

BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Bahan Tambahan Pangan (BTP)

Pangan Menurut Undang-Undang (UU) Pangan No.18 Tahun 2012 adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan, dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan Pangan, bahan baku Pangan, dan bahan lainnya yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan/atau pembuatan makanan atau minuman. Sedangkan pangan olahan menurut Undang-Undang (UU) Pangan No.18 Tahun 2012 adalah makanan atau minuman hasil proses dengan cara atau metode tertentu dengan atau tanpa bahan tambahan.

Keamanan Pangan menurut Undang-Undang (UU) Pangan No.18 Tahun 2012 adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah Pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga aman untuk dikonsumsi.

Menurut Permenkes RI No.033 tahun 2012 Bahan Tambahan adalah bahan yang ditambahkan kedalam pangan untuk mempengaruhi sifat dan bentuk pangan. BTP dapat mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang sengaja

ditambahkan kedalam pangan untuk teknologis untuk pembuatan, pengolahan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan dan/atau pengangkutan pangan untuk menghasilkan atau diharapkan menghasilkan suatu komponen atau mempengaruhi sifat pangan tersebut, baik secara langsung atau tidak langsung.

Tujuan penggunaan BTP adalah untuk mempertahankan kualitas pada saat penyimpanan, membuat lebih mudah saat dihidangkan, serta mempermudah dalam proses preparasi bahan pangan (Cahyadi,2009 : 2).

Dalam kehidupan sehari-hari BTP sudah umum digunakan namun sering terjadi kesalahan dalam penggunaannya karena banyak produsen pangan yang menggunakan BTP yang berbahaya bagi kesehatan serta melebihi dari batas penggunaan maksimal yang diizinkan dalam makanan ataupun penggunaan BTP yang tidak diperbolehkan dalam aturan (Winarno, 1991 : 183).

Berdasarkan tujuan penggunaannya dalam pangan, pengelompokan BTP yang diizinkan menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No.722/Menkes/Per/IX/88 adalah sebagai berikut :

1. Pewarna yaitu BTP yang memberikan warna pada makanan
2. Pemanis buatan yaitu BTP yang memberikan rasa manis namun tidak memiliki nilai gizi
3. Pengawet yaitu BTP yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba
4. Antioksidan yaitu BTP yang dapat mencegah terjadinya ketengikan
5. Antikempal yaitu BTP yang dapat mencegah terjadinya penggumpalan pada serbuk
6. Penyedap rasa dan aroma yaitu BTP yang dapat memperkuat rasa aroma

7. Pengatur keasaman yaitu BTP yang dapat menetralkan derajat asam makanan
8. Pemutih dan pematangan tepung yaitu BTP yang dapat memperbaiki
9. Pengemulsi yaitu BTP yang dapat membantu terbentuknya sistem dispersi
10. Pengeras yaitu BTP yang dapat mencegah kelunakan pada makanan
11. Sekuestran yaitu BTP yang dapat mengikat logam pada makanan

1.2 ADI (*Acceptable Daily Intake*)

ADI adalah asupan harian yang dapat diterima, istilah untuk menentukan dosis yang aman dan diizinkan bagi produk pangan yang dikonsumsi setiap hari dan dinyatakan sebagai jumlah BTP per kilogram (kg) berat badan (CAC 2005). ADI diperkirakan oleh *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) berupa jumlah BTP, yang dinyatakan atas dasar berat badan, yang dapat dikonsumsi untuk waktu tertentu tanpa menimbulkan resiko terhadap kesehatan. ADI ditetapkan seumur hidup. Berat badan 60 kg biasanya untuk menunjuk berat rata-rata populasi. Namun, di beberapa negara khususnya negara berkembang, berat badan 50 kg akan menunjukkan berat badan rata-rata populasi yang lebih baik.

Setiap BTP mempunyai nilai aman konsumsi yang disebut dengan nilai ADI. Nilai ADI dari suatu bahan kimia didefinisikan sebagai jumlah bahan dalam mg bahan per kg bobot badan, yang meskipun dicerna/dimakan setiap hari bersifat aman, tidak menimbulkan gangguan terhadap kesehatan, efek keracunan ataupun resiko (Sarifudin, 2004 : 59)

1.3 Pemanis Bahan Pangan

BTP pemanis (*sweetener*) adalah bahan tambahan pangan berupa pemanis alami dan pemanis buatan yang memberikan rasa manis pada produk pangan (Permenkes No.033, 2012). BTP pemanis buatan merupakan senyawa yang secara substansial memiliki tingkat kemanisan lebih tinggi, yaitu berkisar antara 30 sampai dengan ribuan kali lebih manis dibandingkan sukrosa. Penggunaan pemanis saat ini sangat banyak di dalam produk pangan karena beberapa kelebihanannya, mempunyai tingkat kemanisan yang sangat tinggi sehingga dapat mengurangi penggunaan sukrosa dalam produk pangan. Para produsen pangan menggunakan pemanis selain untuk menekan biaya produksi juga untuk meningkatkan atau menegaskan rasa manis dari produknya (Fitriana, 2013 : 17).

