



ANALISIS KADAR NATRIUM SIKLAMAT PADA MINUMAN CAPPUCINO PEDAGANG KAKI LIMA DAN KAFE DI KABUPATEN TEGAL

Arifina Fahamsya¹, Osie Listina², Isna Apriliani³

^{1,2}Dosen Prodi S1 Farmasi (S-1) ³Mahasiswa Prodi S1 Farmasi, Universitas Bhamada Slawi

Email: afahamsya@gmail.com

Info Artikel

Sejarah artikel,
 Diterima: Agustus 2023
 Disetujui: Januari 2024
 Dipublikasi: April 2024

Kata kunci:

Cappuccino, Natrium Siklamat, Pengendapan, KLT, HPLC.

ABSTRAK

Perkembangan industri makanan dan minuman di Indonesia dalam beberapa tahun terakhir mengalami peningkatan. Munculnya industri cappuccino sangat pesat akhir-akhir ini dapat memberikan efek negatif bagi kesehatan konsumen, salah satu penyebabnya karena minuman cappuccino memiliki bahan tambahan pemanis sintesis dari natrium siklamat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan dan kadar natrium siklamat dalam minuman cappuccino pedagang kaki lima (A, B, C) dan Kafe (X, Y, Z) dengan metode HPLC sehingga dapat menetapkan kadar sesuai dengan peraturan BPOM atau melebihi batas maksimum. Analisis kualitatif dilakukan menggunakan HCl, BaCl₂, dan NaNO₂ yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih setelah dipanaskan dan kromatografi lapis tipis (KLT), dimana ditandai dengan adanya nilai R_f yang sama antara larutan pembanding dengan sampel. Pada analisis kuantitatif dilakukan dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk mengetahui kadar natrium siklamat, dengan keadaan alat kolom ODS C-18, fase gerak metanol dan akuades (70:30), panjang gelombang 268 nm, laju alir 1 mL/menit dan volume injeksi 20 µL. Hasil penelitian terhadap sampel pedagang kaki lima dan kafe menunjukkan sampel A mengandung natrium siklamat sebesar 0,00038 gram/1000 mg. Sampel B 0,0214 gram/1000 mg. Sampel C 0,0145 gram/1000 mg. Sampel X 0,00004 gram/1000 mg. Sampel Y 0,00029 gram/1000 mg. Sampel Z 0,00002 gram/1000 mg

Keywords:

Cappuccino, Sodium Cyclamate, Precipitation, TLC, HPLC.

ABSTRACT

The development of Indonesian food and beverage industry has increased in recent years. The emergence of the cappuccino industry, which is very rapid nowadays, can have a negative effect on the health of consumers, one of the reasons is because the cappuccino drink contains a synthetic sweetener from sodium cyclamate. This study aims to examine the content and levels of sodium cyclamate in cappuccino drinks from street vendors (A, B, C) and cafes (X, Y, Z) using the HPLC method, so that levels can be determined whether it is fulfilled the BPOM regulations, or exceeding the maximum limit. Qualitative analysis was carried out using HCl, BaCl₂, and NaNO₂ which was characterized by the formation of a white precipitate after heating and thin layer chromatography (TLC), which was indicated by the presence of the same R_f value between the reference solutions with samples. Quantitative analysis was done using the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method to determine sodium cyclamate levels, using the ODS C-18 column, methanol and distilled water (70:30), wavelength of 268 nm, flow rate 1 mL/min. and the injected volume of 20 µL. The results of the study on the samples of street vendors and cafes show that sample A contained sodium cyclamate of 0.00038 gram/1000 mg. Sample B 0.0214 gram/1000 mg. Sample C 0.0145 gram/1000 mg. Sample X 0.00004 gram/1000 mg. Sample Y 0.00029 gram/1000 mg. Sample Z 0.00002 gram/1000 mg.

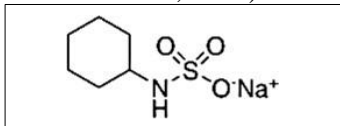
PENDAHULUAN

Perkembangan industri makanan dan minuman di Indonesia dalam beberapa tahun terakhir mengalami peningkatan karena

makanan dan minuman merupakan kebutuhan pokok yang diperlukan manusia setiap hari (Kartina & Marpaung, 2022). Hasil riset Toffin dan Majalah Mix menunjukkan jumlah kedai

kopi di Indonesia pada Agustus 2019 mencapai lebih dari 2.950 gerai, meningkat hampir tiga kali lipat dibandingkan pada tahun 2016 yang hanya sekitar 1.000 (Sari & Jannati, 2021). Cappuccino adalah salah satu minuman khas Italia yang terdiri dari sepertiga sari kopi, sepertiga susu panas, dan sepertiga busa susu (Juliadi, Murna, dan Rahmat, 2021).

