



Testing of Sodium Saccharin Levels in Hard Candy with High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method

Pengujian Kadar Natrium Sakarin Pada Permen Keras dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Muhammad Syafa Al Ghifari¹, Siti Nurlaeni Pujowati², Nezly Nurlia Putri^{1*}

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa – Banten

²Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan di Serang – Banten

OPEN ACCESS

ISSN 2541-5816
(online)

*Correspondence:

Nezly Nurlia Putri

nezly_np@untirta.ac.id

Received: 22-05-2024

Accepted: 22-07-2024

Published: 29-07-2024

Citation:

Ghifari MSA, Pujowati SN, and Putri NN. (2024). Testing of Sodium Saccharin Levels in Hard Candy with High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method. *Journal of Tropical Food and Agroindustrial Technology* 05:02

doi: [10.21070/jtfat.v5i02.1628](https://doi.org/10.21070/jtfat.v5i02.1628)

Abstract. Hard candy is a processed food resulting from the boiling of a mixture of sugar with food additives (BTP). The use of BTP is restricted in processed food. One type is sodium saccharin. The purpose of this study was to determine the level of sodium saccharin in hard candy with High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method. The test procedure consists of making a solution of standard solution (standard), test solution (sample), spike solution and phosphate buffer solution pH 6.8 as the mobile phase. Saccharin sodium levels in hard candy were calculated and determined using a calibration curve with a straight-line equation. Then the detected solution was calculated to the treatment level, theoretical, recovery, average treatment level, Relative Percent Difference (RPD) (%) or relative difference, and 2/3 CV Horwitz using spike solution. The test results of saccharin sodium levels in hard candy are eligible for an acceptable % Recovery of 90-107% with SP 1 results of 103.86% and SP 2 of 100.51%. The test results were not detected in the chromatogram of solution (01 L; 07; 08), but were detected in the standard solution and spike solution, namely at λ 221 nm with Rt of 22.255 minutes (standard solution) and 22.258 minutes (spike solution). In addition, the data obtained is accurate (meets the precision requirements of %RPD < 2/3 CV Horwitz) with the results of 3.3313% < 4.3357. The standard curve also has met the linearity requirements ($r \geq 0.999$) with the result of $r = 0.99994$.

Keywords: HPLC, Sodium Saccharin, Hard Candy

Abstrak. Permen keras merupakan pangan olahan dari hasil pendidihan campuran gula dengan bahan tambahan pangan (BTP). Penggunaan BTP dibatasi dalam pangan olahan. Salah satu jenisnya adalah natrium sakarin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar natrium sakarin pada permen keras dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Prosedur penguciannya terdiri dari pembuatan larutan larutan baku (standar), larutan uji (sampel), larutan spike dan larutan dapar fosfat pH 6,8 sebagai fase gerak. Kadar natrium sakarin pada permen keras dihitung dan ditetapkan menggunakan kurva kalibrasi dengan persamaan garis lurus. Kemudian larutan yang terdeteksi dilakukan hasil perhitungan terhadap kadar perlakuan, teoritis, recovery, rata-rata kadar perlakuan, Relative Percent Difference (RPD) (%) atau perbedaan relatif, dan 2/3 CV Horwitz dengan menggunakan larutan spike. Hasil pengujian kadar natrium sakarin pada permen keras yaitu memenuhi syarat %Recovery yang dapat diterima 90-107% dengan hasil SP 1 yaitu 103,86% dan SP 2 yaitu 100,51%. Hasil pengujian yang tidak terdeteksi pada kromatogram larutan (01 L; 07; 08), namun terdeteksi pada larutan baku dan larutan spike, yaitu pada λ 221 nm dengan Rt yaitu 22,255 menit (larutan baku) dan 22,258 menit (larutan spike). Selain itu, data yang didapatkan sudah teliti (memenuhi syarat presisi %RPD < 2/3 CV Horwitz) dengan hasil 3,3313% < 4,3357. Kurva baku sudah memenuhi syarat linearitas ($r \geq 0,999$) dengan hasil $r = 0,99994$.

