

K/K
TF 14/00
Arp
a

TESIS

**ANALISIS ASPARTAM DALAM MINUMAN INSTANT DENGAN
TEKNIK EKSTRAKSI FASE PADAT PERTUKARAN ION
PADA PENETAPAN KADAR SECARA
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**



OLEH :
SUSAN GRACIA ARPAN
NIM.099712638 M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999

**ANALISIS ASPARTAM DALAM MINUMAN INSTANT DENGAN TEKNIK
EKSTRAKSI FASE PADAT PERTUKARAN ION
PADA PENETAPAN KADAR SECARA
SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

TESIS

**Untuk memperoleh gelar Magister dalam Program Studi Ilmu Farmasi pada
Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga**

**OLEH :
SUSAN GRACIA ARPAN
NIM.099712638 M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

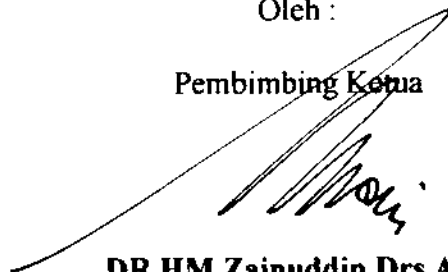
Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH D!SETUJUI

TANGGAL 22 DESEMBER 1999

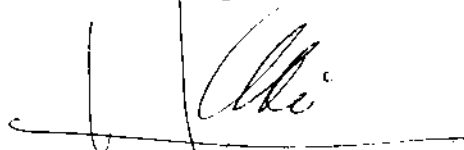
Oleh :

Pembimbing Ketua



DR.HM.Zainuddin,Drs,Apt.
NIP.130 517 154

Pembimbing



Prof. Soemadi,Drs,Apt.
NIP. 130 189 849

Mengetahui



Ketua Program Studi Ilmu Farmasi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Widi Soeratri,DEA,Apt.
NIP. 130 611 501

PENETAPAN PANITIA PENGUJI TESIS

**TELAH DIUJI PADA
TANGGAL 22 DESEMBER 1999**

PANITIA PENGUJI TESIS :

Ketua : Dr.G.N.Astika,Apt.

Anggota : Dr.HM.Zainuddin,Apt.

Prof.Soemadi,drs,Apt.

Dr.H.Amiruddin Prawita,Apt.

Dr.rer.nat.HM.Yuwono,Apt.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pertama-tama saya panjatkan puji syukur kehadirat Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga tesis ini dapat diselesaikan.

Terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Doktor H.Muhammad Zainuddin,Apt., Pembimbing Ketua yang dengan penuh perhatian telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran serta kebijaksanaannya mengantarkan saya menyelesaikan penelitian ini.

Terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya saya ucapkan kepada Profesor Soemadi,drs,Apt., Pembimbing yang dengan penuh pengertian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran hingga terselesaikannya penelitian ini.

Saya ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Departemen Kesehatan Republik Indonesia c.q Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan (PUSDIKNAKES) melalui Kepala Kantor Wilayah Departemen Kesehatan Propinsi Kalimantan Timur yang telah memberikan bantuan finansial, sehingga meringankan beban saya dalam menyelesaikan tesis ini, juga kepada Kepala Balai Pemeriksaan Obat dan Makanan Samarinda yang telah memberi izin kepada saya untuk mengikuti pendidikan ini.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

Rektor Universitas Airlangga Prof.H.Soedarto,dr,DTMH,PhD., atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program Magister.

Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang dijabat oleh Prof.Dr.Soedijono,dr., atas kesempatan menjadi mahasiswa Program Magister pada program Pascasarjana Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Dr.H.M Fasich,Apt., yang telah memberikan bantuan fasilitas laboratorium untuk penelitian ini.

Ketua Program Studi Ilmu Farmasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Dr.Widji Soeratri,DEA,Apt., yang selalu meluangkan waktu untuk memberikan konsultasi.

Para dosen penguji Dr.G.N.Astika,Apt. , Dr.H.Amiruddin Prawita,Apt., Dr.rer.nat. H.M.Yuwono,Apt.,MS., yang telah memberikan saran dan kritik yang membangun, sehingga memberikan koreksi yang positif kepada saya.

Para dosen pengajar pada Program Studi Ilmu Farmasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga yang telah memberikan ilmunya kepada saya.

Tak lupa pula saya ucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya dan tak terhingga kepada kedua orangtua saya Drs.HM.Arpan dan Ny.Margaretha T.S. Arpan serta kepada kedua adik saya Marvin Anwar Arpan S.IP dan Maya Airin Arpan SE atas dukungan moril dan dcanya selalu kepada saya, serta kepada teman-teman saya dan para laboratoris yang turut memberikan bantuan, semua handai taulan yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Akhirnya, semoga Allah SWT akan selalu melimpahkan rahmat dan petunjukNya kepada kita semua, Amin.

Surabaya, 22 Desember 1999

Penulis

RINGKASAN

Telah banyak beredar produk minuman instant, yaitu suatu minuman yang diformulasi dalam bentuk serbuk kering, yang menggunakan pemanis buatan aspartam. Pemanis buatan aspartam ini adalah pemanis nutritik sintetik rendah kalori, yang telah dipersyaratkan oleh Food and Drug Administration (FDA) dan oleh Departemen Kesehatan, bahwa semua makanan yang mengandung aspartam harus menyatakan "*Phenylketonurics : contain phenylalanin*" yang maksudnya peringatan bagi penderita phenylketonurea bahwa produk tersebut mengandung fenilalanin.

Aspartam merupakan suatu dipeptida (tersusun oleh dua asam amino yaitu asam aspartat dan fenilalanin serta sejumlah kecil metanol) yang bersifat amfoter, dapat dianalisis dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran ion ; pada pH rendah dengan penukar kation dan pada pH tinggi dengan penukar anion.

Telah dilakukan penelitian analisis aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran ion pada penetapan kadar secara spektrofotometri uv-vis, dengan tujuan untuk menentukan ketepatan dan ketelitian penetapan kadar aspartam dalam minuman instant tersebut dengan ekstraksi fase padat pertukaran kation dengan eluen dapar sitrat 1,0 M dan pertukaran anion dengan eluen dapar fosfat 1,0 M. Metode dilakukan pada penetapan kadar aspartam dalam formula (dengan matriks asam sitrat, natrium sitrat, natium karboksimetilselulosa, kalsium fosfat, asam askorbat dan sukrosa) dan pada sampel minuman instant X yang diambil dari pasaran. Pengukuran serapan aspartam dilakukan pada panjang gelombang maksimal 258 nm.

Pada metode penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar kation, untuk baku aspartam 0,1 % (100mg/100ml) ketelitian diperoleh dari perhitungan koefisien variasi dengan enam kali pengulangan, didapatkan hasil sebesar 0,6192 % dan ketepatan sebesar 98,72%. Pada penetapan kadar aspartam 0,08 % (80 mg/100 ml) dalam formula minuman instant diperoleh ketelitian sebesar 0,6447 % dan ketepatan sebesar 97,61 %. Pada penetapan kadar aspartam 0,1 % (100 mg/100ml) dalam formula minuman instant diperoleh ketelitian sebesar 1,0455 % dan ketepatan sebesar 98,12 %. Pada penetapan kadar aspartam 0,12 % (120 mg/100 ml) dalam formula minuman instant diperoleh ketelitian sebesar 0,6855 % dan ketepatan sebesar 96,93 %. Pada penetapan kadar aspartam dalam sampel minuman instant X 0,12 % (120 mg/100 ml) diperoleh ketelitian sebesar 0,7338 % dan ketepatan sebesar 95,50 %. Rata-rata hasil perolehan kembali aspartam dalam formula minuman instant dengan ekstraksi fase padat penukar kation adalah sebesar 97,57 %. Jadi ketepatan penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat pertukaran kation menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya dan ketelitian dengan koefisien variasi sebesar kurang dari persyaratan 2 %.

Pada metode penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar anion, untuk baku aspartam 0,1 % (100mg/100ml) ketelitian diperoleh dari perhitungan koefisien variasi dengan enam kali pengulangan, didapatkan hasil sebesar 0,8458 % dan ketepatan sebesar 86,15 %. Pada penetapan kadar aspartam 0,08 % (80 mg/100 ml) dalam formula minuman instant diperoleh ketelitian sebesar 1,1403 % dan ketepatan sebesar 85,53 %.

Pada penetapan kadar aspartam 0,1 % (100 mg/100ml) dalam formula minuman instant diperoleh ketelitian sebesar 1,2924 % dan ketepatan sebesar 85,52 %. Pada penetapan kadar aspartam 0,12 % (120mg/100 ml) dalam formula minuman instant diperoleh ketelitian sebesar 0,8752 % dan ketepatan sebesar 84,43 %. Pada penetapan kadar aspartam dalam sampel minuman instant X 0,12 % (120 mg/100 ml) diperoleh ketelitian sebesar 0,6984 % dan ketepatan sebesar 83,93%. Rata-rata hasil perolehan kembali aspartam dalam formula minuman instant dengan penukar anion adalah sebesar 85,16 %. Jadi ketepatan penetapan kadar aspartam dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran anion menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya dan ketelitian dengan koefisien variasi sebesar kurang dari persyaratan 2 %.

Hasil analisis statistik uji t 2 sampel bebas menunjukkan bahwa hasil penetapan kadar aspartam dalam formula minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih baik (dalam arti lebih besar secara bermakna) dari pada ekstraksi fase padat pertukaran anion.

Dari hasil penelitian ini disarankan untuk mencoba prosedur yang sama untuk memperbaiki ketepatan penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation menggunakan jenis eluen dapar yang lain dan jenis resin yang lain.

ABSTRACT

A simple spectrophotometric method has been developed for the determination of aspartame in powdered / instant drink based on ion exchange solid phase extraction. The accuracy and precision of the method was improved through cationic exchange solid phase extraction with citrate buffer 1,0 M and anionic exchange solid phase extraction with phosphate buffer 1,0 M. The method was applied to the determination of the aspartame content of various synthetic (mixed with citric acid, sodium citrate, sodium carboxymethylcellulose, calcium phosphate, ascorbic acid and sucrose) and real sample, and the result obtained for the samples were compared with both of cationic exchanger and anionic exchanger, the absorbance measurements were made at 258 nm.

On cationic exchanger, the accuracy was checked by calculating the variation coefficient of six replicates determination on aspartame containing 80 mg/100ml of aspartame, 100 mg/100 ml of aspartame, 120 mg/100 ml of aspartame, and the average of accuracy was found 97,57 %.

On anionic exchanger, the accuracy was checked by calculating the variation coefficient of six replicates determination on aspartame containing 80 mg/100ml of aspartame, 100 mg/100 ml of aspartame, 120 mg/100 ml of aspartame, and the average of accuracy was found 85,16 %.

The results of aspartame content from cationic exchange solid phase extraction were compared with anionic exchange solid phase extraction by

calculating the statistic measurements. The accuracy was checked by 2 sample t test student and the precision was checked by F test on the $\alpha = 0,05$. The statistic analysis showed that there was a significantly difference for the accuracy, that the result of cationic exchanger was better than the anionic exchanger, and unsignificantly difference for the precision.

Keywords : Aspartame, Instant Drink, Solid Phase Extraction, Ion Exchange and Spectrophotometry uv-vis Analysis.

DAFTAR ISI

Sampul dalam.....	i
Prasyarat gelar.....	ii
Persetujuan	iii
Penetapan panitia.....	iv
Ucapan terima kasih.....	v
Ringkasan	viii
Abstract.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR GAMBAR.....	xxii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang masalah.....	1
1.1 Rumusan masalah.....	5
1.2 Tujuan penelitian.....	5
1.3 Manfaat penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tinjauan tentang aspartam.....	7
2.1.1 Sifat-sifat aspartam.....	7
2.1.2 Kegunaan.....	8
2.1.3 Dosis.....	9

2.1.4	Toksisitas.....	9
2.2	Ekstraksi fase padat (Solid Phase Extraction)	10
2.3	Pertukaran ion (Ion Exchange)	15
2.4	Pemisahan asam amino (peptida,protein) dengan penukar ion.....	21
2.5	Prosedur elusi.....	23
2.5.1	Elusi sederhana (simple elution)	23
2.5.2	Elusi bertingkat/elusi fraksi (stepwise elution/fractional elution)	23
2.6	Formula minuman instant dan uraian tentang matriks.....	24
2.6.1	Formula minuman instant.....	24
2.6.2	Uraian tentang matriks.....	25
2.7	Metode Spektrofotometri uv-vis.....	28
2.8	Validasi Metode Analisis.....	30
2.8.1	Linieritas.....	31
2.8.2	Ketepatan.....	32
2.8.3	Ketelitian.....	33
BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	34
3.1	Kerangka konseptual.....	34
3.2	Hipotesis penelitian.....	37
BAB 4	METODE PENELITIAN.....	38
4.1	Alat dan bahan.....	38
4.1.1	Alat.....	38
4.1.2	Bahan.....	38
4.2	Pembuatan larutan dapar.....	39

4.2.1	Pembuatan larutan dapar sitrat 1,0 M.....	39
4.2.2	Pembuatan larutan dapar fosfat 1,0 M.....	39
4.3	Perhitungan kapasitas resin.....	40
4.3.1	Perhitungan kapasitas resin kation.....	40
4.3.2	Perhitungan kapasitas resin anion.....	42
4.4	Tahapan percobaan.....	44
4.4.1	Penentuan linieritas dan pembuatan kurva baku aspartam.....	44
4.4.2	Percobaan pendahuluan pengaruh komponen matriks.....	45
4.4.3	Penyiapan sampel percobaan.....	47
4.4.4	Ekstraksi fase padat aspartam menggunakan resin penukar kation dan anion.....	50
4.5	Pengukuran serapan.....	52
4.6	Penentuan validitas.....	52
4.6.1	Penentuan ketepatan.....	52
4.6.2	Penentuan ketelitian.....	53
4.7	Pengujian hipotesis.....	53
BAB 5	ANALISIS HASIL PENELITIAN.....	56
5.1	Penentuan linieritas dan pembuatan kurva baku.....	56
5.1.1	Penentuan linieritas.....	56
5.1.2	Pembuatan kurva baku aspartam.....	57
5.2	Tahapan pemilihan konsentrasi dapar.....	58
5.2.1	Konsentrasi dapar 0,1 M.....	58
5.2.2	Konsentrasi dapar 0,5 M.....	58

5.2.3	Konsentrasi dapar 1,0 M.....	58
5.3	Hasil ekstraksi fase padat aspartam dengan resin penukar kation.....	59
5.3.1	Pengaruh komponen matriks.....	59
5.3.2	Aspartam baku 0,1 %.....	59
5.3.3	Aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant.....	60
5.3.4	Aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant.....	62
5.3.5	Aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant.....	63
5.3.6	Sampel minuman instant X 0,12 %.....	64
5.4	Hasil ekstraksi fase padat aspartam dengan resin penukar anion.....	65
5.4.1	Pengaruh komponen matriks.....	65
5.4.2	Sampel aspartam baku 0,1 %.....	65
5.4.3	Sampel aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant.....	66
5.4.4	Sampel aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant.....	68
5.4.5	Sampel aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant.....	69
5.4.6	Sampel minuman instant X 0,12 %.....	70
5.5	Penentuan validitas.....	72
5.5.1	Rangkuman ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar kation.....	72
5.5.2	Rangkuman ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat menggunakan penukar anion.....	72
5.6	Perbandingan ketepatan dan ketelitian antara penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar kation dan resin penukar anion.....	73

5.6.1	Sampel aspartam baku 0,1%.....	73
5.6.2	Sampel aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant.....	74
5.6.3	Sampel aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant.....	75
5.6.4	Sampel aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant.....	76
5.6.5	Sampel minuman instant X 0,12 %.....	77
BAB 6	PEMBAHASAN.....	78
6.1	Hasil ekstraksi fase padat aspartam dengan resin penukar kation.....	78
6.2	Hasil ekstraksi fase padat aspartam dengan resin penukar anion.....	80
6.3	Perbandingan ketepatan dan ketelitian antara penetapan kadar aspartam hasil ekstraksi fase padat dengan resin penukar kation dan resin penukar anion..	82
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN.....	84
7.1	Kesimpulan.....	84
7.2	Saran.....	85
DAFTAR PUSTAKA.....		86

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 : Resin Penukar ion	20
Tabel 4.1 : Jumlah resin penukar kation yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant	40
Tabel 4.2 : Jumlah resin penukar kation yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant	41
Tabel 4.3 : Jumlah resin penukar kation yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant	41
Tabel 4.4 : Jumlah resin penukar anion yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant	42
Tabel 4.5 : Jumlah resin penukar anion yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant	43
Tabel 4.6 : Jumlah resin penukar anion yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant	43
Tabel 5.1 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam baku 0,1 % (0,1 gr/100 ml) dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation	59
Tabel 5.2 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,08 % (0,08 gr/100 ml) dalam formula minuman instant dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin	61

penukar kation

- Tabel 5.3 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,1 % (0,1 gr/100 ml) dalam formula minuman instant dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation 62
- Tabel 5.4 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,12 % (0,12 gr/100 ml) dalam formula minuman instant dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation 63
- Tabel 5.5 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Sampel minuman instant X 0,12 % (0,12 gr/100 ml) dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation 64
- Tabel 5.6 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam baku 0,1 % (0,1 gr/100 ml) dari elusi dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion 66
- Tabel 5.7 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,08 % (0,08 gr/100 ml) dalam formula minuman instant dari elusi dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion 68
- Tabel 5.8 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,1 % (0,1 gr/100 ml) dalam formula minuman instant dari elusi dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin 69

penukar anion

- Tabel 5.9 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,12 % (0,12 gr/100 ml) dalam formula minuman instant dari elusi dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion 70
- Tabel 5.10 : Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Sampel minuman instant X 0,12 % (0,12 gr/100 ml) dari elusi dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion 71
- Tabel 5.11 : Rangkuman ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar kation 72
- Tabel 5.12 : Rangkuman ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar anion 72
- Tabel 5.13 : Data ketepatan dan ketelitian hasil perolehan kembali aspartam baku 0,1 % 73
- Tabel 5.14 : Data ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam 0,08% dalam formula minuman instant 74
- Tabel 5.15 : Data ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant 75
- Tabel 5.16 : Data ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam 0,12% dalam formula minuman instant 76

**Tabel 5.17 : Data ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar sampel
minuman instant X 0,12%**

77

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Rumus bangun aspartam.....	7
Gambar 2.2 : Mekanisme ekstraksi fase padat.....	11
Gambar 2.3 : Gugus fungsi pada asam amino.....	12
Gambar 2.4 : Urutan kepolaran penyerap SPE.....	13
Gambar 2.5 : Urutan kekuatan elusi pelarut.....	14
Gambar 2.6 : Rumus bangun PSDVB.....	18
Gambar 2.7 : Rumus bangun PSDVB dengan sulfonat.....	19
Gambar 2.8 : Kesetimbangan ion pada asam amino.....	21
Gambar 5.1 : Grafik linieritas.....	56
Gambar 5.2 : Grafik kurva baku.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 : Profil spektrum aspartam	90
Lampiran 2 : Jumlah campuran dapar	91
Lampiran 3 : Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi baku aspartam 0,1 % yang dielusi dengan dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation	
Lampiran 4 : Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula aspartam 0,08 % yang dielusi dengan dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation	92
Lampiran 5 : Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula aspartam 0,1 % yang dielusi dengan dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation	93
Lampiran 6 : Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula aspartam 0,12 % yang dielusi dengan dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation	94
Lampiran 7 : Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi sampel minuman instant X 0,12 % yang dielusi dengan dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation	95
Lampiran 8 : Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi baku aspartam 0,1 % yang dielusi dengan dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion	96

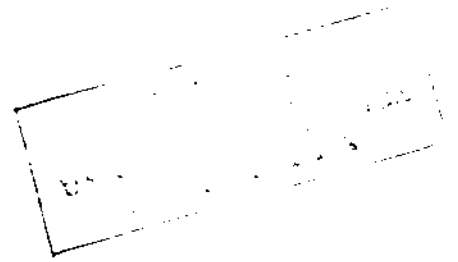
Lampiran 9 :	Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula aspartam 0,08 % yang dielusi dengan dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion	97
Lampiran 10 :	Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula aspartam 0,1 % yang dielusi dengan dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion	98
Lampiran 11 :	Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula aspartam 0,12 % yang dielusi dengan dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion	99
Lampiran 12 :	Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi sampel minuman instant X 0,12 % yang dielusi dengan dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion	100
Lampiran 13 :	Uji t satu sampel untuk sampel aspartam dengan resin penukar kation	101
Lampiran 14 :	Uji t satu sampel untuk sampel aspartam dengan resin penukar anion	102
Lampiran 15 :	Uji F untuk baku aspartam 0,1 %	103
Lampiran 16 :	Uji F untuk formula aspartam 0,08 %	104
Lampiran 17 :	Uji F untuk formula aspartam 0,1 %	105
Lampiran 18 :	Uji F untuk formula aspartam 0,12 %	106
Lampiran 19 :	Uji F untuk sampel minuman instant X 0,12 %	107
Lampiran 20 :	Rangkuman data hasil perolehan kembali sampel aspartam	108

dalam formula yang dielusi dengan eluen dapar sitrat 1,0 M
menggunakan resin kation

Lampiran 21 :	Rangkuman data hasil perolehan kembali sampel aspartam dalam formula yang dielusi dengan eluen dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin kation	109
Lampiran 22 :	Uji t dua sampel bebas untuk baku aspartam 0,1 %	110
Lampiran 23 :	Uji t dua sampel bebas untuk formula aspartam 0,08 %	111
Lampiran 24 :	Uji t dua sampel bebas untuk formula aspartam 0,1 %	112
Lampiran 25 :	Uji t dua sampel bebas untuk formula aspartam 0,12 %	113
Lampiran 26 :	Uji t dua sampel bebas untuk sampel minuman instant X 0,12 %	114
Lampiran 27 :	Tabel korelasi r	115
Lampiran 28 :	Tabel distribusi t	116
Lampiran 29 :	Tabel distribusi F	117
Lampiran 30 :	Sertifikat analisis baku aspartam	118

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang Masalah

Dewasa ini perkembangan teknologi pengolahan makanan makin cepat, dengan akibat semakin banyak pula jenis-jenis makanan yang beredar di masyarakat, yang menggunakan bahan-bahan tambahan makanan untuk meningkatkan tampilan dan cita rasa makanan tersebut. Dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 722/Menkes/PER/IX/88 tentang Bahan Tambahan Makanan (BTM) diuraikan sebagai “bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan biasanya bukan merupakan ingredien khas makanan, mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan kedalam makanan untuk maksud teknologi (termasuk organoleptik) pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, penyimpanan atau pengangkutan makanan untuk menghasilkan atau diharapkan menghasilkan (langsung atau tidak langsung) suatu komponen atau mempengaruhi sifat khas makanan tersebut”. Adapun pada Lampiran I PERMENKES tersebut menyebutkan Bahan Tambahan Makanan yang diizinkan digunakan pada makanan terdiri dari golongan antioksidan, antikempal, pengatur keasaman, pemanis buatan, pemutih dan pematang tepung, pengemulsi, pemantap, pengental, pengawet, penguat rasa, penyedap rasa dan aroma, penguat rasa dan sekuestran.

Telah banyak beredar produk minuman instant (yaitu suatu minuman yang diformulasi dalam bentuk serbuk kering, dalam penyajiannya minuman serbuk kering tersebut segera larut dalam air) yang mengandung pemanis buatan aspartam, disamping

pemanis sudah umum digunakan yaitu sakarin dan siklamat. Ketiga pemanis buatan tersebut diatas telah tercantum pada PERMENKES 722/Menkes/Per/IX/1988, namun dalam peraturan ini, khususnya aspartam tidak dijelaskan jumlah yang diizinkan serta pada produk apa saja. Dalam waktu dekat akan dilakukan revisi pada PERMENKES tersebut, yang akan menyertakan syarat-syarat bagi pemanis aspartam.

Aspartam adalah pemanis nutritik sintetik dengan kemanisan sekitar 200 kali sukrosa dan mempunyai nilai kalori yang rendah yaitu 1/10 gula. Aspartam disintesis dari dua asam amino yang secara alami terdapat pada makanan yaitu fenilalanin dan asam aspartat, serta sejumlah kecil metanol. Aspartam lebih banyak dipilih dan digunakan pada akhir-akhir ini, karena bila pada sakarin dan siklamat meninggalkan rasa pahit sesudahnya (*bitter after taste*), maka pada aspartam tidak meninggalkan rasa pahit itu (*no after taste*). Aspartam adalah pemanis buatan *non xenobiotic* yaitu pemanis yang dalam tubuh diuraikan secara sempurna, diserap dalam darah dan dimanfaatkan tubuh secara positif, sedangkan pemanis buatan *xenobiotic* adalah pemanis yang dalam tubuh diuraikan menjadi komponen-komponen asing, tidak dimetabolisme untuk menghasilkan energi dan tidak merupakan bagian struktural dari tubuh, seperti siklamat, sakarin dan asesulfam-k. (1,2,3).

