

**ANALISIS ASPARTAM DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBLE
SERTA OPTIMASI KONSENTRASI NINHIDRIN DAN APLIKASINYA UNTUK
PENENTUAN KANDUNGAN DALAM MINUMAN ENERGI**

Zimon Pereiz^{1*}, Chuchita², Meiyanti Ratna Kumalasari³, Zahrotun Nafisah⁴

Universitas Palangka Raya, Indonesia

Email: zimonpereiz@mipa.upr.ac.id

*Correspondence

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
Diterima : 27-04-2023	Optimasi konsentrasi ninhidrin dan validasi metode analisis aspartam dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Visible. Penelitian ini diaplikasikan untuk menentukan kandungan aspartam dalam produk minuman energi. Aspek-aspek yang dilakukan optimalisasi meliputi panjang gelombang dan konsentrasi ninhidrin, serta dilakukan validasi metode analisis yang terdiri dari penentuan sensitivitas, linearitas, presisi, limit kuantifikasi, dan limit deteksi. Penelitian ini menghasilkan data bahwa konsentrasi ninhidrin optimum sebesar 0,084 M untuk 2 mL sebanding dengan 0,168 mmol untuk setiap mol aspartam. Hubungan yang linear antara absorbansi dengan konsentrasi berada pada rentang 0 – 19 mM dengan nilai koefisien regresi 0,997. Sensitivitas serta presisi yang dihasilkan cukup tinggi, dengan limit kuantifikasi sebesar $6,10 \times 10^{-3}$ mol/L dan limit deteksi sebesar $1,83 \times 10^{-3}$ mol/L. Kandungan aspartam yang dianalisis dalam minuman energi dengan metode yang telah dioptimasi dan divalidasi memperlihatkan kandungan untuk sampel cair sebesar 11,69 mg/mL sampel dan untuk sampel serbuk sebesar 618,05 mg/g sampel.
Direvisi : 29-04-2023	
Disetujui : 30-04-2023	
Kata kunci: aspartam; ninhidrin; spektrofotometri; minuman energi.	ABSTRACT <i>Optimization of ninhydrin concentrations and validation of the aspartame analysis method were carried out using the UV-Visible spectrophotometry method. This research was applied to determine the aspartame content in energy drink products. The aspects that were optimized included wavelength and ninhydrin concentration, as well as validation of the analytical method which consisted of determining sensitivity, linearity, precision, limit of quantification, and limit of detection. This study yielded data that the optimum ninhydrin concentration of 0.084 M for 2 mL is equivalent to 0.168 mmol for each mole of aspartame. The linear relationship between absorbance and concentration is in the range of 0 – 19 mM with a regression coefficient of 0.997. The resulting sensitivity and precision are quite high, with a quantification limit of 6.10×10^{-3} mol/L and a detection limit of 1.83×10^{-3} mol/L. The content of aspartame analyzed in energy drinks using the optimized and validated method showed that the content for liquid samples was 11.69 mg/mL sample and for powder samples was 618.05 mg/g sample.</i>
Keywords: aspartame; ninhydrin; spectrophotometric; energy drinks.	



Attribution-ShareAlike 4.0 International

Pendahuluan

Minuman energi dikonsumsi masyarakat semakin meningkat sejak diluncurkannya produk minuman Red Bull pada tahun 1997 (Kodrat, 2021). Sebanyak lebih dari 500 merk minuman energi diperkenalkan diseluruh dunia pada tahun 2006

sampai saat ini. Peningkatan konsumsi minuman energi sebesar 14% pada tahun 2011 yang setara dengan 4,8 juta Liter. Selama 5 tahun terakhir, pertumbuhan rata-rata mencapai 10% pertahun (Briawan & Aries, 2011).

Minuman energi berfungsi untuk meningkatkan energi karena mengandung berbagai zat stimultan seperti kafein, ginseng, vitamin B, ekstrak herbal termasuk guarana, gliko biloba, dan asam amino seperti taurin. Kafein yang terkandung dalam minuman energi juga menjadi pemicu terjadinya efek peningkatan energi (PURBA, 2018).

Selain mengandung zat aditif untuk meningkatkan energi, sering kali pemanis buatan Aspartam ditambahkan ke dalam minuman energi (Mayasari, Af'idah, & Manasikana, 2021). Pemanis buatan tersebut ditambahkan sebagai pemanis tunggal atau kombinasi dengan pemanis buatan lain seperti siklamat, asesulfam dan lain sebagainya. Pemanis buatan aspartam ditambahkan dikarenakan aspartam memberikan rasa manis sampai 200 kali lebih manis apabila dibandingkan dengan sukrosa (gula) (Praja, 2015).

Lebih dari 6.000 produk makanan dan minuman memiliki kandungan aspartame. Sampai saat ini lebih dari 200 juta orang di seluruh dunia telah mengkonsumsi aspartame. Pada tahun 2004, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia mengeluarkan Peraturan Teknis Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pemanis Buatan dalam Produk Pangan, didalamnya menginformasikan beberapa kategori minuman non alkohol yang diijinkan menggunakan pemanis buatan seperti Sakarin, Aspartam, Asesulfam-K, Sukralosa, Siklamat, Alitam, dan Neotam dengan jumlah yang dibatasi (Cahyadi, 2023).

Batas aman mengkonsumsi aspartam menurut WHO adalah 40 mg/kg berat badan. Kandungan aspartam di dalam produk makanan atau minuman yang beredar di pasaran yaitu 20-38 mg/kemasan dan ini dimungkinkan berbahaya apabila dikonsumsi setiap harinya (Erni Sumartini, 2015).

Dalam jumlah yang besar dan intensitas yang tinggi, aspartam yang dikonsumsi dapat memberikan efek negatif terhadap tubuh. Aspartam akan termetabolisme dalam tubuh makhluk hidup menjadi fenilalanin, asam aspartat, dan metanol (La Kariadin, Yuniarty, & Fauzi, 2020). Senyawa-senyawa tersebut dapat memicu gangguan pada sistem saraf seperti gejala vertigo, depresi, kaburnya penglihatan, bahkan hilangnya memori. Beberapa laporan juga menyebutkan, mengkonsumsi aspartam dapat menyebabkan gangguan pada syaraf seperti sakit kepala, insomnia dan kejang.

Pada minuman energi, informasi mengenai kandungan pemanis buatan Aspartam tertera secara tidak lengkap (LO, 2023). Meskipun penggunaan pemanis buatan Aspartam diijinkan, namun dalam hal ini perlu untuk dimonitor. Penentuan kandungan aspartam penting untuk dilakukan, karena bahaya yang ditimbulkan bagi kesehatan ketika mengkonsumsi aspartam berlebihan.