Kata kunci: KCKT, natrium sakarin, permen keras

PENDAHULUAN

Pangan berdasarkan Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2012 merupakan segala sesuatu yang berasal dari sumber daya alam baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukkan untuk dikonsumsi oleh manusia, termasuk bahan tambahan dan bahan yang digunakan dalam pengolahan makanan dan minuman. Pangan terbagi menjadi pangan segar, pangan olahan, pangan olahan tertentu, dan pangan siap saji. Pangan olahan merupakan minuman atau makanan yang diproses dengan cara tertentu, dengan atau tanpa menggunakan Bahan Tambahan Pangan (BTP) (Istana UMKM, 2023). Dalam rangka keamanan pangan, laboratorium pengujian kimia produk pangan Balai Besar POM di Serang melakukan pengujian sederhana yaitu pengujian kimia produk pangan yaitu permen keras. Permen keras merupakan salah satu dari 16 jenis kategori pangan berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 34 Tahun 2019 tentang Kategori Pangan. Permen keras termasuk produk pangan olahan yang terbuat dari hasil pendidihan campuran gula dengan BTP (Zagoto 2021). (Suprayatmi 2017) dalam (Widanti and Sutardi 2020) menyatakan bahwa tekstur permen keras didapatkan dari komponen penting dalam pembuatan permen keras yaitu glukosa sehingga tekstur tidak menjadi lunak apabila dikunyah.

Berdasarkan Pasal 1 Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 tentang BTP, merupakan bahan yang ditambahkan ke dalam pangan dengan tujuan untuk mengubah bentuk atau sifat pangan (BPOM 2019). Pada Pasal 3, BTP terdiri dari 27 golongan, yaitu antioksidan, pengawet, pemanis, dan sebagainya. Batas maksimal penggunaan BTP yang ditetapkan pada setiap jenis BTP dan kategori pangan terdapat pada Pasal 5. BTP yang diperbolehkan untuk dapat ditambahkan ke dalam permen yaitu pemanis buatan seperti natrium sakarin. Natrium sakarin memiliki harga yang relatif lebih murah (Elfariyanti and Risnayanti 2019), dan memiliki rasa manis 300x lebih tinggi dari sukrosa (Marliza, Mayefis, and Islamiati 2020). Namun dalam penggunaannya pada produk olahan pangan batasan maksimum konsumsi yaitu 0-5 mg/kg berat badan (BPOM 2019), sedangkan 100 mg/kg untuk permen kalori rendah (SNI 1995). Mengonsumsi natrium sakarin secara berlebihan dapat mengakibatkan gangguan kesehatan seperti sakit kepala, asma, diare, hipertensi, dan sebagainya (Jayadi dan Hernaningsih, 2021).

Produsen dalam memproduksi produk pangan harus memperhatikan batasan maksimum penggunaan natrium sakarin untuk mengurangi timbulnya masalah keamanan pangan (Jamil Azhar, Sabilu Yusuf, and Munandar Sabril 2017). Kadar natrium sakarin pada pangan olahan dapat dianalisis menggunakan metode spektrofotometri, volumetrik (sampel cair) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Metode spektrofotometri dapat menghasilkan hasil analisis kuantitatif yang sangat akurat tetapi membutuhkan waktu yang relatif lama, membutuhkan banyak perlakuan terhadap sampel dan jumlah bahan yang digunakan cukup banyak sehingga dapat menyebabkan kesalahan pengukuran yang semakin besar. Metode volumetrik memberikan tingkat akurasi yang cukup tinggi dan harganya yang relatif terjangkau tetapi analisis senyawa pada sampel yang kurang spesifik (Kusuma. A.S.W and Rosalina.G 2020).

Metode KCKT merupakan metode modern untuk memisahkan dan menetapkan kadar suatu senyawa analit dengan kecepatan yang tinggi, berdasarkan perbedaan sifat kepolaran diantara fase diam dan fase gerak. Metode KCKT menghasilkan kromatogram yang bertujuan untuk mengukur luas puncak dari analit yang dibandingkan dengan luas area yang menjadi standar (Kusuma. A.S.W and Rosalina.G 2020). Metode KCKT membutuhkan biaya yang lebih mahal dan pengetahuan lebih luas mengenai kondisi optimal untuk analit, pelarut, dan gradien elusi tetapi memiliki keunggulan dalam memudahkan dalam pengoperasian dan pengambilan sampel, dan memiliki tingkat sensitivitas dan kecepatan yang tinggi serta dapat memisahkan campuran molekul tertentu (Kembaren and Harahap 2014). Berdasarkan latar belakang tersebut, Untuk mengawasi penggunaan natrium sakarin pada permen keras maka dilakukan pengujian dan evaluasi standar mutu kadar natrium sakarin dengan metode KCKT.

METODE

BAHAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan utama yaitu permen keras berdasarkan pertimbangan dari peneliti BPOM di Serang Banten. Bahan kimia untuk analisis dengan metode KCKT yaitu kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) 0,68 g, dikalium hidrogen fosfat (KH_2PO_4) 0,87 g, permen keras, reagen asam fosfat encer (H_3PO_4) 10%, aquadem, dan baku natrium benzoat, asam sorbat, dan natrium sakarin.