Zat pemanis merupakan senyawa kimia yang sering ditambahkan dan digunakan untuk keperluan produk olahan pangan, industri, serta minuman dan makanan. Pemanis berfungsi untuk meningkatkan cita rasa, aroma, memperbaiki sifat-sifat fisik, pengawet, memperbaiki sifat-sifat kimia, sekaligus merupakan sumber kalori bagi tubuh. Dilihat dari sumber pemanis dapat dikelompokkan menjadi pemanis alami dan pemanis sintetis (buatan). Pemanis alami biasanya berasal dari tanaman seperti tebu dan bit.

1.3.1 Pemanis Sintetis

Zat pemanis sintetis merupakan zat yang dapat menimbulkan rasa manis atau dapat membantu mempertajam penerimaan terhadap rasa manis tersebut, sedangkan kalori yang dihasilkannya jauh lebih rendah dari pada gula (Cahyadi, 2008).

**Tabel 2.1. Daftar pemanis sintesis yang diizinkan di Indonesia
(PerMenkes RI No. 1168/Menkes/Per/X/1999)**

Jenis Pemanis Sintetis	ADI	Jenis Bahan Makanan	Batas maksimal Penggunaan
Sakarin (Garam Natrium)	0-2,5	Makanan berkalori rendah	a. 50mg/kg (sakarin)
		a. Permen karet	b. 100mg/kg (Na-sakarin)
		b. Permen	c. 300 mg/kg (Na-sakarin)
		c. Saus	d. 200 mg/kg (Na-sakarin)
		d. Es krim dan sejenisnya	e. 300 mg/kg (Na-sakarin)
		e. Es lilin	f. 200 mg/kg (Na-sakarin)
		f. Jam dan jeli	g. 300 mg/kg (Na-sakarin)
		g. Minuman ringan	h. 300 mg/kg (Na-sakarin)
		h. Minuman yoghurt	i. 50 mg/kg (Na-sakarin)
		i. Minuman ringan fermentasi	
		Siklamat (garam natrium dan garam kalsium)	
a. Permen karet	b. 1g/kg dihitung sebagai asam siklamat		
b. Permen	c. 3 g/kg dihitung sebagai asam siklamat		
c. Saus	d. 3 g/kg dihitung sebagai asam siklamat		
d. Es lilin	e. 3 g/kg dihitung sebagai asam siklamat		
e. Minuman yoghurt	f. 500mg/kg dihitung sebagai asam siklamat		
f. Minuman ringan fermentasi			
Sorbitol		Kismis Jam dan jeli, roti Makanan	5g/kg
			300 g/kg
			120 g/kg
Aspartam	50 mg/kg	Makanan berkalori rendah	600 mg/kg
		a. Permen karet	
		b. Permen	
		c. Saus	
		d. Es krim dan sejenisnya	
		e. Es lilin	
		f. Jam dan jeli	
		g. Minuman ringan	
		h. Minuman yoghurt	
		i. Minuman ringan fermentas	

Banyak aspek yang dijadikan pertimbangan dalam menentukan jenis pemanis buatan yang akan digunakan dalam produk makanan, antara lain nilai kalori, tingkat kemanisan, sifat toksik, pengaruhnya terhadap metabolisme, gula darah, dan organ tubuh manusia. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa bila dikonsumsi berlebihan atau secara berkelanjutan beberapa jenis pemanis membawa efek samping yang membahayakan kesehatan manusia. Oleh sebab

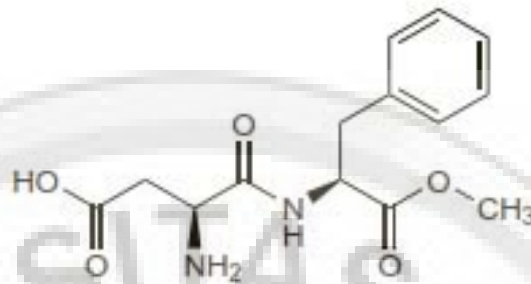
itu, selain ketentuan mengenai penggunaan pemanis buatan juga harus disertai dengan batasan jumlah maksimum penggunaannya (Ambarsari, 2008).

