

SAINSTEK

Jurnal Ilmiah Matematika, Sains Teknologi, dan Terapan

Penentuan Kondisi Optimum pada Analisa Asam Askorbat dan Asam Benzoat
Menggunakan HPLC
Desy Kurniawati dan Budi Oktavia

Pengaruh Pemberian Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia Pendens* Merr & Perry) Terhadap Viabilitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) Yang Dipapar Asap Rokok
Mustamin Ibrahim

Analisa Simpang Bersinyal Dengan Lampu Lalu Lintas (Studi Kasus Jalan Jenderal Sudirman - Jalan Arif Rahman Hakim Dan Jalan Jaksa Agung Suprpto Kota Gorontalo)
Yulianti Kadir

Isolasi Asam α -Linolenat (Omega-3) Dari Biji Kemiri (*Aleurites moluccana*) Menggunakan Metode Urea Inclusion Complex
Suleman Duengo, Hendri Iyabu

Karakteristik Diagnostik Pneumonia Pada Anak di rumah sakit umum DR. Wahidin sudirohusodo makassar Tahun 2009-2011
Syam S. Kumaji, Syahruni Hidayatullah

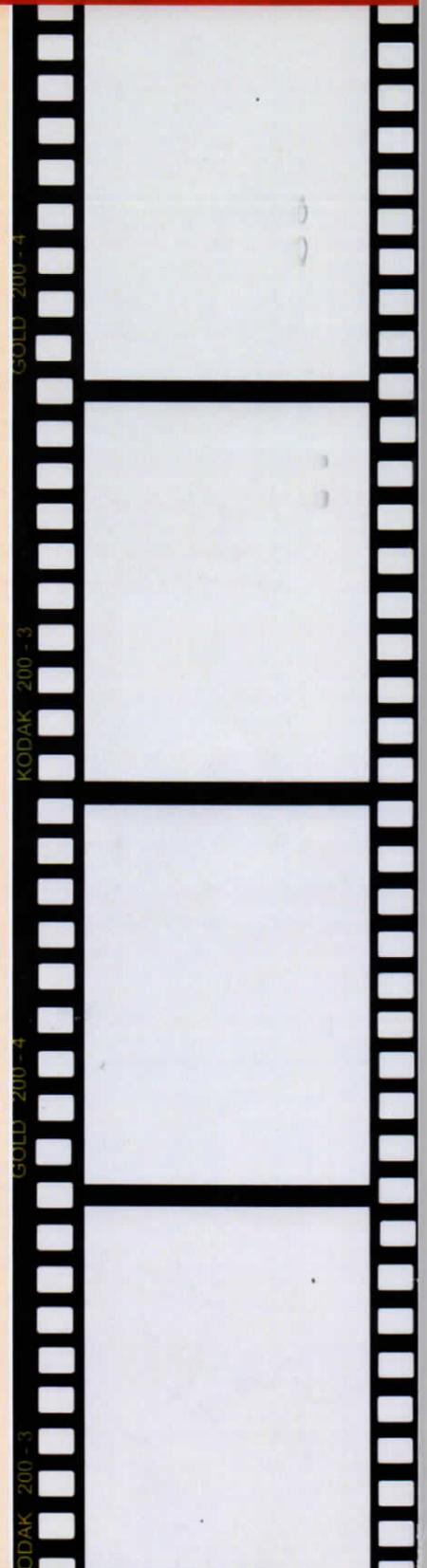
Ketersediaan Zat Besi Sebagai Zat Penambah Darah Dan Zink Terhadap Peningkatan Hematokrit Anak SD Penderita Post Malaria
Laksmyn Kadir

Identifikasi Alga Merah (*Gracilaria* sp) di Provinsi Gorontalo
Rully Tuiyo

Signifikasi Perhitungan Nilai Ergonomi Terhadap Rancangan Alat Bantu Kerja Berdasarkan Antropometri
Stella Junus, Sugiyanto Mohammad

Identifikasi Total Bahan Padat Dan Kadar Lemak Pada Susu Bubuk Yang Diolah Dengan Metode Pengeringan Berbeda
Agus Bahar Rachman

Studi Implementasi Aplikasi Netmeeting Dalam Jaringan Local Area Network Menggunakan Lan
Zainudin Bonok, Bambang Panji Asmara



JURNAL SAINSTEK

ISSN 1907-1973

Volume 7, Nomor 4, Maret 2014

Jurnal Sainstek adalah wadah informasi bidang MIPA, Teknik, Ilmu-ilmu Pertanian dan sains terapan berupa hasil penelitian, studi kepustakaan maupun tulisan ilmiah terkait. Terbit pertama kali tahun 2006, terbit tiga kali setahun pada bulan Maret, Juli, dan Nopember, mulai volume 6 dalam satu volume ada enam nomor dengan disain sampul baru.

