MASALIQ
Jurnal Pendidikan dan Sains

e-ISSN: 2808-8115
p-ISSN: 2809-1051

Terindeks: Sinta 5, Copernicus, Dimensions, Scilit, Lens, Crossref, Garuda, Google Scholar, Base, etc

https://doi.org/10.58578/masaliq.v6i1.8752

ANALISIS NATRIUM SIKLAMAT DALAM MINUMAN ES TEH MENGGUNAKAN METODE HPLC: HASIL PENGEMBANGAN DAN VALIDASI

Analysis of Sodium Cyclamate in Iced Tea Beverage Using the HPLC Method: Development and Validation Results

Wira Ayuriza & Budhi Oktavia
Universitas Negeri Padang
ayurizawira@gmail.com; budhioktavia@fmipa.unp.ac.id

Article Info:

Submitted:	Revised:	Accepted:	Published:
Nov 28, 2025	Dec 24, 2025	Jan 4, 2026	Jan 9, 2026

Abstract

The high consumption of iced tea beverages in the community increases potential exposure to artificial sweeteners, particularly sodium cyclamate, whose use is regulated in Regulation of the National Agency of Drug and Food Control (BPOM) No. 11 of 2019. The use of cyclamate that does not comply with regulatory limits may pose health risks, thereby requiring effective monitoring through analytical laboratory methods that are accurate, precise, and validated. BPOM has established a standard method for the determination of sodium cyclamate using high performance liquid chromatography (HPLC); however, in practice there are still variations in HPLC operating conditions across laboratories, such as differences in column type, mobile phase composition, and detection parameters, which may affect analytical results. Therefore, this study aimed to develop and validate an HPLC method that is compatible with specific laboratory conditions while still meeting analytical performance requirements. The results showed that a new HPLC method was successfully developed and validated for the analysis of sodium cyclamate levels in iced tea beverages. This method met all validation

Masaliq Journal is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License

parameters, including linearity, precision, accuracy, limit of detection (LOD), and limit of quantitation (LOQ), and is thus suitable for determining sodium cyclamate content. The use of a methanol–water mobile phase with a 5:95 ratio proved optimal, as it provided good separation efficiency, adequate analysis time, and simplified the testing procedure. Overall, the developed method offers a practical, economical, and reliable analytical alternative to support food safety surveillance related to the use of artificial sweeteners in iced tea beverages.

Keywords: Sodium Cyclamate; Iced Tea Beverages; High Performance Liquid Chromatography (HPLC); Food Safety; Method Validation

Abstrak: Tingginya konsumsi jajanan minuman es teh di masyarakat berpotensi meningkatkan paparan pemanis buatan, khususnya natrium siklamat, yang penggunaannya telah diatur dalam Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Nomor 11 Tahun 2019. Penggunaan siklamat yang tidak sesuai ketentuan dapat menimbulkan risiko terhadap kesehatan, sehingga diperlukan pengawasan yang efektif melalui metode analisis laboratorium yang akurat, presisi, dan tervalidasi. BPOM telah menetapkan metode baku penetapan natrium siklamat menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (*HPLC*), namun dalam praktik masih terdapat variasi kondisi operasional *HPLC* di berbagai laboratorium, seperti perbedaan jenis kolom, komposisi fase gerak, dan parameter deteksi yang berpotensi memengaruhi hasil analisis. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan dan memvalidasi metode *HPLC* yang sesuai dengan kondisi laboratorium tertentu namun tetap memenuhi persyaratan kerja analitis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode *HPLC* baru berhasil dikembangkan dan divalidasi untuk analisis kadar natrium siklamat dalam minuman es teh. Metode ini memenuhi seluruh parameter validasi, meliputi linearitas, presisi, akurasi, batas deteksi (LOD), dan batas kuantitasi (LOQ), sehingga layak digunakan untuk penetapan kadar natrium siklamat. Penggunaan fase gerak metanol:akuades dengan konsentrasi (5:95) terbukti optimal karena memberikan efisiensi pemisahan yang baik, waktu analisis yang memadai, serta menyederhanakan prosedur pengujian. Secara keseluruhan, metode yang dikembangkan menawarkan alternatif analisis yang praktis, ekonomis, dan andal untuk mendukung pengawasan keamanan pangan terkait penggunaan pemanis buatan pada minuman es teh.

Kata Kunci: Natrium Siklamat; Minuman Es Teh; *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*; Keamanan Pangan; Validasi Metode

PENDAHULUAN

Minuman merupakan segala jenis sesuatu yang dapat dikonsumsi untuk mengatasi rasa haus. Umumnya, minuman berbentuk cair, meskipun ada juga yang berbentuk padat seperti es krim atau es lilin. Sementara itu, minuman kesehatan adalah jenis konsumsi yang tidak hanya menghilangkan haus dan dahaga, tetapi juga memberikan manfaat positif bagi kesehatan (Winarti, 2016).

Konsumsi minuman jajanan di Indonesia semakin meningkat, terutama minuman yang menyegarkan seperti es teh, yang populer karena beragam rasa dan harga yang

terjangkau (Lembek & Fauziyyah, 2023). Minuman teh adalah produk minuman yang diperoleh dari seduhan teh atau ekstrak teh atau teh instan atau campurannya dalam air minum dengan atau penambahan gula, bahan pangan lain, dan bahan tambahan pangan yang diizinkan dan dikemas secara kedap (Yani, 2023).

