

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

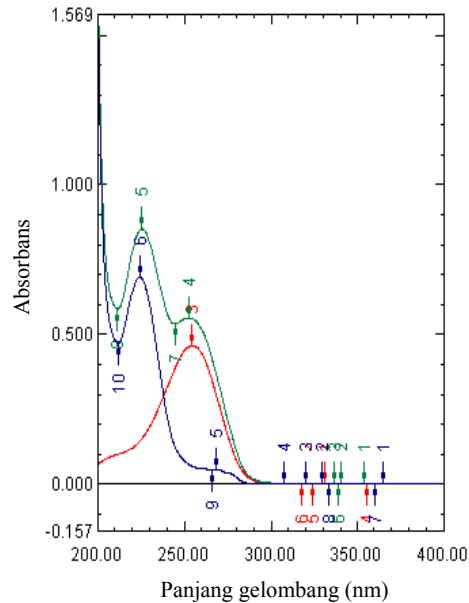
### Spektrum Serapan Natrium Benzoat dan Kalium Sorbat

Pengukuran absorbans umumnya dilakukan pada panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) 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  $\lambda_{\text{maks}}$  pada 224 nm dan K-sorbat pada 254.4 nm. Menurut Pylypiw dan Grether (2000), Na-benzoat dan K-sorbat memiliki  $\lambda_{\text{maks}}$  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  $\lambda$  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.

Tabel 1 Kurva kalibrasi kalium sorbat dengan pengaruh natrium benzoat

Analit	Perlakuan	Persamaan garis linear	R <sup>2</sup>
K-sorbat	Tanpa pengaruh Na-benzoat	$y = 0.0037 + 0.1537x$	0.9999
	Pengaruh Na-benzoat 4 mg/L	$y = 0.0311 + 0.1573x$	0.9999
	Pengaruh Na-benzoat 6 mg/L	$y = 0.0377 + 0.1592x$	0.9998
	Pengaruh Na-benzoat 8 mg/L	$y = 0.0518 + 0.1556x$	0.9995

Pembuatan kurva kalibrasi K-sorbat dengan adanya Na-benzoat sebesar 4, 6, dan 8 mg/L untuk mengetahui pengaruh Na-benzoat pada konsentrasi linear K-sorbat. Hal ini yang menjadi dasar penentuan simultan kedua senyawa dengan HPSAM. Pengaruh tersebut terlihat pada penurunan koefisien korelasi (R<sup>2</sup>) dibandingkan dengan tanpa pengaruh Na-benzoat (Tabel 1). Semakin besar konsentrasi Na-benzoat yang ditambahkan maka R<sup>2</sup> semakin menurun. Selain itu, kemiringan kurva kalibrasi yang berbeda menunjukkan bahwa sensitivitas atau kemampuan untuk memisahkan konsentrasi yang berbeda pada pengukuran K-sorbat menurun dengan adanya Na-benzoat. Data serapan kurva kalibrasi ditunjukkan pada Lampiran 3.

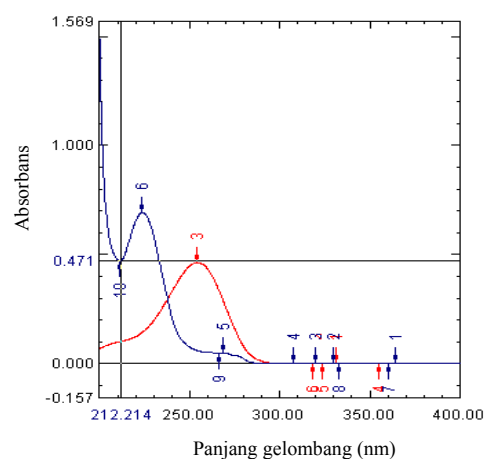
#### Penentuan Panjang Gelombang Terpilih

HPSAM membutuhkan spektrum dari pengganggu sebagai dasar dari pengukuran persamaan garis penambahan standar pada  $\lambda$  terpilih, yaitu  $\lambda_1$  dan  $\lambda_2$ . Prinsip penentuan  $\lambda$  terpilih adalah absorbans analit harus berbeda sedangkan absorbans pengganggu harus tetap sama di dua  $\lambda$  pada spektrum serapan pengganggu (Bosch-Reig & Campins-Falco 1988).