Berbagai macam metode telah dan masih dikembangkan untuk penentuan kandungan aspartam seperti dalam obat-obatan, minuman, coklat, permen, produk kacang kedelai, makanan pencuci mulut, pemanis, minuman ringan, minuman berkarbonasi dan minuman susu fermentasi. Analisis aspartam dalam minuman ringan telah dilakukan menggunakan Spektrofotometri UV, kromatografi cair, dan

elektroforesis kapiler, di dalam minuman berkarbonasi menggunakan Electrospray Ionization-Mass Spectrometry, pemanis kemasan menggunakan High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) dengan prakolom derivatisasi 2,4-dinitrobenzen.

Metode Spektrofotometri UV-Vis digunakan karena memiliki berbagai kelebihan-kelebihan dibandingkan dengan metode yang lainnya. Kelebihan dari metode tersebut antara lain yaitu memiliki sensitivitas yang baik, relatif murah, dan menggunakan instrumen yang sederhana (Irawan, 2006). Sedangkan untuk metode yang lainnya seperti HPLC, meskipun memiliki sensitivitas yang baik metode ini memerlukan biaya yang cukup mahal dan memiliki prosedur derivatisasi yang panjang dan rumit.

Keberhasilan analisis aspartam dengan menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis dipengaruhi oleh konsentrasi ninhidrin, pH larutan, waktu pemanasan, dan waktu kestabilan larutan hasil. Didasarkan fakta tersebut, maka perlu dilakukan uji optimasi dengan mengacu pada validasi metode. Penelitian ini sendiri pada prinsipnya merupakan reaksi antara aspartam dengan reagen ninhidrin yang akan menghasilkan senyawa berwarna ungu, dimana hasil akan menunjukkan dua panjang gelombang maksimum 406 dan 557 nm (Thohir, 2015).

Aspartam pertama kali ditemukan oleh James Schultze pada tahun 1965, ketika mensintesis obat-obat untuk bisul dan borok. Penggunaan aspartam telah diizinkan di berbagai industri makanan dan minuman sejak tahun 1981. Aspartam atau L-aspartil-L-alanin-metilester, dengan rumus molekul $C_{14}H_{16}N_2O_5$, merupakan senyawa yang tidak berbau, berbentuk kristal dan berwarna putih. Aspartam mempunyai kelarutan dalam air 1,0% pada $25^{\circ}C$ dan sukar larut dalam alkohol, pada pH yang lebih rendah kelarutan aspartam meningkat, memiliki pKa 3,0 dan 7,0, dan $\epsilon = 5,2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$ (195 nm) (air).

Identifikasi kandungan aspartam dalam produk makanan dan minuman yang beredar di pasaran dapat dilakukan dengan cara analisis kimia. Salah satu metode analisis yang telah digunakan yaitu Spektrofotometri UV-Visible. Dalam metode ini, digunakan larutan ninhidrin sebagai pereaksi yang menghasilkan senyawa berwarna ungu yang disebut reaksi kolorimetri (Sulfiana, Fauzi, & Orno, 2022).

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah diperolehnya metode analisis aspartam dengan keakuratan yang sangat baik serta suatu konsep penentuan kandungan aspartam yang aman, efisien dan ekonomis. Bagi ilmu pengetahuan, penelitian ini dapat dijadikan sebagai konsep baru dalam melakukan analisis pemanis buatan aspartam dalam produk makanan dan minuman yang baik melalui cara yang ekonomis. Metode analisis aspartam ini diharapkan dapat digunakan dalam pengujian standar mutu bahan makanan dan minuman.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas laboratorium, timbangan analitik merk (Mettler AE 200), pH-meter merk (HM-5B

TOA), Spektrofotometer UV-Visible merk GBC Cintra seri 2020, penangas air, kompor pemanas, yang semuanya tersedia di Jurusan Kimia FMIPA UGM.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: aspartam Pro Analisis (p.a) merk Sigma Aldrich, aspartam teknis, ninhidrin Pro Analisis (p.a) merk (E-merck), etanol teknis (96%), asam asetat glasial, garam natrium asetat, dan akuades.

3. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan larutan standar

Larutan standar aspartam 0,034 M dibuat dengan cara melarutkan 0,5 gram aspartam dalam 20 mL akuades, kemudian ditambahkan etanol 96% hingga volume 50 mL. Larutan aspartam tersebut dikocok hingga homogen. Dari larutan tersebut dibuat seri larutan standar aspartam yaitu 0,013; 0,015; 0,017; dan 0,019 M melalui beberapa tahap pengenceran untuk pembuatan kurva kalibrasi standar aspartam.

b. Optimasi konsentrasi ninhidrin

Larutan aspartam 0,023 M dibuat dengan cara melarutkan 0,07 gram aspartam dalam 4 mL akuades, kemudian ditambahkan etanol 96% hingga volume 10 mL. Larutan aspartam tersebut dikocok hingga homogen. Dari larutan tersebut diambil masing-masing 1 mL ke dalam 4 labu berbeda yang berukuran 10 mL, kemudian dilakukan penambahan larutan ninhidrin dengan variasi volume yaitu 0,5; 1; 2 dan 3 mL. Pereaksi ninhidrin 0,084 M dibuat dengan melarutkan 0,375 gram ninhidrin dalam 5 mL larutan asam asetat glasial, kemudian ditambahkan etanol 95% hingga volume 25 mL. Larutan ninhidrin tersebut dikocok sampai homogen. Larutan blangko dibuat dengan cara mereaksikan sebanyak 2 mL larutan ninhidrin dan 1 mL larutan buffer pH 3,5 ke dalam labu 10 mL. Kemudian, kelima larutan tersebut dipanaskan dalam water bath selama 5 menit. Setelah pemanasan selama 5 menit, ditambahkan etanol 96% hingga volume 10 mL. Selanjutnya, larutan tersebut didiamkan selama 330 menit dan dilanjutkan dengan penentuan absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 570 nm.

c. Penentuan kurva standar

Larutan standar aspartam dengan konsentrasi 0,013; 0,015; 0,017; dan 0,019 M diambil masing-masing 1 mL dan dimasukkan ke dalam labu 10 mL, kemudian ditambahkan dengan 1 mL buffer asetat pH 5 dan direaksikan dengan 2 mL ninhidrin. Selanjutnya, larutan tersebut dipanaskan dalam water bath selama 5 menit. Setelah pemanasan selama 5 menit, ditambahkan etanol 96% pada larutan tersebut hingga volume 10 mL. Larutan tersebut didiamkan selama 330 menit dan dilanjutkan dengan penentuan absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 570 nm.

d. Penentuan kandungan aspartam dalam sampel minuman energi

Dalam penentuan kandungan aspartam digunakan sampel minuman energi padat dan cair. Untuk analisis sampel padat dilakukan dengan mereaksikan 1 gram sampel serbuk yang dilarutkan dalam 4 mL akuades, kemudian ditambahkan etanol 96% hingga volume 10 mL. Dari larutan tersebut diambil 1 mL untuk ditambahkan dengan 1 mL buffer asetat pH 5 dan direaksikan dengan 2 mL ninhidrin. Selanjutnya, larutan

tersebut dipanaskan dalam water bath selama 5 menit. Setelah pemanasan selama 5 menit, ditambahkan etanol 96% hingga volume 10 mL. Larutan tersebut didiamkan selama 330 menit dan dilanjutkan dengan penentuan absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 570 nm.

