

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pangan**

Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati yang dimaksudkan untuk dikonsumsi oleh manusia sebagai makanan atau minuman, termasuk produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan, dan udara, baik yang diolah maupun tidak diolah. Ini termasuk bahan tambahan, bahan baku, dan bahan lainnya yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, atau pembuatan makanan atau minuman dalam Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2012 tentang Pangan yang menyebutkan hal ini dalam ayat pertama Pasal 1 yang salah satu kebutuhan pokok manusia yang sangat penting adalah makanan dan minuman untuk keberlangsungan hidup manusia. Pangan harus memenuhi standar kelayakan, keamanan, kebersihan, mutu, dan gizi.

Hal itu diatur dalam Peraturan Pemerintah Nomor 86 Tahun 2019 tentang Keamanan Pangan. Pengertian keamanan pangan tercantum dalam Pasal 1 angka 2 peraturan tersebut, yaitu, “Keamanan Pangan adalah keadaan dan upaya yang diperlukan untuk menjaga pangan dari pencemaran biologi, kimia, atau bahan lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia tanpa bertentangan dengan budaya, agama, atau keyakinan masyarakat“ (PP, 2019). Peraturan Kepala BPOM No. 21 Tahun 2016 mendefinisikan minuman (kecuali susu) sebagai kategori makanan 14.0, yang mencakup minuman ringan dan minuman beralkohol (termasuk minuman sejenis non alkohol atau rendah alkohol (BPOM, 2016).

Minuman jajanan merupakan minuman olahan siap konsumsi berbentuk cair atau serbuk yang didalamnya tidak ada kandungan alkohol dan dalam proses pembuatannya tidak lepas dari penggunaan bahan tambahan pangan yang dimana sering kali para produsen menggunakan bahan pengganti agar menekan biaya produksi (Andi *et al.*, 2023).

### 2.1.1 Sirup

Sirup adalah larutan campuran air dan gula yang di formulasikan dengan bahan tambahan pangan dengan tujuan meningkatkan nilai organoleptik, menghentikan pertumbuhan mikroba, dan konsentrasi gula yang digunakan merupakan komponen penting yang mempengaruhi kualitas sirup karena gula dapat bertindak sebagai pengawet dan pemanis, yang dapat memperpanjang umur simpan. Gula membantu memperbaiki cita rasa dan aroma dengan mengimbangi rasa asam dan manis. Dibuat dengan kadar air dan gula tidak kurang dari 55-65%, dan dengan atau tanpa bahan tambahan pangan lain yang diizinkan oleh Badan pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (Suprianto *et al.*, 2023).

Sirup merupakan larutan kental dengan gula terlarut dan tidak kecenderungan pengendapan kristal gula, mudah disajikan dengan menambahkan air matang atau es kemudian diaduk. Pengenceran ini disebabkan oleh kadar gula sirup yang sangat tinggi, yang berkisar antara 55 - 65 %. (Depkes RI, 2010) menyebutkan bahwa sirup mengandung energi sebesar 213 kilo kalori dan karbohidrat 55 gram (Nasir *et al.*, 2021). Meskipun sirup manis, sering ada bahan tambahan yang dapat berbahaya bagi pengguna. Produsen menggunakan zat aditif untuk membuat makanan atau minuman semenarik mungkin dari sudut pandang warna, rasa, aroma, dan tekstur (Marpaung dan Kartina, 2022).

Menurut Kusumawati dan Suyanto (2023), berdasarkan bahan bakunya sirup dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu sebagai berikut :

1. Sirup *essence*, yaitu sirup yang cita rasanya ditentukan oleh *essence* yang ditambahkan dan tanpa penambahan sari buah sama sekali.
2. Sirup glukosa, yaitu sirup yang mempunyai rasa manis saja, biasanya digunakan sebagai bahan baku industri minuman, sari buah, dan sebagainya
3. Sirup buah, yaitu sirup yang aroma dan rasanya ditentukan oleh bahan dasarnya, yakni sari buah segar yang digunakan.

Pada umumnya sirup memiliki rasa manis dan sedikit masam dengan flavor buah-buahan yang memberikan rasa segar pada saat diminum. Saat akan dikonsumsi, sirup harus dencerkan terlebih dahulu karena kandungan gulanya yang cukup tinggi dan sifatnya yang viskos. Sirup yang baik memiliki sifat viskos dan tidak mengalami kristalisasi selama penyimpanan.

### 1. Sirup Mawar

Sirup mawar merupakan produk jenis sirup *essence* yang dimana cita rasanya ditentukan oleh *essence* sintetis yang digunakan (Gambar 2.1). Sirup mawar merupakan sirup yang berasal dari *essence*, gula, pewarna, pengawet dan air. Sirup mawar disuplementasikan dengan flavor, zat warna, asam, serta distabilkan dengan pengawet. Penggunaan pewarna sintetis selalu dalam kekhawatiran bahwa setiap saat bahan ini bisa dinyatakan tidak layak untuk dipakai sebagai bahan tambahan makanan (Kusumawati dan Suyanto, 2023)



Gambar 2.1. Sirup Mawar Botolan

## 2.2 Bahan Tambahan Pangan (BTP)

### 2.2.1 Pengertian BTP

Bahan tambahan makanan, juga dikenal sebagai bahan tambahan pangan merupakan bahan yang dimasukkan ke dalam makanan atau minuman untuk mengubah sifat atau bentuknya baik sengaja atau tidak yang memiliki atau tidak memiliki nilai gizi dan dimasukkan ke dalam produk makanan atau minuman dengan tujuan untuk mengubah sifat atau bentuk

produk pangan, hal tersebut tercantum dalam Permenkes RI No.33 tahun 2012 tentang bahan tambahan pangan pada bab 1 pasal 2 (Permenkes, 2012).

