



PEMISAHAN BAHAN TAMBAHAN PANGAN MENGGUNAKAN METANOL-BUFFER FOSFAT DAN METANOL-BUFFER ASETAT

Arief Yandra Putra

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Islam Riau

Jl. Kaharuddin Nasution No. 113, Pekanbaru, Riau

ariefyandra0811@edu.uir.ac.id

Submitted : 29-08-2017, Reviewed: 02-10-2017, Accepted: 05-10-2017

ABSTRAK

Perkembangan industri makanan dan minuman di Indonesia dari tahun ke tahun menyebabkan produksi makanan dan minuman ringan yang beredar di masyarakat semakin meningkat. Namun, di dalam makanan dan minuman ringan sering ditambahkan bahan tambahan pangan seperti natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein yang kadarnya perlu diperhatikan karena dapat memberikan dampak negatif pada kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kondisi optimum pemisahan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein menggunakan metanol-buffer fosfat dan metanol-buffer asetat sebagai fasa gerak menggunakan HPLC. Penelitian dilakukan dengan menentukan panjang gelombang, pH buffer optimum dan komposisi fasa gerak optimum. Kondisi optimum untuk fasa gerak metanol-buffer fosfat adalah pH 4,5 dengan komposisi fasa gerak 12,5:87,5 dan sistem pendeteksian UV pada panjang gelombang 220 nm. Kondisi optimum untuk fasa gerak metanol-buffer asetat adalah pH 5,5 dengan komposisi fasa gerak 15:85 dan sistem pendeteksian UV pada panjang gelombang 230 nm. Komposisi fasa gerak metanol-buffer asetat memberikan hasil yang lebih baik untuk pemisahan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein dengan waktu retensi yang lebih pendek.

Kata kunci : asam benzoat; HPLC; kafein; natrium sakarin

ABSTRACT

The development of food and beverage industry in Indonesia from year to year causes the production of food and soft drink circulating in community was increased. However, in food and soft drink were often added food additives such as sodium saccharin, benzoic acid, and caffeine that its level must be considered because it can caused negative effect on health. This study aims to compare optimum conditions of separation of sodium saccharin, benzoic acid and caffeine using methanol-phosphate buffer and methanol-acetate buffer as mobile phase using HPLC. The study was conducted by determining the wavelength, optimum pH of buffer and optimum composition of mobile phase. The optimum condition for the mobile phase of methanol-phosphate buffer were pH 4,5 with mobile phase composition of 12,5: 87,5 and UV detection system at 220 nm wavelength. The optimum condition for methanol-acetate buffer were pH 5,5 with mobile phase composition of 15:85 and the UV detection system at 230 nm wavelength. The composition of methanol-acetate buffer as mobile phase gives better result for the separation of sodium saccharin, benzoic acid and caffeine with shorter retention times.

Keywords : benzoate acid; HPLC; caffeine; sodium saccharin

PENDAHULUAN

Produksi makanan dan minuman ringan yang beredar di masyarakat semakin meningkat seiring dengan perkembangan industri makanan dan minuman di Indonesia dari tahun ke tahun. Perubahan gaya hidup masyarakat yang cenderung lebih suka mengonsumsi makanan dan minuman ringan menjadi salah satu faktor yang menyebabkan industri makanan dan minuman ringan semakin berkembang (Subani, 2009). Pada makanan dan minuman ringan sering ditambahkan bahan tambahan pangan seperti pemanis buatan, pengawet buatan, dan kafein. Penambahan bahan tambahan pangan tersebut bertujuan untuk menghambat kerusakan produk makanan dan minuman akibat mikroba, perubahan kimia dan reaksi enzimatis sehingga memiliki daya simpan yang lebih lama (F. G. Winarno, 1997). Namun, kadar bahan tambahan pangan tersebut perlu diperhatikan karena jika dikonsumsi secara berlebihan dapat memberikan dampak negatif pada kesehatan (W. Cahyadi, 2006).