Ketua Penyunting

Ishak Isa

Wakil Ketua Penyunting

M. Yusuf

Penyunting Pelaksana

Lukman AR Laliyo

Mohammad Yahya

Robert Tungkagi

Novri Y Kandowangko

Abdul Djabar Mohidin

Hidayat Koniyo

Mohamad Lihawa

Pelaksana Tata Usaha

Zumriaty Mohamad

Herman Arsyad

Maya N Dama

Halid Luneto

Agustin Mohi

Cindra Zakaria

Alamat Redaksi/Penerbit: Gedung Fakultas MIPA Jl. Jend. Sudirman 6 Kota Gorontalo. Telepon 0435-827213

JURNAL SAINSTEK diterbitkan oleh Universitas Negeri Gorontalo

DAFTAR ISI

1. Penentuan Kondisi Optimum pada Analisa Asam Askorbat dan Asam Benzoat Menggunakan HPLC
Desy Kurniawati dan Budi Oktavia 329
2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Sarang Semut (*Myrmecodia Pendens* Merr & Perry) Terhadap Viabilitas Spermatozoa Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) Yang Dipapar Asap Rokok
Mustamin Ibrahim 341
3. Analisa Simpang Bersinyal Dengan Lampu Lalu Lintas (Studi Kasus Jalan Jenderal Sudirman - Jalan Arif Rahman Hakim Dan Jalan Jaksa Agung Suprpto Kota Gorontalo)
Yulianti Kadir 347
4. Isolasi Asam α -Linolenat (Omega-3) Dari Biji Kemiri (*Aleurites moluccana*) Menggunakan Metode Urea Inclusion Complex
Suleman Duengo, Hendri Iyabu 358
5. Karakteristik Diagnostik Pneumonia Pada Anak di rumah sakit umum DR. Wahidin sudirohusodo makassar Tahun 2009-2011
Syam S. Kumaji, Syahrani Hidayatullah..... 364
6. Ketersediaan Zat Besi Sebagai Zat Penambah Darah Dan Zink Terhadap Peningkatan Hematokrit Anak SD Penderita Post Malaria
Laksmyn Kadir 372
7. Identifikasi Alga Merah (*Gracilaria* sp) di Provinsi Gorontalo
Rully Tuiyo 379
8. Signifikasi Perhitungan Nilai Ergonomi Terhadap Rancangan Alat Bantu Kerja Berdasarkan Antropometri
Stella Junus, Sugiyanto Mohammad..... 384
9. Identifikasi Total Bahan Padat Dan Kadar Lemak Pada Susu Bubuk Yang Diolah Dengan Metode Pengeringan Berbeda
Agus Bahar Rachman 397
10. Studi Implementasi Aplikasi Netmeeting Dalam Jaringan Local Area Network Menggunakan Lan
Zainudin Bonok, Bambang Panji Asmara..... 403

PENENTUAN KONDISI OPTIMUM PADA ANALISA ASAM ASKORBAT DAN ASAM BENZOAT MENGGUNAKAN HPLC

Desy Kurniawati dan Budi Oktavia

Jurusan Kimia Universitas Negeri Padang

e-mail: desy.chem@gmail.com

ABSTRAK: Berbagai minuman ringan (*soft drink*) yang beredar di pasaran berupaya menarik konsumen dengan rasa yang enak, warna yang menarik. Untuk mencapai tujuan tersebut produsen menambahkan zat tambahan makanan dalam minuman dan juga untuk meningkatkan keawetannya. Zat yang sering ditambahkan adalah asam askorbat dan asam benzoat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi terbaik penentuan kadar asam askorbat dan asam benzoat secara HPLC yang diaplikasikan pada minuman ringan yang dijual bebas di pasaran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum HPLC yang menggunakan fasa gerak metanol dan buffer asetat pada laju alir 1 ml/mnt, Kolom ODS C₁₈, $\lambda = 240$ nm, pH 3.5, dilakukan secara elusi gradien yang dimulai pada komposisi fasa gerak 5:95 hingga 50:50 selama 5 menit dengan waktu retensi untuk asam askorbat adalah 3.73 menit dan 11.07 menit untuk asam benzoat. Dari hasil uji kadar sampel minuman ringan yang dijual di lingkungan sekolah tidak ditemukan asam askorbat dan asam benzoat sebagai bahan pengawet, sedangkan untuk minuman ringan yang beredar di pasaran dari 5 sampel yang diuji ditemukan sampel yang mengandung asam benzoat yang melebihi batas maksimum yang diizinkan yang terdapat pada sampel C yaitu 676 ppm, sedangkan kadar yang diizinkan menurut SNI 01-0222-1995 untuk asam benzoat adalah 600 ppm. Kandungan asam askorbat terbanyak terdapat pada sampel A yaitu 2869 ppm.

Kata kunci: Asam askorbat, asam benzoat, HPLC

PENDAHULUAN

Semakin berkembangnya ilmu pengetahuan saat ini, tingkat pengetahuan tentang teknik pemisahan pun semakin meningkat. Salah satu teknik pemisahan yang sering digunakan adalah kromatografi. Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan molekul berdasarkan perbedaan pola pergerakan antara fasa gerak dan fasa diam untuk memisahkan komponen yang berada pada larutan.

Saat ini teknik kromatografi yang paling banyak digunakan untuk fasa cair adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau biasa dikenal dengan *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Karena analisa dengan HPLC cepat, daya pisah baik, persiapan sampel mudah dan dapat dihubungkan dengan detektor yang sesuai. HPLC dapat digunakan untuk mengisolasi zat tidak mudah menguap dan zat yang secara termal tidak stabil (Khopkar, 2003:168). HPLC juga dapat digunakan untuk penentuan zat-zat organik yang ada didalam makanan seperti asam benzoat dan asam askorbat.

