

# Optimasi fase gerak dan analisis kadar natrium benzoat pada beberapa sirup rasa jeruk dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (kckt)

Zhazha Santasa<sup>1</sup>, Ainil Fithri Pulungan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah, Indonesia

DOI: <https://doi.org/10.29303/sjp.v5i2.372>

## Article Info

Received : 2024-05-10

Revised : 2024-09-28

Accepted : 2024-09-30

**Abstract:** With the increasing growth of food and beverages in Indonesia, there has been an increase in the manufacture of soft drinks that use the preservative sodium benzoate, particularly in syrup. The concentration of sodium benzoate in beverages should be monitored, because excessive consumption can emerge various health problems. To obtain maximum analysis results, mobile phase optimization is first carried out, which aims to obtain the optimal type of eluent from several types of mobile phase, then proceed with adjusting the sodium benzoate content in the orange-flavored syrup using the HPLC method to establish whether it fits the standards in line with the BPOM Regulation No. 11 of 2019. After optimizing the mobile phase, the most optimal mobile phase is Methanol Pro HPLC: Aquabidestilata (70:30), because in this comparison the chromatogram gives the best result the peak shape is symmetrical, tailing factor is less than 2 and the retention time is less than 10 minutes. Based on the findings of the third sample research, the sodium benzoate content in orange-flavored syrup meets the requirements of BPOM Regulation No. 11 of 2019, namely 600 mg/kg.

**Keywords:** High performance liquid chromatography; orange syrup; preservative; sodium benzoate.

**Citation:** Santasa, Z. & Pulungan, A. F. (2024). Optimasi fase gerak dan analisis kadar natrium benzoat pada beberapa sirup rasa jeruk dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (kckt). *Sasambo Journal of Pharmacy*, 5(2), 97-100. doi: <https://doi.org/10.29303/sjp.v5i2.372>

## Pendahuluan

Natrium benzoat adalah pengawet organik yang memiliki karakteristik serbuk hablur yang tidak memiliki warna dan rasa, serta sangat larut air (Rohmah, 2020). Natrium benzoat adalah pengawet kimia yang di gunakan dalam preparasi farmasi sebagai pengawet untuk mengurangi perkembangan mikroorganisme (Ali et al., 2023). Natrium benzoat di gunakan sebagai pengawet kimia yang diperbolehkan pada makanan sebagai bahan tambahan makanan dengan jumlah batasan tertentu, seperti sirup buah (Shaha et al., 2024). Pengawet dapat digunakan pada tingkat yang relatif rendah memastikan bahwa produk tersebut berfungsi dengan baik seiring berjalannya waktu yaitu biasanya

satu hingga tiga tahun (Zhang et al., 2020). Makanan dan minuman harus aman mikroorganisme dan zat kimia berbahaya yang berdampak pada kesehatan termasuk pengawet (Saruan et al., 2022). Bahan tambahan yang dapat merubah sifat atau bentuk pangan disebut bahan tambahan pangan (Azmi et al., 2020). Bahan pengawet secara umum berfungsi agar pangan yang mempunyai sifat mudah rusak dapat memiliki ketahanan lebih lama (Pramitha et al., 2019). Pemakaian bahan pengawet minuman tidak boleh sembarangan (Pulungan, 2018) dan harus sesuai standar yang telah diatur oleh Pemerintah Indonesia (Sariwati, 2021). Kadar natrium benzoat pada minuman/sirup yang diizinkan adalah 600 mg/kg (BPOM, 2019). Kontaminasi dapat terjadi pada setiap proses pengolahan minuman. Oleh karena

Email: [ainilfithri240@gmail.com](mailto:ainilfithri240@gmail.com) (\*Corresponding Author)

itu, dibutuhkan tempat khusus agar minuman dapat tahan lebih lama (Pulungan, 2019).

Berbagai jenis produk konsumsi pada umumnya memiliki kandungan bahan pengawet di dalamnya. Salah satunya seperti pada sirup (Hadriyati & Mukhlis Sanuddin, 2020). Sirup buah atau jus buah disebut sebagai minuman bergizi dan menjadi minuman penting di zaman sekarang. Sirup jeruk merupakan jenis sirup yang populer dan paling sering di konsumsi dikalangan anak-anak dan remaja karena banyak mengandung vitamin C (Shaha et al., 2024). Sirup ini berupa larutan kental dengan cita rasa beraneka ragam dan termasuk ke dalam jenis minuman ringan (Maimunah et al., 2018). Validasi metode analisis perlu dilakukan agar dapat menghasilkan data yang dapat diterima dan terpercaya, sehingga dapat dianalisis (Syenina A, 2011). Salah satu analisis yang membutuhkan validasi ini adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) agar dapat memperoleh hasil yang akurat, andal, serta dapat diandalkan, terutama dalam konteks analisis pangan.

