

2009

# Analisis Zat Pengawet pada Minuman Kemasan dengan Teknik Kromatografi

Yunita, Merry

Universitas Sumatera Utara

---

<http://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/14395>

*Downloaded from Repositori Institusi USU, Universitas Sumatera Utara*

**ANALISIS ZAT PENGAWET PADA MINUMAN  
KEMASAN DENGAN TEKNIK KROMATOGRAFI**

**SKRIPSI**

Diajukan Untuk Melengkapi Tugas dan Memenuhi  
Syarat Mencapai Gelar Sarjana Sains

**MERRY YUNITA**

**020801009**



**DEPARTEMEN FISIKA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA**

**MEDAN**

**2009**

**PERNYATAAN****ANALISIS ZAT PENGAWET PADA MINUMAN  
KEMASAN DENGAN TEKNIK KROMATOGRAFI****SKRIPSI**

Saya mengakui bahwa skripsi ini adalah hasil kerja saya sendiri, kecuali beberapa kutipan dan ringkasan yang masing-masing disebutkan sumbernya.

Medan, April 2009

MERRY YUNITA  
020801009

i

i

**PERSETUJUAN**

Judul : ANALISIS ZAT PENGAWET PADA  
MINUMAN KEMASAN DENGAN TEKNIK  
KROMATOGRAFI

Kategori : SKRIPSI

Nama : MERRY YUNITA PASARIBU

Nomor Induk Mahasiswa : 020801009

Program Studi : FISIKA (S-1)

Departemen` : FISIKA

Fakultas : MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN  
ALAM (FMIPA) UNIVERSITAS SUMATERA  
UTARA

Diluluskan di:

Medan, April 2009

Diketahui/Disetujui oleh:  
Departemen Fisika FMIPA USU  
Ketua,

Pembimbing,

**(DR. Marhaposan Situmorang)**  
**Nip. 130 810 771**

**(Drs. Herli Ginting, MS)**  
**Nip. 131 570 522**

## PENGHARGAAN

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Yang Maha Baik atas anugrah yang diberikan-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Ucapan terima kasih saya sampaikan kepada Bapak Drs. Herli Ginting, MS, Bapak Drs. Nelson Simanjuntak, MS dan Bapak Emil, SSi selaku dosen pembimbing pada penyelesaian skripsi ini yang telah memberikan panduan dan bimbingannya. Ucapan terima kasih juga saya ajukan kepada Ketua Departemen Fisika, Bapak DR. Marhaposan Situmorang dan Sekretaris Departemen Fisika, Ibu Dra. Yustinon, MS, Dekan FMIPA USU dan Pembantu Dekan, seluruh staf administrasi FMIPA USU.

Terima kasih kepada seluruh dosen penguji, Bapak Drs. Ferdinan Sinuhaji, MS, Bapak Drs. H. Sudjono, MS dan Ibu Dra. Zuriah Sitorus, MS atas saran dan bimbingannya.

Ucapan terima kasih juga kepada Bapak Drs. Nerrus Tarigan, MS selaku dosen pembimbing akademik, dan kepada seluruh dosen FMIPA khususnya dosen pengajar di departemen Fisika yang telah banyak membantu selama masa perkuliahan. Dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ayahanda St. S. Pasaribu, Ibunda L. Br. Sitorus, Suami K.J. Pangaribuan, ST, Abang Henry, Abang dan Kakak dan seluruh keluarga yang telah banyak memberikan bantuan dan doanya.

Akhirnya skripsi ini saya persembahkan untuk kedua putra saya:

Fidel Abdiel Salomo Pardomuan Pangaribuan dan

Timotius Sahat Martua Rejeki Pangaribuan.

**ANALISIS ZAT PENGAWET PADA BEBERAPA MINUMAN KEMASAN  
DENGAN TEKNIK KROMATOGRAFI**

**ABSTRAK**

Telah dilakukan penelitian tentang analisis zat pengawet pada beberapa minuman kemasan yang meliputi analisis kualitatif dan kuantitatif dengan teknik kromatografi. Konsentrasi zat pengawet pada sample ditentukan dengan kurva kalibrasi baku standar. Konentrasi zat pengawet dibandingkan dengan standar zat pengawet pada peraturan Menteri Kesehatan No. 722/Menkes/per/IX/1988. Dan dilakukan uji regresi dan korelasi antara area dan konsentrasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa konsentrasi zat pengawet masih memenuhi aturan standar.

## **PRESERVATIVE ANALYSIS IN SOME OF SOFT DRINKS USED CROMATHOGRAPHY**

### **ABSTRACT**

A research has been conducted on qualitative and quantitative of soft drinks preservative analysis. The analysis used chromathography. The calibration kurve of real standard was used to determine the concent of preservative. The concents of the drinks preservative would be suitable for the standard of preservative of Minister of Publik Health R.I No. 722/Menkes/per/IX/1988. The data was analyzed by using correlation and signification method between area and concentration and the result of the research has fulfilled quality standard of preservative.

## DAFTAR ISI

	Halaman
Persetujuan .....	i
Penghargaan .....	ii
Abstrak .....	iii
Abstract .....	iv
Daftar Isi .....	v
Daftar Tabel .....	viii
Daftar Gambar .....	ix
<b>BAB 1    PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	2
1.3 Batasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan Penelitian .....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
1.6 Lokasi Penelitian .....	3
1.7 Sistematika Penulisan.....	3
<b>BAB 2    LANDASAN TEORI</b>	
2.1 Pengertian Kromatografi .....	4
2.2 Pembagian Kromatografi	
2.2 Polaritas .....	7
2.4 Penyerapan Sinar UV dan Sinar Tampak Oleh Molekul .....	9
2.5 Aspek Kualitatif dan Kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis .....	9
2.6 Kromatografi Cair kinerja Tinggi .....	10
2.7 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif .....	22
2.7.1 Analisis Kualitatif .....	22
2.7.2 Analisis Kuantitatif .....	23
2.8 Metode Kuantifikasi .....	25
2.9 Zat pengawet .....	27
2.9.1 Tujuan Penggunaan Bahan Pengawet .....	27
2.9.2 Pembagian Zat pengawet .....	27
2.9.3 Dampak Negatif Penggunaan Zat Pengawet .....	28
2.10 Aturan Zat Pengawet No.722/Menkes/per/IX/1988.....	29
<b>BAB 3    METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Bahan.....	30
3.2 Sampel .....	30
3.3 Peralatan .....	31
3.4 Diagram Alir Penelitian .....	31
3.5 Prosedur Penelitian.....	32
3.5.1 Penyiapan Reagensia.....	32



3.5.2 Preparasi sampel.....	32
3.5.3 Kondisi Kromatograf.....	32
3.6 Teknik Sampling .....	33
3.7 Teknik Analisis data.....	33
3.7.1 Teknik Analisis Kualitatif .....	33
3.7.2 Teknik Analisis Kuantitatif .....	33
3.7.3 Teknik Pengujian Analisis Statistika.....	33
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Analisis Kualitatif .....	34
4.2 Analisis Kuantitatif .....	35
4.3 Analisis Korelasi dan Signifikansi .....	38
4.4 Perbandingan Konsentrasi dengan aturan Menkes No.722/Menkes/ Per/IX/1988 .....	39
<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran.....	42
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Perkembangan Kromatografi	4
Tabel 2.2 Klasifikasi Teknik Kromatografi	6
Tabel 2.3 Polaritas Relatif Zat Pelarut	8
Tabel 2.4 Deret Eluotropik Pelarut untuk KCKT	14
Tabel 2.5 Perbandingan Kolom Konvensional Dengan Kolom Mikrobor	15
Tabel 2.6 Karakteristik Detektor Pada KCKT	18
Tabel 2.7 Pengaruh beberapa zat pengawet terhadap kesehatan	
Tabel 4.1 Data Waktu Retensi Sampel	33
Tabel 4.2 Data area dan konsentrasi standar baku	34
Tabel 4.3 Hasil Perhitungan Konsentrasi Pada Sampel	36
Tabel 4.4 Korelasi area dan konsentrasi dengan SPSS	37
Tabel 4.4 Perbandingan Konsentrasi Sampel Dengan Aturan Menkes	38

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Diagram Blok Sistem KCKT Secara Umum	12
Gambar 2.2 Skema penyuntik Keluk	15
Gambar 2.3 Tampilan 3 Dimensi PDA	20
Gambar 2.4 Pengukuran Tinggi Puncak	24
Gambar 2.5 Kurva baku untuk menghitung konsentrasi dengan menggunakan Baku eksternal	25

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Perkembangan dunia industri khususnya industri pangan sangatlah pesat seiring dengan banyaknya permintaan pasar yang meningkat. Hal ini disebabkan dengan semakin banyaknya penduduk yang berperan sebagai konsumen. Makanan dan minuman merupakan benda yang tak dapat dipisahkan dalam kehidupan sehari-hari. Dengan kata lain makanan dan minuman merupakan kebutuhan pokok kita sebagai makhluk hidup.

Untuk kontinuitas pemasaran, industri pangan harus selalu mengusahakan agar produk-produk yang dihasilkan mempunyai kualitas yang baik. Namun, tidak menutup kemungkinan adanya kecurangan yang dilakukan oleh pihak industri pangan tersebut melainkan hanya memikirkan keuntungan yang diperoleh.

Penggunaan zat pengawet dalam industri pangan bukanlah hal yang asing kita temui dalam kehidupan sehari-hari. Khususnya pada industri minuman kemasan. Zat pengawet digunakan sebagai tambahan pada minuman agar minuman dapat dikonsumsi dalam batas waktu yang lama. Banyak jenis minuman kemasan yang kita jumpai di pasar yang menggunakan zat pengawet. Pada umumnya pihak produsen minuman kemasan mencantumkan komposisi, nilai kandungan gizi, batas kadaluarsa dari minuman kemasan yang diproduksi mereka, dan begitu juga untuk jenis zat pengawet yang digunakan biasanya tertera dalam label kemasannya. Namun terkadang kita sering terkecoh dan terlalu percaya dengan apa yang tertera saja tanpa kita tahu kebenarannya. Dengan demikian sudah pasti kita sebagai konsumenlah yang paling dirugikan dalam hal ini.

Penggunaan zat pengawet sebagai bahan tambahan pada minuman kemasan mempunyai aturan baik dari jenis yang digunakan maupun dari segi konsentrasinya. Hal ini sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan yang tertera dalam Menkes No. 722/Menkes/Per/IX /1988.

## 1. 2 Identifikasi Masalah

Banyaknya jenis minuman yang beredar di pasaran, dikhawatirkan semakin banyak pula pemakaian jenis zat pengawet yang tidak sesuai dengan aturan dan ukuran yang diizinkan. Karena itu perlu dilakukan pengawasan mutu dan observasi terhadap minuman ringan dengan baik berdasarkan aturan yang telah ada (Menkes No. 722/Menkes/Per/IX /88.).