ALAT

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang terdiri dari: kolom C18 (250 nm x 4,5 nm dan ukuran partikel 2,7 μm), detektor PDA, dan fase gerak berupa dapar fosfat pH 6,8. Alat lainnya yaitu sonikator, shaker, neraca analitik, neraca mikro, stirer, seperangkat alat

filtrasi vakum, blender, pH meter, sudip, batang pengaduk, pipet tetes, mikropipet 20-200 μ l dan 100-1000 μ l, syringe 4.5 nm, kertas saring, gelas beaker, gelas erlenmeyer, corong, labu ukur 10 ml, labu ukur 50 ml, dan tabung vial.

DESAIN PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan adalah *sampling purposive* yang mana pengambilan sampel permen keras yang digunakan dapat mewakili dan berperan penting untuk mengevaluasi suatu kandungan seperti bahan tambahan pangan dengan pertimbangan dari peneliti. Sampel yang dikumpulkan dapat ditentukan berdasarkan pengetahuan populasi, anggotanya, dan tujuan penelitian yang kemudian diikuti oleh penelitian lanjutan yang sampelnya diambil (random) (Heri Retnawati 2015). Sampel permen keras diambil dengan 3 merk yang berbeda disatu titik lokasi. Pengujian kadar natrium sakarin pada permen keras dilakukan dengan 3 ulangan menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) di laboratorium pengujian kimia produk pangan Balai Besar POM di Serang.

TAHAPAN PENELITIAN

Tahapan Pelaksanaan Penelitian

Prinsip kerja metode KCKT yaitu pemisahan komponen dari analit di dalam kolom berdasarkan sifat kepolarannya. Cara pengoperasiannya adalah ketika sampel diinjeksikan ke dalam kolom, sampel akan terurai dan terpisah menjadi senyawa (analit) karena afinitasnya yang berbeda. Selanjutnya hasil pemisahan dideteksi oleh detektor dan diinterpretasikan dalam bentuk grafik kromatogram di layar monitor. Grafik kromatogram berisi konsentrasi suatu senyawa yang dinyatakan dalam luas *peak*, dan jumlah komponen dinyatakan dalam jumlah *peak* (Kusuma and Ismanto. 2016). Karakterisasi kromatogram dapat melalui dua cara, yaitu dengan melihat lebar puncak (*w*), dan waktu retensi (*Rt*) (Batubara dan Wahyuni, 2022).

KCKT yang digunakan yaitu fase terbalik, yaitu fase gerak bersifat polar, dan fase diam bersifat kurang/non polar. Fase geraknya berupa dapar fosfat pH 6.8:metanol (96:4). selain itu terdiri dari pompa, tempat pemasukkan sampel, dan detektor. Perbandingan ini disesuaikan dengan tujuan untuk memperoleh selektivitas yang baik (Sulistyowati et al. 2018). Proses penghilangan gas dilakukan pada fase gerak untuk meminimalisir kesalahan saat proses KCKT dijalankan sebelum melakukan analisis natrium sakarin. Spesifikasi peralatan KCKT yang digunakan adalah sebagai berikut:

- Fase diam : Pursuit C18 (P: 250 mm x L: 4,6 mm x 5 μ m)
- Fase gerak : Dapar fosfat pH 6.8 – Metanol (96:4)
- Volume injeksi : 20 μ l
- Sistem injeksi : Autosampler
- Laju alir: 1,0 ml per menit
- Detektor : Photo Dioda Array (PDA λ 225 nm)

Penggunaan kerangka pengujian kadar natrium sakarin pada permen keras dengan metode KCKT dilakukan terhadap beberapa parameter percobaan yaitu komposisi fase dapar fosfat pH 6,8 (fase gerak), jenis kolom fase balik pembuatan larutan larutan baku (standar), larutan uji (sampel), dan larutan spike.

1. Pembuatan Larutan Baku (Standar)

Natrium sakarin ditimbang masing-masing sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian dilarutkan menggunakan metanol:aquadem (60:40) ke dalam labu ukur 50 mL sampai tanda tera. Selanjutnya dihomogenisasi dengan shaker sehingga diperoleh larutan baku induk konsentrasi 1000 μ g/ml. Larutan baku induk ini, masing-masing dipipet 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan aquadem hingga tanda tera yang selanjutnya dilakukan homogenisasi dan diperoleh larutan baku antara didapatkan (100 μ g/ml). Setelah itu, larutan baku kerja dibuat dengan rentang kadar 0,09 – 18 μ g/ml menggunakan pengenceran bertingkat dari larutan baku antara (0,01; 0,05; 0,1; 0,4; 0,6; 0,8; 1,2; 1,6; 2) yang masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquadem hingga tanda tera. Kemudian dihomogenisasi, disaring (syringe 0.45 μ m) dan dimasukkan kedalam tabung vial untuk dianalisis dengan KCKT, serta dilakukan sonifikasi 10-15 menit.