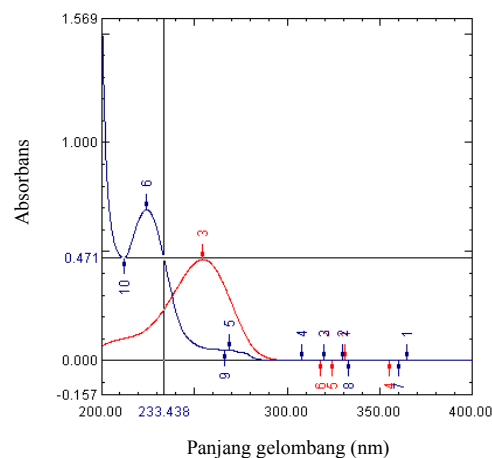
Spektrum serapan Na-benzoat pada Gambar 4 terlihat lebih landai dibandingkan dengan K-sorbat sehingga analit yang dipilih pada penelitian ini adalah K-sorbat untuk menghasilkan akurasi yang baik. Berikutnya, dapat ditentukan beberapa pasangan  $\lambda$  terpilih yang memiliki nilai absorbans yang sama untuk Na-benzoat. Persamaan garis standar adisi untuk analisis simultan dengan HPSAM diukur pada  $\lambda$  terpilih, yaitu  $\lambda_1$  dan  $\lambda_2$ . Dua garis lurus yang diperoleh dari persamaan tersebut harus memiliki perbedaan kemiringan yang besar untuk menghasilkan kepekaan dan akurasi yang baik (Arvand *et al.* 2007).

Beberapa pasangan  $\lambda$  terpilih ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ), yaitu (212.2 nm, 233.4 nm); (214.4 nm, 232.6 nm); (215.4 nm, 232 nm); (216.2 nm, 231.4 nm); dan (217 nm, 230.8 nm). Gambar 5 menunjukkan spektrum serapan pada  $\lambda$

terpilih 212.2 nm dan 233.4 nm yang mempunyai nilai absorbans yang sama, yaitu 0.470 pada spektrum serapan Na-benzoat. Spektrum  $\lambda$  terpilih lainnya ditunjukkan pada Lampiran 4. Menurut Arvand *et al.* (2007) pada pasangan  $\lambda$  terpilih, absorbans analit harus linear dengan konsentrasinya dan absorbans pengganggu tetap sama walaupun konsentrasi analit berubah.



(a)



(b)

Gambar 5 Spektrum serapan untuk Na-benzoat (—) dan K-sorbat (—) pada  $\lambda$  terpilih 212.2 nm (a) dan 233.4 nm (b).



**Analisis Kuantitatif Simultan Natrium Benzoat dan Kalium Sorbat dengan HPSAM**

Untuk analisis dua komponen, metode ini membutuhkan dua  $\lambda$  ( $\lambda_1$  dan  $\lambda_2$ ) sebagai daerah kerja dengan serapan untuk spesi X mengalami perubahan sedangkan serapan spesi lainnya Y dibuat konstan ataupun sebaliknya. Komponen atau spesi yang serapannya berubah dianggap sebagai analit, sedangkan spesi yang serapannya dibuat konstan dianggap sebagai pengganggu (Campins-Falco *et al.* 1995).