Natrium sakarin merupakan bahan tambahan pangan yang termasuk kedalam kategori pemanis buatan. Penambahan natrium sakarin berfungsi untuk meningkatkan cita rasa dan aroma, memperbaiki sifat-sifat fisik dan merupakan sumber kalori bagi tubuh manusia. Industri minuman lebih menyukai pemanis buatan dibandingkan pemanis alami karena harganya yang lebih murah dan tingkat kemanisan pemanis buatan yang lebih tinggi dibandingkan pemanis alami (M. Kroger, K. Meister, dan R. Kava, 2006).

Asam benzoat merupakan bahan tambahan pangan yang termasuk kedalam kategori pengawet buatan. Penambahan asam benzoat berfungsi untuk menghambat terjadinya kerusakan atau pembusukan pada makanan atau minuman sehingga memiliki umur simpan yang lebih lama. Namun, bahan pengawet harus diawasi penggunaannya karena dapat berbahaya bagi kesehatan penggunanya baik secara langsung maupun secara tidak langsung (komulatif) (B. Saad, *et. al.*, 2005).

Kafein merupakan bahan tambahan pangan yang berfungsi sebagai pemberi efek stimulan sistem saraf pusat yang dapat menghilangkan rasa letih, lapar dan mengantuk (D. H. Misra, *et.al.*, 2008). Kafein dapat memacu hormon adrenalin sehingga meningkatkan tekanan darah dan aktifitas otot serta sekresi asam lambung. Kelebihan konsumsi kafein dapat menimbulkan rasa gelisah, sakit kepala, sakit mag dan imsonia (N. Violeta, Trandafir, dan I. M. Elena, 2008).

Banyaknya penggunaan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein dalam makanan dan minuman ringan mengakibatkan perlunya suatu metode analisis yang cepat, tepat, dan akurat untuk menentukan kandungan ketiga senyawa tersebut dalam berbagai sampel makanan dan minuman ringan (Khosrokhavar, *et. al.*, 2010). Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu penelitian untuk pemisahan ketiga senyawa tersebut dengan menggunakan *High Performance Chromatography (HPLC)* karena analisis dengan HPLC cepat, daya pisah baik, kepekaan tinggi (persiapan sampel sederhana dan mudah dihubungkan dengan detektor yang sesuai sifat sampel (H.Y. Harahap dan C.N. Aziza, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kondisi optimum pemisahan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein menggunakan fasa gerak metanol-buffer fosfat dan fasa gerak metanol-buffer asetat sehingga diperoleh komposisi fasa gerak yang paling cocok untuk pemisahan ketiga senyawa tersebut.

METODOLOGI PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan kolom C₁₈ (150 x 4,6 mm) dan detektor UV-Vis, spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, pengaduk ultrasonik, saringan filter fasa gerak (0,45 µm), pH meter dan peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bahan baku standar/pembanding natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein, metanol *HPLC grade*, kalium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄), natrium hidroksida (NaOH), asam asetat glasial (CH₃COOH), ammonium asetat p.a (CH₃COONH₄) dan aquades *ultra pure* (UP).

2. Pembuatan Fasa Gerak

Fasa gerak dibuat dari campuran metanol-buffer fosfat (pH 4,0 ; 4,5 ; 5,0 ; 5,5 ; 6,0) dan campuran metanol-buffer asetat (pH 4,0; 4,5 ; 5,0 ; 5,5 ; 6,0) dengan beberapa variasi komposisi. Sebelum digunakan, fasa gerak disaring dengan saringan filter 0,45 µm, lalu udara yang terlarut dihilangkan menggunakan pengaduk ultrasonik.

3. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Secara Spektrofotometri UV

Larutan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein dengan konsentrasi masing-masing 10 mg/L diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm menggunakan spektrofotometer UV, lalu dibuat kurva serapannya. Kemudian ditentukan panjang gelombang optimum untuk analisis dimana ketiga senyawa tersebut memberikan serapan yang baik.

