

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pemanis

1. Definisi

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 4 Tahun 2014 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pemanis, pemanis (*sweetener*) merupakan bahan tambahan pangan berupa pemanis alami dan pemanis buatan yang memberikan rasa manis pada produk pangan (BPOM, 2014). Pemanis merupakan senyawa kimia yang sering ditambahkan dan digunakan untuk keperluan produk olahan pangan, industri, serta minuman dan makanan kesehatan. Pemanis adalah bahan tambahan makanan yang ditambahkan dalam makanan atau minuman untuk menciptakan rasa manis (Handayani dan Agustina, 2015).

2. Penggolongan Pemanis

Dilihat dari sumbernya, pemanis dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu pemanis alami dan pemanis buatan (sintetis).

2.1 Pemanis alami (*Natural sweetener*). Pemanis alami adalah pemanis yang dapat ditemukan dalam bahan alam meskipun prosesnya secara sintetik ataupun fermentasi (BPOM, 2014). Pemanis alami biasanya berasal dari tanaman. Tanaman penghasil pemanis utama adalah tebu dan bit. Bahan pemanis yang dihasilkan dari kedua tanaman tersebut dikenal sebagai gula alam atau sukrosa (Cahyadi, 2017). Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 4 Tahun 2014 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pemanis pasal 3 ayat 1, pemanis alami terdiri atas sorbitol, manitol, isomalt/isomaltitol, glikosida steviol, maltitol, laktitol, silitol, dan eritritol.

2.2 Pemanis buatan (*Artificial Sweetener*). Pemanis buatan adalah pemanis yang diproses secara kimiawi, dan senyawa tersebut tidak terdapat di alam (BPOM, 2014). Pemanis buatan merupakan bahan tambahan yang dapat menyebabkan rasa manis pada pangan, tetapi tidak memiliki nilai gizi (Cahyadi, 2017). Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 4 Tahun 2014 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan

Tambahan Pangan Pemanis pasal 3 ayat 1, pemanis buatan terdiri atas asesulfam-k, aspartam, siklamat, sakarin, sukralosa, dan neotam.

Pemanis buatan dinyatakan nilai *Acceptable Daily Intake* (ADI), karena konsumsi pemanis buatan yang terlalu banyak atau melebihi ADI dapat menimbulkan efek yang merugikan terhadap kesehatan. Pada asesulfam-K memiliki ADI sebesar 0-15 mg/kg berat badan; aspartam sebesar 0-40 mg/kg berat badan; siklamat yang terdiri dari asam siklamat, kalsium siklamat dan natrium siklamat yang memiliki nilai ADI yang sama besar yaitu 0-11 mg/kg berat badan yang dihitung sebagai asam siklamat; sakarin yang terdiri dari kalsium siklamat, kalium siklamat dan natrium siklamat yang memiliki nilai ADI yang sama besar yaitu 0-5 mg/kg berat badan; sukralosa sebesar 0-15 mg/kg berat badan; serta neotam yang memiliki nilai ADI sebesar mg/kg berat badan (BPOM, 2014).

3. Tujuan penggunaan pemanis sintesis

Penambahan suatu pemanis buatan (sintesis) ke dalam bahan pangan tidak hanya sebagai pemanis, namun ada tujuan lain. Tujuan penggunaan pemanis buatan seperti sebagai pangan bagi penderita diabetes melitus karena tidak menimbulkan kelebihan gula darah, memenuhi kebutuhan kalori rendah untuk penderita kegemukan (obesitas), sebagai penyalut obat, menghindari kerusakan gigi, pada industri pangan, minuman, termasuk industri rokok, pemanis sintesis digunakan untuk menekan biaya produksi (Cahyadi, 2017).