1.4 Aspartam

Aspartam yang dikenal dengan nama dagang *Equal*, merupakan salah satu bahan tambahan pangan telah melalui berbagai uji yang mendalam dan menyeluruh aman bagi penderita diabetes mellitus. Pada penggunaan dalam minuman ringan, aspartam kurang menguntungkan karena penyimpanan dalam waktu lama akan mengakibatkan turunnya rasa manis. Aspartam merupakan pemanis buatan yang diizinkan penggunaannya dalam batas tertentu. Menurut ketentuan Surat Keputusan Kepala Badan POM No. H.K.00.05.5.1.4547 tentang persyaratan penggunaan BTP pemanis buatan dalam produk pangan, maka aspartam dapat digunakan secara aman dan tidak bermasalah bila sesuai takaran yang diperbolehkan. Untuk kategori pangan minuman berkarbonasi dan non karbonasi, batas maksimum penggunaan Aspartam adalah 600 mg/kg, aspek konsumsi keamanan kandungan aspartam sesuai dengan kadar yang diizinkan. Yang kemudian akan menjadi masalah adalah bila seseorang mengkonsumsi produk yang mengandung aspartam secara berlebihan sehingga jika diakumulasi dapat melebihi kadar asupan harian yang dapat diterima tubuh (*Acceptable Daily Intake/ADI*), nilai ADI Aspartam adalah 50 mg/kg berat badan.

Aspartam adalah BTP pemanis buatan yang merupakan bentuk metil ester dari L-aspartil-L-fenilalanin yang dihasilkan dari asam amino asam aspartat dan

asam amino essensial fenilalanin yang banyak digunakan sebagai pemanis non nutritif (Fitriana, 2013 : 22).



Gambar 1.4.1. Struktur Aspartam (Martindale, 2009 : 1930).

Tiga senyawa aspartam dihidrolisis dalam saluran pencernaan yaitu : 1) metil alkohol , 2) asam aspartat , 3) fenilalanin. Aspartam digunakan sebagai pemanis intens, dengan tingkat kemanisan sekitar 180 sampai 200 kali sukrosa. Aspartam digunakan dalam makanan, minuman, dan obat-obatan. Setiap gram menyediakan sekitar 17 kJ (4 kkal) (Martindale, 2009 : 1930).

Aspartam dapat diabsorpsi dan dimetabolisme menjadi 3 metabolit, yaitu asam aspartat, fenilalanin dan metanol dengan persentase berat per berat (b/b) masing-masing yaitu 40%, 50% dan 10% (Fitriana, 2013 : 23).

1.5 Dampak Pemanis Aspartam Terhadap Kesehatan

Dampak aspartam bagi kesehatan, terjadi keluhan secara spontan dari konsumen masalah yang sering terjadi adalah sakit kepala, neuropsikiatri atau gejala perilaku, kejang, dan hipersensitivitas atau gejala dermatologis hal tersebut akan terjadi jika yang mengkonsumsi aspartam memiliki sensitivitas yang tidak biasa. Penelitian menunjukkan bahwa kelebihan penggunaan aspartam

pada anak-anak akan berefek peningkatan insiden kanker otak. (Martindale, 2009 : 1930).

Aspartam tidak boleh dikonsumsi oleh individu yang menderita penyakit fenilketonuria (PKU) atau fenilalaninemia atau fenilpiruvat oligofrenia. PKU merupakan penyakit kelainan genetik yang menyebabkan penderitanya tidak dapat atau dapat namun sangat sedikit memetabolisme fenilalanin, karena tubuhnya tidak mampu menghasilkan enzim pengolah asam amino fenilalanin, sehingga kadar fenilalanin dalam darah meningkat atau terakumulasi di jaringan tubuh dan membahayakan kesehatan karena dapat meracuni otak serta menyebabkan keterbelakangan mental. Dalam keadaan normal, fenilalanin diubah menjadi tirosina dan dibuang dari tubuh (Fitriana, 2013 : 23-24).