Asam benzoat merupakan suatu bahan pengawet yang sering digunakan dalam minuman ringan. Bahan pengawet merupakan bahan kimia yang berfungsi untuk memperlambat kerusakan makanan baik yang disebabkan mikroba pembusuk, bakteri, ragi, maupun jamur dengan cara

menghambat, mencegah, menghentikan proses pembusukan dan fermentasi dari bahan makanan. Pemakaian asam benzoat dari satu sisi menguntungkan karena dengan penambahan asam benzoat makanan dan minuman dapat dibebaskan dari mikroba pembusuk, namun dari sisi lain, disisi lain penggunaan asam benzoat sebagai pengawet dapat menimbulkan efek buruk terhadap kesehatan bagi pemakainya apabila kadar pemakaian bahan pengawet tidak diatur dan diawasi.

Asam askorbat merupakan suatu antioksidan yang juga termasuk bahan pengawet. Zat ini ditambahkan untuk mencegah timbulnya bau tengik pada makanan yang mengandung minyak dan lemak. Asam askorbat merupakan salah satu vitamin yang larut didalam air. Asam askorbat berfungsi untuk mensintesis kolagen intraseluler mengoksidasi fenilalanin menjadi tirosin, mereduksi ion ferri menjadi ferro dalam saluran pencernaan, meningkatkan penyerapan besi dalam usus halus. Asam askorbat banyak dijumpai didalam buah-buahan dan sayur-sayuran terutama dalam keadaan segar. Sumber vitamin C yang terdapat dalam tanaman adalah bayam, jeruk, nanas, brokoli, dan lain-lain. Vitamin C yang bersumber dari hewan adalah susu, telur, daging, ikan, dan unggas (Iryani, 2003:80).

Pada penelitian ini dengan metoda HPLC digunakan pelarut metanol dan buffer asetat. Sekaligus untuk melihat kemampuan dan ketepatan HPLC dengan menggunakan pelarut metanol dan buffer asetat dalam penentuan asam askorbat dan asam benzoate dengan variasi pH dan Fasa gerak.

BAHAN DAN METODE

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yang telah dilakukan di Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia FMIPA UNP selama 6 (enam) bulan. Alat-alat yang digunakan adalah HPLC, peralatan gelas, oven, kertas pH, kertas saring, neraca analitik, botol reagen, labu ukur, erlenmeyer, botol semprot, batang pengaduk, pipet tetes. Bahan yang digunakan adalah kadar asam askorbat dan asam benzoat standar, metanol, asam asetat, aquadest. Minuman ringan yang dijual bebas di pasaran

Tahapan Penelitian

a. Sampling minuman

Proses sampling minuman ringan dilakukan berdasarkan merek yang beredar di pasaran (supermarket di daerah kota Padang). 10 merek minuman ringan akan dipilih untuk digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini, diantaranya, coca cola, teh botol dan kopi instan. Pemilihan sampel berdasarkan atas informasi kandungan bahan-bahan yang ditambahkan ke dalam sampel tersebut.

b. Penetapan panjang gelombang pengukuran

a. Pembuatan larutan baku 10 ppm

Dibuat larutan standar dari masing-masing bahan baku pembanding dengan kadar 10 ppm untuk asam askorbat dan asam benzoat menggunakan pelarut aquadest yang sudah disaring..

b. Penetapan panjang gelombang pengukuran

Masing-masing larutan bahan baku pembanding tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer, lalu dibuat kurva serapannya. Kemudian ditentukan panjang gelombang untuk analisis.

c. Penentuan kondisi optimum untuk penentuan asam benzoat dan asam askorbat secara HPLC

Larutan campuran bahan baku pembanding asam benzoat dan asam askorbat di dalam pelarut aquades, disuntikan sebanyak 20 μ l ke dalam kolom menggunakan fase gerak campuran metanol dan air dengan bufer asetat antara pH 3 sampai 6. Dipilih komposisi dan pH yang memberikan pemisahan terbaik berdasarkan waktu retensi (t_R), resolusi (R), HETP dan jumlah pelat teoritis (N).

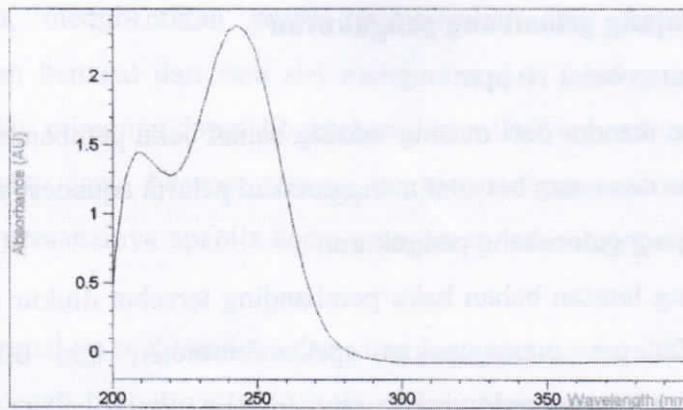
d. Penentuan kadar asam benzoat dan asam askorbat secara HPLC

Kondisi terpilih kemudian digunakan pada analisis sampel sebagai aplikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Panjang Gelombang Optimum