Perkembangan teknologi pangan memungkinkan produksi berbagai jenis makanan dan minuman, namun penggunaan Bahan Tambahan Pangan (BTP) oleh produsen kadang tidak sesuai ketentuan, khususnya pemanis buatan. Bahan tambahan yang disebut zat adiktif pada makanan atau minuman dapat berupa pewarna, perasa, aroma, zat penstabil, antioksidan, pengawet, pengemulsi, pemutih, pengental, dan pemanis (Jamilatun et al., 2022). Pemanis buatan sering digunakan melebihi batas aman karena menawarkan rasa manis lebih tinggi dengan biaya lebih rendah, sehingga berpotensi menimbulkan risiko kesehatan (Melinda et al., 2022). Pemanis berfungsi untuk meningkatkan rasa dan aroma, memperbaiki sifat fisik, bertindak sebagai pengawet, serta menjadi sumber kalori bagi tubuh (Cahyadi, 2008).

Pemanis buatan yang sering digunakan adalah natrium siklamat. Natrium siklamat merupakan elektrolit kuat, yang sangat terionisasi dalam larutan, bersifat cukup netral, dan memiliki kapasitas buffering yang kecil (K.D. Aparnathi, 2017). Natrium siklamat meningkatkan sistem rasa dan dapat digunakan untuk menutupi beberapa karakteristik rasa tidak enak. Dalam sebagian besar penerapannya, natrium siklamat digunakan dalam kombinasi dengan sakarin, seringkali dengan perbandingan 10 : 1 (Shah et al., 2020)

Di Indonesia, penggunaan BTP pemanis diatur dalam Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019. Natrium siklamat termasuk pemanis buatan yang umum digunakan, dengan batas maksimum 350 mg/kg untuk minuman siap konsumsi. Senyawa ini larut dalam air, tahan panas, dan 30 kali lebih manis dari sukrosa tanpa memberikan kalori (Handayani & Agustina, 2015).

Salah satu metode kuantitatif untuk menentukan kadar siklamat adalah High Performance Liquid Chromatografy (HPLC), yang memiliki keuntungan berupa sensitivitas tinggi, efisiensi pemisahan baik, analisis cepat, dan preparasi sampel sederhana (Lembek & Fauziyyah, 2023). HPLC merupakan teknik analisis kromatografi cair yang digunakan baik dalam analisis kualitatif yaitu dalam bentuk pemisahan senyawa maupun dalam analisis kuantitatif yaitu penentuan jumlah senyawa didalam suatu larutan.

Prinsip dari HPLC yaitu suatu sampel berupa larutan diinjeksikan kedalam kolom yang berisi fase diam dan fase gerak, kemudian diberikan tekanan tinggi sehingga fase gerak dapat mengelusi sampel keluar dari kolom dan terdeteksi oleh detektor yang kemudian dihasilkan kromatogram (Charde dkk, 2014). Keuntungan dari metode ini adalah dapat memisahkan molekul dari campuran, kecepatan dan sensitivitas analisis yang tinggi, menghindari penguraian bahan analisis, resolusi yang baik, dan dapat digunakan dengan berbagai jenis detektor, kolom dapat digunakan kembali dan mudah dibuat (Wahyudiana & Herdini, 2019).

Dalam HPLC, sampel cair atau sampel padat yang dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, dialirkan melalui kolom kromatografi dengan fase gerak cair. Pemisahan ditentukan oleh interaksi zat terlarut/fasa diam, termasuk adsorpsi cair-padat, partisi cair-cair, pertukaran ion dan pengecualian ukuran, dan oleh interaksi zat terlarut/fasa gerak. Namun dalam setiap kasus, instrumentasi dasarnya pada dasarnya sama (Harvey, 2000).

Meski BPOM telah menyediakan metode baku HPLC, variasi operasional di laboratorium seperti jenis kolom, komposisi fase gerak, dan parameter deteksi dapat memengaruhi hasil analisis. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa modifikasi fase gerak, panjang gelombang deteksi, dan jenis kolom dapat meningkatkan sensitivitas dan selektivitas, sementara validasi parameter seperti linearitas, presisi, akurasi, LOD, dan LOQ penting untuk memastikan keandalan metode (Arsyad et al., 2018; Putri & Sari, 2020).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan mengembangkan dan memvalidasi metode HPLC untuk analisis natrium siklamat dalam minuman es teh, yang sesuai dengan kondisi laboratorium tertentu namun tetap memenuhi kriteria kinerja analitis. Selain itu, metode yang dikembangkan akan dibandingkan dengan metode baku BPOM untuk menilai kesesuaian hasil, sehingga dapat menjadi alternatif yang efisien, andal, dan aplikatif dalam pengawasan rutin keamanan pangan.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Pangan dan Air Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) di Padang. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: seperangkat alat Spektrofotometer, seperangkat alat HPLC, alat sentrifuga, tabung sentrifuga 50 mL dan 15 mL, alat vortex, neraca analitik, labu ukur 10, 20, 25, 50 dan 100 mL, pipet mikro volume 20-200 µL dan 100-1000 µL, pipet volumetrik 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8

dan 10 mL, dan gelas ukur 5 mL. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah minuman es teh, bahan standar pembanding natrium siklamat, Larutan H2SO4 50 %, Larutan NaHCO3 1%, Larutan NaClO 3 %, Metanol HPLC, N- heptan, Etanol 96%, dan Air suling yang telah disaring menggunakan penyaring membran dengan diameter pori 0,45 µm.