Validasi metode diperlukan untuk memastikan akurasi (dekatnya hasil analisis terhadap nilai sebenarnya) dan presisi (konsistensi hasil) dari analisis KCKT. Hal ini sangat penting dalam analisis pangan untuk memastikan bahwa informasi yang diberikan kepada konsumen adalah benar. Pemilihan fase gerak dan fase diam yang tepat adalah kunci dalam proses pemisahan analit. Validasi metode membantu dalam menentukan komposisi yang optimal untuk fase gerak dan karakteristik fase diam, yang mempengaruhi efisiensi dan efektivitas pemisahan.

Validasi metode analisis KCKT dalam konteks pangan sangat penting untuk memastikan akurasi, presisi, dan spesifisitas hasil analisis. Dengan mempertimbangkan aspek fase gerak, fase diam, dan analisis kadar, validasi metode membantu menjamin kualitas pangan yang aman dan sesuai dengan regulasi yang berlaku. Melalui validasi yang baik, kepercayaan konsumen terhadap produk pangan dapat dipertahankan, dan kualitas produk dapat terjamin.

Metode merupakan teknik canggih yang memiliki waktu pemisahan lebih cepat, akurasi, presisi dan sensitivitas sangat tinggi sehingga sangat cocok untuk penetapan kadar benzoat yang akan dilakukan pada penelitian ini. Pemisahan senyawa yang dilakukan berdasarkan perbedaan polaritas (Xu, 2013).

## Metode

Bahan dalam penelitian ini yaitu natrium benzoat (BPFI), sirup rasa jeruk merk (A,B,C), methanol pro HPLC, dan Aquabidestilata. Alat yang di gunakan adalah HPLC (Rigol L-3000), column Compass C18 (2) 5  $\mu$ m, 250 x 4,6 mm, sonikator dan alat-alat gelas.

## Pembuatan Larutan Standar Natrium Benzoat

Pembuatan larutan ini menggunakan konsentrasi 1000  $\mu$ g/mL. Larutan standar ini kemudian di encerkan dengan konsentrasi 5; 10; 15; 20 dan 25  $\mu$ g/mL.

## Optimasi Fase Gerak

Komposisi fase gerak yang digunakan adalah Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (70 : 30) dengan kecepatan alir yang digunakan pada alat HPLC adalah 1 mL/menit (Astuti dkk, 2019). Panjang gelombang yang digunakan adalah 225 nm.

## Penyiapan Sampel

Sebanyak 13 gram di ambil dari ketiga sampel sirup rasa jeruk, ditambahkan aquabidestilata dalam labu tentukur sampai 10 mL, kemudian dikocok hingga homogen, kemudian disaring dengan membran filter 0,45  $\mu$ m dan disonikasi sampai 15 menit. Masing-masing sampel di replikasi sebanyak 3 kali.

## Metode Validasi

### Linearitas

Larutan baku standar natrim benzoat di suntikkan sebanyak 20  $\mu$ L ke dalam sistem HPLC melalui injektor. Kromatogram akan digunakan sebagai alat perekam untuk visualisasi kurva kalibrasi menggunakan sumbu y sebagai plot peak area dan sumbu x sebagai konsentasi, kemudian dihitung menggunakan rumus regresi dan koefisien korelasi. Hasilnya akan dianalisis dengan ketentuan jika nilai r hitung > r tabel dengan nilai signifikan 0,05, maka nilai r hitung telah memenuhi syarat.

## Penentuan Kadar Natrium Benzoat Dalam Sampel

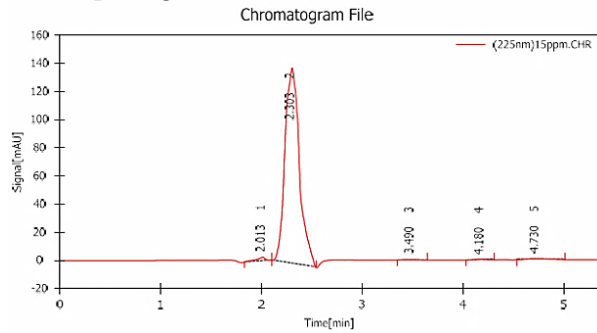
Sebanyak 20  $\mu$ L dari ketiga sampel sirup jeruk di injeksikan kedalam sistem HPLC dengan kondisi yang sama seperti larutan standar natrium benzoat. Data luas area sampel di masukkan kedalam persamaan garis regresi baku pembanding ( $y = a + bx$ ).

