

Analisis Kadar Natrium Benzoat pada Sirup Kayu Manis dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Analysis of Sodium Benzoate Levels in Cinnamon Syrup Using High Performance Liquid Chromatography Method

Armini Hadriyati*, Mukhlis Sanuddin, Aulia Fitri
Program Studi Farmasi, STIKES Harapan Ibu Jambi

*E-mail: arminimuas55@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.26874/jkk.v3i2.55>

Received: 15 Oct 2020, Revised: 23 Oct 2020, Accepted: 9 Nov 2020, Online: 26 Nov 2020

Abstrak

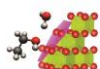
Natrium benzoat pada sirup kayu manis digunakan sebagai pengawet. Penggunaan natrium benzoat sudah diatur oleh BPOM yaitu tidak boleh melebihi 600 mg/kg. Mengonsumsi minuman yang mengandung natrium benzoat secara terus menerus dapat memicu kanker, karena natrium benzoat bersifat karsinogen didalam tubuh. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya kandungan dan kadar natrium benzoat didalam sirup kayu manis. Sampel sirup kayu manis yang diteliti sebanyak 2 sampel. Metode yang digunakan adalah kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik. Fase gerak yang digunakan *methanol:aquabidest* (3:97), fase diam *oktadesil silika* dengan dimensi kolom 250 × 4,6 mm, laju alir 1 mL/menit, detektor UV-Vis 225 nm, dan volume injeksi 20 µL. Kandungan natrium benzoat yang diperoleh pada sampel sirup kayu manis 1 yaitu sebesar 113,53 mg/kg dan pada sampel sirup kayu manis 2 yaitu sebesar 103,36 mg/kg. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa sirup kayu manis terbukti mengandung natrium benzoat dan aman untuk dikonsumsi karena kadarnya tidak melebihi nilai ambang batas maksimum yang diizinkan.

Kata kunci: KCKT; Pengawet; Sirup; Kayu Manis

Abstract

*The sodium benzoate in cinnamon syrup is used as a preservative. The use of sodium benzoate has been regulated by the BPOM, which should not exceed 600 mg / kg. Consuming drinks containing sodium benzoate continuously can trigger cancer, because sodium benzoate is a carcinogen in the body. The purpose of this research was to determine the content and levels of sodium benzoate in cinnamon syrup. Cinnamon syrup samples researched were 2 samples. The method used was reverse phase high performance liquid chromatography. The mobile phase used was *methanol: aquabidest* (3:97), *octadecyl silica* stationary phase with column dimensions of 250 × 4.6 mm, flow rate of 1 mL / minute, UV-Vis detector 225 nm, and injection volume of 20 µL. The sodium benzoate content obtained in the cinnamon syrup 1 sample was 113.53 mg / kg and the cinnamon syrup 2 sample was 103.36 mg / kg. Based on this research, it can be ignored that cinnamon syrup is proven to contain sodium benzoate and is safe for consumption because its levels do not exceed the maximum permissible threshold value.*

Keywords: Cinnamon syrup; HPLC method; Preservative



1 Pendahuluan

Dalam kehidupan sehari-hari, penggunaan bahan pengawet sering ditemukan hampir pada semua jenis makanan dan minuman. Salah satu contoh penggunaan bahan pengawet pada minuman seperti pada sirup. Sirup salah satu minuman yang sangat digemari oleh masyarakat luas karena cita rasanya yang sangat enak, cocok diminum pada saat kapanpun dan dimanapun. Bahan pengawet yang sering digunakan pada minuman yaitu natrium benzoat, karena natrium benzoat mudah larut dalam air [1]. Penggunaan natrium benzoat ini berfungsi menghambat pertumbuhan mikroorganisme seperti kapang, khamir, dan bakteri, serta penggunaan memperpanjang masa simpan produk [2].

Batas aman penggunaan natrium benzoat pada makanan dan minuman sudah diatur oleh berbagai organisasi di dunia bahkan di Indonesia. Menurut Khade & Mirgane (2014) yang mengutip dari *Food and Drug Administration* (FDA), natrium benzoat direkomendasikan sebagai GRAS (*Generally Recognized A Safe*) dengan batas maksimum konsentrasi yang diizinkan 0,1% [3]. Penggunaan batas maksimum natrium benzoat sebagai bahan tambahan pangan di Indonesia sudah diatur dalam Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 36 Tahun 2013 yaitu 600 mg/kg [4].