Untuk analisis sampel cair dilakukan dengan mereaksikan sebanyak 1 mL sampel dengan 4 mL akuades, kemudian ditambahkan etanol 96% hingga volume 10 mL. Dari larutan tersebut diambil 1 mL untuk ditambahkan dengan 1 mL buffer asetat pH 5 dan direaksikan dengan 2 mL ninhidrin. Selanjutnya, larutan tersebut dipanaskan dalam water bath selama 5 menit. Setelah pemanasan selama 5 menit, ditambahkan etanol 96% hingga volume 10 mL. Larutan tersebut didiamkan selama 330 menit dan dilanjutkan dengan penentuan absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 570 nm.

Untuk mengetahui konsentrasi aspartam dalam sampel, digunakan metode kurva standar dimana terdapat hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi aspartam standar. Selanjutnya, absorbansi sampel yang terukur diinterpolasikan ke kurva standar menggunakan program regresi linear.

Hasil dan Pembahasan

1. Analisis Aspartam dengan Ninhidrin dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible

Analisis aspartam dilakukan dengan cara mereaksikan aspartam yang dilarutkan dalam campuran etanol dan air, dengan ninhidrin pada pH 5, kemudian dipanaskan pada suhu sekitar 85 °C selama 5 menit. Campuran tersebut didiamkan selama 5,5 jam sehingga terbentuk senyawa kompleks berwarna ungu.

Gambar 1
Larutan berwarna hasil reaksi aspartam dan ninhidrin

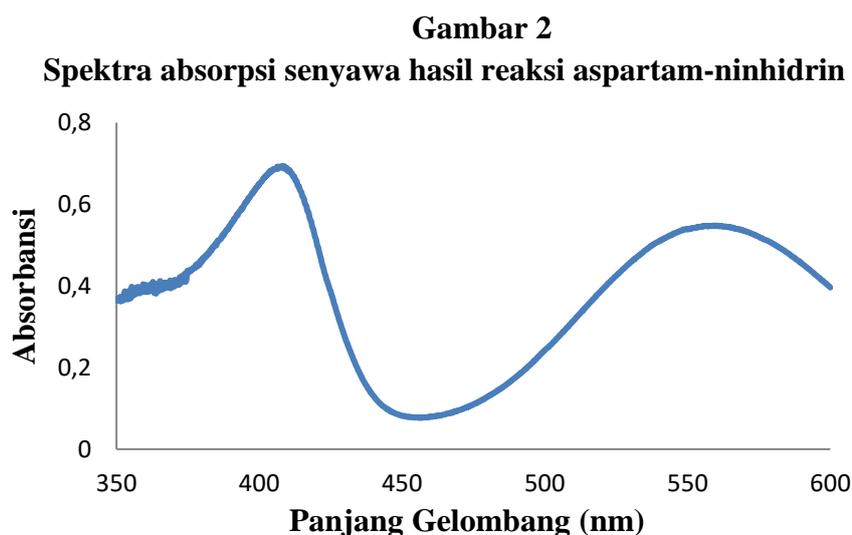


Senyawa kompleks yang terbentuk diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang dari 300 sampai 600 nm. Pada penentuan ini dilakukan pengulangan pengukuran sebanyak tiga kali. Dalam proses

pelarutan aspartam digunakan etanol. Hal ini dimaksudkan untuk meningkatkan kelarutan aspartam dalam air, karena aspartam hanya larut sebagian dalam air. Pengompleksan dilakukan pada pH 5, karena aspartam stabil pada pH 4-5. Pemanasan dimaksudkan untuk mempercepat reaksi antara aspartam dengan ninhidrin sehingga terbentuk kompleks berwarna ungu. Pemanasan tidak dilakukan secara langsung melainkan menggunakan penangas air karena aspartam mudah terurai pada suhu tinggi. Pemanasan dilakukan selama 5 menit karena jika terlalu lama senyawa kompleks yang terbentuk dapat mengalami kerusakan. Senyawa kompleks yang terbentuk kemudian dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel. Dalam kajian ini telah dilakukan optimasi panjang gelombang serapan maksimum, konsentrasi ninhidrin, dan penentuan kandungan pada minuman energi.

2. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum

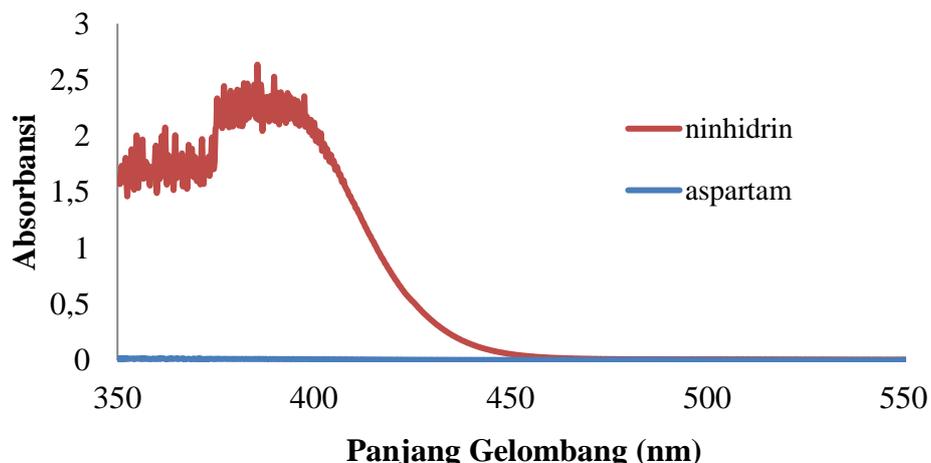
Dalam penentuan panjang gelombang serapan maksimum diukur absorbansi pada berbagai panjang gelombang, sehingga diperoleh absorbansi tertinggi, yang merupakan panjang gelombang yang paling optimal. Untuk itu, telah dilakukan pengukuran absorbansi pada berbagai panjang gelombang untuk mendeteksi panjang gelombang maksimum dan hasil pengukuran tersebut disajikan dalam Gambar 2.