Dan untuk mengidentifikasi jenis dari zat pengawet dan mendeteksi konsentrasi zat pengawet yang digunakan dalam kemasan minuman ringan tersebut digunakanlah teknik pemisahan fisika. Adapun teknik pemisahan ini berdasarkan pada sistem yang bergerak secara kontiniu, teknik ini lebih dikenal dengan teknik kromatografi. Ada beberapa jenis kromatograf yang sering dijumpai namun dalam kasus ini peneliti berencana menggunakan kromatograf HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) karena memiliki beberapa keunggulan antara lain:

1. Dapat menangani senyawa yang stabilitasnya terhadap suhu terbatas.
2. Mampu memisahkan senyawa yang sangat serupa dengan resolusi yang baik.
3. Waktu pemisahan yang sangat singkat.
4. Merupakan teknik analisis yang peka.

## 1. 3 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah yang akan dibahas dalam penelitian ini adalah :

1. Menganalisis kualitatif pada kondisi kromatografi yang distandarkan sehingga dapat ditentukan jenis zat pengawet yang digunakan dalam beberapa jenis minuman.
2. Menganalisis kuantitatif zat pengawet dengan teknik kromatografi.
3. Membandingkan hasil analisis kuantitatif zat pengawet dengan Peraturan Menteri Kesehatan yang tertera dalam peraturan No. 722/Menkes/Per/IX /1988.

#### **1. 4 Tujuan Penelitian**

1. Menentukan jenis zat pengawet dari beberapa kemasan minuman.
2. Menentukan konsentrasi zat pengawet pada beberapa kemasan minuman.
3. Mengobservasi apakah penggunaan zat pengawet sesuai dengan peraturan No. 722/Menkes/Per/IX /88.).

#### **1. 5 Manfaat Penelitian**

Dengan diketahuinya jenis dan konsentrasi dari zat pengawet makanan yang digunakan dalam kemasan minuman kita dapat menentukan atau lebih selektif terhadap minuman yang akan dikonsumsi.

#### **1. 6 Lokasi Penelitian**

Sampel diambil dari minuman yang beredar di pasar-pasar dan dianalisis di laboratorium pengembangan an-organik PTKI Medan.

#### **1. 7 Sistematika Penulisan**

Penulisan laporan tugas akhir ini terdiri dari lima bab dengan sistematika sebagai berikut:

1. Bab I merupakan Pendahuluan yang menjelaskan tentang latar belakang, identifikasi masalah, batasan masalah, tujuan penelitian, manfaat penelitian, lokasi penelitian dan sistematika penulisan akhir.
2. Bab II berisi landasan teori penelitian.
3. Bab III berisi tentang metodologi penelitian yang mencakup alat, bahan , prosedur kerja dan teknik analisis data.
4. Bab IV merupakan data, analisis dan pembahasan
5. Bab V merupakan kesimpulan dan saran.
6. Daftar pustaka dan lampiran.

## BAB 2

### LANDASAN TEORI

#### 2. 1. Pengertian Kromatografi

Kromatografi pertama kali dikembangkan oleh seorang ahli botani Rusia Michael pada tahun 1903 untuk memisahkan pigmen berwarna dalam tanaman dengan cara perlokasi ekstrak petroleum eter dalam kolom gelas yang berisi kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ). Sejarah perkembangan kromatografi diringkas dalam tabel 2.1. Saat ini, kromatografi merupakan teknik pemisahan yang paling umum dan paling sering digunakan dalam bidang kimia analisis dan kualitatif, kuantitatif, atau preparatif dalam bidang farmasi, lingkungan, industri dan sebagainya. Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang menggunakan fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*).

Teknik Kromatografi telah berkembang dan telah digunakan untuk memisahkan dan mengkuantifikasi berbagai macam komponen yang kompleks, baik komponen organik maupun anorganik.

**Tabel 2.1 Perkembangan Kromatografi**

<b>Tahun</b>	<b>Ilmuwan</b>	<b>Sumbangan</b>
1903	Twsett, M	Memisahkan pigmen dari hijau daun menggunakan $\text{CaO}_3$ dan menamakan proses ini “Kromatografi” (tulisan berwarna)
1938	Izmailov, N.A dan Shraiber, M.S	Memperkenalkan Kromatografi lapisan tipis (KLT)
1940	Tsielius, A	Mengembangkan analisis penjerapan (adsorpsi) dan elektroforesis. Memperoleh Nobel pada tahun 1948
1941	Martin, A.J.P dan Synge, R.L.M	Pertama kali mempersentasikan suatu model yang dapat menggambarkan efesinesi kolom, mengembangkan

		Kromatografi cair-cair. Memperoleh hadiah Nobel pada tahun 1952.
1944	Consden, R., Gordon, A.H. dan Martin, A.J.P	Mengembangkan Kromatografi kertas
1951	Cremer, E	Memperkenalkan Kromatografi gas-padat
1952	Martin, A.J.P dan James, A.T.	Memperkenalkan Kromatografi gas-cair
1957	Golay, M	Mengembangkan kolom tubular terbuka
1958	Stahl, E	Mengembangkan lagi Kromatografi lapis tipis
1965	Giddings, J.C.	Mengembangkan teori Kromatografi
1967	Huber, J.F.K. dan Hulsman, J.A.R.J	Memperkenalkan Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)

Sumber : Rohman, Abdul. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Pelajar. Hal 324.

## 2. 2 Pembagian Kromatografi

Berdasarkan pada mekanisme pemisahannya, kromatografi dibedakan menjadi :

- a. Kromatografi adsorpsi
- b. Kromatografi partisi
- c. Kromatografi pasangan ion
- d. Kromatografi penukar ion
- e. Kromatografi eksklusi ukuran
- f. Kromatografi afinitas

Berdasarkan pada alat yang digunakan, kromatografi dapat dibagi atas :

- a. Kromatografi kertas
- b. Kromatografi lapis tipis, yang sering disebut dengan kromatografi planar
- c. Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)
- d. Kromatografi gas (KG)



Berbagai macam teknik Kromatografi dapat dilihat pada tabel 2.2

**Tabel 2.2 Klasifikasi Teknik Kromatografi Yang Utama**

<b>Teknik</b>	<b>Fase diam</b>	<b>Fase gerak</b>	<b>Bentuk</b>	<b>Mekanisme sorpsi yang utama</b>
Kromatografi kertas	Kertas (selulosa)	Cair	Planar	Partisi (adsorpsi, pertukaran ion eksklusi)
Kromatografi lapis tipis (KLT)	Silika, selulosa, resin penukar ion, padatan yang porosnya dikendalikan	Cair	Planar	Partisi (adsorpsi, pertukaran ion eksklusi)
<i>Kromatografi gas</i> Kromatografi gas cair (KGC)	Cair	Gas	Kolom	Partisi
Kromatografi gas padat (KGP)	Padat	Gas	Kolom	Adsorpsi
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)	Padatan atau fase terikat	Cair	Kolom	Partisi yang dimodifikasi
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi eksklusi ukuran	Padatan dengan porositas yang dikendalikan	Cair	Kolom	Eksklusi
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi penukar ion	Resin penukar ion atau fase terikat	Cair	Kolom	Pertukaran ion
<i>Kromatografi cair</i> Kromatografi kiral	Pemilih kiral padat	Cair	Kolom	Adsorpsi secara selektif

Sumber : Rohman, Abdul. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Pelajar. Hal 324.

Bentuk kromatografi yang paling awal adalah kromatografi kolom yang digunakan untuk pemisahan sampel dalam jumlah besar.

Kromatografi gas (KG) dan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan teknik kromatografi yang komplementer karena kromatografi gas dapat digunakan untuk memisahkan komponen-komponen yang mudah menguap, sementara KCKT dapat digunakan untuk memisahkan komponen-komponen yang tidak mudah menguap. Alat kedua kromatografi ini dapat dikendalikan dengan komputer dengan software yang canggih dan berkemampuan untuk memisahkan sampai 100 komponen dalam campuran yang kompleks.

KCKT mempunyai berbagai bentuk yang sesuai untuk berbagai jenis solut yang berbeda. Sebagai contoh, kromatografi pertukaran ion (*ion exchange chromatography*= IEC) mampu memisahkan solut anionik atau kationik dalam campuran. Kromatografi ukuran eksklusi (*Exclusion size chromatography*) dan kromatografi kiral merupakan jenis kromatografi lain yang masing-masing mampu memisahkan solut dengan berat molekul yang relatif tinggi dan enansiomer.

### **2.3 Polaritas**

Polaritas sering diartikan sebagai adanya pemisahan kutub muatan positif dan negatif dari suatu molekul sebagai akibat terbentuknya konfigurasi tertentu dari atom – atom yang menyusunnya. Dengan demikian molekul tersebut dapat tertarik oleh molekul yang lain yang juga mempunyai polaritas. Tingkat pemisahan dari muatan – muatan tersebut menentukan derajat polaritasnya, begitu juga daya tariknya.

Polaritas digunakan sebagai petunjuk sifat zat pelarut, adsorben, dan senyawa – senyawa yang dipisahkan (solut). Air, yang termasuk zat pelarut, konfigurasi elektronnya dan geometri molekulnya dapat menghasilkan dipol permanen yang sangat kuat, oleh karena itu air dianggap mempunyai polaritas yang sangat kuat, bahkan paling kuat bila dibandingkan dengan zat pelarut yang lain.

**Tabel 2.3 Polaritas relatif berbagai zat pelarut**

Konstante dielektrik	Nama zat pelarut
1,890	Petroleum ringan (eter, heksan, heptan)
2,023	Sikloheksan
2,238	Karbon tetraklorida
	Trikloroetilen
	Toluen
2,284	Benzen
	Diklorometan
4,806	Kloroform
4,340	Etil eter
6,020	Etil asetat
20,700	Aseton
	n. Propanol
24,300	Etanol
33,620	Metanol
80,370	Air

Sumber : Adnan, M. 1997. *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan makanan*. Yogyakarta, Penerbit ANDI

Adsorben dapat bersifat polar atau non polar. Silika gel dan alumina, adsorben yang paling banyak digunakan dalam kromatografi, kedua – duanya bersifat polar. Kedua adsorben tersebut akan mengadsorb solut yang bersifat lebih polar dari pada solut yang bersifat non polar.

Proses adsorpsi yang dipengaruhi oleh sifat polaritas dari adsorben dan solut seperti yang diterangkan di atas berlaku juga dalam fenomena kelarutan. Dalam hal ini zat pelarut yang bersifat polar mempunyai tendensi lebih mudah melarutkan solut yang bersifat polar juga.

Tabel 2.3 yang menunjukkan urutan polaritas zat pelarut menggambarkan seri eluotropik zat – zat pelarut dalam proses kromatografi. Pada umumnya polaritas senyawa organik meningkat dengan bertambahnya gugus fungsional dan bertambahnya berat molekul. Polaritas juga dapat digunakan untuk menggambarkan sifat molekul yang benar-benar mengandung muatan positif atau negatif.

