromatogram yang memberikan pemisahan terbaik untuk siklamat dan aspartam terdapat pada variasi konsentrasi metanol : buffer fosfat (20:80). Pada kondisi ini, aspartam memberikan waktu retensi pada 5,20 menit, sedangkan siklamat mempunyai waktu retensi pada 6,67. Meskipun pada variasi konsentrasi metanol : buffer fosfat (10:90) siklamat dan aspartam juga terpisah dengan baik, namun waktu retensi yang keluar untuk masing-masing senyawa sangat lama, pada waktu retensi tersebut tidak dapat di pakai untuk pemisahan siklamat dan aspartam karena membutuhkan waktu yang lama dalam pengerjaannya dan membutuhkan eluen yang banyak dalam pemisahannya, sehingga dipilih variasi konsentrasi pada metanol : buffer fosfat (20:80)

Berdasarkan kondisi optimum yang telah diperoleh pada variasi fasa gerak methanol : buffer fosfat, maka dilakukan pengukuran larutan standar siklamat dan aspartam dengan beberapa konsentrasi, dimana hasil pengukuran dari setiap larutan standar terlihat dalam tabel di bawah ini :

Tabel 1.

Variasi konsentrasi siklamat terhadap luas puncak. laju alir 1 ml/menit, $\lambda = 263\text{ nm}$, kolom ODS C18, fasa gerak methanol:buffer fosfat (20:80)

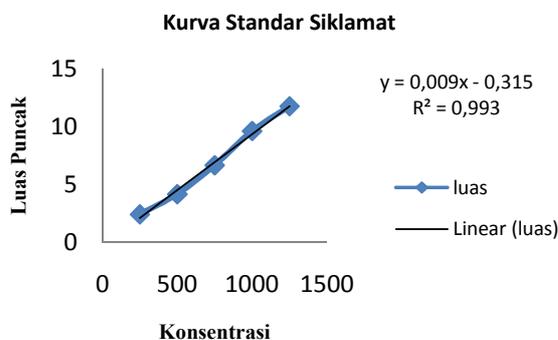
No	Konsentrasi (ppm)	Tinggi Puncak (mAU)	Lebar Puncak (menit)	Luas Puncak (mAU×mnt)
1.	250	12.8481	0.378	2.426447
2.	500	19.2935	0.433	4.175576
3.	750	31.3233	0.407	6.684314
4.	1000	41.4535	0.465	9.645545
5.	1250	53.4318	0.441	11.79117

Tabel 2.

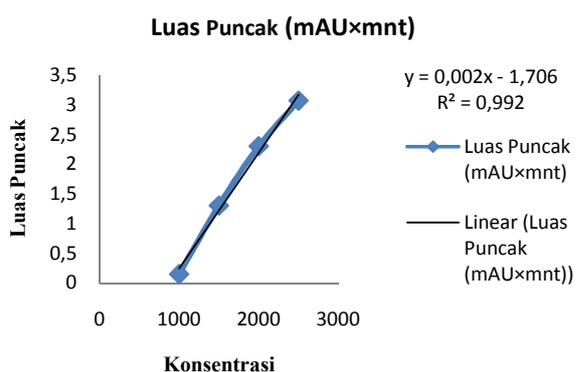
Variasi konsentrasi aspartam terhadap luas puncak laju alir 1 ml/menit $\lambda = 263$ nm, kolom ODS C18, fasa gerak methanol:buffer fospat (20:80)

No	Konsentrasi (ppm)	Tinggi Puncak (mAU)	Lebar Puncak (menit)	Luas Puncak (mAU×mnt)
1.	1000	1.08	0.28	0.1512
2.	1500	1.38	1.89	1.3041
3.	2000	3.01	1.53	2.30265
4.	2500	4.95	1.24	3.069

Selanjutnya dilakukan perhitungan untuk mendapatkan kurva linier dan persamaan regresi linier seperti pada kurva di bawah ini :



Gambar 5. Kurva standar siklalat laju alir 1 ml/menit $\lambda = 263$ nm, kolom ODS C18, fasa gerak methanol:buffer fospat (20:80), pH 6,2



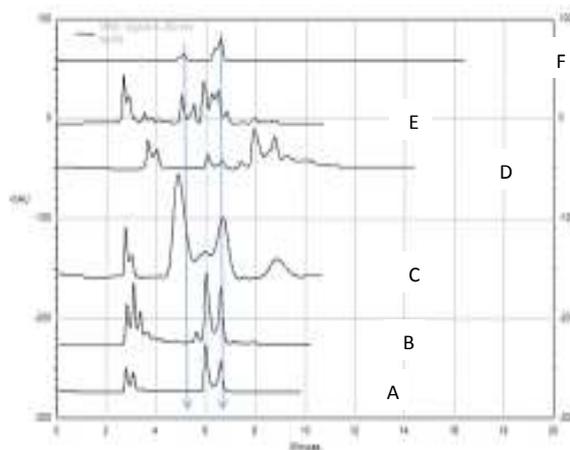
Gambar 6. Kurva standar aspartam. laju alir 1 ml/menit $\lambda = 263$ nm, kolom ODS C18, fasa gerak methanol:buffer fospat (20:80)

Setelah didapatkan kondisi optimum untuk pemisahan siklalat dan aspartam menggunakan HPLC, maka dilakukan