Dari Gambar 5.2 dapat diketahui bahwa larutan dari senyawa hasil reaksi aspartam dengan ninhidrin memberikan puncak serapan pada 2 panjang gelombang yaitu 406 nm dan 570 nm. Absorbansi warna ungu secara umum muncul di daerah panjang gelombang 500-600 nm (Meyer, 1957). Jadi, serapan di daerah 406 nm bukan merupakan serapan dari senyawa kompleks aspartam dengan ninhidrin yang berwarna ungu, melainkan berasal dari aspartam atau ninhidrin yang ada di dalam larutan. Untuk membuktikan hal tersebut, telah dilakukan pengukuran absorbansi terhadap larutan aspartam dan ninhidrin pada panjang gelombang 350-600 nm dan hasil pengukuran tersebut disajikan dalam Gambar 3.

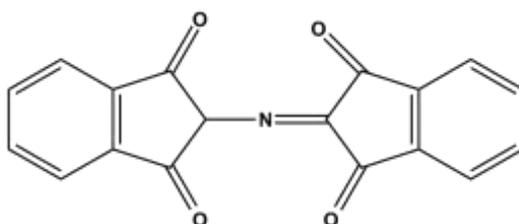
Gambar 3

Spektra absorbansi aspartam dan ninhidrin



Gambar 3 menunjukkan bahwa larutan ninhidrin memberikan absorbansi yang maksimum pada panjang gelombang 406 nm, sedangkan aspartam tidak memberikan absorbansi pada panjang gelombang 350-600 nm. Jadi, dapat disimpulkan bahwa serapan pada panjang gelombang 406 nm adalah serapan dari senyawa ninhidrin. Dengan demikian, puncak serapan yang muncul pada panjang gelombang 570 nm merupakan serapan dari senyawa hasil reaksi antara aspartam dengan ninhidrin. Serapan pada panjang gelombang 570 nm menggambarkan terjadinya perpindahan elektron $n \rightarrow \pi^*$ akibat adanya gugus $C=O$ dan $-N=$ (Pecsock, 1968). Kedua gugus tersebut merupakan gugus fungsi yang ada di dalam senyawa hasil aspartam-ninhidrin, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.

Gambar 4
Senyawa hasil reaksi aspartam-ninhidrin

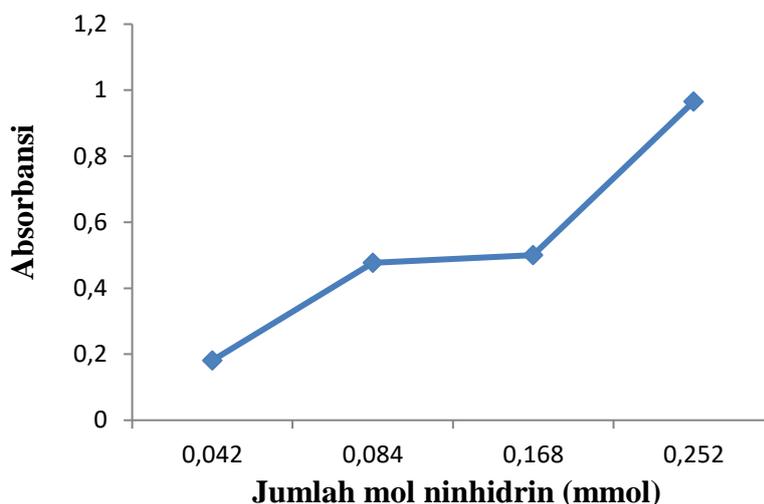


3. Optimasi jumlah mol ninhidrin

Pada penelitian ini telah dilakukan kajian pengaruh jumlah mol ninhidrin terhadap pembentukan senyawa kompleks aspartam dengan ninhidrin. Aspartam 0,023 mol/L dalam larutan direaksikan dengan ninhidrin 0,084 mol/L yang volumenya bervariasi yaitu 0,5; 1; 2; 3 mL. Setiap variasi volume tersebut memberikan jumlah mol ninhidrin sebesar 0,042; 0,084; 0,168; 0,252 mmol. Hasil pengukuran absorbansi senyawa

kompleks dari hasil reaksi aspartam dengan ninhidrin dengan jumlah mol yang bervariasi ditampilkan pada gambar 5.

Gambar 5
Pengaruh jumlah mol ninhidrin terhadap absorbansi larutan aspartam-ninhidrin

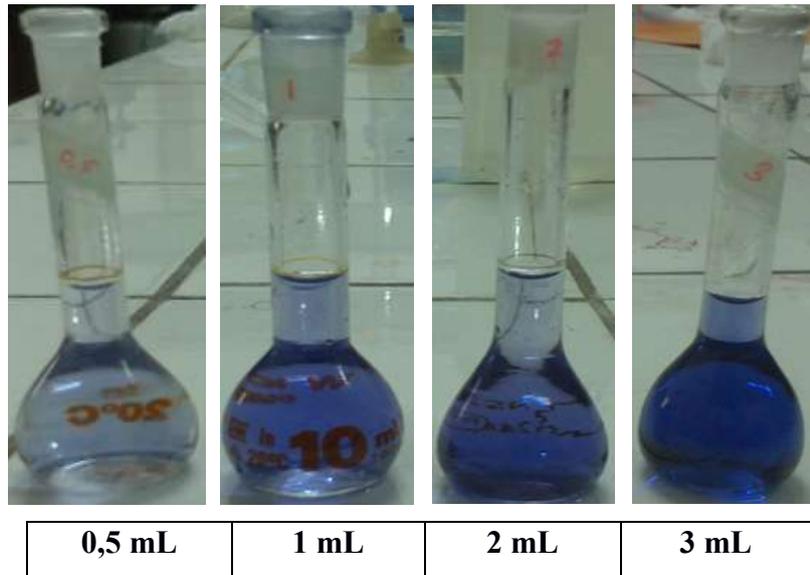


Gambar 5.5 memperlihatkan adanya kenaikan absorbansi seiring bertambahnya jumlah mol ninhidrin dalam larutan, kemudian terlihat absorbansi tetap. Namun dengan jumlah mol ninhidrin yang lebih besar terjadi kenaikan absorbansi. Pada penggunaan ninhidrin dengan konsentrasi 0,042 mmol dihasilkan absorbansi yang relatif rendah, yang menunjukkan jumlah kompleks yang terbentuk masih sedikit. Karena jumlah mol ninhidrin ini masih lebih sedikit daripada yang diperlukan oleh aspartam. Dengan jumlah mol ninhidrin yang lebih besar yaitu 0,084 - 0,168 mmol, absorbansi meningkat tetapi relatif tetap. Hal ini menunjukkan bahwa aspartam telah habis bereaksi dengan ninhidrin. Pada jumlah mol yang lebih besar, tidak terjadi pembentukan senyawa kompleks aspartam dengan ninhidrin lagi. Namun penambahan ninhidrin ini memberikan peningkatan absorbansi. Peningkatan absorbansi tersebut bukan dari senyawa kompleks namun dari reagen ninhidrin sisa yang juga berwarna ungu, sehingga menaikkan nilai absorbansi.