Natrium siklamat ($C_6H_{12}NNa^+O_3S$) memiliki tingkat kemanisannya ± 30 kali dari pada sukrosa. Umumnya natrium siklamat digunakan untuk diet bagi penderita diabetes atau penyakit gula, karena mereka memerlukan diet rendah kalori. Menurut *World Health Organization* (WHO), batas konsumsi harian siklamat yang aman adalah 11 mg/kg berat badan (Devitria & Sepriyani, 2018). Di negara Indonesia penggunaan natrium siklamat sering disalahgunakan dan melebihi dosis maksimum. Standar pemanis buatan (SK Kepala Badan POM No: HK.00.05.5.1.4547/2004) dan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 722/Menkes/Per/IX/1988, batas maksimum penggunaan siklamat pada produk minuman adalah 250-3000 ppm (Handayani & Agustina, 2015). Dalam peraturan tersebut dinyatakan pula larangan penggunaan pemanis buatan bagi bayi, balita, ibu hamil, ibu menyusui, dalam upaya meningkatkan kualitas kesehatannya (Jamil, Sabilu, dan Munandar, 2017).



Gambar 1. Struktur Kimia Natrium Siklamat (Lidyawati et al., 2020).

Metode analisis berfungsi untuk memastikan bahwa produk sesuai persyaratan sehingga perlu dilakukan dengan metode yang tepat secara kualitatif maupun kuantitatif. Penentuan natrium siklamat dapat melalui beberapa metode diantaranya dengan metode analisis Gravimetri atau metode Pengendapan (SNI 01-2893-1992) Kromatografi Lapis Tipis (KLT), metode Spektrofotometri UV-Vis dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Maudu, Hafid & Ichsan, 2020).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan analisis kadar natrium siklamat pada minuman cappuccino pedagang kaki lima dan kafe di Kabupaten Tegal. Metode analisis dengan HPLC karena waktu analisis relatif singkat, volume sampel yang digunakan sedikit, tingkat sensitifitas tinggi, selektif serta

kolom dapat digunakan kembali. Sehingga dapat mengetahui kadar natrium siklamat dari masing masing sampel.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Laboratorium Instrumen Program Studi Farmasi S-1, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bhamada Slawi.

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (*Agilent Technologies 1220 Infinity LC*), spektrofotometri *UV-visible mini-1240 Shimadzu*, plat kromatografi (KLT), sonikator (a & e lab (uk) co.ltd), erlenmeyer (*pyrex*), gelas ukur (*pyrex*), gelas beaker (*pyrex*), labu ukur (*pyrex*), corong (*pyrex*), vial (*Agilent*), pipet tetes, mikropipet, membran filter 0,2 μm , kaca arloji, *aluminium foil* dan kertas saring *whatman*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel minuman rasa cappuccino pada pedagang kaki lima (serbuk A, B dan C) dan kafe (cair X, Y dan Z) di Kabupaten Tegal meliputi kecamatan Pangkah, Kecamatan Tarub dan Kecamatan Slawi, baku standar natrium siklamat, asam klorida 10%, barium klorida 10%, norrit (arang aktif), natrium nitrit 10%, pereaksi perak nitrat, etanol 50%, asam sulfat 10%, etil asetat, natrium sulfat anhidrat., aseton, ammonia akuades dan metanol (*Merck*).

2. Uji Kualitatif dengan Reaksi Pengendapan

a. Pembuatan Larutan Pembanding Natrium Siklamat

Ditimbang 0,01 gram natrium siklamat masukkan ke dalam beaker glass lalu larutkan dengan akuades. Kemudian masukkan ke dalam labu ukur 100 mL tambahkan dengan akuades sampai tanda batas, kocok hingga homogen. Kemudian dipipet 10 mL pembanding lalu ditambahkan 10 mL larutan asam klorida 10% dan 10 mL larutan barium klorida 10% biarkan selama 30 menit, kemudian ditambahkan 10 mL larutan natrium nitrit 10% lalu dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit. Adanya endapan berwarna putih menunjukkan sampel mengandung natrium siklamat (Devitria & Sepriyani, 2018).

b. Uji Pengendapan

Pipet 10 mL sampel masukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian tambahkan 10 mL larutan asam klorida 10%, lalu tambahkan 10 mL larutan barium klorida 10%, biarkan selama 30 menit dan tambahkan 0,002 gram norit lalu saring dengan kertas Whatman, kemudian tambahkan 10 mL natrium nitrit 10%, panaskan diatas penangas air selama 15 menit. Adanya endapan berwarna putih menunjukkan sampel mengandung natrium siklamat (Devitria & Sepriyani, 2018).

3. Uji Kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

a. Pembuatan Pereaksi Perak Nitrat 0,005 M

Prinsip uji ini yaitu natrium siklamat akan memberikan warna putih dengan pereaksi perak nitrat 0,005 M dibawah sinar ultraviolet. Pembuatan pereaksi perak nitrat 0,005 M dengan cara melarutkan 170 mg pereaksi perak nitrat dalam 100 mL akuades, kemudian tambahkan dengan 5 mL ammonia dan mengencerkannya sampai 200 mL dengan etanol (Rohman, 2007).

b. Pembuatan Larutan Perbandingan Natrium Siklamat

Timbang 0,01 gram natrium siklamat lalu tambahkan etanol 50% sebanyak 10 mL larutkan hingga homogen. Kemudian uapkan sampai volume 2 mL (Rohman, 2007).

c. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sebanyak 100 mL sampel (jika berupa larutan) atau 10 gram sampel diasamkan dengan 10 mL asam sulfat 10%, ekstraksi dengan 50 mL etil asetat dalam corong pisah. Saring etil asetat dengan lapisan natrium sulfat anhidrat untuk menghilangkan air, uapkan etil asetat hingga volume 2 mL. Masing-masing sampel dipipet sebanyak 5 μ L (hasil penguapan etil asetat), kemudian larutan perbandingan ditotolkan pada plat KLT dengan jarak 1 cm dari tepi lempeng. Lempeng direndam dalam bejana kromatografi yang telah jenuh dengan uap fase gerak aseton:ammonia (9:1). Lempeng disemprot dengan larutan perak nitrat 0,005 M. Setelah disemprotkan, lempeng dikeringkan dan dilihat dibawah lampu UV selama 1

menit. Adanya bercak warna putih pada larutan perbandingan dan sampel menunjukkan positif mengandung natrium siklamat. Jarak pemisahan senyawa pada kromatografi dinyatakan dengan nilai Rf (Devitria & Sepriyani, 2018).

4. Analisis Kuantitatif Menggunakan Metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

a. Optimasi Fase Gerak Metanol: Akuades

Pada tahap ini kromatografi komposisi fase gerak metanol:akuades divariasikan menjadi 60:40; 70:30; 80:20 dan 90:10 v/v untuk mendapatkan kondisi optimumnya larutan konsentrasi 0,5 mg/mL diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam kolom. Laju alir yang digunakan untuk penentuan kondisi optimum fase gerak 1 mL/menit (Ningtyas & Fajriati, 2019; Susan & Qabul, 2022).

b. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan induk natrium siklamat 1; 2; 4; 6; 8 dan 10 mL masing masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambah dengan akuades sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mg/mL. Masing-masing larutan disaring menggunakan membran filter PTFE 0,2 μ m, kemudian diinjeksikan ke dalam HPLC sebanyak 20 μ L. Laju alir 1 mL/menit dengan variasi panjang gelombang maksimum dan waktu retensi yang dibutuhkan. Kemudian didapatkan data luas area dari kromatogram dan dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi vs luas area yang digunakan untuk menentukan persamaan garis regresi linier $y = bx + a$ (Widyaningsih & Utami, 2009).

c. Preparasi Sampel

Sebanyak 1 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian diencerkan dengan akuades hingga standar batas, dihomogenkan dan disaring dengan membran filter 0,2 μ m dan diinjeksikan ke dalam HPLC sebanyak 20 μ L. Diamati dan dicatat waktu retensi dan nilai area yang keluar (Ningtyas & Fajriati, 2020).

d. Uji Linearitas

Uji linearitas ditentukan melalui persamaan regresi linier $Y = bx + a$ dari luas area larutan kurva kalibrasi. (Widyaningsih & Utami, 2009).

e. Pengujian *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantitation (LOQ)*

Uji limit *Limit of Detection (LOD)* dan *Limit of Quantitation (LOQ)* dihitung menggunakan persamaan garis dari konsentrasi larutan kurva kalibrasi. Kemudian dilakukan perhitungan $LOD = 3 \times SD/S$ dan $LOQ = 10 \times SD/S$.

f. Uji Ketelitian

Uji ketelitian yang dilakukan pada penelitian ini dengan cara mengukur sebanyak enam kali larutan baku natrium siklalat 0,5 mg/mL dan disuntikkan ke HPLC (Widyaningsih & Utami, 2009).

Penelitian ini dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Pada uji kualitatif menggunakan metode uji pengendapan dan kromatografi lapis tipis (KLT), sedangkan uji kuantitatif menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Sampel diperoleh dari Pedagang kaki lima dan Kafe di Kabupaten Tegal meliputi Kecamatan Tarub, Kecamatan Pangkah dan Kecamatan Slawi.

1. Analisis Kualitatif dengan uji pengendapan

Telah dilakukakan uji kualitatif dilakukan dengan reaksi pengendapan. Reaksi pengendapan adalah suatu jenis reaksi yang dapat berlangsung dalam cairan. Adanya endapan berwarna putih menunjukkan hasil positif bahwa sampel terdapat natrium siklalat. Hasil analisis kualitatif dengan uji pengendapan dapat dilihat pada tabel 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil analisis kualitatif dengan uji pengendapan

No	Sampel	Hasil Reaksi (Sampel + HCl + BaCl ₂ + NaNO ₂)	Keterangan
1	K	Endapan putih	Positif
2	A	Endapan putih	Positif
3	B	Endapan putih	Positif
4	C	Endapan putih	Positif
5	X	Endapan putih	Positif
6	Y	Endapan putih	Positif
7	Z	Endapan putih	Positif