Optimasi Panjang Gelombang Deteksi

Dibuat larutan standard Natrium Siklamat 100 ppm, kemudian larutan standar tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 190-440 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum untuk selanjutnya dilakukan pengukuran menggunakan HPLC.

Penentuan Kondisi Optimum (Variasi Eluen)

1. Variasi Eluen

Eluen yang akan digunakan pada analisis ini yaitu berupa Aquades 100% dan campuran Metanol:aquades. Masing-masing komposisi eluen diuji pada HPLC. Dipilih campuran fase gerak yang memberikan pemisahan terbaik berdasarkan waktu retensi dan luas puncak.

2. Variasi Konsentrasi Eluen

Deret larutan standar natrium siklamat didalam pelarut aquades, diinjeksikan sebanyak 20 µl ke dalam kolom menggunakan fase gerak campuran metanol dan aquades dengan variasi 5:95; 10:90; dan 20:80. Dipilih komposisi fase gerak yang memberikan pemisahan terbaik berdasarkan waktu retensi dan luas puncak.

Validasi Metode HPLC yang Dikembangkan

1. Linearitas

Linieritas menggambarkan kemampuan suatu pendekatan analisis untuk mendapatkan hasil pengujian yang sesuai dengan tingkat konsentrasi analit yang ada pada sampel dalm rentang konsentrasi tertentu. Sementara itu, penentuan metode untuk batasan terendah yang tertinggi analit yang telah ditetapkan bisa dilakukan dengan tingkat ketelitian, kecermatan, dan linieritas yang dapat diterima. Rentang tersebut dapat ditentukan melalui pembuatan kurva kalibrasi dari beberapa larutan standar yang konsentrasinya telah diketahui (Ermer dan Miller, 2005).

Prosedur: Dibuat 6 seri konsentrasi standar larutan standar Natrium Siklamat yaitu 150 μg/mL, 200 μg/mL, 300 μg/mL, 400 μg/mL, 500 μg/mL, dan 600 μg/mL, kemudian diuji pada HPLC. Dimana hasil pengukuran dari setiap larutan standar digunakan untuk membuat kurva standar natrium siklamat. Persamaan regresi yang didapat tersebut selanjutnya bisa digunakan untuk analisis kuantitatif Natrium Siklamat.

2. Presisi dan Akurasi

Presisi merupakan parameter yang menunjukkan tingkat kedekatan antara hasil analisis yang diperoleh dari serangkaian pengukuran berulang terhadap sampel dengan ukuran yang sama. Parameter ini mencerminkan besarnya kesalahan acak yang terjadi dalam suatu metode analisis. Secara umum, pengukuran presisi dilakukan dalam dua kondisi, yaitu kondisi berulang dan kondisi reproduksi. Presisi biasanya dinyatakan dalam bentuk koefisien variasi atau simpangan baku relatif dari hasil analisis yang diperoleh dari standar kontrol kualitas yang disiapkan secara independen (Riyanto, 2014).

Akurasi merupakan parameter yang menunjukkan tingkat kedekatan antara hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Parameter ini umumnya dinyatakan dalam bentuk persentase perolehan kembali (recovery) dari analit yang ditambahkan ke dalam sampel. Tingkat kecermatan hasil analisis sangat dipengaruhi oleh besarnya galat sistematik yang terjadi pada seluruh tahapan proses analisis (Gandjar, 2007).

Prosedur: Dipipet 5 mL sampel kemudian ditambahkan 5 mL standar natrium siklamat konsentrasi 500 ppm. Penetapan ini dilakukan keberulangan minimal dilakukan 6 kali terhadap larutan uji.

Penetapan Kadar Siklamat Secara HPLC (Metode BPOM)

1. Larutan Uji

Ditimbang saksama sejumlah sampel homogen ke dalam tabung sentrifuga 50 mL. Ditambahkan secara berturut-turut ke dalam tabung sentrifuga tersebut aquades, H2SO4 50 %, 10,0 mL n-heptan, dan NaClO 3 %. Dihomogenkan dengan alat vortex selama 2 menit. Ditambahkan beberapa mL etanol 96% ke dalam tabung sentrifuga dan dihomogenkan dengan alat vortex. Disentrifugasi selama 5 menit. Dipipet fase organik ke dalam tabung sentrifuga 15 mL yang telah ditambahkan beberapa mL NaHCO3 1%. Dihomogenkan dengan alat vortex, kemudian disentrifugasi selama 5 menit. Fase organik disaring dengan penyaring membran 0,45 μm. (Larutan A)

2. Larutan Standar Natrium Siklamat

Dibuat Larutan Standar Natrium Siklamat dengan konsentrasi 2000 µg/mL. Kemudian dibuat larutan standar kerja dengan dipipet larutan standar induk ke dalam masing-masing tabung sentrifuga 50 mL dengan volume pemipetan dan konsentrasi seperti yang tertera dalam Tabel 1. berikut:

Tabel 1. Volume Pemipetan dan Konsentrasi Natrium Siklamat

Standar Kerja	**Volume pemipetan standar induk (mL)**	**Konsentrasi Asam Siklamat (µg/mL)**
1	0,25	50
2	0,75	150
3	1,25	250
4	1,75	350
5	2,25	450

Lalu ditambahkan secara berturut-turut ke dalam tabung sentrifuga tersebut aquades, H2SO4 50 %, 10,0 mL n-heptan, dan NaClO 3 %. Dihomogenkan dengan alat vortex selama 2 menit. Ditambahkan beberapa mL etanol 96% ke dalam tabung sentrifuga dan dihomogenkan dengan alat vortex. Disentrifugasi selama 5 menit. Dipipet fase organik ke dalam tabung sentrifuga 15 mL yang telah ditambahkan beberapa mL NaHCO3 1%. Dihomogenkan dengan alat vortex, kemudian disentrifugasi selama 5 menit. Fase organik disaring dengan penyaring membran 0,45 µm. (Larutan B).

3. Penentuan Kadar Siklamat secara HPLC

Disuntikkan larutan B dan A masing-masing secara terpisah dan dilakukan penetapan menggunakan Kromatograf Cair Kinerja Tinggi dengan kondisi sebagai berikut: Fase gerak: Metanol – Aquades (90 : 10); Kolom: Waters X Bridge C18 ; 4,6 x 250 mm; ukuran partikel: 5 µm; Detektor: UV, panjang gelombang 314 nm; Laju alir: 1,2 mL/menit; Volume Penyuntikan: 20 µL. Kadar asam siklamat dalam sampel dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$Kadar\ Natrium\ Siklamat\ (mg/kg) = \frac{Csp \times V}{w}$$

Keterangan:

Csp : Kadar asam siklamat yang diperoleh dari perhitungan

menggunakan kurva kalibrasi $y = bx + a$ *(µg/mL)*

V : Volume pengenceran (mL)

W : Bobot sampel (g)

Penetapan Kadar Siklamat secara HPLC (Metode Pengembangan)

1. Larutan Uji

Larutan uji disaring menggunakan penyaring membran diameter pori 0,45 µm (Larutan A).

2. Laburan Standar Natrium Siklamat

Ditimbang saksama sejumlah lebih kurang 100 mg Natrium Siklamat, dilarutkan bersama-sama dalam labu tentukur 100 mL menggunakan air hingga tanda. Diperoleh larutan standar induk dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Dibuat larutan standar kerja dalam pelarut air dengan rentang kadar 150 - 600 µg/mL (Larutan B).

3. Penentuan Kadar Natrium Siklamat

Kondisi optimal yang telah diperoleh kemudian diaplikasikan pada analisa sampel. Disuntikkan larutan B dan A masing-masing secara terpisah dan dilakukan penetapan menggunakan Kromatograf Cair Kinerja Tinggi dengan kondisi sebagai berikut: Fase gerak: Metanol – Aquades (5 : 95); Kolom: Waters X Bridge C18 ; 4,6 x 250 mm; ukuran partikel: 5 µm; Detektor: UV, panjang gelombang 190 nm; Laju alir: 1,2 mL/menit; Volume Penyuntikan: 20 µL. Kadar asam siklamat dalam sampel dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$Kadar\ Natrium\ Siklamat\ (mg/kg) = \frac{Csp \times V}{w}$$

Keterangan:

Csp : Kadar asam siklamat yang diperoleh dari perhitungan

menggunakan kurva kalibrasi $y = bx + a$ *(µg/mL)*

V : Volume pengenceran (mL)

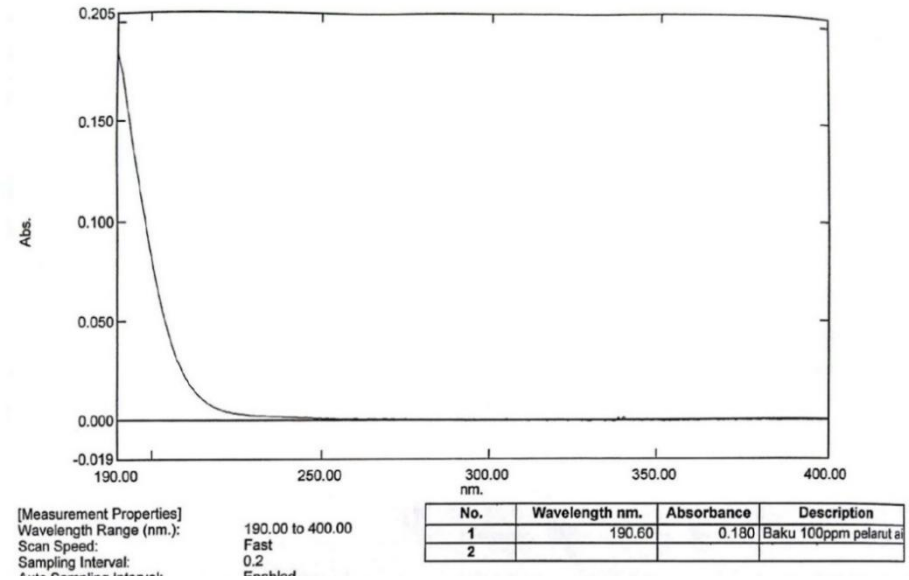
W : Bobot sampel (g)

HASIL

Hasil Pengembangan Metode HPLC

1. Optimasi Panjang Gelombang Deteksi

Pengukuran panjang gelombang maksimum pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 190-400 nm. Pemilihan panjang gelombang detektor UV-Vis didasarkan pada kemampuan senyawa target menyerap radiasi pada daerah tertentu. Spektrum yang dihasilkan pada penetapan panjang gelombang Natrium Siklamat ditunjukkan pada Gambar 1. di bawah ini.



