



Artikel

Pengujian Kadar Pengawet Asam Benzoat dan Asam Sorbat Pada Permen Keras Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Determination of Benzoic Acid And Sorbic Acid Preservative Levels In Hard Candies Using High-Performance Liquid Chromatography

Reizza Muhammad Giyats Al Hisyam Dwi Samara¹, Nuning Yuningsih², Nezly Nurlia Putri^{*}

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Serang, Indonesia

²Balai besar Pengawasan Obat dan Makanan, Serang, Indonesia

INFORMASI ARTIKEL

Genesis artikel:

Diterima :
28-Juni-2023
Disetujui :
29-Juli- 2023

Keywords:

Benzoic acid
Sorbic Acid
Hard Candy
HPLC

Kata Kunci:

Asam benzoat
Asam Sorbat
KCKT
Permen Keras

ABSTRACT

Hard candy is a type of solid snack made from sugar or a mixture of other sweeteners with or without the addition of other food ingredients and food additives (BTP). Based on the BPOM Regulation No. 11 of 2019 concerning BTP, the use of benzoic acid in hard candy is a maximum of 500 mg/kg body weight while sorbic acid is a maximum of 1000 mg/kg body weight. Excessive consumption of benzoic acid and sorbic acid can endanger health. Food quality control of the use of BTP can be done by routine testing in the laboratory. One of the instruments that can detect BTP is High Performance Liquid Chromatography (HPLC). This study aims to analyze the levels of benzoic acid and sorbic acid in hard candy samples using HPLC instrument. The results of the analysis of benzoic acid and sorbic acid levels in hard candy samples showed that both were not detected by the detector. The LOD value of benzoic acid obtained on HPLC instrument was 4.92 mg/kg and the LOD of sorbic acid was 3.70 mg/kg) which limits its use to meet BPOM regulation No. 11 of 2019. The testing process for benzoic acid and sorbic acid in hard candy samples is also correct and in accordance with the procedure, where the recovery value is in the range of 90-107%, the RPD value is smaller than the 2/3 CV Horwitz value (In benzoic acid, the RPD value is 1.02% and the CV Horwitz value is 6.42 while in sorbic acid the RPD value is 0.75% and the CV Horwitz value is 4.15) with a correlation coefficient that meets the linearity (r) requirement of 0.9999.

ABSTRAK

Permen keras merupakan jenis makanan ringan berbentuk padat yang terbuat dari gula atau campuran pemanis lain dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan (BTP). Berdasarkan Peraturan Badan POM No 11 Tahun 2019 tentang BTP, penggunaan asam benzoat pada permen keras maksimal 500 mg/kg berat badan sedangkan asam sorbat maksimal 1000 mg/kg berat badan. Konsumsi asam benzoat dan asam sorbat secara berlebihan, dapat membahayakan kesehatan. Pengawasan mutu makanan terhadap penggunaan BTP dapat dilakukan dengan pengujian rutin di laboratorium. Salah satu Instrumen yang dapat mendeteksi BTP adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar asam benzoat dan asam sorbat pada sampel permen keras menggunakan instrumen KCKT. Hasil analisis kadar asam benzoat dan asam sorbat pada sampel permen keras menunjukkan bahwa tidak terdeteksi oleh detector keberadaanya. Nilai LOD asam benzoat yang diperoleh pada instrumen KCKT 4.92 mg/kg dan LOD asam sorbat 3.70 mg/kg) yang mana batas penggunaannya memenuhi PerBPOM No. 11 tahun 2019. Proses pengujian asam benzoat dan asam sorbat pada sampel permen keras juga sudah tepat dan sesuai dengan prosedur, dimana nilai recovery berada dalam rentang 90-107%, nilai RPD lebih kecil dari nilai 2/3 CV Horwitz (Pada asam benzoae nilai RPD sebesar 1.02% dan nilai CV Horwitz sebesar 6.42 sedangkan asam sorbat nilai RPD sebesar 0.75% dan nilai CV Horwitz sebesar 4.15) dengan koefisiensi korelasi memenuhi syarat linearitas (r) yaitu 0.9999.

*PenulisKorespondensi :

Email: nezly_np@untirta.ac.id
doi: 10.30812/jtmp.v2i1.3106

Hak Cipta © 2022 Penulis, Dipublikasi oleh Jurnal Teknologi dan MutuPangan

Ini adalah artikel akses terbuka di bawahlisensi CC BY-NC-SA (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)

Cara Sitasi: Samara, R. M. G. A. D., Yuningsih, N., Putri, N. N. (2023). Pengujian Kadar Pengawet Asam Benzoat dan Asam Sorbat Pada Permen Keras Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Teknologi Dan Mutu Pangan*, 2(1), 83-91.