Sejumlah tertentu X yang diketahui jumlahnya ditambahkan secara berturut-turut ke dalam campuran dan serapan yang dihasilkan dari pengukuran di dua  $\lambda$  tersebut diungkapkan dengan persamaan berikut:

$$A_{(\lambda_1)} = b_0 + b + M_{\lambda_1} \cdot C_i \dots\dots\dots(1)$$

$$A_{(\lambda_2)} = A_0 + A' + M_{\lambda_2} \cdot C_i \dots\dots\dots(2)$$

dengan  $A_{(\lambda_1)}$  dan  $A_{(\lambda_2)}$  merupakan sinyal analitik yang diukur pada  $\lambda_1$  dan  $\lambda_2$ ,  $b_0$  dan  $A_0$  ( $b_0 \neq A_0$ ) adalah sinyal analitik orisinal dari X pada  $A_{(\lambda_1)}$  dan  $A_{(\lambda_2)}$  sedangkan  $b$  dan  $A'$  adalah sinyal analitik Y pada  $A_{(\lambda_1)}$  dan  $A_{(\lambda_2)}$ .  $M_{(\lambda_1)}$  dan  $M_{(\lambda_2)}$  adalah kemiringan dari kurva kalibrasi penambahan standar pada  $\lambda_1$  dan  $\lambda_2$ , dan  $C_i$  merupakan konsentrasi X yang ditambahkan. Dua buah garis lurus tersebut akan berpotongan di sebuah titik yang disebut titik-H.

Pada titik-H,  $A_{(\lambda_1)} = A_{(\lambda_2)}$  dan  $C_i = -C_H$ , maka persamaan 1 dan 2 akan menjadi:

$$b_0 + b + M_{\lambda_1} (-C_H) = A_0 + A' + M_{\lambda_2} (-C_H) \dots\dots(3)$$

$$-C_H = \frac{(A_0 - b_0) + (A' - b)}{(M_{\lambda_1} - M_{\lambda_2})} \dots\dots\dots(4)$$

Dua kesimpulan yang diambil dari persamaan 4, yaitu (Campins-Falco *et al.* 1990):

1. Jika komponen Y adalah spesi pengganggu yang diketahui dan sinyal analitik yang menunjukkan Y, yaitu  $b$  (pada  $\lambda_1$  dan  $\lambda_2$ ) tidak berubah dengan adanya adisi dari analit, yaitu X maka  $b = A'$  sehingga persamaan 4 menjadi:

$$-C_H = \frac{(A_0 - b_0)}{(M_{\lambda_1} - M_{\lambda_2})} = -C_X$$

maka  $C_H = C_X$  yang menunjukkan konsentrasi analit dalam contoh campuran karena  $-C_H$  hanya bergantung pada variabel yang berhubungan dengan analit, sehingga ekuivalen dengan persamaan berikut:

$$-C_H = \frac{(A_0 - b_0)}{M_{\lambda_1} - M_{\lambda_2}} = \frac{-b_0}{M_{\lambda_1}} = \frac{-A_0}{M_{\lambda_2}} \dots\dots\dots(5)$$

Jika nilai  $-C_H$  dimasukkan ke dalam persamaan (1),  $A_H$  yang merupakan nilai ordinat pada titik-H dapat dirumuskan menjadi:

$$A_{(\lambda_1)} = b_0 + b + M_{\lambda_1} (-C_H)$$

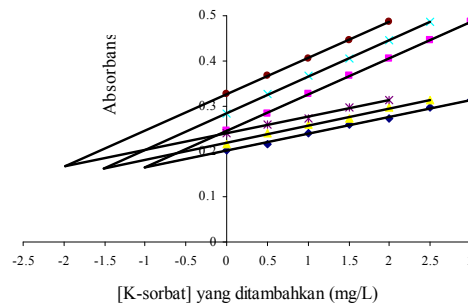
dengan  $b_0 = M_{\lambda_1} \cdot C_H$  (persamaan 6), maka:

$$A_H = b$$

dan juga,  $A_H = A'$

Oleh karena itu, nilai  $A_H$  hanya berhubungan dengan sinyal analitik dari Y pada dua  $\lambda$  yang dipilih. Konsentrasi Y dapat ditentukan dengan membuat kurva kalibrasinya berdasarkan nilai  $A_H$  yang diperoleh.

