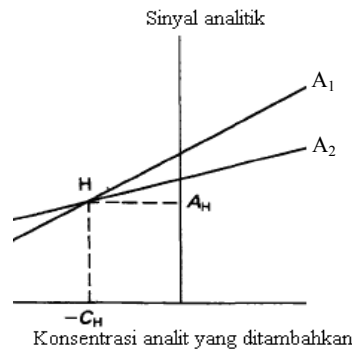


proporsional dan konstan yang dihasilkan oleh matriks sampel (Afkhami & Sarlak 2005).

HPSAM menggunakan data sinyal analitik pada dua panjang gelombang terpilih. Gambar 3 merupakan plot antara sinyal analitik dan konsentrasi analit yang ditambahkan, dua buah garis lurus akan dihasilkan yang saling berpotongan pada sebuah titik yang disebut sebagai titik-H dengan koordinat $-C_H$, A_H . Nilai pada titik $-C_H$ merupakan konsentrasi analit yang tak diketahui dan A_H adalah sinyal analitik dari pengganggu (Bosch-Reig & Campins-Falco 1988).



Gambar 3 Plot HPSAM.

HPSAM dapat diaplikasikan untuk resolusi campuran dari dua komponen dalam suatu campuran yang tumpang tindih sebagian ataupun sempurna dengan bentuk spektrum yang berbeda walaupun mempunyai λ_{maks} yang hampir sama. Oleh karena itu, metode ini umumnya digunakan untuk analisis multikomponen (Campins-Falco *et al.* 1992). Metode ini telah diaplikasikan pada spesiasi logam seperti Fe dan V (Abdollahi *et al.* 2003), Co dan Ni (Afkhami & Bahram 2004), Fe dan Co (Safavi & Nezhad 2004), Zn dan Co (Arvand *et al.* 2007), Cr(VI) dan Mo(VI) (Aulina 2007), serta Cr(III) dan Cr(VI) (Rafi 2009); analisis data kinetika dengan adanya tambahan variabel waktu untuk spesiasi logam seperti Sb(IV) dan Sb(III) (Abbaspour *et al.* 2004) dan Be dan Al (Afkhami & Zarei 2004a), dan studi kesetimbangan kompleks pada sistem misel (Abdollahi & Zeinali 2004). Selain digunakan untuk analisis simultan logam, metode ini dapat juga digunakan untuk analisis simultan bahan organik seperti hidrazin dan asetaldhidrazin (Afkhami & Zarei 2004b), penentuan simultan beberapa pewarna makanan/minuman (Hajimahmoodi *et al.* 2008), fenol dan *o*-cresol (Bosch-Reig *et al.* 1996), serta parasetamol dan kafein (Tavallali & Sheikhaei 2009).

Evaluasi Parameter Analitik

Suatu evaluasi parameter analitik dibutuhkan untuk mengukur sejauh mana suatu metode analisis dapat dipercaya. Menurut *International Conference on Harmonization (ICH)* diacu dalam Huber (2007), ada tujuh jenis parameter analitik yaitu akurasi, presisi, spesifisitas, batas deteksi, batas kuantitasi, linearitas, dan rentang.

Metode analisis menentukan parameter analitik yang perlu dievaluasi. Menurut *International Conference on Harmonization (ICH)* diacu dalam Huber (2007), parameter yang dievaluasi pada penentuan kadar adalah akurasi, presisi, spesifisitas, linearitas, dan rentang.

Akurasi adalah kedekatan hasil yang diperoleh terhadap nilai sesungguhnya. Presisi adalah derajat kesesuaian antara hasil analisis individu jika metode analisis diterapkan berulang-ulang terhadap contoh berganda dari suatu contoh homogen. Spesifisitas untuk menilai dengan jelas analit di antara adanya komponen lain di dalam suatu sampel. Linearitas adalah kemampuan metode memberikan hasil (dalam batas rentang yang ditetapkan) yang sebanding dengan konsentrasi analit dalam sampel. Rentang adalah suatu interval antara tingkat konsentrasi analit terbesar dan terkecil yang menunjukkan hasil analisis dengan akurasi, presisi, dan linieritas yang baik (Huber 2007).

Batas deteksi untuk membenarkan bahwa jumlah analit berada di atas atau di bawah suatu konsentrasi tertentu. Batas kuantitasi adalah jumlah analit yang paling rendah dalam suatu sampel yang dapat ditetapkan (Huber 2007).

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan kaca, neraca analitik (Sartorius), spektrofotometer UV-Vis model UV-1700 (Shimadzu) dengan tebal kuvet 1 cm dan dilengkapi dengan peranti lunak UV-Probe versi 2.21.

Bahan-bahan yang digunakan adalah natrium benzoat (Aldrich), kalium sorbat (Sigma-Aldrich), sampel minuman isotonik, dan air bebas ion.