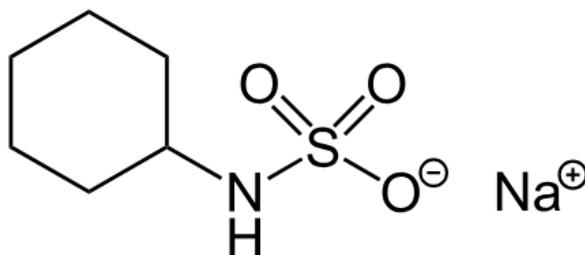
B. Siklamat

1. Definisi

Siklamat merupakan salah satu pemanis buatan, siklamat pertama kali ditemukan dengan tidak sengaja oleh Michael Sveda pada tahun 1937. Sejak tahun 1950 siklamat ditambahkan ke dalam pangan dan minuman. Siklamat biasanya tersedia dalam bentuk garam natrium dari asam siklamat dengan rumus molekul $C_6H_{11}NHSO_3Na$. Nama lain dari siklamat adalah natrium sikloheksilsulfamat atau natrium siklamat. Siklamat di dalam dunia perdagangan dikenal dengan nama *assugrin*, *sucaryl*, atau *sucrosa*.

2. Struktur siklamat

Siklamat memiliki rumus struktur $C_6H_{12}NNaO_3S$ dan memiliki gugus amina alifatik sekunder di dalam strukturnya. Siklamat memiliki berat molekul sebesar 201,22 gram/mol.



Gambar 1. Struktur Natrium Siklamat

3. Sifat siklamat

Siklamat berasa manis tanpa rasa pahit, bersifat mudah larut dalam air dan intensitas kemanisannya ± 30 kali kemanisan sukrosa. Siklamat bersifat tahan panas, sehingga sering digunakan dalam pangan yang diproses dalam suhu tinggi, misalnya pangan dalam kaleng.

4. Bahaya siklamat

Siklamat merupakan pemanis buatan yang dapat membahayakan kesehatan tubuh jika dikonsumsi secara berlebih. Konsumsi siklamat yang berlebih akan membahayakan kesehatan tubuh, seperti menimbulkan kanker kantong kemih. Hasil metabolisme siklamat yaitu sikloheksiamin yang bersifat karsinogenik, ekskresinya melalui urine dapat merangsang pertumbuhan tumor. Siklamat dapat menyebabkan atrofi, yaitu terjadinya pengecilan testikular dan kerusakan kromosom.

5. Batasan penggunaan siklamat

Penggunaan siklamat dibatasi sesuai Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/Menkes/Per/IX/88, bahwa kadar maksimum asam siklamat yang diperbolehkan dalam pangan dan minuman berkalori rendah dan untuk penderita diabetes melitus adalah 3 g/kg bahan pangan dan minuman. *World Health Organization* (WHO) mengatur batas konsumsi harian siklamat yang aman (ADI) adalah 11 mg/kg berat badan. Peraturan-peraturan tersebut menyatakan penggunaan siklamat dan sakarin masih diperbolehkan, serta kemudahan mendapatkannya dengan harga yang relatif murah dibandingkan dengan gula alam (Cahyadi, 2017).

C. Titrasi Nitrimetri

Titrasi nitrimetri adalah metode titrasi yang digunakan dalam analisis senyawa organik, terutama untuk amina primer. Penentuan jumlah zat didasarkan pada reaksi antara fenil amina primer (aromatik)

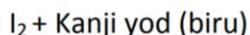
dan natrium nitrit dalam suasana asam, membentuk garam diazonium. Proses ini dikenal sebagai reaksi diazotasi, yang terjadi dalam dua tahap seperti dijelaskan di bawah ini:



Gambar 2. Reaksi diazotasi

Reaksi ini tidak stabil pada suhu kamar karena garam diazonium yang terbentuk mudah terdegradasi menjadi senyawa fenol dan gas nitrogen. Reaksi diazotasi ini dilakukan pada suhu di bawah 15 °C. Penambahan garam kalium bromida dapat mempercepat reaksi diazotasi. Proses titrasi dilakukan di bawah 15 °C karena pada suhu yang lebih tinggi, garam diazonium dapat terurai menjadi fenol dan nitrogen. Kecepatan reaksi diazonasi dapat ditingkatkan dengan menambahkan kalium bromida.