4. Penentuan pH Optimum Buffer Fosfat dan Buffer Asetat

a. Penentuan pH Optimum Buffer Fosfat

Campuran larutan natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam kolom HPLC dengan laju alir 1 mL/menit menggunakan fasa gerak campuran metanol-buffer fosfat (pH 4,0 ; 4,5 ; 5,0 ; 5,5 ; 6,0) dengan komposisi metanol-buffer fosfat (10:90) pada panjang gelombang analisis yang telah ditentukan sebelumnya. Kemudian ditentukan pH optimum buffer fosfat yang menghasilkan pemisahan paling baik.

b. Penentuan pH Optimum Buffer Asetat

Campuran larutan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam kolom HPLC dengan laju alir 1 mL/menit menggunakan fasa gerak campuran metanol-buffer asetat (pH 4,0 ; 4,5 ; 5,0 ; 5,5 ; 6,0) dengan komposisi metanol-buffer asetat (10:90) pada panjang gelombang analisis yang telah ditentukan sebelumnya. Kemudian ditentukan pH buffer asetat optimum yang menghasilkan pemisahan paling baik.

5. Penentuan Komposisi Fasa Gerak Optimum

a. Penentuan Komposisi Fasa Gerak Metanol-Buffer Fosfat Optimum

Campuran larutan natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein diinjeksikan sebanyak 20 µL ke dalam kolom HPLC dengan kecepatan alir 1 mL/menit menggunakan variasi komposisi fasa gerak metanol-buffer fosfat (12,5:87,5 dan 15:85) pada kondisi panjang gelombang optimum dan pH optimum yang telah ditentukan sebelumnya. Kemudian ditentukan komposisi fasa gerak yang menghasilkan pemisahan yang paling baik.

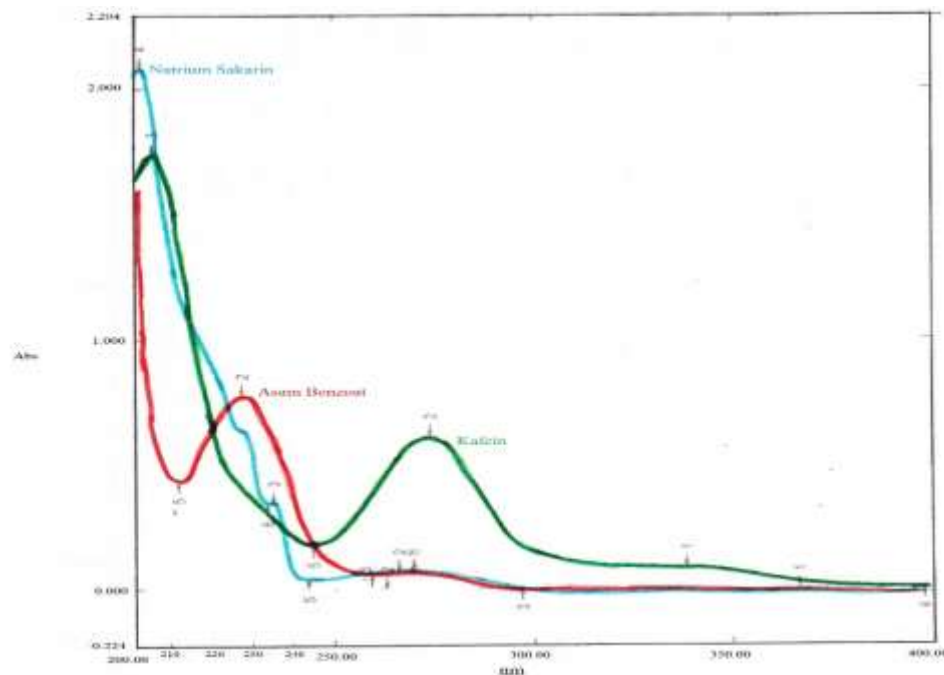
b. Penentuan Komposisi Fasa Gerak Metanol-Buffer Asetat Optimum

Campuran larutan natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam kolom HPLC dengan kecepatan alir 1 mL/menit menggunakan variasi komposisi fasa gerak metanol-buffer asetat (12,5:87,5 dan 15:85) pada kondisi panjang gelombang optimum dan pH optimum yang telah ditentukan sebelumnya. Kemudian ditentukan komposisi fasa gerak yang menghasilkan pemisahan yang paling baik.