## Hasil dan Pembahasan

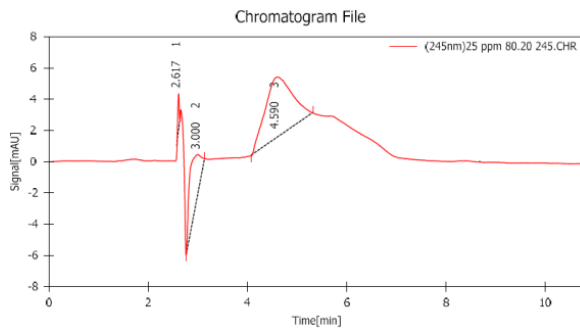
### Hasil Optimasi Fase Gerak

Hasil optimalisasi fase gerak dalam beberapa perbandingan, Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (70:30) pada panjang gelombang 225 nm, Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (50:50) pada panjang gelombang 254 nm, Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (70:30) pada panjang gelombang 254 nm, Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (80:20) pada panjang gelombang 245 nm. Berdasarkan hasil optimasi fase gerak, fase gerak paling optimal diperoleh pada perbandingan Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (70:30) dengan kecepatan alir 1 mL/menit dan panjang

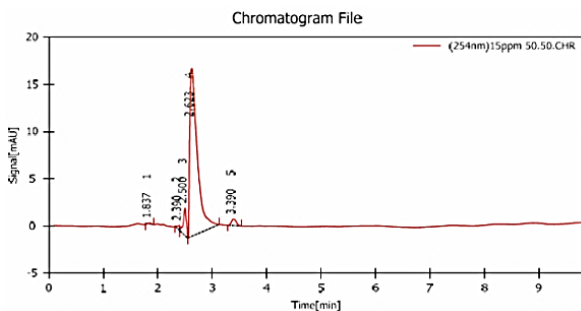
gelombang 225 nm. Hasil optimasi fase gerak dapat dilihat pada gambar 1, 2,3 dan 4.



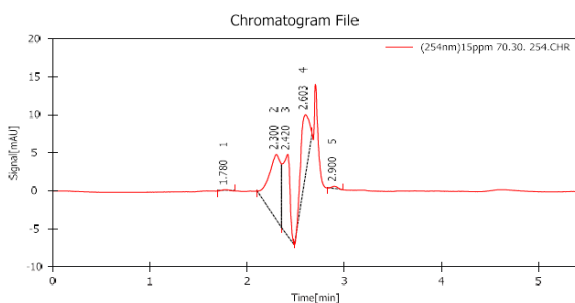
**Gambar 1.** Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (70:30) pada panjang gelombang 225 nm



**Gambar 2.** Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (80:20) pada panjang gelombang 245 nm



**Gambar 3.** Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (70:30) pada panjang gelombang 254 nm



**Gambar 4.** Methanol Pro HPLC : Aquabidestilata (50:50) pada panjang gelombang 254 nm

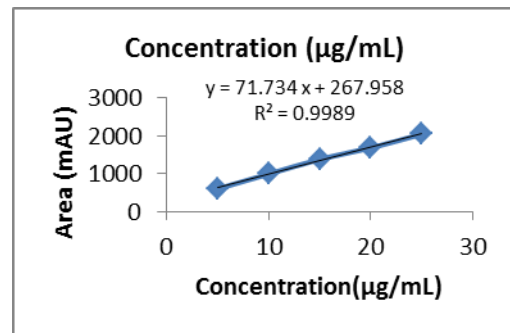
**Validasi Metode Analisis**

**Linearitas**

Hasil uji linearitas dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 5 yang diperoleh dari kurva kalibrasi yang diperoleh dengan konsentrasi (5; 10; 15; 20 dan 25 µg/mL). Hasil persamaan regresi linier yang diperoleh adalah  $R^2 = 0,9989$  dengan persamaan  $Y = 71,734 x + 267,958$ . Hasil perhitungan linieritas menunjukkan nilai  $r > 0,999$ . Dapat disimpulkan bahwa analit memberikan respon linier antara konsentrasi dengan luas puncak.