Titik ekuivalensi atau titik akhir titrasi ditunjukkan oleh perubahan warna dari pasta kanji iodide atau kertas iodida sebagai indikator eksternal. Kelebihan asam nitrit terjadi setelah senyawa fenil sepenuhnya bereaksi, dan kelebihan ini dapat bereaksi dengan yodida yang terdapat dalam pasta kanji di atas kertas. Reaksi ini mengubah yodida menjadi iodin, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru setelah larutan didiamkan selama beberapa menit. Reaksi perubahan warna yang menjadi indikator dalam titrasi ini adalah :



Gambar 3. Reaksi perubahan warna

Titik akhir titrasi juga dapat ditentukan menggunakan campuran tropiolin dan metilen biru sebagai indikator dalam larutan. Penggunaan teknik potensiometri dengan platina sebagai elektroda indikator dan elektroda kalomel jenuh sebagai elektroda acuan juga dapat menunjukkan titik akhir titrasi (Zulfikar, 2008).

Titrasi nitrimetri dapat digunakan untuk menetapkan kadar natrium siklamat, karena pada natrium siklamat terdapat gugus amin aromatis primer yang dapat mengalami reaksi diazotasi dengan titran. Penetapan kadar natrium siklamat menggunakan nitrimetri dilakukan dengan menimbang kurang lebih 4 gram zat, larutkan dalam campuran 50 mL air dan 5 mL HCl encer LP. Titrasi dengan NaNO_2 0,1 M LV

hingga mencapai titik akhir titrasi yang ditandai dengan terbentuknya wana biru jika batang gelas yang dicelupkan digoreskan pada kertas kanji iodida atau tentukan titik akhir secara elektrometrik. Titrasi selesai jika titik akhir dapat diulangi sesudah campuran didiamkan selama 1 menit (Kemenkes RI, 2018).

D. Validasi Metode

Metode yang digunakan di laboratorium kimia analitik harus dievaluasi dan diuji untuk memastikan bahwa metode tersebut mampu menghasilkan data yang valid dan sesuai dengan tujuan, maka metode tersebut harus divalidasi (Riyanto, 2014). Validasi Validasi suatu prosedur analisis adalah proses yang ditetapkan melalui kajian laboratorium bahwa karakteristik kinerja prosedur tersebut telah memenuhi persyaratan sesuai dengan tujuan penggunaannya (Kemenkes, 2018). Uji validasi meliputi :

1. Linearitas

Linearitas adalah kemampuan untuk menunjukkan hasil uji yang secara langsung atau dengan melalui transformasi matematik yang tepat proporsional terhadap kadar analit dalam zat dalam rentang yang diberikan. Linearitas mengacu pada hubungan linear antara kadar dan hasil pengukuran pengujian (Kemenkes, 2018). Linearitas adalah kemampuan metode analisis memberikan respon proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima. Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Perlakuan matematik dalam pengujian linearitas adalah melalui persamaan garis lurus dengan metode kuadrat terkecil antara hasil analisis terhadap konsentrasi analit. Linearitas sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi r pada analisis regresi linier $y = a + bx$. Hubungan linier yang $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis, dan nilai a menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan. Parameter lain yang harus dihitung adalah simpangan baku residual (S_y) (Riyanto, 2014).

2. Presisi

Presisi prosedur analisis adalah tingkat kedekatan diantara hasil uji individu bila prosedur diterapkan berulang kali terhadap zat yang homogen. Presisi biasanya dinyatakan sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi) dari satu seri pengukuran. Presisi merupakan ukuran tingkat keberulangan prosedur analisis dalam kondisi kerja normal. Keberulangan ditentukan dengan menggunakan minimal 9 penetapan meliputi suatu rentang konsentrasi khusus untuk prosedur (misalnya 3 konsentrasi dan 3 replikasi untuk masing-masing konsentrasi, atau minimal 6 penetapan pada konsentrasi uji 100%) (Kemenkes, 2018).