Hasil reaksi antara aspartam dengan ninhidrin juga dapat dilihat berdasarkan perubahan intensitas warna ungu dalam larutan yang ditunjukkan oleh Gambar 5.6. Pada Gambar 6 terlihat terjadinya kenaikan intensitas warna ungu dengan penambahan volume ninhidrin dari 0,5 mL sampai pada volume 3 mL. Pemekatan warna larutan tersebut menunjukkan semakin banyaknya senyawa kompleks yang terbentuk di dalam larutan.

Gambar 6

Perubahan intensitas warna larutan dalam volume ninhidrin yang bervariasi

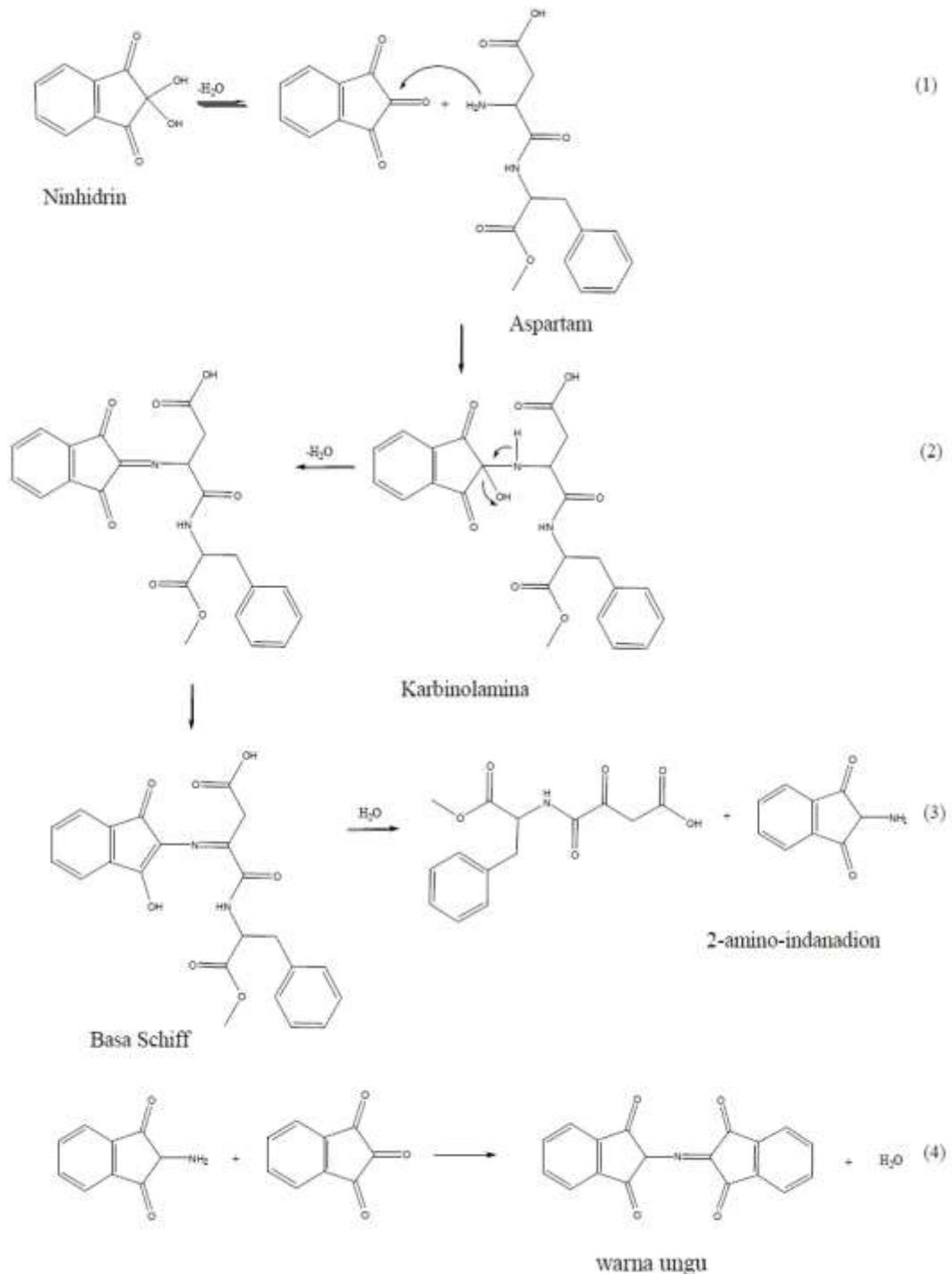


Berdasarkan ulasan yang telah dikemukakan, dapat diketahui bahwa reaksi kolorimetri antara aspartam dengan ninhidrin berlangsung efektif ketika menggunakan ninhidrin dengan jumlah mol 0,168 mmol dan volume sebesar 2 mL. Perbandingan mol ninhidrin dengan aspartam yaitu 2:1, sesuai dengan reaksi pada Gambar 7.

Reaksi pembentukan senyawa kompleks antara aspartam dengan ninhidrin ditunjukkan pada Gambar 7.

Gambar 7
Reaksi aspartam dengan ninhidrin

Analisis Aspartam dengan Metode Spektrofotometri Uv-Visible serta Optimasi Konsentrasi Ninhidrin dan Aplikasinya untuk Penentuan Kandungan dalam Minuman Energi



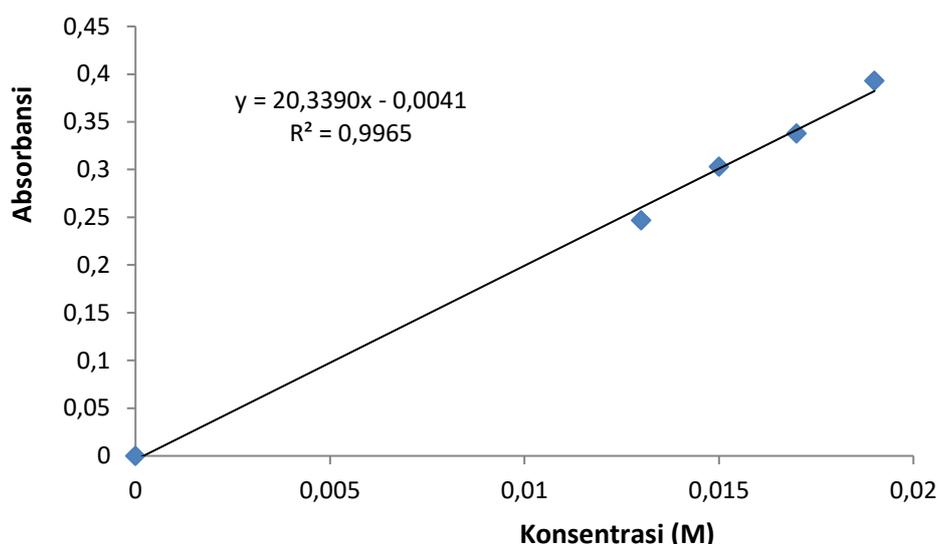
Gambar 7 menunjukkan bahwa pada reaksi (1), ninhidrin berikatan dengan aspartam disertai dengan pelepasan H₂O untuk membentuk senyawa intermediet karbinolamina. Selanjutnya terjadi pelapasan molekul H₂O pada senyawa karbinolamina (2) dan menghasilkan basa Schiff. Reaksi berlanjut hingga menghasilkan

senyawa 2-amino-indanadion oleh kehadiran H₂O. Senyawa 2-amino-indanadion yang terbentuk bereaksi dengan ninhidrin sehingga menghasilkan senyawa kompleks berwarna ungu.