Menurut Permenkes No.33 Tahun 2012, bahan tambahan makanan didefinisikan sebagai bahan yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk tujuan teknologi dalam proses pembuatan, pengolahan, penyiapan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan, atau pengangkutan makanan untuk menghasilkan suatu kualitas makanan tertentu. Bahan tambahan makanan biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan biasanya bukan merupakan komponen khas makanan. Bahan tambahan makanan membuat makanan tampak lebih berkualitas, menarik, dan memiliki rasa dan tekstur yang sempurna. Meskipun zat-zat itu hanya ditambahkan dalam jumlah kecil, baik pelanggan maupun produsen puas dengan hasilnya. Seringkali kita tidak menyadari bahwa makanan yang kita makan setiap hari mengandung pewarna, penyedap rasa, dan campuran lainnya (PERMENKES, 2012).

BTP yang digunakan dalam pangan harus memenuhi persyaratan sebagai berikut:

- a. BTP tidak perlu dikonsumsi secara langsung dan/atau tidak dianggap sebagai bahan pangan
- b. BTP dapat atau tidak memiliki nilai gizi, sengaja ditambahkan pada pangan untuk tujuan teknis dan dalam produksi, pengolahan, penanganan, pengemasan, pengemasan, penyimpanan dan/atau pengangkutan pangan untuk tujuan teknis dan satu atau lebih pangan yang diproduksi atau diharapkan bisa diproduksi. Secara langsung atau tidak langsung mempengaruhi sifat makanan
- c. BTP tidak mengandung kontaminan atau bahan yang ditambahkan ke makanan untuk mempertahankan atau meningkatkan nilai gizi (Permenkes, 2012)

### 2.2.2 Jenis-jenis BTP

Beberapa BTP yang digunakan dalam pangan menurut Permenkes RI No. 033 tahun 2012 terdiri atas beberapa golongan yaitu meliputi :

- a. Antibuih (*Antifoaming agent*)
- b. Antikempal (*Anticaking agent*)
- c. Antioksidan (*Antioxidant*)
- d. Bahan pengkarbonasi (*Carbonating agent*)
- e. Garam pengemulsi (*Emulsifying salt*)
- f. Gas untuk kemasan (*Packaging gas*)
- g. Humektan (*Humectant*)
- h. Pelapis (*Glazing agent*)
- i. Pemanis (*Sweetener*)
- j. Pembawa (*Carrier*)
- k. Pembentuk gel (*Gelling agent*)
- l. Pembuih (*Foaming agent*)
- m. Pengatur keasaman (*Acidity regulator*)
- n. Pengawet (*Preservative*)
- o. Pengembang (*Raising agent*)
- p. Pengemulsi (*Emulsifier*)
- q. Pengental (*Thickener*)
- r. Pengeras (*Fiming agent*)
- s. Penguat rasa (*Flavour enhancer*)
- t. Peningkat volume (*Bulking agent*)
- u. Penstabil (*Stabilizer*)
- v. Peretensi warna (*Colour retention agent*)
- w. Perasa (*Flavouring*)
- x. Perlakuan tepung (*Flour treatment agent*)
- y. Pewarna (*Colour*)
- z. Propelan (*Propellant*)
- aa. Sekuestran (*Sequestrant*)

Beberapa bahan tambahan yang dilarang digunakan dalam makanan, menurut Permenkes RI No. 033 tahun 2012 Tentang Bahan Tambahan Pangan diantaranya sebagai berikut :

- a. Asam borat dan senyawanya (*Boric acid*)
- b. Asam salisilat dan garamnya (*Salicylic acid and its salt*)
- c. Biji tonka (*Tonka bean*)
- d. Dietilpirokarbonat (*Diethylpyrocarbonate, DEPC*)
- e. Dihidrosafrol (*Dihydrosafrole*)
- f. Dulsin (*Dulcin*)
- g. Dulkamara (*Dulcamara*)
- h. Formalin (*Formaldehyde*)
- i. Kalium bromat (*Potassium bromate*)
- j. Kalium klorat (*Potassium chlorate*)
- k. Kloramfenikol (*Chloramphenicol*)
- l. Kokain (*Cocaine*)
- m. Minyak nabati yang dibrominasi (*Brominated vegetable oils*)
- n. Minyak kalamus (*Calamus oil*)
- o. Minyak tansi (*Tansy oil*)
- p. Minyak sassafras (*Sassafras oil*)
- q. Nitrofurazon (*Nitrofurazone*)
- r. Nitrobenzen (*Nitrobenzene*)
- s. Sinamil antranilat (*Cinnamyl anthranilate*)

