

87
FAR

LAPORAN PENELITIAN
METODA ANALISA SAKARIN DAN SIKLAMAT DALAM MINUMAN

1982 — 1983

PUSAT PENELITIAN FARMASI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
J A K A R T A

LAPORAN PENELITIAN

METODA ANALISA SAKARIN DAN SIKLAMAT DALAM MINUMAN

1982 — 1983

PUSAT PENELITIAN FARMASI

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.

J A K A R T A

PERSONALIA PENELITIAN

Susunan personalia pada Penelitian Metoda Analisa Sakarin dan Siklamat dalam Minuman sesuai Surat Keputusan Pemimpin Proyek Penelitian Farmasi/Kepala Pusat Penelitian Farmasi No. 360/BPPK/SK/V/04/1982 tanggal 22 April adalah sebagai berikut :

Ketua Pelaksana	: Dra. Sri Mulangsih
Peneliti Utama	: Dra. Kiswarini Suparmo
Peneliti	: Dra. Dedey Herlinawati Dra. Lely Indratni
Pembantu Pelaksana	: Jasmaini Ilyas B.Sc. Nikmah B. Sri Sugihati Mira Mulyani
Pembantu administrasi	: Drs. Halomoan Sihotang
Tenaga Ahli	: Drs. Sumitro Ny. Sri Budiyaniti MS.

Ikut serta dalam penelitian ini :

Dra. Koesmijati Widodo M.Sc.
Dra. Itawati Pratanata M.Sc.(Hoas)
Nella Utama

DAFTAR ISI

	Halaman
Personalia Penelitian	i
Daftar isi	ii
Daftar tabel	iii
Daftar lampiran	iv
Abstrak	v
I. Pendahuluan	1
II. Bahan dan cara	3
III. Hasil Penelitian	8
IV. Diskusi	22
V. Kesimpulan dan Saran	27
VI. Daftar Pustaka	47

DAFTAR TABEL

Tabel

1. Metoda terpilih analisa Sakarin dan Siklamat dari hasil scoring untuk reaksi pendahuluan	8
2. Metoda terpilih analisa Sakarin dan Siklamat dari hasil scoring untuk kromatografi lapisan tipis (KLT)	9
3. Hasil reaksi warna dari ekstrak Sakarin dalam sirop, minuman ringan, larutan gula 55% dan 10% dengan metoda I terpilih.	10
4. Hasil reaksi warna dari ekstrak Sakarin dalam sirop, minuman ringan, larutan gula 55% dan larutan 10% dengan metoda II terpilih	10
5. Hasil reaksi warna dari ekstrak Siklamat dalam sirop, minuman ringan, larutan gula 55% dan larutan 10% dengan metoda II terpilih	12
6. Hasil reaksi pengendapan Siklamat dalam sirop, minuman ringan, larutan gula 55% dan 10% dan kadar terkecil yang masih dapat mengendap dengan metoda I terpilih.	12
7. Hasil KLT larutan standar Sakarin dan Siklamat	14
8. Hasil percobaan batas deteksi Sakarin dan Siklamat dengan metoda terpilih	15
9. Hasil pemeriksaan sirop dari pasaran yang terdaftar terhadap Sakarin dan Siklamat	15
10. Hasil pemeriksaan sirop dari pasaran yang tidak terdaftar terhadap Sakarin dan Siklamat	16
11. Hasil pemeriksaan minuman ringan dari pasaran yang terdaftar terhadap Sakarin dan Siklamat	18
12. Hasil pemeriksaan minuman ringan dari pasaran yang tidak terdaftar terhadap Sakarin dan Siklamat	19
13. Hasil pemeriksaan sirop di pasaran terhadap Sakarin dan Siklamat	20
14. Hasil pemeriksaan minuman ringan di pasaran terhadap Sakarin dan Siklamat	21

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1.	Hasil scoring metoda reaksi warna Sakarin dan Siklamat dari metoda yang telah terkumpul	28
2.	Hasil scoring metoda pengendapan Sakarin dan Siklamat dari metoda yang telah terkumpul	29
3.	Hasil scoring metoda kromatografi lapisan tipis (KLT) Sakarin dan Siklamat dari metoda yang telah terkumpul	30
4.	Hasil percobaan KLT larutan Sakarin dan Siklamat dengan metoda I dan metoda II terpilih	31
5.	Bahan	32
6.	Metoda analisa reaksi pendahuluan	33
7.	Metoda analisa reaksi penetapan (Metoda analisa dengan Kromatografi lapisan tipis)	34
8.	Cara pemeriksaan sampel yang diperoleh dari pasaran dengan metoda terpilih	40

ABSTRAK

Berdasarkan peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.235/MenKes/Per/VI/79, Sakarin dan Siklamat hanya boleh digunakan pada produksi makanan dan minuman yang berkalori rendah dengan jumlah tertentu untuk penderita diabetes. Dalam rangka pengawasan penyalahgunaan Sakarin dan Siklamat sebagai pemanis buatan yang lebih manis dan lebih murah dari pada gula, maka diperlukan penelitian untuk mendapatkan metoda pemeriksaan Sakarin dan Siklamat yang cukup spesifik, cepat, cukup murah dan sederhana yang dapat dilakukan di Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan di daerah.

Dengan cara "scoring" dan penelusuran pustaka dipilih 2 metoda pemeriksaan pendahuluan dan 2 metoda pemeriksaan penetapan dengan kromatografi lapisan tipis (KLT). Dan dilakukan pengujian di laboratorium terhadap 2 metoda terpilih tersebut yang meliputi reaksi pendahuluan, yakni reaksi pengendapan Siklamat dalam sirup, minuman ringan dan larutan gula; reaksi warna dari Sakarin dan Siklamat dalam sirup, minuman ringan dan larutan gula. Kemudian dengan metoda terbaik yang terpilih akan diperiksa sampel sirup dan minuman ringan dari DKI Jakarta, yang berlabel, yang terdaftar maupun yang tidak terdaftar di Dep.Kes.c.q. Dit.Jen.POM.

Cara terbaik untuk analisa Sakarin adalah dengan kromatografi lapisan tipis dengan menggunakan eluen n-butanol : alkohol : NH_4OH : H_2O = 40 : 4 : 1 : 9. Noda yang diperoleh dilihat di bawah sinar UV pada 254 nm.

Cara terbaik untuk analisa Siklamat adalah dengan kromatografi lapisan tipis dengan menggunakan eluen n-butanol : alkohol : NH_4OH : H_2O = 40 : 4 : 1 : 9, dan penampak noda 0,25% fluorescein dalam DMF alkohol (1:1), kemudian dipanaskan pada suhu 110°C .

Dari jumlah seluruh sampel sirop, baik yang terdaftar ataupun yang tidak terdaftar maka ternyata bahwa 50% mengandung Sakarin dan Siklamat, 7% mengandung Sakarin, 13% mengandung Siklamat dan 30% tidak mengandung Sakarin ataupun Siklamat. Dan dari jumlah seluruh sampel minuman ringan baik yang terdaftar ataupun yang tidak terdaftar ternyata bahwa 50% mengandung Sakarin dan Siklamat, tidak terdapat yang mengandung Sakarin saja, 17% mengandung Siklamat dan 33% yang tidak mengandung Sakarin ataupun Siklamat.

Kesimpulan dari penelitian ini ialah bahwa telah diperoleh cara-cara untuk analisa Sakarin dan Siklamat dalam minuman ringan dan sirop yang relatif sederhana, cepat, murah dan dapat dipercaya, yang dapat dipergunakan di laboratorium sederhana di daerah. Ternyata bahwa terdapat penyalahgunaan Sakarin dan Siklamat secara luas yang merupakan ancaman bagi keamanan sirop dan minuman ringan. Perlu sekali diadakan pengawasan yang lebih ketat oleh Dit. Jen POM untuk menjamin keamanan sirop dan minuman ringan.

I. PENDAHULUAN

Sakarin dan Siklamat merupakan bahan pemanis buatan yang banyak dipakai sebagai pengganti gula dan ternyata mempunyai rasa yang jauh lebih manis dari pada gula biasa, yaitu larutan Sakarin dalam air mempunyai rasa 500 kali lebih manis, sedangkan Siklamat 30 kali.

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 235/Men.Kes./Per./VI/79, Sakarin dan Siklamat hanya boleh digunakan pada hasil produksi makanan dan minuman berkalori rendah untuk penderita diabetes.

Dalam kenyataan Sakarin dan Siklamat pada saat ini merupakan bahan pemanis yang lebih murah bila dibandingkan dengan gula, oleh karena itu timbul dugaan adanya kemungkinan penyalahgunaan pemakaian Sakarin dan Siklamat dalam produksi makanan dan minuman. Hal ini sejalan dengan peningkatan perkembangan industri bahan baku Sakarin dan Siklamat yang sesuai dengan izin berdirinya yang diberikan oleh Departemen Perindustrian, berupa izin industri dan di luar pengawasan/wewenang Departemen Kesehatan R.I.

Sedang menurut WHO/FAO pada percobaan binatang, Sakarin dapat menimbulkan bahaya yaitu timbulnya kanker pada kandung kencing, sedang hasil metabolit dari Siklamat yaitu sikloheksilamin dapat bersifat mutagenik dan embriostatik (WHO/FAO 1971-1978).