4. Validasi Metode Analisis

Validasi terhadap metode juga telah dilakukan pada penelitian analisis aspartam dengan metode spektrofotometri UV-Visibel serta menggunakan pereaksi ninhidrin. Validasi metode ini dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa prosedur analisis memberikan hasil analisis yang dapat diterima, sehingga prosedur analisis ini dapat diaplikasikan dan memberikan hasil yang akurat. Parameter yang divalidasi antara lain: sensitivitas, linearitas, presisi, limit kuantifikasi (LOQ) dan limit deteksi (LOD). Parameter analisis diperoleh dari hasil perhitungan secara statistik menggunakan Ms.Excel dari data kurva larutan standar yang ditunjukkan pada Gambar 8 dan data hasil perhitungan disajikan dalam Tabel 1.

Gambar 8
Kurva kalibrasi larutan standar aspartam



Tabel 1
Data hasil analisis aspartam-ninhidrin

Persamaan garis kurva standar	$y = 20,3390x - 0,0041$
Slope (b)	20,339
Intersep	0,0041
R ²	0,9965
Koefisien korelasi ($\sqrt{R^2}$)	0,9982
Standar deviasi regresi (Sr)	0,0104
Standar deviasi slope (Sb)	0,6942
Banyaknya data (n)	5
Banyaknya pengulangan (m)	3

5. Sensitivitas

Sensitivitas metode analisis dapat ditunjukkan dengan dua cara, yaitu sensitivitas kalibrasi dan sensitivitas analitik. Sensitivitas kalibrasi ($SENS_{cal}$) memperlihatkan adanya hubungan antara sinyal yang dimunculkan instrumen dengan besarnya konsentrasi pada analit. Sensitivitas analisis ($SENS_{anal}$) memperlihatkan besarnya konsentrasi terendah yang dapat membedakan metode analisis yang satu dengan metode analisis lainnya. Nilai sensitivitas dapat dinyatakan dengan.

$$SENS_{cal} = b \frac{\text{unit absorbansi}}{\text{mmol/L}}$$
$$SENS_{anal} = \frac{Sr}{b}$$

b merupakan slope dan Sr merupakan standar deviasi regresi. Berdasarkan data dan hasil perhitungan, diperoleh sensitivitas kalibrasi sebesar 20,34 (unit absorbansi)/(mmol/L). Hal ini menunjukkan bahwa setiap kenaikan 1 mmol/L konsentrasi aspartam dapat memberikan kenaikan sinyal absorbansi sebesar 20,34 unit.

Hasil perhitungan sensitivitas analisis memberikan nilai sebesar 0,511 mmol/L, yang menunjukkan bahwa metode analisis dapat memberikan perbedaan pada perubahan konsentrasi aspartam sebesar 0,511 mmol/L.

6. Presisi

Presisi mengukur ketidakpastian dari suatu hasil analisis. Presisi menunjukkan persebaran data dari hasil analisis ketika dilakukan pengulangan dalam pengukuran. Metode yang digunakan dalam analisis memiliki presisi yang baik apabila semakin kecil persebaran data yang dihasilkan. Uji presisi dilakukan dengan tujuan untuk melihat sejauh mana kedekatan yang terjadi antara hasil uji secara berulang. Metode pengulangan dilakukan dalam tahap pengujian, sehingga dapat diperoleh hasil yang tepat serta memberikan respon baik terhadap analit yang terdeteksi (Miller, 2010). Nilai presisi digambarkan dengan simbol S_c . Nilai S_c diperoleh dari data kalibrasi.

$$S_c = \sqrt{\left(\frac{sr}{b}\right)^2 \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{m}\right) + \left(\frac{sb}{b}\right)^2 (C - \bar{C})}$$

n adalah jumlah data, m jumlah replikasi, C konsentrasi aspartam, C^{\perp} konsentrasi aspartam rata-rata, dan S_b adalah standar deviasi slope. Nilai presisi diperlihatkan pada Tabel 2.

Tabel 2
Data statistik uji presisi

Konsentrasi	Absorbansi	S_c
0	0	-
0,013	0,247	0,000612
0,015	0,303	0,001647
0,017	0,338	0,002248

0,019	0,393	0,002718
-------	-------	----------

Tabel 2 memberikan nilai presisi yang mendekati nol. Hal ini menunjukkan bahwa persebaran data hasil analisis relatif sangat kecil, sehingga apabila dilakukan beberapa kali pengukuran pada konsentrasi aspartam yang sama memberikan nilai yang relatif sama. Jadi, dapat disimpulkan bahwa metode ini memiliki presisi yang tinggi.

7. Linearitas

Pengujian linearitas dilakukan untuk mengetahui hubungan linear antara absorbansi dengan konsentrasi aspartam dalam metode yang digunakan. Linearitas memperlihatkan bahwa metode analisis aspartam mampu untuk memberikan sebuah respon yang proporsional dengan nilai konsentrasi aspartam. Hasil uji linearitas dapat diperoleh dari persamaan berikut ini.

$$\text{LIN (\%)} = 100 \left(1 - \frac{S_b}{b}\right)$$

S_b merupakan standar deviasi slope dan b adalah slope. Dalam uji linearitas, apabila nilai linearitas semakin mendekati 100%, maka data tersebut memiliki linearitas yang baik. Dari hasil perhitungan, diperoleh LIN (%) sebesar 96,58% untuk setiap kenaikan konsentrasi aspartam dari konsentrasi 0 sampai 0,019 mol/L. Nilai linearitas tersebut menunjukkan bahwa metode ini memberikan korelasi yang linear dari konsentrasi 0,013 sampai 0,019 mol/L.