Menurut penelitian mengenai aspartam dan produk hasil metabolismenya pernah dilakukan secara *in vivo* menggunakan uji aberasi kromosomal dan uji perubahan kromatidnya pada sel-sel sumsum tulang pada mencit. Dari hasil penelitian ini, ternyata perlakuan dengan aspartam dosis tertentu dapat menginduksi aberasi kromosom namun tidak menginduksi perubahan kromatid. Dengan kata lain, aspartam tidak menurunkan indeks mitosis. Secara analisis statistik kesimpulan dari penelitian ini menyebutkan bahwa aspartam tidak secara nyata bersifat genotoksik pada konsentrasi yang rendah (Fitriana, 2013 : 25).

Tingkat asupan aspartam yang normal pada individu sehat setiap fenilalanin yang dihasilkan tidak berbahaya, namun disarankan konsumsi aspartam harus dihindari atau dibatasi asupannya oleh orang-orang penderita

fenilketonuria. WHO telah menetapkan asupan harian aspartam yang dapat diterima adalah 40 mg/kg berat badan. Sejumlah efek samping telah dilaporkan setelah konsumsi aspartam, terutama pada individu yang konsumsi dalam jumlah besar (hingga 8 liter per hari dalam satu kasus). Efek samping yang terjadi meliputi: sakit kepala, kehilangan memori, gejala gastrointestinal, dan gejala dermatologis. Meskipun aspartam dapat menyebabkan hiperaktif dan masalah perilaku pada anak-anak, *double-blind controlled trial* dari 48 anak usia diet makan yang mengandung asupan harian 38 ± 13 mg/kg berat badan aspartam selama 3 minggu hal ini tidak menunjukkan efek samping yang timbul pada perilaku anak-anak atau fungsi kognitif (Rowe, Raymond C., 2006 : 54).

Aspartam dapat menyebabkan pengerasan otak dan sum-sum tulang belakang, gangguan penglihatan, gangguan pendengaran, masalah jantung, mual, muntah, insomnia, gelisah, tumor otak, multiple sklerosis bahkan cacat mental (Novita, 2014 : 13).

1.6 Metode Yang Dapat Digunakan Dalam Pengumpulan Data Komsumsi Pangan

1.6.1 Analisis Risiko (*Risk Analysis*)

Analisis risiko merupakan penetapan tata cara memperkirakan risiko yang berhubungan dengan masalah kesehatan dan mengendalikan risiko tersebut seefektif mungkin. Konsep analisis risiko merupakan interaksi dari tiga hal yaitu kajian risiko, manajemen risiko, dan komunikasi risiko kajian. Kajian risiko merupakan kajian ilmiah terhadap kemungkinan risiko yang terjadi untuk dilaporkan kepada manajer risiko. Manajemen risiko adalah penetapan

kebijakan-kebijakan yang bertujuan untuk mengurangi risiko dengan mempertimbangkan dampak yang mungkin ditimbulkan. Komunikasi risiko adalah komunikasi instansi dan pihak terkait yang terlibat pada setiap langkah-langkah analisis risiko (Sarifudin, 2004 : 27).

1.6.2 Penelitian Risiko (*Risk Assessment*)

Penilaian atau kajian risiko adalah suatu proses penentuan risiko untuk menggambarkan dan mengukur karakteristik suatu risiko yang dianalisis berdasarkan pada data-data ilmiah dan dilakukan secara sistematis. Pada penilaian risiko dilakukan evaluasi ilmiah terhadap efek yang telah diketahui atau berpotensi merugikan kesehatan dengan mengukur dan mendeskripsikan karakteristik risiko yang dianalisis. Pada prinsipnya penilaian risiko dilakukan untuk mengukur pengaruh paparan suatu bahaya (hazard) terhadap kesehatan manusia pada periode waktu tertentu. Penilaian risiko meliputi empat tahap utama sebagai berikut (Fitriana, 2013 : 26) :

- 1) Identifikasi bahaya (*hazard identification*);
- 2) Karakterisasi bahaya (*hazard characterization*);
- 3) Penilaian atau studi paparan (*exposure assessment*);
- 4) Karakterisasi risiko (*risk characterization*).

1.6.3 Studi Paparan (*Exposure Assessment*)

Pengujian terhadap asupan bahan-bahan berbahaya melalui makanan, minuman atau sumber lain, baik secara kualitatif mau pun kuantitatif (Sarifudin, 2004 : 30).