### **2.2.3 Tujuan Penambahan BTP**

Bahan tambahan pangan biasanya terbagi menjadi dua kelompok besar yang dapat digunakan dengan tujuan untuk meningkatkan atau mempertahankan nilai gizi dan kualitas daya simpan bahan pangan, membuat bahan pangan lebih mudah dihidangkan, dan mempermudah proses pembuatan bahan pangan. Dalam buku *Food Additives* dijelaskan tujuan umum penggunaan bahan tambahan makanan, termasuk meningkatkan mutu makanan, meningkatkan nilai gizinya, memenuhi persyaratan mencukupi fungsi pangan, melengkapi pengolahan

makanan, dan meningkatkan kepercayaan konsumen. Penggunaan bahan tambahan pangan juga bertujuan untuk membuat makanan lebih baik, lebih menarik, dan rasa serta teksturnya lebih sempurna. Bahan tambahan pangan berfungsi sebagai pengemulsi (*emulsifier*) dan pengawet, pewarna, perasa, dan aroma pada berbagai jenis makanan dan minuman (Branen, 2002)

## 2.3 Pemanis

Pemanis adalah bahan kimia atau bahan tambahan yang digunakan untuk membuat makanan atau minuman lebih manis. Pemanis tidak hanya menambah cita rasa, aroma, sifat fisik, pengawet, dan sifat kimia, tetapi juga membuat tubuh lebih banyak kalori. Ada beberapa senyawa organik seperti alkohol, glikol, gula, dan turunan gula. Pemanis diklasifikasikan menjadi pemanis alami dan pemanis buatan yang dibuat secara komersial untuk makanan dan minuman bagi penderita diabetes (kencing manis) dan orang yang membutuhkan makanan berkalori rendah, pemanis buatan dibuat. Namun sebenarnya, penggunaan natrium siklamat semakin populer pada banyak produk karena harganya turun, menimbulkan rasa manis tanpa rasa ikutan dan memiliki tingkat kemanisan 30 kali gula (Handayani dan Agustina, 2015).

### 2.3.1 Jenis-jenis Pemanis

Pemanis (gula) terbagi menjadi 2 berdasarkan proses pembuatannya, yaitu gula alami dan gula sintetis (buatan).

#### 1. Gula alami/ pemanis alami

Sebagian besar pemanis alami berasal dari tanaman. Tebu (*Saccharum officinarum L*) dan buah bit (*Beta vulgaris L*) merupakan tanaman penghasil pemanis. Kedua jenis tanaman ini biasanya disebut gula alam atau sukrosa. Selain sukrosa, ada pemanis alami lain yang sering digunakan, seperti maltose, galaktosa, D-glukosa, D-fruktosa, sorbitol, manitol, gliserol, dan glisina. Gula alami ini hanya mengandung 394 kkal kalori per 100 gram, tetapi tidak mengandung vitamin, serat kasar, atau mineral (Cahyadi, 2008).

## **2. Gula sintetis/pemanis buatan**

Gula sintetis adalah bahan tambahan yang memiliki nilai gizi rendah tetapi memberikan rasa manis pada makanan. Gula sintetis dibuat dengan bahan kimia di laboratorium atau di industri untuk memenuhi kebutuhan gula alami, terutama gula tebu. Misalnya seperti natrium siklambat, aspartam, dulsim, sorbitol sintetis, nitropropoksi-anilin, dan sakarin (Cahyadi, 2008). Pemerintah mengizinkan penggunaan sakarin dan natrium siklambat sebagai pemanis buatan, tetapi beberapa orang tidak tahu batas aman penggunaannya. Mengonsumsi sakarin dan natrium siklambat dalam jumlah yang berlebihan setiap hari dapat menyebabkan berbagai efek negatif.

### **2.3.2 Batas Penggunaan Pemanis Buatan**

Peraturan Kepala BPOM RI No 4 Tahun 2014 menyatakan bahwa pemanis adalah bahan tambahan pangan yang memberikan rasa manis pada makanan, baik pemanis alami maupun pemanis buatan. Pemanis sering ditambahkan ke makanan untuk meningkatkan rasa atau menghilangkan rasa pahit. Pemanis buatan adalah pemanis yang dilakukan secara kimia dan tidak terjadi secara alami. Mereka memiliki kemampuan untuk meningkatkan rasa manis atau meningkatkan penerimaan rasa manis, sehingga menghalangi makanan dari rasa pahit (BPOM, 2014).

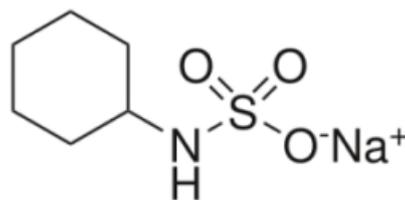
Dengan jumlah kadar 3,94 kkal per gram, natrium siklambat adalah salah satu jenis pemanis buatan dengan tingkat kemanisan kurang lebih 30x dari sukrosa. Natrium siklambat tersedia sebagai garam natrium asam natrium siklambat. Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 11 Tahun 2019 menetapkan batas penggunaan pemanis buatan natrium siklambat sebesar 500 mg/kg. Oleh karena itu, penggunaan natrium siklambat sebagai pemanis buatan tidak boleh melebihi batas aman yang diizinkan oleh Peraturan (Permenkes, 2019)

## 2.4 Natrium siklamat

Natrium siklamat pertama kali ditemukan pada tahun 1937 dan populer di Amerika Serikat sebagai pemanis rendah kalori pada tahun 1950-an dan 60-an. Natrium siklamat digunakan sebagai *Non-nutritive sweeteners* (NNS), dan saat di gunakan sesuai aturan, maka akan membantu proses diet. Natrium siklamat merupakan nama grup yang meliputi senyawa kimia *cyclamic acid*, *sodium cyclamate*, dan *calcium cyclamate*, dengan rumus molekul  $C_6H_{12}NNaO_3S$  (Branen *et al.*, 1990). Natrium siklamat merupakan bahan kimia sintetis yang dibuat dari *cyclohexylamine* melalui proses sulfonasi dari *chlorosulfonic acid* dan *sulfamic acid*, yang diikuti dengan netralisasi dengan hidroksida. Natrium siklamat disebut juga dengan “biang gula” (Caballero *et al.*, 2002).

