

**VALIDASI METODE PENGUJIAN ASPARTAM DALAM
MAKANAN RINGAN SECARA KROMATOGRAFI
CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)**

(Skripsi)

Oleh

**TIARA RAMADHANI
NPM 2017011027**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

VALIDASI METODE PENGUJIAN ASPARTAM DALAM MAKANAN RINGAN SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

Oleh

TIARA RAMADHANI

Telah dilakukan penelitian mengenai validasi metode pengujian aspartam dalam sampel makanan ringan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Metode KCKT digunakan dalam analisis karena memiliki keakuratan yang tinggi, efektif, efisien, serta mudah dalam pengoperasian. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan validasi metode pada senyawa aspartam yang terkandung dalam sampel makanan ringan dengan jenis pilus menggunakan KCKT. Sumber acuan metode yang digunakan adalah *British Standard* DD CEN/TS 15606:2009 dan *British Standard* EN 1378:1997. Parameter validasi metode yang dilakukan pada penelitian ini adalah linearitas, presisi, akurasi, rentang, batas deteksi (LoD) dan batas kuantifikasi (LoQ). Validasi metode menunjukkan bahwa parameter linearitas yang diperoleh dari penelitian ini menghasilkan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9995 dengan rentang 0,05-5,0 mg/L, presisi dengan %RSD sebesar 1,55%, nilai perolehan kembali (*%recovery*) memiliki rentang 89,11-96,73%, serta batas deteksi (LoD) dan batas kuantifikasi (LoQ) memperoleh nilai sebesar 0,07 mg/L dan 0,09 mg/L. Pengukuran kadar aspartam dalam sampel makanan ringan (pilus) memperoleh rata-rata kadar sebesar 221,14 mg/kg, yang artinya kadar masih dalam batas asupan harian (ADI) yang ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) yakni sebesar 40 mg/kg berat badan. Hasil validasi metode yang dilakukan menunjukkan bahwa metode tersebut memberikan hasil yang baik sehingga dapat digunakan untuk analisis kadar aspartam secara rutin di laboratorium.

Kata kunci: validasi metode, aspartam, KCKT

ABSTRACT

METHOD VALIDATION FOR DETERMINATION OF ASPARTAME IN SNACK FOOD USING HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

By

TIARA RAMADHANI

The method validation for determination of the aspartame in snack food has been carried out using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). The advantages of the HPLC method are high accuracy, effectiveness, efficiency, and ease of operation. This research aims to validate a method for analyzing aspartame in snack food samples using HPLC. The method's reference sources are British Standard DD CEN/TS 15606:2009 and British Standard EN 1378:1997. The method validation parameters in this study include linearity, precision, accuracy, range, limit of detection (LoD), and limit of quantification (LoQ). Method validation indicates that the linearity parameter obtained from this research yields a correlation coefficient (r) value of 0.9995 with a range of 0.05-5.0 mg/L, precision with %RSD of 1.55%, recovery values ranging from 89.11% to 96.73%, and limit of detection (LoD) and limit of quantification (LoQ) values of 0.07 mg/L and 0.09 mg/L, respectively. Measurement of aspartame levels in snack food samples (pillus) obtained an average level of 221.14 mg/kg, which means the levels are still within the Acceptable Daily Intake (ADI) set by Indonesian National Standard (SNI) of 40 mg/kg body weight. The results of the method validation conduct indicate that the method yields good results, and thus can be used for routine analysis of aspartame levels in the laboratory.

Keywords: methods validation, aspartame, HPLC

**VALIDASI METODE PENGUJIAN ASPARTAM DALAM
MAKANAN RINGAN SECARA KROMATOGRAFI
CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)**

Oleh

TIARA RAMADHANI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul : **VALIDASI METODE PENGUJIAN
ASPARTAM DALAM MAKANAN
RINGAN SECARA KROMATOGRAFI
CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)**

Nama Mahasiswa : *Tiara Ramadhani*

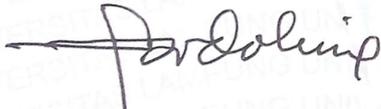
Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011027

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Q., SU.
NIP.196102031987031002



Dini Mulyani, S.Si., MSE.
NIP.198101162008012021

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung



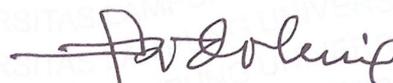
Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP.197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: **Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Q., SU**



Sekretaris

: **Dini Mulyani, S.Si., M.SE.**

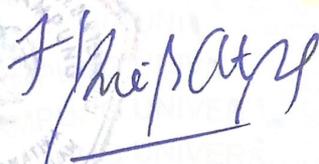


Anggota

: **Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **17 Juli 2024**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Tiara Ramadhani
Nomor Pokok Mahasiswa : 2017011027
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Validasi Metode Pengujian Aspartam dalam Makanan Ringan secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)” merupakan karya saya sendiri dan bukan karya orang lain. Semua tulisan yang tertulis dalam skripsi ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung. Saya tidak keberatan apabila data di dalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan.

Bandar Lampung, 1 Agustus 2024
Yang bertandatangan,



Tiara Ramadhani
NPM. 2017011027

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Bandar Jaya pada tanggal 12 Desember 2001 sebagai anak ketiga dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Subadri dan Ibu Salma. Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Aisyiyah Bustanul Athfal Bandar Jaya pada tahun 2008, SD Negeri 3 Bandar Jaya pada tahun 2014, SMP Negeri 3 Terbanggi Besar pada tahun 2017, dan SMA Negeri 1 Terbanggi Besar pada tahun 2020.

Pada tahun 2020, penulis diterima sebagai mahasiswi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri) sekaligus penerima beasiswa KIP Kuliah pada tahun yang sama hingga tahun 2024. Selama menjadi mahasiswi di Jurusan Kimia, penulis aktif berorganisasi di Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) periode 2021 dan 2022 sebagai Anggota Biro Kesekretariatan. Pada tahun 2022 penulis diamanatkan menjadi Sekretaris Pelaksana pada kegiatan Musyawarah Wilayah 1 Ikatan Himpunan Mahasiswa Kimia Indonesia (Ikahimki) Wilayah 1 yang diselenggarakan di Universitas Lampung.

Pada tahun 2023 penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di PT Bukit Asam Tbk. Unit Pelabuhan Tarahan dengan judul “Estimasi Ketidakpastian Pengujian Batubara PT Bukit Asam Tbk. Unit Pelabuhan Tarahan”. Lalu pada tahun yang sama, penulis berkesempatan untuk mengikuti Program Kompetisi Kampus Merdeka (PKKM) BKP Riset di Balai Pengujian Mutu Barang (BPMB), Direktorat Standarisasi dan Pengendalian Mutu, Kementerian Perdagangan, Jakarta.

MOTTO

Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum hingga mereka mengubah apa yang ada pada diri mereka.

(Q.S. Ar-Ra'd: 11)

Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras dan hanya kepada Tuhanmu lah engkau berharap.

(Q.S. Al-Insyirah: 6-8)

Jika kamu takut menghadapi tantangan, katakan pada diri sendiri bahwa tidak apa-apa gagal berkali-kali dan tidak ada orang yang sempurna. Jangan khawatir tentang apa yang dipikirkan orang lain dan fokuslah pada diri sendiri.

(Lee Dokyeom)

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'alamin, ku persembahkan skripsi ini kepada:

Allah Subhanahu Wa Ta'ala

Dzat Maha Kuasa yang telah memberikan berkah, ilmu dan nikmat-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan lancar.

Kedua orang tuaku tersayang dan tercinta

Bapak Subadri dan Ibu Salma

Atas segala jerih payah, perjuangan, keringat, tangis dan do'a yang telah kalian berikan padaku selama ini. Terima kasih Bu, Yah, semoga perjuangan kalian untukku takkan sia-sia, do'akan anakmu ini berhasil dan bisa membahagiakan kalian. *Aamiin.*

Kakak-kakak tersayang: Nurul Badri dan Rismawati

Terima kasih atas semua dukungan serta do'a yang telah kalian berikan untukku. Semoga kebersamaan kita tak lekang oleh waktu dan akan terus saling menyanyangi hingga akhir hayat. *Aamiin.*

Bapak Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU., Ibu Dini Mulyani, S.Si., M.SE., Ibu Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si., dan seluruh dosen

Jurusan Kimia

Terima kasih telah mendidik, membimbing, dan memberikan ilmu selama penulis menempuh pendidikan di kampus. Semoga Allah SWT membalas kebaikan bapak dan ibu kelak. *Aamiin.*

Serta

Almamater tercinta, Universitas Lampung

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Validasi Metode Pengujian Aspartam dalam Makanan Ringan secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)”. Skripsi ini merupakan suatu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak menerima arahan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU. selaku pembimbing utama atas segala bimbingan, nasihat, arahan, dan saran yang diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan ridho-Nya dan membalas semua kebaikan Bapak.
2. Ibu Dini Mulyani, S.Si., M.SE. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, bantuan, dan saran kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan ridho-Nya dan membalas semua kebaikan Ibu.
3. Ibu Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si. selaku dosen pembahas yang telah memberikan kritik, saran, dan ilmu yang bermanfaat untuk penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Prof. Drs. John Hendri, M.S., Ph.D. selaku dosen pembimbing akademik yang senantiasa mengarahkan, memotivasi, dan membimbing penulis terkait permasalahan akademik selama masa perkuliahan ini.
5. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung .

6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
7. Seluruh dosen Kimia FMIPA Universitas Lampung atas segala ilmu, motivasi, dan nasihat selama perkuliahan yang diberikan kepada penulis.
8. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, serta penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
9. Kepala dan seluruh karyawan Balai Pengujian Mutu Barang (BPMB), Direktorat Standarisasi dan Pengendalian Mutu, Kementerian Perdagangan, khususnya pada Laboratorium Pangan atas segala ilmu, bantuan, kesempatan belajar, dan bimbingan yang diberikan.
10. Kedua orang tuaku, Bapak Subadri dan Ibu Salma serta kedua kakak penulis yang selalu mendukung, memberi semangat, serta mendoakan penulis sehingga penulis dapat dipermudah dan senantiasa diberikan kelancaran oleh Allah SWT. Semoga Allah SWT selalu memberikan kesehatan, rezeki, dan kemudahan dunia serta akhirat kepada kalian.
11. Teman-teman seperbimbingan 2020 yaitu Tasya Agatha, Annisa Sisi Yani, dan Siti Rafera yang senantiasa membantu penulis.
12. Teman-teman seperjuangan Kimia angkatan 2020, khususnya kelas A atas kebersamaannya dari awal hingga akhir. Semoga kita semua selalu dipermudah dalam segala urusan.
13. Anggota Tujuh Belas dan Enam Hari yang senantiasa menghibur penulis lewat karya-karya indahnyanya. Semoga kita bisa bertemu suatu hari nanti.
14. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dan doa dalam penulisan laporan ini.

Bandar Lampung, 1 Agustus 2024

Tiara Ramadhani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.2 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Zat Pemanis	5
2.1.1 Pemanis Alami	5
2.1.2 Pemanis Buatan.....	6
2.2 Aspartam	7
2.2.1 Sifat Fisik dan Kimia Aspartam.....	8
2.2.2 Pengaruh Aspartam bagi Kesehatan.....	8
2.3 Makanan Ringan.....	9
2.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)	10
2.4.1 Instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	10
2.4.2 Jenis Fase	13
2.4.3 Sistem Elusi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	14
2.5 Validasi Metode	15
2.5.1 Presisi	16
2.5.2 Akurasi	16
2.5.3 Linearitas.....	17
2.5.4 Rentang	18
2.5.5 Batas Deteksi (LoD) dan Batas Kuantifikasi (LoQ)	18
III. METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.2.1 Alat.....	19
3.2.2 Bahan.....	19
3.3 Prosedur Penelitian.....	20
3.3.1 Pemilihan dan Pengambilan Sampel.....	20

3.3.2	Variasi Pembuatan Larutan	20
3.3.3	Preparasi Sampel.....	21
3.3.4	Identifikasi dengan HPLC.....	22
3.3.5	Uji Validasi Metode dengan Variasi Parameter.....	22
3.3.6	Penentuan Kadar Aspartam pada Sampel Makanan Ringan.....	23
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1	Pemilihan dan Lokasi Pengambilan Sampel	24
4.2	Hasil Preparasi Sampel.....	24
4.3	Hasil Uji Validasi Metode dengan Variasi Parameter.....	25
4.3.1	Uji Linearitas.....	25
4.3.2	Uji Presisi	27
4.3.3	Uji Akurasi	29
4.3.4	Uji Rentang	30
4.3.5	Uji Limit Deteksi (LoD) dan Limit Kuantifikasi (LoQ)	30
4.4	Penentuan Kadar Aspartam pada Sampel Makanan Ringan	31
V.	SIMPULAN DAN SARAN.....	33
5.1	Kesimpulan.....	33
5.2	Saran	33
	DAFTAR PUSTAKA	35
	LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Jenis BTP Pemanis Alami.....	5
Tabel 2. Batas penggunaan maksimum untuk pemanis buatan di bawah ADI.....	6
Tabel 3. Kondisi sistem KCKT.....	22
Tabel 4. Luas puncak kromatogram pada standar aspartam	26
Tabel 5. Hasil presisi <i>repeatability</i> pada sampel makanan ringan.....	28
Tabel 6. Hasil pengukuran akurasi pada sampel makanan ringan	29
Tabel 7. Hasil pengukuran batas deteksi dan batas kuantifikasi pada sampel	31
Tabel 8. Hasil pengukuran kadar aspartam pada sampel makanan ringan secara triplo	32
Tabel 9. Penentuan persamaan regresi	42
Tabel 10. Hasil uji presisi untuk aspartam pada makanan ringan.....	43
Tabel 11. Hasil pengujian konsentrasi aspartam dalam larutan sampel untuk uji akurasi	44
Tabel 12. Hasil uji akurasi dengan metode uji perolehan kembali	44
Tabel 13. Hasil uji limit deteksi (LoD) dan limit kuantifikasi (LoQ).....	45
Tabel 14. Penentuan kadar aspartam pada sampel makanan ringan	46
Tabel 15. Data hasil uji presisi pada pengulangan 1	47
Tabel 16. Data hasil uji presisi pada pengulangan 2.....	48
Tabel 17. Data hasil uji presisi pada pengulangan 3.....	48
Tabel 18. Data hasil uji presisi pada pengulangan 4.....	49
Tabel 19. Data hasil uji presisi pada pengulangan 5.....	50
Tabel 20. Data hasil uji presisi pada pengulangan 6.....	50

Tabel 21. Data hasil uji presisi pada pengulangan 7	51
Tabel 22. Data hasil uji akurasi pada pengulangan 1	52
Tabel 23. Data hasil uji akurasi pada pengulangan 2.....	52
Tabel 24. Data hasil uji akurasi pada pengulangan 3.....	53
Tabel 25. Data hasil uji akurasi pada pengulangan 4.....	54
Tabel 26. Data hasil uji akurasi pada pengulangan 5.....	54
Tabel 27. Data hasil uji akurasi pada pengulangan 6.....	55
Tabel 28. Data hasil uji LOD dan LOQ pada pengulangan 1	56
Tabel 29. Data hasil uji LOD dan LOQ pada pengulangan 2	56
Tabel 30. Data hasil uji LOD dan LOQ pada pengulangan 3	57
Tabel 31. Data hasil uji LOD dan LOQ pada pengulangan 4	57
Tabel 32. Data hasil uji LOD dan LOQ pada pengulangan 5	58
Tabel 33. Data hasil uji LOD dan LOQ pada pengulangan 6	58
Tabel 34. Data hasil uji LOD dan LOQ pada pengulangan 7	59
Tabel 35. Data hasil uji fase gerak	59

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Aspartam ($C_{14}H_{18}N_2O_5$)	8
Gambar 2. Instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	10
Gambar 3. Struktur kolom C18.....	12
Gambar 4. (a) Larutan sampel sebelum disaring dengan <i>syringe filter</i> 0,45 μ m. 25	
Gambar 5. Instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	25
Gambar 6. Kromatogram larutan standar aspartam pada konsentrasi 5,0 mg/L ...	26
Gambar 7. Kurva kalibrasi larutan standar aspartam	27
Gambar 8. Kurva kalibrasi pengujian LoD dan LoQ.....	45
Gambar 9. Kromatogram uji presisi pada pengulangan 1	47
Gambar 10. Kromatogram uji presisi pada pengulangan 2.....	47
Gambar 11. Kromatogram uji presisi pada pengulangan 3.....	48
Gambar 12. Kromatogram uji presisi pada pengulangan 4.....	49
Gambar 13. Kromatogram uji presisi pada pengulangan 5.....	49
Gambar 14. Kromatogram uji presisi pada pengulangan 6.....	50
Gambar 15. Kromatogram uji presisi pada pengulangan 7.....	51
Gambar 16. Kromatogram uji akurasi pada pengulangan 1.....	51
Gambar 17. Kromatogram uji akurasi pada pengulangan 2.....	52
Gambar 18. Kromatogram uji akurasi pada pengulangan 3.....	53
Gambar 19. Kromatogram uji akurasi pada pengulangan 4.....	53
Gambar 20. Kromatogram uji akurasi pada pengulangan 5.....	54
Gambar 21. Kromatogram uji akurasi pada pengulangan 6.....	55
Gambar 22. Kromatogram uji LOD dan LOQ pada pengulangan 1	55

Gambar 23. Kromatogram uji LOD dan LOQ pada pengulangan 2	56
Gambar 24. Kromatogram uji LOD dan LOQ pada pengulangan 3	56
Gambar 25. Kromatogram uji LOD dan LOQ pada pengulangan 4	57
Gambar 26. Kromatogram uji LOD dan LOQ pada pengulangan 5	57
Gambar 27. Kromatogram uji LOD dan LOQ pada pengulangan 6	58
Gambar 28. Kromatogram uji LOD dan LOQ pada pengulangan 7	58
Gambar 29. Kromatogram pada fase gerak.....	59

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Pembuatan Larutan.....	40
Lampiran 2. Data Perhitungan Linearitas	42
Lampiran 3. Data Perhitungan Presisi.....	43
Lampiran 4. Data Perhitungan Akurasi.....	44
Lampiran 5. Data Perhitungan LoD dan LoQ	45
Lampiran 6. Data Penentuan Kadar Aspartam pada Makanan Ringan dengan KCKT	46
Lampiran 7. Data Kromatogram	47

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam era industri pangan yang terus berkembang, makanan ringan telah menjadi bagian tak terpisahkan dari kehidupan sehari-hari masyarakat. Konsumsinya melampaui sekadar memenuhi kebutuhan nutrisi, karena kini makanan ringan juga menjadi manifestasi dari keragaman rasa dan keinginan konsumen akan variasi produk. Dalam pengembangan makanan ringan ini, bahan tambahan pangan menjadi salah satu bahan yang kerap digunakan. Dalam peraturan BPOM Nomor 11 tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan. Bahan Tambahan Pangan (BTP) merupakan bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk pangan. Penggunaan Bahan Tambahan Pangan (BTP) berfungsi untuk meningkatkan atau mempertahankan nilai gizi dan kualitas daya simpan, membuat bahan pangan lebih mudah dihidangkan, serta mempermudah persiapan (Hadiana, 2018). Salah satu kelompok Bahan Tambahan Pangan (BTP) yang kerap digunakan pada makanan maupun minuman adalah pemanis buatan (Gelbfish, 2013).