<https://doi.org/https://doi.org/10.30812/jtmp.v2i1.3106>

1. PENDAHULUAN

Permen keras merupakan salah satu permen nonkristalin yang diolah dengan suhu tinggi sekitar 140-150°C yang memiliki tekstur keras, mengkilat, dan bening (Ramadhan, 2012). Permen keras termasuk jenis makanan selingan berbentuk padat yang terbuat dari gula atau campuran pemanis lain dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan (BTP) yang diizinkan berdasarkan SNI 3547.1:2008 (BPOM, 2019). Bahan pengawet biasanya digunakan untuk menjaga makanan agar tidak mudah rusak. Bahan ini dapat menghambat proses mikroba seperti fermentasi, pengasaman, atau peruraian (Ariantini, 2019). Beberapa produsen pangan, menggunakannya pada pangan yang relatif awet dengan tujuan memperpanjang masa simpan atau memperbaiki tekstur.

Pengawet adalah zat (biasanya bahan kimia) yang digunakan untuk mencegah pertumbuhan bakteri pembusuk. Zat pengawet hendaknya tidak bersifat toksik, tidak mempengaruhi warna, tekstur, dan rasa makanan (Arisman, 2009). Asam benzoat dan asam sorbat adalah dua pengawet yang sering dijumpai pada produk pangan olahan. Benzoat merupakan unsur alami yang terdapat dalam beberapa tumbuhan, sering digunakan sebagai pengawet makanan (Hilda, 2015). Asam benzoat memiliki kelarutan yang sukar larut dalam air, tetapi mudah larut dalam etanol, kloroform, dan eter. Benzoat bersifat mudah menguap pada suhu hangat dan mudah menguap dalam uap air (Kemenkes, 2020). Sebagai bahan pengawet, asam benzoat dapat bekerja secara optimal pada pH 2.5 - 4.5 (Adilla, 2021). Penggunaannya banyak digunakan dalam bentuk garam Na-benzoat karena kelarutan garamnya lebih besar. Bahan garam benzoat terurai menjadi bentuk efektif, yaitu bentuk asam benzoat yang tak terdisosiasi (Tahir & Nurmawati, 2019). Berdasarkan Peraturan Badan POM No 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan, penggunaan asam benzoat sebagai bahan pengawet pada produk pangan, dapat dikonsumsi setiap hari selama hidup tanpa menimbulkan efek merugikan terhadap kesehatan dengan ADI (*Acceptable Daily Intake*) 0-5 mg/kg berat badan. Penggunaan pengawet asam benzoat pada permen keras maksimal 500 mg/kg berat badan (BPOM, 2019). Konsumsi asam benzoat secara berlebihan dapat menimbulkan bahaya bagi kesehatan dan dalam jangka panjang dapat menyebabkan gangguan pada ginjal, dimana sel darah merah rusak yang berdampak tekanan darah menurun dan filtrasi / penyaringan juga menurun sehingga proses pengeluaran urin menjadi sedikit, jika dibiarkan maka racun yang tidak dapat dikeluarkan melalui urin mengendap di ginjal (Hilda, 2015).

Asam sorbat maupun kalium sorbat banyak dipakai sebagai pengawet makanan manusia dengan konsentrasi rendah karena asupan dalam konsentrasi tinggi bersifat karsinogenik. Untuk kosmetik misalnya dipakai konsentrasi 1%, maka sebagai pengawet makanan tentunya harus lebih rendah dari 1%, karena asam sorbat mempunyai rasa asam dan bau menyengat sehingga konsentrasi penggunaannya harus benar-benar sesuai dengan takaran (Susrama, 2017). Berdasarkan Peraturan Badan POM No 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan, penggunaan asam sorbat sebagai bahan pengawet pada produk pangan, dapat dikonsumsi setiap hari tanpa menimbulkan efek merugikan terhadap kesehatan dengan ADI 0-25 mg/kg berat badan (BPOM, 2019) sedangkan penggunaan pengawet asam sorbat dalam produk permen keras maksimal 1000 mg/kg berat badan. Jika penggunaan asam sorbat pada produk berlebihan, maka akan menyebabkan gangguan kesehatan seperti muntah-muntah, diare, atau pusing (Nurdiani & Ismail, 2019).