### 2.4.1 Tinjauan Kimia Natrium siklamat

Menurut Farmakope Indonesia Edisi III, natrium siklamat mengandung tidak kurang dari 98,0% dan tidak lebih dari 101,0%  $C_6H_{12}NNaO_3S$ , dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Rumus kimia natrium siklamat adalah  $C_6H_{12}NNaO_3S$  yang ditunjukkan pada (Gambar 2.2) dan memiliki sifat fisik serbuk hablur, putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau. Natrium siklamat larut dalam udara, dalam etanol (95% P), dan dalam propilenglikol. Tidak larut baik dalam kloroform maupun eter, sehingga dapat digunakan sebagai zat tambahan. Sebagai pemanis buatan, natrium siklamat ( $C_6H_{13}NO_3S$ ) adalah garam kalsium, kalium, dan natrium siklamat. Secara umum, garam natrium siklamat adalah kristal putih yang berasa manis, tidak berbau, tidak berwarna, dan mudah larut dalam air dan etanol. Natrium siklamat menimbulkan rasa manis tanpa rasa pahit saat digunakan, berbeda dengan sakarin, yang menimbulkan rasa pahit saat digunakan (FI III, 1979).



Gambar 2.2. Struktur kimia natrium siklamat (Rohman, 2017)

Sifat fisikokimia beberapa senyawa natrium siklamat termasuk asam natrium siklamat, yang mudah larut dalam air (1 g/7,5 mL), dan sangat asam dengan pH 10% larutan cair antara 0,8 dan 1,6. Sodium dan kalsium natrium siklamat juga merupakan elektrolit yang kuat, yang terionisasi dengan kuat dalam larutan encer, dan memiliki sedikit kapasitas bufer. Garam natrium siklamat dalam bentuk kristal mudah larut dalam air (1 g/4–5 mL) pada konsentrasi jauh melebihi normal, dan tidak larut dalam minyak dan pelar (Lidyawati *et al.*, 2020).

#### **2.4.2 Regulasi Natrium siklamat**

Natrium siklamat atau *Cyclohexylsulfamic Acid* ( $C_6H_{12}NNaO_3S$ ) merupakan salah satu pemanis buatan yang digunakan dalam bentuk kristal putih, tidak berbau, tidak berwarna dan tahan terhadap panas, memiliki tingkat kemanisan 30 kali dari sukrosa dengan jumlah kemanisan yaitu 3,94 kkal/g dan batas maksimum penggunaan menurut *Codex Alimentarius Commission* (CAC) adalah 500-3000 mg/kg bb ( 0,5 – 3 g/kg bb ) (Melinda *et al.*, 2022). Berdasarkan persyaratan yang disebutkan, Peraturan Kepala Badan POM No. 11 tahun 2019 dapat disimpulkan bahwa ambang batas natrium siklamat sebagai bahan tambahan pangan pemanis buatan untuk produk pangan harus mencapai 500 mg/kg berat badan (Kabuhung, 2015).

#### **2.4.3 Dampak Negatif Natrium siklamat**

Penggunaan natrium siklamat sebagai bahan tambahan pangan tidak boleh melebihi batas maksimum yang telah ditetapkan. Dampak kesehatan yang ditimbulkan oleh natrium siklamat yaitu dampak akut dan kronis.

##### **1. Dampak akut**

Pertumbuhan kanker kandung kemih, alergi, hipertensi, impotensi, iritasi, kehilangan daya ingat, sakit kepala, diare, dan kanker otak

## **2. Dampak kronis**

Menurut Rosdayani (2018), ada beberapa dampak kronis yang ditimbulkan oleh natrium siklamat, yaitu :

### **a. Efek testikular**

Sejumlah studi toksikologi telah menunjukkan bahwa testis tikus merupakan organ yang paling sensitif terhadap sikloheksilamine. Senyawa sikloheksilamine dalam tubuh menyebabkan atropi (penghentian pertumbuhan) testikular.

### **b. Efek kardiovaskular**

Natrium siklamat yang dikonsumsi akan bermetabolisme menjadi sikloheksilamin dalam urin. Sebagian senyawa sikloheksilamine akan mengendap didalam plasma darah dan meningkatkan tekanan darah.

### **c. Kerusakan hati dan ginjal**

Paparan natrium siklamat secara berulang-ulang dengan dosis tinggi dapat menyebabkan kerusakan hati dan ginjal.

### **d. Kerusakan organ**

Berdasarkan hasil uji laboratorium pada hewan uji, pemberian Natrium siklamat dalam dosis tinggi akan menyebabkan tumor kandungan kemih, paru, limfa, dan menyebabkan kerusakan genetik

## **2.5 Analisis Senyawa**

### **2.5.1 Analisis Kualitatif Natrium siklamat**

Analisis kualitatif adalah jenis analisis kimia yang digunakan untuk menemukan spesies, unsur, atau senyawa dalam sampel. Salah satu contoh analisis kualitatif adalah melihat analit dalam sampel dengan beberapa pengujian (Cantika, 2016) :

#### **1. Uji Organoleptis**

Uji organoleptik, juga disebut sebagai penginderaan, melibatkan penggunaan panca indera untuk mengidentifikasi karakteristik fisik sampel, seperti warna, bentuk, rasa, dan bau (Cantika, 2016).

