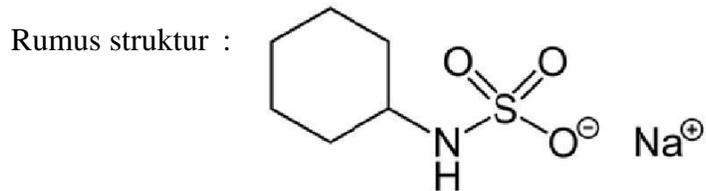


BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Siklamat

1. Karakteristik Fisika Kimia



Rumus molekul : C₆H₁₂NNaO₃S

Nama kimia : Sodium N-Cyclohexylsulfamate

Berat molekul : 201,2 g/mol

Pemerian : Kristal putih tidak berbau, berasa sangat manis.

Kelarutan : Larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol, tidak larut dalam kloroform dan eter.

2. Penggunaan

Penggunaan utama dari siklamat adalah sebagai pemanis dalam minuman diet dan makanan rendah kalori. Seperti pemanis rendah kalori lainnya, siklamat bermanfaat untuk mengontrol berat badan, mengelola diabetes, atau membantu mencegah kerusakan gigi. Stabilitas panas, tingkat kemanisan yang tinggi dan keunggulan teknologi lainnya juga membuat senyawa tersebut

digunakan bagi banyak sediaan farmasi dan perlengkapan mandi (Council Calorie Control, 2015).

3. Efek Samping

Sebuah studi mengungkapkan bahwa sebanyak 0,1% siklamat yang dikonsumsi akan bermetabolisme menjadi sikloheksilamin dalam urin. Sebagian senyawa sikloheksilamin akan mengendap di dalam plasma darah dan meningkatkan tekanan darah (Nabors & O'Brien, 2001). Hasil penelitian pada hewan uji juga mengungkapkan bahwa testis tikus merupakan organ yang paling sensitif terhadap sikloheksilamin, sehingga menyebabkan atrofi pada testis. Efek ini yang digunakan oleh *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) dan lembaga lainnya sebagai dasar untuk menentukan *Acceptable Daily Intake* (ADI) dari siklamat (Nabors & O'Brien, 2001). Batas ADI menurut BPOM adalah sebesar 11 mg/kg/bb/hari. Paparan senyawa tersebut secara berulang-ulang dengan dosis tinggi dapat menyebabkan kerusakan hati dan ginjal (New Jersey Department of Health, 2010).

B. Minuman Berenergi

Minuman berenergi adalah jenis minuman yang ditujukan untuk menambah energi seseorang yang meminumnya. Bagi beberapa orang, minuman energi diminum dengan tujuan untuk mencegah rasa kantuk. Minuman energi (*energy drink*) sejenis minuman ringan (*soft drink*) yang

mengandung kafein dan zat stimulan lainnya seperti efedrin, guarana, dan ginseng. Di amerika serikat minuman energi termasuk minuman ringan. Tetapi di Indonesia minuman energi termasuk dalam kategori suplemen makanan atau minuman kesehatan. Minuman ini tidak mengandung lebih banyak kalori dibanding minuman ringan, namun dipercaya dapat meningkatkan stamina bagi orang yang meminumnya (Paddock, 2008).

C. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. Hal ini didukung oleh sistem pompa tekanan tinggi, kemajuan dalam teknologi kolom, dan detektor yang sangat sensitif dan beragam. KCKT mampu menganalisa berbagai cuplikan secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal maupun campuran (Ditjen POM, 1995).

KCKT merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel pada berbagai bidang, antara lain: farmasi, lingkungan dan industri-industri makanan (Gandjar & Rohman, 2007).

Kegunaan umum KCKT adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis, analisis ketidakmurnian (*impurities*), analisis senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap

(nonvolatil), penentuan molekul-molekul netral, ionik, maupun zwitter ion, isolasi dan pemurnian senyawa, pemisahan senyawa-senyawa yang strukturnya hampir sama, pemisahan senyawa-senyawa dalam jumlah sedikit (*trace elements*), dalam jumlah banyak, dan dalam skala proses industri. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif (Gandjar & Rohman, 2007).

Keuntungan dari penggunaan KCKT antara lain (Johnson & Stevenson, 1991):

a. Waktu analisis cepat.

Biasanya waktu analisis kurang dari satu jam, banyak analisis yang dapat dilakukan dalam waktu 15-30 menit, untuk analisis yang tidak rumit dapat dicapai waktu analisis yang kurang dari 5 menit.

b. Daya pisahnya baik.

Kemampuan pelarut untuk berinteraksi secara selektif dengan fase diam dan fase gerak memberikan parameter tambahan untuk mencapai parameter yang dikehendaki.

c. Peka, kepekaan sangat tergantung pada jenis detektor dan eluen yang digunakan.

d. Pemilihan kolom dan eluen sangat bervariasi.

e. Kolom dapat dipakai kembali.