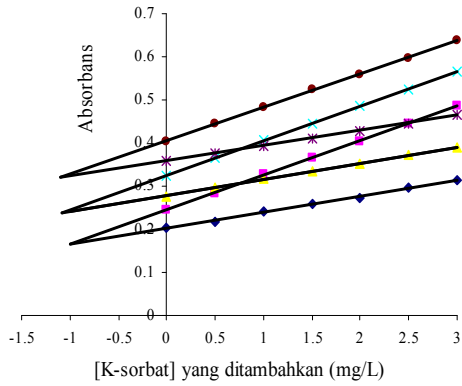
2. Jika komponen Y merupakan senyawa pengganggu yang tak diketahui, persamaan 4 dapat digunakan selama sinyal analitik Y ( $b$  di  $\lambda_1$  dan  $A'$  di  $\lambda_2$ ) tetap sama dengan adanya adisi dari analit X. Berdasarkan keterangan di atas pada titik-H,  $C_H$  independen terhadap konsentrasi Y dan  $A_H$  juga independen terhadap konsentrasi X.



Gambar 6 Plot HPSAM untuk analisis kuantitatif simultan Na-benzoat dan K-sorbat; (a) Na-benzoat = 4.00 mg/L dan K-sorbat = 1.00 mg/L; (b) Na-benzoat = 4.00 mg/L dan K-sorbat = 1.50 mg/L; (c) Na-benzoat = 4.00 mg/L dan K-sorbat = 2.00 mg/L pada  $\lambda$  terpilih 212.2 dan 233.4 nm.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang  
 1. Diarangi mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:  
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.  
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.  
 2. Dilarang memurnikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Beberapa campuran sintetik pada Gambar 6 menunjukkan  $C_H$  (konsentrasi analit) independen terhadap konsentrasi pengganggu.

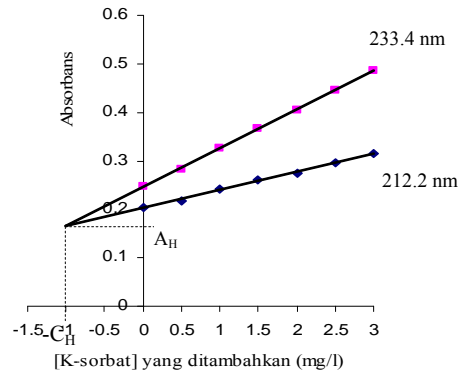


Gambar 7 Plot HPSAM untuk analisis kuantitatif simultan Na-benzoat dan K-sorbit; (a) Na-benzoat = 4.00 mg/L dan K-sorbit = 1.00 mg/L; (b) Na-benzoat = 6.00 mg/L dan K-sorbit = 1.00 mg/L; (c) Na-benzoat = 8.00 mg/L dan K-sorbit = 1.00 mg/L pada  $\lambda$  terpilih 212.2 dan 233.4 nm.

Gambar 7 menunjukkan  $A_H$  (absorbans untuk menentukan konsentrasi pengganggu) independen terhadap konsentrasi analit. Analit yang dipilih pada penelitian ini adalah K-sorbit dan sebagai pengganggu adalah Na-benzoat. Oleh karena itu, nilai pada titik  $-C_H$  merupakan konsentrasi K-sorbit dan  $A_H$  merupakan absorbans dari Na-benzoat. Konsentrasi Na-benzoat dapat dihitung menggunakan kurva kalibrasi individunya dan nilai  $A_H$ .

Menurut Abdollahi *et al.* (2003), nilai  $C_H$  dapat dilihat sebagai rasio antara kenaikan absorbans ( $\Delta A$ ) dengan kenaikan kemiringan ( $\Delta M$ ).  $\Delta M$  bergantung pada karakteristik absorpsi analit, sedangkan  $\Delta A$  bergantung pada konsentrasi analit dalam sampel. Sebelumnya telah diteliti oleh Campins-Falco *et al.* (1995) bahwa semakin besar kenaikan kemiringan maka akan semakin kecil galat dalam menentukan konsentrasi analit.