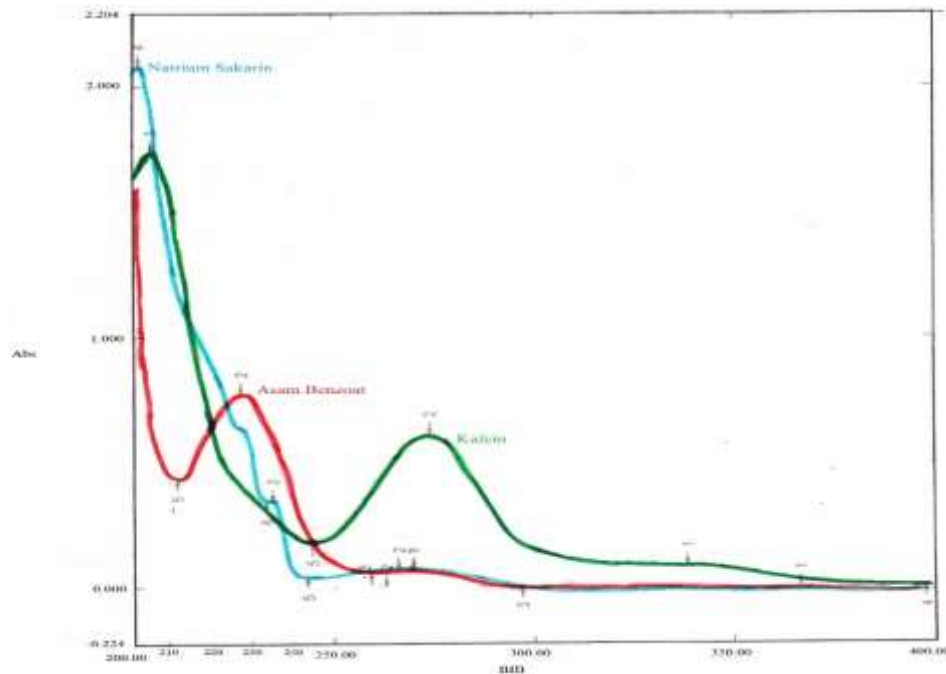
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Secara Spektrofotometri UV

Penentuan panjang gelombang optimum atau panjang gelombang kompromis dari ketiga senyawa berguna untuk melihat pada panjang gelombang berapa natrium sakarin, asam benzoat dan kafein sama-sama dapat menyerap dengan baik sehingga pemisahan dapat dilakukan menggunakan HPLC. Hasil pengukuran panjang gelombang optimum dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Spektrum UV natrium sakarin, asam benzoat dan kafein (10 mg/L) menggunakan fasa gerak metanol : buffer fospat, $\lambda = 200-400$ nm



Gambar 2. Spektrum UV natrium sakarin, asam benzoat dan kafein (10 mg/L) menggunakan fasa gerak metanol-buffer asetat, $\lambda = 200-400$ nm

Dari hasil pengukuran didapatkan panjang gelombang optimum menggunakan fasa gerak metanol-buffer fosfat adalah 220 nm dan panjang gelombang optimum menggunakan fasa gerak metanol-buffer asetat adalah 230 nm. Pada Gambar 1 dapat dilihat bahwa pada panjang gelombang 220 nm natrium sakarin, asam benzoat dan kafein memberikan serapan yang baik sehingga panjang gelombang 220 nm dapat dijadikan sebagai panjang gelombang optimum pemisahan dengan menggunakan fasa gerak metanol-buffer fosfat. Jika panjang gelombang optimum yang digunakan untuk pemisahan berada di bawah 220 nm, maka serapan kafein akan menjadi kecil sedangkan jika panjang gelombang optimum pemisahan berada di atas 220 nm, maka serapan natrium sakarin dan asam benzoat akan menjadi kecil.

Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa pada panjang gelombang 230 nm natrium sakarin, asam benzoat dan kafein memberikan serapan yang baik sehingga panjang gelombang 230 nm dapat dijadikan sebagai panjang gelombang optimum pemisahan dengan menggunakan fasa gerak metanol-buffer asetat. Jika panjang gelombang optimum pemisahan berada di atas 230 nm, maka serapan natrium sakarin dan asam benzoat akan menjadi kecil. Sebaliknya, jika panjang gelombang optimum pemisahan berada di bawah 230 nm, maka serapan asam benzoat akan menjadi kecil.

