

**ANALISIS KADAR KAFEIN DAN SAKARIN PADA MINUMAN RINGAN
DENGAN FASA GERAK METANOL - BUFFER ASETAT
MENGUNAKAN HPLC**

SKRIPSI

*Diajukan kepada Tim Penguji Skripsi Jurusan Kimia sebagai salah satu
persyaratan Guna memperoleh Gelar Sarjana Sains*



REVIANA ERVITA

NIM 02034/2008

JURUSAN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI PADANG

2012

PERSETUJUAN SKRIPSI

ANALISIS KADAR KAFEIN DAN SAKARIN PADA MINUMAN RINGAN DENGAN FASA GERAK METANOL-BUFFER ASETAT MENGUNAKAN HPLC

Nama : Reviana Ervita
NIM : 02034
Program Studi : Kimia
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, Juli 2012

Disetujui oleh

Pembimbing I



Budhi Oktavia, M.Si, Ph.D
NIP. 19721024 199803 1 001

Pembimbing II



Desy Kurniawati, S.Pd, M.Si
NIP. 19751122 200312 2 003

PENGESAHAN

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Judul : Analisis Kadar Kafein dan Sakarin pada Minuman Ringan
dengan Fasa Gerak Metanol-Buffer Asetat Menggunakan
HPLC

Nama : Reviana Ervita

NIM : 02034

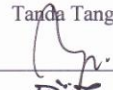
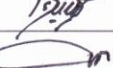
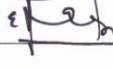
Program Studi : Kimia

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, Juli 2012

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Budhi Oktavia, M.Si, Ph.D	1. 
2. Sekretaris	: Desy Kurniawati, S.Pd, M.Si	2. 
3. Anggota	: Drs. Amrin, M.Si	3. 
4. Anggota	: Drs. Bahrizal, M.Si	4. 
5. Anggota	: Edi Nasra, S.Si, M.Si	5. 

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar karya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Padang, Juli 2012

Yang menyatakan

Reviana Ervita

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

...Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang berilmu pengetahuan beberapa derajat..
(Q S Al-Mujaadilah : 11)

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, Maka apabila kamu telah selesai dari suatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain dan hanya kepada Tuhanmu lah kamu berharap
(Q S Alam Nasyrah : 6-8)

Alhamdulillahirabbil alamin
Tiada kata yang pantas kuucapkan selain rasa syukur pada Mu

Hari ini ..
Setitik kebahagiaan telah kunikmati ..
Sekeping cita-cita telah kuraih ..
Namun
Perjalanan masih panjang dan perjuangan belum selesai ..
Semoga dengan rahmat dan karunia serta ridho Mu ..
Mengiringi setiap langkah ku untuk masa yang akan datang..

Kupersembahkan karya kecilku ini kepada Ayahanda (Ermon alm) dan Ibunda tercinta (Murniati) yang selalu memanjatkan doa kepada putri bungsunya dalam setiap sujud padaNya. Terimakasih Ayah dan Ibu berkat keringat, cinta kasih dan doa yang tak pernah putus telah mengiringi langkahku mencapai gelar sarjana...entah berapa banyak keringat yang telah tercurah, air mata yang telah tumpah,, untai doa yang selalu terucap untuk mengiringi langkahku pada pencaian ini,,terimakasih untuk semuanya..

Terimakasih udaku Yan, uni Vera dan ni Nana..kalian kakak-kakak terbaik didunia ini... kalian tak pernah meninggalkanku, tak pernah membiarkan ku melangkah sendiri, selalu menuntunku,, terimakasih atas perjuangan yang telah dilakukan untukku, kalau bukan tanpa kalian, aku tidak akan seperti ini, bahkan menulis kalimat-kalimat ini pun aku tak akan mampu,,,karna kalian aku paham arti perjuangan dan kesabaran. Terimakasih juga buat ni Rahmi , mas Mukhlis, tek en dan pak etek atas dukungan dan semangat yang selalu kalian berikan kepadaku serta doa yang selalu teruntuk buatku..buat fiqri dan keponakan2ku tersayang (Dhanra, Raisa, Athira) raihlah cita-cita kalian setinggi bintang dilangit..

Dan terimakasih yang sedalam-dalamnya buat orang tuaku di kampus,
Bapak Budhi Oktavia, M.Si, Ph.D (dosen pembimbing I), terimakasih pak atas bimbingannya hingga selesainya skripsi ini, banyak ilmu yang telah tercurah dari bapak yang pasti akan berguna dihari esok kelak. Ibu Desy Kurniawati, S.Pd, M.Si (dosen pembimbing II), terimakasih juga buk atas bimbingannya selama ini .. Ibu Dra. Sri Benti Etika, M.Si (dosen Penasehat Akademik) serta Bapak Drs. Amrin, M.Si., Bapak Drs. Bahrizal, M.Si., dan Bapak Edi Nasra, S.Si, M.Si (dosen penguji skripsi), terimakasih atas masukan dan sarannya untuk kesempurnaan skripsi ini..

Terimakasih buat semua staff dosen, laboran dan pegawai jurusan KJMPA FMIPA UNP atas ilmu yang diberikan dan segala bantuan dan bimbingan yang kudapatkan. Mudah-mudahan KJMPA FMIPA UNP semakin baik kedepannya..

Buat teman seperjuanganku Kimia NK 08 : Aulya (rekan terbaikku, makasih ma atas perjuangan dan pengorbanan kita selama ini, insyaAllah dan Alhamdulillah berbuah manis) .. Tika (teman ku yang jago Kim Organik, makasih telah mauberbagi cerita), Nadia (makasih juga atas bantuannya) .. Nila (teman penyemangatku), Rani (teman sepenelitian yang pengen jadi artis) .. Riri, Wiwit (Ks), Dita, Powe, Indah, Nopri, Romi, Rezeki, Dony, Dona, Icha, Nur, Nopi, Leka, Resi, Mia, Rianty, Yani, Fifin, Vira, Ika, Nia, Icha bundo, Selvi, Yusuf, Ojest, Nay, Tya, Nengsih, Mery, Adek, Fitri, Roby, Anne dan Devis .. makasih teman2 atas kebersamaannya selamanya ini..

Makasih juga buat kakak cantik (kak Anya), kak dedek, bg dian dan bg boby yang telah banyak membantu selama ini.. Ayu dan Amy, makasih telah jadi sahabat terbaikku..

Makasih buat kosan parkit 3 no 2, kak Veni (makasih ya kak atas kebaikannya selama ini), adek2 kos (Riri (si ijun), Thari (adek amb), Yuni, Teteng, Siska) semoga kuliahnya lancar...