Studi paparan merupakan evaluasi paparan dari suatu senyawa kimia (dan turunannya) pada organisme, sistem, atau (sub) populasi. Menurut Codex, studi paparan pada pangan dapat digambarkan secara lebih sempit sebagai evaluasi kuantitatif dan/atau kualitatif terhadap asupan (*intake*) dari bahan biologi, kimia dan fisika pada pangan, serta dari sumber lain yang relevan. Studi paparan merupakan alat yang penting untuk mengevaluasi risiko yang timbul akibat keberadaan bahan kimia pada suplai pangan terhadap konsumen. Studi paparan mengkombinasikan data konsumsi pangan dengan data tingkat penggunaannya BTP dalam pangan untuk memperkirakan tingkat konsumsi BTP yang menjadi fokus studi. Hasil dari perkiraan tingkat konsumsi BTP kemudian dibandingkan dengan nilai ADI BTP yang menjadi fokus kajian. Perbandingan dengan nilai ADI dari BTP yang dievaluasi bertujuan untuk mengkarakterisasi dan mengetahui tingkat risiko dari BTP tersebut. Asupan atau paparan BTP (mg/kg bb/hari) dapat dihitung dengan mengalikan kadar BTP yang terdapat dalam produk pangan dan jumlah konsumsi pangan tersebut dibagi dengan berat badan individu. Dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Paparan} = \frac{\text{konsentrasi senyawa BTP dalam pangan} \times \text{jumlah pangan}}{\text{berat badan}} \dots\dots\dots(1)$$

Jumlah pangan yang dikonsumsi diperoleh melalui survei konsumsi pangan. Survei konsumsi pangan menghasilkan data konsumsi pangan. Beberapa metode untuk mendapatkan data konsumsi pangan ada studi paparan antara lain : (1) kuesioner frekuensi pangan (*food frequency questionnaire*), (2)

metode *food recall* 24 jam yang lalu, (3) survei dengan *food diary* atau *food records*, (4) metode penimbangan (*food weighing methods*), (5) survei dengan *diet history*, (6) survei dengan kuesioner kebiasaan pangan, (7) menggunakan metode kombinasi (Fitriana, 2013 : 26).

Dalam kajian paparan sangat penting untuk menentukan keakuratan konsentrasi bahan kimia dalam bahan pangan sehingga teknik sampling dan prosedur analisis merupakan tahap yang kritis untuk mendapatkan keakuratan data yang diperoleh. Selain melalui analisis bahan kimia, data konsentrasi secara coba-coba (Estimasi), data pengawasan pemerintahan atau data surveilan dan data survei industri (Sarifudin, 2004 : 34).

1.6.4 Perhitungan Estimasi Paparan

Studi paparan perlu dilakukan terhadap semua bahan kimia yang ada dalam pangan. Studi paparan bertujuan untuk mengidentifikasi bahan kimia yang menjadi perhatian pengawasan dengan menggunakan sumber daya seminimal mungkin. Oleh karena itu studi paparan menggunakan pendekatan yang bertahap.

Tahap pendahuluan dapat dilakukan dengan metode penyaringan konservatif. Jika tidak terdapat bahaya yang teridentifikasi, maka tidak diperlukan studi paparan lebih lanjut. Tetapi jika terdapat bahaya yang teridentifikasi, maka diperlukan metode lebih lanjut dengan meningkatkan data konsumsi pangan dan data kadar bahan kimia dalam pangan. Jika estimasi paparan menunjukkan bahwa suatu zat kimia melebihi nilai standar toksikologi (misalnya ADI) atau dibawah nilai standar zat gizi, asupan harian yang

direkomendasikan, maka perlu dilakukan metode studi paparan yang lebih akurat. Pendekatan seperti ini digunakan oleh JECFA (*Joint Expert Committee on Food Additive*) dalam mengkaji paparan BTP dan kontaminan (Badan POM, 2010). Dua jenis pendekatan yang digunakan untuk perhitungan paparan yaitu pendekatan deterministik atau *point estimate* dan pendekatan probabilistik. Perhitungan dengan pendekatan deterministik adalah perhitungan sederhana dengan mengalikan satu nilai (biasanya nilai rata-rata) pada data konsumsi pangan dengan satu nilai pada data konsentrasi sesuai rumus berikut :

$$\text{Estimasi paparan} = \Sigma (\text{nilai konsumsi pangan} \times \text{nilai konsentrasi}) \dots \dots (2)$$

Pendekatan ini merupakan cara yang cukup konvensional. Nilai estimasi paparannya dapat dikoreksi dengan menggunakan nilai rata-rata berat badan dan faktor pengolahan. Sedangkan perhitungan dengan pendekatan probabilistik satu parameter diwakili dengan satu distribusi. Pendekatan probabilistik dapat menjadi pilihan tepat dalam menghitung estimasi paparan untuk memperoleh hasil yang akurat. Hasil estimasi paparan yang diperoleh berupa sebuah distribusi. Distribusi data konsumsi pangan dikoreksi dengan menggunakan data berat badan tiap individu. Perhitungan dengan pendekatan probabilistik menggunakan rumus :

$$\text{Estimasi paparan} = \Sigma (\text{distribusi data konsumsi} \times \text{nilai untuk konsentrasi pangan} \dots \dots \dots (3)$$