#### **2.4 Penyerapan Sinar UV dan Sinar Tampak oleh Molekul**

Penyerapan (absorpsi) sinar UV dan sinar tampak pada umumnya dihasilkan oleh eksitasi elektron-elektron ikatan, akibatnya panjang gelombang pita yang mengabsorpsi dapat dihubungkan dengan ikatan yang mungkin ada dalam suatu molekul. Ada tiga macam proses penyerapan energi ultraviolet dan sinar tampak yaitu :

1. Penyerapan oleh transisi elektron ikatan dan elektron anti ikatan
2. Penyerapan oleh transisi elektron d dan f dari molekul kompleks.
3. Penyerapan oleh perpindahan muatan.

#### **2.5 Aspek Kualitatif dan Kuantitatif Spektrofotometri UV-Vis**

Spektra UV-Vis dapat digunakan untuk informasi kualitatif dan sekaligus dapat digunakan untuk analisis kuantitatif.

##### **1. Aspek Kualitatif**

Data spektra UV-Vis secara sendiri tidak dapat digunakan untuk identifikasi kualitatif. Akan tetapi harus digabungkan dengan cara lain seperti spektroskopi infra merah, resonansi magnet inti, dan spektroskopi massa, maka dapat digunakan untuk maksud identifikasi atau analisis kualitatif suatu senyawa. Data yang diperoleh dari UV-Vis adalah panjang gelombang maksimal, intensitas, efek pH, dan pelarut; yang kesemuanya dibandingkan dengan data yang sudah dipublikasi (*Publised Data*). Misalnya dari spektra yang diperoleh dapat dilihat serapan (absorbansi) berubah atau tidak karena kelarutannya.

##### **2. Aspek Kuantitatif**

Dalam aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya.

Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada spesies penyerap lainnya. Intensitas atau kekuatan radiasi sebanding dengan jumlah foton yang melalui satu satuan luas penampang per detik.

Analisis kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vs dapat digolongkan atas tiga macam pelaksanaan pekerjaan, yaitu:

1. Analisis zat tunggal atau komponen tunggal.

Jika absorbansi suatu seri konsentrasi larutan diukur pada panjang gelombang, suhu, kondisi pelarut yang sama; dan absorbansi diplotkan terhadap konsentrasinya maka akan terbentuk garis lurus.

2. Analisis kuantitatif campuran dua komponen.

Bila diinginkan pengukuran dua buah senyawa secara bersama-sama maka dapat dilakukan pada dua buah panjang gelombang yang tidak saling mengganggu atau dari komponen yang paling kecil.

3. Analisis multi komponen.

Analisis multi komponen lebih sulit dilakukan dan kita harus benar-benar teliti dalam menentukan panjang gelombangnya agar panjang gelombangnya tidak saling mengganggu tiap komponen.

## 2.6 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi cair kinerja tinggi atau KCKT atau biasa juga disebut dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dikembangkan pada akhir tahun 1960-an dan awal tahun 1970-an. Saat ini, KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang, antara lain: farmasi, lingkungan, bioteknologi, polimer, dan industri-industri makanan. Beberapa perkembangan KCKT terbaru antara lain: miniaturisasi sistem KCKT, penggunaan KCKT untuk analisis asam-asam nukleat, analisis protein, analisis karbohidrat, dan analisis senyawa-senyawa kiral.

Kegunaan umum KCKT adalah untuk: pemisahan sejumlah senyawa-senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis; analisis ketidakmurnian

(*impurities*); analisis senyawa-senyawa yang tidak menguap (*non-volatil*); penentuan molekul-molekul netral, ionik, maupun *zwitter ion*; isolasi dan pemurnian senyawa; pemisahan senyawa-senyawa yang strukturnya hampir sama; pemisahan senyawa-senyawa dalam jumlah sekelumit (*trace elements*), dalam jumlah banyak, dalam skala proses industri. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif.

KCKT paling sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam-asam amino, asam-asam nukleat, dan protein-protein dalam cairan fisiologis,

menentukan kadar senyawa-senyawa aktif obat, produk hasil samping proses sintesis, atau produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi, memonitor sampel-sampel yang berasal dari lingkungan, memurnikan senyawa dalam suatu campuran, memisahkan polimer dan menentukan distribusi berat molekulnya dalam suatu campuran, kontrol kualitas, dan mengikuti jalannya reaksi sintesis.

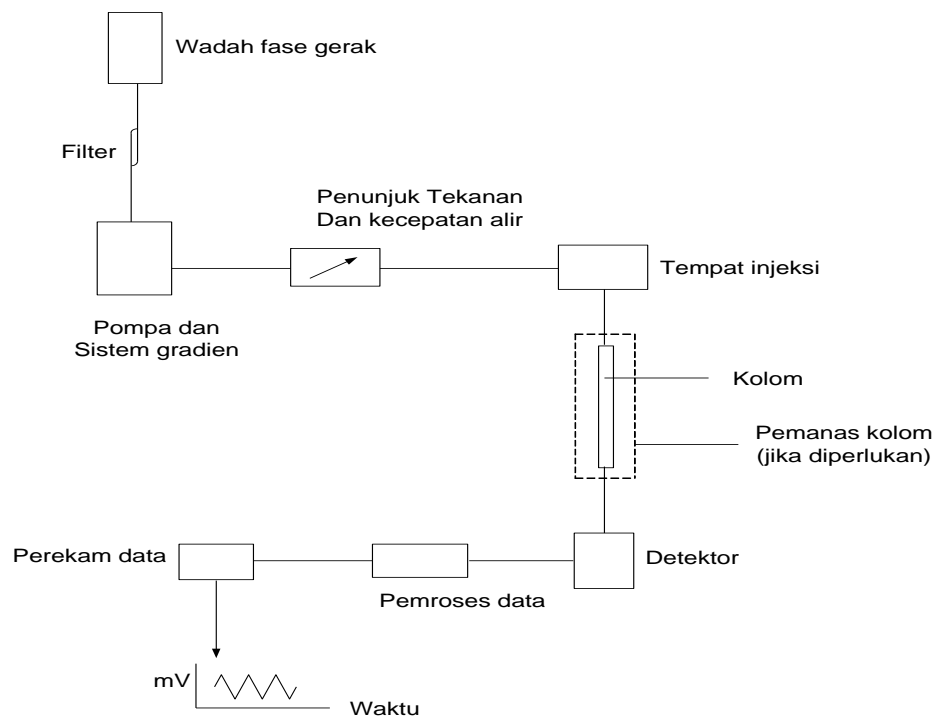
Keterbatasan metode KCKT adalah untuk identifikasi senyawa, kecuali jika KCKT dihubungkan dengan spektrometer massa (MS). Keterbatasan lainnya adalah jika sampelnya sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh.

#### Cara Kerja KCKT

Kromatografi merupakan teknik yang mana solut atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut ini diatur oleh distribusi solut dalam fase gerak dan fase diam. Penggunaan kromatografi cair secara sukses terhadap suatu masalah yang dihadapi membutuhkan penggabungan secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom, dan ukuran sampel. Untuk tujuan memilih kombinasi kondisi kromatografi yang terbaik, maka dibutuhkan pemahaman yang mendasar tentang berbagai macam faktor yang mempengaruhi pemisahan pada kromatografi cair.

Instrumentasi KCKT pada dasarnya terdiri atas delapan komponen pokok yaitu: wadah fase gerak, sistem penghantaran fase gerak, alat untuk memasukkan sampel, kolom, detektor, wadah penampung buangan fase gerak, tabung

penghubung, dan suatu komputer atau integrator atau perekam. Diagram blok untuk sistem kromatografi cair ditunjukkan pada gambar 2.1



**Gambar 2.1**  
**Diagram blok sistem KCKT secara umum.**

Wadah fase gerak pada KCKT

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (*inert*). Wadah pelarut kosong ataupun labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak. Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilangan gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama dipompa dan di detektor sehingga akan mengacaukan analisis. Pada saat membuat pelarut untuk fase gerak, maka sangat dianjurkan untuk menggunakan pelarut, buffer, dan reagen dengan kemurniaan yang sangat tinggi, dan lebih terpilih lagi jika pelarut-pelarut yang digunakan untuk KCKT berderajat (KCKT *grade*).

Adanya pengotor dalam reagen dapat menyebabkan gangguan pada sistem kromatografi. Adanya partikel yang kecil dapat terkumpul dalam kolom atau dalam tabung yang sempit, sehingga dapat mengakibatkan suatu kekosongan pada kolom atau tabung tersebut. Karenanya, fase gerak sebelum digunakan harus disaring terlebih dahulu untuk menghindari partikel-partikel kecil ini.

#### Fase Gerak pada KCKT

Fase gerak atau eluen biasanya terdiri dari campuran pelarut yang dapat bercampur secara keseluruhan berperan dalam daya elusi dan resolusi. Daya elusi dan resolusi ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, fase diam, dan sifat komponen-komponen sampel. Untuk fase normal (fase diam lebih polar dari fase gerak), kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut. Sementara untuk fase terbalik (fase diam kurang polar daripada fase gerak), kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut.

Deret eluotrofik yang disusun berdasarkan polaritas pelarut merupakan panduan yang berguna dalam memilih fase gerak yang akan digunakan dalam KCKT (tabel 2.4). Dalam tabel ini juga disertakan data panjang gelombang atau UV – *cut off* (atau pemenggalan UV). Nilai pemenggalan UV merupakan panjang gelombang yang mana pada kuvet 1 cm, pelarut akan memberikan absorbansi lebih dari 1,0 satuan absorbansi. Pengetahuan tentang pemenggalan nilai UV ini sangat penting terutama ketika menggunakan detektor UV – VIS dan detektor flourometri. Oleh karena itu sangat dianjurkan untuk menggunakan panjang gelombang deteksi yang tidak bertepatan atau disekitar dengan panjang gelombang pemenggalan UV pelarut yang digunakan sebagai fase gerak. Elusi dapat dilakukan dengan cara isokratika (komposisi fase gerak tetap selama elusi) atau dengan cara bergradien (komposisi fase gerak berubah – ubah selama elusi). Fase gerak yang paling sering digunakan untuk pemisahan dengan fase terbalik adalah campuran larutan buffer dengan metanol atau campuran air dengan asetonitril. Untuk pemisahan dengan fase normal, fase gerak yang sering digunakan adalah campuran pelarut – pelarut yang terklorisasi atau menggunakan pelarut- pelarut jenis alkohol.