Pemanis buatan merupakan zat yang jauh lebih manis dibandingkan pemanis pada umumnya seperti sukrosa. Rasa manisnya berkisar sekitar 30 kali hingga beberapa ribu kali lipat dari sukrosa. Namun, pemanis buatan memberikan sedikit nilai kalori pada makanan dan tidak mempengaruhi kadar insulin atau glukosa. Maka dari itu, penggunaan pemanis buatan dalam industri makanan semakin meningkat dengan cepat dalam beberapa tahun terakhir, terutama pada produk diabetes (Kroger *et al.*, 2006). Pemanis buatan memperoleh popularitas sebagai pemanis pengganti pada berbagai produk makanan dikarenakan konsumen cenderung mengontrol asupan gulanya. Pemanis buatan dapat membantu dalam pengelolaan berat badan dan menyediakan makanan dengan rasa manis bagi penderita diabetes

(Ramsurn *et al.*, 2015). Salah satu contohnya terdapat pada pemanis buatan aspartam. Aspartam menjadi salah satu pengganti gula bagi penderita diabetes (Lebda *et al.*, 2017).

Aspartam (L- α -aspartyl-L-fenilalanin metil ester) merupakan pemanis buatan yang diperkenalkan untuk menggantikan sukrosa dan memiliki rasa 180 kali lebih manis dibandingkan gula pada umumnya. Aspartam dikenal dengan nama merek Equal dan NutraSweet. Setelah sakarin, aspartam merupakan pemanis buatan kedua yang paling banyak digunakan di dunia. Aspartam ditemukan lebih dari 6000 jenis produk di seluruh dunia, diantaranya minuman ringan dan permen karet. Aspartam telah digunakan sebagai bahan tambahan makanan selama lebih dari tiga puluh tahun karena rasa manisnya yang kuat. Pada negara Amerika konsumsi aspartam diperkirakan sekitar 8000 ton per tahun (Gelbfish, 2013).

Pengonsumsi aspartam dalam jumlah besar dapat memberikan efek negatif pada tubuh, dimana nantinya aspartam akan terurai di dalam tubuh menjadi fenilalanin, asam aspartat, dan metanol (Butchko, 2002). Hal ini turut dikatakan oleh Soffritti dkk. (2006), penggunaan aspartam yang terus meningkat sebanding dengan meningkatnya kekhawatiran konsumen, khususnya mengenai keamanannya atas potensi efek karsinogenik jangka panjang. ADI (*Acceptable Daily Intake*) ialah jumlah maksimum asupan harian pemanis buatan yang dapat diterima oleh tubuh dalam miligram per kilogram berat badan agar mencegah efek merugikan terhadap kesehatan (SNI, 2004). Pada aspartam batas asupan harian (ADI) berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-6993-2004 pada makanan siap santap adalah 40 mg/kg berat badan.

Penggunaan aspartam banyak digunakan dalam beberapa *brand* makanan maupun minuman. Salah satunya adalah makanan ringan. Adanya analisis kadar aspartam dalam makanan dan minuman tersebut perlu untuk diperhatikan. Sampai saat ini beberapa metode yang digunakan untuk menganalisis aspartam yaitu metode voltametri, spektrofotometri uv-vis, dan FTIR (*spektrofotometri infrared*), akan tetapi metode tersebut memerlukan proses preparasi sampelnya cukup panjang dengan penambahan beberapa reagen dan kurang sensitif (Herzog *et al.*, 2008).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang (Dzulfiqar dkk., 2019). Metode KCKT dinilai efisien dalam menentukan kadar suatu senyawa. KCKT memiliki sensitivitas dan selektivitas tinggi, kolom yang stabil, serta mudah memperoleh kembali cuplikan (Johnson dan Stevenson, 1998). Beberapa penelitian terhadap analisis kadar aspartam menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) sudah banyak dilakukan seperti (Cantarelli dkk., 2009), (Rahmah dkk., 2012), dan (Dali dkk., 2013). Pada beberapa penelitian terdapat perbedaan fasa gerak, laju alir, maupun volume injeksi. Pada (Ramsurn et al., 2015), fasa gerak yang digunakan adalah kombinasi metanol dengan larutan buffer (0,681 g natrium asetat dan 3 mL asam asetat) dengan rasio 1:3. Laju alir yang digunakannya 0,365 mL/min. Sedangkan pada (Rahmah dkk., 2012) digunakan fase gerak berupa metanol dan buffer fosfat dengan rasio 80:20.

Pada penelitian ini, metode yang digunakan mengacu pada *British Standard Institution* (BSI) DD CEN/TS 15606:2009 dan BS EN 1378:1997 mengenai penentuan kadar aspartam pada pemanis buatan. Pada kedua metode ini dilakukan penggabungan metode sehingga dilakukan modifikasi saat pengujiannya. Pada metode ini digunakan fasa gerak larutan KH_2PO_4 0,0125 mol/L dengan metanol rasio 70:30 dengan penambahan asam ortofosfat 0,85% agar mendapatkan fasa gerak pH 4,5. Dilakukan pula perubahan pada laju alir yang seharusnya 1,5 mL/min menjadi 1,0 mL/min serta penggunaan panjang gelombang sebesar 217 nm. Dengan dilakukannya beberapa perubahan prosedur analisis, diperlukannya validasi metode untuk memastikan metode yang digunakan akurat, spesifik, dan memberikan hasil atau data yang dapat dipercaya. Metode validasi dilakukan ketika suatu metode analisis dikembangkan atau dilakukan modifikasi dari metode resmi, dengan tujuan memperlihatkan bahwa metode yang bersangkutan dapat dipercaya dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Hal ini sesuai dengan sistem manajemen mutu standar Indonesia 17025 (SNI-17025) tahun 2017 yang mengharuskan laboratorium pengujian dalam menganalisis bahan menggunakan metode pengukuran yang valid.

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini akan dilakukan validasi metode pengujian aspartam dalam makanan ringan (pilus) yang beredar di masyarakat menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Variasi parameter validasi yang digunakan pada penelitian ini adalah linearitas, presisi, akurasi, rentang, batas deteksi (LoD), dan batas kuantifikasi (LoQ).

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Melakukan validasi metode pengujian aspartam pada makanan ringan dengan jenis pilus menggunakan KCKT dengan variasi parameter presisi, akurasi, linearitas, rentang, batas deteksi (LoD), dan batas kuantifikasi (LoQ).
2. Melakukan pengaplikasian metode pengujian aspartam pada sampel makanan ringan dengan jenis pilus menggunakan KCKT.

1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi mengenai validasi metode pengujian aspartam menggunakan KCKT dengan sampel makanan ringan dengan jenis pilus.
2. Memberikan informasi mengenai kadar aspartam dalam sampel makanan ringan dengan jenis pilus menggunakan KCKT.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zat Pemanis

Zat pemanis adalah suatu senyawa yang secara sengaja ditambahkan dan digunakan untuk meningkatkan cita rasa dan aroma, memperbaiki sifat-sifat fisik, sebagai pengawet, memperbaiki sifat-sifat kimia, dan sumber kalori bagi tubuh.

Pemanis digunakan agar menambah cita rasa manis yang kuat pada bahan makanan. Adapun pemanis digolongkan menjadi dua, yaitu: pemanis buatan dan pemanis alami. Pemanis alami dapat ditemukan pada gula pasir, gula lontar, gula aren, gula kelapa, dan bit. Sedangkan pemanis buatan terbuat dari bahan pemanis sintetis yang digunakan untuk menambah cita rasa manis tanpa memiliki nilai gizi (Wimpy dkk., 2020).