Gambar 1. Kurva Absorbansi dalam konsentrasi 100 ppm

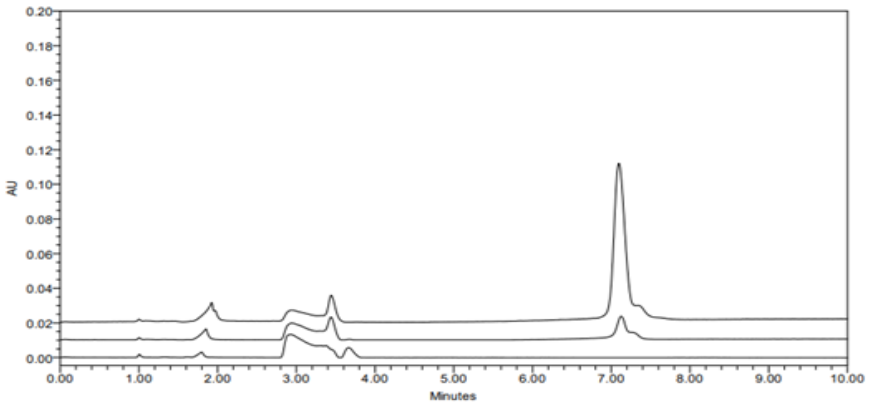
Berdasarkan hasil kurva absorbansi diatas, didapat panjang gelombang maksimum natrium siklamat yaitu 190,60 nm. Selanjutnya akan digunakan untuk mengukur serapan larutan baku maupun sampel yang akan dianalisis pada metode KCKT.

2. Variasi Komposisi Fasa Gerak

a. Kromatogram Variasi Konsentrasi Eluen Aquades 100%

Penelitian ini menggunakan metode HPLC fase terbalik, dimana fasa diam bersifat non-polar dan fasa geraknya bersifat polar. Fase diam yang digunakan adalah kolom C18 dan dan fase gerak yang digunakan berupa aquades 100% dan campuran metanol dan aquades dengan masing-masing perbandingannya yaitu 5:95, 10:90 dan 20:80. Setelah dilakukan penentuan kondisi optimum pada fasa gerak, didapatkan hasil kondisi optimum

fasa gerak untuk penentuan Natrium Siklamat adalah metanol dan aquades dengan komposisi 5:95. Ini terlihat pada Gambar.2 di bawah ini:



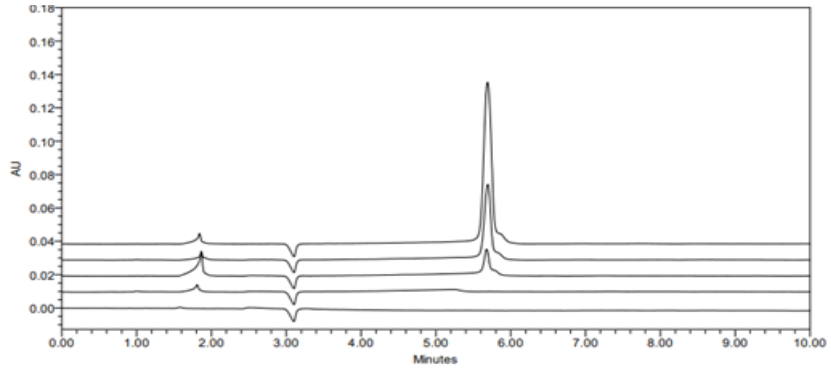
Name: SIKLAMAT

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	Height	Peak Lambda Max.
1	Baku 100	1	1	SIKLAMAT	7.126	127808	12761	190.0
2	Baku 500	2	1	SIKLAMAT	7.097	979148	89914	190.0
3	Blanko	3	1	SIKLAMAT	7.096			
Mean					7.106			
Std. Dev.					0.017			
% RSD					0.24			

Gambar 2. Hasil Kromatogram Variasi Konsentrasi Eluen Aquades 100%

b. Kromatogram Variasi Konsentrasi Eluen Metanol:Aquades (5:95)

Komposisi Metanol:air (5:95) terbukti sebagai kondisi optimum. Pada komposisi ini, natrium siklamat memberikan puncak kromatografi yang tajam dan simetris dengan waktu retensi yang memadai yaitu 5,68 menit. Komposisi Metanol:air (5:95) memberikan kepolaran tinggi pada fasa gerak, yang sesuai untuk elusi senyawa polar seperti natrium siklamat. Peningkatan persentase Metanol di atas 5% menyebabkan waktu retensi menjadi lebih pendek. Hasilnya dapat dilihat di Gambar.3 di bawah ini:



Name: Siklamat

	Sample Name	Vial	Inj	Name	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	Blanko	1	1	Siklamat	5.689			
2	Baku 100	2	1	Siklamat	5.689			
3	Baku 250	3	1	Siklamat	5.679	88866	100.00	14959
4	Baku 500	4	1	Siklamat	5.693	296263	100.00	44287
5	Baku 1000	5	1	Siklamat	5.689	734030	100.00	95921
Mean					5.688			
Std. Dev.					0.006			
% RSD					0.10			

Gambar 3. Hasil Kromatogram Variasi Konsentrasi Eluen Metanol:Aquades (5:95)

Hasil Validasi Metode HPLC yang Dikembangkan

1. Linearitas

Penimbangan Standar Natrium Siklamat

Standar Pembanding : Na Siklamat

No Kontrol : B0322224

Kemurnian : 99,66%

Kadar Air : 0,14%

Berat Wadah + standar: 147,40 mg

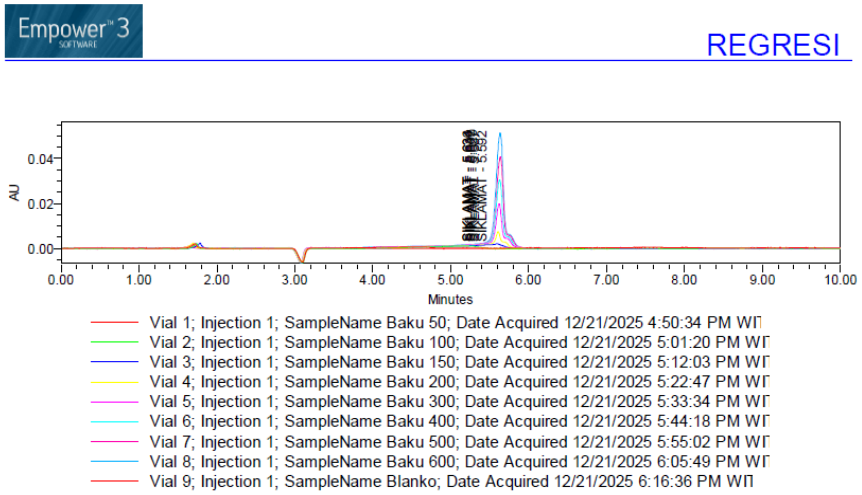
Berat Wadah + Sisa : 46,90 mg

Berat Standar : 100,50 mg

Volume : 100 mL

$$\text{Konsentrasi Standar Induk} = \frac{\text{Berat standar x } \frac{\text{Kemurnian}}{100} \text{ x } (100-\text{Kadar Air})/100}{\text{Volume}}$$

= 1000,1808 µg/mL



Name: SIKLAMAT

	Sample Name	Name	RT	Area	Resolution	s/n	USP Tailing
1	Baku 50	SIKLAMAT	5.634				
2	Baku 100	SIKLAMAT	5.634				
3	Baku 150	SIKLAMAT	5.592	5860		5.2663	1.6484
4	Baku 200	SIKLAMAT	5.607	40952		43.1977	1.2030
5	Baku 300	SIKLAMAT	5.620	119366		127.8144	1.3130
6	Baku 400	SIKLAMAT	5.626	202285		246.8259	1.2266
7	Baku 500	SIKLAMAT	5.634	279514		214.0961	1.2305
8	Baku 600	SIKLAMAT	5.632	358661		288.7560	1.2511
9	Blanko	SIKLAMAT	5.634				
Mean						154.3	1.3

Tabel 2. Hasil Linearitas

Standar Kerja	Kadar (µg/mL)	Luas Area
Standar 1	150,0271	5860
Standar 2	200,0362	40952
Standar 3	300,0542	119366
Standar 4	400,0723	202285
Standar 5	500,0904	279514
Standar 6	600,1085	358661

r	=	0,9999
A	=	-115048,8384
B	=	789,1276

y = 789,1276 x – 115048,8384

a. Presisi

Tabel 3. Hasil Presisi

Sampel	Berat (ml)	FP (mL)	Area	Konsentrasi (ug/g)
1	5,0	10,0	82074	499,597
2	5,0	10,0	83145	502,311
3	5,0	10,0	80423	495,413
4	5,0	10,0	81925	499,219
5	5,0	10,0	81277	497,577
6	5,0	10,0	81805	498,915

Rata – Rata = 498,84

SD = 2.29

% RSD = 0,46

Syarat keberterimaan = RSD < 4,19

b. Akurasi

Tabel 4. Hasil Akurasi

Sampel	Area	Konsentrasi (µg/mL)	Standar yang ditambahkan (µg/mL)	Rekoveri (%)
1	82074	499,597	500,09	99,90
2	83145	502,311	500,09	100,44
3	80423	495,413	500,09	99,06
4	81925	499,219	500,09	99,83
5	81277	497,577	500,09	99,50
6	81805	498,915	500,09	99,76
Rata-rata		498,84	500,09	