**Tabel 2.4 Deret eluotropik pelarut – pelarut untuk KCKT**

Pelarut	Parameter kekuatan pelarut(adsorpsi)	Parameter kekuatan pelarut(partisi)	UV- cut off(nm)
n heksana	0,01	0,1	195
sikloheksana	0,04	- 0,2	200
tetraklorometan	0,18	1,6	265
metilbenzen	0,29	2,4	285
triklorometan	0,40	4,1	245
diklorometan	0,42	3,1	230
tetrahidrofuran	0,56	4,0	212
propanon	0,56	3,9	330
asetonitril	0,65	5,8	190
iso- propanaol	0,82	3,9	205
etanol	0,88	4,3	205
metanol	0,95	5,1	205
asam etanoat	>1	4,4	255
air	>1	10,2	170

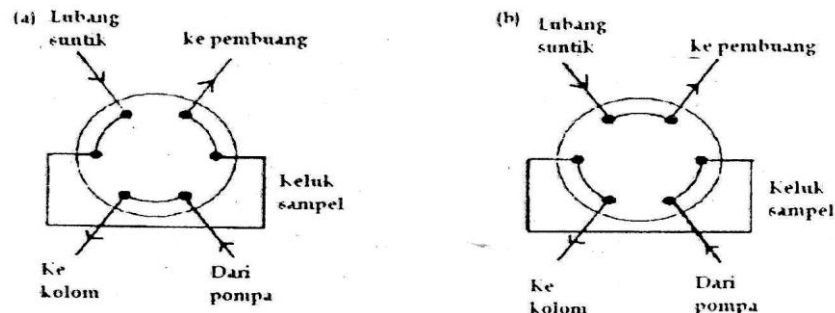
#### Pompa pada KCKT

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT adalah pompa yang mempunyai syarat bagaimana syarat wadah pelarut yakni : pompa harus iner terhadap fase gerak. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, baja tahan karat, teflon, dan batu nilam. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 5000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan keepatan 3 ml/menit. Untuk tujuan preparatif pompa yang digunakan harus mampu mengalirkan fae gerak dengan kecepatan 20 ml/menit.

Tujuan penggunaan pompa atau sistem penghantaran fase gerak adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reprodusibel, konstan dan bebas dari gangguan.

### Penyuntikan sampel pada KCKT

Sampel-sampel cair dan larutan disuntikkan secara langsung ke dalam fase gerak yang mengalir di bawah tekanan menuju kolom menggunakan alat penyuntik yang terbuat dari tembaga tahan karat dan katup teflon yang dilengkapi dengan keluk sampel (*sample loop*) internal atau eksternal (gambar 2.2).



Gambar 2.2

Skema penyuntik keluk. (a) posisi pada saat memuat sampel; dan (b) posisi pada saat menyuntik sampel.

Pada saat pengisian sampel, sampel digelontor melewati keluk sampel dan kebanyakannya dikeluarkan ke pembuang. Pada saat penyuntikan, katup diputar sehingga fase gerak mengalir melewati keluk sampel dan menggelontor sampel ke kolom. Presisi penyuntikan dengan keluk sampel ini dapat mencapai nilai RSD 0,1 %. Penyuntik ini mudah digunakan untuk otomatisasi dan sering digunakan untuk *autosampler* pada KCKT.

### Kolom pada KCKT

Ada 2 jenis kolom pada KCKT yaitu kolom konvensional dan kolom mikrobor. Perbandingan kedua kolom dapat dilihat pada tabel 2.5.

Tabel 2.5 Perbandingan kolom konvensional dengan kolom mikrobor

Parameter	Kolom Konvensional	Kolom Mikrobor
Tabung kolom	<i>Stainless steel</i> . Panjang 3,10,15,20 dan 25 cm. Diameter luar 0,25 Inchi, Diameter dalam 4,6 mm	<i>Stainless steel</i> . Panjang 25 dan 50cm. Diameter luar 0,25 Inchi, Diameter dalam 1 atau 2 mm
Fase diam	Porous, silika ukuran kecil, siliki yang dimodifikasi secara kimiawi ( <i>bonded phase</i> ) atau polimer-polimer stiren/divinal benzen. Rata-rata diameter partikel 3,5 atau 10 $\mu\text{m}$ dengan kisaran sempit	Porous, silika ukuran kecil, siliki yang dimodifikasi secara kimiawi ( <i>bonded phase</i> ) atau polimer-polimer stiren/divinal benzen. Rata-rata diameter partikel 3,5 atau 10 $\mu\text{m}$ dengan kisaran ukuran partikel yang sempit
Tekanan operasional	500-3000 psi (35-215 bar)	1000-5000 psi (70-350 bar)
Fase Gerak	Hidrokarbon + pelarut-pelarut terklorinasi atau alkohol untuk fase normal. Untuk fase terbalik ( <i>reversed phase</i> ) digunakan metanol atau asetonitril + air atau buffer. Kecepatan alir : 1-3 ml/menit	Hidrokarbon + pelarut-pelarut terklorinasi atau alkohol untuk fase normal. Untuk fase terbalik ( <i>reversed phase</i> ) digunakan metanol atau asetonitril + air atau buffer. Kecepatan alir : 10-100 $\mu\text{l}$ /menit. <i>Modifikasi instrumen</i> Sistem penghantaran pelarut yang mampu memberikan kontrol aliran di bawah 10 $\mu\text{l}$ /menit. Katup injeksi sampai bervolume kecil; Sel detektor bervolume kecil
Kinerja	Efisiensi meningkat dengan berkurangnya ukuran partikel fase diam, akan tetapi umur kolom dengan ukuran partikel 3 $\mu\text{m}$ lebih pendek	Sangat efisien dan sensitif, akan tetapi lambat. Konsumsi fase gerak hanya $\frac{1}{4}$ dari kolom konvensional

Kolom mikrobor mempunyai 3 keuntungan yang utama dibanding dengan kolom konvensional, yakni :

- Konsumsi fase gerak hanya 80% atau lebih kecil dibandingkan dengan kolom konvensional karena pada kolom mikrobor kecepatan alir fase gerak lebih lambat (10-100  $\mu\text{l}/\text{menit}$ )
- Adanya aliran fase gerak yang lebih lambat membuat kolom mikrobor lebih ideal jika digabung dengan spektrometer massa.
- Sensitivitas kolom mikrobor ditingkatkan karena solut lebih pekat, karenanya jenis kolom ini sangat bermanfaat jika jumlah sampel terbatas misal sampel klinis.

Meskipun demikian dalam prakteknya, kolom mikrobor ini tidak setahan kolom konvensional dan kurang bermanfaat untuk analisis rutin.

#### Fase Diam (*stasioner*) pada KCKT

Dalam kromatografi cair – cair seperti HPCL, fase stasioner merupakan cairan yang dilapiskan pada permukaan zat padat penyangga dan dipakai sebagai bahan isian (*packing material*) untuk kolom. Ikatan antara zat padat penyangga dan fase stasioner dapat berupa ikatan fisik maupun kimiawi.

Bila fase stasioner yang dipakai senyawa nonpolar, sedangkan fase mobilnya polar, atau terbalik dengan sistem fase normal, maka sistemnya disebut kromatografi sistem terbalik (*reverse phase chromatography*). Untuk ini, penyangga padat yang bersifat non polar dapat dipakai misalnya bubuk karet dengan lapisan benzen sebagai fase stasioner, sedangkan air dapat dipakai sebagai fase mobil.

#### Detektor KCKT

Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi 2 golongan yaitu: detektor universal (yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik, dan tidak bersifat selektif) seperti detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa; dan golongan detektor yang spesifik yang hanya akan mendeteksi analit secara spesifik dan selektif, seperti detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, dan elektrokimia.

Idealnya, suatu detektor harus mempunyai karakteristik sebagai berikut:

- Mempunyai respon terhadap solut yang rapat dan reprodusibel.
- Mempunyai sensitivitas yang tinggi, yakni, mampu mendeteksi solut pada kadar yang sangat kecil.
- Stabil dalam pengoperasiannya.
- Mempunyai sel volume yang kecil sehingga mampu meminimalkan pelebaran pita. Untuk kolom konvensional, selnya bervolume 8  $\mu\text{l}$  atau lebih kecil, sementara kolom mikrobor selnya bervolume 1  $\mu\text{l}$  atau lebih kecil lagi.
- Signal yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi solut pada kisaran yang luas (kisaran dinamis linier).
- Tidak peka terhadap perubahan suhu dan kecepatan alir fase gerak.

Beberapa detektor yang paling sering digunakan pada KCKT diringkas dalam tabel 2.6.

**Tabel 2. 6 Karakteristik detektor pada KCKT**

Detektor	Sensitivitas (g/ml)	Kisaran linier	Karakteristik
Absorbansi Uv-vis Fotometer filter Spektrofotometer spektrometer photo- diode array	$5 \times 10^{-10}$ $5 \times 10^{-10}$ $> 2 \times 10^{-10}$	$10^4$ $10^5$ $10^5$	Sensitivitas bagus, paling sering digunakan, selektif terhadap gugus-gugus dan strukturstruktur yang tidak jenuh.
Flouresensi	$10^{-12}$	$10^4$	Sensitifitas sangat bagus, selektif, tidak peka terhadap perubahan suhu dan kecepatan alir fase gerak.
Indeks bias	$5 \times 10^{-7}$	$10^4$	Hampir bersifat universal akan tetapi sensitivitasnya sedang. Sangat sensitif terhadap suhu, dan tidak dapat digunakan pada elusi bergradien

Elektrokimia	$10^{-8}$		Peka terhadap perubahan suhu dan kecepatan alir fase gerak, tidak dapat digunakan pada elusi bergradien. Hanya mendeteksi solut-solut ionik. Sensitifitas sangat bagus, selektif tetapi timbul masalah dengan adanya kontaminasi elektroda.
Konduktimetri	$10^{-12}$		
Amperometri			

### 1. Detektor Spektrofotometri. UV-Vis

Detektor ini didasarkan pada adanya penyerapan radiasi ultraviolet (UV) dan sinar tampak (Vis) pada kisaran panjang gelombang 190-800 nm oleh spesies solut yang mempunyai struktur - struktur atau gugus-gugus kromoforik. Sel detektor umumnya berupa tabung dengan diameter 1 mm dan panjang celah optiknya 10 mm, serta diatur sedemikian rupa sehingga mampu menghilangkan pengaruh indeks bias yang dapat mengubah absorbansi yang terukur.

Detektor spektrofotometri UV-Vis dapat berupa detektor dengan panjang gelombang tetap (merupakan detektor yang paling sederhana) serta detektor dengan panjang gelombang bervariasi. Detektor panjang gelombang tetap menggunakan lampu uap merkuri sebagai sumber energinya dan suatu filter optis yang akan memilih sejumlah panjang gelombang, misal 254, 280, 334, dan 436 nm. Panjang gelombang yang dipilih biasanya 254 nm karena kebanyakan senyawa obat menyerap di 254 nm sehingga panjang gelombang ini sangat berguna.

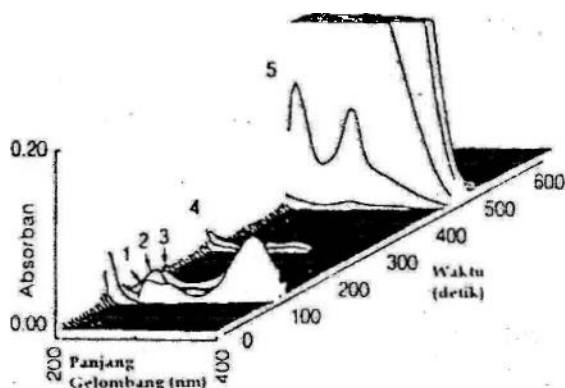
Detektor dengan panjang gelombang yang bervariasi lebih berguna dibanding detektor pada panjang gelombang yang tetap karena seorang analis dapat memilih panjang gelombang yang memberikan sensitivitas yang paling tinggi.