2.1.1 Pemanis Alami

Pemanis alami adalah pemanis yang dapat ditemukan dalam bahan alam meskipun prosesnya secara sintetik ataupun fermentasi. Adapun jenis dari pemanis alami dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jenis BTP Pemanis Alami

No.	Jenis BTP Pemanis Alami (<i>Natural Sweetener</i>)
1.	Sorbitol
2.	Manitol (<i>Mannitol</i>)
3.	Isomalt/Isomaltitol (<i>Isomalt /Isomaltitol</i>)
4.	Thaumatococin (<i>Thaumatococin</i>)
5.	Glikosida steviol (<i>Steviol glycosides</i>)
6.	Maltitol sirup (Maltitol syrup)
7.	Laktitol (<i>Lactitol</i>)
8.	Silitol (<i>Xylitol</i>)

Sumber: SNI (2004)

2.1.2 Pemanis Buatan

Pemanis buatan merupakan bahan tambahan pangan yang diproses secara kimiawi dan tidak terdapat di alam yang dapat menyebabkan rasa manis pada produk makanan serta tidak atau sedikit mempunyai nilai gizi atau kalori, hanya boleh ditambahkan ke dalam produk makanan dalam jumlah tertentu (Hadiana, 2018). Menurut BPOM pemanis buatan yang diizinkan untuk dikonsumsi dengan batasan tertentu yaitu asesulfam-K (*acesulfame potassium*), aspartam (*aspartame*), siklambat (*cyclamates*), sakarin (*saccharins*), sukralosa (*sucralose/ trichloro galactosucrose*), dan neotam (*neotame*) (BPOM, 2014). Penggunaan pemanis buatan perlu diwaspadai karena dalam jumlah berlebihan akan menimbulkan efek samping yang merugikan kesehatan, diantaranya sakit kepala, kehilangan daya ingat, bingung, insomnia, iritasi, asma, hipertensi, diare, sakit perut, alergi, dan gangguan seksual, kebutakan, dan kanker otak. Anak-anak menjadi salah satu yang paling rentan terhadap dampak negatif pemanis buatan. Pada anak-anak berpotensi merangsang keterbelakangan mental karena otak masih dalam tahap perkembangan dan terakumulasi pada jaringan saraf (Melinda dkk., 2021). Terdapat batasan atau jumlah maksimum asupan harian pemanis buatan yang dapat diterima oleh tubuh yang dikenal dengan ADI (*Acceptable Daily Intake*) yang dinyatakan dalam miligram per kilogram berat badan agar mencegah efek merugikan terhadap kesehatan (SNI, 2004). Batas penggunaan maksimum untuk pemanis buatan di bawah ADI tercantum dalam Tabel 2.

Tabel 2. Batas penggunaan maksimum untuk pemanis buatan di bawah ADI

Nama Pemanis Buatan	ADI (<i>Acceptable Daily Intake</i>)
Asesulfam-K	15 mg/kg berat badan
Aspartam	40 mg/kg berat badan
Siklambat	0-11 mg/kg berat badan
Sakarin	5 mg/kg berat badan
Sukralosa	0-15 mg/kg berat badan
Neotam	0-2 mg/kg berat badan

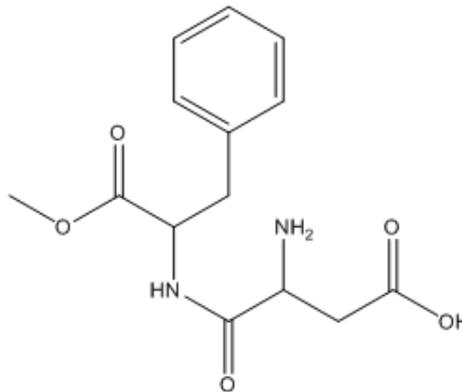
Sumber: SNI (2004).

2.2 Aspartam

Aspartam merupakan pemanis yang diperkenalkan untuk menggantikan sukrosa dan memiliki rasa 180 kali lebih manis dibandingkan gula pada umumnya. Aspartam ditemukan oleh James M. Schlatter pada tahun 1965. Karena 180 kali lebih manis dari sukrosa, asupannya diharapkan dapat mengurangi tingkat obesitas di negara berkembang dan membantu mereka yang berjuang melawan diabetes. Aspartam banyak digunakan sebagai pemanis untuk minuman ringan, gula-gula, dan obat-obatan (Silva and Santos, 1994). Aspartam ditemukan dalam sekitar 6.000 produk makanan dan minuman yang dikonsumsi di seluruh dunia. Aspartam memiliki nilai kalori 4 kilokalori (17 kilojoule) per gram. Pemanis buatan ini memiliki kemampuan untuk memperpanjang dan mengintensifkan rasa, serta meningkatkan aroma makanan. Aspartam tidak digunakan dalam makanan yang mengalami perlakuan panas, pemasakan, sterilisasi dan lainnya karena akan terdegradasi saat dipanaskan dan kehilangan rasa manisnya (Milenkovska *et al.*, 2022).

Penggunaan aspartam tidak dilarang oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), namun harus sesuai aturan *Acceptable Daily Intake* (ADI). Batas penggunaan aspartam pada makanan adalah 40 mg/kg berat badan (Thohir dan Sabila, 2021). Penggunaan aspartam dalam produksi makanan terbatas karena ketidakstabilannya, meskipun stabil dalam bentuk padat, namun akan terdegradasi dalam larutan, terutama pada suhu tinggi atau nilai pH >6. Aspartam juga akan kehilangan rasa manisnya setelah bereaksi dengan beberapa perasa seperti aldehida atau keton. Oleh karena itu, terdapat peningkatan minat terhadap komposisi aspartam yang lebih terenkapsulasi. Struktur aspartam (gugus karboksilat dan amino) memungkinkannya mengikat logam, dan dapat mengkelat logam berat dari makanan, minuman, dan kemasan tempat produk tersebut disajikan dan disimpan.

2.2.1 Sifat Fisik dan Kimia Aspartam



Gambar 1. Struktur Aspartam ($C_{14}H_{18}N_2O_5$)

Aspartam terdiri dari dua asam amino (L-fenilalanin dan asam L-aspartat) sehingga mempunyai nama kimia L-Aspartyl-L-phenylalanine methyl ester. Memiliki rumus kimia $C_{14}H_{18}N_2O_5$, aspartam memiliki massa molekul 294,301 g/mol dan titik lebur 246-247°C. Aspartam yang berbentuk serbuk putih dan tak berbau ini sedikit larut dalam air dan alkohol serta tidak larut dalam heksana dan metilen klorida (Milenkovska *et al.*, 2022).

2.2.2 Pengaruh Aspartam bagi Kesehatan

Telah dikemukakan bahwa pada manusia yang mengonsumsi aspartam dalam jumlah besar memungkinkan dapat terjadi perubahan fisiologis yang serius karena aspartam diduga menyebabkan gangguan saraf dan perilaku pada manusia. Hal ini menyebabkan reaksi neuropsikiatri seperti sakit kepala, kejang dan depresi. Penderita fenilketonuria, kelainan genetik di mana pasien tidak dapat mengubah fenilalanin menjadi tirosin, harus menghindari aspartam. Karena efek berbahaya aspartam pada pasien fenilketonuria, menurut persyaratan FDA, semua produk yang mengandung aspartam harus memiliki label yang menginformasikan keberadaan fenilalanin. Selain itu, label makanan yang mengandung aspartam harus menunjukkan bahwa makanan tersebut tidak dianjurkan untuk dimasak dan dipanggang (Haighton *et al.*, 2018). Meskipun banyak penelitian telah dilakukan untuk mengetahui dampak aspartam terhadap kesehatan, hasil penggunaan jangka

panjangnya masih sulit diprediksi dan penggunaannya dalam produk farmasi dan makanan masih kontroversial (Serra *et al.*, 2018).

Terdapat pula penelitian mengenai aspartam terhadap sistem reproduksi wanita dengan menggunakan model tikus betina. Hasil menunjukkan adanya dampak negatif terhadap fungsi ovarium yang ditandai dengan penurunan berat badan, berat organ relatif (hati dan ginjal) dan indeks gonadosomatik yang signifikan. Perubahan ini lebih signifikan tercatat pada kelompok perlakuan 60 hari. Hewan yang diberi perlakuan aspartam selama 30 dan 60 hari menunjukkan penurunan gonadotropin (hormon perangsang folikel dan hormon luteinisasi) yang bergantung pada durasi, dan steroid (estradiol dan progesteron). Selain itu, perubahan histopatologis yang parah, penurunan jumlah folikel yang tumbuh, perubahan degeneratif pada struktur folikel, corona radiata dan zonagranulosa juga diamati. Selain itu, perubahan histomorfologi juga diamati pada struktur rahim termasuk atrofi kelenjar endometrium rahim, kontraksi lapisan endometrium, gangguan struktur endometrium dan bentuk pembuluh darah juga berubah (Naik *et al.*, 2023).

2.3 Makanan Ringan

Makanan ringan (*snack food*) merupakan makanan yang dikonsumsi diantara waktu makan utama. Produk yang termasuk dalam kategori *snack food* antara lain: permen dan produk konfeksioneri (makanan manis seperti coklat, *marshmallow*, *jelly*), *cookies* atau *cracker* (semacam kue kering/biskuit) dan produk asal tepung lainnya; *meat snack*, *fish snacks* dan *shellfish snacks* (makanan yang berbasis daging/ikan seperti sosis, kerupuk ikan) *extruded snacks*, kacang-kacangan, *potato based textured snacks* (makanan berbasis sayur/ buah), dan *health food snacks*. *Snack food* juga sering disebut sebagai *savory snack* (jajanan cita rasa gurih) karena sebagian besar snack memiliki rasa asin, berbumbu, maupun gurih (Pratiwi dkk., 2022).