- f. Mudah untuk memperoleh kembali cuplikan.
- g. Dapat menghitung sampel dalam kadar yang sangat rendah.
- h. Dapat digunakan untuk molekul besar dan kecil.

1. Jenis KCKT

Hampir semua jenis campuran solut dapat dipisahkan dengan KCKT karena banyaknya fase diam yang tersedia dan selektifitas yang dapat ditingkatkan dengan mengatur fase gerak. Pemisahan dapat dilakukan dengan fase normal atau fase terbalik tergantung pada polaritas relatif fase diam dan fase gerak. Berdasarkan pada kedua pemisahan ini, KCKT dikelompokkan menjadi KCKT fase normal dan KCKT fase terbalik. Berdasarkan mekanisme interaksi antara analit dengan fase diam, kromatografi cair dapat dibagi menjadi 4 metode, yakni: kromatografi fase normal (*normal phase chromatography*) atau disebut juga kromatografi adsorpsi (*adsorption chromatography*), kromatografi fase balik (*reversed-phase chromatography*), kromatografi penukar ion (*ion-exchange chromatography*) dan kromatografi eksklusi ukuran (*size-exclusion chromatography*) (Gandjar & Rohman, 2007).

Kromatografi fase balik menggunakan fase diam dari silika yang dimodifikasi secara kimiawi. Fase diam yang paling populer digunakan adalah oktadesilsilan (ODS atau C₁₈) yang relatif non polar sedangkan fase geraknya relatif lebih polar daripada fase diam. Kondisi kepolaran kedua fase ini

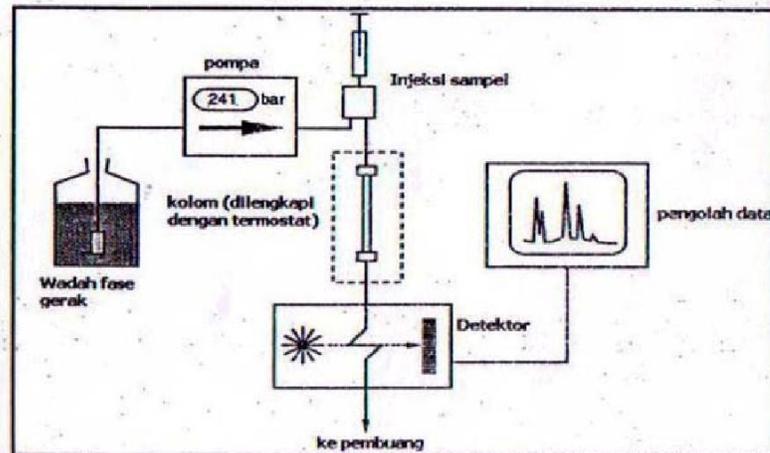
merupakan kebalikan dari kromatografi fase normal sehingga disebut kromatografi fase balik (Meyer, 2010).

2. Cara Kerja KCKT

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 alam fase gerak dan fase diam. Penggunaan kromatografi cair membutuhkan penggabungan secara tepat dari berbagai macam kondisi operasional seperti jenis kolom, fase gerak, panjang dan diameter kolom, kecepatan alir fase gerak, suhu kolom, dan ukuran sampel (Gandjar & Rohman, 2007).

3. Instrumen KCKT

Instrumen KCKT tersusun atas 6 bagian dasar, yakni wadah fase gerak (*reservoir*), pompa (*pump*), tempat injeksi sampel (*injector*), kolom (*coloumn*), detector (*detector*), dan perekam (*recorder*) (McMaster, 2007). Ilustrasi instrument dasar KCKT dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Instrumen KCKT

a. Wadah Fase Gerak

Wadah fase gerak harus bersih dan inert. Wadah pelarut kosong atau labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak. Wadah ini biasanya dapat menampung fase gerak antara 1 sampai 2 liter pelarut. Fase gerak sebelum digunakan harus dilakukan *degassing* (penghilangan gas) yang ada pada fase gerak, sebab adanya gas akan berkumpul dengan komponen lain terutama dipompa dan detektor sehingga akan mengacaukan analisis (Gandjar & Rohman, 2007).

b. Pompa

Pompa yang cocok digunakan untuk KCKT adalah pompa yang mempunyai syarat yakni: pompa harus inert terhadap fase gerak. Bahan yang umum dipakai untuk pompa adalah gelas, teflon, baja tahan karat,

dan batu nilam. Pompa yang digunakan sebaiknya mampu memberikan tekanan sampai 6000 psi dan mampu mengalirkan fase gerak dengan kecepatan alir 0,1 - 10 ml/menit. Aliran pelarut dari pompa harus tanpa denyut untuk menghindari hasil yang menyimpang pada detektor (Gandjar & Rohman, 2007).

c. Tempat Injeksi Sampel

Ada 3 jenis injektor, yakni *syringe injector*, *loop valve* dan *automatic injector (autosampler)*. Syringe injector merupakan bentuk injektor yang paling sederhana (Meyer, 2010).