Food and Drug Administration (FDA) mensyaratkan bahwa semua makanan yang mengandung aspartam harus menyatakan "*Phenylketonurics : contain phenylalanin*", maksudnya peringatan bagi penderita *phenylketonurea* (PKU) bahwa produk ini mengandung fenilalanin. Penyakit PKU yaitu orang yang tidak dapat mencerna fenilalanin, dan jika terjadi peningkatan fenilalanin menyebabkan meningkatnya kadar racun dan berakibat keterbelakangan mental (2,7).

Hasil penelitian yang telah dipublikasikan mengenai analisis aspartam dalam minuman ringan antara lain dengan metoda *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), metode enzimatis, metoda potensiometri/amperometri, *flow injection analysis* dan spektrofotometri visibel. Metoda spektrofotometri uv-vis adalah merupakan metoda yang relatif murah tetapi selektifitasnya rendah, sehingga untuk mendapatkan hasil analisa yang baik tentunya harus dilakukan "*clean-up*" sampel atau prapemisahan/isolasi analit dari matriks pada saat preparasi sampel untuk menjadi fraksi yang lebih murni, yaitu dengan melakukan suatu cara ekstraksi. (16).

Teknik ekstraksi yang paling umum adalah ekstraksi sederhana cair-cair antara dua pelarut, dengan menggunakan corong pisah, namun cara ini adalah cara yang sangat lazim dipakai dan banyak menggunakan pelarut. Cara ekstraksi lain adalah teknik *Solid Phase Extraction* (SPE) yaitu ekstraksi fase padat (padat-cair) yang dilakukan didalam kolom, merupakan suatu teknik yang cukup baik dan dapat menghemat pelarut.. Teknik SPE yang diduga cocok untuk aspartam adalah SPE Pertukaran Ion (*Ion Exchange*), didasarkan pada sifat aspartam yang merupakan suatu dipeptida yang amfoter.(4,5,6,7). Ekstraksi fase padat pertukaran ion didasarkan pada prinsip tarik menarik antara muatan yang berlawanan. Ekstraksi terjadi pada muatan analit yang berlawanan dengan muatan fase padat penukar ion. Analit paling baik diekstraksi dari larutan sampel pada konsentrasi rendah untuk bersaing dengan ion lawan (ion yang sama muatannya dengan analit). Kemudian analit dielusi dari kolom dengan menggunakan eluen yang mempunyai muatan yang cukup dapat bersaing, atau dengan penyesuaian pH untuk menggantikan analit yang terikat pada resin penukar ion. (6).

Dipeptida aspartam yang terdiri dari dua unsur asam amino, didalam air terlarut sebagai ion. Adanya dua gugus fungsional yang dapat menangkap atau melepas proton menyebabkan asam amino dapat berada dalam bentuk *zwitter ion* dengan jumlah muatan total sebesar nol. Keadaan ini tercapai pada pH isoelektriknya (pI). Pada pH dibawah pH isoelektrik, gugus α -karboksil menangkap proton sehingga terjadilah bentuk kation. Di sisi yang lain, pada pH diatas pI , gugus α -amino melepas proton membentuk anion. (8).

Berdasarkan sifat-sifat tersebut diatas separasi aspartam kemungkinan dapat dilakukan dengan menggunakan resin penukar kation atau resin penukar anion dengan melakukan variasi pH, sehingga dapat diperoleh aspartam yang terbebas dari matriks sampel, selanjutnya kadarnya ditetapkan dengan metode spektrofotometri uv-vis. Bilamana matriks sampel mengganggu pemisahan aspartam pada pertukaran ion atau pada pengukuran serapan, maka harus diatasi dengan menggunakan suatu masking agent (bahan pengikat) untuk mengikat pengganggu secara kimia kedalam bentuk lain sehingga tidak mempengaruhi analit aspartam dalam pengukuran, atau menggunakan zat pengoksidasi untuk suatu pengganggu tertentu. Bahan pengikat yang digunakan tidak boleh mempengaruhi pengukuran analit (19). Matriks seperti asam sitrat, natrium sitrat, kalsium fosfat, natrium karboksimetilselulosa, asam askorbat dan sukrosa yang biasanya ditambahkan kedalam formula serbuk minuman instant, kemungkinan dapat mengganggu pemisahan aspartam dengan teknik pertukaran ion ini. Metode pemisahan asam amino secara umum telah dilaporkan menggunakan resin penukar kation, sedangkan resin penukar anion tidak digunakan secara luas tetapi hanya untuk keadaan pada pemisahan asam amino asam kuat. (7,8). Metode pemisahan aspartam dengan resin penukar ion

terutama optimasi pada penetapan kadar belum pernah dilaporkan, sehingga masih perlu diteliti lebih lanjut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka timbul permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Seberapa besar ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation.
2. Seberapa besar ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran anion.
3. Apakah ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar dari pada pertukaran anion.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Menentukan ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation.
2. Menentukan ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran anion.
3. Melihat apakah ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar dari pada pertukaran anion.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan untuk mendapatkan metoda alternatif yang lebih efisien dan efektif secara tepat dan teliti untuk penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation dan pertukaran anion.

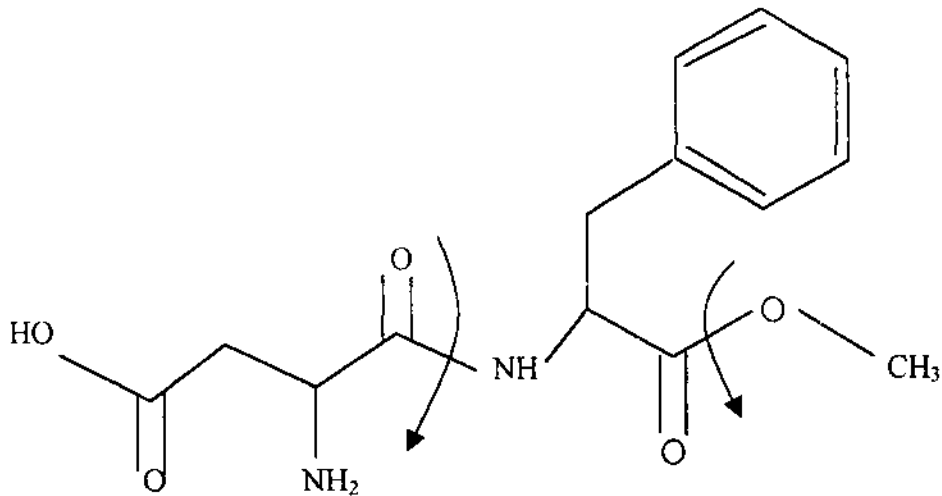
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Aspartam

2.1.1 Sifat-sifat Aspartam

Aspartam adalah golongan pemanis peptida (ester dipeptida) yaitu *L-aspartyl, L-phenylalanine methyl ester*, rumus molekul $C_{14}H_{8}N_2O_5$, berat molekul 294,3 dan mempunyai rumus bangun sebagai berikut :



L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester
Aspartate Phenylalanine Methanol

Gambar 2.1 Rumus Bangun Aspartam

Aspartam terurai pada suhu tinggi, sangat stabil pada suhu kamar. Aspartam berupa serbuk kristal berwarna putih, tidak berbau, mempunyai rasa manis 180-200 kali sukrosa, kalori : 4 kcal (17 KJ). Larut dalam air dan etanol, cukup larut dalam propilen karbonat, kloroform, diklorometan, dietil eter, etil asetat, heksan dan isobutil metil keton. pH dalam larutan sekitar 4 - 5,5; titik didih 246-247 °C. Mempunyai

pH isoelektrik 5,5 dan merupakan dipeptida yang amfoter, pK_1 3,1 ; pK_2 7,9. Larutan aspartam yang disimpan pada temperatur tinggi diatas 85°F , dapat terurai menjadi diketopiperazin (DKP) dan formaldehid yang keduanya adalah bersifat racun.(7,9,10,11).

2.1.2 Kegunaan

Dalam PERMENKES Nomor 722/Menkes/PER/IX/88, disebutkan bahwa Pemanis Buatan adalah bahan tambahan makanan yang dapat menyebabkan rasa manis pada makanan, yang tidak atau hampir tidak mempunyai nilai gizi. Aspartam adalah pemanis berkalori rendah, sehingga dikategorikan sebagai pemanis nutritif, yang digunakan secara luas untuk beberapa bentuk produk makanan seperti "*sugar free, reduced sugar, low calorie atau reduced calorie*". Aspartam juga dapat digunakan untuk meningkatkan flavour buah.

Pada label makanan yang menggunakan aspartam harus dicantumkan tulisan "*not to be use in cooking or baking*" (bukan untuk dimasak atau dipanaskan). Sebagai pemanis makanan dan minuman, aspartam dapat digunakan secara tunggal atau sebagai campuran dengan pemanis lain seperti sakarin, siklambat, glukosa atau sukrosa yang memberikan hasil yang sinergis, dan dapat menekan biaya produksi. Selain untuk makanan dan minuman, aspartam juga dapat digunakan pada produk-produk farmasi (obat-obatan per oral seperti sirup), terutama untuk konsumsi penderita diabetes mellitus.(2,13)

2.1.3 Dosis

Acceptable Daily Intake (ADI) atau konsumsi per hari yang dapat diterima untuk aspartam seperti yang disyaratkan oleh FDA adalah 50 mg/kg berat badan, sedangkan oleh *Joint Expert Committee on Food Additives* (JECFA) WHO mensyaratkan 40 mg/kgBB.(1,11)

Dosis untuk anak umur sekitar 4 tahun ; 3 - 10 mg/kgBB atau 2,7 g/hari. Dosis dewasa bobot 20 - 70 kg adalah 40 mg/kgBB. Untuk *Insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM) adalah 100 mg/hari atau 1,5 mg/ kgBB/orang dan untuk orang berpenyakit DM secara individual tidak lebih dari 0,5 g aspartam/hari.(14)

Dalam rancangan PERMENKES yang baru, disyaratkan penggunaan aspartam untuk permen karet rendah kalori adalah 10 gr/kg, untuk makanan berkalori rendah selain permen karet adalah 5 g/kg dan untuk minuman ringan yang difermentasi serta minuman ringan berkalori rendah adalah 1 g/kg. Selanjutnya untuk cereals, bentuk bahan kering seperti minuman/kopi/teh instant; gelatin, puding, hasil olah susu, *food supplement*, gula pengganti, sirup, minuman beraroma, kembang gula, produk sejenis yoghurt, pelapis kue (*frosting, icing, topeing*), minuman berkarbonat, sebagai dasar sirup adalah secukupnya sesuai dengan Cara Pembuatan Makanan yang Baik dan Benar (CPMB).(18)

2.1.4 Toksisitas

Untuk keamanan penggunaan aspartam, maka setiap produk yang mengandung aspartam harus memberikan informasi mengenai kandungannya kepada konsumen, terutama yang mempunyai penyakit genetik yang disebut *phenylketonuria*

(PKU). PKU adalah salah satu penyakit klasik bawaan sejak lahir berupa kerusakan metabolisme, yaitu sejumlah besar asam fenilpiruvat pada urin penderita cacat mental. Diketahui kemudian bahwa asam fenilpiruvat diekskresikan karena cacat bawaan, atau tidak adanya sifat gen untuk sintesa dari fenilalanin hidroksilase. PKU menyebabkan keterbelakangan mental pada anak-anak, mengakibatkan pula kekurangan melanin pada kulit dan rambut, *microcephaly*, sehingga aspartam tidak dianjurkan digunakan pada wanita hamil.(2)

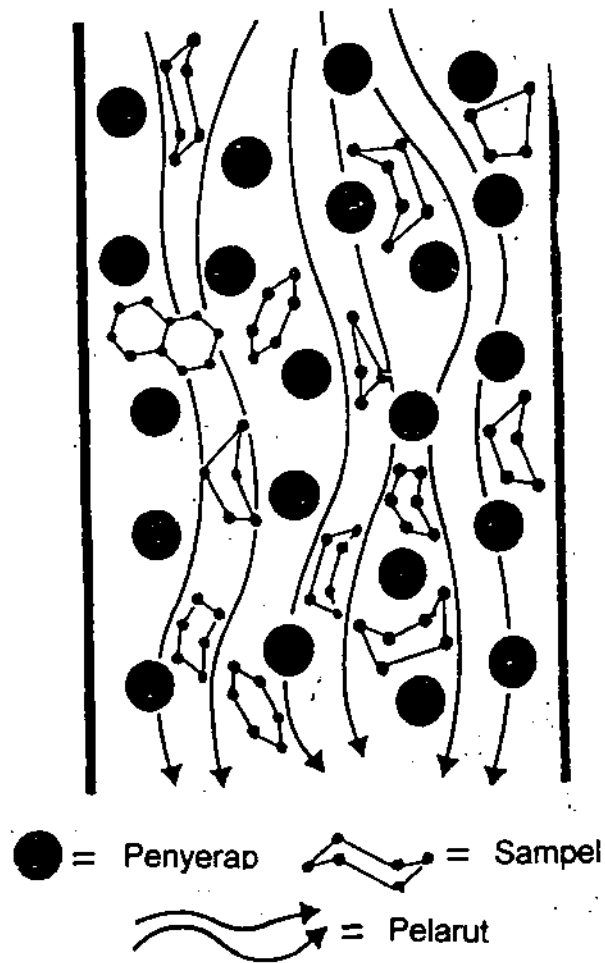
Aspartam juga dapat menyebabkan sakit kepala, pusing-pusing, dapat mengubah fungsi otak dan perilaku (berkaitan dengan tumor otak), gejala-gejala neurologik, gastrointestinal, hipersensitivitas dan dermatologikal.(12)

Oleh *Department of Health and Human Services (DHHS) FDA* , pada tahun 1994 aspartam dilaporkan dapat menyebabkan gejala-gejala sebagai berikut : sakit kepala, serangan mendadak, kematian rasa, kenaikan berat badan, depresi, iritasi, susah tidur, kehilangan pendengaran, kesulitan bernapas, kesulitan, kehilangan ingatan, kebingungan, mual, kejang otot, ruam kulit, kelelahan, takikardia, masalah penglihatan, jantung berdebar, kecemasan, kehilangan rasa, dan pusing.(15).

2.2. Ekstraksi Fase Padat (*Solid Phase Extraction /SPE*)

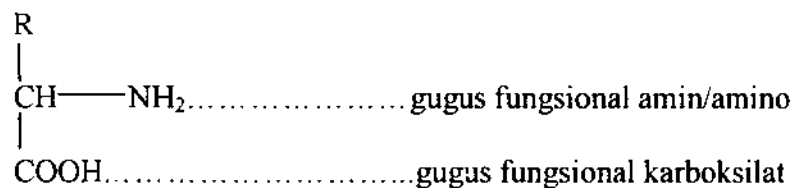
Ekstraksi fase padat adalah suatu cara ekstraksi yang didasari pada ekstraksi padat-cair dan merupakan suatu teknik preparasi sampel yang memiliki hasil yang reproduсібel. SPE juga suatu cara preparasi sampel yang cepat dan efisien, yang berdasarkan pada mekanisme pemisahan kromatografi cair. Mekanisme SPE sama dengan yang digunakan pada kromatografi cair seperti adsorpsi, partisi, fase balik,

eksklusi dan pertukaran ion. Pada ekstraksi fase padat ini sampel yang terikat atau diserap oleh fase padat akan diekstraksi dengan suatu pelarut.(5,16). Mekanisme ekstraksi fase padat dapat dilihat pada gambar dibawah ini :

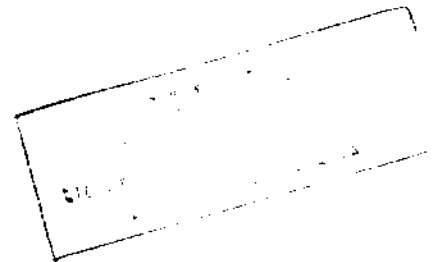


Gambar 2.2 Mekanisme ekstraksi fase padat

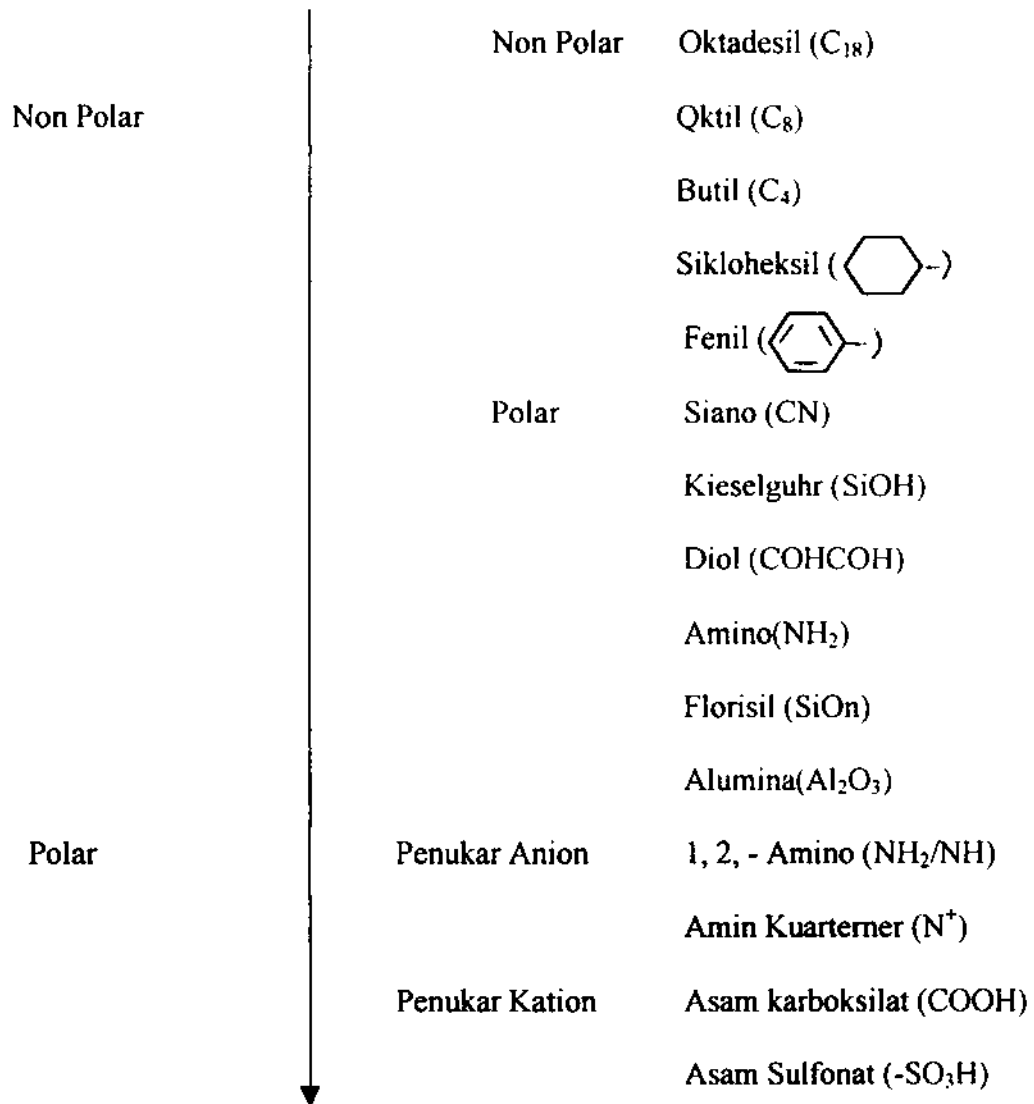
Pada kromatografi cair, interaksi kelarutan dengan gugus fungsional sampel, penyerap dan pelarut dioptimalkan untuk mencapai pemisahan yang efektif. Pada SPE, semua interaksi diatas juga dilakukan untuk memaksimalkan proses ekstraksi dan elusi. Semua molekul sampel, penyerap dan pelarut mempunyai gugus fungsional yang dapat diuji secara kimia dan fisika. Salah satu parameter fisika adalah polaritas yaitu pemisahan dari muatan elektronik pada molekul atau ion. Seringkali muatan elektronik molekul terjadi pada gugus fungsinya, untuk menentukan kepolarannya agar dapat berinteraksi.(8). Contoh gugus fungsi pada asam amino :



Gambar 2.3 gugus fungsi pada asam amino

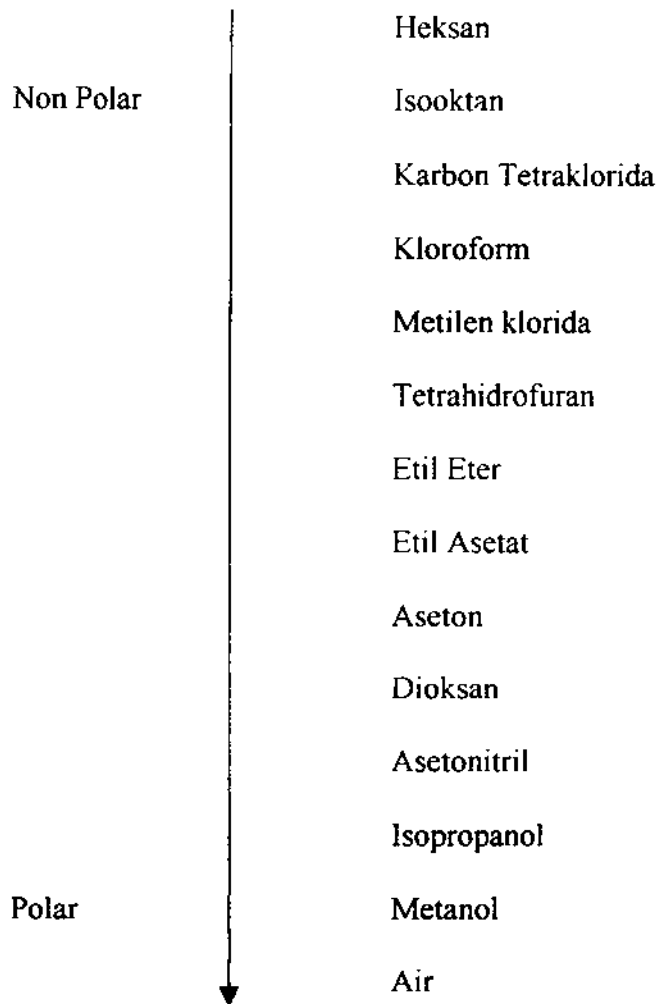


Urutan kepolaran dari penyerap SPE :



Gambar 2.4 Urutan kepolaran penyerap SPE

Urutan kekuatan elusi pelarut :



Gambar 2.5 Urutan kekuatan elusi pelarut

Variabel Ekstraksi dari SPE Pertukaran Ion adalah :

1. Kekuatan Ion : Larutan dapar dengan konsentrasi antara 0,01 - 1,0 M biasanya digunakan sebagai modifikasi kekuatan ionnya.
2. pH : komponen-komponen asam pada kolom SPE Pertukaran Anion diekstraksi dari larutan sampel yang mempunyai pH lebih tinggi (1 - 2 unit) relatif terhadap pKa analit. Analit kemudian dielusi dengan larutan pH asam. Sedangkan komponen-komponen basa pada kolom SPE Pertukaran Kation diekstraksi dari larutan sampel yang mempunyai pH lebih rendah (1 - 2 unit) relatif terhadap pKa analit. Analit kemudian dielusi dengan larutan pH netral sampai basa.
3. Pelarut organik : Komponen-komponen ionik biasanya diekstraksi dari larutan air bila analit dan garam dapar larut dalam air. Beberapa campuran kompleks yang mengandung analit ionik tidak larut dalam air. Analit ini dapat teradsorpsi dengan kuat pada kolom dan tidak dapat terelusi. Analit ini ditahan oleh atraksi adsorpsi, dimana perubahan kekuatan ion tidak dapat menghasilkan elusi yang baik. Penambahan pelarut organik yang bercampur dengan air yang dimodifikasi pada pelarut air akan dapat mengelusi analit tersebut. Umumnya 40-50% konsentrasi pelarut organik cukup untuk memberikan efek elusi.(6).

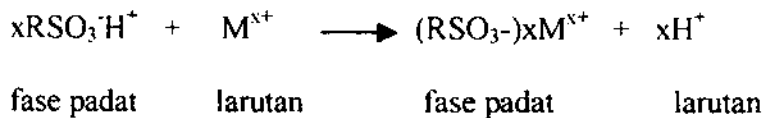
2.3. Pertukaran Ion (*Ion Exchange*)

Pertukaran Ion adalah suatu proses pemisahan dimana ion-ion yang terikat pada fase padat penyerap yang tidak larut, menukarkan ion-ion pada larutan yang dibawa untuk dapat kontak dan bereaksi dengan fase padat tersebut. Pada prinsipnya pertukaran ion ini didasarkan pada dua fase yaitu larutan dari ion-ion (dengan pelarut

yang cocok) dan material padat dalam bentuk partikel. Pada awalnya penukar yang dipakai adalah *clays* dan *zeolite*. Namun sejak 1935 resin penukar ion sintetik sangat banyak digunakan pada teknik pemisahan ion seperti pemurnian larutan, deionisasi air, dan sebagainya. Proses pertukaran ion diklasifikasikan pada dua bagian pemisahan yaitu (19,22) :

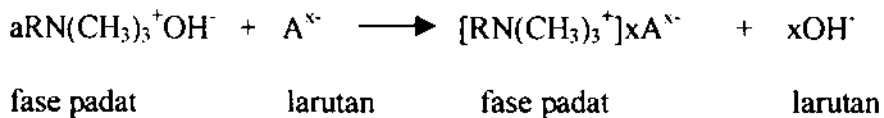
1. Pertukaran kation, yaitu kation ditukarkan diantara penukar ion dan larutan sampel.