Tak lupa pula terimakasih pada "Alif foto copy" (da man, bg put, & da min) yang selama ini telah banyak direpotkan dan bersedia untuk membantu....

Terimakasih juga kepada semua pihak (yang tak bisa ku sebutkan satu per satu) yang telah banyak membantu selama ini.. Semoga skripsi ini bermanfaat hendaknya....amiin

Reviana Erwita

ABSTRAK

Reviana Ervita (2012): Analisis kadar kafein dan sakarin pada minuman ringan dengan fasa gerak metanol-buffer asetat menggunakan HPLC

Kafein merupakan salah satu jenis alkaloid yang banyak terdapat pada daun teh, biji kopi dan biji cokelat. Kafein sering ditambahkan kedalam minuman ringan sebagai pemberi efek stimulan. Selain itu sakarin merupakan pemanis buatan yang mempunyai tingkat kemanisan 500 kali dari gula biasa sehingga banyak digunakan sebagai pengganti gula. Kafein dan sakarin sering ditambahkan kedalam minuman ringan karena mudah didapat dan harganya relatif murah.

Analisis kadar kafein dan sakarin pada penelitian ini menggunakan metode HPLC detektor UV-Vis, metanol-buffer asetat sebagai fasa gerak, kolom ODS C18 sebagai fasa diam. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kondisi optimum untuk penentuan kafein dan sakarin dengan fasa gerak metanol:buffer asetat (30:70) adalah pada pH 5,0 pada panjang gelombang 270 nm. Sakarin dan kafein memberikan waktu retensi secara berturut-turut 4,35 menit dan 8,42 menit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kafein teridentifikasi pada empat dari lima sampel yang dijual bebas dipasaran dan satu dari lima sampel yang dijual bebas di lingkungan sekolah, sedangkan sakarin teridentifikasi pada empat dari sampel yang dijual bebas dipasaran dan satu dari lima sampel yang dijual bebas di lingkungan sekolah. Kadar kafein tertinggi terdapat pada sampel yang dijual bebas dipasaran yaitu sampel berkode E dengan konsentrasi 383,62 ppm dan kadar sakarin tertinggi terdapat pada sampel yang dijual bebas di lingkungan sekolah yaitu sampel berkode G dengan konsentrasi 15551,23 ppm.

Kata kunci: kafein, sakarin, metanol, HPLC.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul ***“Analisis Kadar Kafein dan Sakarin pada Minuman Ringan dengan Fasa Gerak Metanol-Buffer Asetat Menggunakan HPLC”***. Skripsi ini diajukan untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar sarjana sains bagi mahasiswa Jurusan Kimia, Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Budhi Oktavia, M.Si, Ph.D, selaku dosen pembimbing I
2. Ibu Desy Kurniawati, S.Pd, M.Si, selaku dosen pembimbing II
3. Bapak Drs. Amrin, M.Si, Bapak Drs. Bahrizal, M.Si, Bapak Edi Nasra, S.Si, M.Si, selaku dosen penguji
4. Ibu Dra. Sri Benti Etika, M.Si, selaku penasehat akademik
5. Ketua Jurusan Kimia serta Ketua Prodi Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.
6. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Padang.
7. Teman-teman yang telah banyak memberikan bantuan dan semangat kepada penulis hingga selesainya skripsi ini.

Skripsi ini telah ditulis berdasarkan buku panduan penulisan skripsi, namun kritik dan saran yang membangun tentunya dibutuhkan dalam penulisan skripsi ini.

Padang, Juli 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kafein.....	4
2.1.1 Sifat Kimia Kafein	4
2.1.2 Dampak Positif Penggunaan Kafein	6
2.1.3 Dampak Negatif Penggunaan Kafein	6
2.2 Sakarin	7
2.2.1 Struktur Kimia dan Rasa Sakarin.....	9
2.2.2 Penggunaan Sakarin.....	11
2.2.3 Keamanan Sakarin	12
2.3 Minuman Ringan	13
2.4 HPLC	14
2.4.1 Komponen HPLC	15
2.4.2 Dua Fasa HPLC	18
2.4.3 Keuntungan HPLC.....	20

2.4.4 Waktu Retensi.....	22
2.4.5 Resolusi (Daya Pisah).....	22
2.5 Penentuan Kadar Sakarin dan Kafein secara Kromatografi	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan waktu Penelitian.....	24
3.2 Jenis Penelitian	24
3.3 Sampel Penelitian	24
3.4 Alat dan Bahan.....	24
3.5 Prosedur Penelitian	25
3.6 Teknik Analisis Data	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Sampling Minumam Ringan	29
4.2 Panjang Gelombang Pengukuran	29
4.3 Kondisi Optimum.....	31
4.4 Kurva Regresi Linear	34
4.5 Kadar Kafein dan Sakarin	38
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	45
5.2 Saran	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rumus Struktur Kafein.....	4
Gambar 2. Rumus Struktur Sakarin	9
Gambar 3. Efek Substitusi pada Sakarin terhadap kemanisan.....	10
Gambar 4. Struktur ODS C18	19
Gambar 5. Panjang Gelombang Kafein	30
Gambar 6. Panjang Gelombang Sakarin	30
Gambar 7. Kromatogram Variasi pH	31
Gambar 8. Kromatogram Komposisi Fasa Gerak	32
Gambar 9. Kromatogram Blanko dan Larutan Standar	34
Gambar 10. Kurva Standar Kafein.....	35
Gambar 11. Kurva Standar Sakarin	37
Gambar 12. Kromatogram Kurva Regresi Standar Kafein dan Sakarin	37
Gambar 13. Kromatogram Larutan Standar dan Sampel yang dijual Bebas di Pasaran	39
Gambar 14. Kromatogram Larutan Standar dan Sampel yang dijual bebas di Lingkungan Sekolah	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Pembuatan Buffer Asetat	26
Tabel 2. Variasi Konsentrasi Kafein	35
Tabel 3. Variasi Konsentrasi Sakarin.....	36
Tabel 4. Luas Puncak Kafein dari Sampel yang dijual Bebas di Pasaran.....	41
Tabel 5. Luas Puncak Sakarin dari Sampel yang dijual Bebas di Pasaran	41
Tabel 6. Luas Puncak Kafein dari Sampel yang dijual Bebas di Sekolah	42
Tabel 7. Luas Puncak Sakarin dari Sampel yang dijual Bebas di Sekolah	42
Tabel 8. Kadar Kafein dan Sakarin dari Sampel yang dijual Bebas di Pasaran....	43
Tabel 9. Kadar Kafein dan Sakarin dari Sampel yang dijual Bebas di Sekolah ...	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Penentuan λ_{maks} kafein dan sakarin.....	48
Lampiran 2. Penentuan pH optimum	49
Lampiran 3. Penentuan kondisi optimum fasa gerak	50
Lampiran 4. Penentuan kurva regresi linear dari larutan standar.....	51
Lampiran 5. Penentuan kadar kafein dan sakarin secara HPLC	52
Lampiran 6. Kromatogram variasi pH	53
Lampiran 7. Kromatogram komposisi fasa gerak	56
Lampiran 8. Perhitungan kadar sampel.....	59

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Seiring dengan meningkatnya pertumbuhan industri makanan dan minuman di Indonesia, telah terjadi peningkatan produksi minuman ringan yang beredar di masyarakat. Pada minuman ringan sering ditambahkan kafein, pengawet dan pemanis buatan yang kadarnya perlu diperhatikan, karena apabila konsumsinya berlebihan dapat membahayakan kesehatan (Jacobson, 2000; Subani, 2008).