1.6.5 Karakteristik Risiko (*Risk Characterization*)

Karakterisasi risiko merupakan keluaran akhir dari penilaian risiko. Hasil dari karakterisasi risiko adalah suatu perkiraan kemungkinan terjadinya efek merugikan terhadap kesehatan sebagai konsekuensi dari paparan.

karakterisasi risiko merupakan perkiraan bahaya yang dapat berdampak buruk terhadap kesehatan yang terjadi pada suatu populasi, baik secara kualitatif maupun kuantitatif berdasarkan kegiatan identifikasi bahaya, karakterisasi bahaya dan studi paparan yang sudah dilakukan. Dalam karakterisasi risiko, hasil studi paparan dan karakterisasi bahaya dijadikan rekomendasi atau informasi berbasis ilmiah untuk manajer risiko atau para pengambil keputusan atau kebijakan pada kegiatan manajemen risiko, sebagai dasar untuk penentuan strategi dalam mencegah atau mengurangi risiko (Fitriana, 2013 : 29).

1.6.6 Penilaian Konsumsi (*Dietary Assessment*)

Dalam studi paparan, tahap pendahuluan yang harus dilakukan yaitu penilaian konsumsi yang akan menghasilkan data konsumsi pangan pada suatu populasi yang menjadi fokus studi paparan. Ada beberapa metode penilaian konsumsi yang bisa dilakukan di antaranya yaitu : (1) Catatan konsumsi 24 jam yang lalu (*food recall 24 hours*), (2) Pencatatan konsumsi 24 jam (*food records 24 hours*), (3) Frekuensi konsumsi (*food frequency questionnaire*), dan (4) Metode kombinasi.

1.6.7 Penetapan Kadar Aspartam Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi merupakan teknik yang mana solut atau zat-zat terlarut terpisah oleh perbedaan kecepatan elusi, dikarenakan solut-solut ini melewati suatu kolom kromatografi. Pemisahan solut-solut ini diatur oleh distribusi solut dalam fase gerak dan fase diam (Gandjar, 2012 : 388).

Kromatografi cair kinerja tinggi atau KCKT atau biasa juga disebut dengan HPLC (*High performance liquid chromatography*), KCKT merupakan

teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada sejumlah bidang (Gandjar, 2012 : 378).

Kegunaan umum KCKT adalah untuk: pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis, analisis ketidak murnian (*impurities*), analisis senyawa-senyawa tidak mudah menguap (*non-volatile*), penentuan molekul-molekul netral, ionik, maupun *zwitter ion*, isolasi dan pemurnian senyawa, pemisahan senyawa-senyawa yang strukturnya hampir sama, pemisahan senyawa-senyawa dalam jumlah sekelumit (*trace elements*), dalam jumlah banyak, dan dalam skala proses industri (Gandjar, 2012 : 378).

Aplikasi KCKT dalam penetapan kadar BTP dalam sampel pangan telah banyak dilakukan terutama untuk pemeriksaan rutin. Beberapa kelebihan KCKT dibandingkan dengan metode kromatografi cair lainnya yaitu : (1) cepat, waktu analisis lazim kurang dari 1 jam, dan banyak analisis yang dilakukan dalam 15-30 menit, (2) daya pisah baik, (3) peka, detektor UV dapat mendeteksi berbagai senyawa sampai umlah nanogram (10^{-9} gram), (4) kolom dapat dipakai kembali, (5) ideal untuk molekul besar dan ion, (6) mudah memperoleh kembali kembali analit, (7) pelarut mudah dihilangkan dengan penguapan (Fitriana, 2013: 35).

Analisis sampel dalam studi paparan BTP dilakukan dengan menggunakan metode analisis serta dengan peralatan yang sangat sensitif. Analisis BTP dalam sampel ini bertujuan untuk mendapatkan data konsentrasi BTP yang akurat. Aplikasi KCKT dalam penetapan kadar BPT dalam sampel pangan telah banyak dilakukan terutama untuk pemerikasan secara rutin.