2. Pembuatan Larutan Uji (Sampel)

Sampel permen keras yang telah dihomogenkan dalam bentuk serbuk ditimbang sebanyak 2gram menggunakan neraca analitik. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquadem hingga mencapai tanda tera. Selanjutnya dihomogenisasi menggunakan shaker selama 2 menit. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan kertas saring. Hasil filtrat sampel tersebut sebanyak 2 mL dimasukkan ke labu ukur 10 mL menggunakan mikropipet yang kemudian ditambah aquadem hingga batas tera. Larutan tersebut disaring dengan syringe 0.45 μ m, dimasukkan ke tabung vial lalu disonifikasi 10-15 menit sebelum dimasukkan ke tempat injeksi sampel KCKT.

3. Pembuatan Larutan Spike

Prosedur pembuatan larutan spike hampir sama dengan larutan uji. Perbedaannya terletak pada proses sebelum dilakukan homogenisasi, yaitu ditambahkan larutan baku antara 1 mL ke dalam labu ukur 50 mL yang berisi sampel. Sampel permen keras yang telah dihomogenkan dalam bentuk serbuk ditimbang sebanyak 2 gram menggunakan neraca analitik. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, tambahkan larutan baku antara 1 mL dan aquadem hingga mencapai tanda tera. Selanjutnya dihomogenisasi menggunakan shaker selama 2 menit. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan kertas saring. Hasil filtrat sampel tersebut sebanyak 2 mL dimasukkan ke labu ukur 10 mL menggunakan mikropipet yang kemudian ditambah aquadem hingga batas tera. Larutan tersebut disaring dengan syringe 0.45 μ m dan dimasukkan ke tabung vial lalu disonifikasi 10-15 menit.

4. Pembuatan Fase Gerak Dapar Fosfat

Kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) ditimbang sebanyak 0.68 gram dan dikalium hidrogen fosfat (K_2HPO_4) ditimbang sebanyak 0.87 gram. Kemudian dicampur dan dimasukkan ke dalam gelas beaker 1 liter. Aquadem ditambahkan hingga 900 ml dan distirer hingga larut. Selanjutnya larutan asam fosfat encer ditetesi hingga mendapatkan pH 6.8. Setelah pH sesuai maka ditambahkan aquadem hingga 1 liter, kemudian dibuat perbandingan dapar fosfat pH 6.8: metanol (96:4), lalu dilakukan filtrasi dengan seperangkat alat filtrasi vakum. Hasil filtrasi dimasukkan ke gelas beaker 1 liter dan didegase 10-15 menit.

Metode Analisis

Analisis Data

Kadar natrium sakarin pada permen keras dihitung dan ditetapkan menggunakan kurva kalibrasi dengan persamaan garis lurus, yaitu pada persamaan (1).

$$Y = a + bx \quad (1)$$

keterangan:

- Y : area
- x : konsentrasi
- a : intersept
- b : slope

Kemudian larutan yang terdeteksi dilakukan hasil perhitungan terhadap kadar perlakuan, teoritis, recovery, rata-rata kadar perlakuan, Relative Percent Difference (RPD) (%) atau perbedaan relatif, dan 2/3 CV Horwitz dengan menggunakan larutan spike yang dapat dilihat pada persamaan (2), (3), (4), (5), (6), (7), dan (8).

- CSP (x) : $y + a / b$ (2)
- Kadar perlakuan : $\frac{\text{CSP} \times \text{Fp}}{Z}$ (3)
- Kadar teoritis (spike) : $\frac{\text{Volume pemipetan} \times \text{kadar baku induk}}{\text{Berat spike}}$ (4)
- Recovery (%) : $\frac{\text{Kadar perlakuan} - \text{kadar zat aktif pada sampel}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\%$ (5)
- Rata-rata kadar perlakuan : $\frac{\text{Perlakuan 1} \times \text{Perlakuan 2}}{2}$ (6)
- RPD (%) : $\frac{\text{Kadar perlakuan 1} - \text{kadar perlakuan 2}}{\text{rata-rata kadar perlakuan}} \times 100\%$ (7)
- 2/3 CV Horwitz : $2^{(1 - 0,5 * \log C)} \times \frac{2}{3}$ (8)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil kromatogram metode KCKT pada sampel permen keras terdiri dari kromatogram baku (standar), larutan uji (sampel) dan larutan spike, serta profil spektrum. Larutan baku merupakan larutan yang konsentrasinya sudah diketahui (Adriani and Safira 2019). Hasil kromatogram dapat dilihat dari hasil retention time (Rt). Rt adalah waktu yang dibutuhkan untuk melihat puncak analit melalui detektor setelah proses penyuntikan sampel (Ibrahim Slamet, 2017). Profil spektrum yang diperoleh terdiri dari profil spektrum larutan baku natrium sakarin dan profil

spektrum larutan spike. Hasil Rt pada kromatogram baku, natrium sakarin yang terbaca melalui detector PDA yaitu 22,255 menit dan hasil profil spektrum yang terdeteksi pada panjang gelombang 221 nm. Hasil ini menjadi pembandingan untuk kromatogram spike (SP) dan sampel.