Adapun metoda-metoda pemeriksaan di Indonesia untuk Sakarin adalah dengan reaksi rasa dan spektrofotometri; untuk Siklamat dengan gravimetri dan kromatografi lapisan tipis dengan penampak noda Brom-CCl_4 , yang susah dikerjakan, memerlukan waktu lama dan toksis.

Sehubungan dengan hal tersebut, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan, pertama untuk mendapatkan metoda pemeriksaan secara kualitatif dan semi kuantitatif untuk Sakarin dan Siklamat dalam minuman, yang cepat, spesifik, relatif sederhana, relatif murah dan sesuai dengan kondisi di Indonesia.

Kedua, mendapatkan data untuk mengetahui gambaran kemungkinan adanya penyalahgunaan Sakarin dan Siklamat dalam minuman. Karena keterbatasan biaya maka penelitian ini akan dilakukan pada ruang lingkup kecil, yaitu dalam sirup dan minuman ringan yang berlabel, yang beredar di pasaran di DKI Jakarta.

Penelitian ini dilakukan dengan mengumpulkan metoda-metoda pemeriksaan untuk reaksi pendahuluan dan kromatografi lapisan tipis. Kemudian dipilih 2 metoda dengan cara "scoring" berdasarkan kriteria-kriteria tertentu untuk diuji di laboratorium.

Pengujian laboratorium meliputi reaksi pendahuluan, yaitu pengendapan dari Siklamat dalam beberapa jenis minuman ringan, sirup dan larutan gula dalam perbandingan konsentrasi berbeda-beda, reaksi warna dari Sakarin dan Siklamat dalam sirup, minuman ringan dan larutan gula dengan konsentrasi berbeda-beda dan reaksi penetapan dengan kromatografi lapisan tipis untuk Sakarin dan Siklamat dalam sirup, minuman ringan dan larutan gula yang terdiri dari ekstraksi, identifikasi kualitatif dan identifikasi semi kuantitatif.

Dari hasil uji laboratorium ini maka ditentukan satu metoda terbaik.

Kedua, dengan metoda terbaik tersebut maka dilakukan pemeriksaan terhadap sampel sirup dan minuman ringan yang terdapat di pasaran di DKI Jakarta, baik yang terdaftar di Departemen Kesehatan c.q. Dit. Jen. POM maupun yang tidak terdaftar.

Karena keterbatasan biaya, maka jumlah sampel yang diambil adalah 30 sampel sirup dan 30 sampel minuman ringan.

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara quota sampling di mana setiap merk dagang yang dijumpai di pasaran diambil satu kemasan terkecil. Sampel diambil di lima (5) wilayah DKI Jakarta agar mendapatkan sampel yang lebih merata dan bervariasi.

Metoda terpilih hasil penelitian ini dan data adanya Sakarin dan Siklamat dalam minuman yang diperoleh, dapat digunakan oleh laboratorium pada Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan (BPOM) di daerah.

II. BAHAN DAN CARA

Penelitian ini meliputi :

- A. Penentuan metoda analisa adanya Sakarin dan Siklamat dalam sirop dan minuman ringan.
- B. Pemeriksaan kemungkinan adanya Sakarin dan Siklamat dalam sirop dan minuman ringan di pasaran.

ad.A. Penentuan metoda pemeriksaan adanya Sakarin dan Siklamat dalam sirop dan minuman ringan.

1.^o Scoring untuk penentuan 2 metoda analisa untuk Sakarin dan Siklamat dalam sirop dan minuman ringan.

Atas pertimbangan cepat, spesifik dan sederhana, maka penentuan 2 metoda ini akan dilakukan terhadap 2 metoda reaksi pendahuluan dan 2 metoda kromatografi lapisan tipis (KLT).

Yang dimaksud reaksi pendahuluan di sini ialah reaksi pengendapan dan reaksi warna.

Penentuan 2 metoda ini dilakukan dengan :

- Mengumpulkan semua metoda reaksi pengendapan, reaksi warna dan reaksi kromatografi lapisan tipis untuk Sakarin dan Siklamat dari pustaka-pustaka.
- Dengan cara "scoring" ditentukan 2 metoda terbaik. Penilaian dilakukan oleh beberapa orang peneliti berdasarkan kriteria-kriteria tertentu.

Kriteria-kriteria tersebut adalah sebagai berikut:

1. Untuk reaksi pengendapan

- a. Penyiapan sampel; yaitu mengenai ekstraksinya yang mudah dilakukan.
- b. Reaksi pengendapan; yaitu mengenai pengerjaannya yang mudah dilakukan dan endapan yang terbentuk adalah spesifik.

2. Untuk reaksi warna

- a. Penyiapan sampel, yaitu mengenai ekstraksinya yang mudah dilakukan.

- b. Kesederhanaan cara kerja, yaitu pengerjaannya yang mudah dilakukan.
- c. Spesifisitas dan kestabilan warna, warna yang terbentuk adalah spesifik dan stabil.

3. Untuk kromatografi lapisan tipis

- a. Penyiapan sampel, yaitu mengenai pengerjaannya (ekstraksi) yang mudah dilakukan.
- b. Adsorben (lapisan tipis), yaitu mengenai mudahnya diperoleh dan mudahnya dikerjakan.
- c. Eluen, yaitu mengenai ketidak toksisan, mudahnya diperoleh, perbedaan tekanan uap yang serendah mungkin (untuk eluen campuran), jumlah jenis eluen yang sesedikit mungkin, eluen senetral mungkin.
- d. Penampak noda, yaitu mengenai ketidak toksisan, mudah dikerjakan dan mudah diperoleh.

Pada "scoring" tiap sub kriteria diberi bobot yang berbeda dan dinyatakan dengan angka dari 5 sampai dengan 10. Tidak toksis diberi angka 10, spesifisitas warna, kestabilan warna, spesifisitas endapan dan mudah diperoleh diberi bobot 9, ekstraksi yang mudah dikerjakan diberi bobot 8, jumlah jenis reagensia sesedikit mungkin diberi bobot 7, perbedaan tekanan uap serendah mungkin diberi bobot 6, eluen yang senetral mungkin diberibobot 5.

Penilaian terhadap masing-masing sub kriteria dengan memberi nilai 3 untuk penilaian bagus, 2 untuk penilaian sedang dan 1 untuk penilaian buruk. Hasil perkalian penilaian peneliti dengan bobot sub kriteria dijumlah, dua metoda yang memperoleh nilai yang tertinggi yang dipilih.

2^o. Pengujian laboratorium dari 2 metoda terpilih

Pada penelitian ini dibandingkan 2 metoda yang terpilih dari "scoring".

Bentuk sediaan yang akan dikerjakan adalah bentuk sediaan sirup, minuman ringan, larutan gula 10% dalam air dan larutan gula 55% dalam air.

- Sirup dan minuman ringan diperoleh dari DitJen POM yang tidak mengandung Sakarin atau Siklamat yang akan digunakan sebagai blanko 1 (blanko pasaran).
- Larutan gula 10% dalam air dan larutan gula 55% dalam air dibuat di laboratorium yang akan digunakan sebagai blanko 2 (blanko laboratorium). Pengujian dilakukan terhadap Sakarin dan Siklamat dalam sirup, minuman ringan dan larutan gula tersebut.

Cara pengujian :

Dibuat larutan standard Sakarin dan Siklamat dengan konsentrasi-konsentrasi tertentu.

Pada sirup dan minuman ringan yang tidak mengandung Sakarin atau Siklamat ditambah baku pembanding Sakarin dan Siklamat dalam jumlah tertentu. Kemudian larutan standard, sirup dan minuman ringan tersebut dianalisa dengan kedua metoda terpilih.

Hasilnya dilihat dan dibandingkan, kemudian dipilih satu metoda yang relatif paling baik. Masing-masing metoda dilakukan 6 kali pengujian yang dilakukan oleh 2 orang peneliti masing-masing 3 kali. Pemilihan satu metoda ini berdasarkan kriteria-kriteria sebagai berikut :

- Untuk reaksi pengendapan

1. Endapan yang terbentuk adalah spesifik.
2. Terjadinya endapan dalam waktu yang relatif singkat dan stabil.

- Untuk reaksi warna

1. Pengerjaan sampel, yaitu ekstraksinya mudah dilakukan.

2. Warna yang terbentuk adalah spesifik dan stabil.
3. Terjadinya warna dalam waktu yang relatif singkat.

- Untuk KLT

1. Noda terpisah baik
2. Noda sebulat mungkin
3. Warna noda yang jelas dan stabil
4. Waktu elusi yang relatif singkat
5. Hasil yang reproduisible terhadap metoda KLT terbaik, kemudian dilakukan percobaan batas deteksi (Detection Limit)

ad. B. Pemeriksaan kemungkinan adanya Sakarin dan Siklamat dalam sirup dan minuman ringan di pasaran.

Sampel yang akan dikumpulkan ialah sampel sirup dan minuman ringan yang berlabel yang beredar di pasaran di DKI Jakarta.

Sampling unit

Sampling unit adalah minuman ringan sirup dalam satu (1) kemasan terkecil yang dikeluarkan oleh satu merk pabrik dalam satu merk dagang.