Kafein adalah salah satu jenis alkaloid yang banyak terdapat di daun teh (*Camellia sinensis*), biji kopi (*Coffea arabica*), dan biji coklat (*Theobroma cacao*). Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti menstimulasi susunan syaraf pusat, relaksasi otot polos terutama otot polos bronkus, dan stimulasi otot jantung (Febri Nersyanti, 2006). Berdasarkan efek farmakologis tersebut seringkali kafein ditambahkan dalam jumlah tertentu ke minuman suplemen. Efek samping dari penggunaan kafein secara berlebihan (overdosis) dapat menyebabkan gugup, gelisah, tremor, insomnia, hiperestesia, mual, dan kejang (Farmakologi Fakultas Kedokteran UI 2002).

Selain kafein, sakarin juga merupakan zat kimia yang banyak digunakan dalam industri makanan dan minuman. Sakarin adalah zat pemanis buatan dari garam natrium dan asam. Sakarin berbentuk bubuk kristal putih, tidak berbau dan sangat manis. Pemanis buatan ini mempunyai tingkat kemanisan 500 kali gula biasa. Oleh karena itu sangat populer dipakai sebagai bahan pengganti gula.

Penggunaan kafein dan sakarin dalam industri makanan dan minuman saat ini sangat mungkin digunakan karena mudah mendapatkannya. Namun penggunaan yang berlebihan dalam minuman dapat menyebabkan efek buruk pada manusia.

Penentuan kadar kafein dan sakarin menggunakan kromatografi merupakan teknik yang berkembang di kimia analitik. Beberapa penelitian menggunakan HPLC telah dilaporkan oleh J.W. Weyland, dkk (1982), Qing-Chuan Chen dan Jin Wang (2001), C.M. Lino and A. Pena (2010), Arief Yandra (2011).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka pada penelitian ini akan dilakukan analisis kadar terhadap bahan tambahan yang terdapat dalam minuman ringan, yaitu sakarin sebagai pemanis buatan dan kafein sebagai pemberi efek stimulan menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. Penggunaan HPLC pada penentuan kafein dan sakarin ini sangat tepat karena analisis dengan HPLC cepat, daya pisah baik, peka, penyiapan sampel mudah, dan dapat dihubungkan dengan detektor yang sesuai (Joachim Weiss, 1995).

1.2. Perumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Bagaimana kondisi optimum analisis kafein dan sakarin dengan fasa gerak metanol-buffer asetat menggunakan HPLC?
2. Berapa kadar kafein dan sakarin dalam sampel minuman ringan?

1.3. BatasanMasalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel diambil dari beberapa minuman ringan yang dijual bebas.
2. Analisis kadar kafein dan sakarin menggunakan buffer asetat dengan variasi pH 3,5 ; 4,0 ; 4,5 ;5,0 ; 5,5
3. Fasa gerak yang digunakan pada analisis kafein dan sakarin adalah metanol-buffer asetat dengan variasi 90:10, 70:30, 50:50, 30:70, 10:90

1.4. TujuanPenelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mencari kondisi optimum analisis kadar kafein dan sakarin menggunakan fasa gerak metanol-buffer asetat secara HPLC.
2. Menentukan kadar kafein dan sakarin pada beberapa minuman ringan yang dijual bebas.

1.5. Manfaat Penelitian

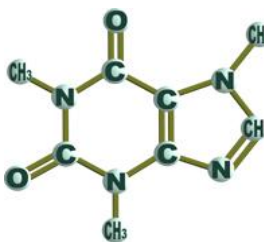
1. Memberikan informasi tentang cara analisis untuk penentuan kafein dan sakarin.
2. Memberi informasi apakah minuman tersebut telah sesuai dengan standar yang diperbolehkan untuk dikonsumsi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kafein

2.1.1 Sifat kimia kafein

Kafein merupakan salah satu jenis alkaloid yang terdapat pada tumbuhan. Kafein dapat disebut juga sebagai tein (Farmakologi Fakultas Kedokteran UI: 2002). Kafein termasuk salah satu derivat xantin yang mengandung gugus metil. Kafein atau 1,3,7-trimetilxantin mempunyai rumus molekul $C_8H_{10}N_4O_2$.



Gambar 1. Rumus Struktur Trimethylxantine atau kafein

Kafein memiliki sifat kimia sebagai berikut:

Titik didih	: 178°C (menyublim)
Tekanan uap	: 760 mm Hg @ 178 °C
Berat molekul	: 197,19
Kelarutan dalam air	: 2,17%
pH	: 6,9 (1% larutan)

Kafein memiliki sifat fisis seperti berbentuk kristal dengan warna putih dan menyublim pada suhu yang lebih rendah. Kafein mudah larut dalam air panas dan kloroform, tetapi sedikit larut dalam air dingin, alkohol dan beberapa pelarut organik lainnya serta memiliki rasa agak pahit (British Pharmacopeia, 1993; Febri Nersyanti, 2006).

Kafein adalah zat kimia yang berasal dari tanaman yang dapat menstimulasi otak dan sistem saraf. Kafein tergolong jenis alkaloid yang juga dikenal sebagai trimetilsantin. Selain pada kopi, kafein juga banyak ditemukan dalam minuman teh, cola, coklat, minuman berenergi (*energy drink*), cokelat ataupun obat-obatan.

Penelitian membuktikan bahwa kafein memiliki efek sebagai stimulasi sel syaraf pusat, otot jantung, dan meningkatkan diuresis (Farmakologi Fakultas Kedokteran UI 2002), sehingga kafein dapat bermanfaat secara klinis. Pengaruh tersebut timbul pada pemberian kafein 85-250 mg. Jika dosis pemberian kafein ditingkatkan, maka akan menyebabkan gugup, gelisah, tremor, insomnia, hiperestesia, mual, dan kejang (Farmakologi Fakultas Kedokteran UI: 2002). Intensitas efek kafein ini berbeda untuk setiap organ (Farmakologi Fakultas Kedokteran UI: 2002). Berdasarkan FDA (*Food Drug Administration*) diacu dalam Liska (2004), dosis kafein yang diizinkan antara 100-200 mg. Kombinasi tetap kafein dengan analgetik seperti aspirin digunakan untuk pengobatan sakit kepala (Farmakologi Fakultas Kedokteran UI: 2002).