Berbagai metode analisis asam benzoat dan asam sorbat telah banyak dilakukan dalam produk pangan, yaitu spektrofotometri UV-Vis, Kromatografi gas, dan kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) detector UV-Vis dan PDA. Biaya instrumen dengan spektrofotometri UV-Vis relatif rendah dan nilai panjang gelombang maksimal 280 nm tetapi kelemahannya terdapat pada penentuan pelarut yang mengakibatkan terjadinya perbedaan nilai panjang gelombang

maksimal. Pada instrumen kromatografi gas, analisis benzoat dapat dilakukan tanpa derivatisasi namun proses ekstraksi harus dimaksimalkan (Adilla, 2021).

KCKT adalah salah satu cara pengujian kadar pengawet asam benzoat dan asam sorbat dalam produk pangan (Chawla & Ranjan, 2016). KCKT mampu menganalisis senyawa multikomponen dan mengidentifikasi senyawa sampel berupa campuran (Pakpahan, 2005). KCKT merupakan pengembangan terbaru dari kromatografi cair kolom klasik, yaitu pengembangan teknologi pada kolom, detektor yang lebih sensitive dan peka serta kemajuan teknologi pada pompa bertekanan tinggi yang menyebabkan KCKT menjadi suatu metode dengan sistem pemisahan zat yang cepat dan efisien (Aulia et al., 2016). KCKT dapat digunakan dalam analisis kuantitatif secara akurat, serta dapat dioperasikan secara otomatis dan efisien. Pengujian asam benzoat dan asam sorbat menggunakan KCKT detector PDA pada minuman ringan diperoleh panjang gelombang 228 nm dan pada produk keju diperoleh panjang gelombang 280 nm (Adilla, 2021).

Pengawasan produk dan pengujian rutin di laboratorium yang cepat dan akurat dibutuhkan untuk memastikan bahwa produk pangan yang beredar dipasaran memenuhi standar mutu yang telah ditetapkan oleh Badan POM. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan analisis kadar asam benzoat dan asam sorbat pada permen keras menggunakan instrument KCKT.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada pengujian kadar pengawet permen keras yaitu seperangkat instrumen KCKT yang dilengkapi dengan kolom C18 (250 mm x 4,6 mm), ukuran partikel 5 μm , detektor Photodiode Array (PDA), timbangan analitik, timbangan mikro, ultrasonik, batang pengaduk, pH meter, sudip, labu tentukur 10 mL dan 50 mL, erlenmeyer 100 mL, shaker, pipet mikro volume 20-200 μL dan 100-1000 μL , gelas beaker 50 mL dan 100 mL, kertas saring, corong, penyaring membran (*syringe*) dengan diameter pori 0,45 μm , vial KCKT. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu baku pembanding natrium benzoat dan asam sorbat bersertifikat, aquadem, kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) 0.68 gram, dikalium hidrogen fosfat (K_2HPO_4) 0.87 gram, asam fosfat 10% (H_3PO_4), dan methanol.

2.2. Pelaksanaan Penelitian

Prinsip Instrumen KCKT adalah pemisahan komponen analit berdasarkan polaritasnya, setiap campuran akan dideteksi oleh detektor dan direkam dalam bentuk kromatogram. Jumlah puncak (*peak*) menunjukkan jumlah komponen konsentrasi komponen dalam campuran (Rohman, 2018). Berdasarkan instruksi kerja verifikasi metode dilaboratorium pangan dan air Balai Besar POM di Serang Banten, prosedur pengujian kadar asam benzoat dan asam sorbat pada permen keras menggunakan instrumen KCKT terdiri dari pembuatan larutan uji (sampel), larutan baku (standar), larutan spike dan pembuatan fase gerak metanol:dapar fosfat pH 6,8 (4:96).

2.3. Pembuatan Larutan Uji (Sampel)

Sampel permen keras yang telah dihomogenkan dalam bentuk serbuk ditimbang sebanyak 2 gram menggunakan neraca analitik. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquadem hingga mencapai tanda tera. Selanjutnya dihomogenisasi menggunakan shaker selama 2 menit. Setelah itu dilakukan penyaringan

dengan kertas saring. Hasil filtrat sampel tersebut sebanyak 2 mL dimasukkan ke labu ukur 10 mL menggunakan mikropipet yang kemudian ditambah aquadem hingga batas tera. Larutan tersebut disaring dengan syringe 0.45 μm , dimasukkan ke tabung vial lalu disonifikasi 10-15 menit sebelum dimasukkan ke tempat injeksi sampel KCKT.