Jumlah sampel

Kemungkinan ada atau tidaknya Sakarin dan Siklamat dalam minuman ringan dan sirup, diasumsikan kejadiannya (probability) setengah-setengah ($P=.5$).

Untuk mendapatkan gambaran mengenai berapa persen dari minuman di pasaran mengandung Sakarin dan Siklamat, maka dengan tingkat kepercayaan 10% ($t=1$) dan dengan kesalahan yang dapat ditolerir adalah 10% ($d=1$), maka dengan rumus :

$$n = \frac{t^2_{pq}}{d^2}$$

dimana : $t = 1$ $q = .5$
 $p = .5$ $d = 1$

didapatkan :

$$n = \frac{1 \times .5 \times .5}{(.1)^2} = 25$$

Untuk menghindarkan kejadian-kejadian yang dapat mengurangi sampel (rusak, hilang, dll) diambil sampel sejumlah 30.

Cara pengambilan sampel

Minuman yang beredar di Jakarta bersumber dari berbagai tempat dan berbagai pabrik/home industry, baik terdaftar maupun tidak.

Pada pengumpulan sampel, variabel sumber/pabrik, terdaftar atau tidak terdaftar, diabaikan karena walaupun terdaftar di Jakarta, minuman ringan dan sirup tersebut belum tentu beredar di Jakarta, demikian pula sebaliknya.

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara quota sampling, dimana setiap merk dagang yang dijumpai di pasaran diambil satu kemasan terkecil, sampai didapatkan 30 sampel minuman ringan dan 30 sampel sirup.

Di dalam pengambilan ini, tempat pengambilan (pasar) disebarakan pada ke 5 wilayah DKI Jakarta agar mendapatkan sampel yang lebih bervariasi dan merata.

Pemeriksaan sampel di laboratorium

Sampel yang diperoleh diperiksa di laboratorium dengan metoda yang terbaik.

III. Hasil Penelitian

- 1^o. Dari hasil scoring metoda analisa Sakarin dan Siklamat dalam sirop dan minuman ringan, maka metoda yang terpilih dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1.

Metoda terpilih analisa Sakarin dan Siklamat dari hasil scoring untuk reaksi pendahuluan

Nama Zat	Metoda I		Metoda II	
	Pustaka	Nilai scoring	Pustaka	Nilai scoring
Sakarin	ADAC 1980	126	Standar Industri Indonesia 0.154-77	126
Siklamat	ADAC 1980	62	Ida Syafridaningsih Skripsi 1981	108

Untuk Sakarin dipilih metoda I dari ADAC 1980 dan metoda II dari Standar Industri Indonesia 0.154 - 77 karena kedua metoda ini mudah dikerjakan, reagensia tidak toxis, mudah diperoleh, warna yang terjadi spesifik.

Untuk Siklamat dipilih metoda I dari ADAC 1980 karena, pengerjaannya yang mudah dilakukan, endapan yang terbentuk spesifik dan cepat. Metoda II dipilih dari Skripsi Ida Syafridaningsih 1981 karena eks-traksinya yang mudah dikerjakan, reagensia yang tidak toxis, mudah diperoleh, warna yang terbentuk spesifik.

Tabel 2.

Metoda terpilih analisa Sakarin dan Siklamat dari hasil scoring untuk Kromatografi lapisan tipis (KLT)

Nama Zat	Metoda I		Metoda II	
	Pustaka	Nilai scoring	Pustaka	Nilai Scoring
Sakarin	AOAC 1980	261	J. Chromatography 1970	253
Siklamat	AOAC 1980	261	J. Chromatography 1970 AOAC Method, 1980	245

Metoda I dan Metoda II untuk Sakarin dipilih dari AOAC 1980 dan J. Chromatography 1970 karena kedua metoda ini mudah dikerjakan, reagentia yang digunakan tidak toxis dan mudah diperoleh.

Metoda I untuk Siklamat dipilih dari AOAC 1980 yang dimodifikasi dan

Metoda II dipilih dari J. Chromatography 1970 dan AOAC 1980.

Kedua metoda ini mudah dikerjakan, reagentia tidak toxis dan mudah diperoleh.

2^o. Pengujian laboratorium

a. Reaksi pendahuluan

1. Reaksi warna

Hasil reaksi warna untuk Sakarin dan Siklamat dapat dilihat dalam tabel 3 s/d 5.

Tabel 3

Hasil reaksi warna dari ekstrak sakarin dalam sirop, minuman ringan, larutan gula 55 %^{a)} dan larutan gula 10 %^{b)} dengan metoda I terpilih

Jenis ekstraksi	Warna yang terjadi dengan penambahan reagen	
	FeCl_3	$\text{KNO}_2 - \text{H Ac} - \text{CuSO}_4$
- larutan gula 55 % ^{c)}	-	-
- ekstrak . sirop	-	-
- larutan gula 10 %	-	-
- ekstrak . minuman ringan ^{d)}	-	-

Keterangan :

- a. larutan gula 55 % : larutan gula dengan kadar 55 % sebagai blanko
 b. larutan gula 10 % : larutan gula dengan kadar 10 % sebagai blanko
 c. ekstrak sirop : hasil ekstraksi dari sirop yang telah ditambah Sakarin 0,2 %.
 d. ekstrak minuman ringan : hasil ekstraksi dari minuman ringan yang telah ditambah Sakarin 0,2 %.

Tabel 4.

Hasil reaksi warna dari ekstrak Sakarin dalam sirop minuman ringan, larutan gula 55 %^{a)} dan larutan gula 10 %^{b)} dengan metoda II terpilih

Jenis ekstraksi	Warna yang terjadi dengan penambahan reagen	
	FeCl_3	$\text{KNO}_2 - \text{H Ac} - \text{CuSO}_4$
- larutan gula 55 % ^{c)}	-	-
- ekstrak . sirop ^{c)}	-	-
- larutan gula 10 %	-	-
- ekstrak ^{d)} minuman ringan	-	-

Keterangan :

- a). larutan gula 55 % : larutan gula dengan kadar 55 % sebagai blanko
- b). larutan gula 10 % : larutan gula dengan kadar 10 % sebagai blanko
- c). ekstrak sirop : hasil ekstraksi dari sirop yang telah ditambah Sakarin 0.2 %
- c). ekstrak minuman ringan : hasil ekstraksi dari minuman ringan yang telah ditambah Sakarin 0.2 %.

Metoda I terpilih dengan metoda II terpilih berbeda pada cara ekstraksinya, tetapi reagensia untuk reaksi warnanya sama. Hasil dari kedua metoda terpilih adalah negatif.

Tabel 5.

Hasil reaksi warna dari ekstrak siklamat dalam sirup minuman ringan, larutan gula 55 %^{a)}, dan larutan gula 10 %^{b)} dengan metoda II terpilih.

Jenis ekstraksi	Warna yang terjadi dengan penambahan reagen		
	$\text{KMnO}_4\text{--NaOH}$	$\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_7\text{--H}_2\text{SO}_4$	Metil Red $\text{Pb}(\text{Acetat})_2$
- larutan gula 55%	-	-	-
- ekstrak sirup ^{c)}	-	-	-
- larutan gula 10%	-	-	-
- ekstrak minuman ringan ^{d)}	-	-	-

Keterangan :

- a). larutan gula 55 %: larutan gula dengan kadar 55 % sebagai blanko
 b). larutan gula 10 %: larutan gula dengan kadar 10% sebagai blanko
 c). ekstrak sirup : hasil ekstraksi dari sirup putih yang telah ditambah siklamat 0,2 %.
 d). ekstrak minuman ringan : hasil ekstraksi dari minuman ringan yang telah ditambah siklamat 0,2 %

2. Reaksi pengendapan

Hasil reaksi pengendapan untuk Siklamat, dapat dilihat dalam tabel 6.

Tabel 6

Hasil reaksi pengendapan Siklamat dalam sirup, minuman ringan, larutan gula 55%^{a)} dan 10%^{b)} dan kadar terkecil yang masih dapat mengendap dengan metoda I terpilih

Jenis minuman	Warna minuman	Kadar terkecil yang masih dapat diendapkan (mg/kg)	Warna endapan	Waktu pengendapan
<u>Sirup</u>				
larutan gula 55 %	jernih	✓ 10 ppm	putih	cepat ^{c)}
Sirup 1	marah	✓ 30 ppm	putih ros	cepat
Sirup 2	jernih	✓ 20 ppm	putih	cepat
<u>Minuman ringan</u>				
larutan gula 10 %	jernih	✓ 20 ppm	putih	cepat
Larutan gula 10%	jernih	✓ 20 ppm	putih	cepat
minuman ringan 1; jernih		✓ 20 ppm	putih	cepat
minuman ringan 2 kuning		✓ 20 ppm	putih	lama ^{c)}
minuman ringan 3 merah		✓ 20 ppm	putih	sedang ^{d)}
minuman ringan 4 warna teh		✓ 20 ppm	putih	cepat
minuman ringan 5 coklat		✓ 20 ppm	putih	sedang.