SD 2,29 n = 6

RSD (%) 0,46 min = 99,06

max = 100,44

Syarat Keberterimaan Rekoveri = 95-105%

c. Limit Deteksi (LOD) dan Limit Kuantitasi (LOQ)

$$LOD = \frac{S}{N} = \frac{3}{1}$$

$$LOD = \frac{S}{N} = \frac{3}{1} \; x \; 154{,}3 \; x \; \frac{150{,}0271}{1029}$$

$$LOD = 67{,}4903$$

$$LOQ = \frac{S}{N} = \frac{10}{1}$$

$$LOD = \frac{S}{N} = \frac{10}{1} \; x \; 154{,}3 \; x \; \frac{150{,}0271}{1029}$$

$$LOD = 224{,}9678$$

Aplikasi Metode pada Sampel Minuman Es Teh

Hasil penelitian yang telah dilakukan pada tiga sampel minuman es teh dengan menggunakan metode HPLC BPOM didapatkan satu sampel mengandung natrium siklamat (sampel uji 2) dengan kadar 66,62 ppm, dan 2 sampel lainnya (sampel nomor 1 dan 3) tidak terdeteksi adanya natrium siklamat. Sedangankan pada metoda pengembangan dari tiga sampel yang di uji langsung didapatkan hasil ketiga sampel tidak terdeteksi mengandung natrium siklamat.

Kemudian sampel nomor 2 dilakukan pemekatan dengan cara menguapkan dimana dari 100 mL sampel dipekatkan menjadi 20 mL (pemekatan 5x). Kemudian sampel hasil pemekatan ini diuji dan didapatkan hasil kadar natrium siklamat sebesar 57,15 ppm. Hasil ini lebih rendah dari hasil metoda BPOM, hal ini kemungkinan disebabkan karena kerusakan analit selama penguapan. Natrium siklamat rentan terhadap panas. Proses penguapan (biasanya menggunakan pemanasan) dapat menyebabkan dekomposisi senyawa ini.

Metode pengembangan mungkin memiliki limit deteksi (LOD) yang lebih tinggi, sehingga konsentrasi natrium siklamat di bawah LOD-nya tidak terbaca. Hal ini menunjukkan bahwa metode pengembangan belum cukup sensitif untuk mendeteksi kontaminan pada tingkat rendah.

PEMBAHASAN

Pengembangan Metode HPLC

Pengembangan metode dilakukan untuk mendapatkan kondisi kromatografi yang optimal, sehingga mampu memisahkan natrium siklamat dari matriks sampel minuman es teh (yang mengandung gula, pewarna, dan komponen lain) dengan baik, menghasilkan puncak yang simetris, dan waktu analisis yang efisien. Parameter yang dioptimalkan meliputi panjang gelombang deteksi dan variasi komposisi fase gerak.

1. Optimasi Panjang Gelombang Deteksi

Panjang gelombang maksimum suatu senyawa adalah panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimum, yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki afinitas yang tinggi terhadap radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tersebut. Natrium Siklamat diukur serapannya dalam bentuk larutan menggunakan pelarut aquades. Berdasarkan hasil kurva absorbansi diatas, didapat panjang gelombang maksimum natrium siklamat yaitu 190,60 nm. Selanjutnya akan digunakan untuk mengukur serapan larutan standar maupun sampel yang akan dianalisis pada metode HPLC.

2. Variasi Komposisi Fasa Gerak

Fase diam yang digunakan adalah kolom C18 dan dan fase gerak yang digunakan berupa aquades 100% dan campuran metanol dan aquades dengan masing-masing perbandingannya yaitu 5:95, 10:90 dan 20:80. Setelah dilakukan penentuan kondisi optimum pada fasa gerak, didapatkan hasil kondisi optimum fasa gerak untuk penentuan Natrium Siklamat adalah metanol dan aquades dengan komposisi 5:95.

Komposisi Metanol:air (5:95) terbukti sebagai kondisi optimum. Pada komposisi ini, natrium siklamat memberikan puncak kromatografi yang tajam dan simetris dengan waktu retensi yang memadai yaitu 5,68 menit. Komposisi Metanol:air (5:95) memberikan kepolaran tinggi pada fasa gerak, yang sesuai untuk elusi senyawa polar seperti natrium siklamat. Peningkatan persentase Metanol di atas 5% menyebabkan waktu retensi menjadi lebih pendek.

Validasi Metode HPLC yang Dikembangkan

1. Linearitas

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari kurva Standar natrium siklamat akan digunakan selanjutnya dengan nilai r sebesar 0,9998. Nilai r yang dihasilkan tersebut dapat diterima

karena nilai lebih besar dari 0,99 atau mendekati 1. Persamaan regresi liner standar natrium siklamat yang didapat dari kurva standar yaitu y = 789,1276 x – 115048,8384

Persamaan regresi yang didapat tersebut selanjutnya bisa digunakan untuk analisis kuantitatif Natrium Siklamat. Dari kurva menunjukkan hubungan liner antara luas area terhadap konsentrasi, dimana konsentrasi standar natrium siklamat semakin besar maka nilai luas area yang diperoleh juga akan semakin besar. Hal ini sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang menyatakan bahwa nilai absorbansi berbanding lurus terhadap konsentrasi larutan.

2. Presisi

Penetapan presisi metode dilakukan untuk melihat keberulangan metode analisis dengan melakukan pengulangan pengujian pada konsentrasi yang ditetapkan. Pengulangan minimal dilakukan 6 kali terhadap larutan uji, kemudian dihitung nilai rata-rata (x), simpangan standar (SD) dan %RSD. Dari hasil penelitian ini didapatkan %RSD sebesar 0.46%. Nilai ini telah memenuhi syarat keberterimaan RSD < 4,19% sehingga hasil ini dapat disimpulkan Presisi Memenuhi Syarat.