Beberapa pasangan  $\lambda$  terpilih pada Lampiran 4 akan diseleksi menjadi satu pasangan  $\lambda$  terpilih. Lampiran 5 menunjukkan bahwa  $\Delta M$  yang tertinggi pada  $\lambda$  terpilih (212.2 nm; 233.4 nm) dengan % galat relatif terkecil sehingga  $\lambda$  terpilih (212.2 nm; 233.4 nm) dipilih untuk menghasilkan akurasi yang baik.



Gambar 8 Plot HPSAM untuk analisis kuantitatif simultan Na-benzoat dan K-sorbit; Na-benzoat 4 mg/L dan K-sorbit 1 mg/L.

Gambar 8 menunjukkan plot HPSAM untuk campuran Na-benzoat dan K-sorbit. Titik-H pada plot HPSAM ini (-1.0070, 0.164) yang berarti nilai  $-C_H$  sebesar -1.0070 merupakan konsentrasi K-sorbit, yaitu 1.0070 mg/L. Jika dibandingkan dengan nilai teoritis, yaitu 1 mg/L maka diperoleh % galat sebesar 0.7%. Untuk campuran dengan Na-benzoat 6 mg/L dan 8 mg/L, konsentrasi K-sorbit yang ditemukan sebesar 1.0837 mg/L dan 1.1040 mg/L (Gambar 7). Nilai  $A_H$  sebesar 0.164 merupakan absorbans Na-benzoat. Untuk menentukan konsentrasi Na-benzoat, nilai  $A_H$  dimasukkan ke dalam kurva kalibrasi individunya pada 233.4 nm, yaitu  $y = 0.0066 + 0.0389x$ . Perhitungan konsentrasi secara matematis menggunakan persamaan 5 dan 6. Persamaan garis linear pada beberapa campuran sintetik ditunjukkan pada Lampiran 6 dan untuk sampel minuman isotonik pada Lampiran 7.

Analisis kuantitatif simultan Na-benzoat dan K-sorbit dengan HPSAM yang telah dilakukan, selanjutnya dibuat keterulangan metode ini sebanyak lima kali untuk dievaluasi (Tabel 2). Tabel 2 menunjukkan hasil analisis campuran Na-benzoat dan K-sorbit pada berbagai rasio konsentrasi dengan K-sorbit sebagai analit. Pengukuran konsentrasi Na-benzoat pada contoh A, E, F, H adalah 0.52%, 0.36%, 0.15%, 0.93% yang berarti sangat akurat (%Galat relatif < 1); dan pada contoh B, C, D, G, I adalah 1.58%, 2.39%, 1.07%, 1.08%, 1.55% yang berarti cukup akurat (%Galat relatif 1-5) menurut Harvey (2000).

Pengukuran konsentrasi K-sorbit pada contoh B adalah 0.38% yang berarti sangat

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang  
 1. Diarangkan mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:  
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.  
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.  
 2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



akurat (%Galat relatif  $< 1$ ), pada contoh A, C, E, F adalah 2.18%, 2.93%, 3.39%, 3.31% yang berarti cukup akurat (%Galat relatif 1-5); dan pada contoh D, G, H, I adalah 5.28%, 11.84%, 9.66%, 6.34% yang berarti kurang akurat (%Galat relatif  $> 5$ ) menurut Harvey (2000).

Pengukuran konsentrasi Na-benzoat pada contoh A, D, E, F, G, H, I adalah 1.95%, 1.56%, 1.42%, 1.55%, 1.27%, 1.85%, 1.01% yang berarti teliti (%SBR 1-2), dan pada contoh B, C adalah 2.08%, 3.81% yang berarti cukup teliti (%SBR 2-5) menurut AOAC (2002).