## 2. Uji Reaksi Pengendapan

Uji reaksi pengendapan untuk mengetahui kadar natrium siklamat adalah dengan memasukkan 50 mL sampel ke dalam erlenmeyer, kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatmann 42, lalu ditambahkan 10 mL larutan HCl 10% dan 10 mL larutan BaCl<sub>2</sub> 10%. Setelah itu, diamkan selama 30 menit. Kemudian yang telah dipanaskan di atas piring panas dan ditunggu selama 20 hingga 30 menit. Adanya natrium siklamat disebabkan oleh pengendapan putih yang terbentuk dari reaksi antara BaCl<sub>2</sub> dan NaNO<sub>2</sub> (yang berasal dari reaksi antara natrium siklamat dan NaNO<sub>2</sub> dalam suasana asam kuat) (SNI 01.2893.1992).

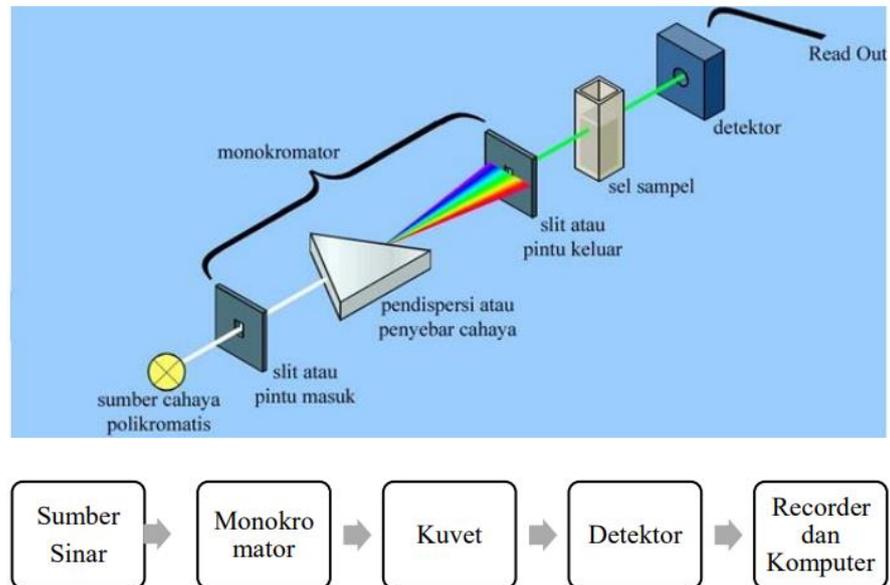
## 3. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Metode kromatografi yang didasarkan pada prinsip adsorpsi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) atau nilai RF, yang merupakan perbandingan antara hasil jarak ketahanan senyawa dan pelarut. KLT memiliki banyak keuntungan, seperti hanya memerlukan sedikit sampel, peralatan yang diperlukan mudah diakses, proses cepat, dan pengukuran penentuan pengukuran akan ditingkatkan karena komponen yang ditentukan di tempat yang tetap. Prinsip dasar KLT adalah pergerakan analit yang disebabkan oleh aksi fase gerak yang berdifusi ke analit. "Elusi" adalah istilah yang sering digunakan untuk Merujuk pada proses ini. Dengan ukuran partikel rata-rata yang lebih kecil dan kisaran fase diam yang lebih pendek, KLT lebih efisien dan resolusi (Gritter, *et al.*, 1991).

### 2.5.2 Analisis Kuantitatif Metode Spektrofotometri UV-Vis

Seiring perkembangan ilmu pengetahuan, metode Spektrofotometri UV-Vis menjadi lebih cepat dan lebih murah daripada kromatografi karena menggunakan analisis regresi berganda dengan perhitungan matriks dengan mengamati dua gelombang panjang dan berbagai jenis panjang gelombang Selain itu, metode ini memungkinkan satu atau lebih analisis

senyawa dalam campuran secara bersamaan tanpa izin sebelumnya (Yohan *et al.*, 2018).



Gambar 2.3. Rangkaian alat Spektrofotometri Uv-vis UV-Vis (*single beam*) (Suhartati, 2013).

Komponen spektrofotometer UV-Visibel (Gambar 2.3) yaitu, (Suhartati, 2013). :

### 1. Sumber Sinar

Alat ini memiliki dua fungsi yaitu untuk memberikan energi pada daerah panjang gelombang sesuai keinginan pengukuran dan mempertahankan intensitas sinar yang konstan selama pengukuran. Alat ini menggunakan 2 kombinasi sinar yaitu sinar tampak dan sinar ultra violet yang mana sinar tampak menggunakan lampu wolfram (320-2500 nm) serta lampu hydrogen atau deuterium (160 -375 nm).

### 2. Monokromator

Monokromator adalah komponen yang digunakan untuk mengubah sinar polikromatis menjadi monokromatis.

### 3. Kuvet

Kuvet merupakan tempat penyimpanan sampel yang akan diukur serapannya. Kuvet diletakkan pada jalan cahaya dari monokromator.