Kafein merupakan senyawa hasil metabolisme sekunder golongan alkaloid. Kafein bekerja di dalam tubuh dengan mengambil alih reseptor adenosin dalam sel saraf. Peranan utama kafein di dalam tubuh adalah meningkatkan kerja psikomotor sehingga tubuh tetap terjaga dan memberikan efek fisiologis berupa peningkatan energi.

2.1.2 Dampak positif mengonsumsi kafein

Kafein yang merupakan bagian dari kelompok senyawa *metilsantin*, sedangkan bagian lain dari senyawa ini dikenal sebagai *trofilin* dan *teobromin* yang salah satu sumber utamanya adalah dari kopi. Kafein dalam kopi mampu memberikan sinyal pada otak untuk lebih cepat merespon dan dengan cepat mengolah memori pada otak. Sebab itu tidak heran setiap minum kopi dalam jumlah wajar (1-3 cangkir), tubuh kita terasa segar, bergairah, daya pikir lebih cepat, tidak mudah lelah atau pun mengantuk. Dampak positif ini menyebabkan orang sulit terlepas dari kebiasaan minum kopi.

Mengonsumsi kafein mempunyai efek jangka pendek yang positif bagi tubuh kita. Berikut adalah efek-efek positifnya:

1. Merasa tenang
2. Meningkatkan pemahaman/pemikiran
3. Meningkatkan daya ingat
4. Meningkatkan reflek

2.1.3 Dampak negatif mengonsumsi kafein

Pada dosis sedang, kafein menaikkan produksi asam lambung yang berlangsung lama, sehingga dapat memperbesar risiko penyakit lambung, tukak lambung, atau tukak usus halus. Minum kopi juga berbahaya bagi penderita hipertensi (tekanan darah tinggi) karena senyawa kafein bisa menyebabkan tekanan darah meningkat tajam. Selain itu, kopi juga bisa meningkatkan aliran darah ke ginjal dengan akibat produksi urin bertambah.

Minum kopi terlalu banyak bisa pula mengurangi kesuburan wanita, apalagi kalau dikombinasikan dengan alkohol. Bagi wanita usia menopause, minum kopi dalam jumlah banyak bisa menambah risiko kekeroposan tulang (*osteoporosis*).

Potensi ketergantungan membuat kopi disamakan dengan zat-zat aditif lainnya. Seorang peminum kopi yang menghentikan kebiasaan minum kopinya dapat mengalami *caffeine withdrawal* yang ditandai oleh sakit kepala berdenyut, namun gejala ini akan hilang setelah 24-48 jam.

Kafein mengurung reseptor adenosin di otak. Adenosin ialah senyawa nukleotida yang berfungsi mengurangi aktivitas sel saraf saat tertambat pada sel tersebut. Seperti adenosin, molekul kafein juga tertambat pada reseptor yang sama, tetapi akibatnya berbeda. Kafein tidak akan memperlambat aktivitas sel saraf/otak sebaliknya menghalang adesonin untuk berfungsi. Dampaknya aktivitas otak meningkat dan mengakibatkan hormon epinefrin dirembes. Hormon tersebut akan menaikkan detak jantung, meninggikan tekanan darah, menambah penyaluran darah ke otot-otot, mengurangi penyaluran darah ke kulit dan organ dalam, dan mengeluarkan glukosa dari hati.

2.2 Sakarin

Tubuh manusia atau hewan terdiri dari berbagai alat tubuh dan jaringan yang tersusun atas sel. Sel-sel ini mempunyai fungsi yang berlainan, akan tetapi mereka memperbanyak jumlahnya dengan cara pembelahan yang sama. Dalam keadaan normal, proses pembelahan itu diatur sedemikian rupa sehingga jumlah sel baru yang dibentuk sesuai dengan jumlah yang dibutuhkan untuk

menggantikan sel-sel yang sudah usang atau mati, agar bentuk alat tubuh atau jaringan tersebut tetap tersusun dalam proporsi yang seimbang dan serasi. Bila proses pembelahan sel itu menyimpang dan tidak dapat dikendalikan, akan menimbulkan pertumbuhan yang abnormal. Pertumbuhan abnormal ini disebut neoplasia atau tumbuh ganda. Penyebab proses pembelahan sel yang sekarang sering diperbincangkan ialah disebabkan oleh bahan-bahan bersifat kimia seperti bahan pemanis, pengawet dan mikotoksi.

Bahan pemanis buatan adalah bahan pemanis yang dihasilkan melalui reaksi-reaksi kimia organik di Laboratorium atau dalam skala industri, boleh juga dikatakan diperoleh secara sintetis, dan tidak menghasilkan kalori seperti halnya bahan pengganti gula. Kebanyakan bahan pemanis itu campuran dari sakarin dan siklamat. Organisasi Pangan Dunia (WHO) telah menetapkan batas-batas yang disebut ADI werte (kebutuhan per orang tiap harinya), yaitu sejumlah yang dapat dikonsumsi tanpa menimbulkan resiko. Nilai ini untuk orang dewasa tidak terlalu banyak berarti, tetapi bagi anak-anak relatif menimbulkan kepekaan yang besar. Untuk sakarin batas tersebut adalah 5 mg per kg berat badan, adapun untuk siklamat 11 mg per kg berat badan, artinya jika 1 tablet mengandung 16,5 mg sakarin atau 70 mg siklamat, maka untuk seorang yang berberat badan 70 kg jumlah yang disarankan untuk dikonsumsi per hari tidak lebih dari 21 tablet sakarin atau 11 tablet siklamat.