Makanan ringan, camilan, atau jajanan menjadi produk makanan yang banyak peminatnya dari berbagai kalangan tanpa memandang usia, anak-anak, remaja,

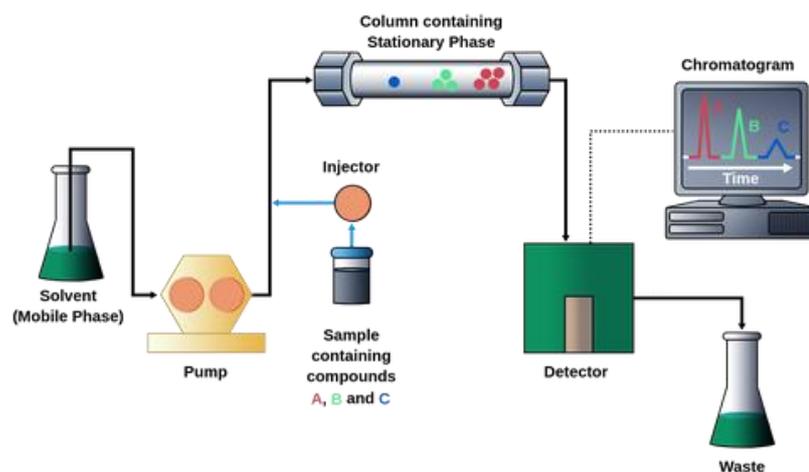
dan orang dewasa menyukai jajanan. Makanan ringan atau jajanan ini biasanya dikonsumsi kurang lebih 2-3 jam sebelum makan utama (sarapan, makan siang, dan makan malam) untuk menunda rasa lapar untuk sementara waktu (Wahab, 2018). Kategori jajanan antara lain: produk permen dan kembang gula, kue/biskuit dan produk tepung lainnya, bakso, makanan ringan dengan bahan dasar susu, jajanan ikan dan jajanan kerang, jajanan ekstrusi, jajanan berbahan dasar buah, kacang-kacangan, makanan ringan berbahan dasar kentang, dan camilan sehat (Pratiwi dkk., 2022).

2.4 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) merupakan metode pemisahan yang tidak memerlukan waktu yang lama, dapat melakukan identifikasi serta menetapkan bahan secara kuantitatif (Liu *et al.*, 2008). Prinsip dari Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah suatu sampel (larutan) diinjeksikan ke dalam kolom yang berisi fase diam dan fase gerak, kemudian diberikan tekanan tinggi sehingga fase gerak dapat melulusi sampel keluar dari kolom dan terdeteksi oleh detektor yang kemudian menghasilkan kromatogram (Charde *et al.*, 2014).

2.4.1 Instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Instrumen terdiri dari beberapa komponen yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Instrumen Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Anastasia, 2011).

a. Wadah fase gerak

Dalam analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) harus bersih dan lembam (*inert*). Wadah fase gerak yang dapat digunakan dapat berupa wadah pelarut kosong ataupun labu ukur. Wadah tersebut biasanya dapat menampung fase gerak antara satu hingga dua liter pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan proses *degassing* (penghilangan gas) yang ada pada fase gerak karena adanya gas dapat menyebabkan gas tersebut berkumpul dengan komponen analit terutama di pompa dan detektor sehingga dapat mengganggu proses analisis (Rohman, 2007).

b. Pompa

Semua pompa pada Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dirancang untuk mendorong berbagai pelarut melalui kolom yang rapat. Pompa harus bekerja pada tekanan tinggi karena tekanan kolom terhadap aliran tinggi. Menurut Gabrieli (2009), terdapat beberapa persyaratan sistem pompa Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) antara lain sebagai berikut:

1. Memberikan tekanan yang tinggi.
2. Bebas dari dorongan.
3. Memberikan kecepatan aliran 0,11-10 mL/menit.
4. Aliran terkontrol dengan reproduibilitas kurang dari 0,5%.
5. Tahan karat.
6. Dapat memberikan aliran sistem isokratik maupun *gradient*.

c. Injektor

Terdapat tiga jenis injektor yang sering digunakan dalam analisis menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), yaitu *syringe injector*, *loop valve*, dan *automatic injector (autosampler)*. *Syringe injector* merupakan bentuk injektor pada Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yang paling sederhana. *Loop valve* atau katup putaran digunakan untuk menginjeksi volume yang lebih besar dari 10 μ L. Jika katup digunakan, maka cuplikan di dalam putaran dapat bergerak ke dalam kolom. *Autosampler* memiliki prinsip yang serupa dengan injektor lainnya, tetapi sistem penyuntikannya dapat bekerja secara otomatis (Mayer, 2010).

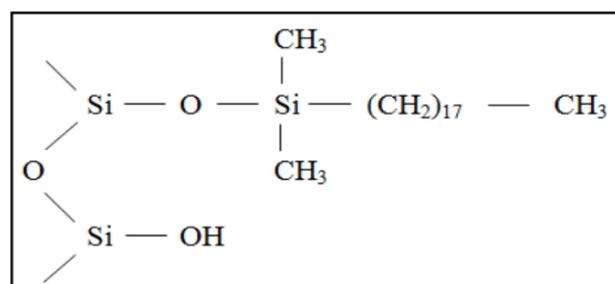
d. Kolom

Kolom merupakan komponen yang sangat penting dalam Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Perubahan kolom dapat dilakukan untuk memberikan efek yang lebih baik pada resolusi analit selama pengembangan metode. Kolom menjadi komponen yang menentukan pemisahan senyawa. Sebagai fase diam, kolom menjadi tempat terjadinya pemisahan komponen-komponen campuran. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan kekuatan interaksi antara zat-zat terlarut terhadap fase gerak (Sabir *et al.*, 2013).

Syarat fase diam adalah bersifat inert, tidak larut dalam fase gerak, tidak berwarna, memberikan aliran yang baik terhadap fase gerak, tahan tekanan tinggi, memiliki gugus fungsi aktif, stabil, dan tidak mudah rusak.

Beberapa contoh jenis fase diam yang digunakan pada fase terbalik adalah Oktadesil silika (ODS atau C18) dan BDS (*Base Deactivated Silica*). Kolom C18 menjadi fase diam yang kerap digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran rendah, sedang, maupun tinggi (Susanti dan Dachriyanus, 2010).

Kolom C18 merupakan kolom silika gel termodifikasi yang gugus silanolnya (Si-OH) terikat hidrokarbon dengan 18 gugus karbon yang membuat kolom ini lebih nonpolar. Kolom C18 memiliki gugus fungsi -OH yang bebas dan memiliki tailing puncak yang tinggi. Kolom C18 memiliki jumlah atom karbon yang banyak sehingga bersifat hidrofobik dan mampu menahan komponen nonpolar lebih lama. Struktur kolom C18 ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kolom C18

e. Detektor

Pemilihan detektor disesuaikan dengan sifat kimia dari sampel, kemungkinan gangguan yang terjadi, batas deteksi, ketersediaan, dan biaya. Adapun macam-macam detektor pada KCKT adalah detektor UV-Vis, detektor fluoresensi, detektor indeks bias, dan detektor elektrokimia. Detektor UV-Vis merupakan detektor yang paling banyak digunakan dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Prathap *et al.*, 2012).

f. Sistem pendataan

Sistem pendataan terdiri dari beberapa alat seperti komputer, integrator atau rekorder yang dihubungkan dengan detektor. Alat ini mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu memplotkannya sebagai suatu kromatogram yang selanjutnya dapat dievaluasi (Susanti, 2012).

2.4.2 Jenis Fase

Menurut Sabir *et al.* (2013), terdapat dua macam fase dalam Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yaitu:

a. Fase normal (*normal phase*)

Pada kromatografi fase normal, fase diam bersifat polar, biasanya menggunakan silika. Fase gerak bersifat nonpolar, menggunakan heksana atau kloroform. Senyawa dengan kepolaran yang lebih besar terelusi lebih lambat dari kolom dan senyawa dengan kepolaran paling kecil terelusi lebih awal.

b. Fase terbalik (*reversed phase*)

Fase terbalik adalah teknik yang paling populer untuk analisis dan pemisahan dari suatu senyawa dalam sediaan kimia, biologi, farmasi, makanan, dan biomedikal. Pada teknik ini fase diam bersifat non polar hidrofobik dan fase gerak adalah pelarut polar. Fase gerak yang paling banyak digunakan dalam Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah campuran hidrorganik. Senyawa hidrorganik yang umumnya digunakan adalah metanol dan asetonitril atau campuran keduanya.

Konsentrasi larutan organik dalam fase gerak merupakan faktor utama yang mempengaruhi retensi analit dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Pelarut dalam fase gerak harus dapat bercampur serta tidak menimbulkan pengendapan saat dicampur. Sampel yang digunakan harus dapat larut dalam fase gerak karena apabila sampel tidak dapat larut, maka dapat terjadi pengendapan di dalam kolom (Kazakevich *and* LoBrutto, 2007).