Hasil Rt pada SP, sama dengan nilai larutan baku yaitu SP 1 dan SP 2 = 22,258 menit dengan hasil profil spektrum yang terdeteksi pada panjang gelombang 221 nm. Hal ini dapat dikatakan bahwa hasil larutan spike yang diperoleh sudah mendekati larutan baku. Selain itu, terdaksinya natrium sakarin, karena detektor PDA memiliki rentang panjang gelombang untuk mendeteksi suatu komponen yaitu 200 – 400 nm (Hofmann and Wirtz 2010) dan panjang gelombang natrium sakarin dapat terdeteksi melalui KCKT yaitu pada λ 220 nm (Cheng et al. 2020).

Berbeda halnya dengan larutan sampel yang tidak terdeteksi senyawa natrium sakarin pada kromatogram, serta tidak memiliki profil spektrum. Hal ini dapat disebabkan, senyawa natrium sakarin pada sampel memiliki jumlah dibawah batas deteksi/ LOD (Limit of Detection) dari natrium sakarin pada KCKT ini yaitu 10,68 mg/kg. LOD merupakan batasan terendah dari konsentrasi analit dalam sampel yang masih dapat terdeteksi oleh suatu metode (Suoth et al. 2022). Perbedaan kromatogram baku dengan sampel sangat signifikan karena tidak terdapat peak natrium sakarin pada kromatogram sampel, serta tidak terdapat area dan Rt yang sama dengan baku. Maka dapat dikatakan bahwasannya sampel permen keras tidak mengandung natrium sakarin, atau penggunaan pemanis buatan ini di bawah LOD. Pada penelitian Ibrahim Slamet (2017), mengenai beberapa makanan jajanan batas deteksi sakarin terendah yang diperoleh adalah 0,76 $\mu\text{g/ml}$ yang mana semakin rendah batas deteksinya maka semakin tinggi kepekaan metodenya dan semakin sensitif kemampuan mendeteksinya (Ibrahim Slamet, 2017).

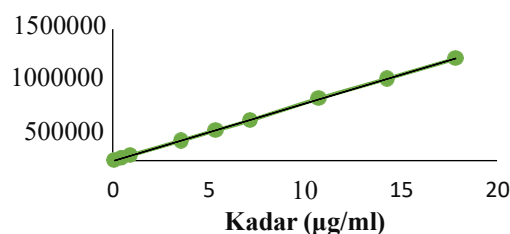
[Tabel 1](#) menunjukkan konsentrasi pengenceran larutan baku antara yang digunakan beserta kadar $\mu\text{g/ml}$ dan area. Tiap konsentrasi pengenceran di ad 10 ml aquadem, artinya tiap pengenceran dimasukkan ke labu ukur 10 ml lalu ditambahkan aquadem hingga tanda. Perhitungan kadar pada [Tabel 2](#) didapatkan dari pengenceran dibagi 10 dan dikali kadar baku antara. Kadar dan area yang sudah diperoleh digunakan untuk membuat grafik kurva baku sehingga diketahui proporsional hasil yang didapatkan dalam suatu metode analisis (Syukri et al. 2015). Hasil proporsional ini menghubungkan antara kadar/konsentrasi larutan dengan nilai AUC (*Area Under Curve*) dari larutan baku natrium sakarin pada panjang gelombang 221 nm. Kurva baku disajikan pada [Gambar 1](#).

Tabel 1. Pengenceran dan Kadar Baku Kerja

Pengenceran (ml)	Kadar ($\mu\text{g/ml}$)	Area
0,01 ad 10	0,0894	3647
0,05 ad 10	0,4468	25155
0,1 ad 10	0,8936	57467
0,4 ad 10	3,5742	229160
0,6 ad 10	5,3613	345350
0,8 ad 10	7,1484	458379
1,2 ad 10	10,7726	708193
1,6 ad 10	14,2968	934735
2 ad 10	17,8710	1164141