2.3.1. Pembuatan Larutan Baku

Natrium benzoat dan asam sorbat ditimbang masing-masing sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian dilarutkan menggunakan metanol:aquades (60:40) ke dalam labu ukur 50 mL sampai tanda tera. Selanjutnya dihomogenisasi dengan shaker sehingga diperoleh larutan baku induk konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$. Larutan baku induk ini, masing-masing dipipet 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquades hingga tanda tera yang selanjutnya dilakukan homogenisasi dan diperoleh larutan baku antara didapatkan (100 $\mu\text{g/ml}$). Setelah itu, larutan baku kerja dibuat dengan rentang kadar 0,09 – 18 $\mu\text{g/ml}$ menggunakan pengenceran bertingkat dari larutan baku antara (0,01; 0,05; 0,1; 0,4; 0,6; 0,8; 1,2; 1,6; 2) yang masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquadem hingga tanda tera. Kemudian dihomogenisasi, disaring (syringe 0.45 μm) dan dimasukkan ke dalam tabung vial untuk dianalisis dengan KCKT, serta dilakukan sonifikasi 10-15 menit.

2.3.2. Pembuatan Larutan Spike

Natrium benzoat dan asam sorbat ditimbang masing-masing sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian dilarutkan menggunakan metanol:aquades (60:40) ke dalam labu ukur 50 mL sampai tanda tera. Selanjutnya dihomogenisasi dengan shaker sehingga diperoleh larutan baku induk konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$. Larutan baku induk ini, masing-masing dipipet 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquadem hingga tanda tera yang selanjutnya dilakukan homogenisasi dan diperoleh larutan baku antara didapatkan (100 $\mu\text{g/ml}$). Setelah itu, larutan baku kerja dibuat dengan rentang kadar 0,09 – 18 $\mu\text{g/ml}$ menggunakan pengenceran bertingkat dari larutan baku antara (0,01; 0,05; 0,1; 0,4; 0,6; 0,8; 1,2; 1,6; 2) yang masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquadem hingga tanda tera. Kemudian dihomogenisasi, disaring (syringe 0.45 μm) dan dimasukkan ke dalam tabung vial untuk dianalisis dengan KCKT, serta dilakukan sonifikasi 10-15 menit.

2.3.3. Pembuatan Fase Gerak Metanol:Dapar Fosfat pH 6.7 (4:96)

Kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) ditimbang sebanyak 0.68 gram dan dikalium hidrogen fosfat (K_2HPO_4) ditimbang sebanyak 0.87 gram. Kemudian dicampur dan dimasukkan ke dalam gelas beaker 1 liter. Aquadem ditambahkan hingga 900 mL dan distirer hingga larut. Selanjutnya larutan asam fosfat encer ditetesi hingga mendapatkan pH 6.8. Setelah pH sesuai maka ditambahkan aquadem hingga 1 liter, kemudian dibuat perbandingan dapar fosfat pH 6.8: metanol (96:4), lalu dilakukan filtrasi dengan seperangkat alat filtrasi vakum. Hasil filtrasi dimasukkan ke gelas beaker 1 liter dan didegase 10-15 menit.

2.3.4. Cara Penetapan

Prinsip kerja instrumen KCKT yaitu ketika sampel uji diinjeksikan ke dalam kolom maka sampel tersebut akan terurai dan terpisah menjadi senyawa-senyawa kimia (analit) berdasarkan perbedaan afinitasnya. Hasil pemisahan tersebut kemudian dideteksi oleh detektor dan akan diinterpretasikan dalam bentuk kromatogram, dimana terdapat

peak dengan nilai AUC yang telah tertera pada kromatogram yang digunakan untuk analisis kuantitatif atau untuk menentukan kadar suatu senyawa. Spesifikasi instrumen KCKT yang digunakan yaitu:

Fase diam	: Pursuit C18 (P: 250 mm x L: 4,6 mm x 5 µm)
Fase gerak	: Dapar fosfat pH 6.8 – Metanol (96:4)
Laju alir	: 1,0 ml per menit
Detektor	: PDA (λ 225 nm)
Volume injeksi	: 20 µl
Sistem injeksi	: Autosampler

Kadar asam benzoat dan asam sorbat pada permen keras dihitung dan ditetapkan menggunakan kurva kalibrasi dengan persamaan (1) garis lurus, yaitu:

$$Y = a + bx \quad (1)$$

Keterangan:

Y : area

x : konsentrasi

a : *intersept*

b : *slope*

Kemudian larutan yang terdeteksi dilakukan hasil perhitungan terhadap kadar perlakuan, teoritis, *recovery*, rata-rata kadar perlakuan, *Relative Percent Difference* (RPD) (%) atau perbedaan relatif, dan $2/3$ CV Horwitz dengan menggunakan larutan spike, yang dapat dilihat pada persamaan (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8).

$$CSP(x) = y + a/b \quad (2)$$

$$Kadar \text{ Perlakuan} = \frac{CSP \times F_p}{z} \quad (3)$$

$$Kadar \text{ teoritis (spike)} = \frac{\text{volume pipetetan} \times \text{kadar baku induk}}{\text{berat spike}} \quad (4)$$

$$Recovery (\%) = \frac{\text{Kadar perlakuan} - \text{kadar zat aktif pada sampel}}{\text{kadar teoritis}} \times 100\% \quad (5)$$

$$\text{Rata - rata kadar perlakuan} = \frac{\text{perlakuan 1} \times \text{perlakuan 2}}{2} \quad (6)$$

$$RPD (\%) = \frac{\text{kadar perlakuan 1} - \text{kadar perlakuan 2}}{\text{rata-rata perlakuan}} \times 100\% \quad (7)$$

$$2/3 \text{ CV Horwitz} = 2^{(1-0.5+\log C)} \times \frac{2}{3} \quad (8)$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian asam benzoat dan asam sorbat pada permen keras menggunakan instrumen KCKT terdiri dari kromatogram baku, spike, dan sampel sedangkan profil spektrum terdiri dari profil spektrum larutan baku dan spike. Natrium benzoat memiliki waktu retensi (Rt) 10.612 menit pada kromatogram baku yang profil spektrum terdeteksi pada panjang gelombang 226.04 nm. Pada kromatogram larutan spike 1 dan 2, diperoleh waktu retensi (Rt) 10.597 menit yang profil spektrum spike terdeteksi pada panjang gelombang 253.39 nm. Asam sorbat memiliki waktu retensi (Rt) 13.912 menit pada kromatogram baku yang profil spektrum terdeteksi pada panjang gelombang 225.81 nm. Pada kromatogram larutan spike 1 dan 2 diperoleh waktu retensi (Rt) 13.894 menit yang profil spektrum terdeteksi pada panjang gelombang 253.68 nm. Hal ini menunjukkan bahwa pengujian yang dilakukan sudah tepat dan sesuai dengan prosedur, karena waktu retensi dan panjang gelombang yang diperoleh pada larutan baku dan spike mendekati sama.

Selanjutnya hasil pada kromatogram sampel, sampel tidak memiliki kromatogram pada waktu retensi yang sama dengan larutan baku, sehingga dapat dikatakan bahwa asam benzoat dan asam sorbat pada permen keras tidak terdeteksi oleh detektor. Ini disebabkan bahwa asam benzoat dan asam sorbat yang terkandung dalam sampel dibawah LOD. LOD (*Limit of Detection*) merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan. LOD asam benzoat pada instrumen KCKT yang digunakan yaitu 4.92 mg/kg, sedangkan LOD asam sorbat pada instrumen KCKT yaitu 3.70 mg/kg (Rohmah, Muadifah, & Martha, 2021). Berdasarkan Peraturan Badan POM No 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan, penggunaan asam benzoat sebagai pengawet pada permen keras (kategori 05.2) maksimal 500 mg/kg, sedangkan penggunaan asam sorbat maksimal 1000 mg/kg (BPOM, 2019). Maka dari itu, sampel permen keras yang diuji telah memenuhi syarat penggunaan asam benzoat dan asam sorbat sebagai bahan pengawet.

Hasil pengujian kadar asam benzoat dapat dilihat pada Tabel 1 sedangkan hasil pengujian kadar asam sorbat dapat dilihat pada Tabel 2. Pengujian dilakukan menggunakan larutan spike. Larutan sampel yang tidak terdeteksi tidak dilakukan perhitungan lebih lanjut terhadap komponen-komponen tersebut.