Keterangan :

- a). larutan gula 55 % : larutan gula dengan kadar 55 % sebagai blanko
 b). larutan gula 10 %: larutan gula dengan kadar 10 % sebagai blanko
 c). Cepat : sampai dengan 5 menit
 d). sedang : 5 - 10 menit
 e). lama = > 10 menit.
 f). sirup 12, minuman ringan 12345 : sirup dan minuman ringan blanko yang telah ditambah siklamat.

b. Kromatografi lapisan tipis (KLT)

Hasil dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7

Hasil KLT Sakarin dan Siklamat dalam larutan standar,
larutan gula, sirop dan minuman ringan.

Nama zat	Metoda I			Metoda II		
	Jumlah noda	Rf	bentuk noda	jumlah noda	Rf	bentuk noda
Sakarin	1	0,6	bulat	-	-	-
Siklamat	1	0,52	bulat	2	0,54	bulat

Dengan cara metoda I untuk Sakarin dan Siklamat hasilnya adalah positif. Cara metoda II untuk Sakarin hasilnya adalah negatif. Sedangkan metoda II untuk Sakarin dengan cara dari J. Chromatography 1970 hasilnya adalah negatif, tetapi bila digunakan penampak noda dari ADAC 1980 yang dimodifikasi, maka hasilnya adalah positif.

Dengan metoda-metoda terpilih tersebut dilakukan percobaan-percobaan terhadap larutan standar Sakarin dan Siklamat, dan hasil ekstraksi dari :

1. larutan gula sebagai larutan blanko 1 (blanko laboratorium).
2. larutan gula + 10 mg Sakarin dalam 25 ml larutan.
3. larutan gula + 50 mg Siklamat dalam 25 ml larutan
4. larutan gula + 10 mg Sakarin dan 50 mg Siklamat dalam 25 ml larutan
5. Sirop sebagai blanko 2 (blanko pasaran).
6. sirop + 10 mg Sakarin dalam 25 ml larutan.
7. Sirop + 50 mg siklamat dalam 25 ml larutan
8. sirop + 10 mg sakarin + 50 mg siklamat dalam 25 ml larutan
9. Minuman ringan sebagai blanko 2 (blanko pasaran).
10. Minuman ringan + 10 mg sakarin dalam 25 ml larutan
11. Minuman ringan + 50 mg siklamat dalam 25 ml larutan
12. Minuman ringan + 10 mg sakarin dan 50 mg siklamat dalam 25 ml larutan.

Dari hasil-hasil yang diperoleh maka dengan kriteria-kriteria tertentu dipilih satu metoda terbaik.

Untuk Sakarin dipilih metoda I adalah metoda terbaik dan untuk Siklamat dipilih metoda I adalah metoda yang terbaik.

Tabel 8

Hasil percobaan batas deteksi (Detection limit) *) larutan standar Sakarin dan Siklamat dengan metoda terbaik

Nama zat	Detection Limit
Sakarin	0,75 ug
Siklamat	12,5 ug

Keterangan :

*) batas deteksi (Detection Limit) : Kadar terkecil yang masih dapat dideteksi.

Tabel 9

Hasil pemeriksaan sirop dari pasaran yang terdaftar terhadap Sakarin dan Siklamat

n	Nomor Kode sirop	Sakarin	Siklamat
	8 *	+	+
	11	-	-
	14	-	-
	22 *	+	+
	24	+	-
	25 *	+	+
	26 *	+	+
	29	-	-
	30	-	-
n total	9		
n pos		5	4
% pos		56	44

Keterangan :

* : Sampel mengandung campuran Sakarin dan Siklamat.

Terlihat bahwa ada 4 sampel sirop yang mengandung campuran sakarin dan Siklamat, dan terlihat bahwa hanya ada 1 (satu) sampel sirop yang hanya mengandung sakarin saja.

Terlihat tidak ada sampel yang mengandung siklamat saja.

Jumlah sampel yang tidak mengandung sakarin dan atau siklamat adalah 4 sampel.

Tabel 10

Hasil pemeriksaan sirop dari pasaran yang tidak terdaftar terhadap sakarin dan siklamat

n	Nomor kode sirop	Sakarin	Siklamat
	1*	+	+
	2	-	-
	3*	+	+
	4	-	+
	5	+	-
	6	-	-
	7	-	+
	9	-	+
	10	-	+
	12	-	-
	13	-	-
	15*	+	+
	16*	+	+
	17*	+	+
	18*	+	+
	19*	+	+
	20	+	+
	21	-	-
	23*	+	+
	27*	+	+
	28*	+	+

n total	21		
n pos		12	15
% pos		57	71

Keterangan :

* sampel mengandung campuran sakarin dan siklamat.

Terlihat bahwa ada 11 sampel sirop yang mengandung campuran sakarin dan siklamat, dan terlihat bahwa hanya satu sampel sirop yang mengandung sakarin saja.

Sampel sirop yang mengandung siklamat saja terdapat 4 sampel.

Jumlah sampel yang tidak mengandung sakarin dan siklamat hanya 6 sampel.

Minuman ringan dari pasaran yang terdaftar terhadap sakarin dan siklamat

n	No. Kode minuman	Sakarin	Siklamat
	3	-	-
	6*	+	+
	12*	+	+
	13	-	-
	14*	+	+
	18	-	-
	19*	+	+
	21	-	-
	23*	+	+
	24	-	-
	26	-	-
	27	-	-
	29*	+	+
n total	13		
n pos		6	6
% pos		46 %	46 %

Keterangan : * sampel mengandung campuran sakarin dan siklamat.

Terlihat bahwa ada 6 sampel minuman ringan yang mengandung campuran sakarin dan siklamat, dan terlihat bahwa tidak ada sampel minuman ringan yang hanya mengandung sakarin saja atau mengandung siklamat saja.

Jumlah sampel yang tidak mengandung sakarin dan siklamat adalah 7 sampel.

Tabel 12

Minuman ringan dari pasaran yang tidak terdaftar
terhadap sakarin dan siklamat

n	nomor kode minuman ringan	Sakarin	Siklamat
	1*	+	+
	2	-	-
	4	-	+
	5	-	+
	7*	+	+
	8*	+	+
	9*	+	+
	10*	+	+
	11*	+	+
	15	-	+
	16*	+	+
	17	-	+
	20	-	-
	22*	+	+
	25*	+	+
	28	-	-
	30	-	+
n total	17		
n pos		9	14
% pos		53 %	82

Keterangan : * sampel mengandung campuran sakarin dan siklamat.

Ternyata bahwa ada 9 sampel minuman ringan yang mengandung campuran sakarin dan siklamat, 5 sampel yang mengandung siklamat, dan tidak terlihat sampel yang mengandung sakarin saja.

Jumlah sampel yang tidak mengandung sakarin dan atau siklamat adalah 3 sampel.

Tabel 13

Hasil pemeriksaan sirop di pasaran terhadap
Sakarin dan Siklamat

Jenis Sampel	Jumlah sampel (n)	Sampel yang mengandung						Sampel yang tidak mengandung Saka- rin atau Siklamat	
		Sakarin dan Siklamat		Sakarin		Siklamat		n	%
		n	%	n	%	n	%		
Sirop yang terdaftar	9	4	44	1	12	0	0	4	44
Sirop yang tidak terdaftar	21	11	52	1	5	4	19	5	24
Total	30	15	50	2	7	4	13	9	30

Tabel 14

Hasil Pemeriksaan minuman ringan di pasaran
terhadap Sakarin dan Siklamat

Jenis Sampel	Jumlah sampel	Sampel yang mengandung						Sampel yang tidak mengandung Sakarin atau Siklamat	
		Sakarin dan siklamat		Sakarin		Siklamat			
		n	%	n	%	n	%	n	%
minuman ringan yang terdaftar	13 :	6	46	0	0	0	0	7	54
minuman ringan yang tidak terdaftar	17	9	53	0	0	5	29	3	18
Total	30	15	50	0	0	5	17	10	33

IV. DISKUSI

1^o. Scoring.

a. Untuk reaksi warna terkumpul 7 metoda untuk Sakarin dan 2 metoda untuk Siklamat (lihat lampiran 1).

1. Dari hasil scoring reaksi warna untuk Sakarin terpilih metoda I dari AOAC 1980, 20.094, 20.095 - 20.183 dan metoda II dari Standar Industri Indonesia 0.154 - 77 hal 3.

Karena keduanya mudah dilakukan dan menggunakan reagentia yang tidak toxis dan relatif mudah diperoleh.

Pada metoda dari A. analytical Chemistry 292,413 digunakan reagentia Chlorophenothiazine yang ternyata sukar diperoleh.

Pada metoda dari JADAC 56, 1411 - 1414 digunakan reagentia yang toxis yaitu : CHCl_3 -Benzen atau Ether-Benzen.

Juga pada metoda dari Roy Edgar Siahaan, Saccharin dalam obat-obatan, Studi Pustaka, Universitas Pancasila digunakan reagentia dioxybenzen yang toxis.

2. Dari hasil scoring reaksi warna untuk Siklamat terpilih pustaka Pemeriksaan Kadar Natrium Siklamat dalam manisan buah-buahan basah dari Cianjur, Skripsi Ida Syafrida ningsih, UNPAD Bandung 1981 sebagai metoda II untuk identifikasi Siklamat.