Metode Penelitian

Penelitian meliputi pembuatan spektrum serapan Na-benzoat dan K-sorbat, kurva kalibrasi individu dan campuran dari Na-benzoat dan K-sorbat, penentuan panjang gelombang terpilih, serta analisis kuantitatif simultan Na-benzoat dan K-sorbat dalam campuran sintetis dan sampel minuman isotonik dengan HPSAM. Selanjutnya, dilakukan uji presisi dan akurasi (Lampiran 1).

Pembuatan Larutan Stok Standar Natrium Benzoat dan Kalium Sorbat

Konsentrasi masing-masing larutan Na-benzoat dan K-sorbat yang dibuat sebesar 100 mg/L dengan menimbang sebanyak 0.01 g yang dilarutkan menggunakan air bebas ion pada labu takar 100 mL.

Pembuatan Spektrum Serapan Natrium Benzoat dan Kalium Sorbat

Spektrum serapan sinar UV Na-benzoat dengan konsentrasi 12 mg/L dan K-sorbat dengan konsentrasi 3 mg/L tersebut dibuat pada panjang gelombang antara 200-400 nm dengan interval 0.2 nm dan kecepatan payar medium. Data yang diperoleh berupa kurva hubungan λ terhadap absorbans. λ_{maks} didapat pada nilai absorbans tertinggi.

Kurva Kalibrasi Individu

Untuk kurva kalibrasi Na-benzoat, larutan standar Na-benzoat dibuat dengan konsentrasi 2 mg/L, 4 mg/L, 6 mg/L, 8 mg/L, 10 mg/L, 12 mg/L, dan 14 mg/L. Untuk kurva kalibrasi K-benzoat, larutan standar K-sorbat dibuat dengan konsentrasi 1 mg/L, 1.5 mg/L, 2 mg/L, 2.5 mg/L, 3 mg/L, 3.5 mg/L, dan 4 mg/L (Saragih 2007). Absorbans tiap larutan diukur pada λ_{maks} masing-masing. Evaluasi kurva kalibrasi dilakukan dengan menentukan besarnya koefisien korelasi (R^2).

Kurva Kalibrasi Campuran

Kurva kalibrasi K-sorbat ditambahkan Na-benzoat dengan konsentrasi tetap, yaitu 4 mg/L, 6 mg/L, dan 8 mg/L. Absorbans tiap larutan diukur pada λ_{maks} K-sorbat. Evaluasi kurva kalibrasi dilakukan dengan menentukan besarnya koefisien korelasi (R^2) dan dibandingkan dengan kurva kalibrasi K-sorbat untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh Na-benzoat.

Penentuan Panjang Gelombang Terpilih

Spektrum serapan Na-benzoat dan K-sorbat ditumpangtindihkan, lalu dipilih sepasang λ (λ_1 dan λ_2) yang memberikan nilai absorbans yang sama untuk Na-benzoat.

Analisis Kuantitatif Simultan Natrium Benzoat dan Kalium Sorbat dengan HPSAM

Analit yang dipilih pada penelitian ini adalah K-sorbat dan senyawa pengganggu adalah Na-benzoat. Beberapa campuran sintetis dibuat dengan komposisi konsentrasi campuran (Na-benzoat, K-sorbat) untuk contoh A (4,1); B (4, 1.5); C (4, 2); D (6, 1); E (6, 1.5); F (6, 2); G (8, 1); H (8, 1.5); dan I (8, 2). Setiap komposisi campuran ditambahkan 0.5 mg/L, 1 mg/L, 1.5 mg/L, 2 mg/L, 2.5 mg/L, dan 3 mg/L K-sorbat sehingga memberikan konsentrasi akhir K-sorbat 1-4 mg/L untuk contoh A, D, dan G. Untuk contoh B, E, dan H dibuat konsentrasi akhir K-sorbat 1.5-4 mg/L. Untuk contoh C, F, dan I dibuat konsentrasi akhir K-sorbat 2-4 mg/L. Masing-masing komposisi dibuat lima kali ulangan. Absorbans tiap larutan diukur pada λ terpilih.

Larutan stok K-sorbat sebanyak 0.25 mL, 0.50 mL, 0.75 mL, 1.00 mL, 1.25 mL, 1.50 mL, dan 1.75 mL masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Lalu ke dalam labu takar tersebut ditambahkan 1 mL sampel minuman isotonik dan ditera dengan air bebas ion. Pengukuran dibuat lima kali ulangan. Absorbans tiap larutan kemudian dibaca pada λ terpilih.

Berdasarkan data yang diperoleh, dibuat kurva hubungan konsentrasi K-sorbat yang ditambahkan terhadap absorbans. Konsentrasi Na-benzoat dan K-sorbat diperoleh dengan HPSAM.