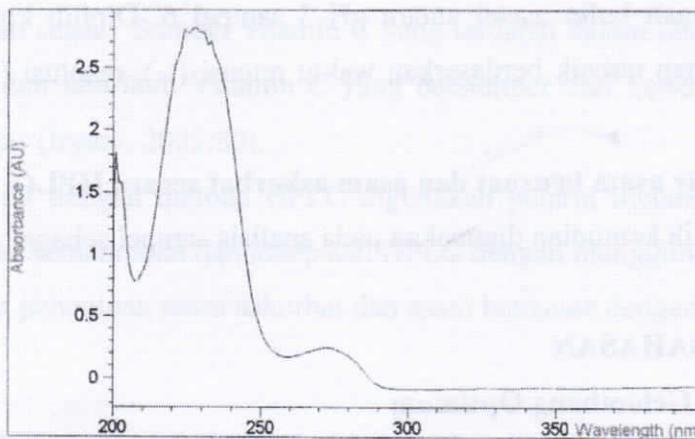
Penentuan panjang gelombang optimum dari senyawa asam askorbat dan asam benzoat bertujuan untuk melihat pada panjang gelombang berapakah kedua senyawa tersebut dapat memberikan penyerapan yang baik sehingga pemisahan dengan HPLC dapat dilakukan. Penyerapan yang paling baik ditandai dengan terbentuknya puncak paling tinggi pada spektrogram. Penentuan panjang gelombang optimum ini ditentukan dengan mengukur serapan larutan asam askorbat dan asam benzoat dengan konsentrasi masing-masing 50 ppm pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV. Dari hasil pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimum asam askorbat adalah 245 nm, dan panjang gelombang maksimum untuk asam benzoat adalah 230 nm. Untuk itu pada penelitian ini digunakan panjang gelombang 240 nm, sehingga kedua senyawa masih dapat terdeteksi dan memberikan penyerapan yang baik. Hasil dari pengukuran kedua senyawa tersebut dapat dilihat pada gambar 1 dan gambar 2.



Sample/Result Table

#	Name	Abs<245nm>
1	50ppm vit C	2.32930

Gambar 1. Spektrogram Asam Askorbat 50 ppm



Sample/Result Table

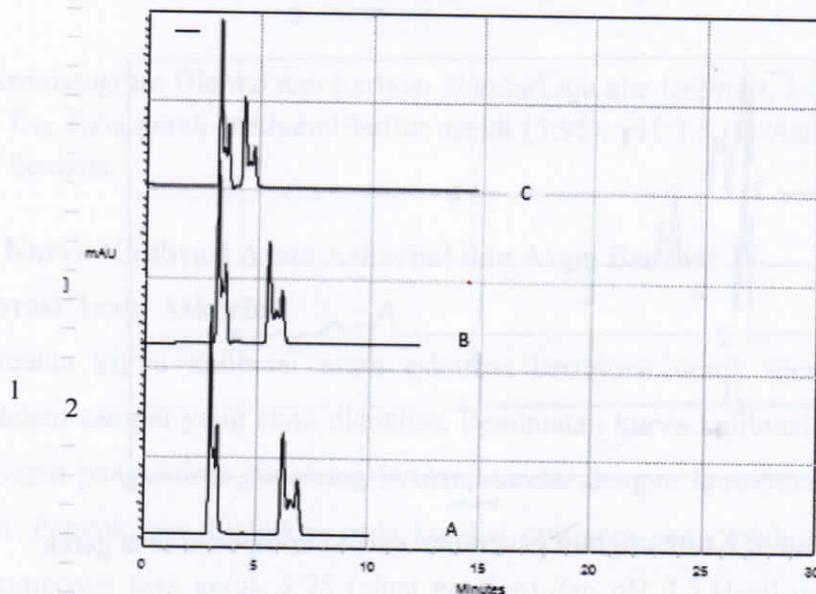
#	Name	Abs<230nm>
1	Benzoat 50ppm	2.78120

Gambar 2. Spektrogram Asam Benzoat 50 ppm

Penentuan PH Optimum Buffer Asetat Sebagai Komponen Fasa Gerak

Penentuan pH optimum dilakukan untuk mendapatkan hasil analisa yang optimum untuk pemisahan asam askorbat dan asam benzoat. Penentuan pH optimum dilakukan pada komposisi fasa gerak 50:50 dengan waktu retensi 30 menit, laju alir 1 ml/min, menggunakan kolom C₁₈, $\lambda=240$ nm. Untuk memperoleh pH optimum, maka pH divariasikan pada pH 3.5, 4.5, dan 5.5. pemilihan variasi pH dilakukan secara selektif agar tidak merusak kolom. Jika pH yang divariasikan terlalu rendah maka ikatan silika yang berfungsi sebagai fasa diam dapat putus (terhidrolisis), dan jika pH terlalu basa maka silika akan larut, karena silika larut dalam suasana basa, sehingga tidak akan diperoleh hasil pemisahan yang baik (Panggabean dkk, 2011). PH 3.5

yang diperoleh ternyata sesuai dengan sifat dari asam askorbat dan asam benzoat yang memperlihatkan kegiatan optimum pada selang pH 2.5-4.0 (Sakidja, 1989). Hasil pengukuran untuk penentuan pH optimum dengan kondisi operasi; Laju alir 1 ml/mnt, $\lambda=240$ nm, Kolom ODS C₁₈, Fasa gerak metanol:buffer asetat (50:50) A; metanol:buffer asetat pH 3.5, B; metanol:buffer asetat pH 4.5, C; metanol :buffer asetat pH 5.5, 1) Asam askorbat, 2) Asam Benzoat, dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar3.Kromatogram penentuan pH optimum.