Keseimbangan pertukaran kation :



2. Pertukaran anion, yaitu anion ditukarkan diantara penukar ion dan larutan sampel.

Keseimbangan pertukaran anion :



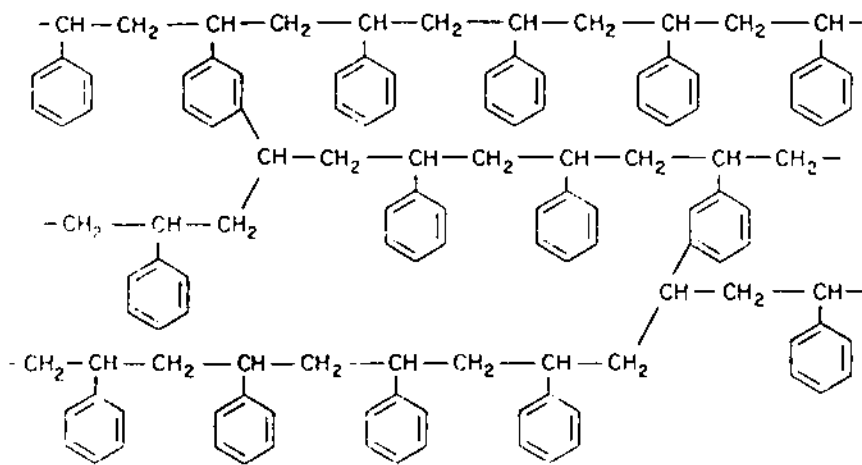
Hal hal yang penting pada penukar ion adalah :

- a. Gugus ionogenik, yaitu gugus terionisasi yang terikat secara kimia pada material polimer yang tidak larut, dimana keduanya membentuk sebagai penukar ion. Gugus ini bersifat kation pada penukar anion dan bersifat anion pada penukar kation.
- b. Ion lawan, yaitu ion yang terasosiasi dengan gugus ionogenik, dimana muatannya berlawanan dengan gugus ionogenik. Ion ini tidak terikat kuat pada resin dan dapat ditukar secara reversibel dengan ion lain pada tipe yang sama (kation atau anion) dalam larutan.

- c. Resin penukar ion, yaitu polimer organik dengan ikatan silang yang tidak larut dalam air.

Struktur dan sambung silang resin :

Resin penukar ion yang banyak digunakan adalah resin penukar ion berpenyangga polistirena dibuat dengan mengkopolimerisasikan stirena dengan divinilbenzena (DVB). Jika tidak ada divinilbenzena, rantai polistirena akan larut secara bebas, atau setidaknya bergerak kian kemari. Bahan yang tak bersambung silang ini terlalu lunak untuk menahan gaya yang ditimbulkan oleh pemasukan dapar melalui kolom. Jika kedalam stirena ditambahkan divinilbenzena, kedua gugus fungsinya bereaksi menyambung-silangkan dua rantai polistirena. Ini menyebabkan polistirena menjadi lebih kaku. Kekakuan dan kekuatan resin biasanya dinyatakan dalam banyaknya kandungan divinilbenzena. Makin besar kandungan DVB, makin besar pula daya tahan resin itu terhadap tekanan tinggi. Kadar DVB antara 2 % sampai 16 %, menurut pengalaman yang paling baik adalah 8 %. Pada umumnya , dengan meningkatnya persentase DVB, makin kecil keporian resin tersebut. Ini membatasi laju alih massa dan karena itu menurunkan keefisienan kolom.(29).

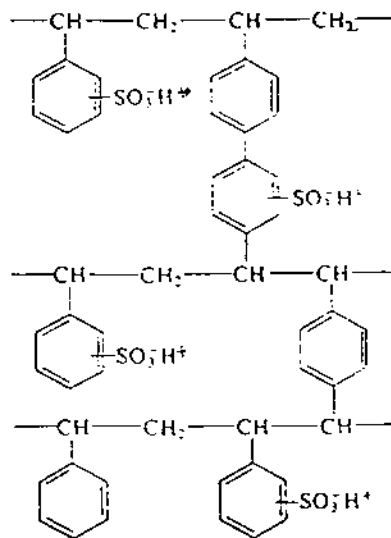


Gambar 2.6 Rumus Bangun PSDVB

Gugus-gugus ionogenik pada Resin PSDVB ada 5 tipe :

1. Resin penukar kation asam kuat : mengandung gugus anionik yang dapat terionisasi pada rentang pH yang luas. Gugus ionogenik yang umum digunakan adalah gugus ion sulfonat ($-\text{SO}_3^-$).
2. Resin penukar anion basa kuat : mengandung gugus kationik yang dapat terionisasi pada rentang pH yang luas. Gugus ionogenik yang biasanya digunakan adalah gugus amonium kuarterner ($-\text{CH}_2\text{NR}_3^+$).
3. Resin penukar kation asam lemah : mengandung gugus ionogenik dari anion asam lemah dan terionisasi hanya pada pH yang relatif tinggi. Yang biasa dipakai adalah gugus karboksilat ($-\text{CO}_2^-$).

4. Resin penukar anion basa lemah : mengandung gugus ionogenik amino (primer, sekunder atau tersier) yang terionisasi pada pH yang relatif rendah.
5. Resin penukar ion kelat : mengandung gugus-gugus pengkelat (pengkompleks) yaitu gugus aminodiasetat $[-CH_2N(CH_2CO_2^-)_2]$ atau EDTA.(20)



Gambar 2.7 Rumus bangun resin PSDVB dengan sulfonat

TABEL 2.1 Resin Penukar Ion

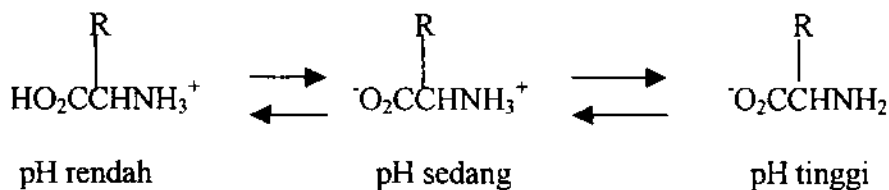
TIPE	GUGUS - IONOGENIK	PH	APLIKASI	SEDIAAN
Resin kation Asam kuat	$-\text{SO}_3^-$	0-14	Umum	Amberlite IR 120 Dowex 50
Resin anion Basa kuat	$-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3^+$	0-14	Umum	Amberlite IRA 400 Dowex 1
Resin kation Asam lemah	$-\text{CO}_2^-$	5-14	Basa kuat	Amberlite IRC 150 Zerolit 226
Resin anion Basa lemah	$-\text{CH}_2\text{NH}_3$	0-9	Asam kuat	Duolite A 303
Penukar ion Kelat	$-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2^-)_2$	*	Logam	Dowex A-1 Chelex-100
* Tergantung ion logam yang bereaksi				

Masing-masing penukar ion mempunyai kapasitas penukar ion yang dinyatakan dalam rentang miliekivalen/gram. Kapasitas pertukaran biasanya diukur sebagai jumlah ekivalen pertukaran per gram kemasan. Resin penukar ion kapasitasnya biasanya 2 sampai 10 miliekivalen per gram. Penukar kation asam kuat mempunyai kapasitas 2 mek/g dan penukar anion basa kuat mempunyai kapasitas 5 mek/g. Resin penukar kation banyak tersedia dalam bentuk hidrogen dan natrium, sedangkan resin anion banyak tersedia dalam bentuk klorida dan hidroksida. (29).

Keselektifan resin penukar kation berpenyangga polistirena adalah $Ba^{2+} > Ca^{2+} > Ag^+ > Rb^+ > Cs^+ > K^+ > NH_4^+ > Na^+ > H^+ > Li^+$ (biasanya resin penukar kation dijual dalam bentuk hidrogen). Keselektifan resin penukar anion berpenyangga polistirena adalah $PO_4^{3-} > HSO_4^- > ClO_3^- > Br^- > CN^- > HSO_3^- > NO_2^- > Cl^- > HCO_3^- > H_2PO_4^- > HCOO^- > OAc^- > OH^- > F^-$ (biasanya resin penukar anion dijual dalam bentuk klorida). (29,30).

2.4. Pemisahan asam amino (peptida,protein) dengan penukar ion

Asam amino dapat terionisasi dalam tiga bentuk, yaitu pada pH rendah, pH medium dan pada pH tinggi. Pada pH rendah molekul terprotonasi membentuk kation, sehingga digunakan resin penukar kation. Pada pH medium, molekul membentuk *zwitter ion* yaitu bentuk kationik dan anionik secara bersamaan sehingga bermuatan nol. Dan pada pH tinggi molekul membentuk anion, sehingga dipakai resin penukar anion. Kesetimbangan antara *zwitter ion* dengan bentuk kation dan anion adalah sebagai berikut :



Gambar 2.8 Kesetimbangan ion pada asam amino

Untuk asam amino ini, pemisahan didasarkan pada sifat amfolit asam amino yang dapat berubah muatan pada pH yang berbeda. Pada pH yang amat rendah, jauh dibawah pI (pH isotonik) dari berbagai asam amino, praktis semua asam amino bermuatan positif dan terikat pada resin penukar kation yang bermuatan negatif, menggeser kedudukan counter kation yang semula terikat pada resin. Pada keadaan ini asam-asam amino basik terikat paling kuat berkat adanya dua muatan positif pada ionnya. Adanya gugus karboksil kedua pada asam-asam amino asidik menjadikan asam amino golongan ini memiliki pI yang rendah, sehingga sedikit saja peningkatan pH akan mengakibatkan kationnya berubah menjadi *zwitter ion* dan terelusi dari resin. Pada pH yang sedikit meningkat ini asam-asam amino netral sebagian besar masih terdapat dalam bentuk kationnya dan seperti halnya asam-asam amino basik, terikat pada resin. Peningkatan pH lebih lanjut akan membentuk *zwitter ion* asam amino netral sehingga kelompok senyawa ini terelusi di belakang asam amino asidik. Asam amino basik tetap terikat akibat masih adanya satu muatan positif pada ionnya. Kelompok asam amino ini, karena memiliki gugus imidazol, ϵ -amino, atau guanidin, memiliki pI yang paling besar dan karenanya terelusi paling belakang pada pH yang relatif tinggi. Asam-asam amino anggota masing-masing kelompok dipisahkan lebih lanjut oleh kekuatan ion eluen. Penambahan alkohol mempercepat elusi sebagian asam amino dengan menurunkan interaksi hidrofobik sehingga membantu memisahkan beberapa puncak yang masih berimpit.(8,20,23).

2.5 Prosedur Elusi

2.5.1 Elusi sederhana (*simple elution*)

Pada percobaan elusi sederhana, sampel ditempatkan pada kolom dan dipisahkan dengan menggunakan pelarut tunggal. Pemilihan pelarut secara optimal akan menghasilkan pemisahan yang terbaik. Jika pelarut terbaik hanya dapat ditemukan dengan cara "*trial and error*", maka kadang-kadang akan baik dengan menggunakan cara kromatografi lapis tipis, pada pemilihan pelarut untuk kromatografi kolom. Beberapa seri percobaan KLT yang memakai variasi pelarut dapat dilakukan dengan waktu yang relatif singkat. Pelarut atau campuran pelarut yang paling baik, dapat ditemukan dengan cara ini yang biasanya juga baik untuk kromatografi kolom.(31).

2.5.2 Elusi bertingkat/elusi fraksi (*stepwise elution / fractional elution*)

Prosedur elusi bertingkat atau elusi fraksional ini paling sering digunakan pada kromatografi kolom. Pada metode ini beberapa (seri) pelarut yang meningkat kepolarannya dipakai untuk mengembangkan kromatogram. Dimulai dengan pelarut non polar (biasanya heksan), satu analit akan bergerak turun, sementara yang lainnya masih berada pada bagian atas kolom. Idealnya pelarut dapat diganti/diubah menjadi sedikit lebih polar dengan harapan agar satu analit lagi akan terelusi, sementara yang lain masih tinggal dibelakang. Jika kepolaran diubah terlalu drastis, semua analit akan terelusi secara bersamaan. Maka dari itu peningkatan secara sistematis dari kepolaran pelarut harus dilakukan secara bertahap. Hal ini memberikan hasil elusi yang paling baik, yaitu tidak dengan perubahan pelarut secara menyeluruh, tetapi dengan

menggunakan campuran pelarut. Teknik ini menunjukkan hasil yang efisien pada resolusi kolom dan menghemat waktu dan sangat umum dipakai pada laboratorium analisis.(31).

2.6 Formula minuman instant dan uraian tentang matriks

2.6.1 Formula minuman instant

Formula minuman instant yang merupakan campuran serbuk kering dari bahan-bahan penyusun minuman instant tersebut terdiri dari (32) :

Aspartam	100 mg
Asam sitrat	2000 mg
Natrium sitrat	200 mg
Natrium karboksimetilselulosa	50 mg
Sukrosa	6000 mg
Kalsium fosfat	40 mg
Vitamin C	60 mg
Vitamin A	1000 IU
Vitamin E	2 IU
Niasin	4 mg
Vitamin B6	0,4 mg
Asam folat	0,04 mg
Pewarna Tartrazin	secukupnya

2.6.2 Uraian tentang matriks

2.6.2.1 Asam sitrat

Asam sitrat merupakan komponen tambahan yang utama dalam minuman ringan atau sirup berfungsi untuk meningkatkan rasa. Rumus molekul $C_6H_8O_7$, berat molekul 192,12, berupa kristal, rasa asam, pK_1 3,128 ; pK_2 4,761 ; pK_3 6,396 , pH dalam larutan 0,1 N 2,2 , larut dalam air dan metanol. (33).

2.6.2.2 Natrium sitrat

Natrium sitrat sering dikombinasikan dengan asam sitrat dalam formula minuman, untuk meningkatkan kelarutan sitrat, mempunyai rumus molekul $C_6H_6Na_2O_7$, berat molekul 236,08 berupa serbuk putih dengan rasa garam, larut dalam air, pH dalam 3% larutan adalah 4,9 sampai 5,2.(33).

2.6.2.3 Natrium karboksimetilselulosa

Natrium karboksimetilselulosa adalah sebagai bahan pengental dalam minuman, berupa serbuk putih yang larut dalam air, stabil pada pH antara 2 sampai 10, pKa. 4,3. Rumus molekul $\langle C_6H_{10}xO_5(CH_2CO_2Na)x \rangle_n$.(33).

2.6.2.4 Sukrosa

Sukrosa (gula) merupakan komponen paling utama dalam minuman yang memberikan rasa manis, mempunyai rumus molekul $C_{12}H_{22}O_{11}$, berat molekul 342,30 ; berupa kristal putih ,rasa manis, sangat larut dalam air.(33).

2.6.2.5 Kalsium fosfat

Kalsium fosfat tribasa merupakan suplemen gizi kalsium pada minuman, rumus molekul $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, berat molekul 310,20 serbuk putih tidak berasa, hampir tidak larut dalam air.(33).

2.6.2.6 Vitamin C

Asam askorbat adalah berfungsi sebagai suplemen gizi vitamin C pada minuman, mempunyai rumus molekul $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, berat molekul 176,12, berupa kristal rasa sangat asam, larut dalam air dan etanol, pK_1 4,17 ; pK_2 11,57. (33).

2.6.2.7 Vitamin A

Vitamin A merupakan suplemen gizi pada minuman, mempunyai rumus molekul $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}$, berat molekul 286,44 , praktis tidak larut dalam air, 1 unit USP Vitamin A setara dengan 0,344 mikrogram vitamin A asetat.(33).

2.6.2.8 Vitamin E

Vitamin E merupakan suplemen gizi pada minuman, mempunyai rumus molekul $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$, berat molekul 430,69, praktis tidak larut dalam air. 1 IU vitamin E setara dengan 1 mg tokoferol asetat.(33).

2.6.2.9 Vitamin B2

Vitamin B2 (riboflavin) merupakan suplemen gizi pada minuman, mempunyai rumus molekul $C_{17}H_{20}N_4O_6$, berat molekul 376,36 , sedikit larut dalam air, pK1 10,2 ; pK2 1,7 dan pI 6.(33).

2.6.2.10 Niasin

Niasin (niasinamid/nikotinamid) merupakan suplemen gizi pada minuman, mempunyai rumus molekul $C_6H_6N_2O$, berat molekul 122,12 . larut dalam air dan alkohol.(33).

2.6.2.11 Vitamin B6

Vitamin B6 (piridoksin hidroklorida) merupakan suplemen gizi pada minuman, mempunyai rumus molekul $C_8H_{12}ClNO_3$, berat molekul 205,64 , larut dalam air dan pH dalam 10% larutan adalah 3,2.(33).

2.6.2.12 Asam folat

Asam folat merupakan suplemen gizi pada minuman, mempunyai rumus molekul $C_{19}H_{19}N_7O_6$, berat molekul 441,40 , berupak kristal yang larut dalam air, pH sekitar 4,8.(33).

2.6.2.13 Tartrazin

Tartrazin adalah pewarna dalam minuman, pewarna CI 19140, mempunyai rumus molekul $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$, berat molekul 534,39 berupa serbuk kuning, sangat larut dalam air.(33).

2.7 Metode Spektrofotometri uv-vis

Spektrofotometri uv-vis adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultra violet dekat (190 - 380 nm) dan sinar tampak (380 - 780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer. Radiasi ultra violet jauh (100 - 190 nm) tidak dipakai, sebab pada daerah radiasi tersebut diabsorpsi oleh udara. Suatu molekul yang sederhana apabila dikenakan radiasi elektromagnetik akan mengabsorpsi radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Interaksi tersebut akan meningkatkan energi potensial elektron pada tingkat keadaan eksitasi. Apabila pada molekul yang sederhana tadi hanya terjadi transisi elektronik pada satu macam gugus, maka akan terjadi satu absorpsi yang merupakan garis spektrum. Pada kenyataannya spektrum uv-vis yang merupakan korelasi absorban (sebagai ordinat) dan panjang gelombang (sebagai absis) tidak merupakan garis spektrum, akan tetapi merupakan pita spektrum. Terbentuknya pita spektrum uv-vis tersebut disebabkan transisi energi yang tidak sejenis dan terjadinya eksitasi elektronik lebih dari satu macam pada gugus yang kompleks. Terjadinya beberapa jenis transisi pada sebuah gugus molekul yang tumpang tindih dengan energi elektronik akan memberikan satu spektrum uv-vis. Terjadinya dua atau lebih pita

spektrum uv-vis diberikan oleh molekul dengan struktur yang lebih kompleks karena terjadi beberapa macam transisi.(24,25).

Analisis dengan spektrofotometri uv-vis selalu melibatkan pembacaan serapan radiasi elektromagnetik oleh molekul atau radiasi elektromagnetik yang diteruskan. Keduanya dikenal sebagai serapan (A) tanpa satuan dan transmittan dengan satuan persen (%T).

Apabila suatu radiasi elektromagnetik dikenakan kepada suatu larutan dengan intensitas radiasi semula (I_0), maka sebagian radiasi tersebut akan diteruskan (I_t), dipantulkan (I_r) dan diserap (I_a), sehingga :

$$I_0 = I_r + I_a + I_t$$

Harga I_r (+ 4%) dengan demikian dapat diabaikan karena pengerjaan dengan metode spektrofotometri uv-vis dipakai larutan pembanding sehingga :

$$I_0 = I_a + I_t$$

Bouger, Lambert dan Beer membuat formula secara matematik hubungan antara transmittan atau serapan terhadap intensitas radiasi atau konsentrasi zat yang dianalisis dan tebal larutan yang mengabsorpsi sebagai :

$$T = I_0/I_t = 10^{-\epsilon \cdot c \cdot b}$$

$$A = \log 1/T = \epsilon \cdot c \cdot b$$

Dimana T = persen transmittan

I_0 = intensitas radiasi yang datang

I_t = intensitas radiasi yang diteruskan

ϵ = absorptansi molar ($Lt.mol^{-1} cm^{-1}$)

c = konsentrasi (mol.Lt^{-1})

b = tebal larutan

A = serapan

2.8 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis adalah proses terdokumentasi yang menjamin bahwa pelaksanaan metode analitik yang bersifat karakteristik adalah telah sesuai dengan tujuan pelaksanaannya. Validasi dari metode analitis hanya dilaksanakan di dalam laboratorium analitik untuk menguji kebenaran atau memeriksa betul tidaknya hasil pemeriksaan yang dilakukan di laboratorium kimia analisis. Secara lebih mudah validasi diartikan sebagai rangkaian seri percobaan tertentu untuk memastikan bahwa metode analisis yang akan dipakai telah sah memenuhi persyaratan-persyaratan yang telah ditetapkan (diterima dalam keilmuan analitik). Rangkaian seri percobaan tersebut yang dipakai untuk memvalidasi metode analisis disebut : parameter untuk validasi. Parameter validasi metode analisis terdiri dari : ketepatan, ketelitian, spesifitas, batas deteksi, batas kuantitasi, dan linieritas. (28).

Menurut WHO Technical Report Series (1992), tujuan utama melakukan validasi metode analitik adalah untuk membuktikan bahwa prosedur analitik yang digunakan memberikan hasil yang dapat diandalkan (reliabel) dan dapat ditiru atau diulang kembali (reproduksibel) sesuai dengan tujuannya.

Menurut USP XXIII, tujuan penggunaan metode analitik tersebut dibedakan menjadi tiga kategori. Kategori I untuk menentukan bahan aktif atau komponen utama dalam sejumlah besar substansi obat yang merupakan hasil akhir produk-produk farmasi. Kategori II untuk menentukan impurities (pengotor) yang terdapat dalam sejumlah besar substansi obat atau senyawa-senyawa yang mengalami degradasi dalam produk-produk farmasi yang sudah jadi. Kategori III untuk menentukan karakteristik perlakuan (misalnya pelarutan, pelepasan obat).(26,27,28).

Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini termasuk dalam kategori I, karena bertujuan untuk menentukan kadar pemanis buatan aspartame dalam minuman instant, sehingga parameter yang perlu diuji validasinya adalah ketepatan, ketelitian, spesifitas dan linieritas.

2.8.1 Linieritas

Linieritas adalah hasil kadar analit dalam matriks sampel yang masih memberikan respon yang proporsional dengan kadar. Ukuran linieritas adalah rentang kadar analit dalam persen ppm, ppb. Trayek linieritas adalah jarak dari kadar terendah hingga kadar tertinggi yang masih sesuai dengan hukum yang berlaku. Linieritas dinyatakan dalam istilah variasi sekitar slop dari garis regresi yang dihitung menurut hubungan matematis dari hasil yang diperoleh melalui analisis dengan kadar analit bervariasi. Linieritas juga dapat dihitung dengan metode Least Square.(26,27)

Penetapan linieritas bertujuan untuk menunjukkan atau membuktikan bahwa dalam jarak variasi konsentrasi analit tertentu, respon analit masih berbanding lurus dengan konsentrasinya. Untuk sebuah metode penetapan kadar, penetapan linieritas

pada umumnya dilakukan dengan membuat baku pada 5 macam kadar pada jarak antara 50%-150% dari kadar analit dalam sampel. Dari 5 macam kadar tersebut akan dapat dilihat profil kurva hubungan antara kadar terhadap respon analit. Konsentrasi juga dapat dipersempit jaraknya menjadi 80%-120% dari kadar analit sampel. Akseptabilitas uji linieritas ditentukan dengan cara menguji kemaknaan koefisien korelasi (r) dan besarnya harga pada persamaan regresi linier $y = bx + a$, dimana y adalah respon analit dan x adalah kadar analit.

Dipersyaratkan pada jarak 80%-120%, koefisien korelasi r harus $> 0,99$ sedangkan harga a harus 2 % lebih kecil dari respon analit pada kadar yang umum dalam sampel. (27)

2.8.2 Ketepatan

Ketepatan adalah derajat kedekatan antara hasil yang diperoleh dengan harga yang sebenarnya. Ukuran ketepatan adalah persen perolehan kembali (% recovery) terhadap kadar yang telah diketahui. Ketepatan ditentukan dengan menambahkan sejumlah analit yang diketahui kadarnya pada sampel dengan konsentrasi diatas dan dibawah tingkat normal. Kadar yang ditambahkan biasanya 80-120% dari kadar analit yang diperkirakan dalam sampel.(26,27,28).