Natrium Sakarin

$$y = 65.514,2182x - 3.454,8268$$



Gambar 1. Kurva baku natrium sakarin

Kurva baku pada [Gambar 1](#) menghasilkan persamaan regresi yaitu $y = 65.514,2182x - 3.454,8268$. Koefisien korelasi (r) yang diperoleh yaitu $r \geq 0,9999$. Berdasarkan teori, nilai koefisien korelasi yang semakin mendekati 1, maka semakin memenuhi syarat linearitas (Tania, Sitepu, and Harahap 2016) Syarat linearitas yang baik yaitu $r \geq 0,999$ (Siswanto et al., 2016). Teori lain menyatakan yaitu syarat koefisien korelasi (r) pada

pengendalian mutu yaitu $\geq 0,995$ (Lusiana, 2012). Sedangkan menurut instruksi kerja verifikasi laboratorium pangan dan air Balai Besar POM di Serang, syarat keberterimaan koefisien korelasi yaitu $r \geq 0,999$. Dari hasil yang diperoleh, dapat dikatakan larutan baku yang digunakan sudah baik karena memenuhi syarat linearitas dengan dibuktikan semakin besar area, kadar yang diperoleh semakin besar, serta nilai koefisien korelasi yang semakin mendekati angka 1.

Tabel 2. Hasil Data Larutan Sampel dan Spike

Natrium Sakarin	W + Z (g)	W (g)	Z (g)	Area	Fp (ml)	Kadar (mg/kg)	Spike ($\mu\text{g/ml}$)	Rec(%)	\bar{x}	RPD (%)	2/3 CV Horwitz
01 L A	36,197	34,106	2,091	0	250	nd	-	-	-	-	-
01 L B	35,771	33,766	2,005	0	250	nd	-	-	-	-	-
01 L C	37,976	35,879	2,097	0	250	nd	-	-	-	-	-
07 A	33,998	31,985	2,013	0	250	nd	-	-	-	-	-
07 B	37,958	35,850	2,108	0	250	nd	-	-	-	-	-
07 C	33,905	31,894	2,011	0	250	nd	-	-	-	-	-
08 A	35,931	33,837	2,094	0	250	nd	-	-	-	-	-
08 B	37,982	35,885	2,097	0	250	nd	-	-	-	-	-
08 C	37,598	35,607	1,990	0	250	nd	-	-	-	-	-
8SP 1	36,351	34,313	2,038	239746	250	455,440	438,509	103,860	449,580	3,330	4,340
8SP 2	37,208	35,169	2,039	231904	250	440,510	438,273	100,510			

Keterangan:

- nd : Not Detection (Tidak terdeteksi)
- W + Z : Berat wadah kosong + sampel / spike (g)
- W : Berat wadah kosong (g)
- Z : Berat sampel atau berat spike (g)
- Fp : Faktor pengenceran (ml)
- Kadar : Kadar perlakuan (mg/kg)
- Spike : Kadar teoritis (mg/kg)
- Rec : Persentase perolehan kembali
- RPD : Persentase perbedaan relatif (%)
- 2/3CVH : Koefisien Varian Hortwiz

Tabel 2 menunjukkan hasil perhitungan kadar perlakuan, teoritis, recovery, rata-rata kadar perlakuan, Relative Percent Difference (RPD) (%) atau perbedaan relatif, dan 2/3 CV Horwitz dengan menggunakan larutan spike. Spike merupakan campuran larutan sampel dengan larutan standar (Riyanto Ph.D 2014). Untuk larutan sampel tidak terdeteksi, maka tidak dilakukan perhitungan lebih lanjut terhadap komponen-komponen tersebut.

Hasil yang didapatkan untuk kadar perlakuan SP1 dan SP2 masing-masing yaitu 455,44 mg/kg dan 440,51 mg/kg, sedangkan kadar teoritis SP 1 dan SP 2 masing-masing yaitu 438,51 mg/kg dan 438,27 mg/kg. Rata-rata kadar perlakuan yaitu 447,9763 mg/kg. Terkait uji presisi, %RPD didapatkan dari pengukuran 2 ulangan sampel (Murti dan Purwanti, 2014). Dalam hal ini, digunakan pengulangan larutan spike karena pada larutan sampel tidak memiliki data. Selain itu, pada Tabel 2, larutan spike yang diperoleh hanya memiliki 2 ulangan (duplo), maka rumus yang cocok untuk perhitungan presisi yaitu dengan menggunakan %RPD. Berdasarkan teori, rumus %RPD digunakan pada ulangan data secara duplo (Habibi, 2020), sedangkan RSD% dapat digunakan pada ulangan data sebanyak 3 kali (triplo) atau lebih (Ayuni, 2022). Rumus perhitungan %RPD dapat dilihat pada subbab hasil. Kemudian terdapat 2/3 CV Horwitz yang berkaitan dengan uji presisi. Suatu uji presisi yang baik yaitu memiliki syarat %RPD < 2/3 CV Horwitz. Hasil %RPD yang diperoleh yaitu 3,33% sedangkan hasil 2/3 CV Horwitz yaitu 4,34. Nilai ketertiruan (reproducibility) didapatkan dari rumus 2/3 CV Hortwiz. Suatu presisi akan terpenuhi syaratnya apabila CV Hortwiz lebih besar dari %RPD atau %RSD (Utami, 2017). Sehingga dapat dikatakan bahwasannya ketelitian analisis yang dilakukan sudah baik (Sasongko et al., 2017).