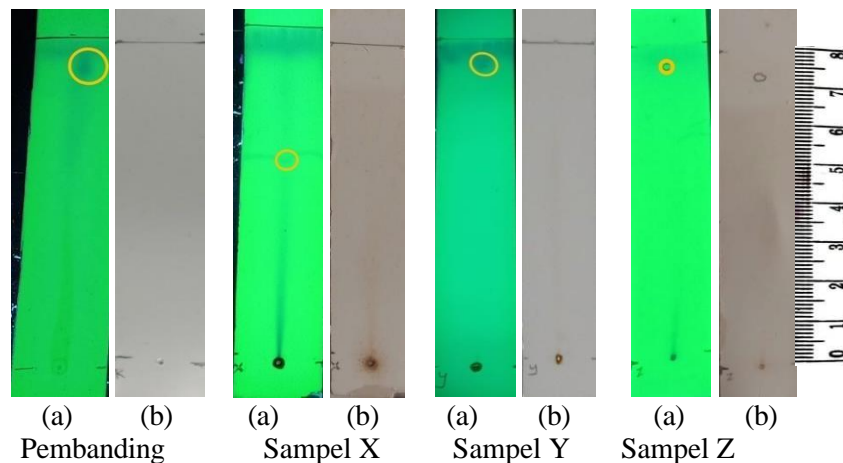
Keterangan :

K = Positif Baku Natrium Siklalat
 A = Pedagang kaki lima di Tarub
 B = Pedagang Kaki Lima di Pangkah
 C = Pedagang Kaki Lima di Slawi

X = Kafe di Kecamatan Tarub
 Y = Kafe di Kecamatan Pangkah
 Z = Kafe di Kecamatan Slawi

Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa seluruh sampel minuman cappuccino yang telah dianalisis menghasilkan endapan berwarna putih sesuai dengan endapan yang dihasilkan oleh kontrol positif yang menunjukkan adanya endapan berwarna putih. Penambahan 10 mL asam klorida 10% dalam sampel berfungsi untuk mengasamkan larutan. Larutan dibuat dalam keadaan asam agar reaksi yang akan terjadi dapat lebih mudah bereaksi. Penambahan 10 mL barium klorida 10% berfungsi untuk mengendapkan pengotor-pengotor yang ada dalam larutan, selanjutnya ditambahkan norit (karbon aktif) untuk menjernihkan sampel sehingga ketika identifikasi berlangsung dapat

lebih mudah mengamati reaksi-reaksi yang terjadi pada sampel. Penambahan norit tidak mempengaruhi hasil penelitian, karena karbon aktif tidak ikut mengendap dengan natrium siklalat, kemudian disaring. Penambahan natrium nitrit berfungsi untuk memutuskan ikatan sulfat pada amina alifatik primer dalam siklalat. Ketika ikatan sulfat telah diputus maka ion Ba²⁺ akan bereaksi dengan ion sulfat dan menghasilkan endapan barium sulfat. Gas nitrogen yang dihasilkan dari reaksi dapat diketahui dengan adanya bau yang menyengat ketika proses pemanasan diatas penangas (Zarwinda et al. 2021). Reaksi yang terjadi dapat dilihat gambar 1.



Gambar 4. Hasil KLT identifikasi natrium siklamat sampel kafe (X, Y, Z) dengan deteksi bercak UV 254 nm (a) dan pereaksi AgNO_3 0,005M (b).

Menurut penelitian Nurhandini (2010), pengukuran terhadap bercak natrium siklamat tidak dapat dilakukan secara langsung karena tidak memiliki gugus kromofor maka perlu menggunakan penampak bercak yang terdiri dari larutan brom 5% dalam diklormetan yang kemudian disemprot kembali dengan fluorescein 0,25% dalam campuran dimetilformamida- etanol (1:1), kemudian dianalisis menggunakan metode densitometri dengan alat TLC (*Thin Layer Chromatography*) scanner pada panjang gelombang 400-700 nm sehingga akan menghasilkan bercak berwarna merah muda.

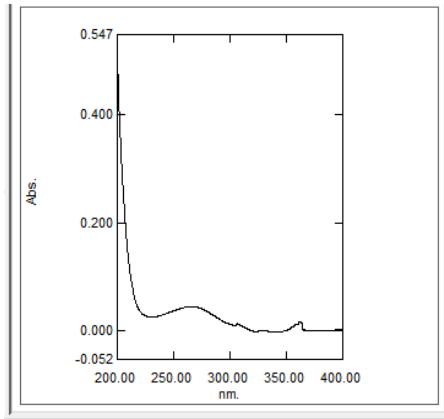
3. Analisis Kuantitatif dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Penelitian ini bertujuan untuk analisis kadar natrium siklamat dalam minuman cappuccino di pedagang kaki lima dan kafe serta minuman cappuccino A, B, C dan X, Y, Z untuk menetapkan kandungan kadar natrium siklamat sesuai dengan persyaratan (250-3000 ppm). Analisis ini menggunakan alat HPLC dengan sampel minuman cappuccino yang telah

memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Penggunaan alat HPLC untuk penetapan kadar natrium siklamat dalam minuman cappuccino ini karena analisis memiliki tingkat sensitifitas tinggi, selektif dan kolom dapat digunakan Kembali (Rosydiati, 2019).