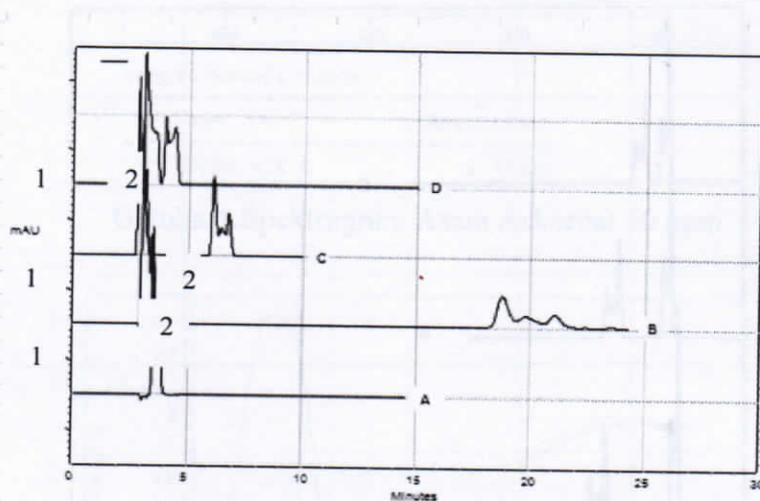
Dari kromatogram pada gambar 3 dapat dilihat bahwa pada pH 3.5 telah terjadi pemisahan yang baik untuk pemisahan asam askorbat dan asam benzoat, karena perbedaan waktu retensi antara kedua senyawa cukup lama, yaitu waktu retensi untuk asam askorbat pada 2.93 mnt dan asam benzoat muncul pada 6.2 mnt. Untuk itu digunakan pH 3.5 sebagai pH optimum pada penelitian ini.

Penentuan Komposisi Fasa Gerak Optimum

Fasa gerak yang digunakan pada penelitian ini adalah campuran dari metanol dan buffer asetat. Penelitian ini menggunakan fasa terbalik, yaitu fasa gerak yang digunakan lebih polar bila dibandingkan dengan fasa diam yang bersifat non polar, karena pada penelitian ini senyawa yang akan dianalisa bersifat polar. Dari gambar 3 diatas dapat dilihat komposisi fasa gerak 50:50 pada pH 3.5 telah terjadi pemisahan yang baik. Pada kondisi tersebut asam askorbat memberikan waktu retensi 2.93 hal ini bersamaan dengan munculnya *system peak*, yaitu puncak yang muncul meskipun tidak ada sampel yang diinjeksikan. Untuk menghindari *system peak* yang dapat mengganggu puncak dari sampel, maka dilakukanlah variasi komposisi fasa gerak

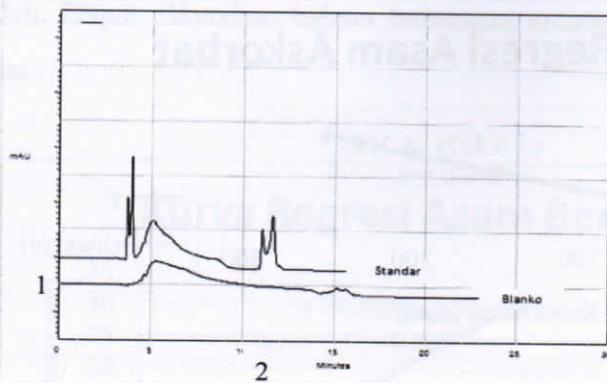
agar diperoleh pemisahan yang baik. Variasi komposisi fasa gerak dilakukan pada komposisi 10:90, 30:70, 50:50, dan 70:30. Dari hasil pengukuran pada berbagai komposisi fasa gerak dengan kondisi operasi; Laju alir 1ml/mnt, $\lambda=240$ nm, Kolom ODS C₁₈, Fasa gerak metanol:buffer asetat (3.5)

A; metanol:buffer asetat (10:90), B; metanol:buffer asetat (30:70), C; metanol:buffer asetat (50:50), D; metanol :buffer asetat (70:30), 1) Asam askorbat, 2) Asam Benzoat, dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Kromatogram penentuan variasi komposisi fasa gerak

Dari kromatogram pada gambar 4 dapat kita lihat bahwa asam askorbat pada komposisi fasa gerak 30:70, 50:50 dan 70:30 memberikan waktu retensi yang sama yaitu 2.9, sedangkan pada komposisi fasa gerak 10:90 asam askorbat muncul pada waktu retensi 3.45. Pada komposisi 10:90 asam benzoat muncul pada waktu retensi yang sangat lama, untuk memperpendek waktu retensi asam benzoate agar didapatkan puncak dalam waktu sekitar 10 menit, maka dilakukan elusi gradien, yaitu perubahan komposisi fasa gerak selama elusi. Elusi gradien dimulai pada komposisi 5:95 hingga 50:50 selama 5 menit dan setelah terjadi elusi maka komposisi fasa gerak akan konstan pada 50:50, komposisi inilah yang digunakan sebagai komposisi optimum dari fasa gerak agar diperoleh pemisahan yang baik. Hasil pemisahan dengan kondisi ini dapat dilihat pada Gambar 5, yaitu waktu retensi untuk asam askorbat adalah 3.73 mnt dan waktu retensi untuk asam benzoat adalah 11.07 mnt. Kondisi ini dipakai untuk penentuan kadar asam askorbat dan asam benzoat pada sampel minuman ringan.



Gambar 5. Kromatogram Blanko dan Larutan Standar Laju alir 1ml/mnt, $\lambda=240$ nm, Kolom ODS C_{18} , Fasa gerak methanol:buffer asetat (5:95), pH 3.5, 1) Asam askorbat, 2) Asam benzoat.

Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Askorbat dan Asam Benzoat

Kurva Kalibrasi Asam Askorbat

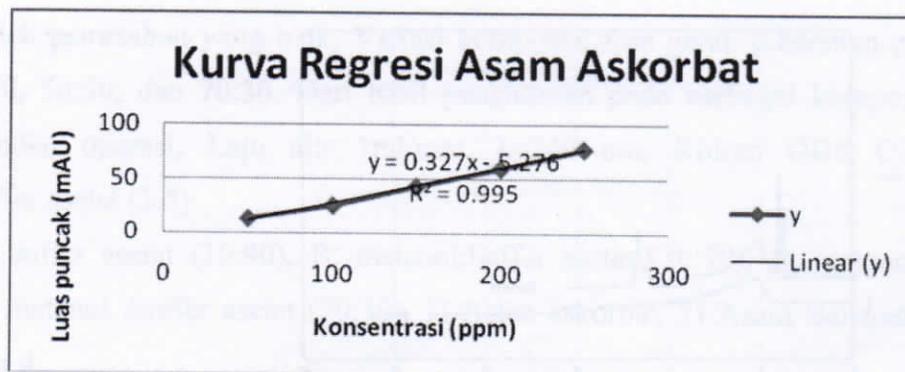
Pembuatan kurva kalibrasi asam askorbat bertujuan untuk mengetahui kadar asam askorbat di dalam sampel yang akan dianalisa. Pembuatan kurva kalibrasi untuk asam askorbat dilakukan dengan pengukuran sederetan larutan standar dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200 dan 250 ppm. Pengukuran dilakukan pada kondisi optimum yang telah diperoleh sebelumnya yaitu pada komposisi fasa gerak 5:95 (elusi gradien) dan pH 3.5. Hasil dari pengukuran dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data pembuatan kurva kalibrasi asam askorbat

Konsentrasi (ppm)	Luas puncak (mAUxmnt)
50	13.194
100	25.217
150	43.140
200	59.819
250	77.175

Dari data table 1 diperoleh kurva kalibrasi asam askorbat seperti pada gambar 6.

Berdasarkan hasil pengukuran, didapatkan persamaan regresi dari asam askorbat adalah $y=0.327x-5.276$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) =0.995. Nilai koefisien determinasi yang diperoleh menunjukkan hasil yang baik karena mendekati nilai 1. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa terdapat hubungan yang linear antara konsentrasi asam askorbat dan luas puncak yang terukur dimana semua titik hasil pengukuran terdapat pada satu garis lurus.



Gambar6. Kurva Kalibrasi Asam Askorbat Laju alir 1 ml/mnt, $\lambda=240$ nm, Kolom ODS C₁₈, Fasa gerak Metanol:Buffer Asetat(5:95), pH 3.

Kurva Kalibrasi Asam Benzoat

Pembuatan kurva kalibrasi asam benzoat bertujuan untuk mengetahui kadar asam benzoat di dalam sampel yang akan dianalisa. Pembuatan kurva kalibrasi untuk asam benzoat dilakukan dengan pengukuran sederetan larutan standar pada konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 125 ppm. Pengukuran dilakukan pada kondisi optimum yang telah diperoleh sebelumnya yaitu pada komposisi fasa gerak 5:95 (elusi gradien) dan pH 3.5. Hasil pengukuran pembuatan kurva kalibrasi asam benzoat dapat dilihat pada Tabel 2.

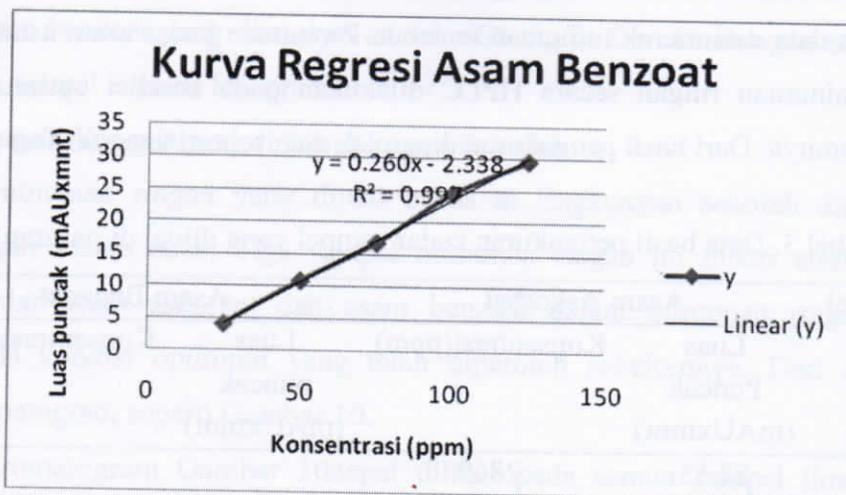
Tabel 2. Data pembuatan kurva kalibrasi Asam Benzoat

Konsentrasi (ppm)	Luas puncak (mAUxmnt)
25	4.005
50	10.84
75	16.82
100	24.58
125	29.67

Dari data table 2 diperoleh kurva kalibrasi untuk asam benzoat seperti Gambar 7.