8. Limit Deteksi

Limit deteksi (LOD) merupakan jumlah terkecil dari analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Limit deteksi dapat dihitung dengan cara sebagai berikut

$$\text{LOD} = 3 \cdot \text{Sco} \left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right)$$

Dimana Sco merupakan nilai presisi (Sc) terendah dalam analisis yaitu 0,000612. Dari hasil perhitungan, diperoleh nilai LOD sebesar 0,001831 mol/L. Hal ini menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi terendah dari aspartam yang dapat terdeteksi yaitu sebesar 0,001831 mol/L. Untuk sampel dengan kandungan aspartam yang lebih rendah dari LOD maka tidak dapat terdeteksi melalui metode ini.

9. Limit Kuantifikasi

Limit kuantifikasi (LOQ) merupakan nilai konsentrasi terkecil dari sebuah analit secara kuantitatif dengan menggunakan metode analisis. LOQ dapat dihitung dengan cara sebagai berikut.

$$\text{LOQ} = 10 \cdot \text{Sco} \left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right)$$

Jika nilai LOQ lebih kecil dari konsentrasi analit yang digunakan, maka konsentrasi analit dapat dinyatakan secara kuantitatif. Dari hasil perhitungan, diperoleh nilai LOQ sebesar 0,006104 mol/L. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi dari

Analisis Aspartam dengan Metode Spektrofotometri Uv-Visible serta Optimasi Konsentrasi Ninhidrin dan Aplikasinya untuk Penentuan Kandungan dalam Minuman Energi

masing-masing aspartam yang digunakan yaitu 0,013; 0,015; 0,017; dan 0,019 mol/L dapat dinyatakan secara kuantitatif.

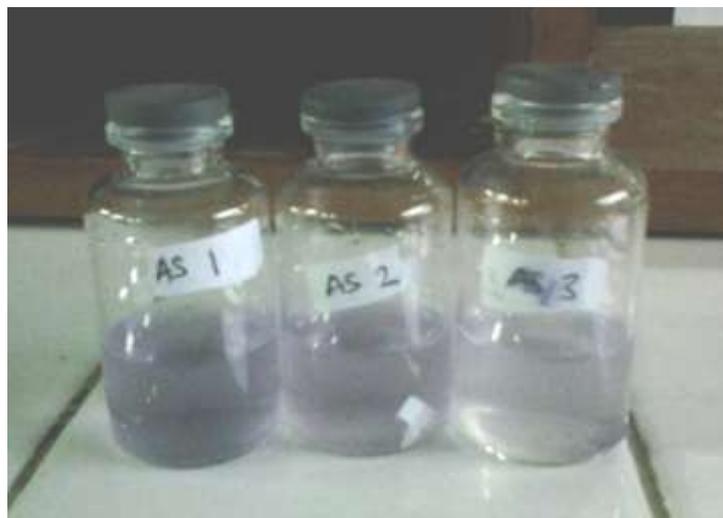
10. Penentuan Konsentrasi Aspartam dalam Sampel Minuman Energi

Prosedur analisis aspartam yang telah dioptimasi dan divalidasi, kemudian diaplikasikan pada sampel minuman energi yang beredar di pasaran, baik minuman serbuk maupun cair. Berdasarkan hasil uji warna, diketahui bahwa hasil uji sampel serbuk dan cair memberikan warna ungu, yang menunjukkan bahwa sampel minuman yang dianalisis mengandung aspartam. Hasil uji warna sampel disajikan pada Gambar 9 dan 10.

Gambar 9
Hasil uji warna sampel serbuk



Gambar 10
Hasil uji warna sampel cair



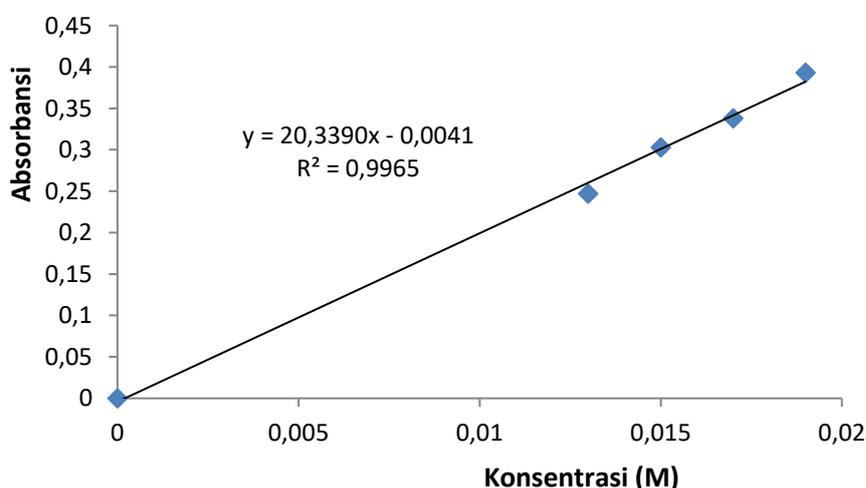
Larutan yang berwarna tersebut memberikan absorbansi seperti yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3
Data absorbansi sampel

Pengulangan ke -	Absorbansi sampel serbuk	Absorbansi sampel cair
1	0,4235	0,2998
2	0,4217	0,2976
3	0,4211	0,2984
Rata-rata	0,4221	0,2986

Penentuan kandungan aspartam dalam sampel minuman energi, dilakukan dengan menggunakan metode kurva standar yang merupakan hubungan antara absorbansi (sampel) dengan konsentrasi larutan aspartam standar. Konsentrasi larutan standar yang digunakan adalah sebesar 0; 0,013; 0,015; 0,017; dan 0,019 mol/L. Kurva standar yang diperoleh ditunjukkan oleh Gambar 11.

Gambar 11
Kurva standar aspartam

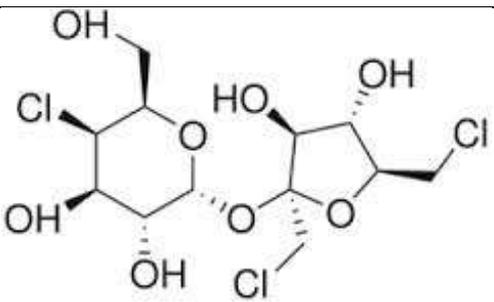
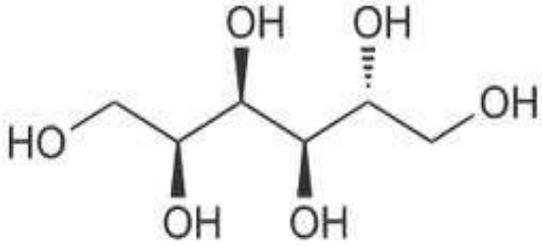
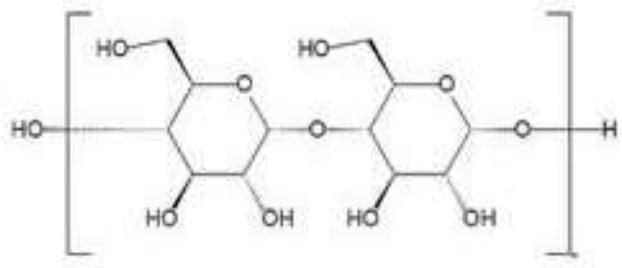
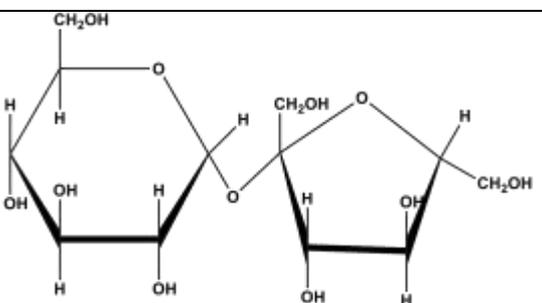