Katup putaran (*loop valve*), umumnya digunakan untuk menginjeksi volume yang lebih besar dari 10 μ l dan dapat dengan cara otomatis (dengan adaptor khusus, volume-volume lebih kecil dapat diinjeksikan secara manual). Jika katup difungsikan, maka cuplikan di dalam putaran akan bergerak ke dalam kolom (Meyer, 2010). *Automatic injector* atau disebut juga *autosampler* memiliki prinsip yang mirip, hanya saja sistem penyuntikannya bekerja secara otomatis (Meyer, 2010).

d. Kolom

Kolom kinerja tinggi yang dapat meminimalkan pelebaran puncak sampel adalah jantung dari sistem kromatografi cair modern. Efisiensi kolom tertinggi dapat dicapai dengan menggunakan kolom yang dikemas

dengan padat, seragam, dan berdiameter 5 - 10 μm .

Kolom dengan diameter 2 – 5 mm biasanya digunakan untuk analisis. Kolom yang lebih lebar dengan diameter antara 10 mm sampai 1 inchi (25,4 mm) dapat digunakan untuk pekerjaan preparatif. Kolom dengan panjang 5, 10, 15, atau 25 cm umum digunakan pada fase diam mikropartikel berukuran 10 μm ke bawah. Kolom yang lebih panjang meningkatkan volume retensi, sehingga mengurangi konsentrasi puncak pada zat yang terelusi.

Pada umumnya kolom dibuat dari stainless steel, tahan terhadap tekanan KCKT normal dan relatif inert terhadap korosi kimiawi (Meyer, 2010).

e. Detektor

Detektor pada KCKT dikelompokkan menjadi 2 golongan, yaitu detektor universal (yang mampu mendeteksi zat secara umum, tidak bersifat spesifik, dan tidak selektif) seperti detektor indeks bias dan detektor spektrometri massa; dan golongan detektor yang spesifik dan selektif, seperti detektor UV-Vis, detektor fluoresensi dan elektrokimia (Gandjar & Rohman, 2007).

Idealnya, suatu detektor harus mempunyai karakteristik sebagai berikut:

- 1) Mempunyai respon terhadap solut yang cepat dan reproduibel.
- 2) Mempunyai sensitifitas yang tinggi, yakni mampu mendeteksi solut pada kadar yang sangat kecil.
- 3) Mempunyai sel volume yang kecil untuk meminimalkan pelebaran pita.
- 4) Sinyal yang dihasilkan berbanding lurus dengan konsentrasi solut pada kisaran yang luas (kisaran dinamis linier).
- 5) Tidak peka terhadap perubahan suhu dan kecepatan alir fase gerak
- 6) Stabil dalam pengoperasian (Gandjar & Rohman, 2007).

f. Pengolahan Data

Komponen yang terelusi mengalir ke detektor dan dicatat sebagai puncak-puncak yang secara keseluruhan disebut sebagai kromatogram (Johnson & Stevenson, 1991).

Alat pengumpul data seperti komputer, integrator, atau rekorder, dihubungkan dengan detektor. Alat ini akan mengukur sinyal elektronik yang dihasilkan oleh detektor lalu memplotkannya sebagai suatu kromatogram yang selanjutnya dapat dievaluasi oleh seorang analis atau pengguna (Gandjar & Rohman, 2007).

4. Validasi Metode

Validasi merupakan persyaratan mendasar yang diperlukan untuk menjamin kualitas dan hasil dari semua aplikasi analitik (Ermer, 2005). Adapun karakteristik dalam validasi metode menurut USP (*United States Pharmacopeia*) yaitu akurasi (ketepatan), presisi, spesifisitas/ selektifitas, batas deteksi, batas kuantitasi, linieritas, rentang/kisaran, kekuatan/ketahanan, dan kekasaran/ketangguhan.

a. Akurasi (Kecermatan)

Akurasi atau kecermatan merupakan kedekatan antara nilai terukur (nilai rata-rata hasil analisis) dengan nilai yang diterima sebagai nilai sebenarnya, baik nilai konvensi, nilai sebenarnya ataupun nilai rujukan. Nilai akurasi juga dapat dijadikan sebagai petunjuk kesalahan sistematis (Rohman, 2009).

b. Presisi (Keseksamaan)

Presisi atau keseksamaan merupakan ukuran kedekatan antar serangkaian hasil analisis yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada sampel homogen yang sama. Konsep presisi diukur dengan simpangan baku. Dokumentasi presisi seharusnya mencakup simpangan baku, simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (KV) (Rohman, 2009).