## 2. Detektor *Photodiode-Array* (PDA)

Detektor UV-Vis merupakan detektor yang paling banyak dipakai, akan tetapi karena banyak analit yang diukur maka akan ada kecenderungan puncak-puncak kromatogram yang tidak terdeteksi dan juga akan ada pergeseran puncak-puncak kromatogram.

Detektor PDA merupakan detektor UV-Vis dengan berbagai keistimewaan. ini mampu memberikan kumpulan kromatogram secara simultan pada panjang gelombang yang berbeda dalam sekali proses (*single run*). Selama proses berjalan, suatu kromatogram pada panjang gelombang yang diinginkan (biasanya antara 190-400) dapat ditampilkan. Dengan demikian PDA memberikan lebih banyak informasi komposisi sampel banding dengan detektor UV-Vis. Dengan detektor ini, juga diperoleh spektrum UV tiap puncak yang terpisah sehingga dapat dijadikan sebagai alat yang penting untuk memilih panjang gelombang maksimal untuk sistem KCKT yang digunakan. Dan akhirnya dengan detektor ini pula, dapat dilakukan uji kemurnian, puncak dengan membandingkan antara spektra analit dengan spektra senyawa yang sudah diketahui.

Spektrum dan kromatogram yang dihasilkan pada detektor PDA ini dapat ditampilkan sebagai plot 3 dimensi absorbansi, panjang gelombang, dan waktu (gambar 2. 3) sehingga data ini dapat dimanipulasi dan diplotkan kembali pada layar (monitor) lalu dibandingkan dengan data 3 dimensi senyawa lain dari perpustakaan data yang ada di sistem komputernya sehingga bisa digunakan untuk tujuan identifikasi.



**Gambar 2.3**

**Tampilan 3 dimensi detektor PDA.**

### 3. Detektor Fluoresensi

Fluoresensi merupakan fenomena luminisensi yang terjadi ketika suatu senyawa menyerap sinar UV atau visibel lalu mengemisikannya pada panjang gelombang yang lebih besar. Tidak semua senyawa obat mempunyai sifat fluoresen sehingga detektor Fluoresensi ini sangat spesifik. Di samping itu, detektor ini juga sangat sensitif dibandingkan dengan detektor UV.

Kelemahan detektor ini adalah terkait dengan rentang linieritasnya yang sempit yakni antara 10-140, sementara keunggulannya adalah bahwa detektor ini lebih sensitif dan selektif. pemilihan fase gerak pada deteksi dengan fluoresensi ini sangat penting karena fluoresensi sangat sensitif terhadap, peredam fluoresensi (*fluorescence quenchers*). Pelarut-pelarut yang sangat polar, bufer-bufer, dan ion-ion halida akan meredam fluoresensi. pH fase gerak juga penting terkait dengan efisiensi fluoresensi, sebagai contoh kinin dan kuinidin hanya menunjukkan fluoresensi dalam medium yang asam, sementara oksibarbiturat akan berfluoresensi dalam medium yang bersifat basa. Terkait dengan stabilitas penyerap pada fase diam, maka penggunaan fase gerak yang sangat asam atau sangat basa harus dihindari.

### 4. Detektor Indeks Bias

Detektor indeks bias merupakan detektor yang bersifat universal yang mampu memberikan respon (signal) pada setiap zat terlarut. Detektor ini akan merespon setiap perbedaan indeks bias antara analit (zat terlarut) dengan pelarutnya (fase geraknya). Kelemahan yang utama detektor ini adalah bahwa indeks bias dipengaruhi oleh suhu, oleh karena itu suhu fase gerak, kolom, dan detektor harus dikendalikan secara seksama.

Indeks bias pada kedua sel (sampel dan pembanding) harus sama persis agar didapatkan garis dasar (background) yang stabil. karena alasan ini maka detektor ini tidak dianjurkan untuk elusi bergradien. Komposisi fase gerak juga harus dikendalikan, secara seksama karenanya penguapan fase gerak atau penyerapan air oleh fase gerak harus dicegah.



Keuntungan detektor ini adalah terkait dengan kepekaannya yang tinggi, sementara kelemahan detektor ini adalah membutuhkan keterampilan dan latihan yang cukup untuk mengoperasikannya supaya didapatkan garis dasar (*baseline*) yang stabil.

Komputer, Integrator, atau Rekorder

Alat pengumpul data seperti komputer, integrator, atau rekorder, dihubungkan dengan detektor. Alat ini akan mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu menplotkannya sebagai suatu kromatogram yang selanjutnya dapat dievaluasi oleh seorang analis (pengguna).

Rekorder saat ini jarang digunakan karena rekorder tidak dapat mengintegrasikan data, sementara itu baik integrator maupun komputer mampu mengintegrasikan puncak-puncak dalam kromatogram. Komputer mempunyai keuntungan lebih karena komputer secara elektronik mampu menyimpan kromatogram untuk evaluasi di kemudian hari

## **2.7 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif**

Kromatografi dapat digunakan untuk tujuan analisis, baik analisis kualitatif maupun analisis kuantitatif

### **2.7.1 Analisis Kualitatif**

Ada 3 pendekatan untuk analisis kualitatif yakni :

1. Perbandingan antara data retensi solut yang tidak diketahui dengan data retensi baku yang sesuai (senyawa yang diketahui) pada kondisi yang sama

Untuk kromatografi yang menggunakan kolom (seperti KCKT dan KG), waktu retensi ( $t_R$ ) atau volume retensi ( $V_R$ ) senyawa baku dan senyawa yang tidak diketahui dibandingkan dengan cara kromatografi secara berurutan dalam kondisi alat yang stabil dengan perbedaan waktu pengoperasian antar keduanya sekecil mungkin.

2. Dengan cara *spiking*.

Untuk kromatografi yang melibatkan kolom, *spiking* dilakukan dengan menambah sampel yang mengandung senyawa tertentu yang akan

diselidiki dengan senyawa baku pada kondisi kromatografi yang sama. Hal ini dilakukan dengan cara: pertama, dilakukan proses kromatografi sampel yang tidak di-spiking. Kedua, sampel yang telah di-spiking dengan senyawa baku dilakukan proses kromatografi. Jika pada puncak tertentu yang diduga mengandung senyawa yang diselidiki terjadi peningkatan tinggi puncak/luas puncak setelah di-spiking dibandingkan dengan tinggi puncak/luas puncak yang tidak dilakukan spiking maka dapat diidentifikasi bahwa sampel mengandung senyawa yang kita selidiki.

### 3. Menggabungkan alat kromatografi dengan spektrometer massa.

Pada pemisahan dengan menggunakan kolom kromatografi, cara ini akan memberikan informasi data spektra massa solut dengan waktu retensi tertentu. Spektra solut yang tidak diketahui dapat dibandingkan dengan spektra yang ada di database komputer atau diinterpretasi sendiri. Cara ini dapat dilakukan untuk solut yang belum ada baku murninya.

Identifikasi dengan hanya menggunakan data retensi pada satu kondisi kromatografi tidak selalu menghasilkan data yang reliabel. Oleh karena itu, perbandingan data dengan menggunakan kondisi kromatografi yang berbeda (seperti fase diam atau fase gerak yang digunakan berbeda) akan mengurangi kemungkinan identifikasi yang tidak benar.

#### **2.7. 2 Analisis Kuantitatif**

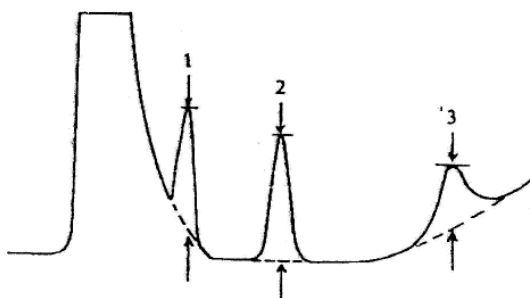
Untuk menjamin kondisi yang digunakan dalam analisis kuantitatif stabil dan reproduibel, baik pada, penyiapan sampel atau proses kromatografi, berikut beberapa syarat yang harus dipenuhi dalam analisis kuantitatif

- Analit (solut) harus telah diketahui dan terpisah sempurna dari komponen-komponen lain dalam kromatogram
- Baku dengan kemurnian yang tinggi dan telah diketahui harus tersedia
- Prosedur kalibrasi yang sudah diketahui harus digunakan

Sementara untuk kromatografi yang melibatkan kolom, kuantifikasi dapat dilakukan dengan luas puncak atau dengan tinggi puncak. Tinggi puncak atau luas puncak berbanding langsung dengan banyaknya solut yang dikromatografi, jika dilakukan pada kisaran detektor yang linier.

### 1. Metode Tinggi Puncak

Metode yang paling sederhana untuk pengukuran kuantitatif adalah dengan tinggi puncak. Tinggi puncak diukur sebagai jarak dari garis dasar ke puncak maksimum seperti puncak 1, 2, dan 3 pada gambar 2.4. Penyimpangan garis dasar diimbangi dengan interpolasi garis dasar antara awal dan akhir puncak. Kurva baku dibuat dengan mengalurkan (mem-plotkan) konsentrasi analit dengan tinggi puncak.



**Gambar 2.4 Pengukuran tinggi puncak.**

Metode tinggi puncak hanya digunakan jika perubahan tinggi puncak linier dengan konsentrasi analit. Kesalahan akan terjadi jika metode ini digunakan pada puncak yang mengalami penyimpangan (asimetris) atau jika kolom mengalami kelebihan muatan.

### 2. Metode Luas Puncak

Prosedur penentuan luas puncak serupa dengan tinggi puncak. Suatu teknik untuk mengukur luas puncak adalah dengan mengukur luas sebagai hasil kali tinggi puncak dan lebar pada setengah tinggi ( $W_{1/2}$ ). Teknik ini hanya dapat digunakan untuk kromatografi yang simetris atau yang mempunyai bentuk serupa.

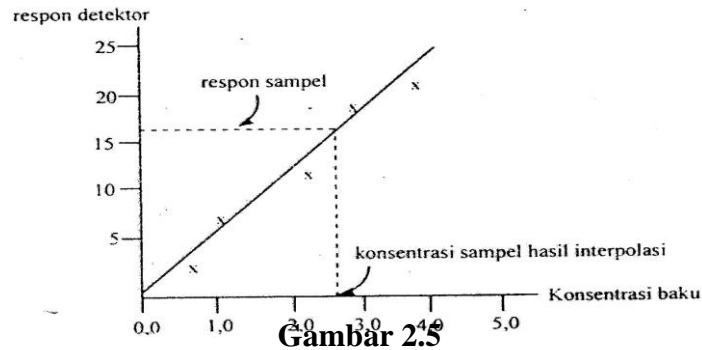
Saat ini integrator elektronik telah banyak digunakan untuk mengukur luas puncak pada kromatografi cair kinerja tinggi dan pada kromatografi gas. Integrator digital mengukur luas puncak dan mengubahnya dalam bentuk angka.