Menurut penelitian Fitriana (2013) yang berjudul *Studi paparan (Exposure Assessment) Natrium Benzoat dan Aspartam Pada Siswa SMA Kemah Indonesia 2 dan SMK Bina Insan Mulia Bandung Menggunakan Metode Food Records 24 Hours dan Food Frequency Questionnaire*. Analisis kandungan aspartam dalam sampel minuman ringan dilakukan menggunakan KCKT dengan detektor UV. Metode yang digunakan oleh BPOM. Fase gerak yang digunakan adalah campuran dapar natrium dihidrogenfosfat pH 2,6 dan asetonitril pro KCKT (82,5:17,5) dengan laju alir 1,2 mL/menit. Kolom yang digunakan adalah C-18. Temperatur kolom tidak diatur namun suhu ruang diatur dengan pendingin ruangan pada 21°C. Panjang gelombang deteksi diatur pada 210 nm.

Berdasarkan studi pustaka beberapa penelitian yang sudah dilakukan tentang penentuan kadar Aspartam dalam minuman ringan dengan menggunakan metode Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT), diantaranya yaitu :

1. Penelitian yang dilakukan oleh Hayun *dkk* (2004), tentang *Penetapan Kadar Sakarin, Asam Benzoat, Asam Sorbat, Kofeina, dan Aspartam Di Dalam Beberapa Minuman Ringan Bersoda Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*, dengan menggunakan metode KCKT yang terdiri dari pompa KCKT model LC-6A, detektor UV 254 nm model SPD-6AV, rekorder dan integrator model C-R4A Chromatopac (Shimadzu), kolom C-18, spektrofotometer UV-VIS 1601 (Shimadzu), fase gerak asetonitril dan dapar asetat. a) 19:81, pH dapar 4 dan 4,5 ; b) 10:90, pH dapar

4 ; 4,5 dan 5; c) 5:95, pH dapar 4 ; 4,5 ; dan 5. Sampel yang di pilih pada penelitian yaitu minuman ringan berkarbonasi.

2. Penelitian Aulya Rahmah *dkk* (2012), tentang *Analisis Kadar Siklamat dan Aspartam pada Minuman Ringan Menggunakan HPLC dengan Fasa Gerak Metanol-Buffer Phospat*, dengan menggunakan metode HPLC detektor UV-Vis, fasa gerak metanol : buffer phospat (20 : 80) dan fasa diamnya menggunakan kolom ODS C-18. pH buffer phospat yang digunakan adalah 6,2 pada panjang gelombang 263 nm. Sampel yang dipilih pada penelitian yaitu minuman ringan.
3. Penelitian Novita dan Felicia novita (2014), yang berjudul *Penetapan Kadar Aspartam Pada Minuman Serbuk Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Metode yang digunakan KCKT dengan kolom Oktadesilsilan pada partikel 5 μm ; 15x4,60 mm. Fase gerak yaitu larutan dapar Natrium Dihidrogen Fosfat $2\text{H}_2\text{O}$ 10 mM (pH 2,6) – Asetonitril (82,5 : 17,5) dengan panjang gelombang 210 nm dengan detektor UV-Vis.
4. Penelitian, Zache Ulrich, Griinding Hubert (1987), yang berjudul *penentuan acesulfame-K, aspartam, siklamat, sakarin yang terkandung pada buah*. Metode yang digunakan HPLC/KCKT, detektor UV 254 nm, kolom RP-18, fase gerak asetonitril-air-asam posfat.

5. Penelitian Grobe Stephanie, *dkk*, (1985). *penentuan aspartam dan diketopiperazin produk siklisasi dalam produk makanan penutup (dengan HPLC. Metode yang digunakan HPLC/KCKT, Kolom C-18, detektor UV 214 nm, fase gerak asetonitril- dapar fosfat*

1.7 Validasi Metode

Validasi metode menurut *United States Pharmacopeia* (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurasi, spesifik, reproduibel, dan tahanan pada kisaran analit yang akan dianalisis (Gandjar, 2012 : 463).

Validasi metode analisis bertujuan untuk mengetahui dan mengkonfirmasi bahwa metode analisis memenuhi spesifikasi sesuai dengan tujuan yang diharapkan. Validasi metode analisis penting dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis yang digunakan sudah valid dan apabila ada kesalahan masih dalam batas yang diizinkan (Gandjar, 2012 : 472).

1.7.1 Linieritas

Linearitas merupakan metode analisis didasarkan pada proses-proses yang metodenya menghasilkan suatu respons yang linear dan yang meningkat atau menurun secara linear sebanding dengan konsentrasi analit. Persamaan suatu garis lurus menghasilkan : $y = a + bx$.