- a. Penentuan Panjang gelombang

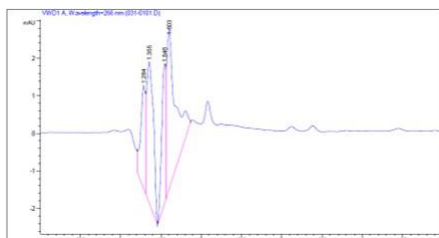
Penelitian dilakukan dengan menentukan panjang gelombang maksimum natrium siklamat dengan konsentrasi 0,5 mg/mL menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Berdasarkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum natrium siklamat diperoleh 266,4 nm dapat dilihat pada gambar 5 tersebut masih dalam kisaran daerah serapan optimum natrium siklamat yaitu 200-400 nm (Rauf, Sudewi, & Rotinsulu 2017). Menurut penelitian sebelumnya, panjang gelombang maksimum natrium siklamat yaitu 220 nm (Ningtyas, 2019) dan 268 nm (Manoppo, sudewi & wewengkang, 2019; Padmaningrum & Marwati, 2015; Rahmah, Oktavia & Kurniawati, 2012; Rauf, Sudewi, & Rotinsulu, 2017).



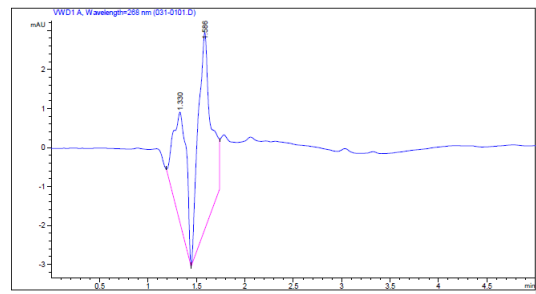
Gambar 5. Hasil panjang Gelombang Natrium Siklamat 266,4 nm.

b. Optimasi fase gerak

Penelitian ini dimulai dengan menentukan komposisi fase gerak untuk kondisi analisis yang optimum *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Optimasi fase gerak menggunakan panjang gelombang 266 nm dengan laju alir alir 1 mL/menit dan volume injeksi 20 µL menghasilkan kromatogram tidak terpisah secara sempurna. Sedangkan menggunakan panjang gelombang 268 nm dengan laju alir alir 1 mL/menit dan volume injeksi 20 µL menghasilkan kromatogram yang baik. Menurut penelitian ayuni (2022), penggunaan panjang gelombang maksimum selisih ±2 nm menunjukkan tidak terdapat perbedaan, sehingga penggunaan panjang gelombang 268 nm untuk optimasi fase gerak masih dapat diterima. Hasil Optimasi fase gerak menggunakan panjang gelombang 266 nm dan 268 nm dapat dilihat pada 6 dan 7.



Gambar 6. Hasil Optimasi Kromatogram dengan Panjang Gelombang 266 nm, Metanol: Akuades (70:30).



Gambar 7. Hasil Optimasi Kromatogram dengan Panjang Gelombang 268 nm, Metanol: Akuades (70:30).

Penentuan kriteria pemisahan yang baik dan puncak simetris ditunjukkan dengan parameter kromatogram yaitu resolusi (R_s), efisiensi (N) dan *tailing factor* (T_f).

Tabel 2. Parameter Optimasi Fase Gerak Metanol:Akuades

Komposisi Fase Gerak (v/v)	Rt	R_s	N	T_f
60:40	1,349	-	-	-
70:30	1,586	2,12	2808	0,8
80:20	1,313	3,26	1900,96	1
90:10	1,302	-	-	-

Berdasarkan hasil parameter optimasi dari fase gerak 60:40, 70:30, 80:20 dan 90:10 (metanol:akuades) menunjukkan fase gerak metanol:akuades (70:30 v/v) dengan panjang gelombang 268 nm menunjukkan peak yang terpisah secara maksimum dan memenuhi persyaratan parameter nilai resolusi, nilai efisiensi dan nilai *tailing factor*, sehingga kondisi analisis menggunakan panjang gelombang 268 nm dengan laju alir 1 mL/menit dan volume injeksi 20 µL.

Nilai resolusi dapat menentukan seberapa baik pemisahan dua puncak. Menurut FDA (*Food and Drug Administration*), untuk uji kesesuaian sistem nilai resolusi yang harus dicapai adalah >2 , sedangkan menurut ICH (*International Council for Harmonisation*) resolusi yang harus dicapai adalah $>1,5$. Berdasarkan data parameter optimasi fase gerak menggunakan panjang gelombang 268 diperoleh nilai resolusi dari fase gerak 70:30 yaitu sebesar $2,12 > 2$ dan fase gerak 80:20 (metanol:akuades) sebesar $3,26 > 2$ menunjukkan nilai resolusi sudah termasuk baik (Mufidah, 2012). Komposisi fase gerak metanol:akuabides (70:30 v/v) memiliki nilai

efisiensi sebesar 2808 dibanding dengan metanol:akuabides (80:30 v/v) yaitu sebesar 1900,96 sehingga perbandingan fase gerak metanol:akuabides (70:30 v/v) digunakan untuk analisis kuantitatif metode HPLC. Nilai efisiensi yang semakin besar menunjukkan pemisahan yang terjadi semakin baik (Ningtyas & Fajriati, 2020). Menurut FDA, efisiensi kolom dikatakan baik apabila nilai $N > 2000$. Hasil perhitungan fase gerak metanol:akuades (70:30 v/v) memperoleh nilai efisiensi sebesar $2808 > 2000$ menunjukkan efisiensi kolom untuk analisis baik. Fase gerak metanol:akuades (70:30 v/v) juga memiliki *factor tailing* 0,8 nilai *factor tailing* < 1 menunjukkan bahwa kromatogram tidak mengalami pengekoran (*tailing*). *Factor tailing* adalah pengukuran kesimetrian puncak. Semakin tinggi *factor tailing* semakin menurun keakuratan pengukuran (Mufidah, 2012).