Untuk menentukan ketepatan, harus pula diperhitungkan kesalahan (*error*) yang diperoleh, dengan kata lain ketepatan adalah melihat perbedaan kesalahan antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya. Uji t satu sampel dapat digunakan untuk mendeteksi perbedaan harga tersebut diatas. (35,36).

2.8.3 Ketelitian

Ketelitian adalah derajat kesesuaian antar hasil pengulangan analisis terhadap suatu sampel yang homogen/sama. Ukuran ketelitian adalah simpangan baku (standar deviasi) atau simpangan baku relatif atau persen koefisien variasi (KV), dengan persyaratan $KV < 2 \%$. Ketelitian merupakan derajat reproduibilitas dan repetabilitas dalam kondisi normal. Ketelitian dapat ditentukan dengan pengujian terhadap sampel aliquot dari sampel homogen yang dapat dihitung secara statistik dari standar deviasi relatif.(26,27,28).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual

Pemanis nutritik sintetik aspartam yang dibuat dari sintesis dua asam amino yaitu fenilalanin dan asam aspartat, serta sejumlah kecil metanol, harus dipantau penggunaannya dalam produk-produk makanan terutama minuman instant yang telah banyak beredar dan dikonsumsi oleh masyarakat luas, dan juga karena produk minuman tersebut dipersyaratkan oleh Departemen Kesehatan untuk mencantumkan label : mengandung aspartam dan menyatakan “ Fenilketonurea : mengandung fenil alanin”, artinya peringatan bagi penderita fenilketonurea bahwa produk tersebut mengandung fenilalanin, sehingga dosis penggunaan aspartam harus diperhatikan.

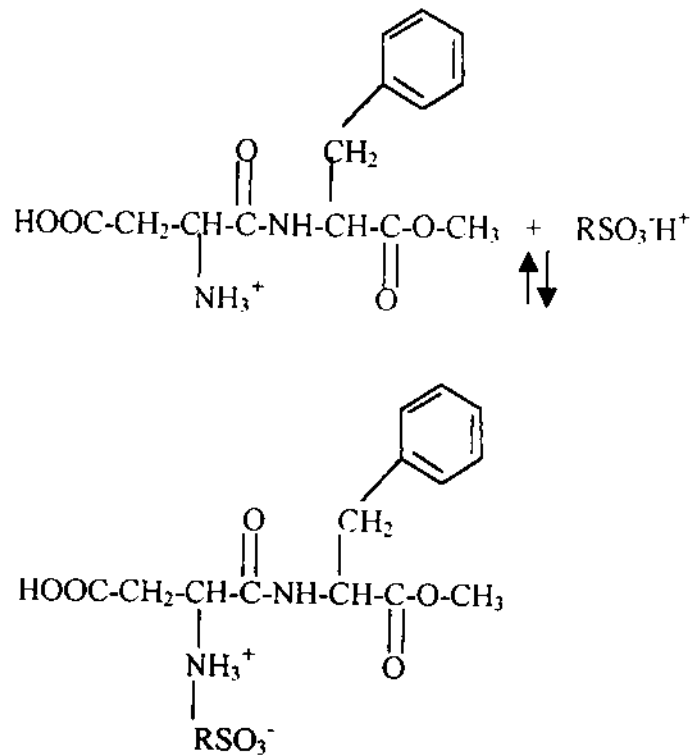
Pengembangan metode analisis penetapan kadar aspartam dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri, dimana pada preparasi sampel menggunakan cara ekstraksi dengan teknik ekstraksi fase padat. Teknik ekstraksi fase padat yang dipakai adalah pertukaran ion, yaitu berdasarkan sifat-sifat asam amino dengan analisis asam amino pertukaran ion. Teknik pertukaran ion ini berazaskan keseimbangan suatu elektrolit antara resin ionik bermuatan sebagai fase diam dan larutan elektrolit sebagai fase bergerak. Elektrolit dan gugus fungsional resin yang masing-masing memiliki muatan yang berlawanan saling tarik menarik satu sama lain. Besarnya muatan elektrolit dan kekuatan ion fase bergerak menentukan distribusi elektrolit antara fase diam dan fase bergerak.

Untuk analisis aspartam ini didasarkan pada sifat aspartam yang amfoter. Pada pH yang amat rendah jauh dibawah pI (pH isoelektrik = 5,5), aspartam yang bermuatan positif dan terikat pada resin penukar kation asam kuat yang bermuatan negatif, menggeser kedudukan ion lawan yang terikat pada resin. Kemudian aspartam akan diekstraksi dengan suatu eluen dapar dengan peningkatan pH mendekati pI . Sebaliknya pada pH tinggi diatas pI , aspartam yang bermuatan negatif terikat pada resin penukar anion basa kuat, menggeser kedudukan ion lawan yang terikat pada resin tersebut, selanjutnya aspartam akan diekstraksi dengan eluen dapar dengan variasi pH mendekati pI . Pemisahan asam amino secara umum telah dilaporkan menggunakan resin penukar kation, sedangkan untuk resin penukar anion hanya digunakan untuk asam amino asam kuat.

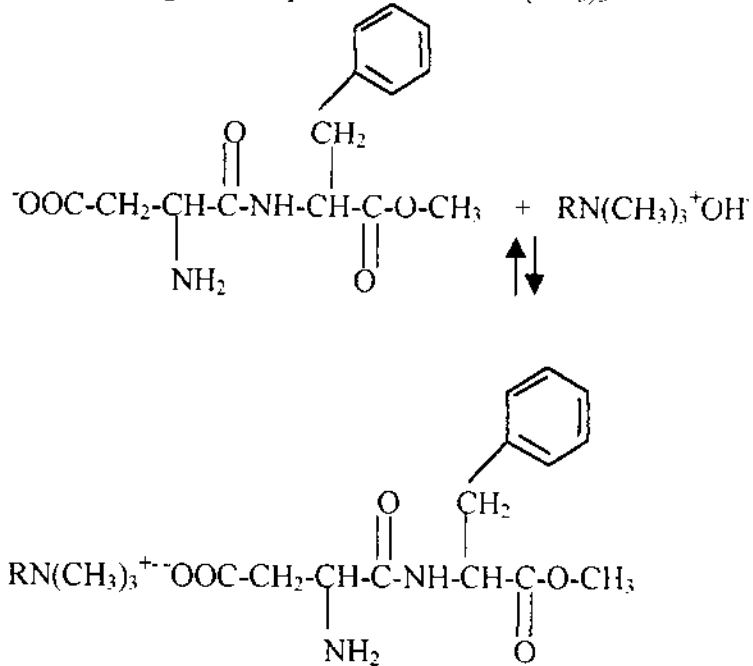
Berdasarkan sifat-sifat aspartam diatas dan proses elusi aspartam pada pertukaran kation dan pertukaran anion, maka dapat dikatakan bahwa ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan resin penukar kation lebih besar dari pada penukar anion, berdasarkan dari hasil dari penelitian sebelumnya, juga karena adanya perbedaan komposisi resin dari gugus ionogeniknya, ion lawan pada resin, kadar sambung silang divinilbenzen (DVB) dari resin, selektivitas ion dapar terhadap ion lawan dan sifat-sifat dari analit aspartam itu sendiri, serta sifat-sifat dari masing-masing matriks yang menyertai aspartam dalam proses elusi. Kemudian hasil ekstraksi fase padat aspartam dalam minuman instant (baik sampel yang diformulasi sendiri atau sampel yang diambil dari pasaran) yang menggunakan resin penukar kation dan resin penukar anion, akan diukur serapannya dan ditetapkan kadarnya

dengan instrumen spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang maksimal 256 nm.

Reaksi aspartam dengan resin penukar kation $\text{RSO}_3^- \text{H}^+$:



Reaksi aspartam dengan resin penukar anion $\text{RN}(\text{CH}_3)_3^+\text{OH}^-$:



3.2. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah : ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant (baik sampel yang diformulasi sendiri maupun sampel minuman instant yang diambil dari pasaran) dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih baik (dalam arti lebih besar secara bermakna) dari pada pertukaran anion.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Kolom ekstraksi dari gelas ukuran panjang 15 cm dan diameter 1,3 cm
2. pHmeter (Mettler Delta 340)
3. Spectrophotometer uv-vis (Hewlett Packard 8452A Diode Array)
4. Kertas saring Whatman No.41

4.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Baku aspartam (Tokai Factory)
2. Asam sitrat monohidrat p.a (E..Merck)
3. Tri-Natrium sitrat p.a (E.Merck)
4. Kalium-dihidrogenfosfat p.a (E.Merck)
5. Di-kaliumhidrogenfosfat p.a (E.Merck)
6. Resin Kation Amberlite IR 120 (“strongly acidic cation exchanger H+ form 15-50 mesh 0,3-1,2 mm”) berpenyangga polistirena
7. Resin Anion GR III (“strong base anion exchanger”) berpenyangga polistirena
8. Natrium karboksimetilselulosa (teknis)

9. Kalsium fosfat (E.Merck)

10. Asam askorbat (tablet Vitamin C)

4.2 Pembuatan larutan dapar

4.2.1 Pembuatan larutan dapar sitrat 1,0 M

Dibuat larutan dapar sitrat 1,0 M dengan mencampur larutan asam sitrat 1,0 M dengan larutan natrium sitrat 1,0 M. Ditimbang teliti asam sitrat monohidrat sebanyak 28,212 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest. Ditimbang teliti tri-natrium sitrat dihidrat sebanyak 29,410 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest. Kemudian masing-masing larutan dicampurkan dengan pH yang akan dibuat yaitu pH 3,0 ; pH 4,0 ; pH 5,0 dan pH 5,5 dengan perbandingan tertentu.

Masing-masing campuran larutan diperiksa lagi pH-nya menggunakan pH-meter.

Jumlah masing-masing larutan sesuai pH-nya dapat dilihat pada Lampiran 2

4.2.2 Pembuatan larutan dapar fosfat 1,0 M

Dibuat larutan dapar fosfat 1,0 M dengan mencampur larutan kalium-dihidrogenfosfat 1,0 M dengan larutan dikalium hidrogenfosfat 1,0 M. Ditimbang teliti kalium dihidrogenfosfat sebanyak 13,61 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest. Ditimbang teliti dikalium hidrogenfosfat sebanyak 22,82 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest. Kemudian masing-masing larutan dicampurkan dengan pH yang akan dibuat yaitu pH 8,0 ; pH 7,0 ; pH 6,0 dan pH 5,5 dengan perbandingan tertentu.

Masing-masing campuran larutan diperiksa lagi pH-nya menggunakan pH-meter.

Jumlah masing-masing larutan sesuai pH-nya dapat dilihat pada Lampiran 2

4.3 Perhitungan kapasitas resin

4.3.1 Perhitungan kapasitas resin kation

Kapasitas resin kation adalah 5 mek/gr, sehingga dapat dihitung jumlah resin kation yang dibutuhkan untuk pertukaran kation pada formula aspartam dalam matriks, dengan menggunakan rumus yaitu :

$$\text{Ekivalen zat A (mek)} = \frac{\text{Berat zat A (mg)}}{\text{Berat molekul zat A}} \times \text{valensi zat A}$$

$$\text{Jumlah resin untuk zat A (gr)} = \frac{\text{Ek.zat A (mek)}}{5 \text{ (mek)}} \times 1 \text{ gram}$$

Tabel 4.1 Jumlah resin penukar kation yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant

No.	Nama zat	Jumlah zat (mg)	Ek. (mek)	Jumlah resin (gram)
1.	Aspartam	80	0,2718	0,0544
2.	Asam sitrat	2000	9,5171	1,9034
3.	Natrium sitrat	200	0,6800	0,1360
4.	Natrium CMC	50	0,2058	0,0412
5.	Kalsium fosfat	40	0,2579	0,0516
6.	Asam askorbat	50	0,2839	0,0568
7.	Sukrosa	6000	17,5285	3,5057
			Total :	5,7491
			¼ bagian :	1,4373

Tabel 4.2 Jumlah resin penukar kation yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant

No.	Nama zat	Jumlah zat (mg)	Ek. (mek)	Jumlah resin (gram)
1.	Aspartam	100	0,3398	0,0679
2.	Asam sitrat	2000	9,5171	1,9034
3.	Natrium sitrat	200	0,6800	0,1360
4.	Natrium CMC	50	0,2058	0,0412
5.	Kalsium fosfat	40	0,2579	0,0516
6.	Asam askorbat	50	0,2839	0,0568
7.	Sukrosa	6000	17,5285	3,5057
			Total :	5,7626
			¼ bagian :	1,4407

Tabel 4.3 Jumlah resin penukar kation yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant

No.	Nama zat	Jumlah zat (mg)	Ek. (mek)	Jumlah resin (gram)
1.	Aspartam	120	0,4078	0,0815
2.	Asam sitrat	2000	9,5171	1,9034
3.	Natrium sitrat	200	0,6800	0,1360
4.	Natrium CMC	50	0,2058	0,0412
5.	Kalsium fosfat	40	0,2579	0,0516
6.	Asam askorbat	50	0,2839	0,0568
7.	Sukrosa	6000	17,5285	3,5057
			Total :	5,7762
			¼ bagian :	1,4441

Jumlah total resin kation yang dibutuhkan untuk formula diatas dalam pelaksanaan ekstraksi fase padat pertukaran kation jumlah resin yang digunakan ditetapkan sebanyak 1,500 gram, karena akan dicoba pula untuk sampel minuman instant yang beredar di pasaran yang tidak diketahui dengan pasti jumlah matriks seluruhnya.

4.3.2 Perhitungan kapasitas resin anion

Kapasitas resin anion adalah 2 mek/gr, sehingga dapat dihitung jumlah resin anion yang dibutuhkan untuk pertukaran anion pada formula aspartam dalam matriks, dengan menggunakan rumus yaitu :

$$\text{Ekivalen zat A (mek)} = \frac{\text{Berat zat A (mg)}}{\text{Berat molekul zat A}} \times \text{valensi zat A}$$

$$\text{Jumlah resin untuk zat A (gr)} = \frac{\text{Ek. zat A (mek)}}{2 \text{ (mek)}} \times 1 \text{ gram}$$

Tabel 4.4 Jumlah resin penukar anion yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant

No.	Nama zat	Jumlah zat (mg)	Ek. (mek)	Jumlah resin (gram)
1.	Aspartam	80	0,2718	0,1359
2.	Asam sitrat	2000	28,5512	14,2756
3.	Natrium sitrat	200	2,0401	1,0201
4.	Natrium CMC	50	0,2058	0,1029
5.	Kalsium fosfat	40	0,3869	0,1935
6.	Asam askorbat	50	0,2839	0,1419
7.	Sukrosa	6000	17,5285	8,7643
			Total :	24,6342
			¼ bagian :	6,1585

Tabel 4.5 Jumlah resin penukar anion yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant

No.	Nama zat	Jumlah zat (mg)	Ek. (mek)	Jumlah resin (gram)
1.	Aspartam	100	0,3398	0,1699
2.	Asam sitrat	2000	28,5512	14,2756
3.	Natrium sitrat	200	2,0401	1,0201
4.	Natrium CMC	50	0,2058	0,1029
5.	Kalsium fosfat	40	0,3860	0,1935
6.	Asam askorbat	50	0,2839	0,1419
7.	Sukrosa	6000	17,5285	8,7643
			Total	24,6682
			¼ bagian	6,1671

Tabel 4.6 Jumlah resin penukar anion yang dibutuhkan untuk proses elusi Aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant

No.	Nama zat	Jumlah zat (mg)	Ek. (mek)	Jumlah resin (gram)
1.	Aspartam	120	0,4078	0,2039
2.	Asam sitrat	2000	28,5512	14,2756
3.	Natrium sitrat	200	2,0401	1,0201
4.	Natrium CMC	50	0,2058	0,1029
5.	Kalsium fosfat	40	0,3869	0,1935
6.	Asam askorbat	50	0,2839	0,1419
7.	Sukrosa	6000	17,5285	8,7643
			Total	24,7022
			¼ bagian	6,1755

Jumlah total resin anion yang dibutuhkan untuk formula diatas dalam pelaksanaan ekstraksi fase padat pertukaran anion jumlah resin yang digunakan dipatenkan sebanyak 6,250 gram, karena akan dicoba pula untuk sampel minuman instant yang beredar di pasaran yang tidak diketahui dengan pasti jumlah matriks seluruhnya

4.4 Tahapan percobaan

4.4.1 Penentuan linieritas dan pembuatan kurva baku

Untuk membuat linieritas aspartam, dibuat seri larutan aspartam dengan konsentrasi 0,005 % ; 0,010 %; 0,015 % ; 0,020 % ; 0,025 % ; 0,030 %; 0,040 % ; 0,050 % dan 0,060 % ; 0,075 % dan 0,1 %, diamati serapannya pada panjang gelombang maksimal 256 nm. Untuk melihat linieritas antara serapan dengan konsentrasi analit, dibuat persamaan garis regresi :

$$y = bx + a$$

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n} \qquad b = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

Untuk mengetahui dapat tidaknya kurva baku ini dipakai sebagai dasar penetapan kadar larutan tersebut, maka perlu dibuktikan adanya korelasi linier antara serapan dan kadar . Hal ini dapat dilihat dari harga koefisien korelasi yang dapat dihitung dengan rumus :

$$r = \frac{n \sum (x_i y_i) - (\sum x_i)(\sum y_i)}{\sqrt{\{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2\} \{n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2\}}}$$

r = koefisien korelasi

x_i = konsentrasi zat dalam larutan

y_i = serapan yang terbaca

n = jumlah data

Bila hasil perhitungan ini r lebih besar dari harga r tabel, berarti ada korelasi linier antara serapan dan kadar.

Dengan cara yang sama dibuat kurva baku aspartam dengan rentang seri konsentrasi berada dalam rentang linieritas.

4.4.2 Percobaan pendahuluan pengaruh komponen matriks

4.4.2.1 Asam sitrat

Ditimbang teliti asam sitrat sebanyak 2000 mg, dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml dan dilarutkan dengan larutan (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran anion dan dapar fosfat 1,0 M untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk sampai homogen, kemudian dicukupkan volumenya dalam labu takar 100 ml. Selanjutnya larutan ini siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.2.2 Natrium sitrat

Ditimbang teliti natrium sitrat sebanyak 200 mg, dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml dan dilarutkan dengan larutan (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran anion dan dapar fosfat 1,0 M untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk sampai homogen, kemudian dicukupkan volumenya dalam labu takar 100 ml. Selanjutnya larutan ini siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.2.3 Natrium karboksimetilselulosa

Ditimbang teliti natrium CMC sebanyak 50 mg, dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml dan dilarutkan dengan larutan (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran anion dan dapar fosfat 1,0 M untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk sampai

homogen, kemudian dicukupkan volumenya dalam labu takar 100 ml. Selanjutnya larutan ini siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.2.4 Kalsium fosfat

Ditimbang teliti kalsium fosfat sebanyak 40 mg, dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml dan dilarutkan dengan larutan (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran anion dan dapar fosfat 1,0 M untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk sampai homogen, kemudian dicukupkan volumenya dalam labu takar 100 ml. Selanjutnya larutan ini siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.2.5 Asam askorbat

Ditimbang teliti asam askorbat sebanyak 50 mg, dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml dan dilarutkan dengan larutan (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran anion dan dapar fosfat 1,0 M untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk sampai homogen, kemudian dicukupkan volumenya dalam labu takar 100 ml. Selanjutnya larutan ini siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.2.6 Sukrosa

Ditimbang teliti sukrosa sebanyak 6000 mg, dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml dan dilarutkan dengan larutan (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran anion dan dapar fosfat 1,0 M untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk sampai homogen, kemudian dicukupkan volumenya dalam labu takar 100 ml. Selanjutnya larutan ini siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.3 Penyiapan sampel percobaan

4.4.3.1 Sampel aspartam baku 0,1 %

Ditimbang teliti aspartam 100 mg, dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml dan dilarutkan dengan pelarut (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran kation dan dapar fosfat 1,0 M untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk dengan batang pengaduk sampai larut sempurna dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml dalam labu takar.

4.4.3.2 Sampel aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant

Aspartam 0,08 % (0,08g/100 ml pelarut) dalam formula minuman instant

Aspartam	80 mg
Asam sitrat	2000 mg
Natrium sitrat	200 mg
Natrium CMC	50 mg
Kalsium fosfat	40 mg
Asam askorbat	50 mg
Sukrosa	6000 mg

Ditimbang teliti aspartam sebanyak 80 mg, asam sitrat 2000 mg, natrium sitrat 200 mg, natrium CMC 50 mg, kalsium fosfat 40 mg, asam askorbat 50 mg dan sukrosa 6000 mg; dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml. Diaduk dengan batang pengaduk , lalu dilarutkan dengan pelarut (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran kation dan dapar fosfat 1,0 M untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk kembali sampai larut dan homogen, kemudian dicukupkan volumenya dalam labu takar 100

ml. Setelah itu larutan sampel disaring dengan kertas saring dan siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.3.3 Sampel aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant

Aspartam 0,1 % (0,1g/100 ml larutan) dalam formula minuman instant

Aspartam	100 mg
Asam sitrat	2000 mg
Natrium sitrat	200 mg
Natrium CMC	50 mg
Kalsium fosfat	40 mg
Asam askorbat	50 mg
Sukrosa	6000 mg

Ditimbang teliti aspartam sebanyak 100 mg, asam sitrat 2000 mg, natrium sitrat 200 mg, natrium CMC 50 mg, kalsium fosfat 40 mg, asam askorbat 50 mg dan sukrosa 6000 mg; dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml. Diaduk dengan batang pengaduk , lalu dilarutkan dengan pelarut (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran kation dan dapar fosfat untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk kembali sampai larut dan homogen, kemudian dicukupkan volumenya dalam labu takar 100 ml. Setelah itu larutan sampel disaring dengan kertas saring dan siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.3.4 Sampel aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant

Aspartam 0,12% (0,12g/100 ml larutan) dalam formula minuman instant

Aspartam	120 mg
Asam sitrat	2000 mg
Natrium sitrat	200 mg
Natrium CMC	50 mg
Kalsium fosfat	40 mg
Asam askorbat	50 mg
Sukrosa	6000 mg

Ditimbang teliti aspartam sebanyak 120 mg, asam sitrat 2000 mg, natrium sitrat 200 mg, natrium CMC 50 mg, kalsium fosfat 40 mg, asam askorbat 50 mg dan sukrose 6000 mg; dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml. Diaduk dengan batang pengaduk , lalu dilarutkan dengan pelarut (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran kation dan dapar fosfat untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml. Aduk kembali sampai larut dan homogen, kemudian dicukupkan volumenya dalam labu takar 100 ml. Setelah itu larutan sampel disaring dengan kertas saring dan siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.3.5 Sampel minuman instant x yang diambil dari pasaran

Sampel minuman instant X yang diambil dari pasaran (jumlah aspartam pada label adalah 120 mg) ditimbang (sebanyak 11,0000 gram dan dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml. dilarutkan dengan pelarut (dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran kation dan dapar fosfat untuk pertukaran anion) sebanyak 50 ml, aduk

dengan batang pengaduk hingga larut dan homogen, lalu dicukupkan volumenya hingga 100 ml dalam labu takar. larutan sampel disaring dengan kertas saring, selanjutnya siap untuk dielusi dalam kolom ekstraksi.

4.4.4 Ekstraksi fase padat aspartam menggunakan resin penukar kation dan resin penukar anion

4.4.4.1 Ekstraksi fase padat aspartam menggunakan resin penukar kation

Komponen matriks yang telah dibuat pada butir 4.4.2.1 diambil sebanyak 25 ml dan dimasukkan (melalui buret 25 ml) kedalam kolom ekstraksi yang telah berisi resin penukar kation sebanyak 1,500 gram (yang telah dikondisioning dengan pelarut aquadest selama semalam). Pengatur kecepatan aliran dari kolom dibuka perlahan dengan kecepatan sekitar 1 ml/menit dan eluat sampel ditampung dalam gelas piala 100 ml, resin dibilas dengan aquadest sebanyak 2-3 ml. Kemudian analit yang telah terikat pada resin penukar kation dielusi dengan larutan dapar sitrat 1,0 M dengan cara elusi "stepwise" atau elusi "fractional" dimulai dengan larutan dapar sitrat 1,0 M pH 3,0, dilanjutkan dengan pH 4,0 ; lalu pH 5,0 dan terakhir pH 5,5 masing-masing sebanyak 25 ml. Masing-masing eluat ditampung dalam labu takar 25 ml. Selanjutnya eluat siap diukur serapannya pada spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang maksimum 256 nm.

Dengan cara yang sama, ekstraksi fase padat ini dilakukan terhadap semua komponen matriks yang lain. Selanjutnya diterapkan untuk larutan sampel aspartam yang telah dibuat pada butir 4.4.3 yaitu sampel aspartam baku 0,1 %, sampel aspartam 0,08 %, sampel aspartam 0,1 % , sampel aspartam 0,12 % dalam formula

minuman instant dan sampel minuman instant X, dengan melakukan pengulangan sebanyak 6 kali.