Penggunaan natrium benzoat sebagai bahan pengawet seringkali disalahgunakan, seperti penggunaan yang melebihi batas maksimum yang diizinkan. Supriyatin (2019) mengemukakan dari 3 sampel minuman isotonik yang ditelitinya, hanya satu merek minuman isotonik yang mengandung natrium benzoat [5]. Penggunaan natrium benzoat secara terus-menerus dampaknya baru akan terasa beberapa waktu kemudian setelah terakumulasi dalam tubuh karena natrium benzoat bersifat karsinogen di dalam tubuh.

Hilda (2015) menyatakan, penggunaan bahan pengawet seperti natrium benzoat dari satu sisi menguntungkan karena bisa menghambat pertumbuhan mikroba [6]. Namun dari sisi lain, bahan pengawet pada dasarnya adalah senyawa kimia yang merupakan bahan asing yang masuk bersama bahan pangan yang dikonsumsi. Apabila pemakaian jenis pengawet dan dosisnya tidak diatur maka menimbulkan kerugian bagi pemakai, seperti keracunan dan terakumulasinya pengawet dalam organ tubuh.

Penentuan kadar natrium benzoat pada penelitian ini, dianalisis dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi. Kromatografi cair kinerja tinggi memiliki resolusi yang tinggi, selektivitas dan sensitivitas yang sangat baik untuk fase normal maupun fase terbalik. Kromatografi cair kinerja tinggi ini juga mampu menganalisis sampel dalam jumlah relatif kecil dan waktu analisa cepat dan sangat baik [7].

2 Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah spatula, *beaker glass* (pyrex®), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Shimadzu LC-6AD®), kolom ODS (250 × 4,6 mm) (Shimadzu Simpack®), labu ukur (pyrex®), kertas saring whatman no. 1, cawan penguap, pipet volume (pyrex®), dan timbangan analitik.

Bahan yang digunakan adalah natrium benzoat (Merck®), *Aquabidest*, *methanol HPLC grade*, sampel sirup kayu manis.

Prosedur

Optimasi Fase Gerak

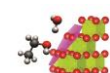
Optimasi fase gerak dilakukan dengan cara memvariasikan perbandingan komposisi fase gerak *methanol HPLC grade* dan *aquabidest*, dengan perbandingan (15:85). *Methanol HPLC grade* dan *aquabidest* dengan perbandingan (3:97). *Methanol HPLC grade* dan *aquabidest* dengan perbandingan (80:20).

Pembuatan Larutan Standar Natrium benzoat

Larutan standar natrium benzoat dibuat dengan cara menimbang sebanyak 0,01 g natrium benzoat, lalu dilarutkan dengan *methanol HPLC grade* dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 200 ppm [8].

Pembuatan Kurva Kalibrasi Larutan Standar Natrium Benzoat

Kurva kalibrasi dibuat dari larutan standar natrium benzoat dengan melakukan pengenceran dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm lalu masukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambah *methanol HPLC grade* sampai tanda batas. Masing-masing larutan disaring menggunakan kertas saring whatman no 1. Kemudian larutan diinjeksikan sebanyak 20 µL ke



alat kromatografi cair kinerja tinggi dengan menggunakan fase gerak *methanol HPLC grade* dan *aquabidest* dengan perbandingan yang optimal, fase diam *oktadesil silika*, laju aliran 1 mL/menit, detektor UV, λ 225 nm.

Penentuan Kadar dalam Sampel Sirup Kayu Manis

Penentuan kadar dilakukan dengan cara masing-masing sampel ditimbang 5 gram. Sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan dengan *methanol HPLC grade* sampai tanda batas. Larutan dipipet 5 mL, masukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan tambahkan *methanol HPLC grade* hingga tanda batas. Larutan sampel disaring menggunakan kertas saring whatman no 1. Setelah itu, sebanyak 20 μ L diinjeksikan ke alat kromatografi cair kinerja tinggi dengan menggunakan fase gerak *methanol HPLC grade* dan *aquabidest* dengan perbandingan yang optimal, fase diam *oktadesil silika*, laju alir 1 mL/menit, detektor UV, λ 225 nm, dan untuk setiap sampel dilakukan pengulangan 3 kali uji [8].

Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis kromatografi cair kinerja tinggi dari natrium benzoat dilakukan terhadap beberapa parameter yaitu, linearitas, akurasi, presisi, dan Sensitivitas. Linearitas diperoleh dari data pengukuran kurva kalibrasi, kemudian dianalisis dengan menggunakan persamaan regresi linear, sehingga diperoleh nilai korelasi (R^2) yang menunjukkan linearitas. Akurasi dilakukan dengan menguji di KCKT, larutan standar natrium benzoat 10 ppm ditambahkan dengan larutan sampel lalu diinjeksikan sebanyak 20 μ L, lakukan 3 kali pengulangan pada masing-masing sampel. Uji presisi dilakukan dengan cara membuat larutan standar natrium 10 ppm, lalu diinjeksikan sebanyak 20 μ L, lakukan 6 kali pengulangan. Uji Sensitivitas diperoleh dari persamaan regresi linear yang digunakan untuk menghitung batas deteksi (LoD) dan batas kuantifikasi (LoQ).

3 Hasil dan Diskusi/ Result and Discussion

Kadar natrium benzoat dalam sampel sirup kayu manis dianalisis dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik, maka fase diam yang digunakan yaitu *oktadesil silika* (ODS) yang bersifat nonpolar dan fase

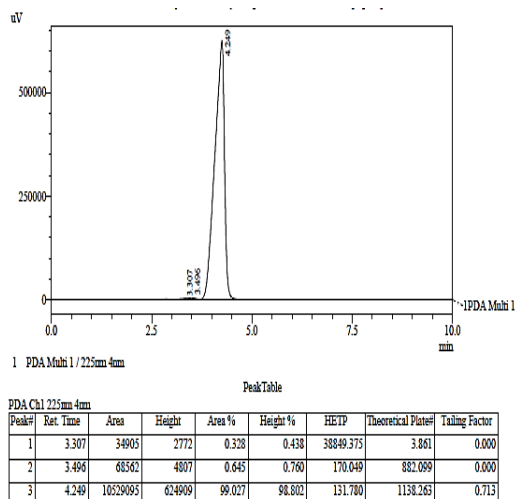
geraknya menggunakan metanol dan *aquabidest* yang bersifat polar. Pada kromatografi cair kinerja tinggi fase terbalik senyawa-senyawa polar akan terelusi lebih awal [9]. Penggunaan fase diam *oktadesil silika* dipilih karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi [7]. Penggunaan fase gerak metanol dan *aquabidest* dikarenakan natrium benzoat memiliki kelarutan yang baik dalam kedua fase gerak tersebut. Fungsi dari fase gerak adalah melarutkan campuran zat, mengangkat dan membawa komponen yang akan dipisahkan melewati fase diam sehingga memiliki waktu retensi dalam rentang yang sesuai [10].

Sebelum menganalisis suatu senyawa, harus dilakukan optimasi terlebih dahulu untuk mendapatkan hasil analisis yang baik dan optimal. Optimasi ini bertujuan untuk memastikan sistem operasi secara lengkap mulai dari instrumen, reagen, dan kolom telah cocok untuk menganalisis suatu senyawa. Hasil dari optimasi dapat dilihat dari faktor kapasitas, resolusi, faktor *tailing* dan efisiensi kolom [7].