2.4.3 Sistem Elusi Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Sistem pompa pada Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) sudah diatur agar dapat melakukan elusi dengan satu macam pelarut atau lebih. Terdapat dua sistem elusi pada Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) yaitu sebagai berikut:

a. Sistem elusi isokratik

Elusi isokratik merupakan suatu sistem elusi dimana kekuatan fase gerak dibuat tetap dari awal sampai akhir analisis. Pada sistem ini elusi dilakukan dengan satu macam pelarut pengembang atau lebih dari satu macam pelarut pengembang dengan perbandingan yang tetap, misalnya metanol : air = 50% : 50% v/v.

b. Sistem elusi gradien

Elusi gradien merupakan penambahan kekuatan fase gerak selama analisis kromatografi berlangsung. Sistem elusi gradien dapat mempersingkat waktu retensi dari senyawa-senyawa yang tertahan kuat dalam kolom. Pada sistem ini, elusi dilakukan dengan pelarut pengembang campur yang perbandingannya berubah dalam waktu tertentu, misalnya metanol : air = 40% : 60% v/v dengan kenaikan kadar metanol 8% setiap menit.

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

polaritas pelarut. Sedangkan untuk fase terbalik (fase diam kurang polar dari fase gerak), kemampuan elusi menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut. Syarat fase gerak yaitu memiliki kemurnian tinggi, inert, sesuai dengan detektor, dan mudah didapat. Pemilihan fase gerak dapat ditentukan berdasarkan indeks polaritas (P') dari campuran fase gerak yang akan digunakan. Semakin besar nilai indeks kepolaran atau polaritas (P') maka akan semakin polar fase gerak tersebut. Fase gerak yang umum digunakan merupakan campuran dari dua atau lebih pelarut yang di mana akan menghasilkan nilai indeks polaritas sendiri yang disebut indeks polaritas fase gerak (Harvey, 2000).

2.5 Validasi Metode

Laboratorium pengujian menggunakan metode standar seperti CODEX, AOAC, ASTM, SNI, dan standar nasional lainnya yang secara ekstensif telah divalidasi melalui percobaan-percobaan antar laboratorium. Namun demikian, tanggungjawab tetap kepada pengguna untuk mendokumentasikan validasi metode selengkap mungkin untuk memenuhi kebutuhannya. Semua operasi dan pengukuran dalam metode analisis mempunyai kesalahan yang melekat pada setiap metode. Setiap metode yang digunakan laboratorium dalam melaksanakan pengujian dievaluasi dan diuji untuk menjamin bahwa unjuk kerja suatu metode dapat dimengerti dan menghasilkan data yang sesuai dengan tujuan. Validasi adalah konfirmasi melalui pengujian dan pengadaan bukti yang selektif bahwa persyaratan tertentu untuk maksud khusus terpenuhi (Kantasubrata, 2008).

Metode validasi dilakukan ketika suatu metode analisis dikembangkan atau dilakukan modifikasi dari metode resmi, dengan tujuan memperlihatkan bahwa metode yang bersangkutan dapat dipercaya dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Riyanto, 2014). Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode adalah presisi, akurasi, linearitas, batas dekteksi (LoD), dan batas kuantifikasi (LoQ).

2.5.1 Presisi

Presisi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata apabila prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi dapat dibagi dalam dua kategori yaitu keterulangan (*repeatability*) dan ketertiruan (*reproducibility*). Keterulangan adalah nilai presisi yang diperoleh jika seluruh pengukuran dihasilkan oleh satu orang analis dalam satu periode tertentu, menggunakan pereaksi dan peralatan yang sama dalam laboratorium yang sama. Ketertiruan adalah nilai presisi yang dihasilkan pada kondisi yang berbeda, termasuk analis yang berbeda, atau periode dan laboratorium yang berbeda dengan analis yang sama. Presisi menghitung simpangan baku relatif (RSD) dari beberapa ulangan (Riyanto, 2014). Perhitungan SD dan %RSD dapat dilihat pada Persamaan 1 dan Persamaan 2.

$$SD = \left[\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (1)$$

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad (2)$$

Berdasarkan aturan Horwitz, presisi yang baik menunjukkan %RSD yang diperoleh lebih kecil dibandingkan nilai batas keberterimaan presisi. %RSD dapat dihitung menggunakan Persamaan 3, dengan C adalah fraksi konsentrasi.

$$\text{Horwitz \%CV} = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (3)$$

Pada *repeatability* (ketertiruan) syarat keberterimaannya adalah $2/3\%CV_{\text{Horwitz}}$, sedangkan pada *reproducibility* (keterulangan) adalah $\%CV_{\text{Horwitz}}$.

2.5.2 Akurasi

Akurasi atau kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Dalam beberapa tipe sampel dapat menggunakan sampel yang telah diketahui nilainya dan mengecek metode pengukuran kita gunakan untuk menganalisis sampel itu sehingga kita mengetahui akurasi dari prosedur yang diujikan, metode ini disebut dengan CRM (*Certified*

Reference Method). Pendekatan lain adalah dengan membandingkan hasilnya dengan hasil yang dilakukan oleh laboratorium lain atau dengan menggunakan metode referen. Akurasi juga dapat diketahui dengan melakukan uji perolehan kembali (*recovery*). Hasil uji ini akurasi dapat dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan pada sampel. Rentang nilai penerimaan kecermatan suatu metode akan bervariasi sesuai kebutuhannya (Riyanto, 2014).

$$\%recovery = \frac{C_{\text{sampel} + \text{spike}} - C_{\text{sampel}}}{C_{\text{spike}}} \times 100\% \quad (4)$$

2.5.3 Linearitas

Linearitas merupakan suatu metode analisis yang menunjukkan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Uji Linearitas ditentukan agar mengetahui kemampuan suatu metode analisis dalam memperoleh hasil yang sesuai terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Dalam penentuan linieritas, sebaiknya menggunakan minimum lima konsentrasi. Rentang penerimaan linieritas tergantung dari tujuan pengujian. Pada kondisi yang umum, nilai koefisien regresi (r^2) $\geq 0,99$ (Riyanto, 2014). Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi (r) pada analisis regresi linier $y = ax + b$. Hubungan linier yang ideal dicapai jika nilai $a = 0$ dan $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis. Sedangkan b menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan. Nilai koefisien korelasi yang memenuhi persyaratan adalah sebesar $\geq 0,99970$ (ICH, 1995), $\geq 0,97$ (SNI) atau $\geq 0,9990$ (AOAC) (Riyanto, 2014). Adapun rumus untuk menentukan a (intersep), b (slope), dan koefisien korelasi (r) dapat ditunjukkan pada Persamaan 5, 6, dan 7.

$$a = \frac{\sum Y - b(\sum X)}{n} \quad (5)$$

$$b = \frac{n\sum Y - (\sum X)(\sum Y)}{n(\sum X^2) - (\sum X)^2} \quad (6)$$

$$r = \frac{n\sum XY - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{[(n\sum X^2) - (\sum X)^2][(n\sum Y^2) - (\sum Y)^2]}} \quad (7)$$

2.5.4 Rentang

Rentang (*range*) adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan akurasi, presisi, dan linearitas yang dapat diterima (Harmita, 2004).

2.5.5 Batas Deteksi (LoD) dan Batas Kuantifikasi (LoQ)

Limit deteksi (LoD) merupakan konsentrasi terendah yang masih dapat terdeteksi oleh suatu alat dan masih memberikan respon signifikan. Limit kuantifikasi (LoQ) yang disebut juga limit determinasi merupakan konsentrasi terendah dari analit yang dapat ditentukan secara kuantitatif dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima. Limit deteksi dan kuantifikasi seringkali bergantung pada kemampuan instrumen. Besar limit deteksi biasanya dinyatakan dengan nilai rata-rata blanko $+3S$, dimana SD adalah standar deviasi (simpangan baku) dari blanko. Sedangkan limit kuantifikasi adalah konsentrasi terendah yang dapat ditentukan dengan besar presisi dan akurasi yang dapat diterima. Besar limit kuantifikasi biasanya dinyatakan dengan nilai rata-rata blanko $+10S$. Cara lain untuk menentukan batas deteksi dan kuantifikasi adalah melalui penentuan rasio S/N (*signal to noise ratio*). Nilai simpangan baku blanko ditentukan dengan cara menghitung tinggi derau pada pengukuran blanko sebanyak 20 kali pada analit yang memberikan respon (Riyanto, 2014).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari hingga April 2024 di Laboratorium Pangan, Balai Pengujian Mutu Barang (BPMB), Direktorat Standarisasi dan Pengendalian Mutu, Kementerian Perdagangan yang bertempat di Jl. Raya Bogor KM.26, Ciracas, Jakarta Timur.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat utama dan alat penunjang. Alat utama yang digunakan yaitu sistem KCKT (Shimadzu LC-40D XR) dengan komponen pompa LC-40D, *autosampler*, detektor UV/V SPD-40, *degasser* DGU-405, *column oven* CTO-40C, dan kolom C18 (Nucleosil 100) 10 μm , 4 mm x 250 mm. Sedangkan alat penunjang lainnya adalah neraca analitik (METTLER AE 40), *syringe* KCKT, *ultrasonic bath* (TRANSSONIC 660/H), pompa vakum, botol vial 1,5 mL, mikropipet, pH meter, blender, alat-alat gelas, pipet tetes, penyaring *millipore*, spatula, dan corong kaca.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu standar aspartam *analytical standard* SIGMA-ALDRICH, metanol (*p.HPLC*), kalium dihidrogen ortofosfat (KH_2PO_4), asam ortofosfat 85%, kalium heksasianoferrat (II) ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), seng sulfat (ZnSO_4), kertas saring *Whatman* 40, membran filter *millipore* 0,45 μm *triton free* MCE 47 mm, akuabides, dan sampel makanan ringan (pilus).