Tabel 1. Hasil Pengujian Kadar Asam Benzoat

Benzoat	W + Z (g)	W (g)	Z (g)	Area	Fp	Kadar (mg/kg)	Kadar Spike Teoritis (mg/kg)	Rec (%)	\bar{X}	RPD (%)	2/3 CV
01 L A	36.1970	34.1056	2.0914	0	250	nd	-	-	-	-	-
01 L B	35.7712	33.7665	2.0047	0	250	nd	-	-	-	-	-
01 L C	37.9762	35.8787	2.0975	0	250	nd	-	-	-	-	-
07 A	33.9983	31.9854	2.0129	0	250	nd	-	-	-	-	-
07 B	37.9581	35.8496	2.1085	0	250	nd	-	-	-	-	-
07 C	33.9051	31.8942	2.0109	0	250	nd	-	-	-	-	-
08 A	35.9311	33.8374	2.0937	0	250	nd	-	-	-	-	-
08 B	37.9820	35.8848	2.0972	0	250	nd	-	-	-	-	-
08 C	37.5978	35.6075	1.9903	0	250	nd	-	-	-	-	-
8SP 1	36.3511	34.3134	2.0377	254069	250	424.11	434.90	97.52	425.055	0.445	4.29
8SP 2	37.2076	35.1688	2.0388	255357	250	426.00	434.66	98.01	-	-	-

Keterangan: W+Z (Berat wadah kosong+sampel), W (Berat wadah kosong), Z (Berat sampel), Fp (Faktor pengenceran), Kadar (Kadar Perlakuan), Spike (Kadar teoritis), Rec (recovery), \bar{x} (rata-rata kadar perlakuan).

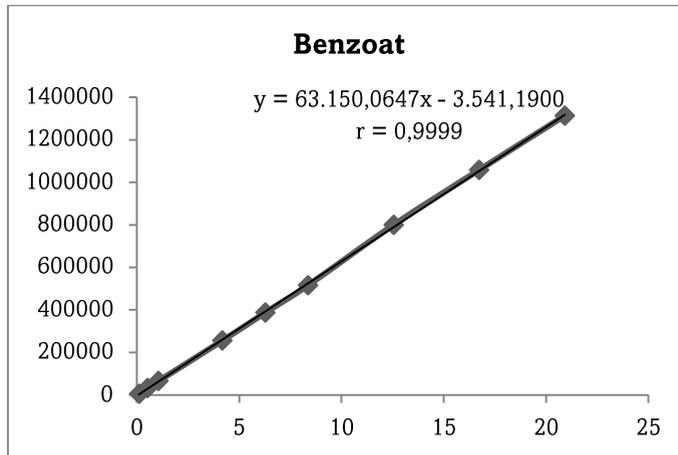
Dari Tabel 1 dan Tabel 2, hasil *recovery* yang diperoleh pada larutan spike, pengujian asam benzoat dan asam sorbat pada sampel permen keras sudah tepat dan sesuai dengan prosedur dimana hasilnya berada dalam rentang 90-107%. Nilai *recovery* berdasarkan standar AOAC untuk konsentrasi sekitar 100 ppm dibawah 0.1% adalah 90-107% menunjukkan tingkat kesesuaian dari rata-rata suatu pengukuran yang sebanding dengan nilai sebenarnya (Putra, Mairizki, & Suyani, 2012). Hasil *recovery* menggambarkan respon detektor terhadap analit yang ditambahkan dalam matriks biologis terhadap proses ekstraksi dan respon detektor dengan konsentrasi sebenarnya (FDA, 2001). Nilai dari perolehan kembali menggambarkan efisiensi proses ekstraksi yang dilakukan dimana hasil yang didapatkan tidak disyaratkan tepat 100% tetapi harus konsisten dan memiliki tingkat keterulangan yang baik.