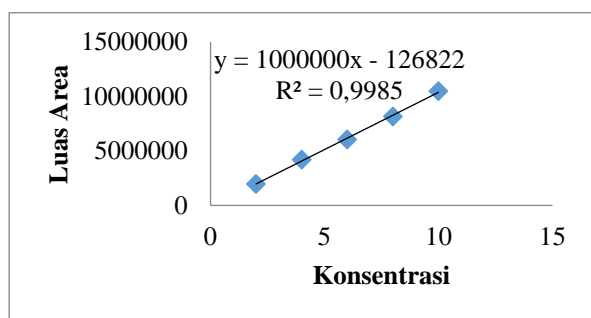
Berdasarkan dari hasil kromatogram optimasi fase gerak, dilakukan pengamatan terhadap waktu retensi natrium benzoat pada tiga perbandingan komposisi fase gerak yang digunakan. Waktu retensi adalah selang waktu yang diperlukan oleh analit mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan ditangkap oleh detektor [9]. Perbandingan komposisi fase gerak yang paling bagus yaitu dengan perbandingan komposisi fase gerak *methanol:aquabidest* (3:97) (Gambar 1), karena dilihat dari puncak kromatogram yang sudah bagus dengan satu puncak yang tajam, dan tidak ada pengotor serta puncak satu dengan lainnya tidak terlalu berdekatan, jika puncak kromatogramnya berdekatan akan mempengaruhi luas area yang didapatkan.

Berdasarkan kurva kalibrasi yang diperoleh, didapatkan persamaan regresi linear $y = 1000000x - 126822$ dengan nilai korelasi (R^2) = 0,9985 (Gambar 2). Berdasarkan perolehan nilai korelasi yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa analisis natrium benzoat dalam rentang 2–10 ppm merupakan analisis yang valid dan memenuhi syarat linearitas karena nilai r yang mendekati angka 1 menunjukkan hubungan linear yang ideal, karena hubungan linear yang ideal dicapai jika $r = 1$ atau mendekati 1 [9].





Gambar 1. Kromatogram Komposisi Fase gerak *methanol:Aquabidset (3:97)*



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Larutan Natrium Benzoat

Penggunaan batas maksimum natrium benzoat sebagai bahan tambahan pangan di Indonesia sudah diatur dalam Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 36 Tahun 2013 yaitu 600 mg/kg [4], sedangkan menurut FDA (*Food and Drug Administration*) batas maksimum yang diizinkan yaitu 0,1% atau setara dengan 1000 mg/kg. Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa kadar natrium benzoat pada sampel sirup kayu manis (Tabel 1) dapat dikatakan bahwa sirup kayu manis aman dikonsumsi, dikarenakan kadar natrium benzoat yang terkandung dalam sirup kayu manis tidak melebihi batas maksimum yang telah diatur dalam Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 36 Tahun 2013 dan sesuai dengan FDA (*Food and Drug Administration*).

Validasi metode analisis kromatografi cair kinerja tinggi dari natrium benzoat dilakukan terhadap beberapa parameter yaitu linearitas, akurasi, presisi, sensitivitas. Validasi metode analisis ini dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis yang digunakan sudah akurat, dapat dipercaya untuk digunakan untuk pengujian,

dan tahan pada kisaran analit yang dianalisis [7]. Linearitas ini diperoleh dari data pengukuran kurva kalibrasi, sehingga didapatkan persamaan garis kurva kalibrasi (Gambar 2). Linearitas digunakan untuk mengetahui hubungan linear antara konsentrasi analit dengan respon detektor [11]. Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan sudah linear, karena nilai korelasi (R^2) mendekati angka 1.

Uji akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *Recovery*) analit yang ditambahkan. Persen perolehan kembali (% *Recovery*) dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil sebenarnya. Berdasarkan data yang diperoleh (Tabel 2) % *Recovery* yang diperoleh pada sirup kayu manis dengan metode ini dapat diterima karena memenuhi persyaratan, dimana syarat keberterimaan dengan % *Recovery* rentang 80% - 120%.

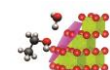
Tabel 1. Hasil Penetapan Kadar Natrium Benzoat dalam Sampel

Sampel	Luas Area	Kadar (mg/kg)	Kadar rata-rata (mg/kg)
Sirup Kayu Manis I	5662072	114,60	113,53
Sirup Kayu Manis II	5123398	103,16	103,36

Tabel 2. Hasil Uji Akurasi

Sampel	% Recovery
Sirup Kayu Manis I	105,6
Sirup Kayu Manis II	102,07

Presisi didapatkan dari penyuntikan berulang larutan standar yang diketahui konsentrasinya untuk menunjukkan kinerja alat pada kondisi dengan batas presisi $RSD < 2\%$. Hasil % RSD yang didapatkan dari uji presisi yaitu sebesar 0,255% (Tabel 3). Berdasarkan % RSD yang didapatkan metode yang digunakan dapat dikatakan sudah teliti karena tidak melebihi angka 2 [12].