4.4.4.2 Ekstraksi fase padat aspartam menggunakan resin penukar anion

Komponen matriks yang telah dibuat pada butir 4.4.2.1 diambil 25 ml dimasukkan (melalui buret 25 ml) kedalam kolom ekstraksi yang telah berisi resin penukar anion sebanyak 6,250 gram (yang telah dikondisioning dengan pelarut aquadest selama semalam). Pengatur kecepatan aliran dari kolom dibuka perlahan dengan kecepatan sekitar 1 ml/menit dan eluat sampel ditampung dalam gelas piala 100 ml, resin dibilas dengan aquadest sebanyak 2-3 ml. Kemudian analit yang telah terikat pada resin penukar anion dielusi dengan larutan dapar fosfat 1,0 M dengan cara elusi "stepwise" atau elusi "fractional" dimulai dengan larutan dapar fosfat 1,0 M pH 8,0, dilanjutkan dengan pH 7,0; lalu pH 6,0 dan terakhir pH 5,5 masing-masing sebanyak 25 ml. Masing-masing eluat ditampung dalam labu takar 25 ml. Selanjutnya eluat siap diukur serapannya pada spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang maksimal 256 nm.

Dengan cara yang sama, ekstraksi fase padat ini dilakukan terhadap semua komponen matriks yang lain. Selanjutnya diterapkan untuk larutan sampel aspartam yang telah dibuat pada butir 4.4.3 yaitu sampel aspartam baku 0,1 %, sampel aspartam 0,08 %, sampel aspartam 0,1 %, sampel aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant dan sampel minuman instant X, dengan melakukan pengulangan sebanyak 6 kali.

4.5 Pengukuran serapan

Hasil-hasil elusi dari pertukaran kation dan pertukaran anion diatas diukur serapannya pada instrumen spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang maksimal 256 nm dengan menggunakan blanko masing-masing larutan dapar yang sesuai pH-nya dan kadarnya dihitung berdasarkan persamaan garis yang diperoleh dari kurva baku.

4.6 Penentuan validitas

4.6.1. Penentuan ketepatan

Dari hasil-hasil ekstraksi fase padat diatas, dilakukan penentuan ketepatan dari tiap-tiap sampel. Ketepatan dinyatakan sebagai derajat kedekatan antara hasil yang diperoleh dengan harga yang sebenarnya. Ukuran yang dipakai adalah persen perolehan kembali (% recovery) terhadap kadar yang telah diketahui. Uji ketepatan dilakukan dengan menggunakan uji t satu sampel. Perhitungan harga t digunakan rumus sebagai berikut :

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{S / \sqrt{n}}$$

\bar{x} = harga yang diperoleh

μ = harga sebenarnya

S = standar deviasi

n = jumlah ulangan

kemudian t hitung dibandingkan dengan t tabel pada $\alpha 0,05$ dengan $db = n - 1$.

Ketepatan dianggap baik bila t hitung $< t$ tabel, dan sebaliknya ketepatan kurang baik bila t hitung $> t$ tabel.

4.6.2 Penentuan ketelitian

Dari hasil-hasil ekstraksi fase padat diatas dilakukan penentuan ketelitian untuk tiap-tiap sampel. Ketelitian dinyatakan sebagai derajat kesesuaian antar hasil pengulangan analisis terhadap suatu sampel yang homogen / sama. Ukuran ketelitian adalah simpangan baku relatif atau % koefisien variasi (KV). Perhitungan harga KV digunakan rumus sebagai berikut :

$$KV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100 \%$$

S = standar deviasi

\bar{x} = kadar rata-rata.

Ketelitian dianggap baik jika harga KV $< 2 \%$.(28)

4.7 Pengujian hipotesis

Data-data ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dalam formula dengan ekstraksi fase padat yang menggunakan penukar kation dan penukar anion dianalisis dengan uji t dua sampel bebas, yaitu ingin diketahui apakah harga rata-rata persen recovery dari penetapan kadar aspartam dalam formula yang dihasilkan dari teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari teknik

ekstraksi fase padat pertukaran anion. Uji ada tidaknya perbedaan dilakukan dengan uji t dua sampel bebas pada harga $\alpha = 0,05$. Harga t dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)(S_1)^2 + (n_2 - 1)(S_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

\bar{x} = kadar rata-rata

s = standar deviasi

n = jumlah ulangan

Kemudian harga t dibandingkan dengan t tabel pada $\alpha = 0,05$ dengan db = $n_1 + n_2 - 2$. Jika t hitung < t tabel, maka dikatakan ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dalam formula minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation tidak lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion, dan sebaliknya jika t hitung > t tabel, maka dikatakan ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dalam formula dengan ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

Untuk membandingkan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam formula dengan ekstraksi fase padat yang menggunakan penukar kation dan penukar anion digunakan uji F. Harga F dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

$$S_1^2 = \frac{\sum (x_{i1} - \bar{x}_1)^2}{N_1 - 1} \qquad S_2^2 = \frac{\sum (x_{i2} - \bar{x}_2)^2}{N_2 - 1}$$

S_1 dan S_2 = estimator variasi populasi 1 dan 2

N_1 dan N_2 = jumlah sampel 1 dan 2

Kemudian harga F dibandingkan dengan harga F tabel pada $\alpha = 0,05$ dengan db = (N-1), (N-1). Jika F hitung < F tabel, ; maka dikatakan tidak ada perbedaan yang bermakna antara ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam formula dengan ekstraksi fase padat pertukaran kation dengan pertukaran anion.

BAB 5

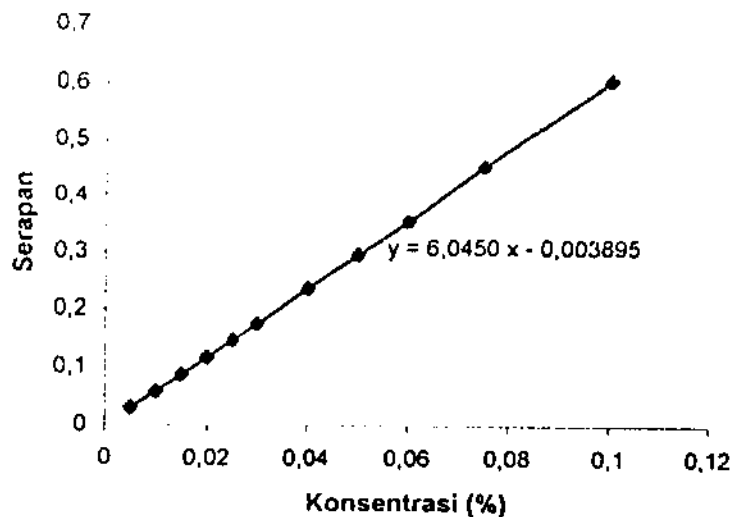
ANALISIS HASIL PENELITIAN

5.1 Penentuan linieritas dan pembuatan kurva baku aspartam

5.1.1 Penentuan linieritas

Hasil pengamatan linieritas antara konsentrasi aspartam dengan serapan terhadap panjang gelombang maksimum 258 nm (bergeser dari 256 nm) sebagai berikut :

Harga x Konsentrasi (%)	Harga y Serapan
0.0050	0.0301
0.0100	0.0587
0.0150	0.0879
0.0200	0.1172
0.0250	0.1462
0.0300	0.1755
0.0400	0.2352
0.0500	0.2948
0.0600	0.3539
0.0750	0.4530
0.1000	0.6040



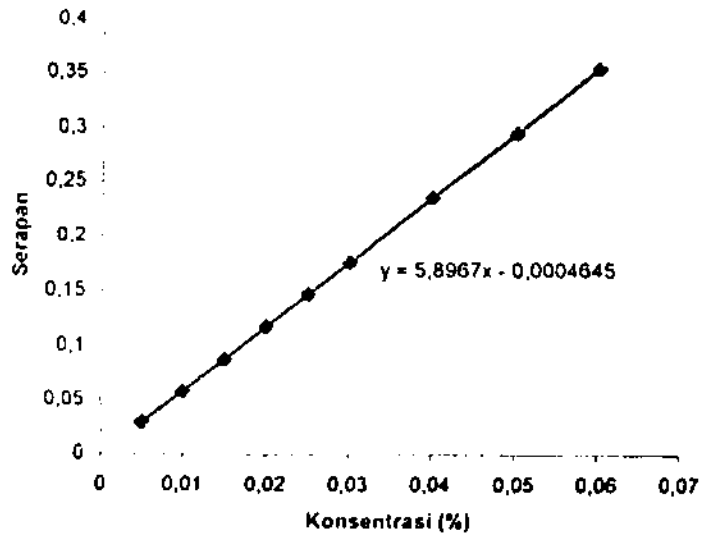
Gambar 5.1 Grafik linieritas

Diperoleh persamaan garis $y = 6,0450 x - 0,003895$, $r = 0,9998556$, menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang linier antara konsentrasi dengan serapan, karena harga $r > 0,99$ atau harga $r > r$ tabel pada $\alpha = 0,05$. (27).

5.1.2 Pembuatan kurva baku aspartam

Hasil pengamatan kurva baku antara konsentrasi aspartam dengan serapan pada panjang gelombang maksimum 258 nm, diperoleh hasil sebagai berikut :

Harga x Konsentrasi (%)	Harga y Serapan
0.0050	0.0301
0.0100	0.0587
0.0150	0.0879
0.0200	0.1172
0.0250	0.1462
0.0300	0.1755
0.0400	0.2352
0.0500	0.2948
0.0600	0.3539



Gambar 5.2 Grafik kurva baku aspartam

Persamaan garis regresi $y = 5,8967 x - 0,0004645$, $r = 0,999983$, menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang linier antara konsentrasi aspartam dengan serapan, karena harga $r > 0,99$ atau harga $r > r$ tabel pada $\alpha = 0,05$.(27). Jadi persamaan garis regresi kurva baku ini dapat dipakai sebagai dasar untuk menghitung konsentrasi aspartam hasil ekstraksi fase padat dengan resin penukar kation dan anion.

5.2 Tahapan pemilihan konsentrasi dapar

5.2.1 Konsentrasi dapar 0,1 M

Pada orientasi awal telah dicoba menggunakan eluen dapar sitrat 0,1 M dan dapar fosfat 0,1 M untuk mengelusi analit aspartam yang terikat pada resin, namun hasil menunjukkan bahwa analit aspartam sama sekali tidak memberikan respon serapan pada panjang gelombang maksimalnya.

5.2.2 Konsentrasi dapar 0,5 M

Pada orientasi awal telah dicoba menggunakan eluen dapar sitrat 0,5 M dan dapar fosfat 0,5 M untuk mengelusi analit aspartam yang terikat pada resin, namun hasil menunjukkan bahwa analit aspartam sama sekali tidak memberikan respon serapan pada panjang gelombang maksimalnya.

5.2.3 Konsentrasi dapar 1,0 M

Pada konsentrasi dapar sitrat 1,0 M dan dapar fosfat 1,0 M analit aspartam yang terikat pada resin memberikan respon serapan yang positif pada panjang gelombang maksimalnya, dimana hasil pengukuran serapan analit aspartam dengan spektrofotometer diode array, didapatkan panjang gelombang maksimum analit bergeser dari 256 nm ke 258 nm. Jadi bila digunakan konsentrasi eluen dapar yang lebih kecil dari 1,0 M, ternyata dapar tersebut tidak mampu mengelusi analit yang terikat pada resin, sehingga dipilih konsentrasi dapar 1,0 M.

5.3 Hasil ekstraksi fase padat dengan resin penukar kation

5.3.1 Pengaruh komponen matriks

Dari hasil elusi masing-masing komponen matriks, diperoleh hasil bahwa asam sitrat, natrium sitrat, natrium CMC, kalsium fosfat, asam askorbat dan sukrosa tidak menunjukkan spektrum positif pada panjang gelombang maksimal 258 nm.

5.3.2 Sampel aspartam baku 0,1 %

Hasil ekstraksi fase padat aspartam baku 0,1 % dengan eluen dapar sitrat 0,1 M menggunakan resin penukar kation, dan serapannya diukur pada spektrofotometer uv-vis, didapatkan perolehan kembali aspartam seperti tertera pada tabel dibawah ini :

Tabel 5.1 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam baku 0,1 % (0,1000 gr/100 ml) dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	pH 3,0		pH 4,0		pH 5,0		pH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.1157	0.0197	0.2501	0.0425	0.1618	0.0275	0.0514	0.0088	0.0985	98.50
2	0.1161	0.0198	0.2496	0.0424	0.1601	0.0272	0.0593	0.0101	0.0995	99.50
3	0.1068	0.0182	0.2602	0.0442	0.1587	0.0269	0.0499	0.0085	0.0978	97.80
4	0.1123	0.0191	0.2488	0.0423	0.1614	0.0274	0.0564	0.0096	0.0984	98.40
5	0.1143	0.0195	0.2487	0.0423	0.1670	0.0284	0.0511	0.0087	0.0989	98.90
6	0.1163	0.0198	0.2503	0.0425	0.1643	0.0279	0.0527	0.0090	0.0992	99.20
							Kadar rata-rata		98.72	
							Standar deviasi		0.6113	
							KV (%)		0.6192	
							t hitung		5.13	
							t tabel $\alpha = 0,05$		2.02	

Hasil yang diperoleh adalah dengan kadar rata-rata sebesar 98,72 % ; standar deviasi 0,6113 ; koefisien variasi 0,6192 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung 5,13 > t tabel 2,02 berarti terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

5.3.3 Sampel aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant

Pada pengamatan saat sampel dimasukkan kedalam kolom yang telah berisi resin kation, dengan pengaturan kecepatan aliran sekitar 1 ml/menit (catatan : untuk aliran yang lebih cepat menghasilkan recovery yang kurang bagus) didapatkan eluat sampel yang berwarna kuning sesuai dengan warna sampel (formula) yang mengandung warna dari tablet asam askorbat yang berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa matriks yang berwarna tersebut tidak terikat pada resin kation (telah dilihat dengan uji spektrum pada spektrofotometer), sehingga dapat dikatakan bahwa matriks tersebut tidak mengganggu elusi aspartam dari resin kation dan pengukuran aspartam pada spektrofotometer uv-vis.

Sedangkan untuk matriks lainnya seperti kalsium fosfat, natrium sitrat dan natrium CMC dapat dikatakan terikat pada resin kation namun juga tidak mengganggu elusi aspartam dengan dapar sitrat dengan pH-gradien. Hal ini terlihat pada pengukuran aspartam dengan spektrofotometer uv-vis dan juga pada saat orientasi awal dilakukan uji matriks melalui kolom ekstraksi dan diukur serapannya pada spektrofotometer uv-vis. Dari hasil pengukuran serapan analit aspartam dengan spektrofotometer diode array, didapatkan panjang gelombang maksimal analit bergeser dari 256 nm (sesuai pustaka) ke panjang gelombang 258 nm.

Data hasil perolehan kembali aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant dapat dilihat pada tabel dibawah ini, dan contoh perhitungan kadar dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 5.2 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,08 % (0,0800 gr/100 ml) dalam formula minuman instant dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	pH 3,0		pH 4,0		pH 5,0		pH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.0827	0.0141	0.2143	0.0364	0.1066	0.0182	0.0525	0.0089	0.0776	97.00
2	0.0948	0.0162	0.2125	0.0361	0.0947	0.0162	0.0535	0.0091	0.0775	96.88
3	0.0900	0.0153	0.2177	0.0369	0.1055	0.0180	0.0464	0.0079	0.0781	97.63
4	0.0858	0.0146	0.2267	0.0385	0.0950	0.0162	0.0556	0.0095	0.0788	98.50
5	0.0838	0.0143	0.2287	0.0389	0.0909	0.0155	0.0545	0.0093	0.0780	97.50
6	0.0921	0.0157	0.2133	0.0363	0.1054	0.0179	0.0503	0.0086	0.0785	98.13
									Kadar rata-rata	97.61
									Standar deviasi	0.6293
									KV (%)	0.6447
									t hitung	15.73
									t tabel $\alpha = 0,05$	2.02

Hasil yang diperoleh adalah kadar rata-rata sebesar 97,61 % , standar deviasi 0,6293 ; koefisien variasi 0,6447 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung 15,73 > t tabel 2,02 berarti terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

5.3.4 Sampel aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant

Fenomena elusi seperti yang terjadi pada ekstraksi fase padat aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant, juga terjadi pada aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant, bahwa warna dari sampel tidak terikat pada resin penukar kation. Data hasil perolehan kembali aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan contoh perhitungan kadar dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 5.3 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,1 % (0,1000 gr/100 ml) dalam formula minuman instant dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	pH 3,0		pH 4,0		PH 5,0		pH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.1109	0.0189	0.2609	0.0443	0.1815	0.0310	0.0309	0.0052	0.0995	99.50
2	0.1144	0.0195	0.2529	0.0423	0.1767	0.0300	0.0342	0.0059	0.0977	97.70
3	0.1161	0.0198	0.2567	0.0436	0.1770	0.0301	0.0322	0.0055	0.0990	99.00
4	0.1146	0.0195	0.2503	0.0423	0.1815	0.0310	0.0326	0.0056	0.0984	98.40
5	0.1101	0.0187	0.2537	0.0431	0.1783	0.0303	0.0339	0.0058	0.0979	97.90
6	0.1121	0.0191	0.2509	0.0423	0.1722	0.0293	0.0344	0.0059	0.0966	96.60
Kadar rata-rata									98.18	
Standar deviasi									1.0265	
KV (%)									1.0455	
t hitung									9.30	
t tabel $\alpha = 0,05$									2.02	

Hasil yang diperoleh adalah kadar rata-rata adalah 98,18 % , standar deviasi 1,0265 , koefisien variasi 1,0455 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung 9,30 > t tabel 2,02 berarti terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

5.3.5 Sampel aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant

Fenomena elusi seperti yang terjadi pada ekstraksi fase padat aspartam 0,08 % dan aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant, juga terjadi pada aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant, bahwa warna dari sampel tidak terikat pada resin penukar kation. Data hasil perolehan kembali aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan contoh perhitungan kadar dapat dilihat pada Lampiran 6

Tabel 5.4 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,12 % (0,1200 gr/100 ml) dalam formula minuman instant dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	pH 3,0		pH 4,0		pH 5,0		pH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.1332	0.0227	0.3093	0.0525	0.1787	0.0304	0.0593	0.0101	0.1157	96.42
2	0.1356	0.0231	0.2928	0.0497	0.1881	0.0320	0.0615	0.0105	0.1153	96.08
3	0.1426	0.0243	0.3027	0.0514	0.1812	0.0308	0.0639	0.0109	0.1174	97.83
4	0.1353	0.0230	0.2948	0.0501	0.1938	0.0329	0.0612	0.0105	0.1165	97.08
5	0.1415	0.0241	0.3070	0.0521	0.1775	0.0302	0.0559	0.0096	0.1160	96.67
6	0.1389	0.0236	0.2996	0.0509	0.1874	0.0319	0.0623	0.0106	0.1170	97.50
Kadar rata-rata									96.93	
Standar deviasi									0.6645	
KV (%)									0.6855	
t hitung									4.34	
t tabel $\alpha = 0.05$									2.02	

Hasil yang diperoleh adalah kadar rata-rata sebesar 96,93 %, standar deviasi 0,6645 , koefisien variasi 0,6855 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung 4,34 > t tabel 2,02

berarti terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

5.3.6 Sampel minuman instant X 0,12 %

Fenomena elusi seperti yang terjadi pada ekstraksi fase padat aspartam 0,08 % ; aspartam 0,1 % dan aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant, juga terjadi pada sampel minuman instant X 0,12 %, bahwa warna dari sampel tidak terikat pada resin penukar kation. Data hasil perolehan kembali aspartam dalam sampel minuman instant X 0,12 % dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.5 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) sampel minuman instant X 0,12 % (0,1200 gr/100 ml) dari elusi dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	pH 3,0		pH 4,0		pH 5,0		pH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.1011	0.0172	0.3571	0.0606	0.1595	0.0271	0.0566	0.0097	0.1146	95.50
2	0.0985	0.0168	0.3576	0.0607	0.1543	0.0262	0.0650	0.0111	0.1148	95.67
3	0.1110	0.0189	0.3469	0.0589	0.1519	0.0258	0.0562	0.0096	0.1132	94.33
4	0.1093	0.0186	0.3544	0.0602	0.1553	0.0264	0.0622	0.0106	0.1158	96.50
5	0.1125	0.0192	0.3540	0.0601	0.1518	0.0258	0.0546	0.0093	0.1144	95.33
6	0.1190	0.0203	0.3457	0.0587	0.1529	0.0260	0.0573	0.0098	0.1148	95.67
							Kadar rata-rata			95.50
							Standar deviasi			0.7008
							KV (%)			0.7338
							t hitung			11.32
							t tabel $\alpha = 0,05$			2.02

Hasil yang diperoleh adalah kadar rata-rata sebesar 95,50 % , standar deviasi 0,7008 , koefisien variasi 0,7338 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung > t tabel 2,02 berarti terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

Rangkuman hasil perolehan kembali aspartam dalam formula minuman instant dengan ekstraksi fase padat penukar kation dapat dilihat pada Lampiran 20 dengan kadar rata rata sebesar 97,57 %.

5.4 Hasil ekstraksi fase padat dengan resin penukar anion

5.4.1 Pengaruh komponen matriks

Dari hasil elusi masing-masing komponen matriks diperoleh hasil bahwa asam sitrat, natrium sitrat, natrium CMC, kalsium fosfat dan sukrosa tidak menunjukkan spektrum positif pada panjang gelombang maksimal 258 nm. Namun asam askorbat menunjukkan spektrum positif pada panjang gelombang 266 nm.

5.4.2 Sampel aspartam baku 0,1 %

Hasil ekstraksi fase padat aspartam baku 0,1 % dengan eluen dapar fosfat 0,1 M menggunakan resin penukar anion , dan serapannya diukur pada spektrofotometer uv-vis, didapatkan perolehan kembali aspartam baku 0,1 % seperti tertera pada tabel dibawah ini :

Tabel 5.6 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam baku 0,1 % (0,1000 gr/100 ml) dari elusi dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion

No	pH 8,0		pH 7,0		pH 6,0		pH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.1008	0.0172	0.1661	0.0282	0.1571	0.0267	0.0793	0.0135	0.0856	85.60
2	0.1011	0.0172	0.1786	0.0304	0.1517	0.0258	0.0779	0.0133	0.0867	86.70
3	0.1142	0.0194	0.1534	0.0261	0.1513	0.0257	0.0821	0.0140	0.0852	85.20
4	0.1228	0.0209	0.1501	0.0255	0.1500	0.0255	0.0854	0.0146	0.0865	86.50
5	0.1158	0.0197	0.1635	0.0278	0.1529	0.0260	0.0800	0.0136	0.0871	87.10
6	0.1027	0.0175	0.1734	0.0295	0.1466	0.0249	0.0813	0.0139	0.0858	85.80
							Kadar rata-rata		86.15	
							Standar deviasi		0.7287	
							KV (%)		0.8458	
							t hitung		46.56	
							t tabel $\alpha = 0,05$		2.02	

Hasil yang diperoleh adalah kadar rata-rata sebesar 86,15 % , standar deviasi 0,7287 , koefisien variasi 0,8458 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung 46,56 > t tabel 2,02 berarti terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

5.4.3 Sampel aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant

Pada pengamatan saat sampel dimasukkan kedalam kolom ekstraksi yang telah berisi resin penukar anion, dengan pengaturan kecepatan aliran sekitar 1 ml/menit didapatkan eluat sampel yang tidak berwarna yang tidak sama dengan warna sampel yang berwarna kuning yang mengandung warna dari tablet asam askorbat yang berwarna

kuning. Hal ini menunjukkan bahwa matriks yang berwarna tersebut terikat pada resin penukar anion atau diserap oleh resin tersebut, sehingga dapat dikatakan bahwa matriks tersebut ikut bereaksi bersama-sama dengan analit aspartam dan dapat mengganggu elusi aspartam dari resin anion dan pengukuran aspartam pada spektrofotometer. Pada orientasi awal ternyata asam askorbat terikat pada resin penukar anion dan mengganggu pengukuran aspartam pada panjang gelombang maksimal 258 nm, oleh karena asam askorbat ikut terelusi oleh dapar fosfat dan memberikan serapan pada panjang gelombang 266 nm sehingga berimpitan dengan aspartam yang membuat serapan aspartam menjadi sangat tinggi, maka dari itu harus diatasi dengan cara mengoksidasi asam askorbat agar tidak memberikan serapan pada panjang gelombang disekitar 258 nm. Oksidator yang digunakan adalah larutan hidrogen peroksida 0,35 % sebanyak 10 ml ditambahkan kedalam sampel dan dibiarkan selama 1 jam hingga warna larutan sampel berubah dari warna kuning menjadi tidak berwarna (untuk sampel minuman instan X menjadi berwarna kuning muda pucat).