## 2.8 Metode Kuantifikasi

Metode kuantifikasi untuk analisis kuantitatif dengan kromatografi ini dapat dilakukan dengan menggunakan metode baku eksternal, metode baku internal, dan metode, normalisasi internal.

### 1. Metode Baku Eksternal

Metode yang paling umum untuk menetapkan konsentrasi senyawa yang tidak diketahui konsentrasinya dalam suatu sampel adalah dengan menggunakan *plot* kalibrasi menggunakan baku eksternal. Larutan-larutan baku ini dirujuk sebagai baku eksternal karena larutan-larutan baku ini disiapkan dan dianalisis secara terpisah dari kromatogram senyawa tertentu yang ada dalam sampel. Sampel yang mengandung senyawa tertentu yang akan ditetapkan konsentrasinya dan telah disiapkan, selanjutnya diinjeksikan dan dianalisis dengan cara yang sama. Konsentrasi senyawa tersebut ditentukan dengan metode grafik dari plot kalibrasi atau secara numerik.



Gambar 2.5

### Kurva baku untuk menghitung sampel dengan menggunakan baku eksternal.

Larutan baku (kadang-kadang disebut dengan kalibrator) disiapkan dengan konsentrasi tertentu yang sudah diketahui (misal 1,0; 2,0; 3,0; dan 4,0 mg/mL). Sejumlah tertentu volume larutan ini diinjeksikan dan dianalisis, lalu respon detektor (luas puncak) plotkan terhadap konsentrasi sebagaimana dalam gambar 2.5.

## 2. Metode Baku Internal

Baku internal merupakan senyawa yang berbeda dengan analit, meskipun demikian senyawa ini harus terpisah dengan baik selama proses pemisahan. Baku internal dapat menghilangkan garuh karena adanya perubahan-perubahan pada ukuran sampel atau konsentrasi karena variasi instrumen. Salah satu alasan utama digunakannya baku internal adalah jika suatu sampel memerlukan perlakuan sampel yang sangat signifikan. Seringkali perlakuan sampel memerlukan tahapan-tahapan yang meliputi derivatisasi, ekstraksi, filtrasi, dsb yang dapat mengakibatkan berkurangnya sampel. Jika baku internal ditambahkan pada sampel sebelum dilakukan preparasi sampel, maka baku internal dapat mengoreksi hilangnya sampel-sampel ini.

Syarat-syarat suatu senyawa dapat digunakan sebagai baku, internal adalah:

- Terpisah dengan baik dari senyawa yang dituju atau puncak-puncak yang lain
- Mempunyai waktu retensi yang hampir sama dengan analit
- Tidak terdapat dalam sampel
- Mempunyai kemiripan sifat-sifat dengan analit dalam tahapan-tahapan penyiapan sampel
- Tidak mempunyai kemiripan secara kimiawi dengan analit
- Tersedia dalam perdagangan dengan kemurnian yang tinggi
- Stabil dan tidak reaktif dengan sampel atau dengan fase gerak
- Mempunyai respon detektor yang hampir sama dengan analit pada konsentrasi yang digunakan.

## 3. Normalisasi Internal

Untuk tujuan analisis tertentu, hanya jumlah relatif analit dalam suatu multikomponen yang dibutuhkan. Hal ini dinormalisasi ke 100 atau 1 dengan mengekspresikan jumlah relatif masing-masing analit dalam suatu multi komponen sebagai persentase total (jika digunakan normalisasi 100) atau fraksi (jika digunakan normalisasi 1). Normalisasi internal merupakan nilai tertentu

dalam kromatografi untuk tujuan kuantitatif yang mana beberapa sampel dapat ditentukan secara bersama-sama dan konsentrasi absolut tidak dibutuhkan. Untuk analisis kuantitatif diasumsikan bahwa lebar atau tinggi puncak sebanding dengan konsentrasi atau konsentrasi zat yang menghasilkan puncak. Dalam metode yang paling sederhana, diukur lebar atau tinggi puncak, yang kemudian dinormalisasi (ini berarti bahwa setiap lebar atau tinggi puncak diekspresikan sebagai suatu persentasi dari total). Hasil normalisasi dari lebar atau tinggi puncak memberikan komposisi dari campuran yang dianalisis.

Komposisi relatif dihitung dari respon alat, dan untuk kasus kromatografi digunakan luas puncak masing-masing komponen dalam suatu campuran menggunakan rumus berikut :

$$\%x_1 = \frac{A_x}{\sum_{i=1}^{i=n} A_i} \times 100\%$$

Yang mana :

$X_1$  = salah satu komponen dari sebanyak n komponen

A = luas puncak atau respon yang terukur

## 2.9 Zat Pengawet

Yang dimaksud bahan tambahan pengawet adalah bahan tambahan pangan yang dapat mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman atau penguraian dan perusakan lainnya terhadap pangan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Kerusakan tersebut dapat disebabkan oleh fungi, bakteri dan mikroba lainnya.

Pengawetan pangan adalah upaya untuk mencegah, menghambat pertumbuhan mikroba yang terdapat dalam pangan. Pengawetan dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu penggunaan suhu rendah, suhu tinggi, iradiasi atau dengan penambahan bahan pengawet (BTP Pengawet). Produk-produk pangan dalam kemasan yang diproses dengan panas atau disebut sterilisasi komersil seperti kornet dalam kaleng atau susu steril dalam kemasan tetrapak tidak menggunakan bahan pengawet karena proses termal sudah cukup untuk memusnahkan mikroba pembusuk dan patogen.

Menurut Dr. Sri Durjati Boedihardjo, ada beberapa alasan mengapa para pembuat makanan mengawetkan produk mereka. Salah satunya karena daya tahan kebanyakan makanan atau minuman memang sangat terbatas dan mudah rusak (*perishable*). Dengan pengawetan, makanan atau minuman dapat disimpan sehari – hari bahkan berbulan – bulan dan ini jelas – jelas menguntungkan pedagang.

### **2.9.1 Tujuan penggunaan bahan pengawet**

Pengawetan pangan disamping berarti penyimpanan juga memiliki 2 (dua) maksud yaitu :

- (1) menghambat pembusukan dan
- (2) menjamin mutu awal pangan agar tetap terjaga selama mungkin.

Penggunaan pengawet dalam produk pangan dalam prakteknya berperan sebagai antimikroba atau antioksidan atau keduanya. Jamur, bakteri dan enzim selain penyebab pembusukan pangan juga dapat menyebabkan orang menjadi sakit, untuk itu perlu dihambat pertumbuhan maupun aktivitasnya.

Jadi, selain tujuan di atas, juga untuk memelihara kesegaran dan mencegah kerusakan makanan atau bahan makanan. Beberapa pengawet yang termasuk antioksidan berfungsi mencegah makanan menjadi tengik yang disebabkan oleh perubahan kimiawi dalam makanan tersebut.

Peran sebagai antioksidan akan mencegah produk pangan dari ketengikan, pencoklatan, dan perkembangan noda hitam. Antioksidan menekan reaksi yang terjadi saat pangan menyatu dengan oksigen, adanya sinar, panas, dan beberapa logam.

### **2.9.2 Pembagian Zat Pengawet**

Menurut pakar gizi dari RS Internasional Bintaro Banten, secara garis besar zat pengawet dibedakan menjadi tiga, yaitu:

1. GRAS (Generally Recognized as Safe ) yang umumnya bersifat alami, sehingga aman dan tidak berefek racun sama sekali.
2. ADI (Acceptable Daily Intake), yang selalu ditetapkan batas penggunaan hariannya guna melindungi kesehatan konsumen.

3. Zat pengawet yang memang tidak layak dikonsumsi, alias berbahaya seperti boraks, formalin, rodamin B.

### 2.9.3 Dampak negatif penggunaan zat pengawet yang berlebihan

Beberapa zat pengawet diidentifikasi dapat menimbulkan efek negatif jika dikonsumsi oleh individu tertentu, misalnya alergi atau digunakan secara berlebihan. Adapun beberapa penyakit lain yang diasumsi karena penggunaan zat pengawet dapat dilihat dalam tabel berikut :

**Tabel 2.7 Pengaruh beberapa bahan pengawet terhadap kesehatan**

Bahan Pengawet	Produk Pangan	Pengaruh terhadap Kesehatan
Na-benzoat	Sari buah, minuman ringan, minuman anggur manis, ikan asin	Dapat menyebabkan reaksi merugikan pada asmatis dan yang peka terhadap aspirin
Sulfur dioksida (SO <sub>2</sub> )	Sari buah, <i>cider</i> , buah kering, kacang kering, sirup, acar	Dapat menyebabkan pelukaan lambung, mempercepat serangan asma, mutasi genetik, kanker dan alergi
K-nitrit	Daging kornet, daging kering, daging asin, pikel daging	Nitrit dapat mempengaruhi kemampuan sel darah untuk membawa oksigen, menyebabkan kesulitan bernafas dan sakit kepala, anemia, radang ginjal, muntah
Ca- / Na-propionat	Produk roti dan tepung	Migrain, kelelahan, kesulitan tidur
Na-metasulfat	Produk roti dan tepung	Alergi kulit
Asam sorbat	Produk jeruk, keju, pikel dan salad	Pelukaan kulit
Natamysin	Produk daging dan keju	Dapat menyebabkan mual, muntah, tidak nafsu makan, diare dan pelukaan kulit
K-asetat	Makanan asam	Merusak fungsi ginjal
BHA	Daging babi segar dan sosisnya, minyak sayur, <i>shortening</i> , kripik kentang, pizza beku, instant teas	Menyebabkan penyakit hati dan kanker.



### **2.10. Peraturan Menkes No. 722/Menkes/per/IX/19**

Pengawet yang diijinkan digunakan untuk pangan tercantum dalam Peraturan Menteri Kesehatan Nomor : 722/Menkes/Per/IX/88 Tentang Bahan Tambahan Makanan, mencakup :

1. Asam Benzoat
2. Asam Propionat
3. Asam Sorbat
4. Belerang Oksida
5. Etil p-Hidroksida Benzoat
6. Kalium Benzoat
7. Kalium Bisulfit
8. Kalium Meta Bisulfit
9. Kalium Nitrat
10. Kalium Nitrit
11. Kalium Propionat
12. Kalium Sorbat
13. Kalium Sulfit
14. Kalsium benzoat
15. Kalsium Propionat
16. Kalsium Sorbat
17. Natrium Benzoat
18. Metil-p-hidroksi Benzoat
19. Natrium Bisulfit
20. Natrium Metabisulfit
21. Natrium Nitrat
22. Natrium Nitrit
23. Natrium Propionat
24. Natrium Sulfit
25. Nisin
26. Propil-p-hidroksi Benzoat

## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan**

Bahan yang digunakan adalah:

1. Bahan baku pembanding (Na- Benzoat)
2. Metanol sebagai pelarut
3. Asetonitril (E. Merck)
4. Aquabides (Ikapharmindo)
5. Dapar posphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )

#### **3.2 Sampel**

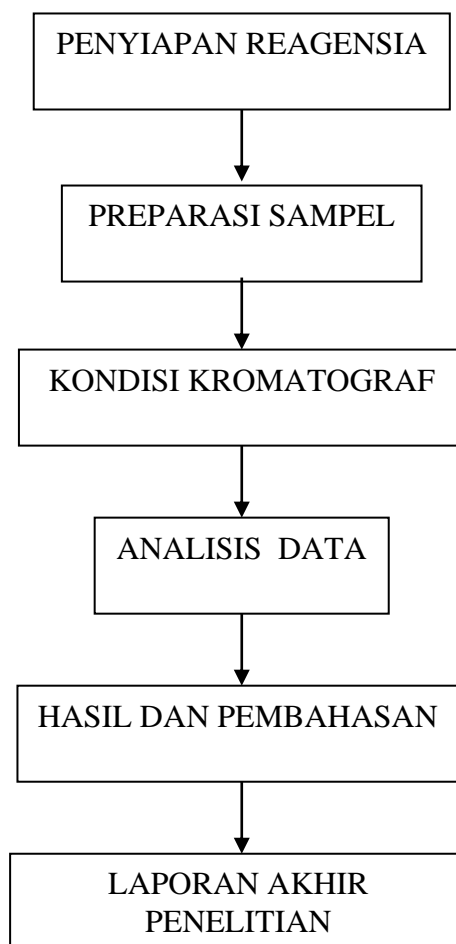
Proses sampling minuman dilakukan berdasarkan merek yang beredar di pasaran (super market ) di daerah Medan dan digunakan kode untuk menjaga kode etik industri.