2. Penentuan pH Optimum Buffer Fosfat dan Buffer Asetat

a. Penentuan pH Optimum Buffer Fosfat

Buffer fosfat dibuat dengan variasi pH pH 4,0 ; 4,5 ; 5,0 ; 5,5 ; 6,0. Penentuan pH optimum dilakukan dengan komposisi metanol-buffer fosfat (10:90) dengan variasi pH tersebut pada panjang gelombang optimum yang telah ditentukan sebelumnya. Pengukuran dilakukan menggunakan kolom C_{18} , laju alir 1 mL/menit dan waktu retensi 30 menit. Hasil pengukuran

waktu retensi masing-masing senyawa menggunakan fasa gerak metanol-buffer fosfat pada berbagai variasi pH dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Waktu retensi natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein menggunakan fasa gerak metanol-buffer fosfat pada berbagai variasi pH

pH Buffer	Waktu Retensi (menit)			
	Asetat	Natrium Sakarin	Asam Benzoat	Kafein
4,0		5,875	22,895	28,020
4,5		5,458	20,819	27,612
5,0		-	13,189	23,917
5,5		-	-	-
6,0		-	-	-

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa pada pH 4,0 dan 4,5 telah terjadi pemisahan yang baik terhadap natrium sakarin, asam benzoat dan kafein ditandai dengan munculnya ketiga puncak senyawa sedangkan pada pH 5,0 hanya muncul dua puncak senyawa dan pada pH 5,5 serta pH 6,0 ketiga puncak senyawa tidak muncul. Jika dilihat berdasarkan waktu retensi, pemisahan yang baik dengan waktu retensi yang lebih cepat terjadi pada pH 4,5. Oleh karena itu, pH 4,5 dipilih sebagai pH optimum buffer fosfat sebagai komponen fasa gerak.

b. Penentuan pH Optimum Buffer Asetat

Buffer asetat dibuat dengan variasi pH pH 4,0 ; 4,5 ; 5,0 ; 5,5 ; 6,0. Penentuan pH optimum dilakukan dengan komposisi metanol-buffer asetat (10:90) dengan variasi pH tersebut pada panjang gelombang optimum yang telah ditentukan sebelumnya. Pengukuran dilakukan menggunakan kolom C₁₈, laju alir 1 mL/menit dan waktu retensi 30 menit. Hasil pengukuran waktu retensi masing-masing senyawa menggunakan fasa gerak metanol-buffer asetat pada berbagai variasi pH dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Waktu retensi natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein menggunakan fasa gerak metanol-buffer asetat pada berbagai variasi pH

pH Buffer	Waktu Retensi (menit)			
	Asetat	Natrium Sakarin	Asam Benzoat	Kafein
4,0		10,817	-	-
4,5		10,781	23,354	-
5,0		10,489	19,938	26,930
5,5		10,105	13,742	24,834
6,0		9,818	-	-

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa pada pH 5,0 dan 5,5 telah terjadi pemisahan yang baik terhadap natrium sakarin, asam benzoat dan kafein. Pada pH 5,0 ketiga senyawa sudah terpisah dengan baik, tetapi waktu retensi ketiga senyawa tersebut lebih lama dibandingkan waktu retensi ketiga senyawa pada pH 5,5. Dengan demikian, pH 5,5 dijadikan pH optimum buffer asetat sebagai komponen fasa gerak.