3. Akurasi

Hasil uji ketepatan dengan penentuan perolehan kembali (rekovery) diperoleh nilai perolehan kembali antara 99,06% - 100,44%. Hasil % Recovery yang didapat telah berada pada rentang yang diharapkan sehingga menunjukkan bahwa metode analisis penetapan kadar natrium siklamat secara HPLC ini telah mampu memberikan hasil yang akurat karena memberikan % rekovery yang dapat diterima (95% - 105%).

4. LOD dan LOQ

Hasil perhitungan diperoleh nilai LOD natrium siklamat sebesar 67,49µg/mL dan nilai LOQ sebesar 224,97 µg/mL. Metode yang dikembangkan memiliki LOD dan LOQ yang lebih besar dibandingkan dengan metoda HPLC BPOM. Hal ini menunjukkan bahwa LOD dan LOQ pada metoda pengembangan ini memiliki tingkat sensitivitas yang lebih rendah dibanding metode BPOM.

KESIMPULAN

Metoda HPLC baru berhasil dikembangkan dan divalidasi untuk analisis kadar natrium siklamat dalam minuman es teh. Metoda ini memenuhi parameter validasi (seperti linearitas, presisi, akurasi, LOD dan LOQ) sehingga terbukti layak digunakan untuk

penetapan kadar natrium siklamat. Selanjutnya, metanol dengan konsentrasi 5% terbukti optimal sebagai pengganti komponen eluen yang lebih mahal atau kompleks. Penggunaan Metanol konsentrasi rendah ini memberikan efisiensi pemisahan yang baik, waktu analisis yang memadai, serta menawarkan solusi yang lebih ekonomis dan mudah dipersiapkan. Penggunaan fase gerak methanol 5% tidak hanya menekan biaya analisis tetapi juga menyederhanakan prosedur pengujian, secara keseluruhan penelitian ini berhasil menyediakan metode alternatif yang praktis dan ekonomis.

DAFTAR PUSTAKA

Aparnathi, K. D. (2017). Chemistry and use of artificial intense sweeteners. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6*(6), 1283–1296. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.606.151

Arsyad, M., Wahidah, N., & Hasyim, A. (2018). Optimasi Metode HPLC untuk Analisis Siklamat dalam Minuman Ringan dengan Variasi Fase Gerak. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 16*(2), 178–185

Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2019). *Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan*. https://peraturan.go.id/id/peraturan-bpom-no-11-tahun-2019

Cahyadi, W. (2008). *Analisis & Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan* (2nd ed.). Bumi Aksara

Charde, M. S., Welankiwar, A. S., & Chakole, R. D. (2014). A review on HPLC method development. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development, 6*(7), 8–21

Ermer, J., & Miller, J. H. McB. (Eds.). (2005). *Method validation in pharmaceutical analysis: A guide to best practice*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/3527604685

Handayani, T., & Agustina, A. (2015). Penetapan Kadar Pemanis Buatan (Na-Siklamat) pada Minuman Serbuk Instan dengan Metode Alkalimetri. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis, 1*(1), 1–6. https://journal.unimma.ac.id/index.php/pharmacy/article/view/49

Harvey, D. (2000). *Modern analytical chemistry*. McGraw-Hill

Jamilatun, M., Lukito, P. I., & Astuti, I. D. (2022). Sodium cyclamate identification and determination of dawet ice sold in Wedi District Indonesia. *Food ScienTech Journal, 4*(1), 69. https://doi.org/10.33512/fsj.v4i1.14206

Lembek, B. A., & Fauziyyah, A. (2023). Analisis Kadar Siklamat dalam Minuman Ringan di Kecamatan Jakabaring Kota Palembang Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) Detektor ELSD. *SAINTEKES: Jurnal Sains, Teknologi dan Kesehatan, 2*(3), 434–442. https://doi.org/10.55681/saintekes.v2i3.158

Melinda, L., Kurniawan, D., & Pramaningsih, V. (2022). Identifikasi Pemanis Buatan (Siklamat) pada Penjual Minuman Es Teh Keliling di Sekolah Dasar Kelurahan Melayu Kecamatan Tenggarong. *Environmental Occupational Health and Safety Journal, 3*(1), 21. https://doi.org/10.24853/eohjs.3.1.21-28

Riyanto. (2014). *Validasi dan Verifikasi Metode Uji*. Deepublish

Shah, H., Jain, A., Laghate, G., & Prabhudesai, D. (2020). Pharmaceutical excipients. In A. Adejare (Ed.), *Remington: The science and practice of pharmacy* (23rd ed., pp. 633–643). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820007-0.00032-5

Wahyudiana, C. N., & Herdini. (2019). Analisis Rhodamin B pada Sediaan Perona Mata yang Diperoleh di Kabupaten Bekasi dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian, 12*(2), 70–77

Yani, A. P., Indriati, G., & Hidayat, Y. (2023). Uji Bakteriologis Jajanan Minuman di Sekolah Dasar Negeri Kecamatan Padang Timur. *Jurnal PGRI, 1*(3), 1–5. http://jim.stkip-pgri-sumbar.ac.id/jurnal/download/2436