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pemilihan dan Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan sampel makanan ringan dengan jenis pilus yang didalamnya terdapat komposisi aspartam dan non-aspartam. Sampel makanan ringan dengan komposisi aspartam dan non-aspartam ini berasal dari Pasar Ciracas, Jakarta Timur.

3.3.2 Variasi Pembuatan Larutan

- a. Larutan kalium dihidrogen ortofosfat (KH_2PO_4) 0,0125 mol/l
Larutan kalium dihidrogen ortofosfat dibuat dengan cara melarutkan sebanyak 1,701125 g kalium dihidrogen ortofosfat dalam gelas kimia dengan akuabides. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL dan ditambahkan akuabides hingga tanda batas.
- b. Larutan asam ortofosfat (H_3PO_4) 0,85%
Larutan asam ortofosfat (H_3PO_4) 0,85% dibuat dengan pengenceran larutan asam ortofosfat (H_3PO_4) 85% sebanyak 1 mL ke dalam labu ukur 100 mL yang kemudian ditambahkan akuabides hingga tanda batas.
- c. Larutan Carrez 1
Larutan carrez 1 dibuat dengan cara melarutkan 15 g kalium heksasianoferrat (II) ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) dengan akuabides pada labu 100 mL hingga tanda batas (*British Standard DD CEN/TS 15606, 2009*).
- d. Larutan Carrez 2
Larutan carrez 2 dibuat dengan cara melarutkan 30 g seng sulfat (ZnSO_4) dengan akuabides pada labu 100 ml hingga tanda batas (*British Standard DD CEN/TS 15606, 2009*).

e. Larutan Fase Gerak

Larutan fase gerak dibuat dengan mencampurkan larutan kalium dihidrogen ortofosfat (KH_2PO_4) 0,0125 mol/l dan metanol (*p. HPLC*) dengan perbandingan 70:30 dalam labu ukur 1000 mL. Larutan diatur pH-nya hingga 4,5 dengan larutan asam ortofosfat (H_3PO_4) 0,85% menggunakan pH meter. Larutan fase gerak yang sudah memiliki pH 4,5 disaring dengan menggunakan millipore 0,45 μm *triton free* MCE 47 mm lalu disonikasi selama 10 menit (*British Standard EN 1378:1997, 1997*).

f. Larutan Induk Aspartam 200 mg/L

Larutan induk aspartam 200 mg/L dibuat dengan cara menimbang standar aspartam (SIGMA ALDRICH) sebanyak 0,01 g dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL yang kemudian ditambahkan larutan fase gerak hingga tanda batas lalu homogenkan (*British Standard EN 1378:1997, 1997*).

g. Larutan Deret Standar Aspartam 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5 mg/L

Larutan deret standar aspartam dibuat dengan melakukan pengenceran bertingkat larutan induk aspartam 200 mg/L menjadi beberapa konsentrasi yaitu 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; dan 5 mg/L yang dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan larutan fase gerak hingga tanda batas lalu homogenkan.

3.3.3 Preparasi Sampel

Sampel berupa makanan ringan dengan jenis pilus dihaluskan terlebih dahulu menggunakan blender. Setelah halus, sampel ditimbang sebanyak 0,5 g dan dilarutkan dengan larutan fase gerak sebanyak 20 mL pada labu ukur 50 mL. Sonekasi larutan sampel selama 20 menit. Dinginkan hingga suhu ruang. Kemudian, dimasukkan larutan Carrez No. 1 dan Carrez No. 2 masing-masing sebanyak 1 mL ke dalam sampel lalu homogenkan. Tambahkan kembali larutan fase gerak hingga tanda batas dan homogenkan kembali. Saring larutan sampel dengan kertas saring Whatman 40 dan tampung dalam erlenmeyer 50 mL. Saring

kembali dengan *syringe filter* 0,45 μm ke dalam vial sebelum diinjeksikan ke dalam sistem KCKT (*British Standard* DD CEN/TS 15606, 2009).

3.3.4 Identifikasi dengan HPLC

Identifikasi aspartam menggunakan KCKT dilakukan dengan menginjeksikan variasi larutan blanko, larutan standar, serta larutan sampel pada sistem KCKT yang telah dikondisikan sebelumnya. Kondisi tersebut disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kondisi sistem KCKT

Parameter	Pengaturan
Kolom	Nucleosil 120-10 C18
Sistem	Fase Terbalik
Fase Gerak	KH_2PO_4 0,0125 mol/l : Metanol = 70:30 pH 4,5 (H_3PO_4)
Laju Alir	1,0 mL/menit
Detektor	UV/Vis
Panjang Gelombang	217 nm
Volume Injeksi	20 μL
Injektor	Autosampler
Waktu Retensi	17 menit

Sumber: *British Standard* EN 1378:1997 (1997).

3.3.5 Uji Validasi Metode dengan Variasi Parameter

3.3.5.1 Presisi

Parameter presisi dilakukan dengan pengukuran larutan sampel sebanyak 7 kali replikasi pada hari yang sama.

3.3.5.2 Akurasi

Parameter akurasi dilakukan dengan pengukuran larutan sampel yang telah di-*spike* menggunakan larutan induk aspartam 200 mg/L sebanyak 0,5 mL.

Pengukuran akurasi dilakukan sebanyak 6 kali replikasi dan ditentukan %*recovery*.

3.3.5.3 Linearitas

Linearitas ditentukan dengan membuat kurva kalibrasi larutan standar aspartam secara linear dengan konsentrasi standar minimal 5 (*International Conferene on Harmonization*, 2014). Variasi konsenstrasi yang digunakan yaitu 0,05;0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; dan 5 ppm. Parameter linearitas dapat dihitung dengan melihat nilai koefisien korelasi dan melalui pengukuran residual plot menggunakan larutan standar aspartam.

3.3.5.4 Rentang

Rentang ditentukan dengan melihat hasil yang didapatkan dan ditunjukkan sebagai batas terendah hingga tertinggi yang ditetapkan berdasarkan parameter-parameter yang ada seperti akurasi, presisi, dan linearitas.

3.3.5.5 Batas Deteksi (LoD) dan Batas Kuantifikasi (LoQ)

Penentuan LoD dan LoQ dilakukan dengan mengukur larutan sampel yang tidak terdapat komponen aspartamnya dan telah di-*spike* menggunakan larutan standar aspartam 5 ppm sebanyak 0,5 mL. Penentuan LoD dan LoQ dilakukan sebanyak 7 kali replikasi.

3.3.6 Penentuan Kadar Aspartam pada Sampel Makanan Ringan

Penentuan kadar aspartam dilakukan menggunakan sampel makanan ringan dengan jenis pilus yang telah dipreparasi dan menggunakan metode KCKT yang sistemnya telah dikondisikan. Kadar aspartam kemudian dapat ditentukan menggunakan Persamaan 5. C_x adalah konsentrasi analit yang diukur dari persamaan regresi (mg/L), V adalah volume sampel (L), dan W adalah berat sampel (kg).

$$\text{Kadar aspartam (mg/kg)} = \frac{C_x \times V}{W} \quad (8)$$

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Validasi metode dengan variasi parameter pada penentuan kadar aspartam dalam sampel makanan ringan dengan jenis pilus menggunakan KCKT menunjukkan hasil yang baik sehingga metode ini dapat digunakan untuk analisis kadar aspartam di laboratorium.
2. Validasi metode menunjukkan bahwa parameter linearitas menghasilkan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9995; presisi menghasilkan %RSD sebesar 1,55%; akurasi melalui uji perolehan kembali (%*recovery*) menghasilkan nilai dengan rentang 89,11-96,73% dan rata-rata 94,48%; rentang menunjukkan variasi konsentrasi 0,05-5,0 mg/L yang digunakan menghasilkan linearitas respon yang baik; batas deteksi (LoD) sebesar 0,07 mg/L dan batas kuantifikasi (LoQ) sebesar 0,09 mg/L.
3. Hasil pengukuran kadar aspartam pada sampel makanan ringan dengan jenis pilus yang beredar dipasaran menghasilkan rata-rata kadar sebesar 221,14 mg/kg. Hasil tersebut masih dalam batas asupan harian (ADI) yang diperbolehkan yakni 40 mg/kg berat badan.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan metode uji ini untuk diujicobakan terhadap matriks sampel atau jenis-jenis makanan ringan siap santap lainnya guna melihat unjuk kerja metode pada berbagai matriks tersebut serta melakukan optimasi

terhadap alat dan metode analisis untuk meningkatkan nilai keabsahan dari metode analisis.