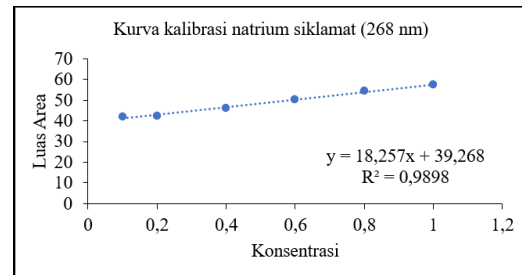
Analisis dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) sering kali ditemukan beberapa faktor terjadinya masalah dari hasil data yang diperoleh, seperti puncak yang tidak terpisah secara sempurna, kromatogram negatif, dan sulitnya mencari kondisi optimum sehingga waktu analisis menjadi lama. Faktor tersebut disebabkan senyawa bias yang tidak larut dalam fase gerak, polaritas pelarut, perbandingan fase gerak atau panjang gelombang yang digunakan kurang sesuai (Weston & Brown, 1997).

Uji linieritas bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi larutan standar natrium siklamat (x) dengan luas area (y) (Padmaningrum & Marwati, 2015). Uji linearitas memperoleh hasil kromatogram dengan peak yang ditandai dengan munculnya natrium siklamat di waktu retensi (Rt) 1,536-1,611 menit, yang akan menghasilkan nilai luas area. Hasil natrium siklamat ditunjukkan dengan peak yang tertinggi diantara rangenya. Luas area baku natrium siklamat dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Luas Area Baku Natrium Siklamat

<u>Konsentrasi (mg/mL)</u>	<u>Luas Area</u>
0,1	41,98876
0,2	42,19052
0,4	46,03556
0,6	50,13876
0,8	54,53002
1	57,31949

Berdasarkan uji linearitas baku natrium siklamat semakin tinggi konsentrasi analit maka akan didapatkan luas area yang semakin besar. Kurva baku dari gambar 8 memperoleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9898 dengan persamaan regresi linier $y = 18,257x + 39,268$ menunjukkan bahwa nilai koefisien korelasi memenuhi syarat $0,9 \leq r \leq 1$, sehingga memiliki tingkat sensitivitas yang baik untuk penetapan kadar (Manoppo, sudewi & wewenggang, 2019).



Gambar 8. Kurva Kalibrasi

Nilai LOD dan LOQ dihitung secara statistik melalui persamaan regresi yang diperoleh dari kurva kalibrasi. *Limit of Detection* (LOD) merupakan batas konsentrasi terendah senyawa dalam sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon yang signifikan oleh alat. Sedangkan *Limit of Quantitation* (LOQ) adalah kuantitas terkecil senyawa dalam sampel yang masih memenuhi kriteria cermat dan seksama (Suprianto, 2014). Hasil pengujian LOD sebesar 0,17245 mg/mL menunjukkan tingkat sensitivitas tinggi karena sampel tidak kurang dari nilai LOD dan nilai LOQ dikatakan baik karena nilai konsentrasi sampel yang di uji berada diatas 0,57484 mg/mL. Konsentrasi sampel A sebesar 384,001 mg/mL, sampel B sebesar 21404,597 mg/mL, sampel C sebesar 14505,654 mg/mL, sampel X sebesar 41,819 mg/mL, sampel Y sebesar 291,396 mg/mL dan sampel Z sebesar 15,4936 mg/mL sehingga dapat diterima dalam presisi.

Presisi (uji ketelitian) merupakan suatu pengukuran kedekatan antara hasil analisis yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada sampel yang sama. Presisi dinyatakan sebagai *presentase relative standar deviation* (%RSD) atau koefisien variasi (KV). Semakin kecil nilai %RSD yang diperoleh maka semakin tinggi tingkat ketelitian dalam suatu penelitian (Aini, 2020). Hasil perhitungan simpangan baku (SD) diperoleh nilai sebesar 0,60298 dan koefisien variasi sebesar 1,31090%. Syarat presisi yang baik suatu metode yaitu

memberikan nilai koefisien variasi (KV) $\leq 2\%$ (Manoppo, sudewi & wewengkang, 2019).