Presisi atau precision adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi). Presisi dapat dinyatakan sebagai *repeatability* (keterulangan) atau *reproducibility* (ketertiruan). Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV) 2% atau kurang.

Tabel 1. Tingkat presisi berdasarkan konsentrasi analit

| Jumlah komponen terukur | Tingkat presisi (y) |
|--------------------------------|---------------------|
| $x \geq 10,00 \%$ | $y \leq 2 \%$ |
| $1,00 \% \leq x \leq 10,00 \%$ | $y \leq 2 \%$ |
| $0,10 \% \leq x \leq 1,00 \%$ | $y \leq 10 \%$ |
| $x \leq 0,10 \%$ | $y \leq 20 \%$ |

3. Akurasi

Akurasi suatu prosedur analisis adalah tingkat kedekatan antara hasil pengujian dengan prosedur yang sedang divalidasi terhadap nilai yang benar. Akurasi prosedur analisis harus ditetapkan meliputi rentang nilai benar tersebut.

Penilaian akurasi dapat dilakukan dengan berbagai cara, termasuk menilai persen perolehan kembali dari berbagai rentang pengujian, atau menilai linearitas hubungan antara kadar yang dihitung terhadap kadar sebenarnya. Arah garis lurus hubungan tersebut harus sekitar 1,0 atau mendekati 1,0. Interval kedekatan harus ditetapkan terlebih dahulu dalam protokol validasi. Kriteria keberterimaan akurasi sangat tergantung kepada jenis pengujian dan keragaman serta zat yang diuji. Akurasi ditentukan dengan menggunakan minimal 9 penetapan

meliputi suatu rentang konsentrasi khusus untuk prosedur (misalnya 3 konsentrasi dan 3 replikasi untuk masing-masing konsentrasi, atau minimal 6 penetapan pada konsentrasi uji 100%) (Kemenkes, 2018).

Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali analit yang ditambahkan. Akurasi dapat ditentukan melalui dua cara, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau metode penambahan baku (*standard addition method*). *Recovery* dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya. Persyaratan *recovery* adalah tidak boleh lebih dari 5%. Accuracy menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Perhitungan perolehan kembali dapat juga ditetapkan dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Perolehan kembali (recovery)} = \frac{(C_1 - C_2)}{C_3} \times 100$$

Keterangan :

C_1 = konsentrasi dari analit dalam campuran contoh + sejumlah tertentu analit

C_2 = konsentrasi dari analit dalam contoh

C_3 = konsentrasi dari analit yang ditambahkan kedalam contoh

Akurasi merupakan kemampuan metode analisis untuk memperoleh nilai benar setelah dilakukan secara berulang. Nilai replika analisis semakin dekat dengan sampel yang sebenarnya maka semakin akurat metode tersebut.

Tabel 2. Nilai persen recovery berdasarkan nilai konsentrasi sampel

| Analit pada matriks sampel | Recovery yang diterima (%) |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 10 % ≤ A ≤ 100 % | 98 - 102 |
| 1 % ≤ A ≤ 10 % | 97 - 103 |
| 0,1 % ≤ A ≤ 1 % | 95 - 105 |
| 0,001 % ≤ A ≤ 0,10 % | 90 - 107 |
| 100 ppb ≤ A ≤ 1 ppm | 80 - 110 |
| 10 ppb ≤ A ≤ 100 ppb | 60 - 115 |
| 1 ppb ≤ A ≤ 10 ppb | 40 - 120 |

4. Spesifisitas

Spesifisitas sebagai kemampuan menguji secara tepat suatu analit dengan adanya komponen lain dan diperkirakan ada sebagai cemaran, hasil degradasi, dan matriks zat. Ketiadaan spesifisitas dari prosedur analisis dapat diatasi dengan penggunaan prosedur analitik pendukung.