Evaluasi Parameter Analitik

Presisi (AOAC 2002). Presisi dievaluasi dengan ulangan sebanyak lima kali pada tiap konsentrasi larutan yang digunakan dan dianalisis pada hari yang sama. Presisi suatu metode analisis dianggap baik jika hasil dari penetapan ulangan mempunyai perbedaan yang kecil satu dengan lainnya. Parameter yang digunakan adalah persentase Simpangan Baku Relatif (%SBR).

$$\%SBR = \frac{SB}{x} \cdot 100$$

Keterangan:
 SB = simpangan baku
 \bar{x} = rerata hasil pengukuran

Akurasi (AOAC 2002). Akurasi dievaluasi dengan ulangan sebanyak lima kali pada tiap konsentrasi larutan yang digunakan. Akurasi suatu metode analisis dianggap baik jika nilai teoritis mendekati nilai yang terukur. Parameter yang digunakan adalah persentase galat relatif.

$$\% \text{Galat relatif} = \frac{a - b}{b} \times 100$$

Keterangan:
 a = konsentrasi terukur
 b = konsentrasi teoritis

HASIL DAN PEMBAHASAN

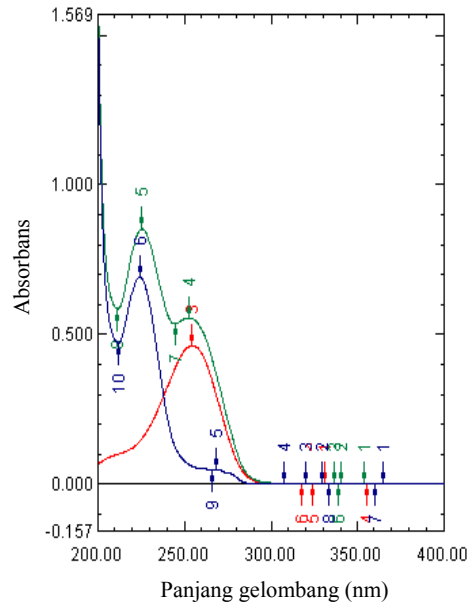
Spektrum Serapan Natrium Benzoat dan Kalium Sorbat

Pengukuran absorbans umumnya dilakukan pada panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum (λ_{maks}) karena di daerah ini absorbans paling peka terhadap perubahan konsentrasi dan paling kurang peka terhadap perubahan panjang gelombang (Skoog *et al.* 2004). Gambar 4 menunjukkan bahwa spektrum serapan Na-benzoat dengan λ_{maks} pada 224 nm dan K-sorbat pada 254.4 nm. Menurut Pylypiw dan Grether (2000), Na-benzoat dan K-sorbat memiliki λ_{maks} sebesar 225 nm dan 255 nm.

Karena kebanyakan molekul organik kompleks menyerap radiasi di atas 180 nm, pada daerah 200-400 nm terlihat satu atau lebih puncak yang menunjukkan keberadaan ikatan rangkap (Skoog *et al.* 2004). Pemilihan pelarut sangat penting untuk spektroskopi UV. Pelarut tidak boleh menyerap radiasi UV dalam daerah di mana spektrum senyawa diukur. Air merupakan pelarut yang sering digunakan karena tembus cahaya di daerah spektrum UV sampai 190 nm (Pavia *et al.* 2009). Oleh karena itu, air digunakan sebagai pelarut pada penelitian ini.

Gambar 4 menunjukkan bahwa spektrum serapan Na-benzoat dan K-sorbat bertumpang tindih sempurna sehingga tak ada satu panjang gelombang pun yang nilai absorbansnya tanpa dipengaruhi komponen lain. Sinyal analitik dari dua komponen (analit dan pengganggu) dalam suatu campuran harus sama dengan jumlah sinyal individu kedua komponen pada

HPSAM (Arvand *et al.* 2007). Spektrum serapan campuran pada Gambar 4 menunjukkan jumlah absorbans individu Na-benzoat dan K-sorbat. Semakin luas tumpang tindih maka akan semakin sulit untuk membuat resolusi karena respons yang dihasilkan kedua komponen mirip.



Gambar 4 Hasil spektrum serapan untuk campuran Na-benzoat dan K-sorbat (—), Na-benzoat (—), dan K-sorbat (—) pada λ 200 sampai 400 nm.

Kurva Kalibrasi Individu Natrium Benzoat dan Kalium Sorbat

Sebanyak lima kurva kalibrasi dibuat untuk menguji kesesuaiannya dengan hukum Lambert-Beer. Kurva kalibrasi tersebut, yaitu Na-benzoat dan K-sorbat (Lampiran 2), serta K-sorbat dengan adanya Na-benzoat sebesar 4, 6, dan 8 mg/L. Kurva kalibrasi individu dibuat pada kisaran konsentrasi linear 2-14 mg/L untuk Na-benzoat dan 1-4 mg/L untuk K-sorbat. Koefisien korelasi yang dihasilkan pada kisaran 0.9995-0.9999. Hal ini memperlihatkan bahwa tidak terjadi interaksi antara Na-benzoat dengan K-sorbat dan kurva kalibrasi sesuai dengan hukum Lambert-Beer, yaitu absorbans berbanding lurus dengan konsentrasi analit. Dengan memasukkan nilai absorbans larutan sampel ke dalam persamaan garis linear kurva kalibrasi, konsentrasi analit dalam larutan tersebut dapat dihitung.