Metoda ini mudah dikerjakan dan reagentia yang digunakan adalah reagentia yang tidak toksis dan mudah diperoleh. Jadi untuk Siklamat dipilih identifikasi metoda I dengan reaksi pengendapan (lihat diskusi ad.a) dan identifikasi metoda II dengan reaksi warna.

b. Untuk reaksi pengendapan terkumpul 2 metoda untuk Sakarin dan 2 metoda untuk Siklamat (lihat lampiran 2).

1. Pada scoring untuk Sakarin metoda yang diperoleh adalah dari AOAC Methods 1980 dan Technical Analysis of Food 6 th ed. (lihat lampiran 2) yang mempunyai prosedur pengendapan yang sama, Keduanya mempunyai prosedur yang panjang, jadi tidak praktis dikerjakan di laboratorium disini, memerlukan alat-alat yang khusus dan mahal (misalnya : alat destilasi, Pt crucible) dan reagensia yang toxis (Brom).

Karena masih ada cara identifikasi lain yakni cara reaksi warna dan KLT untuk kualitatif yang relatif simpel, maka kedua metoda pengendapan tersebut tidak terpilih.

2. Pada scoring metoda pengendapan untuk siklamat terkumpul 2 metoda yaitu metoda dari ADAC 1980 dan Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry 12 th ed. 1975 (lihat lampiran 2). Prinsip pengendapan adalah sama, hanya pada metoda dari pustaka yang kedua, pengendapan akan terjadi setelah diendapkan semalam, jadi metoda ini tidak terpilih. Pengendapan dengan metoda pustaka pertama terjadi jauh lebih cepat.

c. Untuk kromatografi lapisan tipis terkumpul 4 metoda untuk sakarin dan 4 metoda untuk siklamat. (lihat lampiran 3)

1. Dan hasil scoring kromatografi lapisan tipis untuk sakarin terpilih metoda I dari ADAC 1980. 20.158 halaman 347 dan metoda II dari J. Chromatography 1970 halaman 173 - 176.

Karena kedua metoda ini mudah dikerjakan dan pada pengerjaan di laboratorium disini dipilih penampak noda yang tidak toksis. Reagensia yang mudah diperoleh. Pada metoda dari Technical Analysis of Foods 5 th Ed. David Pears, 266 - 267 digunakan reagentia ~~ok~~-naphtaetilamin yang toksis.

Pada metoda dari kumpulan karya tulis Sekolah Teknik Laboratorium Kimia Farmasi Dep.Kes. Andi Suryadi 1981, reagentia yang digunakan ialah Br-CCl_4 yang toksis.

2. Dari hasil scoring kromatografi lapisan tipis untuk Siklamat terpilih metoda I dari ADAC 1980, 20.158 halaman 347 dengan modifikasi dan metoda II dari J. Chromatography 1970 halaman 173 - 175 dan ADAC 1980.

Kedua metoda ini mudah dikerjakan, reagentia yang digunakan mudah didapat dan tidak toksis.

Pada metoda dari Technical Analysis of Foods 6 th ed. David Peats, 266 - 267, cara ekstraksinya yang tidak spesifik, kemungkinan zat lain misalnya, asam benzoat dapat terekstraksi dan jika dalam sampel terdapat campuran Sakarin dan Siklamat maka ekstraksi akan lama sebab siklamat harus diuraikan terlebih dahulu.

Pada metoda dari Kumpulan Karya tulis Sekolah Teknik Laboratorium Kimia Farmasi Departemen Kesehatan, Andi Suryadi 1981 digunakan reagentia Br-CCl_4 yang toxis.

2^o. Pengujian laboratorium

a. Reaksi pengendapan

Reaksi pengendapan untuk minuman ringan umumnya dapat dipergunakan, hanya pada minuman ringan yang berwarna kuning muda endapan susah dilihat sebab warna endapan dan larutan hampir sama. Penyaringan untuk minuman ringan Teh botol dan sari cola dilakukan dengan kertas saring no. 42, sedangkan yang lain dengan kertas saring no. 41 dari Whatman.

Hal ini disebabkan pada teh botol terdapat endapan dari sari teh -sebut yang mengendap pada kertas saring.

Reaksi pengendapan untuk sirup sebaiknya dilakukan terhadap sirup yang tidak berwarna dan setelah dilakukan pengenceran. Pada sirup yang tidak diencerkan penyaringan sangat lama. Tetapi untuk sirup berwarna misalnya dalam percobaan disini sirup berwarna merah, maka pengenceran akan mempersukar penglihatan terjadinya pengendapan, karena warna endapan hampir sama dengan larutannya yang berwarna merah muda.

b. Reaksi warna:

Karena warna yang diberikan oleh reagentnya sendiri adalah sama dengan warna yang diberikan blanko ekstrak Sakarin dan Siklamat maka reaksi warna untuk Sakarin dan Siklamat tersebut tidak dapat digunakan sebagai metoda reaksi pendahuluan, sebab tidak memberikan warna yang spesifik untuk Sakarin dan Siklamat.

c. Kromatografi lapisan tipis (KLT)

1. Pada KLT dengan larutan standar Sakarin, metoda I (ADAC 1980) yang terpilih dengan eluen $n\text{-butanol} : \text{alkohol} : \text{NH}_4\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 40 : 4 : 1 : 9$ dan penampak noda sinar ultra violet 254 nm memberikan noda yang jelas berbentuk bulat, berwarna ungu.

Metoda II (J. Chromatog 1970) dengan eluen Isopropanol :
: $\text{NH}_4\text{OH} = 4 : 1$ dan penampak noda campuran larutan metil
red dan buffer fosfat ($\text{pH} = 7$) dengan pemanasan 110°C se-
lama 15 menit tidak ada noda.

Elusi metoda II lebih lama dari pada metoda I. Maka metoda
I adalah lebih baik dari pada metoda II.

2. Pada KLT dengan larutan standar Siklamat, metoda I (ADAC
1980) yang dimodifikasi, dengan eluen n butanol : alkohol :
 $\text{NH}_4\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 40 : 4 : 1 : 9$ dan penampak noda 0,25 % Fluo-
rescein dalam DMF : alkohol (1 : 1), setelah dipanaskan pada
 110°C selama 15 menit, memberikan noda yang jelas, berwarna
kuning muda, stabil, berbentuk bulat. Sebelum pemanasan
noda tidak tampak. Metoda II (J. Chromatography 1970) dengan
eluen Isopropanol : $\text{NH}_4\text{OH} = 4 : 1$ dan penampak noda tidak
kelihatan walaupun dipanaskan.

Sedang dengan penampak noda 0,25 % Fluorescein dalam DMF :
alkohol (1:1), ADAC 1980 noda tampak jelas tanpa pemanasan,
berwarna kuning muda yang stabil berbentuk bulat, jumlah .
noda = 2. Elusi metoda II lebih lama dari pada metoda I.
Maka metoda I adalah lebih baik dari pada metoda II.

3. Hasil KLT metoda I larutan standar Sakarin ternyata sama
dengan hasil KLT metoda I ekstrak Sakarin dalam larutan
gula, sirup dan minuman ringan.

Hasil KLT metoda I larutan standar Siklamat ternyata sama
dengan hasil KLT metoda I ekstrak Siklamat dalam larutan
gula, sirup dan minuman ringan. Sehingga dengan demikian
metoda I untuk Sakarin dan Metoda I untuk Siklamat merupakan
metoda-metoda yang terbaik untuk pemeriksaan Sakarin dan
Siklamat dalam sirup dan minuman ringan.

Metoda-metoda tersebut akan digunakan untuk pemeriksaan
sampel sirup dan minuman ringan yang diperoleh dari pasaran.

3°. Pemeriksaan sirup dan minuman ringan yang diperoleh dari pasaran.

1. Dari tabel 13 terlihat bahwa 44 % dari sirup yang terdaftar me-
ngandung Sakarin dan Siklamat, 12 % yang mengandung Sakarin
dan tidak terdapat yang mengandung Siklamat.

Sirop yang tidak mengandung Sakarin ataupun Siklamat sejumlah 44 %. Dari sirop yang tidak terdaftar 52 % mengandung Sakarin dan Siklamat, 5 % mengandung Sakarin saja, 19 % mengandung Siklamat saja dan 24 % tidak mengandung Sakarin ataupun Siklamat. Dari jumlah seluruh sampel sirop baik yang terdaftar ataupun tidak terdaftar maka ternyata bahwa 50 % mengandung Sakarin dan Siklamat, 7 % mengandung Sakarin, 13 % mengandung Siklamat dan 30 % tidak mengandung Sakarin ataupun Siklamat.

2. Dari tabel 14 terlihat bahwa 46 % dari minuman ringan yang terdaftar mengandung Sakarin dan Siklamat, tidak ada yang mengandung Sakarin saja dan tidak ada yang mengandung Siklamat saja. Dari jumlah minuman ringan yang terdaftar ternyata 54 % tidak mengandung Sakarin ataupun Siklamat. Dari minuman ringan yang tidak terdaftar 53 % mengandung Sakarin dan Siklamat, tidak ada yang mengandung Sakarin, 29 % mengandung Siklamat dan 18 % tidak mengandung Sakarin ataupun Siklamat. Dari jumlah seluruh sampel minuman ringan baik terdaftar ataupun tidak terdaftar maka ternyata bahwa 50 % mengandung Sakarin dan Siklamat 17 % mengandung Siklamat, tidak ada yang mengandung Sakarin dan 33 % yang tidak mengandung Sakarin ataupun Siklamat.