Sedangkan untuk matriks lainnya seperti kalsium fosfat, natrium sitrat dan natrium CMC dapat dikatakan terikat pada resin anion namun tidak mengganggu elusi aspartam dengan dapar fosfat 1,0 M dengan pH-gradien. Hal ini terlihat pada pengukuran aspartam dengan spektrofotometer uv-vis dan juga pada saat orientasi awal dilakukan uji matriks melalui kolom ekstraksi dan diukur pada spektrofotometer uv vis.

Data hasil perolehan kembali aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan contoh perhitungan kadar dapat dilihat pada Lampiran 9.

Tabel 5.7 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,08 % (0,0800 gr/100 ml) dari elusi dapar fosfat 1,0 M Menggunakan resin penukar anion

No	pH 8,0		pH 7,0		pH 6,0		PH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.0599	0.0102	0.0873	0.0149	0.1158	0.0197	0.1420	0.0242	0.0690	86.25
2	0.0648	0.0111	0.0857	0.0146	0.1188	0.0202	0.1399	0.0238	0.0697	87.13
3	0.0587	0.0100	0.0880	0.0150	0.1098	0.0187	0.1421	0.0242	0.0679	84.88
4	0.0623	0.0106	0.0855	0.0146	0.1180	0.0201	0.1329	0.0226	0.0679	84.88
5	0.0607	0.0104	0.0866	0.0148	0.1087	0.0185	0.1413	0.0240	0.0677	84.63
6	0.0614	0.0105	0.0849	0.0145	0.1155	0.0197	0.1387	0.0236	0.0683	85.38
Kadar rata-rata									85.53	
Standar deviasi									0.9753	
KV (%)									1.1403	
t hitung									36.34	
t tabel $\alpha = 0,05$									2.02	

Hasil yang diperoleh adalah kadar rata-rata sebesar 85,53 % , standar deviasi 0,9753 , koefisien variasi 1,1403 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung 36,34 > t tabel 2,02 berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

5.4.4 Sampel aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant

Fenomena elusi seperti yang terjadi pada ekstraksi fase padat aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant. Hasil perolehan kembali aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan contoh perhitungan kadar dapat dilihat pada Lampiran 10.

Tabel 5.8 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam baku 0,1 % (0,1000 gr/100 ml) dari elusi dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion

No	pH 8,0		pH 7,0		pH 6,0		pH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.0845	0.0144	0.1008	0.0172	0.1565	0.0266	0.1688	0.0287	0.0869	86.90
2	0.0797	0.0136	0.1023	0.0174	0.1444	0.0246	0.1767	0.0300	0.0856	85.60
3	0.0783	0.0134	0.1007	0.0172	0.1328	0.0226	0.1827	0.0311	0.0843	84.30
4	0.0715	0.0122	0.1033	0.0176	0.1502	0.0256	0.1801	0.0306	0.0860	86.00
5	0.0745	0.0127	0.1039	0.0177	0.1558	0.0265	0.1722	0.0293	0.0862	86.20
6	0.0708	0.0121	0.1027	0.0175	0.1460	0.0248	0.1747	0.0297	0.0841	84.10
									Kadar rata-rata	85.52
									Standar deviasi	1.1053
									KV (%)	1.2924
									t hitung	32.09
									t tabel $\alpha = 0,05$	2.02

Hasil yang diperoleh adalah kadar rata-rata 85,52 % , standar deviasi 1,1053 , koefisien variasi 1,2924 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung 32,09 > t tabel 2,02 berarti terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

5.4.5 Sampel aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant

Fenomena elusi seperti yang terjadi pada ekstraksi fase padat aspartam 0,08 % dan aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant. Hasil perolehan kembali aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan contoh perhitungan kadar dapat dilihat pada Lampiran 11.

Tabel 5.9 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) Aspartam 0,12 % (0,1000 gr/100 ml) dari elusi dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion

No	pH 8,0		pH 7,0		pH 6,0		pH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.1026	0.0175	0.1145	0.0195	0.1527	0.0259	0.2248	0.0382	0.1011	84.25
2	0.1014	0.0173	0.1085	0.0185	0.1633	0.0278	0.2200	0.0374	0.1010	84.17
3	0.1023	0.0174	0.1079	0.0184	0.1589	0.0270	0.2223	0.0378	0.1006	83.83
4	0.1089	0.0185	0.1139	0.0194	0.1600	0.0272	0.2205	0.0375	0.1026	85.50
5	0.1009	0.0172	0.1126	0.0192	0.1574	0.0268	0.2190	0.0372	0.1004	83.67
6	0.1064	0.0181	0.1148	0.0195	0.1689	0.0287	0.2117	0.0359	0.1022	85.17
									Kadar rata-rata	84.43
									Standar deviasi	0.7389
									KV (%)	0.8752
									t hitung	51.62
									t tabel $\alpha = 0,05$	2.02

Hasil yang diperoleh adalah kadar rata-rata sebesar 84,43 % , standar deviasi 0,7389 , koefisien variasi 0,8752 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung 51,62 > t tabel 2,02 berarti terdapat perbedaan bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

5.4.6 Sampel minuman instant X 0,12 %

Fenomena elusi seperti yang terjadi pada ekstraksi fase padat aspartam 0,08 % ; aspartam 0,1 % dan aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant. Hasil perolehan kembali aspartam dalam sampel minuman instant X 0,12 % dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.10 Serapan (A), Konsentrasi hasil perhitungan (C), Hasil perolehan kembali (Rec.) sampel minuman instant X 0,12 % (0,1200 gr/100 ml) dari elusi dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion

No	pH 8,0		pH 7,0		pH 6,0		pH 5,5		Total C (%)	Rec. (%)
	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)	A	C (%)		
1	0.1029	0.0175	0.1018	0.0173	0.1588	0.0270	0.2439	0.0414	0.1032	86.00
2	0.0987	0.0168	0.1024	0.0174	0.1625	0.0276	0.2156	0.0366	0.0984	82.00
3	0.1017	0.0173	0.1033	0.0176	0.1575	0.0268	0.2240	0.0380	0.0997	83.08
4	0.1017	0.0173	0.1026	0.0175	0.1634	0.0278	0.2210	0.0375	0.1001	83.42
5	0.0977	0.0166	0.1128	0.0192	0.1669	0.0284	0.2225	0.0378	0.1020	85.00
6	0.1042	0.0177	0.1110	0.0189	0.1585	0.0269	0.2199	0.0374	0.1009	84.08
Kadar rata-rata									83.93	
Standar deviasi									1.4255	
KV (%)									1.6984	
t hitung									27.61	
t tabel $\alpha = 0,05$									2.02	

Hasil yang diperoleh adalah kadar rata-rata sebesar 83,93 % , standar deviasi 1,4255 , koefisien variasi 1,6984 % < 2 % berarti ketelitian baik dan t hitung 27,61 > t tabel 2,02 berarti terdapat perbedaan secara bermakna antara hasil yang diperoleh dengan harga sebenarnya.

Rangkuman hasil perolehan kembali aspartam dalam formula minuman instant dengan ekstraksi fase padat penukar anion dapat dilihat pada Lampiran 21 dengan kadar rata-rata sebesar 85,16 %.

5.5 Penentuan validitas

5.5.1 Rangkuman ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar kation

Hasil penentuan ketepatan dan ketelitian aspartam dari hasil elusi dengan penukar kation dapat dilihat pada tabel-tabel di sub bab 5.3. Rangkuman ketepatan dan ketelitian untuk semua sampel dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 5.11 Rangkuman ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar kation

No	Sampel Aspartam	x (%)	t hitung	t tabel $\alpha = 0,05$	KV (%)	Kesimpulan
1	Baku 0,1 %	98,72	5,13	2,02	0,6192	Ketepatan kurang baik, t hitung > t tabel.
2	Formula 0,08 %	97,61	9,30	2,02	0,6477	
3	Formula 0,1 %	98,18	4,34	2,02	1,0455	
4	Formula 0,12 %	96,93	11,32	2,02	0,6855	Ketelitian baik , KV < 2 %.
5	M.Instant X 0,12 %	95,50	15,73	2,02	0,7338	

5.5.2 Penentuan ketepatan dan ketelitian aspartam dengan resin penukar anion

Hasil penentuan ketepatan dan ketelitian aspartam dari hasil elusi dengan penukar anion dapat dilihat pada tabel-tabel di sub bab 5.4. Rangkuman ketepatan dan ketelitian untuk semua sampel dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 5.12 Rangkuman ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar anion

No	Sampel Aspartam	x (%)	t hitung	t tabel $\alpha = 0,05$	KV (%)	Kesimpulan
1	Baku 0,1 %	86,15	46,56	2,02	0,8458	Ketepatan kurang baik, t hitung > t tabel.
2	Formula 0,08 %	85,53	36,43	2,02	1,1403	
3	Formula 0,1 %	85,52	32,09	2,02	1,2924	
4	Formula 0,12 %	84,43	51,62	2,02	0,8752	Ketelitian baik , KV < 2 %.
5	M.Instant X 0,12 %	83,93	27,61	2,02	1,6984	

5.6 Perbandingan ketepatan dan ketelitian antara penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar kation dan resin penukar anion

5.6.1 Sampel aspartam baku 0,1 %

Data ketepatan sampel aspartam baku 0,1 % dianalisis dengan statistik uji t dua sampel bebas dan data ketelitian baku aspartam dianalisis dengan uji F, dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 15 dan 20

Tabel 5.13 Data ketepatan dan ketelitian hasil perolehan kembali Aspartam baku 0,1 %

No.	Hasil Perolehan Kembali (%)	
	Penukar kation	Penukar anion
1	98.50	85.60
2	99.50	86.70
3	97.80	85.20
4	98.40	86.50
5	98.90	87.10
6	99.20	85.80
Rata-rata	98.72	86.15
Sd	0.6113	0.7287
KV (%)	0.6192	0.8458
	t hitung	32.37
	t tabel $\alpha = 0,05$	1.81
	F hitung	0.70
	F tabel $\alpha = 0,05$	5.05

Hasil menunjukkan bahwa $t \text{ hitung} = 32,37 > t \text{ tabel } 1,81$; berarti ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat penukar kation lebih besar secara bermakna dari ekstraksi fase padat penukar anion, dan $F \text{ hitung} = 0,70 < F \text{ tabel} = 5,05$;

berarti tidak ada perbedaan bermakna antara ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat penukar kation dan ekstraksi fase padat penukar anion.

5.6.2 Sampel aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant

Data ketepatan dianalisis dengan statistik uji t dua sampel bebas dan data ketelitian dianalisis dengan uji F, dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 16 dan 21

Tabel 5.14 Data ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar Aspartam 0,08 % dalam formula minuman instant

No.	Hasil Perolehan Kembali (%)	
	Penukar kation	Penukar anion
1	97.00	86.25
2	96.80	87.13
3	97.63	84.48
4	98.50	84.88
5	97.50	84.63
6	98.13	85.39
Rata-rata	97.51	85.53
Sd	0.6293	0.9753
KV (%)	0.6447	1.1403
t hitung	25.49	
t tabel $\alpha = 0,05$	1.81	
F hitung	0.44	
F tabel $\alpha = 0,05$	5.05	

Hasil menunjukkan bahwa $t \text{ hitung} = 25,49 > t \text{ tabel} = 1,81$; berarti ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat penukar kation lebih besar secara bermakna dari ekstraksi fase padat penukar anion, dan $F \text{ hitung} = 0,44 < F \text{ tabel} = 5,05$;

berarti tidak ada perbedaan bermakna antara ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat penukar kation dan ekstraksi fase padat penukar anion.

5.6.2 Sampel aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant

Data ketepatan dianalisis dengan statistik uji t dua sampel bebas dan data ketelitian dianalisis dengan uji F, dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 17 dan 22

Tabel 5.15 Data ketepatan dan ketelitian hasil perolehan kembali Aspartam 0,1 % dalam formula minuman instant

No.	Hasil Perolehan Kembali (%)	
	Penukar kation	Penukar anion
1	99.50	86.90
2	97.50	85.60
3	99.00	84.30
4	98.40	86.00
5	97.90	86.20
6	96.60	84.10
Rata-rata	98.18	85.52
Sd	1.0265	1.1053
KV (%)	1.0455	1.2924
	t hitung	20.55
	t tabel $\alpha = 0,05$	1.81
	F hitung	0.86
	F tabel $\alpha = 0,05$	5.05

Hasil menunjukkan bahwa $t \text{ hitung} = 20,55 > t \text{ tabel} = 1,81$; berarti ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat penukar kation lebih besar secara bermakna dari ekstraksi fase padat penukar anion, dan $F \text{ hitung} = 0,86 < F \text{ tabel} = 5,05$;

berarti tidak ada perbedaan bermakna antara ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat penukar kation dan ekstraksi fase padat penukar anion.

5.6.4 Sampel aspartam 0,12% dalam formula minuman instant

Data ketepatan dianalisis dengan statistik uji t dua sampel bebas dan data ketelitian baku aspartam dianalisis dengan uji F, dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 18 dan 23

Tabel 5.16 Data ketepatan dan ketelitian hasil perolehan kembali Aspartam 0,12 % dalam formula minuman instant

No.	Hasil Perolehan Kembali (%)	
	Penukar kation	Penukar anion
1	96.42	84.25
2	96.08	84.17
3	97.83	83.83
4	97.08	85.50
5	96.67	83.67
6	97.50	85.17
Rata-rata	96.93	84.43
Sd	0.6645	0.7389
KV (%)	0.6855	0.8752
t hitung	30.81	
t tabel $\alpha = 0,05$	1.81	
F hitung	0.81	
F tabel $\alpha = 0,05$	5.05	

Hasil menunjukkan bahwa $t \text{ hitung} = 30,81 > t \text{ tabel} = 1,81$; ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat penukar kation lebih besar secara bermakna dari ekstraksi fase padat penukar anion, dan $F \text{ hitung} = 0,81 < F \text{ tabel} = 5,05$; berarti tidak ada perbedaan bermakna antara ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dengan ekstraksi fase padat penukar kation dan ekstraksi fase padat penukar anion.

5.6.5 Sampel aspartam dalam sampel minuman instant X 0,12%

Data ketepatan dianalisis dengan statistik uji t dua sampel bebas dan data ketelitian dianalisis dengan uji F, dapat dilihat pada tabel dibawah ini dan perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 19 dan 24

Tabel 5.17 Data ketepatan dan ketelitian hasil perolehan kembali aspartam dalam minuman instant X 0,12 %

No.	Hasil Perolehan Kembali (%)	
	Penukar kation	Penukar anion
1	95.50	86.00
2	95.67	82.00
3	94.33	83.08
4	96.50	83.42
5	95.33	85.00
6	95.67	84.08
Rata-rata	95.50	83.93
Sd	0.7008	1.4255
KV (%)	0.7338	1.6984
t hitung	17.84	
t tabel $\alpha = 0,05$	1.81	
F hitung	0.24	
F tabel $\alpha = 0,05$	5.05	

Hasil menunjukkan bahwa $t \text{ hitung} = 17,84 > t \text{ tabel} = 1,81$; berarti ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dalam sampel minuman instan X dengan ekstraksi fase padat penukar kation lebih besar secara bermakna dari ekstraksi fase padat penukar anion, dan $F \text{ hitung} = 0,24 < F \text{ tabel} = 5,05$; berarti tidak ada perbedaan bermakna antara ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam sampel minuman instant X dengan ekstraksi fase padat penukar kation dan ekstraksi fase padat penukar anion.

Bab 6

PEMBAHASAN

6.1 Hasil ekstraksi fase padat aspartam dengan resin penukar kation

Pemilihan konsentrasi dapar sitrat 1,0 M pada ekstraksi fase padat aspartam dengan resin penukar kation adalah untuk melihat pengaruh kekuatan ion dapar terhadap elusi analit aspartam yang terikat pada resin penukar kation, ternyata bahwa dengan konsentrasi dapar sitrat yang lebih rendah dari 1,0 M, eluen dapar tersebut tidak mampu untuk mengelusi analit, sehingga yang dipakai sebagai eluen adalah konsentrasi dapar sitrat 1,0 M. Hal ini menunjukkan bahwa pertukaran ion adalah proses bersaing. Menaikkan konsentrasi ion lawan akan menurunkan kemampuan ion cuplikan untuk bersaing mencapai titik pertukaran dan tidak akan tertahan dalam kolom. Jadi dengan kata lain, konsentrasi dapar harus disesuaikan untuk mengendalikan pemisahan. Jika dapar terlalu lemah, ia tidak dapat mengendalikan pH fase gerak atau tidak akan mampu mendorong analit terlepas dari resin penukar kation. Sebaliknya jika konsentrasi dapar naik, viskositas pelarut naik pula sehingga konsentrasi dapar yang hampir jenuh atau tinggi harus dihindari pula karena dapat menyebabkan pengendapan garam dan dapat menimbulkan penyumbatan dalam sistem kolom. Dengan konsentrasi dapar sitrat yang tinggi yaitu 1,0 M menyebabkan terelusnya analit dimulai pada pH 3,0 dengan cara bertingkat sampai pada pH isoelektriknya 5,5.

Berbagai faktor mempengaruhi fenomena elusi. Faktor laju aliran kolom berpengaruh pula pada perolehan kembali kadar analit aspartam. Laju aliran yang rendah biasanya lebih baik karena waktu kontak didalam kolom pada proses elusi tinggi, sehingga efisiensi bertambah. Hal ini terbukti pada orientasi awal bahwa laju aliran yang cepat menghasilkan perolehan kembali analit aspartam yang lebih rendah. Pada penelitian ini yang dipakai laju aliran 1ml/menit, menghasilkan recovery yang cukup baik.

Dari hasil-hasil ekstraksi fase padat seperti yang tertera pada sub-bab 5.3, secara umum dapat dilihat bahwa ketelitian penetapan kadar aspartam baku 0,1 % ; dalam formula 0,08 % ; formula 0,1 % ; formula 0,12 % dan dalam sampel minuman instant X 0,12 % adalah baik karena harga koefisien variasi (KV) lebih kecil dari yang dipersyaratkan yaitu $< 2\%$, sedangkan untuk ketepatan penetapan kadar aspartam menunjukkan t hitung lebih besar dari t tabel pada $\alpha = 0,05$ yang berarti bahwa ada perbedaan yang bermakna antara hasil yang diperoleh dibanding dengan harga yang sebenarnya. Hal ini dipengaruhi oleh karena harga standar deviasi yang relatif besar yaitu sekitar 0,6 sampai 1,0 dan juga sangat bervariasinya hasil perolehan kembali aspartam pada tiap-tiap sampel sehingga mengakibatkan harga t hitung yang besar.

6.2 Hasil ekstraksi fase padat aspartam dengan resin penukar anion

Pada proses pertukaran anion dipakai eluen dapar fosfat dengan konsentrasi 1,0 M yang mampu mengelusi analit dimulai pada pH 8,0 dengan cara bertingkat sampai pada pH isoelektriknya 5,5 ; berdasarkan fenomena elusi yang sama pada pertukaran kation. Pertukaran anion yang menggunakan resin penukar anion basa kuat yang berwarna coklat muda, ternyata resin pebukar anion tersebut mampu menyerap warna dari larutan sampel yang berwarna kuning menyebabkan resin berubah warna menjadi coklat tua, tetapi warna yang tertahan dalam kolom tidak ikut terelusi oleh dapar fosfat 1,0 M sehingga tidak mengganggu pembacaan serapan pada spektrofotometer. Namun asam askorbat yang terikat pada resin ikut terelusi oleh larutan dapar fosfat 1,0 M menyebabkan terganggunya pembacaan serapan aspartam pada panjang gelombang maksimal 258 nm. Terelusnya asam askorbat oleh dapar fosfat 1.0 M ini dapat disebabkan oleh tidak kuatnya reaksi antara resin anion dengan asam askorbat, atau karena afinitas dan selektivitas dapar fosfat lebih besar terhadap resin anion. Hal tersebut telah diatasi cara mengoksidasi asam askorbat agar tergeser serapannya dari 266 nm (berimpitan dengan panjang gelombang maksimum aspartam). Dengan penambahan oksidator hidrogen-peroksida 0,35 % sebanyak 10 ml untuk mengoksidasi asam askorbat, maka serapan aspartam pada panjang gelombang maksimumnya tidak lagi terganggu oleh adanya serapan maksimal dari asam askorbat tersebut. Namun penambahan zat pengoksidator ini tidak boleh berlebihan, yang dapat menyebabkan analit aspartam ikut teroksidasi, sehingga jumlah 10 ml hidrogen-peroksida 0,35 % sudah cukup untuk mengatasi hal jni.

Pada penelitian pertukaran anion yang menggunakan resin penukar anion basa kuat amin kwarterner ini, banyak menyerap matriks sehingga berpengaruh pada laju aliran efluennya, dimana bila pada pertukaran kation yang menggunakan resin penukar kation asam kuat sulfonat kecepatan laju aliran dapat diatur, maka pada resin anion ini laju aliran sangat lambat yang tentunya akan berpengaruh pada keefektifan dan keefisienan pengerjaan penelitian sehingga berpengaruh pada hasil recovery. Untuk mengatasi hal ini maka pada kolom diberikan sedikit tekanan dari atas untuk mempercepat laju aliran.

Faktor selektivitas dapar fosfat dapat menentukan pula pada pertukaran anion ini. Selektivitas dapar fosfat terhadap analit aspartam yang terikat pada resin anion kemungkinan lebih rendah sehingga tidak mampu mendorong atau melulusi analit seluruhnya, mengakibatkan perolehan kembali aspartam lebih rendah dari perolehan kembali aspartam pada pertukaran kation.

Selain faktor –faktor diatas, faktor dari sifat-sifat resin itu sendiri yang mungkin menyebabkan perolehan kembali dari semua formula jauh lebih kecil dari perolehan kembali dengan resin penukar kation. Besarnya kandungan sambung silang pada struktur resin penukar anion dapat menentukan proses elusi. Resin penukar anion yang dipakai mungkin memiliki kandungan DVB yang tinggi, menyebabkan kemerosotan tekanan yang nyata sehingga laju aliran rendah atau permeabilitas rendah dan sedikit waktu untuk mencapai kesetimbangan.

Dari hasil-hasil ekstraksi fase padat seperti yang tertera pada sub-bab 5.4, secara umum dapat dilihat bahwa ketelitian penetapan kadar aspartam baku 0,1 % ; dalam formula 0,08 % ; formula 0,1 % ; formula 0,12 % dan dalam sampel minuman

instant X 0,12 % adalah baik karena harga koefisien variasi (KV) lebih kecil dari yang dipersyaratkan yaitu $< 2\%$, sedangkan untuk ketepatan penetapan kadar aspartam menunjukkan t hitung lebih besar dari t tabel pada $\alpha = 0,05$ yang berarti bahwa ada perbedaan yang bermakna antara hasil yang diperoleh dibanding dengan harga yang sebenarnya. Hal ini dipengaruhi oleh karena harga standar deviasi yang relatif besar yaitu sekitar 0,6 sampai 1,4 dan juga sangat bervariasinya hasil perolehan kembali aspartam pada tiap-tiap sampel sehingga mengakibatkan harga t hitung yang besar.

6.3 Perbandingan ketepatan dan ketelitian antara penetapan kadar aspartam hasil ekstraksi fase padat dengan penukar kation dan penukar anion

Dari data-data ketepatan dan ketelitian hasil penetapan kadar aspartam baku 0,1 % ; dalam formula 0,08 % ; formula 0,1 % ; formula 0,12 % dan dalam sampel minuman instant X 0,12 % seperti yang tertera pada pada sub bab 5.6, menunjukkan hasil perolehan kembali aspartam dalam formula dari resin penukar kation dan resin penukar anion yang ketepatannya dianalisis dengan statistik uji t 2 sampel bebas, menunjukkan bahwa hasil perolehan kembali aspartam dalam formula yang dielusi dengan eluen dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation lebih besar secara bermakna dari hasil perolehan kembali aspartam dalam formula yang dielusi dengan eluen dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion pada $\alpha = 0,05$.

Data-data perolehan kembali aspartam dalam formula dari resin penukar kation dan resin penukar anion yang ketelitiannya dianalisis dengan uji F,

menunjukkan bahwa ketelitian baik karena harga F hitung lebih kecil dari F tabel pada $\alpha = 0,05$; berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pengulangan perolehan kembali aspartam dari resin penukar kation dengan resin penukar anion.

Rata-rata hasil perolehan kembali aspartam dalam formula minuman instant pada proses pertukaran kation adalah sebesar 97,57 % , sedangkan rata-rata perolehan kembali aspartam pada proses pertukaran anion adalah sebesar 85,16 % , sehingga dapat dikatakan bahwa proses ekstraksi fase padat aspartam dengan penukar kation memberikan hasil perolehan kembali yang lebih baik dari pada proses ekstraksi fase padat dengan penukar anion.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada bab sebelumnya, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar kation asam kuat sulfonat menunjukkan rata-rata persen perolehan kembali sebesar 97,57 % dan ketelitiannya menunjukkan rata-rata koefisien variasi sebesar kurang dari 2 %.
2. Ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dalam formula minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat menggunakan resin penukar anion basa kuat amin kwarterner menunjukkan rata-rata persen perolehan kembali sebesar 86,15 % dan ketelitiannya menunjukkan rata-rata koefisien variasi sebesar kurang dari 2 %.
3. Ketepatan hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih baik dari pada pertukaran anion ; ketelitian hasil penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraks fase padat pertukaran kation dan pertukaran anion menunjukkan hasil yang baik.