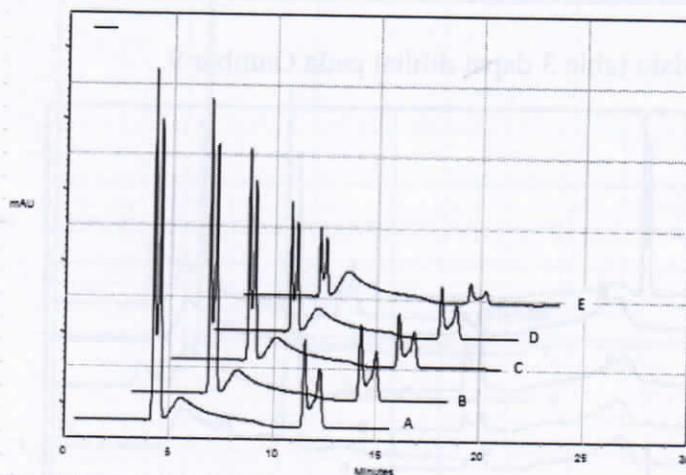
Berdasarkan hasil pengukuran, didapatkan persamaan regresi dari asam benzoat adalah $y=0.260x-2.338$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) =0.997. Nilai koefisien determinasi yang diperoleh menunjukkan hasil yang baik karena mendekati nilai 1. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa terdapat hubungan yang linear antara konsentrasi asam benzoat dan luas puncak yang terukur dimana semua titik hasil pengukuran terdapat pada satu garis lurus. Kromatogram hasil pengukuran kurva kalibrasi kedua senyawa dapat dilihat pada Gambar 8, dimana dari kromatogram dapat dilihat semakin tinggi konsentrasi senyawa yang diukur maka puncak akan semakin tinggi, dan semakin rendah konsentrasi senyawa yang diukur maka puncak

juga akan rendah. Dapat dikatakan bahwa hubungan antara konsentrasi dengan tinggi puncak berbanding lurus.



Gambar 7. Kurva Kalibrasi Asam Benzoat

Laju alir 1ml/mnt, $\lambda=240$ nm, Kolom ODS C_{18} , Fasa gerak metanol:Buffer Asetat (5:95), pH 3.5



Gambar 8. Kromatogram kurva kalibrasi asam askorbat dan asam benzoat

Laju alir 1ml/mnt, $\lambda=240$ nm, Kolom ODS C_{18} , Fasa gerak metanol:buffer asetat (5:95) pH 3.5
A; asam askorbat : asam benzoat (250:125), B; asam askorbat: asam benzoat (200:100), C; asam askorbat: asam benzoat (150:75), D; asam askorbat: asam benzoat (100:50), E; asam askorbat: asam benzoat (50:25)

Penentuan Kadar Asam Askorbat dan Asam Benzoat dalam Sampel Minuman Ringan

Pada penelitian ini minuman ringan yang akan dianalisa kandungan asam askorbat dan asam benzoatnya dipilih secara acak berdasarkan merek minuman ringan yang dijual bebas dipasaran dan dilingkungan sekolah.

Minuman ringan yang dijual bebas dipasaran

Untuk minuman ringan yang dijual bebas dipasaran, dipilih 5 merek minuman ringan yang akan dianalisa. Lima macam minuman ringan ini disimbolkan dengan huruf A, B, C, D dan E untuk kerahasiaan data dari merek minuman tersebut. Penentuan kadar asam askorbat dan asam benzoat dalam minuman ringan secara HPLC dilakukan pada kondisi optimum yang telah didapatkan sebelumnya. Dari hasil pengukuran diperoleh data seperti yang terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data hasil pengukuran kadar sampel yang dijual di pasaran

Sampel	Asam Askorbat		Asam Benzoat	
	Luas Puncak (mAUxmnt)	Konsentrasi(ppm)	Luas puncak (mAUxmnt)	Konsentrasi(ppm)
A	88.55	2869	-	-
B	-	-	6.88	354
C	1.09	194	15.25	676
D	0.73	183	4.16	249
E	-	-	1.8	159

Kromatogram dari data table 3 dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Kromatogram sampel minuman ringan yang dijual bebas di pasaran.

Laju alir 1ml/mnt, $\lambda=240$ nm, Kolom ODS C_{18} , Fasa gerak metanol:buffer asetat(5:95), pH 3.5 1) Asam askorbat, 2) Asam benzoat

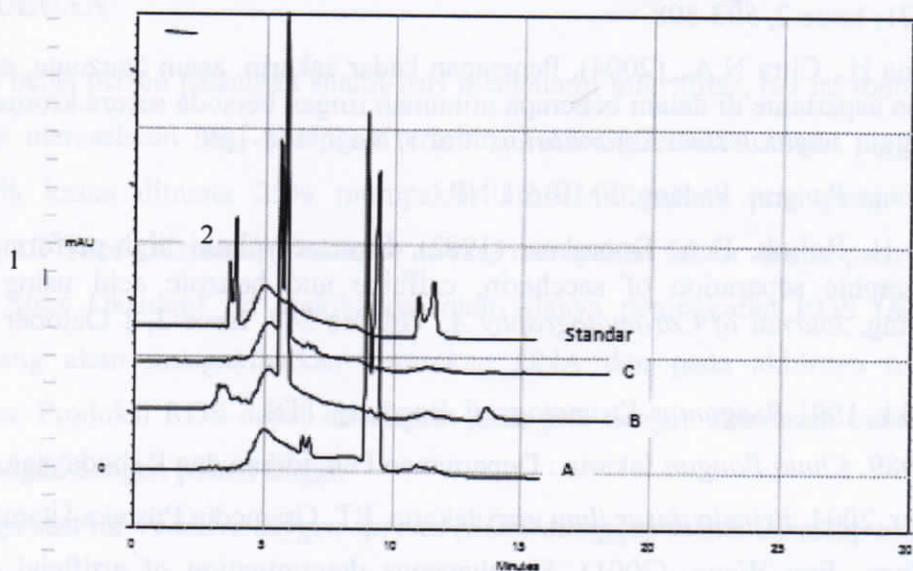
Dari data yang telah diperoleh dapat diketahui bahwa Sampel A, C dan D mengandung asam askorbat dimana kadar tertinggi terdapat pada sampel A yaitu 2869 ppm, hal ini tidak berbahaya karena asam askorbat apabila dikonsumsi melebihi yang dibutuhkan oleh tubuh akan dikeluarkan bersama urin, sedangkan Sampel B dan E tidak mengandung asam askorbat. Sampel