2.2.1 Struktur Kimia Dan Rasa Sakarin

Sakarin dalam perdagangan berbentuk kristal putih, tidak berbau, berasa manis dan bersifat larut dalam air. Rumus molekul sakarin adalah $C_7H_5NO_3S$ (Benzoat Sulfimida) dengan sifat kimia sebagai berikut:

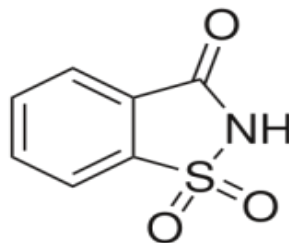
Berat molekul : 183,18 g mol⁻¹

Kalarutan sakarin : 0,425 bagian dalam 100 bagian air atau 1 : 235

Titik leleh : 225 – 228⁰C

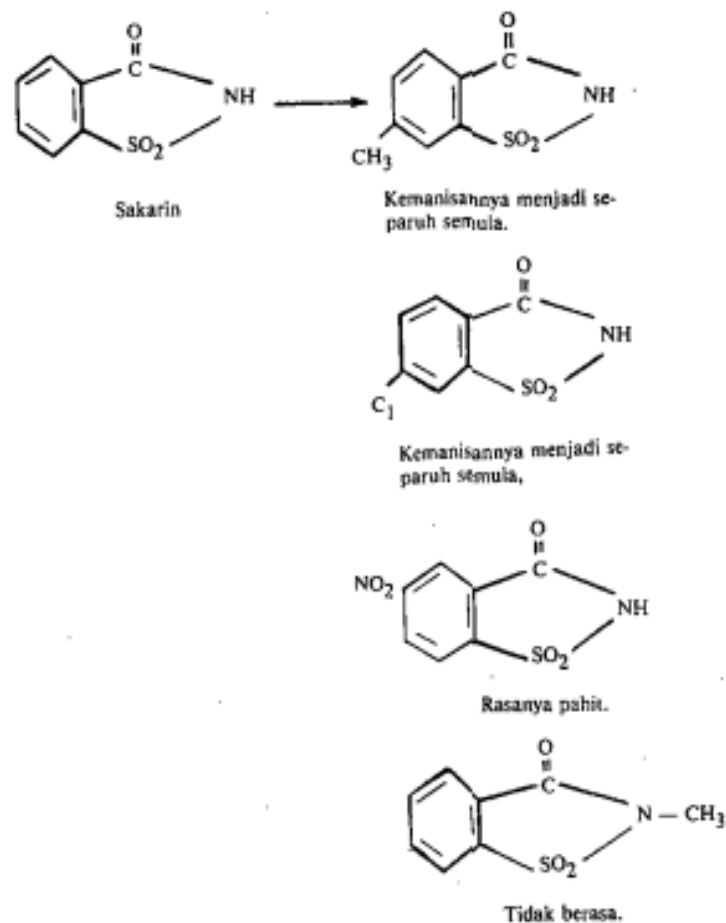
Panas pembakaran : 4,753 Kkal/gram

Sakarin memiliki struktur kimia sebagai berikut:



Gambar 2. Rumus struktur Benzoat sulfimida atau sakarin

Perubahan yang kecil dalam struktur kimia dapat merubah rasa dari senyawa tersebut, misalnya rasa manis menjadi pahit atau hambar. Contohnya efek substitusi dari sakarin.



Gambar 3. Efek substitusi pada sakarin terhadap kemanisan
(Sumber: Anna Ingani W, 1989)

Sakarin adalah zat pemanis buatan dari garam natrium dan asam. Sakarin berbentuk bubuk kristal putih, tidak berbau dan sangat manis. Sakarin adalah pemanis buatan yang memiliki struktur dasar sulfimida benzoat. Sakarin jauh lebih manis dibanding sukrosa. Namun dalam konsentrasi sedang sampai tinggi bersifat meninggalkan *aftertaste* pahit atau rasa logam. Untuk menghilangkan rasa ini sakarin dapat dicampurkan dengan siklamat dalam perbandingan 1:10 untuk siklamat.

Sakarin dikenalkan pertama kali oleh Constantine Fahlberg pada tahun 1879 secara tidak sengaja dari industri tar batubara. Penggunaannya secara komersial sudah diterapkan sejak tahun 1884. Namun sakarin baru dikenal oleh masyarakat luas setelah perang dunia I, di mana sakarin berperan sebagai pemanis alternatif pengganti gula pasir yang sulit diperoleh. Sakarin menjadi lebih populer lagi di pasaran pada tahun 1960-an dan 1970-an. Saat itu, sifatnya sebagai pemanis tanpa kalori dan harga murah menjadi faktor penarik utama dalam penggunaan sakarin. Selain itu sakarin tidak bereaksi dengan bahan makanan, sehingga makanan yang ditambahkan sakarin tidak mengalami kerusakan. Sifat yang penting untuk industri minuman kaleng atau kemasan. Karena itulah, sakarin dalam hal ini sering digunakan bersama dengan aspartam agar rasa manis dalam minuman tetap bertahan lama.

Sifat fisik sakarin yang cukup dikenal adalah tidak stabil pada pemanasan. Sakarin yang digunakan dalam industri makanan adalah sakarin sebagai garam natrium. Hal ini disebabkan sakarin dalam bentuk aslinya yaitu asam, bersifat tidak larut dalam air. Sakarin juga tidak mengalami proses penguraian gula dan pati yang menghasilkan asam sehingga sakarin tidak menyebabkan erosi enamel gigi.

2.2.2 Penggunaan sakarin

Sakarin digunakan secara luas sebagai pemanis dalam produk makanan kemasan (minuman atau buah kalengan, permen karet, selai, dan permen), bahan suplemen (vitamin dan sejenisnya), obat-obatan, dan pasta gigi. Selain itu sakarin juga digunakan sebagai gula di restoran, industri roti, dan bahan kosmetik.

Pemberian sakarin pada konsentrasi tinggi akan menimbulkan rasa pahit, oleh karena itu penambahan sakarin terhadap makanan dan minuman hendaklah secukupnya saja dan dalam batas yang masih diperbolehkan sehingga tidak membahayakan kesehatan.

Sakarin merupakan pemanis alternatif untuk penderita diabetes melitus, karena sakarin tidak diserap lewat sistem pencernaan. Meskipun demikian, sakarin dapat mendorong sekresi insulin karena rasa manisnya sehingga gula darah akan turun. Penelitian di Kanada yang menunjukkan penggunaan sakarin sebanyak 5% dalam ransum tikus dapat merangsang terjadinya tumor di kandung kemih (Winarno, 1984).

2.2.3 Keamanan sakarin

Sakarin mulai diteliti sejak lebih dari 100 tahun yang lalu. Ahli yang pertama kali menentang penggunaan sakarin, karena dianggap merugikan kesehatan adalah Harvey Wiley. Menurut Harvey Wiley, sakarin memang manis seperti gula pasir biasa namun karena struktur kimianya yang menyerupai tar batubara tetap saja yang dikonsumsi adalah tar batubara yang seharusnya tidak dimakan. Namun pernyataan terus dibantah keras oleh presiden Amerika Serikat saat itu, Theodore Roosevelt. Memang sejak pertama diperkenalkan secara luas kepada masyarakat sampai saat itu, belum ada efek buruk sebagai akibat konsumsi sakarin.