V. Kesimpulan dan Saran

Reaksi pengendapan Siklamat dan reaksi warna untuk Sakarin dan Siklamat tidak merupakan metoda yang baik untuk pemeriksaan pendahuluan Sakarin dan Siklamat, dalam sirop dan minuman ringan.

Cara terbaik untuk pemeriksaan Sakarin ialah dengan kromatografi lapisan tipis dengan menggunakan eluen n -butanol : alkohol : NH_4OH : H_2O = 40 : 4 : 1 : 9.

Noda yang diperoleh dilihat dibawah sinar U V pada 254 nm.

Cara terbaik untuk pemeriksaan Siklamat ialah dengan kromatograf lapisan tipis dengan eluen n -butanol : alkohol : NH_4OH : H_2O = 40 : 4 : 1 : 9 dan penampak pada larutan 0,25 % Fluorescein dalam DMF - alkohol (1 : 1).

Dengan demikian telah diperoleh cara pemeriksaan Sakarin dan Siklamat yang relatif sederhana, cepat, murah dan dapat dipercaya.

Dari hasil pemeriksaan sampel-sampel dari pasaran ternyata bahwa 50 % sirop mengandung Sakarin dan Siklamat, 7 % mengandung Sakarin saja, 13 % mengandung Siklamat saja dan hanya 30 % sampel tidak mengandung sakarin ataupun siklamat. Sedang dari minuman ringan 50 % mengandung sakarin dan siklamat, tidak ada yang mengandung sakarin, 17 % mengandung Siklamat saja dan hanya 33 % dari sampel tidak mengandung sakarin ataupun siklamat. Hal ini memberi gambaran bahwa terdapat penyalahgunaan Sakarin dan Siklamat secara luas di pasaran yang merupakan ancaman bagi keamanan sirop dan minuman ringan. Maka perlu diadakan peningkatan pengawasan oleh Dit. Jen POM untuk menjamin keamanan sirop dan minuman ringan.

Diharapkan metoda terpilih dan data-data yang diperoleh dapat digunakan oleh laboratorium Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan dipusat dan propinsi, untuk pengawasan dan keamanan sirop dan minuman ringan terhadap Sakarin dan Siklamat.

Hasil scoring metoda reaksi warna Sakarin dan
Siklamat dari metoda yang telah terkumpul

No	Nama Bahan	Pustaka	Nilai scoring	Metoda terpilih
1	Sakarin	- Standard Industri Indonesia 0.154. 77 hal 3	126	Metoda I
		- AOAC 1980 20.183.20.184.20. 185	126	Metoda II
		- WHO Food Additives series No.7 World Health Organization Geneva 1976 page.212	70	
		- A.Z. Anal. Chem. 292 413 (1978)	71	
		- J. AOAC <u>56</u> 1411-1414 Fernandes -Flores et.al.	61	
		- Saccharin dalam obat-obatan. Ray Edgar Siahaan-studi pustaka Universitas Pancasila hal. 13- 14, 1979	62 68	
2	Siklamat	- Talanta 1967, vol.14. page 389	86	
		- Pemeriksaan kadar Natrium Sikla mat dalam manisan buah-buahan basah dari kota Cianjur, skrip si Ida Syafridaningsih, UNPAD Bandung 1981	108	Metoda II

Lampiran 2Hasil scoring metoda reaksi pengendapan Sakarin danSiklamat dari metoda yang telah terkumpul

No	Nama bahan	Pustaka	Nilai scoring	Metoda terpilih
1	Sakarin	- AOAC 1980, 20.185.20.185 page.351	77	
		- Technical analysis of Food 6 th ed. by David Peatson, page 264.	69	
2	Siklamat	- AOAC 1980, 20.162 page 348	62	Metoda I
		- Official Methods of Analysis of the Associations of Offi- cial Analytical Chemist 12 th ed. 371 - 382, 1975.	62	

Lampiran 3Hasil scoring metoda kromatografy lapisan tipis (KLT)Sakarin dan Siklamat dari metoda yang telah terkumpul

No	Nama Zat	Pustaka	Nilai scoring	Metoda terpilih
1	Sakarin	- ADAC 1980, 20, 150 page 347	261	Metoda I
		- J. Chromatography 1970 page 173-176	253	Metoda II
		- Technical Analysis of Foods 6 th ed. David Pears page 266-167	180	
		- Kumpulan karya tulis Sekolah Tehnik Laboratorium Kimia Farmasi Dep. Kes. R.I./Andi Suryadi 1981	241	
2	Siklamat	- ADAC 1980, 20158 halaman 347	261	Metoda I
		- J. Chromatography 1970 page 173-176	245	Metoda II
		- Kumpulan karya tulis sekolah teknik Laboratorium Kimia Farmasi Dep. Kes. R.I. Andi Suryadi 1981.	233	
		- Technical analysis of foods 6 th ed. by David Pearson page 266.	216	

Hasil percobaan KLT larutan standar Sakarin dan Siklamat dengan metoda I dan Metoda II terpilih

Nama Zat	Metoda I				Metoda II			
	Adsorben	Eluen	Pemampak noda	Hasil	Adsorben	Eluen	Pemampak noda	Hasil
Sakarin	Silica Gel H	n-butanol:alkohol : $\text{NH}_4\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ = 40:4:1:9	UV 254 nm	$R_f = 0,6$ noda : bulat warna ungu, stabil, jumlah noda: 1.	Silica Gel H	Isopropanol : NH_4OH = 4 : 1	1 bg Metil red 2 bg buffer fosfat, pH=7	-
Siklamat	Silica Gel H	n-butanol:alkohol : $\text{NH}_4\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ = 40:4:1:9	0,25 % Fluorescein dalam DMF - alkohol (1:1)	$R_f = 0,52$ noda : bulat warna : kuning muda, stabil. Jumlah noda = 1. Pemanasan 110°C 15 menit.	Al_2O_3	Isopropanol : NH_4OH = 4 : 1	1. 1 bg Metil Red & 2 bg buffer fosfat. 2. 0,25 % Fluorescein dalam DMF : alkohol (1 : 1)	- $R_f = 0,54$ noda : bulat warna : kuning muda, stabil Jumlah noda 2.

Lampiran 5Bahan

- Bahan :
1. Sakarin dari SIGMA Chemical company USA sebagai baku pembanding
 2. Siklamat dari SIGMA Chemical company USA sebagai baku pembanding.
 3. Minuman ringan dari Dit.Jen POM Dep.Kes. R.I yang tidak mengandung sakarin dan siklamat sebagai bahan pembanding.
 4. Sirop dari Dit.Jen.POM Dep.Kes. R.I. yang tidak mengandung sakarin dan siklamat, sebagai bahan pembanding.
 5. Gula pasir dari pasaran sebagai bahan pembuat sirop dan minuman ringan.

Pereaksi : mutu p.a. (pro analisa)

- Alat :
1. Alat-alat kromatografi lapisan tipis (KLT) dari DESAGA
 2. Lampu U.V. original HANAU Fluo test.

Lampiran 6Metoda analisa reaksi pendahuluan

a. Reaksi warna : Sakarin dan Siklamat

b. Reaksi pengendapan : Siklamat

a.1. Reaksi warna Sakarin dengan metoda I terpilih

- Buat larutan Sakarin dalam sirop, minuman ringan dan larutan gula 55% dengan konsentrasi 25 mg dalam 25 ml larutan.
- Buat larutan blanko sirop, minuman ringan dan gula 55% sebanyak 25 ml.
- Keenam larutan tersebut diencerkan ad 200 ml dengan H_2O . Encerkan larutan tersebut dengan 5 ml asam asetat, kocok.
- Tambahkan larutan $Pb(asetat)_2$ tetes-tetes sambil di-kocok sampai sedikit berlebih.
- Encerkan larutan tersebut ad 250 ml dengan H_2O .
- Tambahkan HCl 4 N 5 ml, ekstraksi dengan 2x25 ml petroleum eter. Pisahkan lapisan petroleum eter.
- Lapisan petroleum eter dicuci dengan H_2O 5 ml. Buang lapisan H_2O .
- Keringkan lapisan petroleum eter dalam gelas piala kecil sampai $\pm \frac{1}{2}$ ml.
- Tambahkan air panas sedikit.
- Reaksikan filtrat dengan :
 - a. larutan $FeCl_3$ 1% dalam H_2O --- terjadi warna merah ungu
 - b. dalam tabung reaksi, setelah dingin ditambahkan larutan KNO_3 10%, larutan asam asetat 50% dan larutan $CuSO_4$ 1% dalam H_2O ---- terjadi warna merah Bordeaux.

a.2. Reaksi warna Sakarin dengan metoda II terpilih

- Buat larutan Sakarin dalam sirop, minuman ringan dan larutan gula 55% dengan konsentrasi 25mg dalam 25ml larutan.