Absorbansi sampel yang terukur selanjutnya diinterpolasikan ke kurva standar menggunakan program regresi linear. Nilai absorbansi sampel diplotkan dalam kurva standar dan memberikan informasi kandungan aspartam dalam minuman energi sebesar 618,051 mg/g sampel untuk sampel serbuk dan 11,69 mg/mL sampel untuk sampel cair. Dari data ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi aspartam dalam sampel minuman energi relatif tinggi. Sampel ini dapat menimbulkan efek negatif jika dikonsumsi rutin,

karena aspartam yang dikonsumsi dapat terakumulasi dalam tubuh dan dapat menimbulkan berbagai penyakit. Penyakit yang ditimbulkan antara lain, mengganggu sistem saraf, menyebabkan kanker, dan dapat mengganggu fungsi kerja beberapa enzim.

Dalam sampel yang dianalisis tertera kandungan zat-zat lain seperti sukralosa, sorbitol, maltodekstrin dan sukrosa. Struktur keempat zat tersebut diperlihatkan dalam tabel 4.

Tabel 4
Komposisi sampel dan struktur kimianya

Komposisi sampel	Struktur kimia
Sukralosa	
Sorbitol	
Maltodekstrin	
Sukrosa	

Dalam Tabel 4 terlihat keempat bahan tersebut tidak memiliki gugus alfa amino bebas, sehingga tidak bereaksi dengan ninhidrin membentuk senyawa kompleks. Untuk

lebih memastikan, keempat bahan tersebut diuji dengan menggunakan pereaksi ninhidrin. Hasil reaksi menunjukkan tidak terbentuk larutan berwarna ungu, yang berarti tidak terbentuk senyawa kompleks dengan ninhidrin. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa adanya bahan-bahan tersebut dalam produk minuman energi tidak mengganggu analisis aspartam secara spektrofotometri UV-Vis menggunakan pereaksi ninhidrin.

Kesimpulan

1. Senyawa kompleks hasil reaksi antara aspartam dengan ninhidrin mempunyai absorbansi maksimum pada panjang gelombang 570 nm.
2. Dalam analisis aspartam, semakin besar jumlah mol ninhidrin, senyawa kompleks yang terbentuk semakin banyak dan jumlah mol ninhidrin yang efektif dapat bereaksi maksimal dengan aspartam sebesar 0,168 mmol.
3. Korelasi yang linear ditunjukkan antara absorbansi dan konsentrasi dari konsentrasi 0 sampai 0,019 mol/L, dan metode ini memiliki nilai sensitivitas dan presisi yang cukup tinggi.
4. Hasil kandungan aspartam dalam minuman energi sebesar 618,05 mg/g untuk sampel serbuk dan 11,69 mg/mL untuk sampel cair.
5. Adanya pemanis lain seperti sukralosa, sorbitol, maltodekstrin, sukrosa dalam produk minuman energi tidak menimbulkan gangguan dalam analisis aspartam secara spektrofotometri menggunakan pereaksi ninhidrin.

Bibliografi

- Briawan, Dodik, & Aries, M. (2011). Konsumsi minuman dan preferensinya pada remaja di Jakarta dan Bandung. *Gizi Indonesia*, 34(1).
- Cahyadi, Ir Wisnu. (2023). *Analisis & aspek kesehatan bahan tambahan pangan*. Bumi Aksara.
- Erni Sumartini, Imas. (2015). *Studi Paparan Pemanis Buatan Aspartam Pada minuman Ringan Pada Minuman Yang Dikonsumsi Siswa/i SMP Negeri 1 Cimaung Kabupaten Bandung Dengan Menggunakan Metode Food Frequency Questionnaire*. Fakultas MIPA Universitas Islam Bandung (UNISBA).
- Irawan, Eka Deddy. (2006). Studi In Vitro hubungan Logaritma Koefisien Partisi dengan Ikatan Protein Plasma Dari antidiabet Turunan Sulfonil Urea sebagai Bahan Pembelajaran Mata Kuliah Farmasifisik. *Jurnal Pengembangan Pendidikan*, 3(1), 210209.
- Kodrat, David Sukardi. (2021). *Strategi Mendominasi Benak Konsumen Dan Pasar Melalui Stv (Strategi-Taktik-Value) Triangle (Studi Pada Industri Minuman Energi Di Indonesia)*.
- La Kariadin, Penulis, Yuniarty, Tuty, & Fauzi, Ahmad Zil. (2020). *Studi Literatur Analisis Kadar Aspartam Pada Jajanan Minuman*. Poltekkes Kemenkes Kendari.
- LO, Anastasia Giovanna Redenta Tangan. (2023). *Review Penggunaan Siklamat Dalam Produk Minuman Dan Analisis Paparannya*.
- Mayasari, Andhika, Af'idah, Noer, & Manasikana, Oktaffi Arinna. (2021). Edu Krisza (Kriteria Jajanan Sehat Bebas Zat Aditif) Kuliner Lokal Kue Banjar. *Abidumasy Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 2(1), 40–46. <https://doi.org/10.33752/Abidumasy.V2i1.1324>
- Praja, Denny Indra. (2015). *Zat Aditif Makanan: Manfaat dan Bahayanya*. Garudhawaca.
- Purba, Septiana M. (2018). *Efek Pemberian Minuman Energi Yang Mengandung Kafein Dan Taurin Terhadap Daya Tahan Dan Kadar Asam Laktat Saat Melakukan Aktifitas Fisik Pada Mahasiswa Ilmu Keolahragaan Stambuk 2016*. Unimed.
- Sulfiana, Sri, Fauzi, Ahmad Zil, & Orno, Theosobia Grace. (2022). *Identifikasi Pemanis Buatan Natrium Siklamat Pada Minuman Thai Tea Yang Dijual Di Kecamatan Kambu Kota Kendari Sulawesi Tenggara*. Poltekkes Kemenkes Kendari.
- Thohir, Muhammad Bakhr. (2015). *Pembuatan sensor kimia sederhana untuk mendeteksi aspartam pada minuman kemasan dengan Reagen Ninhidrin*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.