3. Penentuan Komposisi Fasa Gerak Optimum

a. Penentuan Komposisi Fasa Gerak Metanol-Buffer Fosfat Optimum

Dari Tabel 1 dapat diketahui bahwa pada komposisi fasa gerak metanol-buffer fosfat pH 4,5 (10:90) telah terjadi pemisahan yang baik. Namun, ketiga senyawa tersebut masih mempunyai waktu retensi yang lama. Oleh karena itu, dilakukan penambahan volume metanol pada komposisi fasa gerak agar diperoleh pemisahan yang baik dengan waktu retensi yang lebih cepat. Hasil pengukuran waktu retensi masing-masing senyawa menggunakan fasa gerak metanol-buffer fosfat pH 4,5 pada berbagai variasi komposisi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Waktu retensi dan luas puncak natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein menggunakan fasa gerak metanol : buffer fosfat pH 4,5 pada berbagai variasi komposisi fasa gerak

Metanol-Buffer Fosfat pH 4,5	Natrium Sakarin		Asam Benzoat		Kafein	
	Waktu Retensi	Luas Puncak	Waktu Retensi	Luas Puncak	Waktu Retensi	Luas Puncak
10 : 90	5,458	1.844.744	20,646	1.455.891	27,612	2.628.229
12,5 : 87,5	5,138	1.779.567	17,745	1.438.102	20,150	2.583.290
15 : 85	4,385	1.838.255	14,848	4.128.347	-	-

Pada Tabel 3 dapat dilihat bahwa komposisi metanol-buffer fosfat pH 4,5 (15:85) memberikan waktu retensi yang lebih cepat, tetapi hanya ada dua puncak senyawa yaitu puncak natrium sakarin dan asam benzoat. Hal ini terjadi karena bersatunya puncak asam benzoat dengan kafein yang dapat dilihat pada luas puncak yang naik dua kali lipat. Komposisi metanol-buffer fosfat pH 4,5 (12,5:87,5) ternyata memberikan waktu retensi yang lebih cepat dan pemisahan yang lebih baik. Oleh karena itu, komposisi metanol : buffer fosfat pH 4,5 (12,5:87,5) dipilih sebagai komposisi fasa gerak optimum untuk pemisahan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein.

b. Penentuan Komposisi Fasa Gerak Metanol-Buffer Asetat Optimum

Dari Tabel 2 dapat diketahui bahwa pada komposisi fasa gerak metanol-buffer asetat pH 5,5 (10:90) telah terjadi pemisahan yang baik untuk natrium sakarin, asam benzoat dan kafein. Namun, ketiga senyawa tersebut masih mempunyai waktu retensi yang lama. Oleh karena itu, dilakukan penambahan volume metanol pada komposisi fasa gerak agar diperoleh pemisahan yang baik dengan waktu retensi yang lebih cepat. Hasil pengukuran waktu retensi masing-masing senyawa menggunakan fasa gerak metanol-buffer asetat pH 5,5 pada berbagai variasi komposisi dapat dilihat pada Tabel 4.

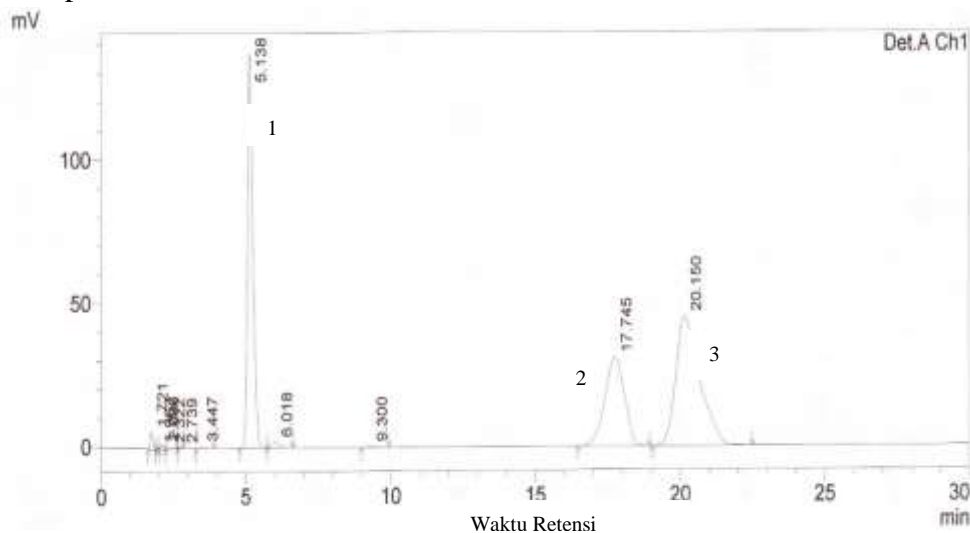
Tabel 4. Waktu retensi dan luas puncak natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein menggunakan fasa gerak metanol : buffer asetat pH 5,5 pada berbagai variasi komposisi fasa gerak