#### 4. Detektor

Detektor fungsinya sebagai pengubah energi cahaya menjadi energi listrik, energi cahaya yang ditransmisikan jatuh mengenai suatu besaran yang terukur

#### 5. Amplifier

Sinyal listrik yang dihasilkan sangat lemah sehingga dibutuhkan amplifier agar sinyal dapat diukur. Amplifier ini berfungsi untuk menangkap isyarat masuk (*input*) dari rangkaian detektor dan melalui beberapa proses elektronik tertentu sehingga dapat menghasilkan suatu isyarat keluar (*output*) yang beberapa kali lebih besar dari isyarat masuk (*input*).

#### 6. Rekorder dan Komputer

Rekorder dan Komputer berfungsi untuk membaca sinyal listrik yang dihasilkan pada detektor serta telah diperkuat arusnya oleh amplifier agar di konversikan ke dalam besaran absorbansi atau % transmitan.

Salah satu metode yang paling umum digunakan dalam analisis farmasi adalah Spektrofotometri UV-Vis. Metode ini menggunakan pengukuran jumlah radiasi tampak atau ultraviolet yang diserap oleh suatu zat. Interaksi kedua jenis radiasi terjadi saat spektrofotometer UV-Vis melewatkan seberkas cahaya dengan panjang gelombang 200–800 nm. Selama proses ini, elektron yang merupakan bagian dari ikatan di dalam molekul distimulasi, menghasilkan keadaan kuantum yang lebih tinggi yang mengakibatkan mampu untuk menyerap sejumlah energi saat bergerak melalui larutan. Semakin sedikit elektron yang terperangkap dalam ikatan kimianya, semakin panjang panjang gelombang radiasi yang diserap, yang berarti semakin sedikit energi yang diserap. Metode spektrofotometri sederhana, cepat, cukup spesifik, dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi hanya sejumlah kecil senyawa. Hukum Lambert-Beer adalah hukum dasar spektrofotometri (Wahyuni *et al.*, 2022).

Tabel 2.1. Warna Panjang gelombang

Panjang Gelombang (nm)	Warna	Warna Komplementer
400-435	Violet	Kuning-hijau
435-480	Biru	Kuning
480-490	Hijau-biru	Orange
490-500	Biru-hijau	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Kuning-hijau	Violet
580-595	Kuning	Biru
595-610	Orange	Hijau-biru
610-750	Merah	Biru-hijau

Sumber : (J.Basset, 1994).

## 2.6 Validasi Metode

Validasi metode adalah suatu proses yang menunjukkan kehandalan suatu metode melalui pengujian analisis di laboratorium. Dalam upaya untuk memberikan jaminan terhadap khasiat, kualitas, dan keamanan produk industri farmasi, instrumen validasi merupakan bagian dari program penjaminan mutu (Wahyuni *et al.*, 2022). Salah satu jenis validasi adalah validasi metode analisis. Tujuan validasi metode analisis adalah untuk membuktikan bahwa semua metode analisis (metode/prosedur pengujian) yang digunakan dalam pengujian dan pengawasan mutu secara konsisten mencapai hasil yang diinginkan. Akurasi, presisi, linearitas, batas deteksi/batas deteksi (LOD), dan batas kuantitasi/batas kuantitasi (LOQ) adalah parameter yang memvalidasi metode analisis (Musiam dan Alfian, 2017).

### 2.6.1 Linieritas

Linieritas menunjukkan kemampuan suatu metode analisis untuk menghasilkan hasil pengujian yang sesuai dengan konsentrasi analit dalam sampel pada kisaran konsentrasi tertentu, sedangkan rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang telah ditunjukkan dan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima. Membuat kurva kalibrasi dari beberapa set larutan standar dengan konsentrasi yang diketahui dapat digunakan untuk menghitung rentang (Ermer dan Miller, 2005). Kurva kalibrasi diperoleh dari metode kuadrat terkecil, yang menghasilkan persamaan

garis  $y = a + bx$ . Persamaan ini akan menghasilkan koefisien korelasi can, yang digunakan untuk menentukan linearitas metode analisis. Penetapan linearitas minimum dilakukan dengan lima konsentrasi berbeda. Koefisien korelasi (R) yang memenuhi syarat adalah lebih tinggi dari 0,995 (Harmita, 2004). Linearitas juga dapat diketahui dari kemiringan garis, intersep, dan residual (Ermer dan Miller, 2005).

$$y = a + bx$$

(Syahriana *et al.*, 2019)

Keterangan :

a = Intersep yang menunjukkan kepekaan analisis

b = Nilai slope

x = Serapan

### 2.6.2 Presisi

Presisi didefinisikan sebagai tingkat kedekatan hasil pengujian ketika prosedur diterapkan berulang kali pada sampel yang homogen atau beberapa sampel. Koefisien variasi (CV) dari berbagai ukuran adalah cara untuk menggambarkan prestasi. *Repeatability* adalah ukuran seberapa baik metode analisis dilakukan dalam kondisi normal. Pengukuran keberagaman yang dilakukan di laboratorium yang sama, pada hari yang berbeda, dengan peralatan yang berbeda, atau melalui analisis yang berbeda dikenal sebagai ketepatan tengah (Wahyuni *et al.*, 2022). *International Conference On Harmonisation (ICH Harmonised Tripartite Guideline)* menyarankan setidaknya sembilan penetapan tiga konsentrasi dan tiga replikasi untuk masing-masing konsentrasi atau enam penetapan pada konsentrasi uji konsentrasi 100% (ICH, 2005). Menentukan ketelitian dengan menghitung nilai simpangan baku (SD) dari nilai simpangan baku tersebut dilanjutkan dengan menghitung nilai koefisien variasi dengan rumus (Harmita, 2004) :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$KV/RSD (\%) = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Keterangan :