Hasil perlakuan SP1, kadar yang diperoleh adalah 455,44 mg/kg dan kadar teoritis 438,51 mg/kg sedangkan perlakuan SP2, kadar yang diperoleh adalah 440,51 mg/kg dan kadar teoritis 438,27 mg/kg diperoleh

rata-rata kadar perlakuan yaitu 447,9763 mg/kg. Terkait uji presisi, %RPD didapatkan dari pengukuran 2 ulangan sampel (Murti dan Purwanti, 2014). Dalam hal ini, digunakan pengulangan larutan spike karena pada larutan sampel tidak memiliki data. Selain itu, pada Tabel 2, larutan spike yang diperoleh hanya memiliki 2 ulangan (duplo), sehingga perhitungan presisi yang digunakan adalah %RPD. Menurut (Habibi, 2020) rumus %RPD digunakan pada ulangan data secara duplo sedangkan menurut Ayuni (2022), RSD% dapat digunakan pada ulangan data sebanyak 3 kali (triplo) atau lebih. Suatu presisi terpenuhi syaratnya apabila $2/3$ CV Horwitz lebih besar dari % RPD atau % RSD (Utami A.R 2017). Hasil % RPD yang diperoleh yaitu 3,33% sedangkan hasil $2/3$ CV Horwitz yaitu 4,34 Nilai ketertiruan (reproducibility) didapatkan dari rumus $2/3$ CV Horwitz Sehingga dapat dikatakan bahwasannya ketelitian analisis yang dilakukan sudah baik (Sasongko et al., 2017). Berdasarkan teori, syarat recovery yang baik yaitu berkisar antara 90% hingga 107% (Riyanto Ph.D 2014). Hasil yang diperoleh untuk recovery SP1 yaitu 103,86% dan SP2 yaitu 100,51% sehingga dapat dikatakan hasil yang diperoleh sudah masuk ke dalam rentang % recovery dan metode KCKT yang digunakan sudah memiliki ketepatan atau akurasi yang baik (Vikri, Ghinan, and Ardhe 2022). presentase Recovery yang dapat diterima dapat dilihat pada [Tabel 3](#) (Utami, 2017):

Tabel 3. Presentase Recovery yang Dapat Diterima

Unit	Rata-rata Recovery (%)
0,1 %	95 – 105%
100ppm	90-107%

Hasil yang didapatkan memiliki angka di atas 100 ppm (batas bawah) dan di bawah 0,1 % (batas atas). Untuk pemilihan syarat %Recovery yang baik yaitu dengan mengambil batas bawah, yakni di atas 100 ppm dengan persentase Recovery yang dapat diterima yakni 90 – 107 %. Sehingga dapat dikatakan hasil yang diperoleh untuk SP 1 dan SP 2 sudah masuk ke dalam rentang %Recovery tersebut.

KESIMPULAN

Pengujian dan evaluasi kadar natrium sakarin pada permen keras menggunakan KCKT yaitu tidak terdeteksi natrium sakarin pada permen keras pada kromatogram larutan sampel, namun terdeteksi pada larutan baku dan larutan spike, yaitu pada λ 221 nm dengan Rt yaitu 22,255 menit (larutan baku) dan 22,258 menit (larutan spike). Data yang diperoleh sudah valid dan presisi (%RPD < $2/3$ CV Horwitz) dengan hasil 3,3313 (%) < 4,3357 serta kurva baku sudah memenuhi syarat linearitas ($r \geq 0,999$) dengan hasil $r = 0,99994$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan (BPPOM) di Serang – Banten.

DAFTAR PUSTAKA

- Aulia, S.S, dan Muchtaridi, M. 2016. Penetapan Kadar Simvastatin Menggunakan Kromatorafi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Farmaka*, 14(4) :70-78.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2019. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan. Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2019. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 34 Tahun 2019 tentang Kategori Pangan. Jakarta.
- Batubara, dan Wahyuni, S. 2022. Buku Ajar Analisis Bahan Hayati Prinsip Anaisis Kimia pada Bahan Hayati. IPB Press. Bogor. 183 hal
- Cheng, Z. et al. 2020. Rapid Determination for Benzoic Acid, Sorbic Acid, Phenyllactic Acid, Phenylalanine, and Saccharin Sodium in Vinegar by High-Performance Liquid Chromatography–UV. *Food Anal. Methods* 13, 1673–1680.