- 1 MST<sub>1</sub>
- 2 MST<sub>2</sub>
- 3 MST<sub>3</sub>
- 4 KNA<sub>1</sub>
- 5 KNA<sub>2</sub>
- 6 MGK<sub>1</sub>
- 7 MGK<sub>2</sub>
- 8 M8P<sub>1</sub>
- 9 M8P<sub>2</sub>
- 10 MPP<sub>1</sub>
- 11 MPP<sub>2</sub>
- 12 GRS<sub>2</sub>
- 13 GRS<sub>3</sub>
- 14 GRS<sub>4</sub>

### 3.3 Peralatan

1. KCKT yang terdiri dari pompa model LC -6A, kolom C-18 lateks (15 cm x 4,0 mm ), detektor UV, rekorder dan integrator model C-R4A Chromatopac (Shimadzu), Spektrofotometer UV-Vis 1601 (Shimadzu).
2. Timbangan analitik (Ohaus)
3. Filter
4. Alat-alat gelas kimia.

### 3.4 Diagram Alir Penelitian



### **3.5 Prosedur Penelitian**

#### **3.5.1 Penyiapan Reagensia**

1. Dibuat larutan standar untuk larutan induk dari zat pengawet. Karena pada semua label kemasan minuman tertera natrium benzoat sebagai zat pengawetnya maka dilarutkan 1,0 gr Na-Benzoesat dalam 200 ml metanol dan diencerkan sampai 1,01 dengan air deionisasi. Larutan standar dibuat dengan variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm.
2. Fase mobil untuk HPLC terdiri dari 0,05  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dengan pH = 2,65 dan asetonitril dengan perbandingan 60:40 (v/v). Campuran tersebut disaring melalui Duropore filter ukuran 0,45  $\mu\text{m}$ .

#### **3.5.2 Preparasi Sampel**

1. 6 gram sampel dimasukkan ke dalam 50 ml tabung sentrifus dan di sentrifus 1500 x G selama 5 menit.
4. Sep-pak C-18 kartrij disiapkan dengan mengelusikan 2 ml metanol diteruskan dengan 4 ml air.
5. Satu mililiter supernatan dari sampel dipipet dalam syring dan diinjeksikan melalui kartrij yang telah disiapkan.
6. Setelah kartrij dicuci dengan 4 ml heksan, zat pengawetnya dielusikan dengan 3 ml metanol, dan disaring melalui duropore 0,45  $\mu\text{m}$ .

#### **3.5.3 Kondisi Kromatograf**

1. Kolom Shodex yang digunakan berukuran 150 mm x 6,0 mm diisi dengan resin polystiren-divinilbenzen, dibantu dengan RP-18 guard coulumn berukuran 40 mm x 3,4 mm.
2. 20  $\mu\text{l}$  aliquot sampel atau standar diinjeksikan ke dalam kolom.
3. Zat pengawet dielusikan secara isokratis dengan kecepatan 1,0 ml/menit. Deteksi dilakukan dengan UV spektrometri pada panjang gelombang 225 nm.
4. Secara kuantitatif waktu retensi dan area dibandingkan dengan standar.

### **3.6 Teknik Sampling**

Sampel diambil dari pasar dan swalayan yang ada di kota Medan dan standar zat pengawet diperoleh dari BPF (Badan Penelitian Farmakologi Indonesia) dengan kadar kemurnian 99,99% selanjutnya dilakukan analisis di Laboratorium Pengembangan Anorganik di PTKI Medan.

### **3.7 Teknik Analisis Data**

#### **3.7.1 Teknik Analisis Kualitatif**

Untuk analisis kualitatif atau untuk menentukan jenis zat pengawet yakni dengan perbandingan antara data retensi yang tidak diketahui dengan data retensi baku pada kondisi yang sama.

#### **3.7.2 Teknik Analisis Kuantitatif**

Untuk analisis kuantitatif digunakan metode baku eksternal yaitu dengan menggunakan plot kalibrasi menggunakan baku eksternal. Yaitu respon detektor (luas area) diplotkan terhadap konsentrasi. Kemudian konsentrasi sampel yang diperoleh dibandingkan dengan Peraturan menteri kesehatan yang tertera dalam peraturan No.722/Menkes/Per/IX/1988.

#### **3.7.3 Teknik Analisis Statistika**

Pengujian statistika dilakukan dengan menggunakan program SPSS (Statistical Product and Service Solution) versi 13 dan diuji dengan metode korelasi dan signifikansi antara area dan konsentrasi.

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil penelitian

##### 4.1 Analisis Kualitatif

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah waktu retensi dari sampel dan membandingkan terhadap waktu retensi standard baku pada beberapa jenis minuman.

**Tabel 4.1 Data Waktu Retensi Sampel**

No	Sampel	Waktu retensi
1	MST <sub>1</sub>	7,089
2	MST <sub>2</sub>	7,105
3	MST <sub>3</sub>	7,066
4	KNA <sub>1</sub>	7,104
5	KNA <sub>2</sub>	7,119
6	MGK <sub>1</sub>	7,028
7	MGK <sub>2</sub>	7,026
8	M8P <sub>1</sub>	7,101
9	M8P <sub>2</sub>	7,127
10	MPP <sub>1</sub>	7,087
11	MPP <sub>2</sub>	7,099
12	GRS <sub>2</sub>	6,996
13	GRS <sub>3</sub>	7,008
14	GRS <sub>4</sub>	7,017

Dengan membandingkan waktu retensi standard baku terhadap waktu retensi sampel pada grafik maka ditentukan bahwa zat pengawet pada sampel adalah Natrium Benzoat. (grafik hasil kromatogram standard baku dan masing-masing sampel terlampir)

## 4.2 Analisis Kuantitatif

Variabel lain yang diamati yaitu area (absorbansi) dengan besar konsentrasi zat pengawet yang bervariasi pada standar baku.

Tabel 4.2 Data area dan konsentrasi standar baku

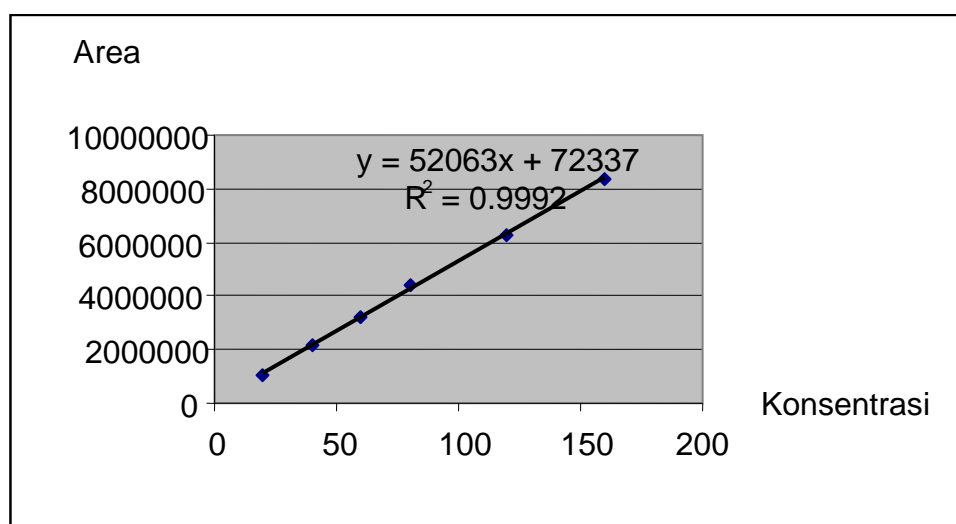
No	Konsentrasi (Mg/l)	area
1	20	1023245
2	40	2152156
3	60	3231876
4	80	4372369
5	120	6284870
6	160	8346124

Berdasarkan tabel diatas dibuat kurva kalibrasi untuk memperoleh persamaan yang akan digunakan untuk menentukan konsentrasi zat pengawet pada masing-masing sampel dengan menggunakan program microsoft excel.

Adapun langkah-langkah pembuatan kurva adalah sebagai berikut:

1. Klik ikon insert lalu klik chart wizard.
2. Untuk menampilkan grafik data, pakailah jenis grafik scatter.
3. Isilah Data Range dengan menyeleksi sel A2 hingga B6.
4. selesaikan langkah-langkah dalam kotak dialog Chart Wizard. Dan selanjutnya kita akan memperoleh titik data dalam grafik. Dan lihat kecenderungan bentuk grafik. Untuk grafik ini cenderung linear (garis lurus).
5. Kita dapat menampilkan persamaan garis lurus untuk mewakili kecenderungan data dalam gambar. Langkah yang harus kita selesaikan sebagai berikut:
  1. Klik salah satu data yang terdapat dalam grafik excel.
  2. Lakukan klik kanan pada data tersebut

3. Pilihlah Add Trendline pada menu pintas (shortcut menu) yang muncul.
4. Isilah kotak dialog Add Trendline.
  - a. Pada tab Type, bagian Trend /Regression type, pilihlah jenis regresi linear karena titik-titik data menunjukkan kecenderungan membentuk garis lurus.
  - b. Kliklah tab Options pada kotak dialog Add Trendline
  - c. Centanglah pilhan display equation on chart untuk menampilkan persamaan garis pada grafiknya. Dan centanglah display R-squared value on chart untuk memperlihatkan tingkat keakuratan persamaan tersebut.



Grafik 4.1 Area vs konsentrasi pada standar baku.

Dari grafik, diperoleh persamaan garis regresi adalah  $y = ax + b$  dimana  $a = 52063$  dan  $b = 72337$  maka persamaan garis yang diperoleh adalah  $y = 52063x + 72337$  dan persamaan ini akan digunakan untuk menghitung besarnya konsentrasi zat pengawet pada masing-masing sampel dengan memasukkan nilai area (y) ke dalam persamaan maka dapat dihitung besarnya konsentrasi sampel.