Tabel 2. Hasil Pengujian Kadar Asam Sorbat

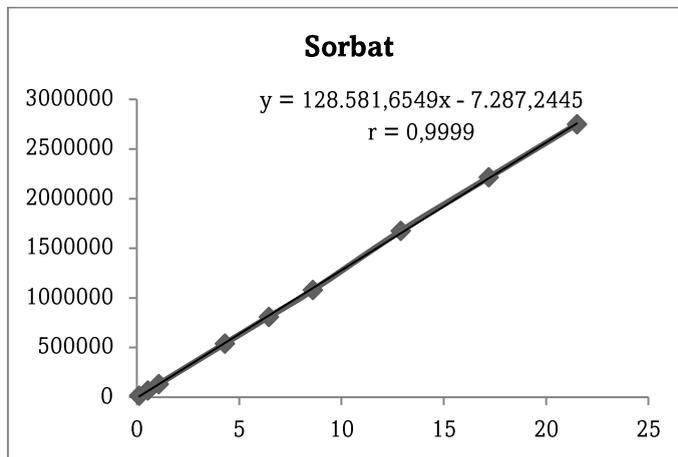
Sorbat	W + Z (g)	W (g)	Z (g)	Area	Fp	Kadar (mg/kg)	Kadar Spike Teoritis (mg/kg)	Rec (%)	\bar{X}	RPD (%)	2/3 CV
01 L A	36.1970	34.1056	2.0914	0	250	nd	-	-	-	-	-
01 L B	35.7712	33.7665	2.0047	0	250	nd	-	-	-	-	-
01 L C	37.9762	35.8787	2.0975	0	250	nd	-	-	-	-	-
07 A	33.9983	31.9854	2.0129	0	250	nd	-	-	-	-	-
07 B	37.9581	35.8496	2.1085	0	250	nd	-	-	-	-	-
07 C	33.9051	31.8942	2.0109	0	250	nd	-	-	-	-	-
08 A	35.9311	33.8374	2.0937	0	250	nd	-	-	-	-	-
08 B	37.9820	35.8848	2.0972	0	250	nd	-	-	-	-	-
08 C	37.5978	35.6075	1.9903	0	250	nd	-	-	-	-	-
8SP 1	36.3511	34.3134	2.0377	543215	250	525.27	527.66	99.55	526.415	0.75	4.15
8SP 2	37.2076	35.1688	2.0388	545919	250	527.56	527.38	100.03	-	-	-

Keterangan: W+Z (Berat wadah kosong+sampel), W (Berat wadah kosong), Z (Berat sampel), Fp (Faktor pengenceran), Kadar (Kadar Perlakuan), Spike (Kadar teoritis), Rec (recovery), \bar{x} (rata-rata kadar perlakuan).

Uji presisi dilakukan dengan menghitung 2/3 CV Horwitz (koefisien variansi) di mana kriteria RPD harus lebih kecil dari 2/3 CV Horwitz. Pada kriteria FDA, presisi ditentukan oleh nilai CV dimana $\leq 20\%$ pada konsentrasi terendah dan $\leq 15\%$ pada konsentrasi lainnya (Hadisutjipto, 2020). Hasil pengujian asam benzoat yang terdapat pada Tabel 1 diperoleh nilai RPD sebesar 1.02% dan nilai CV Horwitz (FDA, 2001). sebesar 6.42 sedangkan hasil pengujian asam sorbat yang terdapat pada Tabel 2, diperoleh nilai RPD sebesar 0.75% dan nilai CV Horwitz sebesar 4.15. Hasil pengujian yang diperoleh dapat dinyatakan bahwa kriteria presisi sesuai yaitu nilai RPD lebih kecil dari nilai 2/3 CV Horwitz.



Gambar 1. Kurva Baku Asam Benzoat



Gambar 2. Kurva Baku Asam Sorbat

Dari Gambar 1 dan 2, grafik kurva baku pada asam benzoat dan asam sorbat diperoleh persamaan regresi linear dengan koefisiensi korelasi memenuhi syarat linearitas (r) yaitu 0.9999. Metode instrumen KCKT yang diusulkan memenuhi persyaratan kesesuaian sistem yaitu nilai $r \geq 0.990$ (Siswanto, Fudholi, Nugroho, & Martono, 2016). Hali ini juga berdasarkan IK verifikasi metode dilaboratorium pangan dan air Balai Besar POM di Serang Banten.

4. KESIMPULAN

Hasil analisis kadar asam benzoat dan asam sorbat pada sampel permen keras menunjukkan bahwa hasil kromatogram tidak memiliki waktu retensi yang sama dengan larutan baku sehingga tidak terdeteksi oleh detector keberadaanya. Nilai LOD asam benzoat pada instrumen KCKT 4.92 mg/kg dan LOD asam sorbat pada instrumen KCKT 3.70 mg/kg) dimana batas penggunaan asam benzoat maksimal 500 mg/kg, dan asam sorbat maksimal 1000 mg/kg berdasarkan Peraturan Badan POM No. 11 tahun 2019. Proses pengujian asam benzoat dan asam sorbat pada sampel permen keras juga sudah tepat dan sesuai dengan prosedur, dimana nilai *recovery* berada dalam rentang 90-107%, nilai RPD lebih kecil dari nilai $2/3$ CV Horwitz (Pada asam benzoat nilai RPD sebesar 1.02% dan nilai CV Horwitz sebesar 6.42 sedangkan asam sorbat nilai RPD sebesar 0.75% dan nilai CV Horwitz sebesar 4.15 dengan koefisiensi korelasi memenuhi syarat linearitas (r) yaitu 0.9999.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan pada segenap pihak yang terlibat dalam penelitian ini.