- Elfariyanti & Risnayanti. 2019. Analisis Kandungan Natrium Siklamat pada Manisan Pala Yang Diproduksi di Kota Tapaktuan Provinsi Aceh. *J. Serambi Akad.* 7, 1073–1079.
- Grembecka, M., Baran, P., Błażewicz, A., Fijalek, Z. & Szefer, P. 2014 Simultaneous determination of aspartame, acesulfame-K, saccharin, citric acid and sodium benzoate in various food products using HPLC-CAD-UV/DAD. *Eur. Food Res. Technol.* 238, 357–365.
- Idris, M., John, C., Ghosh, P., Shukla, S. K. & Baggi, T. R. R. 2013. Simultaneous determination of methaqualone, saccharin, paracetamol, and phenacetin in illicit drug samples by hplc. *J. Anal. Sci. Technol.* 4, 2–7.
- Istana UMKM. 2023. Produksi Pangan Olahan Terkemas. diambil dari <https://istanaumkm.pom.go.id/> teknologi-proses/pangan/produksi-pangan-olahan-terkemas (Diakses pada 18 Februari 2023).
- Jamil, A., Sabill, Y, dan 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*, 2(6) :1-11.
- Jayadi, L, dan Hernaningsih, M. 2021. Analisis Kandungan Pemanis Buatan Siklamat pada Sirup yang Beredar Dipasar Besar Malang Secara Kuantitatif Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 3(3) :199-210.
- Laporan Tahunan Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan. 2021. Laporan Tahunan Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan di Serang.
- Kembaren, A, dan Harahap, T. 2014. Validasi Metode Penentuan Sakarin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Pendidikan Kimia*, 6(2) :70-80.
- Kusuma, A.S.W, dan Rosalina, G. 2016. Analisis Kadar Kapsaisin dari Ekstrak “Bon Cabe” dengan Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Farmaka*, 14(2) :11-18.
- Marliza, H., Mayefis, D. & Islamiati, R. 2020. Analisis Kualitatif Sakarin dan Silamat pada Es Doger di Kota Batam. *J. Farm. Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 6, 81.
- Rachman, S.D, Mukhtari, Z, dan Sdjanaatmadja, R.U.M. 2017. Alga Merah (*Gracilaria coronopifolia*) sebagai Sumber Fitohormon Sitokinin yang Potensial. *Chimica et Natura Acta*, 5(3) :124-131.
- Riyanto. 2014. Validasi dan Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi Edisi 1. Yogyakarta: Budi Utama.
- Standar Nasional Indonesia. 1995. SNI 01-0222-1995 tentang Bahan Tambahan Makanan. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Standar Nasional Indonesia. 2004. SNI 01-6993-2004 tentang Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan - Persyaratan Penggunaan dalam Produk Pangan. Jakarta.
- Suoth, E. J., Datu, O., Jayanti, M. & Wehantouw, F. 2020. Analisis Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Pelarut dari Sediaan Krim Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae*). *Chem. Prog.* 15, 56–62.
- Suprayatmi, M. 2015. Pemanfaatan Ekstrak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Lynn) sebagai Pewarna Alami pada Pembuatan Soft Candy. *Jurnal Agroindustri Halal*, 21(2) :141-147.
- Syukri, Y., Nugroho, A.E., Martien, R, dan Lukitaningsih, E. 2015. Validasi Penetapan Kadar Isolat Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) menggunakan HPLC. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, 2(1) :8-14.
- Utami, A.R. 2017. Verifikasi Metode Pengujian Sulfat dalam Air dan Air Limbah Sesuai SNI 6989.20:2009. *Jurnal Teknologi Proses dan Inovasi Industri*, 2(1) :19-25.
- Vikri, M., Sholih, M.G, dan Gatera, V.A. 2022. Identifikasi Kadar Kurkumin pada Minuman Serbuk Berbahan Temulawak dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2) :191-196.
- Widanti, Y. A. & Sutardi, S. 2020. Pendampingan Pengembangan Produk Permen Susu di Desa Balerante Jawa Tengah. *JMM (Jurnal Masy. Mandiri)* 4, 4–11.
- Zagoto, A. 2021. Analisis Makna Ungkapan dalam Bahasa Gaul diBungkusan Permen “KIS”. *Jurnal Education and Development*, 9(2) :621-625.

Conflict of Interest Statements: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2024 Muhammad Syafa Al Ghifari, Siti Nurlaeni Pujowati, Nezly Nurlia Putri. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Licences (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.