D. Landasan Teori

Natirum siklamat merupakan salah satu pemanis buatan yang sering dijumpai pada berbagai produk makanan dan minuman. Penggunaan natrium siklamat dibatasi pada Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/Menkes/Per/IX/88 sebesar 3 g/kg bahan pangan dan minuman, serta WHO membatasi penggunaan siklamat sebesar 11 mg/kg berat badan.

Analisis siklamat dapat dilakukan secara kualitatif maupun kuantitatif. Pengujian kualitatif natrium siklamat dapat dilakukan dengan uji pengendapan. Uji pengendapan natrium siklamat dilakukan dengan penambahan HCl 10% BaCl 10% dan NaNO₂ ke dalam larutan sampel yang menghasilkan endapan barium sulfat berwarna putih sebagai tanda positif natrium siklamat. Sampel yang mengandung natrium siklamat diasamkan terlebih dahulu dengan HCl 10% untuk mempercepat terjadinya reaksi, lalu ditambahkan BaCl₂ 10% untuk mengendapkan pengotor-pengotor yang ada di dalam sampel, dan penambahan NaNO₂ pada sampel berfungsi untuk memutus ikatan sulfat dalam natrium siklamat dan membentuk endapan putih barium sulfat.

Pengujian kuantitatif matrium siklamat dapat ditetapkan menggunakan titrasi nitrimetri dengan natrium nitrit sebagai titran. Natrium siklamat ditimbang, dilarutkan dengan aquadest dan asam hidroklorida encer, lalu dititrasi dengan natrium nitrit. Titik akhir titrasi ditandai dengan terbentuknya warna biru pada kertas kanji iodida yang telah digoreskan sampel yang dititrasi (Kemenkes RI, 2018). Nitrimetri merupakan metode titrasi yang didasarkan pada reaksi diazotasi atau reaksi pembentukan garam diazonium, garam diazonium dapat terbentuk dari reaksi amina aromatik primer dan amina alifatis primer dengan asam nitrit (Reza, 2019). Natrium siklamat memiliki gugus amin alifatis sekunder pada strukturnya yang dapat dilakukan hidrolisis agar menjadi gugus alifatis primer yang dapat bereaksi dengan natrium nitrit yang akan menghasilkan garam diazonium dalam suasana asam dan suhu 15 °C atau lebih rendah pada reaksi diazotasi. Titrasi nitrimetri natrium siklamat harus dilakukan pada suasana asam, suhu 15 °C atau lebih rendah, dan dilakukan secara perlahan agar pembentukan garam diazonium terbentuk sempurna. Titik akhir titrasi nitrimetri natrium siklamat ditandai dengan perubahan warna kertas

kanji iodida yang menjadi biru tua, karena terbentuknya iodium dan kanji yod yang berwarna biru sama seperti Gambar 2.

Pengujian kadar suatu zat menggunakan perlakuan suhu yang berbeda telah dilakukan oleh Fachruri *et al* (2019) menyatakan bahwa suhu ruang penyimpanan tidak memengaruhi kadar air benih padi. Astuti *et al* (2023) telah melakukan pengujian pengaruh suhu dan tempat penyimpanan terhadap kadar air dan mutu organoleptik biskuit substitusi tepung belut, menyatakan bahwa perbedaan suhu pada 45 °C dan -18 °C tidak mempengaruhi kadar air dan mutu organoleptik biskuit. Penelitian yang dilakukan Rohman (2021) dihasilkan bahwa tidak ada interaksi yang nyata antara perbedaan suhu dengan kadar air pada bayam hijau.

E. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori tersebut, maka disusun hipotesis pada penelitian ini adalah

1. Kadar natrium siklalat dapat dianalisis menggunakan nitrimetri
2. Perbedaan suhu saat pengujian tidak berpengaruh pada kadar natrium siklalat seperti kadar air pada bayam hijau, kadar air dan mutu organoleptik biskuit, serta kadar air pada benih padi