B, C, D dan E mengandung asam benzoat sebagai pengawet dimana kadar tertinggi terdapat pada sampel C yaitu 676 ppm, kandungan ini telah melewati ambang batas maksimum yang diizinkan untuk pemakaian asam benzoat sebagai bahan pengawet. Berdasarkan SNI 01-0222-1995 pemakaian asam benzoat yang diizinkan adalah 600 mg/L. Dan kandungan asam benzoat yang terendah pada sampel E yaitu 159 ppm.

Minuman Ringan Yang Dijual di Lingkungan Sekolah

Untuk minuman ringan yang dijual bebas di lingkungan sekolah dipilih tiga sampel minuman ringan secara acak. Tiga sampel minuman ringan ini diberi simbol A, B dan C. Penentuan kadar asam askorbat dan asam benzoat dalam minuman ringan secara HPLC dilakukan pada kondisi optimum yang telah diperoleh sebelumnya. Dari hasil pengukuran diperoleh kromatogram seperti Gambar 10.

Dari kromatogram Gambar 10 dapat dilihat pada semua sampel tidak terdapat asam askorbat dan asam benzoat sebagai pengawet. Ini ditandai dengan tidak munculnya puncak pada sampel dengan waktu retensi yang sama dengan asam askorbat maupun asam benzoat.



Gambar 10. Kromatogram Sampel Minuman Ringan yang dijual di sekolah
Laju alir 1 ml/min, $\lambda=240$ nm, Kolom C_{18} , Fasa gerak metanol:buffer asetat (5:95), pH 3.5
1) Asam askorbat, 2) Asam benzoat

SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan:

1. Kondisi optimum pada penentuan kadar asam askorbat dan asam benzoat pada minuman ringan secara HPLC yaitu menggunakan kolom ODS C_{18} , laju alir 1 ml/mnt pada panjang gelombang 240 nm, secara elusi gradien pada komposisi fasa gerak metanol:buffer asetat 5:95 dan akan konstan pada komposisi 50:50 pada waktu 5 menit dengan pH buffer asetat

3.5, dengan waktu retensi asam askorbat adalah 3.73 menit dan 11.07 menit untuk asam benzoat.

2. Pada sampel minuman ringan yang dijual bebas dilingkungan sekolah tidak ditemukan asam askorbat dan asam benzoat sebagai pengawet, sedangkan pada sampel minuman ringan yang dijual bebas dipasaran, asam benzoat ditemukan dalam empat sampel yaitu sampel B, C, D, dan E, dimana kadar tertinggi diperoleh pada sampel C yaitu 676 ppm yang melebihi batas maksimum yang diizinkan dalam pemakaian asam benzoat sebagai pengawet, dimana kadar yang diizinkan menurut SNI 01-0222-1995 untuk asam benzoat 600 ppm. Untuk asam askorbat ditemukan pada sampel A, C dan D. Dimana kadar tertinggi terdapat pada sampel A yaitu 2869 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan Moehammad.1997. *Teknik Kromatografi Untuk Analisis bahan makanan*.Yogyakarta: Andi.
- C.M. Lino, A. Pena, (2010), Occurrence of caffeine, saccharin, benzoic acid and sorbic acid in soft drinks and nectars in Portugal and subsequent exposure assessment, *Food Chemistry*, Volume 121, Issue 2, 503-508.
- Hayun, Yahdiana H., Citra N.A., (2004), Penetapan kadar sakarin, asam benzoate, asam sorbet, kofeina dan aspartame di dalam beberapa minuman ringan bersoda secara kromatografi cair kinerja tinggi., *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol 1, No 3, 148-159.
- Iryani. 2003. *Kimia Pangan*. Padang: FMIPA UNP
- J.W. Weyland, H. Rolink, D.A. Doornbos, (1982), Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of saccharin, caffeine and benzoic acid using non-linear programming, *Journal of Chromatography A*, Volume 247, Issue 2, 1 October 1982, 221-229.
- Roy J. Gritter dkk, 1991.*Pengantar Kromatografi*. Bandung: ITB.
- Sakidja M.S, 1989. *Kimia Pangan*.Jakarta : Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Sunita Almatsier. 2004. *Prinsip dasar ilmu gizi*: Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Qing-Chuan Chen, Jing Wang, (2001), Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography,*Journal of Chromatography A*, Volume 937, Issues 1-2, 57-64.
- Weiss, Joachim, *Ion Chromatography*, 2 ed. 1995