Dengan a adalah perpotongan garis lurus dengan sumbu y dan b adalah kemiringan garis tersebut. Dengan menggunakan contoh sederhana, kurva kalibrasi tiga titik terbentuk melewati pembacaan absorbans terhadap konsentrasi prokain (Waston, 2009 : 17).

Penentuan linearitas dapat diukur dengan melakukan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan (*slope*), intersep dan koefisien korelasinya (Gandjar, 2007 : 469).

1.7.2 Presisi

Presisi suatu prosedur analisis yang menyatakan kedekatan kesesuaian (derajat) diantara serangkaian pengukuran yang diperoleh dari pengambilan sampel berulang pada sampel homogen yang sama dibawah kondisi-kondisi yang ditentukan. Presisi biasanya dinyatakan sebagai simpangan baku atau koefisien variasi serangkaian pengukuran (Waston, 2009 : 9).

Presisi biasanya diangkat dengan RSD (*relative standard deviation*) yaitu ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relative dari sejumlah sampel. Presisi harus dilakukan pada tiga tingkatan yang berbeda yaitu keterulangan (*repeatability*), presisi antara (*intermediate precision*) dan ketertiruan (*reproducibility*) (Gandjar, 2004 : 117).

1.7.3 Akurasi

Akurasi ditentukan dalam penetapan kadar suatu bahan obat yang tidak diformulasi relatif dilakukan secara langsung. Metode paling sederhana untuk membandingkan zat yang sedang dianalisis dengan baku pembanding yang dianalisis dengan menggunakan prosedur yang sama (Waston, 2009 : 10).

Akurasi yang merupakan kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensi atau nilai sebenarnya. Akurasi atau kecermatan merupakan ketelitian metode analisis yang diukur sebagai

banyaknya analit yang diperoleh kembali pada suatu pengukuran dengan melakukan *spiking* pada suatu sampel (Gandjar, 2007 : 465).

Terdapat tiga cara untuk menentukan akurasi : (Gandjar dan Rohman, 2007 : 476).

1. Membandingkan hasil analisis dengan CRM (*certified reference material*)
2. *Recovery* dengan memasukan analit kedalam matriks blanko (*spiked placebo*) dan
3. Penambahan baku pada matriks yang mengandung sampel (*addition method*)

1.7.4 Batas Deteksi (*Limit Of Detection, LOD*)

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah pada sampel yang dapat terdeteksi, walaupun belum tentu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji yang secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau analit dibawah nilai tertentu. Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam kimia analisis adalah bahwa batas deteksi merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko (y_b) ditambah dengan 3 simpangan blanko ($3S_b$) (Gandjar, 2007 : 468).

LOD seringkali diekspresikan sebagai suatu konsentrasi pada resiko terhadap derau (*signal to noise ration*) yang biasa rasionya 2 atau 3 dibanding 1. LOD juga dapat dihitung berdasarkan pada standar deviasi (SD) respon kemiringan (*slope*, S) kurva baku pada level yang mendekati LOD sesuai dengan rumus, $LOD = 3,3 (SD/S)$. Standar deviasi respon dapat ditentukan

berdasarkan pada standar deviasi blanko pada standar deviasi residual dari garis regresi, atau standar deviasi intersep y pada garis regresi (Gandjar, 2007 : 468).

Batas deteksi dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali kemudian dihitung simpangan baku. Berikut adalah formula yang digunakan untuk perhitungan :

$$Q = \frac{kxsb}{sl} \dots\dots\dots (4)$$

Keterangan :

Q = LOD (batas deteksi)

K = 3 untuk batas deteksi atau 10 untuk batas kuantitas

Sb = Simpangan baku respon analitik dari blanko

Sl = Arah garis linier (kepekaan arah) (dari kurva antara respon terhadap konsentrasi) (b pada persamaan garis $y = bx+a$).

1.7.5 Batas Kuantifikasi (*Limit Of Quantification, LOQ*)

Batas kuantifikasi adalah sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Sebagaimana LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi (dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan) (Gandjar, 2007 : 468).

Metode perhitungan didasarkan pada standar deviasi respon (SD) dan *slope* (S) kurva baku sesuai dengan rumus $LOQ = 10 (SD/S)$. Standar deviasi respon dapat ditentukan berdasarkan pada standar deviasi blanko pada standar deviasi residual dari garis regresi linier atau dengan standar deviasi intersep y pada garis regresi (Gandjar, 2007 : 468).