DAFTAR PUSTAKA

- Anastasia, Y. 2011. Teknik Analisis Residu Golongan Tetrasiklin dalam Daging Ayam Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Buletin Teknik Pertanian*, 16(2): 68–73.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2018. *Guidelines for Standard Method Performance Requirements Appendix F*.
- Butchko, H. H. 2002. Aspartame: review of Safety. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2(2): 1-93.
- BPOM. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan RI Nomor 4 Tahun 2014 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan-Bahan Tambahan Pangan Pemanis*. Jakarta.
- British Standar Institution (BSI) DD CEN/TS 15606:2009. 2009. *Foodstuffs: Determination of acesulfame-K, aspartame, neohesperidine-dihydrochalcone and saccharin. High performance liquid chromatography method*.
- British Standard EN1378:1997. 1997. *Foodstuffs: Determination of aspartame in table top sweetener preparation. Method by high performance liquid chromatography*.
- Cantarelli, M. A., Roberto, G. P., Eduardo, J. M., and Jose, M. C. 2009. Simultaneous Determination of Aspartame and Acesulfame-K by Molecular Absorption Spectrophotometry Using Multivariate Calibration and Validation by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Food Chemistry*. 1128-1132.
- Charde, M.S., Welankiwar, and Jitendra, K. 2014. Method Development by Liquid Chromatography with Validation. *International Journal of Pharmacheutical Chemistry*. 4(2): 57-61.
- Dali, S., Kusuma, A. T., dan Afiat, W. A. 2013. Analisis Kandungan Aspartam yang Terdapat pada Minuman Jajanan Anak Sekolah yang Beredar di Makassar dengan Metode HPLC. *Jurnal As-Syifaa*. 5(2): 162-168.
- Dzulfiqar, M. F., Diar, H., dan Nety, K. 2019. Studi Paparan Aspartam pada Minuman The Kemasan yang Dikonsumsi Mahasiswa Universitas Islam Bandung dengan Menggunakan Metode Food Frequency Questionnaire dan

Penetapan Kadar Aspartam Menggunakan KCKT. *Prosiding Farmasi*. Universitas Islam Bandung.

- Furqan, F. A., Deni, M., Rahmiati, Torowati, dan Asminar. 2021. Validasi Metode Pengujian Klorida pada Uranium Dioksida dengan Metode Tidak Langsung Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom. *Jurnal Instrumentasi*. 45(2): 109-121.
- Gelbfish, D. S. 2013. The Carcinogenic Effects of Aspartame. *The Science Journal of The Lander Collage of Arts and Sciences*. 6(2): 11-21.
- Hadiana, A. B. 2018. Identifikasi Siklamat pada Pangan Jajanan Anak Sekolah dan Keluhan Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 8(2): 191-200.
- Haighton, L., Roberts, A., Walters, B., and Lynch, B. 2019. *Systematic Review and Evaluation of Aspartame Carcinogenicity Bioassays using Quality Criteria*.
- Harmita, H. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(3): 117–135.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytic Chemistry Spectroscopy*. McGraw-Hill Companies. United States of America.
- Herzog, G., Kam, V., Berduque, A., and Arrigan, D. 2008. Detection of Food Additives by Voltammetry at The Liquid-LiquidInterface, *J. Agric. Food Chem.*, 56 (12): 4304-4310.
- International Conference on Harmonization (ICH). 2014. *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*. Somatek Inc. USA.
- Johnson, E.L dan Stevenson R., 1998. *Dasar Kromatografi Cair*. ITB Bandung, Bandung.
- Kantasubrata, Y. 2008. *Validasi Metode dan Ketelusuran Pengukuran Laboratorium Pengujian Kalibrasi*. PTBN-BATAN. Serpong.
- Kazakevich, Y. V. and Labruzzo, R. 2007. HPLC for Pharmaceutical Scientists. *John Wiley and Sons*. United States of America.
- Kroger, M., Kathleen, M., and Ruth, K. 2006. Low-calorie Sweeteners and Other Sugar Substitutes: A Review of The Safety Issues. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 5(2): 35-47.
- Lebda, M. A., Tohamy, H. G., and El-sayed, Y. S. 2017. Long-term soft drink and aspartame intake induces hepatic damage via dysregulation of adipocytokines and alteration of the lipid profile and antioxidant status. *Nutrition research*. 47-55.
- Liu, Y., Yang, H., Yang, S., Hu, Q., Cheng, H., Liu, H., and Qiu, Y. 2008. High-Performance Liquid Chromatography using Pressurized Liquid Extraction

for the Determination of Seven Tetracyclines in Egg, Fish and Shrimp. *Journal of Chromatography*, 917–918.

- Melinda, L., Deny, K., dan Vita, P. 2021. Identifikasi Pemanis Buatan (Siklamat) pada Penjual Minuman Es Teh Keliling di Sekolah Dasar Kelurahan Melayu Kecamatan Tenggarong. *Environmental Occupational and Safety Journal*. 3(1): 21-28.
- Meyer, V. R. 2010. *Practical High-Performance Liquid Chromatography (5th Editon)*. John Wiley and Sons Ltd. Switzerland.
- Milenkovska, F. B., Dragan, G., Ljubica, K., and Biljana, C. 2022. Artificial Sweeteners in Various Food Products Quantification and Intake Assessment. *Journal of Agricultural Food and Environmental Science*.76(4): 52-64.
- Miller, J.N., and Miller, J.C. 2010. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Pearson Education Limited. New York.
- Naik, A. Q., Tabassum, Z., and Vinoy, K. S. 2023. The Impact of Non-Caloric Artificial Sweetener Aspartam on Female Reproduction System in Mice Model. *Reproductive Biology and Endocrinology Journal*. 1-12.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 33 Tahun 2012 tentang *Bahan Tambahan Pangan*.
- Prathap, B., Akalanka, D., Srinivasa, Jhonson, P., and Arthanarswaran. Importance of RP-HPLC in Analytical Method Development . *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Science*. 3(1): 15-23.
- Rahmah, A., Budhi, O., dan Desy, K. 2012. Analisis Kadar Siklamat dan Aspartam pada Minuman Ringan Menggunakan HPLC dengan Fasa Gerak Metanol-Buffer Phospat. *Chemistry Journal of State University of Padang*.1(1): 1-5.
- Ramsurn, D. D., Sabrina, J. H., and Minu, G. B. 2015. Determination of Artificial Sweeteners in Liquid Foods by High Performace Liquid Chromatography. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*. 3(10):311-321.
- Pratiwi, N., Zulkifli, M., dan Fadzil, H. 2022. Sosialisasi Pembuatan Makanan Ringan Berbahan Dasar Kulit Lumpia di SMP Negeri 2 Sumberejo. *Jurnal Pengabdian Masyarakat*. 4(4): 17-21.
- Riyanto. 2014. *Validasi dan Verifikasi Metode Uji: Sesuai dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi (Edisi 1)*. Penerbit Deepublish. Yogyakarta.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.

- Sabir, A. M., Mitra, M., and Bhasin, P. 2013. HPLC Method Development and Validation. *International Research Journal of Pharmacy*. 4(4): 39-46.
- Serra, L., Raposo, A., and Logoe, C. 2018. *American Consensus on Low-and No-Calories Sweeteners: Safety, Nutritional Aspects and Benefits in Food and Beverages*.
- Silva S.M.B.D. dan Santos C.F.D. 1994. Medicamentos pediátricos e risco de cárie: Uma revisão TT—Pediatric medicines and caries risk: A review. *Rev. Fac. Odontol. Bauru*.15–21.
- SNI 01-6993-2004. 2004. *Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan*. Badan Standarisasi Nasional.
- Soffritti, M., Fiorella, B., Esposito DD, and Lambertini L. 2006. Results of Long-Term Carcinogenicity Bioassay on Sprague-Dawley Rats Exposed to Aspartame Administered in Feed. *Annals of theNew York Academy of Sciences*. 1076(1): 559-577.
- Susanti, E. 2012. *Optimasi dan Validasi Metode Analisis Ziduvudin, Lamivudin, dan Nevirapin dalam Tablet Generik dan Plasma In Vitro secara KCKT*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Susanti, M. dan Dachriyanus. 2010. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. LPTIK Universitas Andalas. Sumatera Barat.
- Thohir, M.B., dan Sabila, N. 2021. Sensor untuk Mendeteksi Aspartam Menggunakan Reagen Ninhidrin Termobilisasi. *Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Pengetahuan*. 4(1): 20-31.
- Tratnik, J. S., Ljudmila, B., and Milena, H. 2018. *Validation of Analytical Methods*. Human Biomonitoring foe Europe. Slovenia.
- Wahab, A. 2018. *Pengaruh Variasi Ketebalan dan Penambahan Coklat terhadap Sifat Fisik, Kimia, dan Tingkat Kesukaan Jenis Growol*. Universitas Meru Buana. Yogyakarta.
- Wimpy, Tri, H., dan Tatiana, S. W. 2020. Analisis Zat Pemanis Sakarin pada Minuman Bubble Drink yang Dijual di Kota Surakarta. *Jurnal Farmasi*. 9(1): 13-18.