RALAT

No	Halaman	Baris	Tertulis	Seharusnya
1.	iii	ke9 dari atas (tabel 4) ke12 dari atas (tabel 5) ke18 dari atas (tabel 7) ke14 dari atas (tabel 8)	larutan gula 55% dan larutan 10%.....larutan gula 55% dan larutan 10%.... Hasil KLT larutan stan dar Sakarin dan Sikla mat batas deteksi Saka rin dan Siklamat dengan metoda terpilih.	larutan gula 55% dan larutan gula 10%...larutan gula 55% dan larutan gula 10%... Hasil KLT Sakarin dan Siklamat dalam larutan standar, larutan gula, sirop dan minuman ringan batas deteksi (Detec tion Limit) larutan stan dar Sakarin dan Siklamat dengan metoda terbaik.
2.	v	ke13 dari bawah	minuman ringan dan larutan gula, kemudian dengan metoda.....	minuman ringan dan larutan gula dan reaksi penetapan dengan KLT. Ke mudian dengan metoda....
3.	1.	ke12 dari bawah	(WHO/FAO 1971-1978)	(WHO/FAO 1977-1978)
4.	5.	ke17 dari atas ke14-15 dari bawah	Pada sirop dan minuman ringan yang tidak..... , sirop dan minuman ringan tersebut dianalisa dengan	Pada sirop, minuman ri ngan dan larutan gula yang tidak..... , sirop, minuman ri ngan dan larutan gula tersebut dianalisa de ngan
5.	6.	ke9 dari atas	5. Hasil yang reproduksi ble terhadap metoda KLT terbaik, kemudian dilakukan percobaan batas deteksi (Detec tion Limit)	5. Hasil yang reproduksi ble Terhadap metoda K LT terbaik, kemudian dilakukan percobaan batas deteksi (Detecti on Limit).

RALAT

No	Halaman	Baris	Tertulis	Seharusnya
		ke18 dari atas	adalah minuman ri ngan sirop dalam satu (1)	adalah minuman ri ngan atau sirop dalam satu (1).....
6.	9.	ke8 dari bawah	Metoda II dipilih....	metoda II dipilih.....
7.	13.	ke2 dari bawah	f).sirop 12,minuman ri ngan 12345;	f).sirop 1,2,minuman ri ngan 1,2,3,4,5 ;
8.	14	ke16 dari bawah	,maka hasilnya ada lah positip.	,maka hasilnya ada lah positip. Hasil per cobaan dari semua laru tan tersebut diatas ada lah sama dengan hasil percobaan dari larutan standar Sakarin dan Si klamat (lihat lampiran 4)
9.	18.	ke1 dari atas ke2 dari atas	<u>Minuman ringan dari pa saran</u>	Tabel 11 <u>Hasil pemeriksaan minu man ringan dari pasaran...</u>
10.	19	ke2 dari atas	<u>Minuman ringan dari pa saran</u>	<u>Hasil pemeriksaan min man ringan dari pasaran..</u>
11.	22	ke2 dari atas ke10 dari atas	1°.Scoring Pada metoda dari A.analytical Chemistry ke11 dari bawah	1°.Scoring. Pada metoda dari A.Z.Ana lytical Chemistry..... (lihat diskusi ad a) dan (lihat diskusi ad b) dan

RALAT

Nb	Halaman	Baris	Tertulis	Seharusnya
12.	25.	Ke 14 dari atas	dan penampak noda tidak kelihatan.....	dan penampak noda campuran larutan metil red dan buffer fosfat..
13.	28.	ke 7 dari bawah	14, 1979	14, 1979 -Standar Industri Indonesia (SII) 0.273 - 80, hal 4-6
14.	37	ke 1 dari bawah	20 x 2 cm	20 x 20 cm

- Buat larutan blanko sirop, minuman ringan dan gula 55% sebanyak 25 ml.
- Keenam larutan tersebut ditambah HCl 4 N sampai asam
- Ekstraksi dengan eter 2x25 ml, pisahkan lapisan eter
- Lapisan eter diuapkan pada suhu kamar dalam cawan penguap.
- Tambahkan air panas sedikit.
- Reaksikan filtrat dengan :
 - a. larutan FeCl_3 1% dalam H_2O --> terjadi warna merah ungu
 - b. dalam tabung reaksi, setelah dingin tambahkan larutan KNO_2 10%, larutan asam asetat 50% dan larutan CuSO_4 1% ----> terjadi warna merah Bordeaux.

a.3. Reaksi warna Siklamat dengan metoda II terpilih.

- Dibuat larutan Siklamat dalam sirop, minuman ringan dan larutan gula 55% dengan konsentrasi 25 mg dalam 25 ml larutan.
- Dibuat larutan blanko sirop, minuman ringan dan gula 55% sebanyak 25 ml.
- Keenam larutan diasamkan dengan 5 ml H_2SO_4 (1:1), kocok
- Ekstraksi dengan 125 ml etil asetat, kocok.
- Lapisan etil asetat pisahkan, uapkan di pengangas air sampai kering.
- Pada residu kemudian dilakukan reaksi warna dengan :
 - a. larutan 3,3% KmnO_4 dalam H_2O -NaOH 4 N
 - b. larutan 0,1% metil red dalam alkohol
 - c. larutan $\text{Pb}(\text{asetat})_2$ dalam H_2O .

b. Reaksi pengendapan Siklamat dengan metoda I terpilih.

1. - Dibuat larutan Siklamat dalam minuman ringan dengan konsentrasi 150 mg, 100 mg, 50 mg, 1 mg dalam 25 ml larutan.
- Dibuat satu larutan blanko minuman ringan.
- Keenam larutan tersebut ditambah 500 mg BaCl_2 , biarkan 5 menit.

- Saring dengan kertas saring Whatman 41.
 - Asamkan larutan tersebut dengan 2,5 ml HCl 4 N.
 - Tambahkan 50 mg NaNO_2 pada masing-masing larutan.
 - Lihat konsentrasi yang terkecil yang masih memberi endapan BaSO_4 , dibandingkan terhadap blanko. (Dalam percobaan di sini ialah pada konsentrasi 1 mg dalam 25 ml larutan).
2. - Kemudian dibuat larutan siklamat dalam minuman ringan yang sama dengan di atas dengan konsentrasi 1 mg, 0,875 mg, 0,75 mg, 0,625 mg, 0,5 mg, 0,375 mg, 0,25 mg dalam 25 ml larutan.
- Dibuat satu larutan blanko
 - Pada keenam larutan tersebut dilakukan percobaan ulang seperti pada 1 di atas.
3. - Seluruh percobaan di atas 1 & 2 dilakukan juga terhadap sirup, minuman ringan, larutan gula 55 % dan larutan gula 10%.
4. - Untuk sirup, sebelum dibuat larutan Siklamat dalam sirup tersebut, maka dilakukan pengenceran dahulu antara 2 sampai 6 kali pengenceran.

Lampiran 7Metoda analisa reaksi penetapan(Metoda analisa dengan Kromatografi lapisan tipis)

- a. Ekstraksi
- b. Identifikasi dengan kromatografi lapisan tipis (KLT)
- c. Batas deteksi

a. Ekstraksi

- a.1. Pelarut : 1. petroleum eter
2. etil asetat

a.2. Prosedur ekstraksi:

- Ke dalam 25 ml larutan yang mengandung Siklamat di tambahkan 5 ml H_2SO_4 (1:1) dalam corong pemisah 125 ml, kocok, dinginkan (sampel yang mengandung CO_2 dikocok, dituangkan berulang-ulang untuk menghilangkan CO_2).
- Ekstraksi dengan 2x25 ml petroleum eter, kocok perlahan-lahan dan teratur, lapisan eter dibuang.
- Tambahkan 2,5 ml NaOH 50% hati-hati, kocok perlahan-lahan, dinginkan.
- Ekstraksi dengan 2x25 ml etil asetat (jika sampelnya Coca-Cola maka dipakai 2x30 ml etil asetat untuk menghilangkan emulsi).
- Lapisan etil asetat saring dengan kapas yang telah dicuci dua kali dengan etil asetat ke dalam gelas piala.
- Uapkan sampai volume 5-10 ml.
- Pindahkan ke tabung dan uapkan sampai kering.
- Pada residu tambahkan 2,5 ml larutan $NH_4OH:H_2O:al$ kohol (5:5:10), kocok.
- Ekstraksi dilakukan terhadap :
 1. larutan gula sebagai blanko 1 (blanko laboratorium)
 2. larutan gula + Sakarin

3.

3. larutan gula + siklamat
4. larutan gula + sakarin dan siklamat
5. sirop sebagai blanko 2 (blanko laboratorium)
6. sirop + sakarin
7. sirop + siklamat
8. sirop + sakarin dan siklamat
9. Minuman ringan sebagai blanko 2 (blanko laboratorium)
10. Minuman ringan + sakarin
11. Minuman ringan + siklamat
12. Minuman ringan + sakarin dan siklamat
13. Konsentrasi : Sakarin 5 mg dalam 25 ml larutan, siklamat 25 mg dalam 25 ml larutan.

b. Kromatografi lapisan tipis (KLT)

1. Eluen : a. n-butanol : alkohol : NH_4OH : H_2O = 40 : 4 : 1 : 9
- b. Isopropanol : NH_4OH = 4 : 1

- Cara pembuatan :

- Dalam erlenmeyer 200 ml bertutup gelas masukkan 80 ml n-butanol, 8 ml alkohol, 18 ml H_2O dan 2 ml NH_4OH , goyang-goyang sampai homogen.
- masukkan kedalam bejana kromatografi yang telah dimasukkan kertas saring sekeliling dindingnya setinggi bejana.
- tutup, biarkan eluen naik sampai permukaan kertas saring.
- bejana siap dipakai
- dibuat dengan cara yang sama untuk eluen b.