Sejak saat itu, keamanan penggunaan sakarin terus diperdebatkan sampai sekarang. Adapun bahaya yang ditimbulkan sakarin adalah efek karsinogenik. Pada sebuah penelitian di tahun 1977, mencit percobaan mengalami kanker

empedu setelah mengkonsumsi sakarin dalam jumlah besar. Penentuan efek serupa pada manusia lebih sulit, karena sebagian besar produk makanan yang ada saat ini menggunakan beberapa pemanis buatan sekaligus. Penelitian oleh Weihrauch & Diehl (2004) menunjukkan bahwa konsumsi kombinasi pemanis buatan dalam jumlah besar (>1.6 gram/hari) meningkatkan risiko kanker empedu sebanyak hanya 1.3 kali lipat pada manusia.

Kombinasi penggunaannya dengan pemanis buatan rendah kalori lainnya bersifat sinergis. Sakarin tidak dimetabolisme oleh tubuh, lambat diserap oleh usus, dan cepat dikeluarkan melalui urin tanpa perubahan. Hasil penelitian menyebutkan bahwa sakarin tidak bereaksi dengan DNA, tidak bersifat karsinogenik, tidak menyebabkan karies gigi, dan cocok bagi penderita diabetes. Robert dalam Usmiati dan Yuliani (2004), menyebutkan bahwa sakarin dapat menimbulkan reaksi dermatologis bagi anak-anak yang alergi terhadap sulfa, berpotensi memacu pertumbuhan tumor dan bersifat karsinogenik

2.3. Minuman ringan

Minuman ringan adalah minuman yang tidak mengandung alkohol, merupakan minuman olahan dalam bentuk bubuk atau cair yang mengandung bahan makanan atau bahan tambahan lainnya baik alami atau sintetis yang dikemas dalam kemasan siap untuk dikonsumsi. Minuman ringan terdiri dari dua jenis, yaitu minuman ringan dengan karbonasi dan minuman ringan tanpa karbonasi (non-karbonasi). Minuman ringan dengan karbonasi adalah minuman yang dibuat dengan menambahkan CO_2 dalam air minum, sedangkan minuman

ringan tanpa karbonasi adalah minuman selain minuman ringan berkarbonasi. (Cahyadi, 2009).

Di Amerika Serikat, istilah *softdrink* digunakan untuk membedakan minuman tersebut dari *liquor* (minuman beralkohol) sehingga minuman yang tidak beralkohol disebut *softdrink*. Sedangkan di Indonesia istilah *softdrink* lebih populer untuk minuman ringan berkarbonasi dengan asumsi bahwa minuman ringan status gizinya. Minuman ini, selain kadar gulanya yang tinggi, tidak memiliki zat gizi lain yang berarti. Pada umumnya minuman ringan itu dibagi menjadi minuman ringan jernih yakni tidak berwarna seperti Sprite, ada pula yang ditambah dengan zat warna seperti Fanta, Mirinda dan sejenisnya, ada pula yang tergolong jenis Cola, serta ada pula berbentuk minuman ringan diet seperti Diet Cola dan Pepsi Diet yang diperuntukkan bagi mereka yang berdiet atau mengurangi kalori dalam makanannya.

2.4. HPLC

HPLC merupakan perkembangan tingkat tinggi dari kromatografi kolom. Selain dari pelarut yang menetes melalui kolom dibawah gravitasi, didukung melalui tekanan tinggi sampai dengan 400 atm.

HPLC menggunakan partikel yang berukuran sangat kecil untuk material terpadatkan dalam kolom yang akan memberi luas permukaan yang lebih besar berinteraksi antara fasa diam dan molekul-molekul yang melintasinya. Hal ini memungkinkan pemisahan yang lebih baik dari komponen-komponen dalam campuran. Perkembangan yang lebih luas melalui kromatografi kolom

mempertimbangkan metode pendeteksian yang dapat digunakan. Metode-metode ini sangat otomatis dan peka.

2.4.1 Komponen-komponen HPLC

Komponen-komponen HPLC terdiri atas:

1. Pompa (*Pump*)

Fasa gerak dalam HPLC adalah suatu cairan yang bergerak melalui kolom. Ada dua tipe pompa yang digunakan, yaitu kinerja konstan (*constant pressure*) dan pemindahan konstan (*constant displacement*). Pemindahan konstan dapat dibagi menjadi dua, yaitu: *pompa reciprocating* dan *pompa syringe*. *Pompa reciprocating* menghasilkan suatu aliran yang berdenyut teratur (pulsating), oleh karena itu membutuhkan peredam pulsa atau peredam elektronik untuk menghasilkan garis dasar (*base line*) detektor yang stabil, bila detektor sensitif terhadap aliran. Keuntungan utamanya ialah ukuran reservoir tidak terbatas. *Pompa syringe* memberikan aliran yang tidak berdenyut, tetapi reservoirnya terbatas.

2. Injektor (*Injector*)

Sampel yang akan dimasukkan ke bagian ujung kolom, harus dengan disturbansi yang minimum dari material kolom. Ada tiga tipe dasar injektor yang dapat digunakan:

- a) *Stop-Flow*: Aliran dihentikan, injeksi dilakukan pada kinerja atmosfer, sistem tertutup, dan aliran dilanjutkan lagi. Teknik ini bisa digunakan karena difusi didalam cairan kecil dan resolusi tidak dipengaruhi

- b) *Septum*: *Septum* yang digunakan pada HPLC sama dengan yang digunakan pada Kromatografi Gas. Injektor ini dapat digunakan pada kinerja sampai 60 - 70 atmosfer. Tetapi septum ini tidak tahan dengan semua pelarut-pelarut Kromatografi Cair. Partikel kecil dari septum yang terkoyak (akibat jarum injektor) dapat menyebabkan penyumbatan.
- c) *Loop Valve*: Tipe injektor ini umumnya digunakan untuk menginjeksi volume lebih besar dari 10 μ l dan dilakukan dengan cara otomatis (dengan menggunakan adaptor yang sesuai, volume yang lebih kecil dapat diinjeksikan secara manual). Pada posisi LOAD, sampel diisi kedalam loop pada tekanan atmosfer, bila VALVE difungsikan, maka sampel akan masuk ke dalam kolom.