Metanol-Buffer Asetat pH 5,5	Natrium Sakarin		Asam Benzoat		Kafein	
	Waktu Retensi	Luas Puncak	Waktu Retensi	Luas Puncak	Waktu Retensi	Luas Puncak
10 : 90	5,694	856.670	7,032	1.247.183	26,124	1.171.839
12,5 : 87,5	4,831	857.368	6,275	1.227.608	18,755	1.182.705
15 : 85	4,200	885.209	5,662	1.233.013	14,053	1.167.255

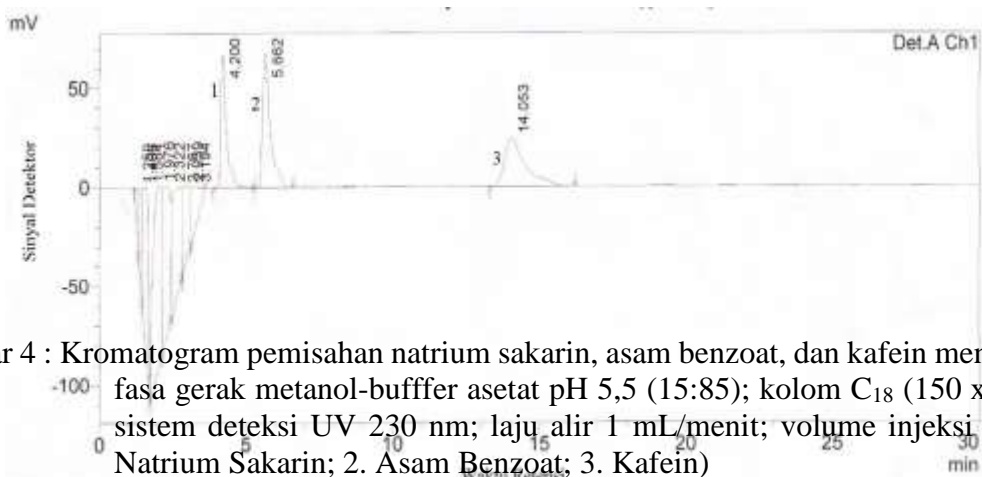
Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa komposisi metanol-buffer asetat pH 5,5 (15:85) memberikan pemisahan yang baik pada ketiga senyawa dengan waktu retensi yang lebih cepat dibandingkan dengan waktu retensi ketiga senyawa pada komposisi metanol-buffer asetat pH 5,5 lainnya (10:90 dan 12,5:87,5). Oleh karena itu, komposisi metanol-buffer asetat pH 5,5 (15:85) dipilih sebagai komposisi fasa gerak optimum untuk pemisahan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein.

4. Perbandingan Kondisi Optimum Pemisahan Natrium Sakarin, Asam Benzoat dan Kafein Menggunakan Fasa Gerak Metanol-Buffer Fosfat dan Metanol-Buffer Asetat

Kondisi optimum pemisahan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein menggunakan fasa gerak metanol : buffer fosfat pH 4,5 (12,5 : 87,5) dan metanol : buffer asetat (15 : 85) dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4.



Gambar 3 : Kromatogram pemisahan natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein menggunakan fasa gerak metanol-buffer fosfat pH 4,5 (12,5:87,5); kolom C₁₈ (150 x 4,6 mm); sistem deteksi UV 220 nm; laju alir 1 mL/menit; volume injeksi 20 µL (1. Natrium Sakarin; 2. Asam Benzoat; 3. Kafein)



Gambar 4 : Kromatogram pemisahan natrium sakarin, asam benzoat, dan kafein menggunakan fasa gerak metanol-buffer asetat pH 5,5 (15:85); kolom C₁₈ (150 x 4,6 mm); sistem deteksi UV 230 nm; laju alir 1 mL/menit; volume injeksi 20 µL (1. Natrium Sakarin; 2. Asam Benzoat; 3. Kafein)