c. Penetapan Kadar Natrium Siklamat pada Sampel

Metode penetapan kadar natrium siklamat pada minuman cappuccino dilakukan menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) fase terbalik. Penetapan kadar menggunakan kondisi analisis dengan fase gerak metanol:akuades (70:30) dan panjang gelombang 268 nm. Tahap preparasi sampel dengan cara 1 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL kemudian diencerkan dengan akuades hingga standar batas, dihomogenkan, kemudian disaring dengan kertas saring dan membran filter 0,2 μm serta diinjeksikan ke dalam HPLC sebanyak 20 μL dengan panjang gelombang 268 nm dan waktu *running* 5 menit karena peak senyawa natrium siklamat akan naik pada menit ke 1,5-1,6. Hasil analisa yang di dapat dari sampel diamati dengan melihat waktu retensi dan luas area. Perlakuan ini dilakukan 3 kali replikasi. Hasil luas area sampel dapat dilihat pada tabel 4.7

Tabel 4. Luas Area Sampel

Sampel	Rata-rata luas area
A	7049,979
B	390823
C	264848
X	802,761
Y	5359,289
Z	470,041

Berdasarkan data yang diperoleh pada tabel 4.7 dapat dikatakan bahwa kemungkinan adanya kandungan natrium siklamat pada sampel cukup baik. Dikatakan demikian bahwa *peak* yang dihasilkan sampel A, B, C, Y dan Z stabil pada waktu retensi 1,5 menit, sampel B muncul pada waktu retensi 1,6 menit. Waktu retensi sampel sesuai dengan range waktu retensi baku natrium siklamat yaitu 1,5-1,6 menit. Terbacanya *peak* yang tidak tunggal dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti adanya senyawa lain pada sampel atau bahkan adanya pengotor dalam fase gerak yang digunakan. Dalam hal ini ketelitian seorang peneliti sangat dibutuhkan agar hasil kromatogram yang didapatkan

memiliki *peak* yang tunggal dan tidak terdapat pengotor (*noise*) (Rosydiati, 2019).

Hasil dari analisis sampel didapatkan nilai luas area yang akan digunakan sebagai penetapan kadar dari masing-masing sampel, dengan menggunakan nilai linieritas dari kurva kalibrasi. Penetapan kadar pada sampel minuman pedagang kaki lima (A, B, C) dan kafe (X, Y, Z) dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Penetapan kadar natrium siklamat pada sampel

Sampel	Kadar	
	gram	ppm
A	0,00038	380
B	0,0214	21400
C	0,0145	14500
X	0,00004	40
Y	0,00029	290
Z	0,00002	20

Berdasarkan data yang diperoleh pada tabel 4.8 penetapan kadar natrium siklamat pada sampel pedagang kaki lima (A, B, C) dan kafe (X, Y, Z) dalam penelitian ini sampel mengandung senyawa natrium siklamat. Dari 6 sampel minuman cappuccino yang diuji, menunjukkan kadar sampel A, X, Y dan Z sesuai dengan peraturan SK Kepala Badan POM No: HK.00.05.5.1.4547/2004 dan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 722/Menkes/Per/IX/1988, dimana batas maksimum penggunaan siklamat pada produk minuman adalah 250-3000 ppm. Sedangkan sampel pedagang kaki lima (B dan C) mengandung natrium siklamat melebihi batas 250-3000 ppm (Handayani & Agustina, 2015). Penggunaan natrium siklamat berdasarkan *acceptable daily intake* (ADI) untuk anak-anak yang memiliki berat badan 17 kg yaitu 187 mg/kg dan untuk orang dewasa yang memiliki berat badan rata-rata 55 kg yaitu 605 mg/kg (Dunggio, 2022). Konsumsi natrium siklamat melebihi batas maksimum dengan jangka panjang dapat menyebabkan adanya risiko gangguan kesehatan seperti migrain, insomnia, diare, alergi, sakit perut dan dapat lebih parah yaitu kanker kandung kemih (Sugiarty, Fithriyani & Wahyuningtyas, 2022).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Sampel pedagang kaki lima (A, B, C) dan kafe (X, Y, Z) positif mengandung senyawa natrium siklamat.
2. Kadar natrium siklamat pada minuman cappuccino pedagang kaki lima dan kafe di Kabupaten Tegal metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) diperoleh sampel A mengandung natrium siklamat sebesar 0,00038 gram (380 ppm). Sampel B 0,0214 gram (21400 ppm). Sampel C 0,0145 gram (14500) ppm. Sampel X 0,00004 gram (40 ppm). Sampel Y 0,00029 gram (290 ppm) dan sampel Z sebesar 0,00002 (20 ppm).
3. Kadar natrium siklamat pada sampel A, X, Y dan Z mengandung natrium siklamat sesuai dengan persyaratan BPOM. Sedangkan sampel B dan C melebihi batas maksimum 250-3000 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Tuhan Yang Maha Esa, seluruh staf laboratorium, seluruh dosen dan Teman-teman seperjuangan di Prodi S1 Farmasi Universitas Bhamada Slawi serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu hingga penelitian ini terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayuni, B. F. (2022). Validasi Metode Analisis Kafein Pada Kopi Latte Dengan Spektrofotometri Uv-Vis. *Analit: Analytical and Environmental Chemistry*, 7(02), 155.
- Devitria, R., & Sepriyani, H. (2018). Identifikasi Natrium Siklamat Pada Minuman Sirup Yang Dijual Dilima SD Kecamatan Sukajadi Di Pekanbaru. *Jurnal Analis Kesehatan Klinikal Sains*, 6(1), 1–7.
- Handayani, T., & Agustina, A. (2015). Penetapan Kadar Pemanis Buatan (Na-Siklamat) Pada Minuman Serbuk Instan Dengan Metode Alkalimetri. *Jurnal Farmasis Sains dan Praktis*, 1(1), 1–7.
- Jamil, A., Sabilu, Y., & Munandar, S. (2017). Gambaran Pengetahuan, Sikap, Tindakan Dan Identifikasi Kandungan

Pemanis Buatan Siklamat Pada Pedagang Jajanan Es Di Kecamatan Kadia Kota Kendari Tahun 2017. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kesehatan Masyarakat*, 1(69), 5–24.