3. Kolom (*Column*)

Kolom adalah jantung kromatografi. Berhasil atau gagalnya suatu analisis tergantung pada pemilihan kolom dan kondisi percobaan yang sesuai. Kolom dapat dibagi menjadi dua kelompok :

a) Kolom analitik

Kolom analitik umumnya memiliki diameter dalam 2 -6 mm. Panjang kolom tergantung pada jenis material pengisi kolom. Untuk kemasan pellicular, panjang yang digunakan adalah 50 -100 cm. Untuk kemasan poros mikropartikulat, 10 -30 cm. Sekarang ada yang 5 cm.

b) Kolom preparatif

Kolom preparatif umumnya memiliki diameter 6 mm atau lebih besar dan panjang kolom 25 -100 cm. Kolom umumnya dibuat dari stainlesssteel dan biasanya dioperasikan pada temperatur kamar, tetapi bisa juga digunakan temperatur lebih tinggi, terutama untuk kromatografi penukar ion dan kromatografi eksklusi. Pengepakan kolom tergantung pada model HPLC yang digunakan (Liquid Solid Chromatography, LSC; Liquid Liquid Chromatography, LLC; Ion Exchange Chromatography, IEC, Exclusion Chromatography, EC)

4. Detektor (*Detector*)

Suatu detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen sampel di dalam kolom (analisis kualitatif) dan menghitung kadarnya (analisis kuantitatif). Detektor yang baik memiliki sensitifitas yang tinggi, gangguan (noise) yang rendah, kisar respons linier yang luas, dan memberi respons untuk semua tipe senyawa. Suatu kepekaan yang rendah terhadap aliran dan fluktuasi temperatur sangat diinginkan, tetapi tidak selalu dapat diperoleh.

Detektor HPLC yang umum digunakan adalah detektor UV-Vis nm. Variabel panjang gelombang dapat digunakan untuk mendeteksi banyak senyawa dengan range yang lebih luas. Detektor indeks refraksi juga digunakan secara luas, terutama pada kromatografi eksklusi, tetapi umumnya kurang sensitif jika dibandingkan dengan detektor UV-Vis.

5. Elusi Gradien

Efek dari Elusi Gradien adalah mempersingkat waktu retensi dari senyawa-senyawa yang tertahan kuat pada kolom. Dasar-dasar elusi gradien dijelaskan oleh Snyder.

Beberapa keuntungan elusi gradien :

- a. Total waktu analisis dapat direduksi
- b. Resolusi persatuan waktu setiap senyawa dalam campuran bertambah
- c. Ketajaman Peak bertambah
- d. Efek sensitivitas bertambah karena sedikit variasi pada peak

2.4.2 Dua Fasa HPLC

Berdasarkan kepolaran, HPLC dapat dibagi dalam dua fasa, yaitu:

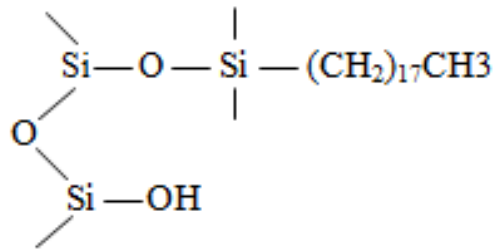
1. Fasa normal HPLC

Kolom diisi dengan partikel silika yang sangat kecil dan pelarut non polar misalnya heksan. Sebuah kolom sederhana memiliki diameter internal 4,6 mm dengan panjang 150 sampai 250 mm. Senyawa-senyawa polar dalam campuran melalui kolom akan melekat lebih lama pada silika yang polar dibanding dengan senyawa-senyawa non polar. Oleh karena itu, senyawa yang non polar kemudian akan lebih cepat melewati kolom.

2. Fasa balik HPLC

Dalam kasus ini, ukuran kolom sama, tetapi silika dimodifikasi menjadi non polar melalui pelekatan rantai-rantai hidrokarbon panjang pada permukaannya secara sederhana baik berupa atom karbon 8 atau 18.

Struktur ODS C18 dapat dilihat sebagai berikut:



Gambar 4. Struktur ODS C18

Pada fasa balik akan terjadi reaksi yang kuat antara pelarut polar dan molekul polar dalam campuran yang melalui kolom. Reaksi yang terjadi tidak akan sekuat reaksi antara rantai-rantai hidrokarbon yang berlekatan pada silika (fasa diam) dan molekul-molekul polar dalam larutan. Oleh karena itu, molekul-molekul polar dalam campuran akan menghabiskan waktunya untuk bergerak bersama dengan pelarut. Sebagai contoh, pelarut polar digunakan berupa campuran air dan alkohol seperti metanol.

Senyawa-senyawa non polar dalam campuran akan cenderung membentuk interaksi dengan gugus hidrokarbon karena adanya dispersi gaya van der Waals. Senyawa-senyawa ini juga akan kurang larut dalam pelarut karena membutuhkan pemutusan ikatan hydrogen sebagaimana halnya senyawa-senyawa tersebut berada dalam molekul-molekul air atau metanol misalnya. Oleh karenanya, senyawa-senyawa ini akan menghabiskan waktu dalam larutan dan akan bergerak lambat dalam kolom. Ini berarti bahwa molekul-molekul polar akan bergerak lebih cepat melalui kolom. Fasa balik HPLC adalah bentuk yang biasa digunakan dalam HPLC.

2.4.3 Keuntungan HPLC

HPLC dapat dipandang sebagai pelengkap Kromatografi Gas (KG). Dalam banyak hal kedua teknik ini dapat digunakan untuk memperoleh efek pemisahan yang sama baiknya. Bila derivatisasi diperlukan pada KG, namun pada HPLC zat-zat yang tidak diderivatisasi dapat dianalisis. Untuk zat-zat yang labil pada pemanasan atau tidak menguap, HPLC adalah pilihan utama. Namun demikian bukan berarti HPLC menggantikan KG, tetapi akan memainkan peranan yang lebih besar bagi para analis laboratorium. Derivatisasi juga menjadi populer pada HPLC karena teknik ini dapat digunakan untuk menambah sensitivitas detektor UV Visibel yang umumnya digunakan.

Keuntungan HPLC dibandingkan dengan kromatografi cair yang lainnya adalah:

1) Cepat

Waktu analisis umumnya kurang dari 1 jam. Banyak analisis yang dapat diselesaikan sekitar 15-30 menit.

2) Resolusi

Berbeda dengan KG, Kromatografi Cair mempunyai dua fasa dimana interaksi selektif dapat terjadi. Pada KG, gas yang mengalir sedikit berinteraksi dengan zat padat; pemisahan terutama dicapai hanya dengan fasa diam. Kemampuan zat padat berinteraksi secara selektif dengan fasa diam dan fasa gerak pada HPLC memberikan parameter tambahan untuk mencapai pemisahan yang diinginkan.

3) Sensitivitas detektor

Detektor absorpsi UV yang biasa digunakan dalam HPLC dapat mendeteksi kadar dalam jumlah nanogram (10^{-9} gram) dari bermacam-macam zat. Detektor-detektor Fluoresensi dan Elektrokimia dapat mendeteksi jumlah sampai picogram (10^{-12} gram). Detektor-detektor seperti Spektrofotometer Massa, Indeks Refraksi, Radiometri, dll dapat juga digunakan dalam HPLC.