2. Lapisan tipis

- Adsorben : a. Silica Gel H Type 60

b. Al_2O_3 netral.

- Tebal lapisan : 0,25 mm

- Cara pembuatan :

- ad.a. - 30 g silica gel H dimasukkan dalam erlenmeyer 500 ml bertutup gelas.
- tambahkan 75 - 80 ml H_2O , kocok sampai homogen
 - tuangkan keatas lempeng gelas 5 buah, ukuran 20 x 2 cm yang sudah dibersihkan dengan acetone.

- tarik sampai terjadi lapisan yang rata
 - keringkan pada suhu kamar lebih dari 1 jam
 - lapisan tipis ini dapat digunakan dalam waktu 36 jam
- ad.b. - 30 g Al_2O_3 dimasukkan dalam erlenmeyer 500 ml bertutup gelas
- tambahkan 45 - 50 ml H_2O , kocok sampai homogen
 - tuangkan ke atas lempeng gelas 5 buah, ukuran 20 x 20 cm yang sudah dibersihkan dengan acetone.
 - tarik sampai terjadi lapisan yang rata
 - keringkan pada suhu kamar semalam
 - panaskan lapisan tipis pada 110°C selama 1 jam

3. Larutan Standar

- a. dibuat larutan 50 mg Ca Siklamat dalam larutan alkohol :
air = 1 : 1 sebanyak 10 ml
- b. dibuat larutan 10 mg Na Sakarin dalam larutan alkohol: air
= 1 : 1 sebanyak 10 ml.

4. Penampak noda

- a. Sakarin : - Sinar UV 254 nm
 - campuran larutan metil red 0,1 % dalam alkohol 1 bagian dan larutan buffer fosfat (pH=7) 2 bagian
- b. Siklamat :-larutan 0,25 % Fluorescein dalam DMF: alkohol (1 : 1)
 - campuran larutan metil red 0,1 % dalam alkohol 1 bagian dan larutan buffer fosfat (pH = 7) 2 bagian.
 - b. larutan 0,25 % Fluorescein dalam DMF : alkohol (1:1).

5. Cara penotolan

- pada lempeng lapisan tipis dibuat tanda 2 cm dari permukaan bawah
- ukur dari tanda tadi ke atas setinggi 12,5 cm dan dibuat garis lurus sepanjang lempeng.

- totolkan pada lempeng tersebut larutan standar sakarin dan siklamat atau hasil ekstraksi sakarin dan siklamat sebanyak 5λ berjajar kesamping dengan, jarak 2 cm.
- keringkan pada suhu kamar.
- celupkan lempeng dalam bejana kromatografi
- elusi sampai garis batas yang telah dibuat
- angkat, keringkan pada suhu kamar.
- noda dilihat dengan :
 1. sinar UV 254nm atau
 2. disemprot dengan penampak noda
- pada penampak noda yang perlu dengan pemanasan maka lempeng dipanaskan dalam oven pada suhu 110°C selama 15 menit.
- noda yang tampak diukur R_f nya.
- perhitungan R_f :

$$R_f = \frac{\text{Jarak noda dari tempat penotolan}}{\text{Jarak permukaan elusi dari penotolan}}$$

c. Batas deteksi dari metoda terpilih (KLT)

Cara percobaan :

- Dibuat larutan standar Sakarin 3 mg dalam 10 ml larutan alkohol : air (1 : 1)
- Dibuat larutan standar siklamat 25 mg dalam 10 ml larutan alkohol : air (1 : 1).
- totolkan larutan standar sakarin dan siklamat tersebut pada lempeng lapisan tipis berturut-turut dari konsentrasi terbesar (5λ) sampai konsentrasi terkecil ($\frac{1}{2} \lambda$), lalu dielusi.
- noda dilihat dengan sinar UV 254 nm atau larutan penampak noda.
- kemudian tentukan noda dengan konsentrasi terkecil yang masih dapat dilihat.
- konsentrasi tersebut adalah batas kadar yang masih dapat dideteksi (batas deteksi dari larutan standar).

Lampiran 8

Cara Pemeriksaan sampel yang diperoleh dari pasaran dengan metoda terpilih.

A. Adsorben : Silica Gel H Type 60

Eluen : n - butanol : alkohol : NH_4OH : H_2O = 40:4:1:9.

Penampak noda : 1. lampu UV dengan panjang gelombang 254nm

2. larutan 0,25 % Fluorescein dalam DMF - alkohol (1:1)

Larutan standar : 1. 3 mg sakarin dalam 10 ml alkohol - H_2O (1:1)

2. 25 mg siklamat dalam 10 ml alkohol - H_2O (1 : 1)

B. Prosedure : a. Ekstraksi.

- sampel yang mengandung CO_2 dikocok dituangkan berulang-ulang untuk menghilangkan CO_2
- pada 50 ml sampel ditambahkan hati-hati 10 ml H_2SO_4 (1 + 1) dalam corong pemisah 125 ml, dinginkan.
- ekstraksi dengan dua kali 25 ml petroleum ether → kocok pelan-pelan dan terus menerus, buang lapisan petroleum ether nya.
- Pada lapisan air ditambahkan 5 ml larutan 50 % NaOH (W/W) dengan hati-hati → kocok pelan-pelan, dinginkan.
- ekstraksi dengan 2 x 25 ml etil acetat.
(jika sampelnya Cola maka dipakai 2 x 30 ml etil acetat untuk menghilangkan emulsi).
- Saring etil acetat dengan kapas yang telah dicuci dua kali dengan etil acetat ke gelas piala.
- uapkan di penangas uap sampai volume 5 - 10 ml, pindahkan ke tabung reaksi bersekala.
- uapkan sampai kering
- residue dilarutkan dalam 2,5 ml larutan NH_4OH : H_2O : alkohol (5 : 5 : 10), lalu kocok.

b. Penotolan.

- Pada lapisan tipis pada jarak 2 cm dari pinggir bawah totolkan 5 λ larutan standard dan sampel
- elusi setinggi 12,5 cm, angkat, keringkan
- lihat dibawah sinar UV 254 nm $\longrightarrow$ bercak ungu adalah sakarin
- semprot lapisan tipis dengan larutan 0,25 % Fluorescein dalam DMF - alkohol (1 : 1)
- Panaskan dalam oven pada 110°C selama 15 menit
- Noda kuning muda adalah siklamat

VI. KEPUSTAKAAN

1. David Pearson, Technical analysis of Food 6 th ed. page 256 - 267
2. D.G Garrat, The Quantitative Analysis of Drugs 3 th ed. 1964. page 354 - 356.
3. E.M. Rashmik and V. Vis Manachan, Journal of Pharmaceutical Sciences Vol 64 No.1. January 1975. page 133 - 135.
4. Fernandez - Flores et.al Saccharin in Foods by Calorimetry (1973) JADAC, 56, 1411 - 1414.
5. Farmakope Indonesia Edisi II 1972, hal. 567
6. G. Ramappa and H Sanka Gowda
A.Z. Anal Chem. 292.413 (1978).
7. Ida Syafridaningsih, skripsi Pemeriksaan Kadar Natrium Siklamat dalam manisan buah-buahan basah dari kota Cianjur.
Unpad. Bandung 1981 hal 16 - 22
8. K. Nagasawa H. Yashidome and K. Anriju
J. Chromatography 52.173 (1970) page 173 - 175.
9. Lloyd C. Mitchel, Association of Official Agricultural Chemist vol 38 no. 4 page 913 - 1915.
10. Meites, Lanis, Handbook of analytical Chemistry 1st ed. tabel 12 - 73, 12 - 161, New York Mc Graw Hill 1963
11. Official methods of analysis of the Association of official Analytical Chemists(ADAC) 13 th ed. 1980.
12. Official methods of analysis of the Association of official Analytical Chemists(ADAC) 12th ed. 1975.
page 375 - 382.
13. Ray Edgar Siahaan, Saccharin dalam Obat-Obatan, Studi pustaka, Universitas Pancasila 1979 hal. 13 - 14.
14. Standar Industri Indonesia (SII), 0 2733 - 80 hal 4-5.
15. Standar Industri Indonesia (SII) 0.154 - 77 hal. 3 - 4
16. Suryadi Andi, Kumpulan Karya Tulis Sekolah Teknik Laboratorium Kimia Farmasi Dep.Kes. R.I. 1981.
17. The Merck Index encyclopedia of Chemicals and Drugs, Ninth edition, 1976 page. 352 . 1077.

18. Technical Reports Series, Evaluation of certain Food Additives World Organization, Geneva 1971 - 1978
 19. Talanta 1967 Vol. 14. p . 389
 20. The United States Pharmacopeia 9th Revision Official from July 1, 1975 page 760.
 21. WHO Food Additives Series No.7. World Health Organization Geneva 1976 page 212.
-