c. Spesifisitas (Selektifitas)

Spesifisitas/selektifitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradatif dan komponen lain dari sampel (Ermer, 2005).

d. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi (LOD dan LOQ)

Batas deteksi atau *limit of detection* (LOD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi atau *limit of quantification* (LOQ) merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dan kurva (Harmita, 2004).

e. Linearitas dan Rentang

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasi analit pada kisaran yang diberikan. Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x). Linieritas dapat diukur dengan melakukan

pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh selanjutnya diproses dengan metode kuadrat terkecil, untuk selanjutnya dapat ditentukan nilai kemiringan, intersep dan koefisien relasinya. Rentang adalah jarak antara level terbawah dan teratas dari metode analisis yang telah dipakai untuk mendapatkan presisi, linearitas dan akurasi yang bisa diterima (Rohman, 2009).

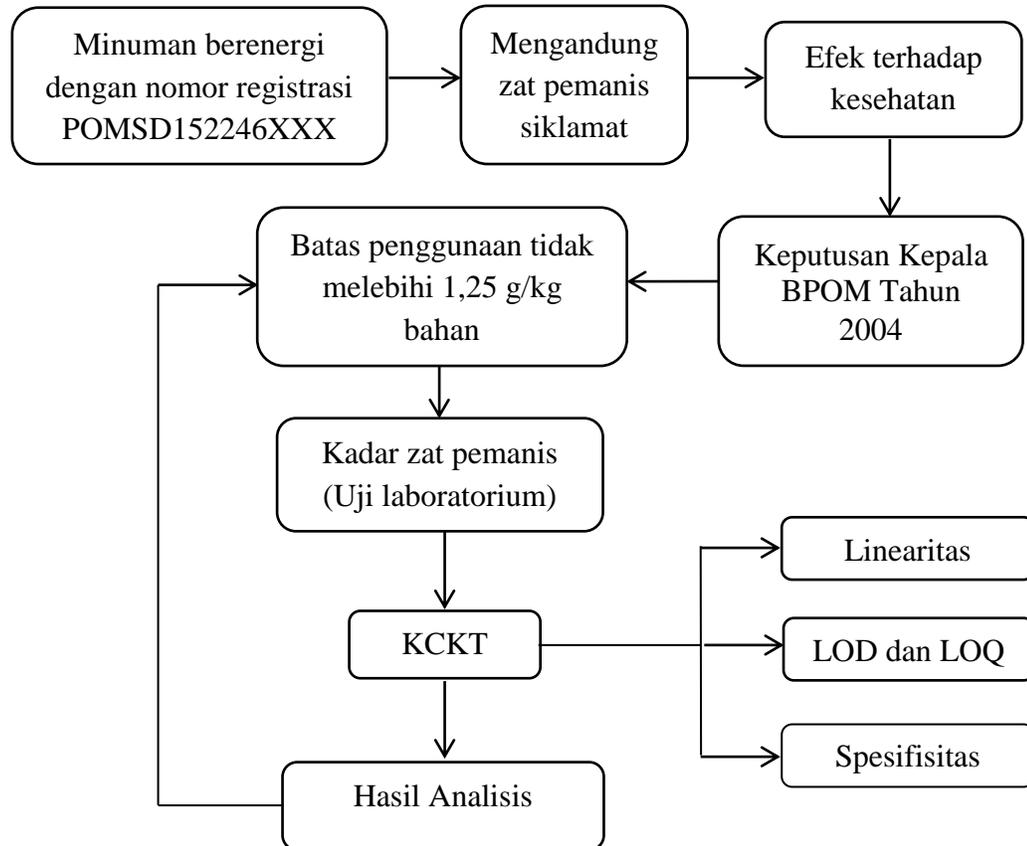
f. Kekuatan (Ketahanan)

Kekuatan/ketahanan merupakan pengujian kemampuan dari suatu metode untuk tidak terpengaruh oleh adanya perubahan parameter dalam melakukan metode analitik seperti persentase kandungan pelarut organik dalam fase gerak, pH larutan dapar, waktu pengekstraksian analit, komposisi pengekstraksi dan perbandingan konsentrasi fase gerak (Epshtein, 2004).

g. Kekasaran (Ketangguhan)

Kekasaran/ketangguhan merupakan tingkat reproduibilitas hasil yang diperoleh dengan kondisi yang bervariasi dan dinyatakan sebagai simpangan baku relatif. Kondisi ini meliputi laboratorium, analisis, reagen dan waktu percobaan yang berbeda (Gandjar & Rohman, 2007).

D. Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

E. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah kadar siklamat dalam minuman berenergi dengan nomor registrasi POMSD152246XXX memenuhi persyaratan menurut Keputusan Kepala BPOM Tahun 2004, yaitu tidak lebih dari 1,25 g/kg bahan.