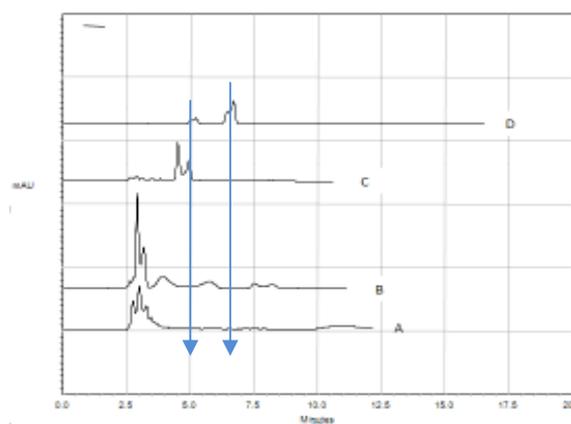
pengukuran pada beberapa macam sampel minuman yang beredar di pasaran dan lingkungan sekolah.

Dari 5 sampel minuman pasar yang di ambil, Untuk siklalat, dari 5 sampel yang diuji, hanya satu sampel yang tidak mengandung siklalat. Dan kadar siklalat yang tinggi terdapat pada sampel B yaitu sekitar 794,1 ppm. Sementara untuk aspartam, dari 5 sampel yang diuji, tidak satupun sampel yang mengandung aspartam.

Untuk 3 sampel minuman yang beredar di sekolah. Tidak ada satu pun dari sampel tersebut yang mengandung siklalat dan aspartam. Ini dapat dilihat dari kromatogram di bawah, di mana tidak ada puncak yang keluar pada masing-masing waktu retensi siklalat dan aspartam.



Gambar 7. Kromatogram sampel yang dijual bebas dipasaran dan larutan standar siklalat-aspartam, laju alir 1ml/menit $\lambda = 263$ nm, kolom ODS C18, fasa gerak methanol:buffer fospat (20:80)



Gambar 8. Kromatogram sampel yang dijual bebas disekolah dan larutan standar siklalat-aspartam. Laju alir 1 ml/menit, $\lambda = 263$ nm, kolom ODS C18, Metanol : Buffer Fospat (20:80)

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan :

1. Siklamat dan aspartam memiliki panjang gelombang masing-masingnya yaitu 268 nm dan 258 nm. Analisa siklamat dan aspartam dengan menggunakan HPLC dilakukan pada panjang gelombang 263 nm, laju alir 1 ml/menit, pH buffer phospat 6,2 fasa gerak metanol:buffer phospat (20:80), kolom ODS C18.
2. Pada minuman ringan yang beredar di pasaran terdapat siklamat dengan konsentrasi tertinggi 794,11 ppm pada minuman ringan dengan kode B dan tidak satu pun juga dari sampel yang mengandung aspartam.
3. Pada minuman ringan yang beredar di sekolahan, tidak terdapat siklamat dan aspartam.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ambarsari, Indrie. (2008). Penetapan Standar Penggunaan Pemanis Buatan Pada Produk Pangan. Jawa Tengah: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian
- [2] Digital Library. (2004) Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi. Bandung: UPI
- [3] Effendy. (2004). Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi. Universitas Sumatera Utara.
- [4] Farmakologi Fakultas Kedokteran UI. (2002). Farmakologi dan Terapi. Ed ke-4. Jakarta: Gaya Baru.
- [5] Hayun, Yahdiana H., Citra N.A., (2004), Penetapan kadar sakarin, asam benzoate, asam sorbet, kofeina dan aspartame di dalam beberapa minuman ringan bersoda secara kromatografi cair kinerja tinggi., *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol 1, No 3, 148-159.
- [6] Jacobson, Michael. 2006. How soft drinks are harming american's health, http://www.cspinet.org/sodapop/liquid_candy.html/ diakses 4 juli 2011
- [7] Novelina, Yus Maria. (2009). Validasi Metode Analisis Penetapan Kadar Senyawa Siklamat Dalam Minuman Ringan. Bogor: Farmasi Universitas Pakuan
- [8] Nurlita, Frieda. (...). Kadar Natrium-Siklamat Dalam Minuman Yang Dijual Di Pasaran Kota Singaraja.
- [9] R.A.Day dan Underwood. (2002). *Analisis kimia kuantitatif*. Jakarta: Erlangga Pecsok and LD Shields.1976. *Modern Methods of Chemical Analysis*.USA.
- [10] Subani. (2008). Penentuan Kadar Natrium Benzoat, Kalium Sorbat dan Natrium Sakarin dalam Sirup dengan Metode Kromatografi Cait Kinerja Tinggi di Balai besar pengawasan Obat dan Makanan. Universitas Sumatera Utara.
- [11] Tarmizi. (2008). Pembuatan Pereaksi Kimia. Padang: UNP Press Padang.
- [12] Weiss, Joachim, Ion Chromatography, 2 ed. 1995
- [13] Wisnu,C. 2006. Analisa dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Jakarta : Bumi Aksara
- [14] www.chem-is-try.org/ Materi Kimia/ Instrumen Analisis/ Kromatografi/ Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.
- [15] www.oktaviadianlestari.blogspot.com/2011/02/pemanis-buatan-siklamat.html
- [16] www.wikipedia.org/wiki/Aspartam
- [17] www.wikipedia.org/wiki/siklamat