**Tabel 1.** Hasil pengujian Linearitas

Konsentrasi(µg/mL)	Luas Area (mAU)
5	602.57
10	995.99
15	1383.93
20	1686.91
25	2050.47



**Gambar 5.** Kurva Regresi Natrium Benzoat

**Hasil Penetapan Kadar Sampel**

Replikasi dalam menetapkan kadar natrium benzoat dilakukan sebanyak 3 kali pada sirup rasa jeruk. Perhitungan menggunakan regresi kurva standar dari nilai luas area pada uji linieritas. Hasil penetapan kadar dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil penetapan kadar sirup rasa jeruk

Sampel	Konsentrasi (mg/kg)	Konsentrasi (mg/kg)
A	A1	5,1348
	A2	5,0084
	A3	4,9785
B	B1	7,6062
	B2	7,6733
	B3	7,7602
C	C1	8,8743
	C2	8,3786
	C3	8,0710

Dari hasil penetapan kadar yang dilakukan terhadap beberapa jenis sirup rasa jeruk yang beredar dipasaran menghasilkan kadar yang bervariasi. Kadar tertinggi yaitu pada sampel C sebesar 8,1001mg/kg,

sedangkan pada sampel B sebesar 7,4674 mg/kg, dan pada sampel A sebesar 4,9178 mg/kg.

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dari ketiga sampel sirup rasa jeruk, kadar natrium benzoat didalamnya masih memenuhi standar BPOM yaitu 600 mg/kg. Akan tetapi, konsumsi makanan yang berpengawet sebaiknya dikurangi mengingat pengawet merupakan zat kimia yang kemungkinan memiliki dampak besar terhadap kesehatan manusia.

## Daftar Pustaka

- Ali, M. S., Karim, A. E., Mohye, M. Z., Al-metwali, A. M., & Ibrahim, S. N. (2023). Simultaneous determination of Guaifenesin, codeine phosphate, phenylephrine hydrochloride, and sodium benzoate in syrup pharmaceutical form by RP-HPLC. *Al-Kitab Journal for Pure Sciences*, 7(2), 173–183.
- Azmi, D. A., Elmatris, E., & Fitri, F. (2020). Identifikasi Kualitatif dan Kuantitatif Natrium Benzoat pada Saus Cabai yang Dijual di Beberapa Pasar di Kota Padang. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 9(1S).
- Hadriyati, A., & Mukhlis Sanuddin, A. F. (2020). Analisis Kadar Natrium Benzoat pada Sirup Kayu Manis dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Kartika Kimia*, 3(2), 48–52.
- Maimunah, S., Nurmala, S., Sitompul, E., & Kenedy, J. (2018). Daya Tahan Simpan Sirup Jeruk Manis (*Citrus sinensis* (L.) osbeck) Dengan Variasi Gula. *Herbal Medicine Journal*, 1(1), 10–15.
- Pramitha, D. A. I., Dewi, K. A. Y., & Juliadi, D. (2019). Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat Pada Sambal Kemasan Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 5(1).
- Pulungan, A. F. (2018). Penetapan Kadar Senyawa Nitrit yang Terdapat pada Daging Olahan Sosis dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 2(1), 8–10.
- Pulungan, A. F. (2019). *Dampak pengawet nitrit pada daging olahan sosis terhadap kesehatan manusia*. Deepublish.
- Rohmah, S. A. A. (2020). *Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat Pada Sari Kedelai Di 3 Kecamatan Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis*. Stikes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
- Sariwati, A. (2021). Penetapan Kadar Benzoat Pada Sampel Makanan Siap Saji dan Mie Instan Yang Beredar di Wilayah Kediri. *Jurnal Pharma Bhakta*, 1(2).
- Saruan, S. E., Pareta, D. N., Paat, V. I., Kanter, J. W., & Tulandi, S. S. (2022). Identifikasi Kadar Natrium Benzoat Pada Saus Tomat Yang Beredar Di Pasar Beriman Kota Tomohon. *Majalah INFO Sains*, 3(2), 68–71.
- Shaha, A., Esrafil, M., Akter, S., Bari, L., Khan, M. S. H., Alam, M. J., Dina, P. R., & Zubair, M. A. (2024). Determination of sodium benzoate in different brands of orange juices available in Bangladesh by high-performance liquid chromatography. *Food Research*, 8(1), 313–318.
- Syenina, A. (2011). Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Fase Terbalik Pada Penetapan Kadar Nikotin Dalam Ekstrak Etanolik Daun Tembakau. *Universitas Sanatadarma Yogyakarta*.
- Xu, Q. A. (2013). *Ultra-High Performance Liquid Chromatography and Its Applications*. John Wiley & Sons, Inc.
- Zhang, Y., Liu, Y., Meng, Q., Zhou, Z., & Wu, H. (2020). A mixture of potassium sorbate and sodium benzoate improved fermentation quality of whole-plant corn silage by shifting bacterial communities. *Journal of Applied Microbiology*, 128(5), 1312–1323.