SD	= Standar Deviasi
xi	= Pengukuran Tunggal
$\bar{x}$	= Rata-Rata
n	= Jumlah Pengukuran RSD
RSD	= <i>Relative Standar Deviation</i>

Ketika koefisien variasi (KV) atau standar deviasi relatif (RSD) kurang dari 2%, pendekatan tersebut memenuhi kriteria akurasi. Kriteria ini sangat fleksibel dan bergantung pada berbagai faktor, termasuk analit yang diuji, jumlah sampel, konsentrasi analit yang diuji, dan keadaan laboratorium. Menurut temuan penelitian, nilai koefisien variasi meningkat seiring dengan penurunan konsentrasi analit (Harmita, 2004).

Tabel 2.2. Nilai Koefisien Variasi (KV)

Konsentrasi Analit	KV
10%	2,8%
1%	4,0%
0,1%	5,7%
0,001%	8,0%
1 ppm	16%
1 ppb	45%
0,1 ppb	64%

Sumber : (Harmita, 2004).

### 2.6.3 Akurasi

Parameter metode untuk mengukur seberapa dekat hasil uji terhadap nilai yang benar adalah akurasi. Untuk melakukan penetapan yang tepat, analit yang kemurniannya sudah diketahui, atau senyawa lain yang akurasinya telah ditetapkan, digunakan. *International Conference On Harmonisation (ICH Harmonised Tripartite Guideline)* menyarankan setidaknya penetapan yang terdiri dari tiga konsentrasi berbeda (tiga

konsentrasi dan tiga pengulangan untuk tiap konsentrasi) (Wahyuni *et al.*, 2022).

Kebenaran tes atau akurasi dapat ditentukan dengan menggunakan pendekatan simulasi (*spiked-placebo Recovery*) atau metode penambahan konvensional (*standard addition method*). Teknik penambahan standar melibatkan analisis awal pada larutan sampel, diikuti dengan penambahan larutan sampel standar dan analisis lebih lanjut dari hasilnya. Rumus untuk menghitung jumlah % *Recovery* yang diperoleh kembali dalam persentase adalah (Harmita, 2004) :

$$\%Recovery = \frac{(Cf - Cu)}{Ca} \times 100\%$$

(Harmita, 2004)

Keterangan :

Cf = Kadar dari analit campuran matriks dan tambahan analit

Cu = Kadar dari analit dalam matriks

Ca = Kadar dari analit yang sebenarnya

Tabel 2.3 Nilai % *Recovery*

Analit pada matriks sampel	<i>Recovery</i> yang diterima (%)
$10 < A \leq 100$ (%)	98-102
$1 < A \leq 10$ (%)	97-103
$0,1 < A \leq 1$ (%)	95-105
$0,001 < A \leq 0,1$ (%)	90-107
$100 \text{ ppb} < A \leq 1 \text{ ppm}$	80-110
$10 \text{ ppb} < A \leq 100 \text{ ppb}$	60-115
$1 \text{ ppb} < A \leq 10 \text{ ppb}$	40-120

(Harmita, 2004)

#### 2.6.4 Batas Deteksi (LOD)

Konsentrasi atau kuantitas terendah analit dalam sampel yang dapat diidentifikasi tanpa harus dikuantifikasi ke nilai sebenarnya dikenal sebagai “batas deteksi”. Batas deteksi, juga dikenal sebagai LOD, adalah batas uji yang jelas menunjukkan apakah analit lebih tinggi atau lebih rendah dari angka tertentu. Limit deteksi dalam kimia analitik biasanya

didefinisikan sebagai jumlah analit yang menghasilkan respon yang sama dengan respon blanko ditambah tiga standar deviasi blanko (Rohman, 2007).

Menunjukkan batas deteksi sebagai konsentrasi biasanya dilakukan dengan rasio 2 atau 3 banding 1. Untuk menetapkan LOD, ICH menggunakan dua teknik tambahan selain metode rasio signal-to-noise. Dua tehnik tersebut adalah pendekatan visual non-instrumental dan metode komputasi. ICH mengikuti konvensi metode rasio signal-to-noise. Metode visual non-instrumental digunakan untuk kromatografi lapis tipis dan titrimetri.

Menurut rumus (Harmita, 2004):

$$LOD = 3 \times \frac{SD}{S}$$

Keterangan :

LOD = Batas deteksi

SD = Standar deviasi

S = Slope (b pada persamaan garis  $y = a+bx$ )

(Syahriana *et al.*, 2019).

Selain itu, standar deviasi (SD) kurva standar kemiringan (Slope, S) dapat digunakan untuk menghitung LOD. Standar deviasi dari jawaban dapat dihitung dengan menggunakan standar deviasi blanko, standar deviasi residual dari garis regresi, atau standar deviasi intersep y dari garis regresi. Semua variabel ini dapat digunakan secara bersamaan (Harmita, 2004)

### 2.6.5 Batas Kuantifikasi (LOQ)

Konsentrasi atau kuantitas terkecil dari analit dalam sampel yang dapat dikuantifikasi secara akurat dan tepat dengan menggunakan cara kuantitatif dikenal sebagai “batas kuantifikasi”. Dalam matriks kompleks, batas kuantifikasi adalah parameter pengujian kuantitatif yang

digunakan untuk mengidentifikasi adanya kontaminan atau kerusakan produk pada konsentrasi analit yang rendah (ICH, 2005).