7.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan untuk mencoba prosedur dengan cara yang sama pada penetapan kadar aspartam dalam minuman instant dengan teknik ekstraksi fase padat pertukaran kation dengan menggunakan jenis eluen dapar yang lain, atau jenis resin yang lain dan mengaplikasikan terhadap sampel minuman instant yang beredar dipasaran.

DAFTAR PUSTAKA

1. Branen,A.L., Davidson,P.M., Salminen,S., 1990, Food Additives, Marcel Dekker Inc., New York, p. 305-309
2. Nurjannah,dkk., 1992, Bahan Tambahan Makanan (Sebaiknya Anda Tahu), YLKI, Jakarta, hal. 73-90, 109-117
3. Tschanz,C.MD., Butcko,H.H MD., Stargel,W.PD., Kotsonis,F.PhD., 1994, Nutrasweet : A Unique High Intensity Sweetener, An Overview of Metabolism, Safety, and Usefulness, Proceeding One Day Simposium on Aspartame, Jakarta, hal. 107-120
4. Snyder,L.R., Kirkland,J.J., 1979, Introduction to Modern Liquid Chromatography, Second Edition, John Wiley & Sons Inc., New York, p. 720-731
5. E.Merck, Sample Preparation in Analytical Chemistry, Adsorbex Chromatography Merck, Germany
6. J.T. Baker, Solid Phase Extraction (SPE), J.T. Baker Chemical Company, p. 96-121
7. Nabors,L.O., Gelardi,R.C., 1991, Alternative Sweeteners, Aspartame, Marcel Dekker Inc., New York, p. 39-69
8. Rianto,E., Analisis Asam Amino Dengan Kromatografi Pertukaran Ion, Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga, Surabaya, hal. 1-17
9. Hui,Y.H., 1992, Encyclopedia of Food Science and Technology, Volume 4 Q-Z Index, John Wiley & Sons Inc., New York, p.2470-2487

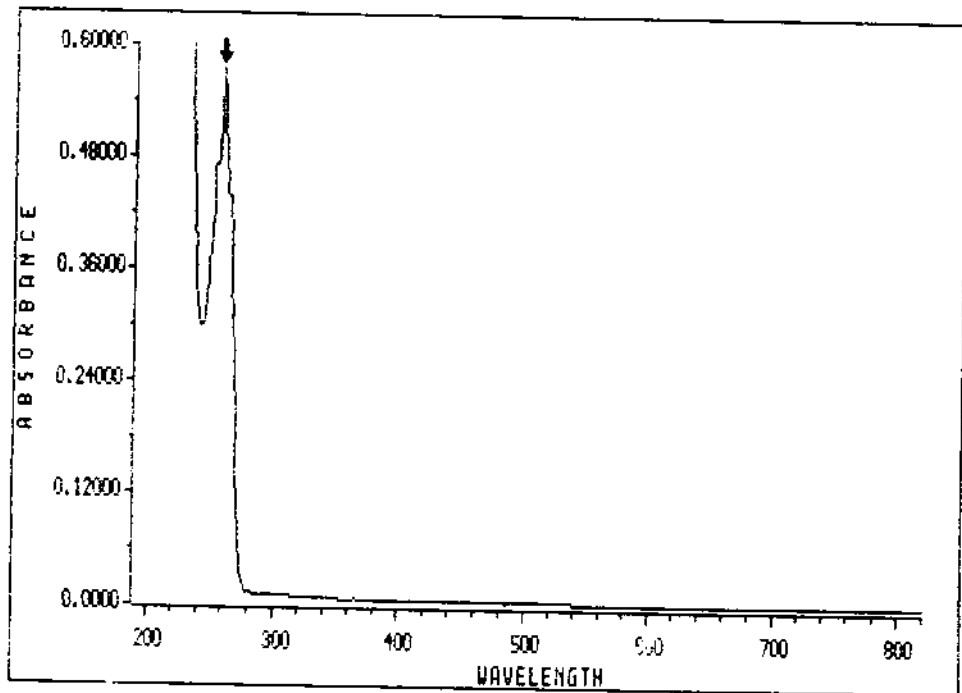
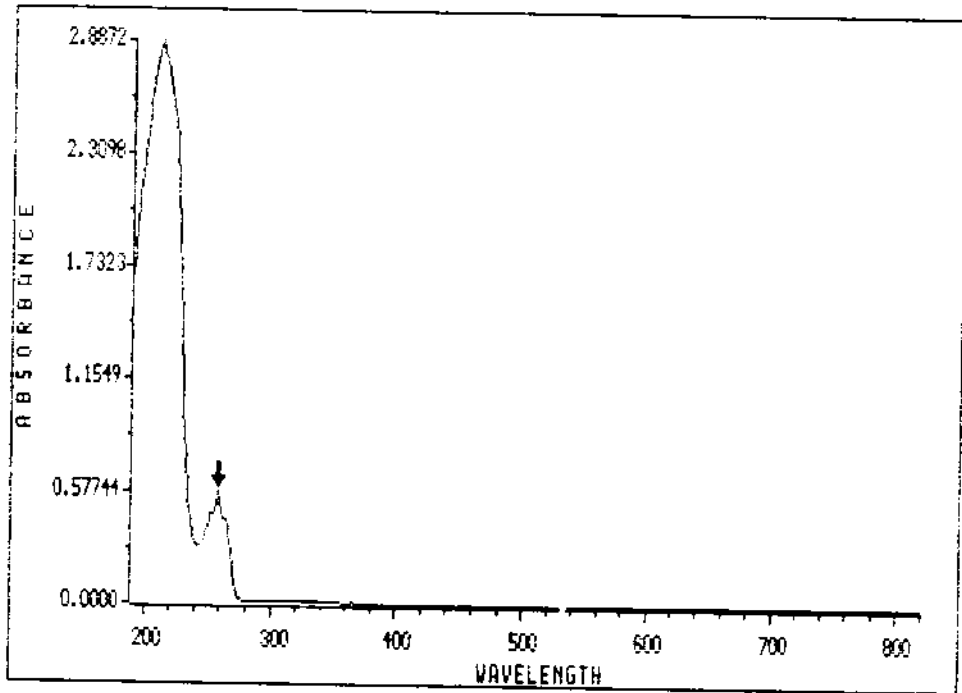
10. Marie,s., Piggott,J.R., 1991, Handbook of Sweeteners, Blackie Academic & Professional, New York, p.131-247
11. Smith,J., 1991, Food Additive User's Handbook, Blackie Academic & Professional, New York, p.59-63, 207
12. Doyle,M.E., Steinhart,C.E., Cochrane,B.A., 1994, Food Safety, Marcel Dekker Inc., New York, p. 208-209
13. Ranken,M.D., Kill,R.C., 1993, Food Industries Manual, 23rd edition, Blackie Academic & Professional, New York, p.392
14. Stegink,L.D., Filer,Jr,L.J., 1984, Aspartame Physiology and Biochemistry, Marcel Dekker Inc., New York, p.510
15. Barua,J., Bal,A., 1995, Emergi Facts about Aspartame, Journal of The Diabetic Association of India, Vol.35 No.4, India
16. Lan,O.W., Luk,F.F., Chan,W.M., 1988, Spectrophotometric Determination of Aspartame in Soft Drink with Ninhydrin as Reagent, Journal Analyst May 1988 Vo.113, p.765-768
17. Martindale, 1993, The Extra Pharmacopoeia, 30th edition, The Pharmaceutical Press, London, p.1036
18. Australia Regulation, 1994, Artificial Sweetening Substances Standard A-8, AB 1 - AB 9
19. Skoog, D.A., West,D.M., Holler,F.J., 1994, Analytical Chemistry An Introduction, Chapter 25 Analytical Separation by Extraction and Ion Exchange, Sixth Edition, Saunders College Publishing, Philadelphia, p. 481-489

20. Anderson,R., Chapman,N.B., 1987, Sample Pretreatment and Separation, Ion Exchange, John Wiley & Sons, new york, p.313-387
21. Kennedy,J.H., 1990, Analytical Chemistry Principles, Second Edition, Saunders College Publishing, New York, p.760-768
22. Roberts,R.M., Gilbert,J.C., Rodewald,L.B., Wingrove,A.S., 1979, Modern Experimental Organic Chemistry, Third edition, Saunders College, Philadelphia, p.83-87
23. Bailey,P.D., 1990, An Introduction to Peptide Chemistry, John Wiley & Sons, New York, p.51-54
24. Mulya,HM., Suharman, 1995, Analisis Instrumental, Teknik Spektroskopik, Airlangga University Press, Surabaya, hal. 19-59
25. Skoog, D., 1985, Principles of Instrumental Analysis, Third Edition, Saunders College Publishing, Philadelphia, p. 182-220
26. United States Pharmacopeial Convention, 1995, The United states Pharmacopoeia, 23th Ed and The National Formulary, 18th Ed , Validation of Compendial Methods, Broad of Trustess Washington DC, p.1225-1231
27. Green, J.M., 1966, A Practical Guide to Analytical Method Validation, Anal.Chem., Vol.23 , p.305A-309A
28. Indrayanto,G., 1994, Metode Validasi Pada Analisis Kromatografi, Laboratorium Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya
29. Johnson,E.L., Stevenson,R., 1991, Dasar Kromatografi Cair, Pertukaran Ion, Penerbit ITB Bandung, 119-144

30. Pomeranz, Y., Meloan, C.E., 1994, Food Analysis Theory and Practice, Third Edition, Chapman and Hall New York, p.317-318
31. Karger, B.L., Snyder, L.R., Horvath, C., 1973, An Introduction to Separation Science, Ion Exchange Separation Process, John Wiley & Sons, New York, 345
32. Stegink, L.D., Filer, Jr, L.J., 1984, Nutrasweet Group G.D. Searle & Co., Marcel Dekker Inc., New York
33. The Merck Index, 1963, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, Tenth Edition, Merck & Co. Inc. New York
34. Sudjana, 1996, Metoda Statistika, Edisi ke 6, Penerbit Tarsito, Bandung
35. Massart, D.L., Vandeginste, B.G.M., Deming, S.M., 1988, Chemometrics : a text book, Elsevier, Am , p.18-19
36. Kateman, G., Buydens, L., 1993, Quality Control in Analytical Chemistry, Second Edition, Vol.60, John Wiley & Sons. Inc., New York, p.104-110

Lampiran 1

Profil Spektrum Aspartam



Marked Wavelengths

Reg A: L 258 = 0.57411

Lampiran 2. Jumlah Campuran Dapar

Jumlah campuran dapar sitrat 1,0 M untuk pertukaran kation

Jumlah larutan yang dicampur (ml)	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 5,5
Larutan asam sitrat - monohidrat 1,0 M	90	60	30	20
Larutan tri-natrium sitrat dihidrat 1,0 M	25	45	75	95

Jumlah campuran dapar fosfat 1,0 M untuk pertukaran anion

Jumlah larutan yang dicampur (ml)	pH 5,5	pH 6,0	pH 7,0	pH 8,0
Larutan kalium dihidrogen-fosfat 1,0 M	2	40	90	110
larutan dikalium hidrogen-fosfat 1,0 M	110	80	20	5

Lampiran 3 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi baku-aspartam 0,1 % yang dielusi dengan eluen dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	Serapan				(% Rec.
	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 5,5	
1	0.1157	0.2501	0.1618	0.0514	98.50
2	0.1161	0.2496	0.1601	0.0593	99.50
3	0.1068	0.2602	0.1587	0.0499	97.80
4	0.1123	0.2488	0.1614	0.0564	98.40
5	0.1143	0.2487	0.1670	0.0511	98.90
6	0.1163	0.2503	0.1643	0.0527	99.20
Kadar rata-rata (%)					98.72

Contoh perhitungan kadar :

Data penimbangan aspartam = 0,1000 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 3,0 : $0,1157 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0197$

Fraksi pH 4,0 : $0,2501 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0425$

Fraksi pH 5,0 : $0,1618 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0275$

Fraksi pH 5,5 : $0,0514 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0088$

Total fraksi/total x = konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,0985

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,0985 \times 100 \%}{0,1000} = 98.50 \%$

Lampiran 4 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula-aspartam 0,08 % yang dielusi dengan eluen dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	Absorban				(%) Rec.
	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 5,5	
1	0.0827	0.2143	0.1066	0.0525	97.00
2	0.0948	0.2125	0.0947	0.0535	96.88
3	0.0900	0.2177	0.1055	0.0464	97.63
4	0.0858	0.2267	0.0950	0.0556	98.50
5	0.0838	0.2287	0.0909	0.0545	97.50
6	0.0921	0.2133	0.1054	0.0503	98.13
Kadar rata-rata (%)					97.61

Contoh perhitungan kadar :

Data penimbangan aspartam = 0,0800 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 3,0 : $0,0827 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0141$

Fraksi pH 4,0 : $0,2143 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0364$

Fraksi pH 5,0 : $0,1066 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0182$

Fraksi pH 5,5 : $0,0525 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0089$

Total fraksi/total x = konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,0776

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,0776 \times 100 \%}{0,0800} = 97.00 \%$

Lampiran 5 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula-aspartam 0,1 % yang diekstraksi dengan eluen dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	Serapan				(% Rec.
	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 5,5	
1	0.1109	0.2609	0.1815	0.0309	99.50
2	0.1144	0.2529	0.1767	0.0342	97.70
3	0.1161	0.2567	0.1770	0.0322	99.00
4	0.1146	0.2503	0.1815	0.0326	98.40
5	0.1101	0.2535	0.1783	0.0339	97.90
6	0.1121	0.2509	0.1722	0.0344	96.60
Kadar rata-rata (%)					98.18

Contoh perhitungan kadar :

Data penimbangan aspartam = 0,1000 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 3,0 : $0,1109 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0189$

Fraksi pH 4,0 : $0,2609 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0443$

Fraksi pH 5,0 : $0,1815 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0310$

Fraksi pH 5,5 : $0,0309 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0052$

Total fraksi/total x = konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,0995

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,0995 \times 100 \%}{0,1000} = 99.50 \%$

Lampiran 6 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula-aspartam 0,12 % yang dielusi dengan eluen dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	Serapan				(% Rec.
	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 5,5	
1	0.1332	0.3093	0.1787	0.0593	96.42
2	0.1356	0.2928	0.1881	0.0615	96.08
3	0.1426	0.3027	0.1812	0.0639	97.83
4	0.1353	0.2948	0.1938	0.0612	97.08
5	0.1415	0.3070	0.1775	0.0559	96.67
6	0.1389	0.2996	0.1874	0.0623	97.50
Kadar rata-rata (%)					96.93

Contoh perhitungan kadar :

Data penimbangan aspartam = 0,1200 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 3,0 : $0,1332 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0227$

Fraksi pH 4,0 : $0,3093 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0525$

Fraksi pH 5,0 : $0,1787 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0304$

Fraksi pH 5,5 : $0,0593 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0101$

Total fraksi/total $x =$ konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,1157

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,1157 \times 100 \%}{0,1200} = 96,42 \%$

Lampiran 7 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi sampel minuman instant X 0,12 % yang dielusi dengan eluen dapar sitrat 1,0 M menggunakan resin penukar kation

No	Serapan				(% Rec.
	pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 5,5	
1	0.1011	0.3571	0.1595	0.0566	95.50
2	0.0985	0.3576	0.1543	0.0650	95.67
3	0.1110	0.3469	0.1519	0.0562	94.33
4	0.1093	0.3544	0.1553	0.0622	96.50
5	0.1125	0.3540	0.1518	0.0546	95.33
6	0.1190	0.3457	0.1529	0.0573	95.67
Kadar rata-rata (%)					95.50

Contoh perhitungan kadar :

Data aspartam dalam label = 0,1200 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 3,0 : $0,1011 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0172$

Fraksi pH 4,0 : $0,3571 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0606$

Fraksi pH 5,0 : $0,1595 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0271$

Fraksi pH 5,5 : $0,0566 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0097$

Total fraksi/total x = konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,1146

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,1146 \times 100 \%}{0,1200} = 95,50 \%$

Lampiran 8 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi baku-aspartam 0,1 % yang dielusi dengan eluen dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion

No	Serapan				(% Rec.
	pH 8,0	pH 7,0	pH 6,0	pH 5,5	
1	0.1008	0.1661	0.1571	0.0793	86.60
2	0.1011	0.1786	0.1517	0.0779	86.70
3	0.1142	0.1534	0.1513	0.0821	85.20
4	0.1228	0.1501	0.1500	0.0854	86.50
5	0.1158	0.1635	0.1529	0.0800	87.10
6	0.1027	0.1734	0.1466	0.0813	85.80
Kadar rata-rata (%)					86.15

Contoh perhitungan kadar :

Data penimbangan aspartam = 0,1000 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 8,0 : $0,1008 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0172$

Fraksi pH 7,0 : $0,1661 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0282$

Fraksi pH 6,0 : $0,1571 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0267$

Fraksi pH 5,5 : $0,0793 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0135$

Total fraksi/total x = konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,0856

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,0856 \times 100 \%}{0.1000} = 85,60 \%$

Lampiran 9 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula-aspartam 0,08 % yang dielusi dengan eluen dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion

No	Serapan				(% Rec.
	pH 8,0	pH 7,0	pH 6,0	pH 5,5	
1	0.0599	0.0873	0.1158	0.1420	86.25
2	0.0648	0.0857	0.1188	0.1399	87.13
3	0.0587	0.0880	0.1098	0.1421	84.88
4	0.0623	0.0855	0.1180	0.1329	84.88
5	0.0607	0.0866	0.1007	0.1413	84.63
6	0.0614	0.0849	0.1155	0.1388	85.38
Kadar rata-rata (%)					85.53

Contoh perhitungan kadar :

Data penimbangan aspartam = 0,0800 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 8,0 : $0,0599 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0102$

Fraksi pH 7,0 : $0,0873 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0149$

Fraksi pH 6,0 : $0,1158 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0197$

Fraksi pH 5,5 : $0,1420 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0242$

Total fraksi/total $x =$ konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,0690

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,0690 \times 100 \%}{0.0800} = 86,25 \%$

Lampiran 10 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula-aspartam 0,1 % yang dielusi dengan eluen dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion

No	Serapan				(% Rec.
	pH 8,0	pH 7,0	pH 6,0	pH 5,5	
1	0.0845	0.1008	0.1565	0.1688	86.90
2	0.0797	0.1023	0.1444	0.1767	85.60
3	0.0783	0.1007	0.1328	0.1823	84.30
4	0.0715	0.1033	0.1502	0.1801	86.00
5	0.0745	0.1039	0.1558	0.1722	86.20
6	0.0708	0.1027	0.1460	0.1747	84.10
Kadar rata-rata (%)					85.52

Contoh perhitungan kadar :

Data penimbangan aspartam = 0,1000 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 8,0 : $0,0845 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0144$

Fraksi pH 7,0 : $0,1008 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0172$

Fraksi pH 6,0 : $0,1565 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0266$

Fraksi pH 5,5 : $0,1688 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0287$

Total fraksi/total x = konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,0869

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,0869 \times 100 \%}{0.1000} = 86,90 \%$

Lampiran 11 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi formula-aspartam 0,12 % yang dielusi dengan eluen dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion

No	Serapan				(% Rec.
	pH 8,0	pH 7,0	pH 6,0	pH 5,5	
1	0.1026	0.1145	0.1527	0.2248	84.25
2	0.1014	0.1085	0.1633	0.2200	84.17
3	0.1023	0.1079	0.1589	0.2223	83.83
4	0.1089	0.1139	0.1600	0.2205	85.50
5	0.1009	0.1126	0.1574	0.2190	83.67
6	0.1064	0.1148	0.1689	0.2117	85.17
Kadar rata-rata (%)					84.43

Contoh perhitungan kadar :

Data penimbangan aspartam = 0,1200 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 8,0 : $0,1026 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0175$

Fraksi pH 7,0 : $0,1145 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0195$

Fraksi pH 6,0 : $0,1527 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0259$

Fraksi pH 5,5 : $0,2248 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0382$

Total fraksi/total $x =$ konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,1011

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,1011 \times 100 \%}{0.1200} = 84,25 \%$

Lampiran 12 Perhitungan kadar perolehan kembali aspartam hasil elusi sampel minuman instant X 0,12 % yang dielusi dengan eluen dapar fosfat 1,0 M menggunakan resin penukar anion

No	Serapan				(% Rec.
	pH 8,0	pH 7,0	pH 6,0	pH 5,5	
1	0.1029	0.1018	0.1588	0.2439	86.00
2	0.0987	0.1024	0.1625	0.2156	82.00
3	0.1017	0.1033	0.1575	0.2240	83.08
4	0.1017	0.1026	0.1634	0.2210	83.42
5	0.0977	0.1128	0.1669	0.2225	85.00
6	0.1042	0.1110	0.1585	0.2199	84.08
Kadar rata-rata (%)					83.93

Contoh perhitungan kadar :

Data aspartam dalam label = 0,1200 gr

Persamaan garis kurva baku : $y = 5,8967 x - 0,0004645$

Fraksi pH 8,0 : $0,1029 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0175$

Fraksi pH 7,0 : $0,1018 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0173$

Fraksi pH 6,0 : $0,1588 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0270$

Fraksi pH 5,5 : $0,2439 = 5,8967 x - 0,0004645$
 $x = 0,0414$

Total fraksi/total x = konsentrasi dalam gr/100 ml = 0,1032

Hasil perolehan kembali (% recovery) = $\frac{0,1032 \times 100 \%}{0.1200} = 86,00 \%$

Lampiran 13 Uji t satu sampel untuk sampel aspartam dengan resin penukar kation

No.	Sampel/formula aspartam (%)				
	Baku 0,1	F 0,08	F 0,1	F 0,12	M.I. X 0,12
1	98.50	97.00	99.50	96.42	95.50
2	99.50	96.88	97.70	96.08	95.67
3	97.80	97.63	99.00	97.83	94.33
4	98.40	98.50	98.40	97.08	96.50
5	98.90	97.50	97.90	96.67	95.33
6	99.20	98.13	96.60	97.50	95.67
x	98.72	97.61	98.18	96.93	95.50
sd	0.6113	0.6293	1.0265	0.6645	0.7008
t hitung	5.13	9.30	4.34	11.32	15.73
t tabel	2.02	2.02	2.02	2.02	2.02

Perhitungan uji t satu sampel

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{sd/\sqrt{n}}$$

Baku 0,1 :

$$t = \frac{98,72 - 100}{0,6113/\sqrt{6}}$$

$$t = 5,13$$

F 0,08 :

$$t = \frac{97,61 - 100}{0,6293/\sqrt{6}}$$

$$t = 9,30$$

F 0,1 :

$$t = \frac{98,18 - 100}{1,0265/\sqrt{6}}$$

$$t = 4,34$$

F 0,12 :

$$t = \frac{96,93 - 100}{0,6645/\sqrt{6}}$$

$$t = 11,32$$

M.I. X 0,12 :

$$t = \frac{95,50 - 100}{0,7008/\sqrt{6}}$$

$$t = 15,73$$

Lampiran 14 Uji t satu sampel untuk sampel aspartam dengan resin penukar anion

No.	Sampel/formula aspartam (%)				
	Baku 0,1	F 0,08	F 0,1	F 0,12	M.I. X 0,12
1	85.60	85.53	86.90	84.25	86.00
2	86.70	87.13	85.60	84.17	82.00
3	85.20	84.88	84.30	83.83	83.08
4	86.50	84.88	86.00	85.50	83.42
5	87.10	84.63	86.20	83.67	85.00
6	85.80	85.38	84.10	85.17	84.08
x	86.15	85.53	85.52	84.43	83.93
sd	0.7287	0.9753	1.1053	0.7389	1.4255
t hitung	46.56	36.34	32.09	51.62	27.61
t tabel	2.02	2.02	2.02	2.02	2.02