Juliadi, D., Muzaifa, M., & Fadhil, R. (2021). Kajian Literatur Perkembangan Produk Olahan Kopi Arabika Gayo dengan Metode Penyeduhan Espresso. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 6(4), 462–466.

Kartina, S., & Marpaung, M. P. (2022). Analisis Kadar Natrium Siklamat Dan Tartrazin Pada Minuman Thai Tea Yang Beredar Di Pakjo Palembang Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 11(2), 1–9.

Manoppo, T., Sudewi, S., & Wewengkang, D. S. (2019). Analisis Pemanis Natrium Siklamat Pada Minuman Jajanan Yang Dijual Di Daerah Sekitar Kampus Universitas Sam Ratulangi Manado. *Pharmakon*, 8(2), 488. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29318>

Maudu, R., Hafid, F., & Ichsan, D. S. (2020). Analisis Kadar Siklamat Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Pada Minuman Jajanan Sekolah Di Kota Palu. *Poltekita: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 13(1), 17–24. <https://doi.org/10.33860/jik.v13i1.27>

Mufidah. (2012). Validasi Metode Analisis Asesulfam-K dan Aspartam dalam Minuman Serbuk Instan dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Skripsi*, Universitas Islam Indonesia.

Ningtyas, T. S., & Fajriati, I. (2020). Analisis Pemanis Buatan Natrium Siklamat pada Minuman Ringan dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *001(01)*, 30–35.

- Padmaningrum, R. T., & Marwati, D. S. (2015). Validasi Metode Analisis Siklamat Secara Spektrofotometri Dan Turbidimetri Validation of Cyclamate Analysis Method With Spectrophotometry and Turbidimetry. *J. Sains Dasar*, 4(1), 23–29.
- Rahmah, A., Oktavia, B., & Kurniawati, D. (2012). Analisis Kadar Siklamat dan Aspartam pada Minuman Ringan Menggunakan HPLC dengan Fasa Gerak Metanol-Buffer Phospat. *Chemistry Journal of State University of Padang*, 1(2), 1-5.
- Rauf, P. N., Sudewi, S., & Rotinsulu, H. (2017). Analisis natrium siklamat pada produk olahan kelapa di swalayan kota manado menggunakan metode spektrofotometri ultra violet. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 6(4), 165-173.
- Rohman, A.S. (2007). *Analisis Makanan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Rosydiati. (2019). Karakterisasi puncak kromatogram dalam High Performance Liquid Chromatography (HPLC) terhadap perbedaan fase gerak, laju alir, dan penambahan asam dalam analisis Indole Acetic Acid (IAA). *Kandaga*, 1(2), 65–73.
- Sari, S., & Jannati, D. (2021). Analisis Perancangan Kebutuhan Kopi Best Seller Untuk Memenuhi Permintaan Di Cafe Kopi Titik Dengan Menggunakan Metode Peramalan. *Bina Teknika*, 17(1), 9.
- Sugiarty, A. M., Fithriyani, D., & Wahyuningtyas, A. (2022). *Original Article Analisis Kandungan Siklamat dan Sakarin pada Minuman Es Kopi Susu Gula Aren di 5 Coffee Shop , Kota Bandar Lampung*. 1(11), 1–8. <https://doi.org/10.35472/cfst.v1i1.925>
- Susan & Qabul, D.U. (2022). Penetapan Kadar Siklamat pada minuman es Pada Pedagang Keliling Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Teknologi dan Mutu Pangan*, 1(2), 17-22.
- Weston, A & Brown, P., R. (1997). *HPLC and CE, Principles and Practice*. Academic Press: San Diego London Boston New York Sydney Tokyo Toronto.
- Widyaningsih, R., & Utami, P. I. (2009). Analisis Siklamat Pada Agar-Agar Yang Beredar Di Pasar Wage Purwokerto Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Pharmacy*, 6(3), 65–71.
- Wulandari, L. (2011). *Kromatografi Lapis Tipis. Jember*: PT. Taman Kampus Presindo.
- Zarwinda, I., Sasnita, M., Elfariyanti, & Zakaria, N. (2021). Analisis Natrium Siklamat Pada Minuman Es Campur Yang Dijual Di Pasar Kampung Baru Kecamatan Baiturrahman Kota Banda Aceh. *Jurnal Sains dan Kesehatan Darussalam*, 1(2), 1–7. <https://doi.org/10.56690/jskd.v1i2.16>