Untuk menentukan LOQ, biasanya digunakan rasio signal-to-noise 10:1, yang merupakan pedoman umum. Namun, penting untuk diingat bahwa LOQ adalah kompromi antara konsentrasi dan presisi dan akurasi yang diinginkan, jadi menurunkan konsentrasi LOQ akan mengakibatkan penurunan akurasi.

*International Conference on Harmonization* (ICH) mengembangkan pendekatan rasio *signal-to-noise*. Namun, untuk menghitung LOQ, ICH menggunakan dua metode: metode visual non-instrumental dan metode analitik yang berdasarkan pada deviasi respons (SD) dan kemiringan (S) kurva standar, yang dapat ditemukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$LOQ = 10 \times \frac{SD}{S}$$

(Rohman, 2007).

Keterangan :

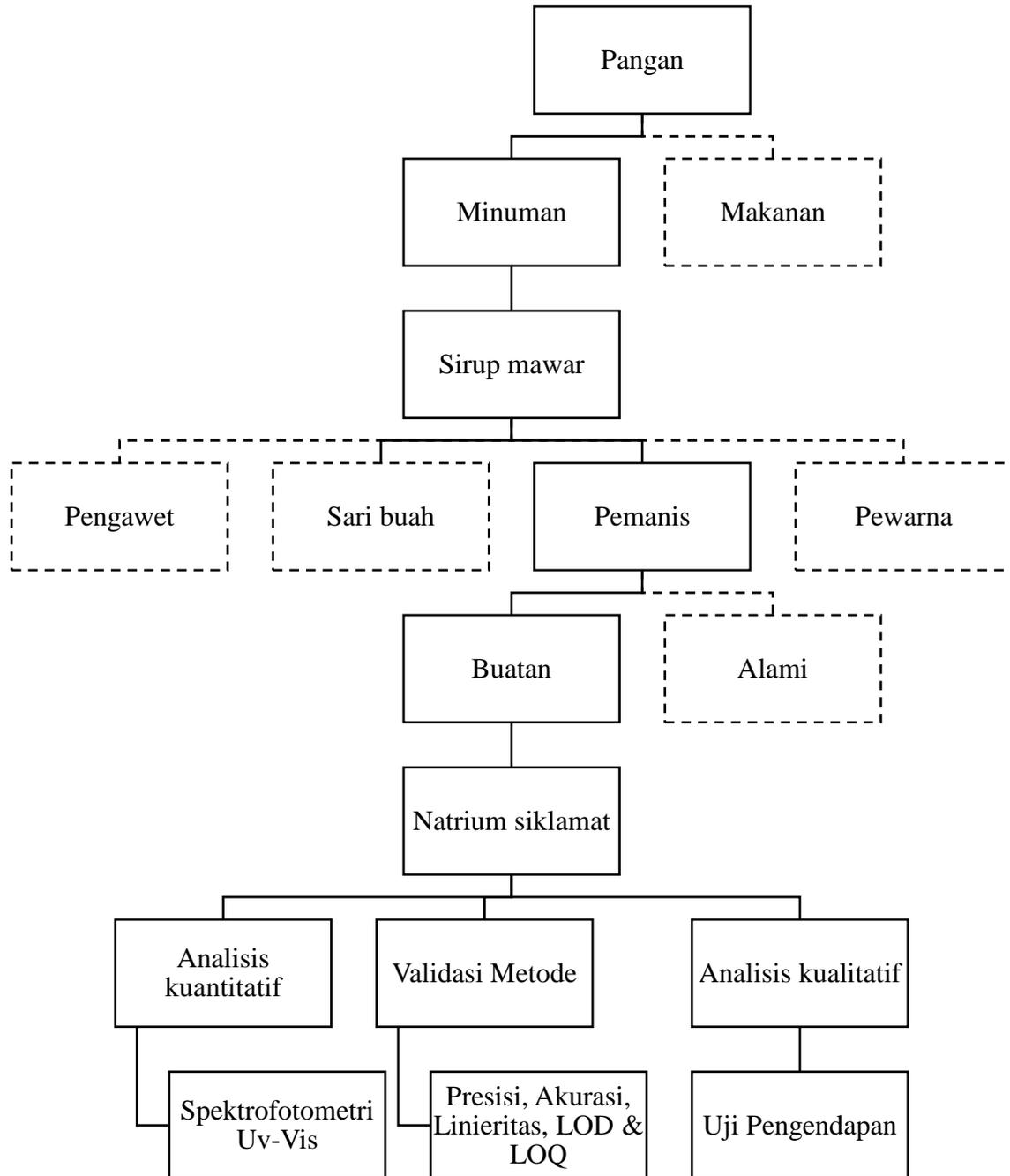
LOQ = Batas kuantifikasi

SD = Standar deviasi

S = Slope (b pada persamaan garis  $y = a+bx$ )

(Syahriana *et al.*, 2019)

## 2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep penelitian

Keterangan :

————— : Diteliti

- - - - - : Tidak diteliti