Perhitungan uji t satu sampel

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{sd/\sqrt{n}}$$

Baku 0,1 :

$$t = \frac{86,15 - 100}{0,7287/\sqrt{6}}$$

$$t = 46,56$$

F 0,08 :

$$t = \frac{85,53 - 100}{0,9753/\sqrt{6}}$$

$$t = 36,34$$

F 0,1 :

$$t = \frac{85,52 - 100}{1,1053/\sqrt{6}}$$

$$t = 32,09$$

F 0,12 :

$$t = \frac{84,43 - 100}{0,7389/\sqrt{6}}$$

$$t = 51,62$$

M.I. X 0,12 :

$$t = \frac{83,93 - 100}{1,4255/\sqrt{6}}$$

$$t = 27,61$$

Lampiran 15 Uji F untuk baku aspartam 0,1 %

No.	Kation			Anion		
	x1	xil - x1	(xil - x1) ²	x2	xil - x2	(xil - x2) ²
1	98,50	0,22	0,0484	85,60	0,55	0,3025
2	99,50	0,78	0,6084	86,70	0,55	0,3025
3	97,80	0,92	0,8464	85,20	0,95	0,9025
4	98,40	0,32	0,1024	86,50	0,35	0,1225
5	98,90	0,18	0,0324	87,10	0,95	0,9025
6	99,20	0,48	0,2304	85,80	0,35	0,1225
xil (S1) ²	98,72		1,8684	86,15		2,6550
F hitung = 0,70 ; F tabel α : 0,05 = 5,05						

$$F = \frac{(S1)^2}{(S2)^2} = \frac{1,8684}{2,6550} = 0,70$$

Lampiran 16 Uji F untuk formula aspartam 0,08 %

No.	Kation			Anion		
	x1	xil - x1	(xil - x1)2	x2	xil - x2	(xil - x2)2
1	97,00	0,61	0,3721	86,25	0,72	0,5184
2	96,80	0,81	0,6561	87,13	1,60	2,5600
3	97,63	0,02	0,0004	84,88	0,65	0,4225
4	98,50	0,89	0,7921	84,88	0,65	0,4225
5	97,50	0,11	0,0121	84,63	0,90	0,8100
6	98,13	0,52	0,2704	85,39	0,14	0,0196
xil	97,61			85,53		
(S1)2			2,1032			4,7530
F hitung = 0,44 ; F tabel α : 0,05 = 5,05						

$$F = \frac{(S1)2}{(S2)2} = \frac{2,1032}{4,7530} = 0,44$$

Lampiran 17 Uji F untuk formula aspartam 0,1 %

No.	Kation			Anion		
	x1	xil - x1	(xil - x1)2	x2	xil - x2	(xil - x2)2
1	99,50	1,32	1,7424	86,90	1,38	1,9044
2	97,70	0,48	0,2304	85,60	0,08	0,0064
3	99,00	0,82	0,6724	84,30	1,22	1,4884
4	98,40	0,22	0,0484	86,00	0,48	0,2304
5	97,90	0,28	0,0784	86,20	0,68	0,4624
6	96,60	1,58	2,4964	84,10	1,42	2,0164
xil	98,18			85,52		
(S1)2			5,2684			6,1084
F hitung = 0,86 ; F tabel α . 0,05 = 5,05						

$$F = \frac{(S1)2}{(S2)2} = \frac{5,2684}{6,1084} = 0,86$$

Lampiran 18 Uji F untuk formula aspartam 0,12 %

No.	Kation			Anion		
	x1	xil - x1	(xil - x1)2	x2	xil - x2	(xil - x2)2
1	96,42	0,51	0,2601	84,25	0,18	0,0324
2	96,08	0,85	0,7225	84,17	0,26	0,0676
3	97,83	0,90	0,8100	93,83	0,60	0,3600
4	97,08	0,15	0,0225	85,50	1,07	1,1449
5	96,67	0,26	0,0676	83,67	0,76	0,5776
6	97,50	0,57	0,3249	85,17	0,74	0,5476
xil (S1)2	96,93		2,2076	84,43		2,7301
F hitung = 0,81 ; F tabel α : 0,05 = 5,05						

$$F = \frac{(S1)2}{(S2)2} = \frac{2,2076}{2,7301} = 0,81$$

Lampiran 19 Uji F untuk sampel minuman instant X 0,12 %

No.	Kation			Anion		
	x1	xil - x1	(xil - x1) ²	x2	xil - x2	(xil - x2) ²
1	95,50	0,00	0,0000	86,00	2,07	4,2849
2	95,67	0,17	0,0289	82,00	1,93	3,7249
3	94,33	1,17	1,3689	83,08	0,85	0,7225
4	96,50	1,00	1,0000	83,42	0,51	0,2601
5	95,33	0,17	0,0289	85,00	1,07	1,1449
6	95,67	0,17	0,0289	84,08	0,15	0,0225
xil (S1) ²	95,50		2,4556	83,93		10,1598
F hitung = 0,24 ; F tabel α :0,05 = 5,05						

$$F = \frac{(S1)^2}{(S2)^2} = \frac{2,4556}{10,1598} = 0,24$$

Lampiran 20 Rangkuman data hasil perolehan kembali Sampel Formula Aspartam dalam formula yang dielusi dengan eluen dapar sitrat 1,0 M menggunakan Resin Kation

No.	Sampel	Kons. hasil perhitungan (%)				Total Kons.(%)	(% Rec.
		pH 3,0	pH 4,0	pH 5,0	pH 5,5		
1	Formula - Aspartam 0,08 %	0,0141	0,0364	0,0182	0,0089	0,0776	97,00
2		0,0162	0,0361	0,0162	0,0091	0,0775	96,80
3		0,0153	0,0369	0,0180	0,0079	0,0781	97,63
4		0,0146	0,0385	0,0162	0,0095	0,0788	98,50
5		0,0143	0,0389	0,0155	0,0093	0,0780	97,50
6		0,0157	0,0363	0,0179	0,0086	0,0785	98,13
7	Formula - Aspartam 0,1 %	0,0189	0,0443	0,0310	0,0052	0,0995	99,50
8		0,0195	0,0423	0,0300	0,0059	0,0977	97,70
9		0,0198	0,0436	0,0301	0,0055	0,0990	99,00
10		0,0195	0,0423	0,0310	0,0056	0,0984	98,40
11		0,0187	0,0431	0,0303	0,0058	0,0979	97,90
12		0,0191	0,0423	0,0293	0,0059	0,0966	96,60
13	Formula - Aspartam 0,12 %	0,0227	0,0525	0,0304	0,0101	0,1157	96,42
14		0,0231	0,0497	0,0320	0,0105	0,1153	96,08
15		0,0243	0,0514	0,0308	0,0109	0,1174	97,83
16		0,0230	0,0501	0,0329	0,0105	0,1165	97,08
17		0,0241	0,0521	0,0302	0,0096	0,1160	96,67
18		0,0236	0,0509	0,0319	0,0106	0,1170	97,50
Kadar rata-rata							97,57
Standar deviasi							0,9170
Koefisien variasi (%)							0,9398

Lampiran 21 Rangkuman data hasil perolehan kembali Sampel Formula Aspartam dalam formula yang diekstraksi dengan eluen dapar fosfat 1,0 M menggunakan Resin Anion

No.	Sampel	Kons. hasil perhitungan (%)				Total Kons. (%)	(% Rec.
		pH 8,0	pH 7,0	pH 6,0	pH 5,5		
1	Formula - Aspartam 0,08 %	0,0102	0,0149	0,0197	0,0242	0,0690	86,25
2		0,0111	0,0146	0,0202	0,0238	0,0697	87,13
3		0,0100	0,0150	0,0187	0,0242	0,0679	84,88
4		0,0106	0,0146	0,0201	0,0226	0,0679	84,88
5		0,0104	0,0148	0,0185	0,0240	0,0677	84,63
6		0,0105	0,0145	0,0197	0,0236	0,0683	85,38
7	Formula - Aspartam 0,1 %	0,0144	0,0172	0,0266	0,0287	0,0869	86,90
8		0,0136	0,0174	0,0246	0,0300	0,0856	85,60
9		0,0134	0,0172	0,0226	0,0311	0,0843	84,30
10		0,0122	0,0176	0,0256	0,0306	0,0860	86,00
11		0,0127	0,0177	0,0265	0,0293	0,0862	86,20
12		0,0121	0,0175	0,0248	0,0297	0,0841	84,10
13	Formula - Aspartam 0,12 %	0,0175	0,0195	0,0259	0,0382	0,1011	84,25
14		0,0173	0,0185	0,0278	0,0374	0,1010	84,17
15		0,0174	0,0184	0,0270	0,0378	0,1006	83,83
16		0,0185	0,0194	0,0272	0,0375	0,1026	85,50
17		0,0172	0,0192	0,0268	0,0372	0,1004	83,67
18		0,0181	0,0195	0,0287	0,0359	0,1022	85,17
Kadar rata-rata							85,16
Standar deviasi							1,0387
Koefisien variasi (%)							1,2196

Lampiran 22. Statistik Uji t 2 sampel bebas

Kelompok	n	x	s
Baku Aspartam 0,1% dengan Resin Kation	6	98,72	0,6113
Baku Aspartam 0,1 % dengan resin Anion	6	86,15	0,7287

n = replikasi
x = kadar rata-rata
s = standar deviasi

Ho : kadar hasil perolehan kembali baku aspartam 0,1 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation tidak lebih besar dari pertukaran anion

Ha : kadar hasil perolehan kembali baku aspartam 0,1 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

$$Sp = \sqrt{\frac{(n1-1)(s1)^2 + (n2-1)(s2)^2}{n1 + n2 - 2}}$$

$$Sp = \sqrt{\frac{(6-1)(0,6113)^2 + (6-1)(0,7287)^2}{6 + 6 - 2}}$$

$$Sp = 0,6725$$

$$t = \frac{x1 - x2}{Sp\sqrt{1/n1 + 1/n2}}$$

$$t = \frac{98,72 - 86,16}{0,6725\sqrt{1/6 + 1/6}}$$

$$t = 32,37$$

t tabel pada $\alpha = 0,05$ dengan db = 6 + 6 - 2 = 10

t tabel = 1,81

t tabel > t hitung, jadi Ho ditolak atau Ha diterima

Kesimpulan : kadar hasil perolehan kembali baku aspartam 0,1 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

Lampiran 23 Statistik Uji t 2 sampel bebas

Kelompok	n	x	s	
Formula Aspartam 0,08% dengan Resin Kation	6	97,61	0,6293	n = replikasi
Formula Aspartam 0,08 % dengan resin Anion	6	85,53	0,9753	x = kadar rata-rata s = standar devias

Ho : kadar hasil perolehan kembali aspartam dalam formula 0,08 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation tidak lebih besar dari pertukaran anion

Ha : kadar hasil perolehan kembali aspartam dalam formula 0,08 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

$$Sp = \sqrt{\frac{(n_1-1)(s_1)^2 + (n_2-1)(s_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$Sp = \sqrt{\frac{(6-1)(0,6293)^2 + (6-1)(0,9753)^2}{6 + 6 - 2}}$$

$$Sp = 0,8207$$

$$t = \frac{x_1 - x_2}{Sp \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{97,61 - 85,53}{0,8207 \sqrt{1/6 + 1/6}}$$

$$t = 25,49$$

t tabel pada $\alpha = 0,05$ dengan db = $6 + 6 - 2 = 10$

t tabel $\alpha = 1,81$

t tabel > t hitung, jadi Ho ditolak atau Ha diterima

Kesimpulan : kadar hasil perolehan kembali aspartam dalam formula 0,08 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

Lampiran 24 Statistik Uji t 2 sampel bebas

Kelompok	n	x	s	
Formula Aspartam 0,1% dengan Resin Kation	6	98,18	1,0265	n = replikasi
Formula Aspartam 0,1 % dengan resin Anion	6	85,52	1,1053	x = kadar rata-rata s = standar deviasi

Ho : kadar hasil perolehan kembali aspartam dalam formula 0,1 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation tidak lebih besar dari pertukaran anion

Ha : kadar hasil perolehan kembali aspartam dalam formula 0,1 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(s_1)^2 + (n_2-1)(s_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(6-1)(1,0265)^2 + (6-1)(1,1053)^2}{6 + 6 - 2}}$$

$$S_p = 1,0666$$

$$t = \frac{x_1 - x_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{98,08 - 85,52}{1,0666 \sqrt{1/6 + 1/6}}$$

$$t = 20,55$$

t tabel pada $\alpha = 0,05$ dengan db = $6 + 6 - 2 = 10$
t tabel $\alpha = 1,81$

t tabel > t hitung, jadi Ho ditolak atau Ha diterima

Ha : kadar hasil perolehan kembali aspartam dalam formula 0,1 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

Lampiran 25 Statistik Uji t 2 sampel bebas

Kelompok	n	x	s	
Formula Aspartam 0,12% dengan Resin Kation	6	96,93	0,6645	n = replikasi
Formula Aspartam 0,12% dengan resin Anion	6	84,43	0,7389	x = kadar rata-rata s = standar deviasi

Ho : kadar hasil perolehan kembali aspartam dalam formula 0,12 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation tidak lebih besar dari pertukaran anion

Ha : kadar hasil perolehan kembali aspartam dalam formula 0,12 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(s_1)^2 + (n_2-1)(s_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(6-1)(0,6645)^2 + (6-1)(0,7389)^2}{6 + 6 - 2}}$$

$$S_p = 0,7389$$

$$t = \frac{x_1 - x_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{96,93 - 84,43}{0,7389 \sqrt{1/6 + 1/6}}$$

$$t = 30,81$$

t tabel pada $\alpha = 0,05$ dengan db = $6 + 6 - 2 = 10$

t tabel $\alpha = 1,81$

t tabel > t hitung, jadi Ho ditolak atau Ha diterima

Kesimpulan : kadar hasil perolehan kembali aspartam dalam formula 0,12 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

Lampiran 26. Statistik Uji t 2 sampel bebas

Kelompok	n	x	s
Minuman instant X 0,12% dengan Resin Kation	6	95,50	0,7008
Minuman instant X 0,12% dengan resin Anion	6	83,93	1,4255

n = replikasi
x = kadar rata-rata
s = standar deviasi

Ho : kadar hasil perolehan kembali minuman instant X 0,12 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation tidak lebih besar dari pertukaran anion

Ha : kadar hasil perolehan kembali minuman instant X 0,12 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1-1)(s_1)^2 + (n_2-1)(s_2)^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$S_p = \sqrt{\frac{(6-1)(0,7008)^2 + (6-1)(1,4255)^2}{6 + 6 - 2}}$$

$$S_p = 1,1232$$

$$t = \frac{x_1 - x_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$t = \frac{95,50 - 83,93}{1,1232 \sqrt{1/6 + 1/6}}$$

$$t = 17,84$$

t tabel pada $\alpha = 0,05$ dengan db = $6 + 6 - 2 = 10$

t tabel $\alpha = 1,81$

t tabel > t hitung, jadi Ho ditolak atau Ha diterima

Kesimpulan : kadar hasil perolehan kembali minuman instant X 0,12 % dari ekstraksi fase padat pertukaran kation lebih besar secara bermakna dari pertukaran anion

Lampiran 27

Tabel Korelasi r

Degrees of Freedom (DF)	5 %	1 %	Degrees of Freedom (DF)	5%	1%
1	.997	1.000	24	.388	.496
2	.950	.990	25	.381	.487
3	.878	.959	26	.374	.478
4	.811	.917	27	.367	.470
5	.754	.874	28	.361	.463
6	.707	.834	29	.355	.456
7	.666	.798	30	.349	.449
8	.632	.765	35	.325	.418
9	.602	.735	40	.304	.393
10	.576	.708	48	.288	.372
11	.553	.684	50	.273	.354
12	.532	.661	60	.250	.325
13	.514	.641	70	.232	.302
14	.497	.623	80	.217	.283
15	.482	.606	90	.205	.267
16	.468	.590	100	.195	.254
17	.456	.575	125	.174	.228
18	.444	.561	150	.159	.208
19	.433	.549	200	.138	.181
20	.423	.537	300	.113	.148
21	.413	.526	400	.098	.128
22	.404	.515	500	.088	.115
23	.396	.505	1000	.062	.081

Dikutib dari :

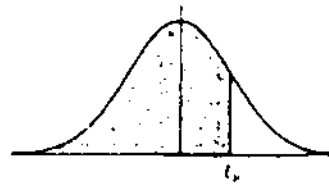
Ritschal, W.A., *Hand Book Basic Pharmacokinetika*, 3th Edition, 1986, Drug Intelligence Publication Inc. Hamets.

Lampiran 28

Tabel Distribusi t

DAFTAR G

Nilai Persentil
 Contoh Distribusi t
 $V = dk$
 (Bilangan Dalam Baris Daftar
 Menyatakan t_p)

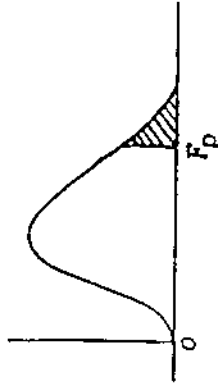


V	t _{0.995}	t _{0.99}	t _{0.975}	t _{0.95}	t _{0.90}	t _{0.80}	t _{0.75}	t _{0.70}	t _{0.60}	t _{0.50}
1	63.66	31.82	12.71	6.31	3.08	1.376	1.000	0.727	0.475	0.158
2	9.92	6.96	4.00	2.92	1.89	1.061	0.816	0.617	0.289	0.122
3	5.84	4.54	3.18	2.35	1.63	0.978	0.765	0.584	0.271	0.117
4	4.60	3.75	2.78	2.13	1.51	0.933	0.711	0.549	0.257	0.111
5	4.03	3.36	2.57	2.02	1.48	0.920	0.727	0.539	0.251	0.112
6	3.71	3.14	2.45	1.91	1.44	0.908	0.718	0.531	0.245	0.111
7	3.50	3.00	2.36	1.90	1.42	0.896	0.711	0.524	0.241	0.110
8	3.36	2.90	2.31	1.86	1.40	0.889	0.704	0.516	0.237	0.110
9	3.25	2.82	2.26	1.83	1.38	0.884	0.703	0.514	0.236	0.109
10	3.17	2.76	2.23	1.81	1.37	0.879	0.700	0.512	0.236	0.109
11	3.11	2.72	2.20	1.80	1.36	0.876	0.697	0.510	0.236	0.109
12	3.06	2.68	2.18	1.78	1.36	0.873	0.695	0.509	0.236	0.109
13	3.01	2.66	2.16	1.77	1.35	0.870	0.694	0.508	0.236	0.108
14	2.98	2.62	2.14	1.76	1.34	0.868	0.692	0.507	0.236	0.108
15	2.95	2.60	2.13	1.75	1.34	0.866	0.691	0.506	0.236	0.108
16	2.92	2.58	2.12	1.75	1.34	0.865	0.690	0.505	0.236	0.108
17	2.90	2.57	2.11	1.74	1.33	0.863	0.689	0.504	0.237	0.108
18	2.88	2.55	2.10	1.73	1.33	0.862	0.688	0.504	0.237	0.107
19	2.86	2.54	2.09	1.73	1.33	0.861	0.688	0.503	0.237	0.107
20	2.84	2.53	2.09	1.72	1.32	0.860	0.687	0.503	0.237	0.107
21	2.83	2.52	2.08	1.72	1.32	0.859	0.686	0.502	0.237	0.107
22	2.82	2.51	2.07	1.72	1.32	0.858	0.686	0.502	0.236	0.107
23	2.81	2.50	2.07	1.71	1.32	0.858	0.685	0.502	0.236	0.107
24	2.80	2.49	2.06	1.71	1.32	0.857	0.685	0.501	0.236	0.107
25	2.79	2.48	2.06	1.71	1.32	0.856	0.684	0.501	0.236	0.107
26	2.78	2.48	2.06	1.71	1.32	0.856	0.684	0.501	0.236	0.107
27	2.77	2.47	2.05	1.70	1.31	0.855	0.684	0.501	0.236	0.107
28	2.76	2.47	2.05	1.70	1.31	0.855	0.683	0.500	0.236	0.107
29	2.76	2.46	2.04	1.70	1.31	0.854	0.683	0.500	0.236	0.107
30	2.75	2.46	2.04	1.70	1.31	0.854	0.683	0.500	0.236	0.107
40	2.70	2.42	2.02	1.68	1.30	0.851	0.681	0.529	0.255	0.126
60	2.66	2.39	2.00	1.67	1.30	0.848	0.679	0.527	0.251	0.126
120	2.62	2.36	1.98	1.66	1.29	0.845	0.677	0.526	0.251	0.126
∞	2.58	2.33	1.96	1.645	1.28	0.842	0.674	0.521	0.253	0.126

Sumber : *Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research*, Fisher, R.A., dan Yates, F., Table (1), Oliver & Boyd Ltd, Edinburgh

Lampiran 29

Tabel Distribusi F



DAFTAR 1

Nilai Percentil Untuk Distribusi F

(Bilangan Dalam Badan Daftar

Menyatakan F ; Basis Atas Untuk

p = 0.05 dan Basis Bawah Untuk p = 0.01)

V ₂ = dk penyebut	V ₁ = dk pembilang																							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞
1	181	200	216	225	230	234	237	239	241	242	243	244	245	246	248	249	250	251	252	253	253	254	254	254
2	4052	4999	5403	5625	5784	5859	5928	5981	6022	6056	6082	6106	6122	6139	6208	6234	6258	6286	6302	6323	6334	6332	6361	6366
3	18,31	19,00	19,16	19,23	19,30	19,33	19,36	19,37	19,38	19,39	19,40	19,41	19,42	19,43	19,44	19,45	19,46	19,47	19,47	19,48	19,48	19,49	19,50	19,50
4	98,49	99,01	99,17	99,23	99,30	99,33	99,34	99,36	99,38	99,40	99,41	99,42	99,43	99,44	99,45	99,46	99,47	99,48	99,48	99,49	99,49	99,50	99,50	99,50
5	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,88	8,84	8,81	8,78	8,76	8,74	8,71	8,69	8,66	8,64	8,62	8,60	8,58	8,57	8,56	8,54	8,54	8,53
6	34,12	30,81	29,46	28,71	28,21	27,91	27,67	27,49	27,34	27,23	27,13	27,05	26,92	26,83	26,69	26,60	26,50	26,41	26,30	26,27	26,23	26,18	26,14	26,12
7	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,93	5,91	5,87	5,84	5,80	5,77	5,74	5,71	5,70	5,68	5,66	5,65	5,64	5,63
8	21,20	18,00	16,69	15,98	15,52	15,21	14,98	14,80	14,66	14,54	14,45	14,37	14,24	14,15	14,02	13,83	13,74	13,69	13,61	13,57	13,52	13,48	13,46	13,46
9	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,78	4,74	4,70	4,68	4,64	4,60	4,56	4,53	4,50	4,46	4,44	4,42	4,40	4,38	4,37	4,36
10	16,26	13,27	12,06	11,39	10,97	10,67	10,45	10,27	10,15	10,05	9,96	9,89	9,77	9,68	9,55	9,47	9,38	9,29	9,24	9,11	9,13	9,07	9,04	9,02
11	5,99	5,14	4,78	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,03	4,00	3,96	3,92	3,87	3,84	3,81	3,77	3,75	3,72	3,71	3,69	3,68	3,67
12	13,74	10,92	9,78	9,15	8,75	8,47	8,26	8,10	7,98	7,87	7,79	7,72	7,60	7,52	7,39	7,31	7,23	7,14	7,09	7,02	6,99	6,94	6,90	6,88
13	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,63	3,60	3,57	3,52	3,49	3,44	3,41	3,38	3,34	3,32	3,29	3,28	3,25	3,24	3,23
14	12,25	9,55	8,45	7,85	7,46	7,19	7,00	6,81	6,71	6,62	6,54	6,47	6,35	6,27	6,15	6,07	5,98	5,90	5,85	5,78	5,75	5,70	5,67	5,65
15	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,41	3,39	3,34	3,31	3,28	3,23	3,20	3,15	3,12	3,08	3,05	3,02	3,00	2,98	2,96	2,94	2,93
16	11,26	8,65	7,59	7,01	6,63	6,37	6,19	6,03	5,91	5,82	5,74	5,66	5,56	5,48	5,36	5,28	5,20	5,11	5,06	5,00	4,96	4,91	4,88	4,86
17	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,13	3,10	3,07	3,02	2,98	2,93	2,90	2,86	2,82	2,80	2,77	2,76	2,73	2,72	2,71
18	10,36	8,02	6,99	6,42	6,06	5,80	5,62	5,47	5,34	5,26	5,18	5,11	5,00	4,92	4,80	4,73	4,64	4,56	4,51	4,45	4,41	4,36	4,33	4,31

Sertifikat analisis Aspartam

EA/98/0001

CERTIFICATE OF ANALYSIS

ITEM: ASPARTAME

LOT NO. : T712150

Date analyzed: DEC.22.1997

TESTS	RESULTS
Description	white, crystalline powder, sweet, odorless
Identification	conforms to standard
Assay (perchloric acid method, dry basis)	99.6 %
Specific rotation (4% in 15N HCOOH, 20°C, dry basis)	15.5
Transmittance (1% in 0.2N HCL)	colorless, transparent
pH	5.22
Heavy metals (as Pb)	NMT 10 $\mu\text{g/g}$
Arsenic (as As ₂ O ₃)	NMT 3 $\mu\text{g/g}$
5-Benzyl-3,6-dioxo-2-piperazine acetic acid (liquid chromatography)	NMT 1.5 %
Other optical isomers (Amino acid analyzer)	NMT 0.04 %
Loss on drying (105°C, 4 hours)	2.76 %
Residue on ignition	NMT 0.20 %

Date of issue: FEB.10.1998

A. Suzuki

ATUSI SUZUKI
Q. C. INSPECTOR
TOKAI FACTORY

119

TESIS

ANALISIS ASPARTAM DALAM ... AINOMOTO CO., INC. SUSAN GRACIA ARPAN

10 MAY 1998

APCPTD(807