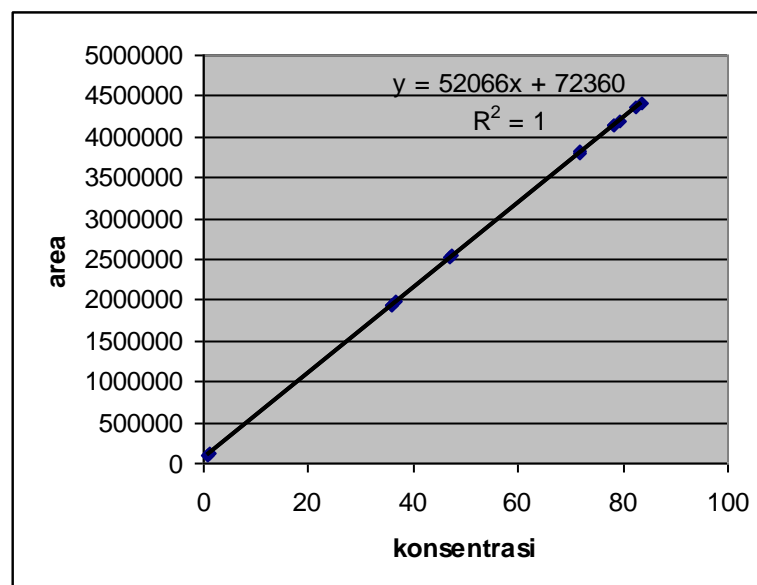
Misalkan pada sampel  $MST_1$ , diketahui area (y) = 4372834 dan dengan memasukkan ke persamaan  $y = 52063x + 72337$  maka  $x = (y - 72337)/52063$



sehingga diperoleh nilai  $x = (4372834 - 72337) / 52063 = 82.60$ . Demikian dilakukan pada semua sampel hingga diperoleh nilai-nilai konsentrasi seperti pada tabel.

Tabel 4.3 Hasil perhitungan konsentrasi pada sampel

No	sampel	Area	Konsentrasi (mg)
1	MST1	4372834	82.60
2	MST2	4416217	83.44
3	MST3	4151906	78.34
4	KNA1	127560	1.06
5	KNA2	109555	0.71
6	MGK1	2545155	47.49
7	MGK2	2517206	46.96
8	M8P1	3810745	71.80
9	M8P2	3816328	71.91
10	MPP1	4198206	79.24
11	MPP2	4154292	78.40
12	GRS2	1942701	35.93
13	GRS3	1974833	36.54
14	GRS4	1946037	35.99



Grafik 4.2. Hubungan konsentrasi dan area pada masing-masing sample.

### Analisis Korelasi dan Signifikansi

Untuk membuktikan apakah ada hubungan atau pengaruh antara variabel area dan variabel konsentrasi, bagaimana arah hubungan dan seberapa besar hubungan tersebut maka dilakukan uji statistika.

Tabel 4.4 Interpretasi nilai korelasi menurut Guilford

Besarnya nilai konsentrasi	Interpretasi
Antara 0,8 sampai 1	Hubungan kedua variabel sangat kuat
Antara 0,6 sampai 0,8	Hubungan kedua variabel kuat
Antara 0,4 sampai 0,6	Hubungan kedua variabel sedang
Antara 0,2 sampai 0,4	Hubungan kedua variabel lemah
Antara 0,0 sampai 0,2	Tidak terdapat hubungan keduanya

Uji korelasi dengan SPSS dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Dari menu utama SPSS, masukkan nilai variabel area dan nilai variabel konsentrasi. Pilih menu **Analyze** kemudian submenu **correlate**, dan pilih **bivariate...**
2. Isi **Variabel** yaitu variabel area dan variabel konsentrasi yang akan dikorelasikan.
3. **Correlation Coefficients** atau alat hitung koefisien korelasi. Pilih **Pearson**
4. **Test of significance**, pilih **Two-tailed**
5. Aktifkan **Flag significance correlations**
6. Klik tombol **Options** dan aktifkan **Exclude cases pairwise**
7. Lanjutkan dengan **OK**. Dan akan diperoleh tampilan sebagai berikut:

Tabel 4.5 Tabel korelasi area dan konsentrasi dengan SPSS

	area	Konsentrasi
Korelasi pearson	1	1.000**
Signifikansi (dua sisi)		.000
N (jumlah sampel)		14
Korelasi pearson	1.000**	1
Signifikansi (dua sisi)	.000	

N (jumlah sampel)	14	
-------------------	----	--

\*\* . Korelasi signifikan pada tingkat kepercayaan 0,01 (uji dua sisi)

#### 1. Arti angka korelasi

Antara area dan konsentrasi didapat angka korelasi + 1 hal ini berarti semakin besar konsentrasi semakin besar juga area (absorbansi), dan sebaliknya.

#### 2. Signifikansi hasil korelasi

Hipotesis:

Ho = Tidak hubungan signifikan antara konsentrasi area dengan konsentrasi.

Ha = Ada hubungan antara area dan konsentrasi

Uji dilakukan dua sisi

Dasar pengambilan keputusan (berdasarkan probabilitas) :

- Jika probabilitas  $> 0,05$  (atau 0,01) maka Ho diterima.
- Jika probabilitas  $< 0,05$  (atau 0,01) maka Ho ditolak.

Catatan: 0,05 atau 0,01 tergantung pemilihan.

Keputusan:

Karena angka probabilitas 0.000 maka variabel area dan variabel konsentrasi memang secara nyata berkorelasi. Hal ini bisa juga dilihat dari tanda \*\* pada angka korelasi, yang artinya sama, yaitu angka korelasi memang signifikan. Output menyatakan SPSS menganggap korelasi signifikan pada level 0,01 atau 1 %. Tentunya jika diuji dengan tingkat 5% akan signifikan juga.

#### **4.4 Perbandingan Konsentrasi Sampel Dengan Peraturan No. 722/Menkes/per/IX/1988.**

Konsentrasi Natrium Benzoat yang diizinkan pada minuman ringan berdasarkan peraturan tersebut yaitu 600 mg/l.

Tabel 4.6 Perbandingan konsentrasi dengan aturan Menteri kesehatan.

No	Sampel	Konsentrasi yang diizinkan (mg/l)	Konsentrasi zat pengawet pada sampel (mg/l)	Spesifikasi
1	MST1	600	82.60	Baik
2	MST2	600	83.44	Baik
3	MST3	600	78.34	Baik
4	KNA1	600	1.06	Baik
5	KNA2	600	0.71	Baik
6	MGK1	600	47.49	Baik
7	MGK2	600	46.96	Baik
8	M8P1	600	71.80	Baik
9	M8P2	600	71.91	Baik
10	MPP1	600	79.24	Baik
11	MPP2	600	78.40	Baik
12	GRS2	600	35.93	Baik
13	GRS3	600	36.54	Baik
14	GRS4	600	35.99	Baik

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan analisis yang dilakukan terhadap zat pengawet yang meliputi analisis kualitatif yaitu menentukan jenis zat pengawet dan analisis kuantitatif yaitu menentukan konsentrasi zat pengawet pada minuman kemasan dengan teknik kromatografi diperoleh kesimpulan bahwa :

1. Dengan membandingkan hasil kromatogram standar baku dengan hasil kromatogram sampel baik bentuk grafik dan waktu retensi yang hampir sama maka zat pengawet yang digunakan pada minuman MST1, MST2, MST3, KNA1, KNA2, MGK1, MGK2, M8P1, M8P2, MPP1, MPP2, GRS2,GRS3, GRS4 adalah zat pengawet Natrium Benzoat.
2. Berdasarkan analisis kuantitatif dengan menggunakan metode baku eksternal maka konsentrasi zat pengawet dalam kemasan dapat ditentukan. Konsentrasi Natrium Benzoat pada masing-masing kemasan yaitu sebagai berikut: MST1 = 82,60 mg/l, MST2 = 83,44 mg/l, MST3 = 78,34 mg/l, KNA1 = 1,06 mg/l, KNA2 = 0,71 mg/l, MGK1 = 47,49 mg/l, MGK2 = 46,96 mg/l, M8P1 = 71,80 mg/l, M8P2 = 71,91 mg/l, MPP1 = 79,24 mg/l, MPP2 = 78,40 mg/l, GRS2 = 35,93 mg/l, GRS3 = 36,54,mg/l, GRS4 = 35,99 mg/l.
3. Dengan membandingkan konsentrasi yang diperoleh terhadap peraturan No.722/Menkes/per/IX/1988 tentang bahan tambahan makanan dimana konsentrasi zat pengawet Natrium Benzoat yang diizinkan pada minuman sirup maksimum sebesar 600 mg/l maka konsentrasi Natrium Benzoat yang digunakan pada minuman MST1, MST2, MST3, KNA1, KNA2, MGK1, MGK2, M8P1, M8P2, MPP1, MPP2, GRS2,GRS3, dan GRS4 masih sesuai aturan dan baik digunakan.
4. Dari uji statistik yang dilakukan diperoleh besarnya korelasi area (absorbansi) terhadap konsentrasi adalah 1, artinya terdapat hubungan yang signifikan

antara area dengan konsentrasi dimana semakin besar konsentrasi Natrium Benzoat dalam minuman kemasan maka penyerapan terhadap gelombang UV akan semakin besar juga.

## **5.2 Saran**

1. Sebaiknya penelitian selanjutnya dilakukan analisis untuk jenis zat pengawet yang lain dan pada minuman kemasan yang lain.
2. Sebaiknya tidak penelitan tidak hanya analisis terhadap zat pengawet tetapi juga terhadap jenis dan konsentrasi zat lain.
3. Apabila dalam penelitan selanjutnya ditemukan ketidaksesuaian terhadap aturan tentang bahan tambahan zat pengawet maka peneliti dianjurkan untuk merekomendasikannya terhadap pihak yang berwenang (Balai Pengawas Obat dan Makanan) agar dapat dilakukan peninjauan kembali.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. 1997. *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan makanan*. Yogyakarta, Penerbit ANDI
- Johnson, E dan Stevenson, R. 1991. *Dasar kromatografi cair*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB
- Nana, Dana Priatna .2005. Pengantar Statistika. Yogyakarta :Graha Ilmu.
- Park, G.L. dan D.B. Nelson. 1981. *HPLC Analysis of Sorbic acid in Citrus fruit*. J Fd.
- Rohman, Abdul. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Pelajar.
- Santoso, Singgih. 2000. Buku Latihan SPSS Statistik Parametrik. Jakarta: Penerbit PT Elex Media Komputindo.
- Satiadarma, Kosasih. 2004. Asas Pengembangan Prosedur Analisis. Surabaya: Airlangga University Press.
- Widiyatmoko, Joko. 2006. Microsoft Excel. Yogyakarta, Penerbit Yescom.
- Zweigh, G. dan Sherma, J. 2000. *CRC Handbook of Chromatography : General Data and Principles*. Florida: CRC Press, Inc.