6. DEKLARASI

Pernyataan Kepentingan Bersaing

Penulis tidak memiliki hubungan keluarga yang dapat melibatkan terjadinya benturan kepentingan yang dapat menyebabkan biasnya data yang dikumpulkan.

Taknonomi Peran Kontributor

Reizza Muhammad Giyats Al Hisyam Dwi Samara: Penyusunan draft asli-editor. **Nuning Yuningsih:** Penyusunan draft asli. **Nezly Nurlia Putri:** Penyusunan draft asli-editor

DAFTAR PUSTAKA

- Adilla, F. (2021). Review: Metode Analisis Senyawa Asam Benzoat dalam Produk Makanan dan Minuman. *Jurnal Dunia Farmasi*, 5(2), 63–73.
- Ariantini, N. S. (2019). Analisis Kadar Zat Aditif pada Minuman Sirup Rasa Marquisa. *International Journal of Applied Chemistry Research* |, 1(2), 2549–3671. <https://doi.org/10.23887/ijacr-undiksha>
- Arisman, M. B. (2009). Keracunan Makanan Buku Ajar Ilmu Gizi. EGC.
- Aulia, S., Savira, & Sopyan, I. (2016). Penetapan Kadar Simvastatin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT):Review. *Farmaka*, 14(2), 70–78.
- BPOM. (2019). *Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan*.
- Chawla, G., & Ranjan, C. (2016). Principle, Instrumentation, and Applications of UPLC: A Novel Technique of Liquid Chromatography. *Open Chemistry Journal*, 3(1), 1–16. <https://doi.org/10.2174/1874842201603010001>
- FDA. (2001). Guidance for industry: bioanalytical method validation. <Http://Www.Fda.Gov/Cder/Guidance/4252fnl.Pdf>.
- Hadisutjipto, R. (2020). Validasi Metode Bioanalisis Karbamazepin dan Karbamazepin 10,11-Epoksida dalam Spiked-Plasma Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan Detektor Photodiode Array. Yogyakarta.
- Hilda, N. (2015). Pengaruh Pengawet Benzoat terhadap Kerusakan Ginjal. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera*, 13(26), 14–21.
- Kemenkes. (2020). Farmakope Indonesia Edisi VI. *Katalog Dalam Terbitan. Kementerian Kesehatan RI Indonesia*.
- Nurdiani, C. U., & Ismail, M. D. (2019). Penetapan Kadar Asam Benzoat pada Margarin Bermerk Kemasan dan Bermerk Curah di Wilayah Pasar Cisalak Depok. *Anakes: Jurnal Ilmiah Analis Kesehatan*, 5(2), 183–188. <https://doi.org/10.37012/anakes.v5i2.346>
- Pakpahan, A. R. (2005). *Penetapan Kadar Asam Benzoat Dalam Minuman Bersoda Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*.
- Putra, A. Y., Mairizki, F., & Suyani, H. (2012). Penentuan Asam Benzoat, Natrium Sakarin, dan Secara Kromatografi cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Litbang Industri*, 2(2), 79–86.
- Ramadhan. (2012). *Universitas Indonesia Pembuatan Permen Hard Candy Yang Mengandung Propolis Sebagai Permen Kesehatan Gigi*.
- Rohmah, S. A. A., Muadifah, A., & Martha, R. D. (2021). Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 3(2), 120–127. <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.265>
- Rohman, A. (2018). *Analisis Makanan*. UGM PRESS.
- Siswanto, A., Fudholi, A., Nugroho, A. K., & Martono, S. (2016). Validasi Metode HPLC untuk Penetapan Aspirin dan Asam Salisilat dalam Plasma Kelinci (Lepus curpaeums) secara Simultan Validation of A High Performance Liquid Chromatography Method for The Simultaneous Determination of Aspirin and Salicylic Acid In Rabb. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 6(2), 68–78.
- Susrama, I. G. K. (2017). E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 6(3), 310.
- Tahir, M., & Nurmawati, J. S. (2019). Identifikasi Pengawet dan Pewarna Berbahaya pada Bumbu Giling yang Diperjualbelikan di Pasar Daya Makassar. *Jurnal Media Laboran*, 9(1), 22–28.