Pengukuran konsentrasi K-sorbit pada contoh A, B, C, D, E, F, G, H, dan I adalah 3.09%, 3.78%, 3.31%, 2.86%, 2.71%, 4.28%, 4.06%, 3.14%, dan 3.00% yang berarti cukup teliti (%SBR 2-5) menurut AOAC (2002).

Nilai % galat relatif pada contoh A, D, dan G semakin tinggi dengan konsentrasi K-sorbit yang sama. Hal yang sama juga terlihat pada contoh B, E, H; serta contoh C, F, I. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi Na-benzoat yang ditambahkan berbanding lurus dengan nilai % galat relatif. Semakin besar

konsentrasi Na-benzoat yang ditambahkan maka nilai % galat relatif semakin besar juga.

Pengukuran pada contoh A, B, dan C menunjukkan perbedaan % galat relatif. Hal yang sama juga terlihat pada contoh D, E, F; serta contoh G, H, I. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi K-sorbit berpengaruh terhadap pengukuran simultan kedua senyawa tersebut. Semakin besar kisaran konsentrasi K-sorbit yang ditambahkan maka sensitivitas pengukuran berkurang ditandai dengan kenaikan % galat relatif. Perhitungan konsentrasi kedua senyawa tersebut dapat dilihat pada Lampiran 8.

Menurut Fitriana & Resmi (2009), sampel minuman isotonik mengandung Na-benzoat dan K-sorbit masing-masing sebesar 3.1618 dan 0.9120 mg/L. Hasil uji coba metode HPSAM dengan membandingkan terhadap nilai rujukan di atas, menunjukkan pengukuran konsentrasi Na-benzoat adalah 1.11% yang berarti cukup akurat (%Galat relatif 1-5) dan 1.06% yang berarti teliti (%SBR 1-2), K-sorbit adalah 25.60% yang berarti kurang akurat (%Galat relatif  $> 5$ ) dan 3.80% yang berarti cukup teliti (%SBR 2-5) pada sampel minuman isotonik.

#### Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang memurnikan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Tabel 2 Hasil pengukuran analisis kuantitatif simultan Na-benzoat dan K-sorbat dengan HPSAM pada campuran sintetik dengan  $\lambda$  terpilih 212.2 dan 233.4 nm

Konsentrasi teoritis (mg/L)	Konsentrasi ditemukan (mg/L)		% SBR		% Galat relatif	
	Na-benzoat*	K-sorbat*	Na-benzoat	K-sorbat	Na-benzoat	K-sorbat
A						
Na-benzoat: 4 K-sorbat: 1	3.9791	1.0218	1.95	3.09	0.52	2.18
B						
Na-benzoat: 4 K-sorbat: 1.5	3.9369	1.5057	2.08	3.78	1.58	0.38
C						
Na-benzoat: 4 K-sorbat: 2	4.0956	1.9415	3.81	3.31	2.39	2.93
D						
Na-benzoat: 6 K-sorbat: 1	6.0107	1.0528	1.56	2.86	1.07	5.28
E						
Na-benzoat: 6 K-sorbat: 1.5	6.0214	1.5508	1.42	2.71	0.36	3.39
F						
Na-benzoat: 6 K-sorbat: 2	6.0091	2.0662	1.55	4.28	0.15	3.31
G						
Na-benzoat: 8 K-sorbat: 1	7.9140	1.1184	1.27	4.06	1.08	11.84
H						
Na-benzoat: 8 K-sorbat: 1.5	7.9257	1.6449	1.85	3.14	0.93	9.66
I						
Na-benzoat: 8 K-sorbat: 2	7.8760	2.1269	1.01	3.00	1.55	6.34
Sampel						
Na-benzoat <sup>†</sup> : 3.1618 K-sorbat <sup>†</sup> : 0.9120	3.1267	0.6787	1.06	3.80	1.11	25.60

Keterangan: \*rerata dari lima kali ulangan  
<sup>†</sup>konsentrasi rujukan (Fitriana & Resmi 2009)

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.