Dari Gambar 3 dan Gambar 4 dapat dilihat bahwa ketiga senyawa dapat terpisah dengan baik menggunakan fasa gerak metanol-buffer fosfat pH 4,5 (12,5:15) dan fasa gerak metanol-

buffer asetat pH 5,5 (15:85). Pada fasa gerak metanol-buffer fosfat pH 4,5 (12,5:87,5), kromatogram natrium sakarin yang dihasilkan tajam dan sempit tetapi kromatogram asam benzoat dan kafein lebih lebar dan kurang tajam. Pada fasa gerak metanol-buffer asetat pH 5,5 (15:85), kromatogram natrium sakarin dan asam benzoat yang dihasilkan tajam dan sempit tetapi kromatogram kafein lebih lebar dan tidak tajam. Berdasarkan waktu retensi dapat dilihat bahwa fasa gerak metanol-buffer asetat pH 5,5 (15:85) memberikan waktu retensi yang lebih cepat dibandingkan dengan fasa gerak metanol-buffer fosfat pH 4,5 (12,5:87,5). Oleh karena itu, dapat dikatakan komposisi fasa gerak metanol-buffer asetat pH 5,5 (15:85) memberikan hasil yang lebih baik untuk pemisahan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein.

SIMPULAN

Metode HPLC dengan fasa gerak metanol-buffer fosfat dan fasa gerak metanol-buffer asetat dapat digunakan untuk pemisahan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein. Kondisi optimum untuk fasa gerak metanol-buffer fosfat adalah pH 4,5 dengan komposisi fasa gerak 12,5:87,5 dan sistem pendeteksian UV pada panjang gelombang 220 nm. Kondisi optimum untuk fasa gerak metanol-buffer asetat adalah pH 5,5 dengan komposisi fasa gerak 15:85 dan sistem pendeteksian UV pada panjang gelombang 230 nm. Komposisi fasa gerak metanol-buffer asetat pH 5,5 (15:85) memberikan hasil yang lebih baik untuk pemisahan natrium sakarin, asam benzoat dan kafein dengan waktu retensi yang lebih pendek.

DAFTAR PUSTAKA

- Subani. 2009. *Penentuan Kadar Natrium Benzoat, Kalium Sorbat dan Natrium Sakarin dalam Sirup dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi di Balai Besar Pengawasan Obat dan Makanan Medan*, Skripsi. Medan : USU.
- F. G. Winarno. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.
- W. Cahyadi. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta : Bumi Aksara.
- M. Kroger, K. Meister, dan R. Kava. 2006. Low-Calorie Sweeteners and Other Sugar Substitutes : A Review of Safety Issues. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety (CRFSFS)*, 5 : 35-47.
- B. Saad, M. F .Bari, M. I. Saleh, K. Ahmad, dan M. K. Talib. 2005. Simultaneous Determination of Preservatives (Benzoic Acid, Sorbic acid, Metylparaben and Propylparaben) in Foodstuffs Using High-Perfomance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1073 : 393-397.
- D. H. Misra, B. K Mehta, M. Soni dan D. C. Jain. 2008. Study of Extraction and HPTLC–UV Method for Estimation of Caffeine in Marketed Tea (*Camellia sinensis*) Granules. *International Journal of Green Pharmacy*, 3(1) : 47-51.
- N. Violeta, Trandafir, dan I. M. Elena. 2008. Quantitative Determination of Caffeine in Carbonated Beverages by an HPLC Method. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 14 : 123-127.

- Khosrokhavar, Sadeghzadeh, Amini, G .Khansari, Hajiaghaee, dan E. Mehr. 2010. Simultaneous Determination of Preservatives (Sodium Benzoate and Potassium Sorbate) in Soft Drinks and Herbal Extracts Using High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Medicinal Plant*, 9 (35) : 80-87.
- H. Y. Harahap dan C. N. Aziza. 2004. Penetapan Kadar Sakarin, Asam Benzoat, Asam Sorbat, Kafein dan Aspartam di dalam Beberapa Minuman Ringan Bersoda Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1 (3) : 148-159.