4) Kolom yang dapat digunakan kembali

Berbeda dengan kolom kromatografi klasik, kolom HPLC dapat digunakan kembali (*reusable*). Banyak analisis yang bisa dilakukan dengan kolom yang sama, dari jenis sampel yang diinjeksi, kebersihan dari solven dan jenis solven yang digunakan.

5) Ideal untuk zat bermolekul besar dan berionik

Zat-zat yang tidak bisa dianalisis dengan KG karena volatilitas rendah, biasanya diderivatisasi untuk menganalisis spesies ionik.

6) Mudah dalam pengumpulan sampel

Umumnya detektor yang digunakan dalam HPLC tidak menyebabkan kerusakan pada komponen sampel yang diperiksa, oleh karena itu komponen sampel tersebut dapat dengan mudah dikumpulkan setelah melewati detektor. Solvennya dapat dihilangkan dengan menguapkan kecuali untuk kromatografi penukar ion memerlukan prosedur khusus.

(Effendy. 2004)

2.4.4 Waktu retensi

Waktu yang dibutuhkan oleh senyawa untuk bergerak melalui kolom menuju detektor disebut sebagai waktu retensi. Waktu retensi diukur berdasarkan waktu dimana sampel diinjeksikan sampai sampel menunjukkan ketinggian puncak yang maksimum dari senyawa tersebut.

Senyawa-senyawa yang berbeda memiliki waktu retensi yang berbeda. Untuk beberapa senyawa, waktu retensi akan sangat bervariasi dan bergantung pada:

- a) Tekanan yang digunakan (karena itu akan berpengaruh pada laju alir dari pelarut)
- b) Kondisi dari fasa diam (tidak hanya terbuat dari material apa, tetapi juga pada ukuran partikel)
- c) Komposisi yang tepat dari pelarut
- d) Temperatur pada kolom

2.4.5 Resolusi (Daya Pisah)

Kolom yang lebih efisien akan mempunyai resolusi yang baik. Tingkat pemisahan komponen dalam suatu campuran ditunjukkan dalam kromatogram yang dihasilkan. Untuk hasil pemisahan yang baik, puncak-puncak kromatogram harus terpisah secara sempurna dari puncak lainnya. Resolusi komponen-komponen tergantung pada keefisienan kolom, selektivitas kolom, kepekaan detektor, laju aliran fasa gerak, dan susunan fasa gerak selama elusi.

2.5 Penentuan kadar kafein dan sakarin secara kromatografi

Kromatografi adalah salah satu teknik dalam kimia analitik yang berkembang dengan sangat cepat dan modern. Metode ini dapat digunakan secara luas dalam identifikasi dan penentuan konsentrasi senyawa-senyawa organik maupun anorganik.

Penentuan kadar kafein dan sakarin menggunakan kromatografi merupakan salah satu cara yang cepat dan akurat dalam penentuan zat-zat aditif dalam makanan dan minuman. J.W. Weyland, dkk (1982) memisahkan sakarin, kafein dan asam benzoat dengan HPLC menggunakan program non-linear, Qing-Chuan Chen, dkk (2001) menentukan beberapa zat pemanis buatan secara simultan dengan ion kromatografi, Hayun, dkk (2004) menentukan kandungan sakarin dan beberapa zat aditif lainnya dalam minuman ringan bersoda menggunakan HPLC dengan fasa gerak asetronitril pada pH 4, C.M. Lino, dkk menentukan kadar kafein dan beberapa zat aditif dalam soft drink secara HPLC dengan fasa gerak KH_2PO_4 0.02 M/ACN (90:10)/asam fosfat pada pH 4.2, Arief Yandra (2011) menentukan asam benzoat, natrium sakarin dan kafein dengan fasa gerak metanol dan buffer fosfat secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

Dari semua penelitian di atas telah dapat menentukan kadar kafein dan sakarin dengan baik, sekarang ini dicoba menggunakan fasa gerak dari metanol dan buffer asetat untuk lebih menekan biaya analisis, terutama bila digunakan untuk analisis rutin.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan :

1. Kafein dan sakarin menyerap pada panjang gelombang maksimum 271 nm dan 269 nm berturut-turut. Analisis dengan menggunakan HPLC dilakukan pada panjang gelombang 270 nm, laju alir 1 ml/menit, fasa diam kolom ODS C18. fasa gerak metanol:buffer asetat (30:70), pH optimum adalah pH 5,0. Waktu retensi sakarin adalah 4,35 menit dan kafein 8,42 menit.
2. Pada minuman ringan terdapat kafein dan sakarin dengan berbagai konsentrasi, dengan konsentrasi tertinggi kafein 383,62 ppm pada minuman ringan dengan kode E dan konsentrasi tertinggi sakarin 15551,23 ppm pada minuman ringan dengan kode G.

5.2. Saran

1. Dengan ditemukannya kadar sakarin tertinggi pada minuman ringan yang dijual bebas di lingkungan sekolah, maka diharapkan para orang tua melarang anaknya membeli minuman ringan yang dijual secara bebas.
2. Dapat dilakukan penentuan kafein dan sakarin dari makanan ringan yang beredar di pasaran.
3. Dapat dilakukan penentuan kafein dan sakarin dengan fasa gerak yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- Effendy. 2004. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Dalam Bidang Farmasi. Universitas Sumatera Utara.
- [FKUI] Farmakologi Fakultas Kedokteran UI. 2002. Farmakologi dan Terapi. Ed ke-4. Jakarta: Gaya Baru.
- Hayun, Yahdiana H., Citra N.A. 2004. Penetapan Kadar Sakarin, Asam Benzoat, Asam Sorbat, Kafein dan Aspartam di dalam Beberapa Minuman Ringan Bersoda Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. Vol 1, No 3, 148-159.
- Ingani W, Anna. (1989). Penggunaan Sakarin Sebagai Bahan Pemanis Sintetik. *Agritech*, Vol 9, No 1.
- 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.
- Nersyanti, Febri. 2006. Spektrofotometri Derivatif Ultraviolet untuk Penentuan Kadar Kafein dalam Minuman Suplemen dan Ekstrak Teh. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- 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.
- R.A. Day dan Underwood. 2002. Analisis kimia kuantitatif. Jakarta: Erlangga
- Pecsok and LD Shields. 1976. *Modern Methods of Chemical Analysis*. USA.
- Subani. 2008. Penentuan Kadar Natrium Benzoat, Kalium Sorbat dan Natrium Sakarin dalam Sirup dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi di Balai besar pengawasan Obat dan Makanan. Universitas Sumatera Utara.
- Tarmizi. 2008. Pembuatan Pereaksi Kimia. Padang: UNP Press Padang.