Tabel 3. Hasil Uji Presisi

X (ppm)	xi (ppm)	(xi - xi) ²	SD	% RSD
10	10,64122	0,00005065169	0,03	0,3%
10	10,622386	0,00137288089		
10	10,634595	0,00000024206		
10	10,630251	0,00001483790		
10	10,637194	0,00000955428		
10	10,638974	0,00002372664		

LoD (*Limit of Detection*) dan LoQ (*Limit of Quantification*) didapatkan dari persamaan regresi linier kurva kalibrasi. LoD ditentukan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih bisa dideteksi dan nilai LoD yang diperoleh sebesar 1,049 µg/mL. LoQ ditentukan untuk mengetahui konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih bisa diukur dengan akurat dan hasil LoQ diperoleh sebesar 3,497 µg/mL. Berdasarkan nilai LoD dan LoQ yang didapatkan lebih rendah dibandingkan konsentrasi natrium benzoat dalam penetapan kadar. Oleh karena itu, kurva kalibrasi yang diperoleh sebelumnya dapat digunakan untuk analisis kuantitatif senyawa natrium benzoat, selama konsentrasi yang digunakan berada di atas nilai LoD dan LoQ [12].

4 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa, dari kedua sampel sirup kayu manis yang diteliti terbukti mengandung natrium benzoat. Kadar natrium benzoat dalam sampel sirup kayu manis I yaitu sebesar 113,53 mg/kg dan kadar sampel sirup kayu manis II yaitu 103,36 mg/kg. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan kadar natrium benzoat dalam sirup kayu manis masih berada di bawah nilai ambang batas maksimum.

Daftar Pustaka

- [1] Bakhtra, D. D. A., Zulharmita, Z., & Sriyanti, N. Analisis Kadar Natrium Benzoat pada Jahe Giling Halus (*Zingiberis officinale* Rosc.) secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Jurnal Farmasi Higea*. 2017. 9(2): 176-184.
- [2] Azmi, D. A., Elmatris, E., & Fitri, F. Identifikasi Kualitatif dan Kuantitatif Natrium Benzoat pada Saus Cabai yang Dijual di Beberapa Pasar di Kota

Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2020. 9(1S).

- [3] Khade, V., & Mirgane, S. High-performance liquid chromatography method for the analysis of sodium benzoate. *Int J Sci & Eng Res*. 2014. 5(10): 1382-1384.
- [4] BPOM RI. *Peraturan Kepala BPOM RI Nomor 36 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pengawet*. Jakarta. 2013.
- [5] Supriyatin, S. Penetapan Kadar Natrium Benzoat Pada Minuman Isotonik Berbagai Merk Yang Dijual Disalah Satu Swalayan Kota Cirebon. *Syntax Literate; Jurnal Ilmiah Indonesia*. 2019. 4(4): 192-199.
- [6] Hilda, N. Pengaruh pengawet benzoat terhadap kerusakan ginjal. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera*. 2015. 13(2): 14-21.
- [7] Gandjar dan Rohman. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. 2007.
- [8] Rahmawati, R., Kosman, R., Effendi, N., & Ismayani, N. Analisis Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Produk Minuman Berkarbonasi dengan Metode HPLC. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2014. 6(2): 112-117.
- [9] Susanti dan Dachriyanus. *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Padang: LPTIK UNAND. 2017.
- [10] Saleh, E. K. Karakterisasi Puncak Kromatogram dalam HPLC Terhadap Perbedaan Fase Gerak, Laju Alir dan Penambahan Asam. *Kandaga-Media Publikasi Ilmiah Jabatan Fungsional Tenaga Kependidikan*. 2019. 1(2).
- [11] Rizalina, H., Cahyono, E., Mursiti, S., Nurcahyo, B., & Supartono, S. Optimasi Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan Gas Chromatography. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 2018. 7(3): 254-261.
- [12] Andayani, R., Martinus, B. A., & Putri, Y. G. Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Zat Pengawet Natrium Benzoat pada Cabe Merah Giling Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *SCIENTIA: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*. 2016. 6(2): 133-138.

