

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Penelitian Terdahulu

Tabel 2. 1 Hasil Penelitian Terdahulu isi

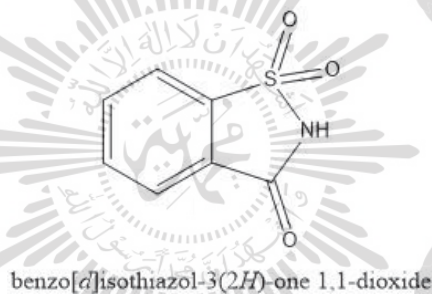
Nama Peneliti	Hasil Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Chen <i>et al.</i> , 2022	Penelitian tersebut menggunakan metode HPLC- densitometri dengan konfirmasi SERS berhasil digunakan untuk skrining cepat sakarin pada berbagai minuman. Validasi dengan linearitas, LOD, LOQ, recovery dan %RSD. metode ini mampu membedakan sakarin dari komponen lain secara jelas dan spesifik melalui spektrum.	Penelitian tersebut sama-sama untuk mendeteksi dan menentukan kadar sakarin pada sampel minuman, menghasilkan data kuantitatif kadar sakarin bukan hanya identifikasi, tetapi juga melakukan validasi metode.	Terdapat perbedaan yang akan dilakukan pada penelitian yaitu dengan menggunakan metode <i>microfluidic paper-based analytical devices</i> yang lebih sederhana.
Sarwendah <i>et al.</i> , 2018	Penelitian menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Kekurangan metode ini adalah biaya tinggi, memerlukan larutan cukup banyak, dan waktu analisis lama.	Sama-sama meneliti sakarin dan menggunakan parameter validasi.	Penelitian tersebut langsung menggunakan metode $\mu$ PADs sebagai metode alternatif yang lebih cepan dan sederhana.
Ary & Aulia, 2022	Penelitian tersebut menggunakan metode titrasi untuk mendeteksi senyawa sakarin dan menunjukkan hasil bahwa sampel yang diuji tidak mendeteksi adanya senyawa sakarin pada sampel, kelemahan dari metode ini yaitu tidak dapat mendeteksi senyawa sakarin dalam kadar yang rendah.	Persamaan dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu dari kandungan senyawa yang dideteksi dan penggunaan reagen resorsinol sebagai indikator untuk mendeteksi senyawa sakarin.	Perbedaan dengan metode yang akan diteliti yaitu metodenya, pada metode terdahulu menggunakan metode deskriptif sedangkan pada metode yang akan dilakukan sebagai metode alternatif yang lebih mudah dan lebih sederhana yaitu <i>microfluidic paper-based analytical device</i> dengan melakukan

			validasi metodenya agar hasilnya lebih akurat.
Romsiah & Dwi, 2018	Penelitian ini menggunakan sampel uji pada es tidak bermerek dengan metode yang digunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan fase gerak etanol:ammonia (9:1) untuk menganalisis kandungan sakarin dan siklamat dengan perubahan warna yang terjadi pada deteksi sakarin yaitu menjadi warna hijau, namun memiliki kelemahan seperti sensitivitas yang rendah sehingga berpotensi kedalam hasil interpretasinya.	Deteksi senyawa kandungan dengan reagen yang digunakan yaitu resorsinol.	Penelitian yang akan dilakukan bukan hanya sekedar menguji perubahan warnanya saja tetapi dengan melakukan validasi metode untuk lebih memastikan bahwa metode <i>microfluidic paper-based analytical device</i> ini mampu memberikan hasil yang lebih akurat pada sampel yang diteliti.

## B. Landasan Teori

### 1. Natrium Sakarin/Sodium Sakarin

Natrium sakarin (*Sodium sakarin*) merupakan bentuk garam natrium dari sakarin, senyawa kimia dengan rumus  $C_7H_5NO_3S$ . Sakarin pertama kali ditemukan oleh Constantin Fahlberg pada tahun 1879 di laboratorium Ira Ramsen, Johns Hopkins University, ketika ia menyadari adanya rasa manis yang melekat pada jarinya setelah melakukan penelitian pada turunan. Secara kimia, sakarin termasuk dalam golongan senyawa o-sulfobenzimida, yang tidak mengandung kalori dan tidak dimetabolisme oleh tubuh sehingga sering digunakan sebagai alternatif pengganti gula pada penderita diabetes atau program diet rendah kalori (Magnuson *et al.*, 2016). Sodium sakarin larut dalam air dan lebih stabil sehingga lebih sering digunakan dalam formulasi minuman, obat-obat (sirup, tablet kunyah), dan produk pangan.



**Gambar 2.1 Struktur Sakarin (ChemDraw Professional 16., 2016)**

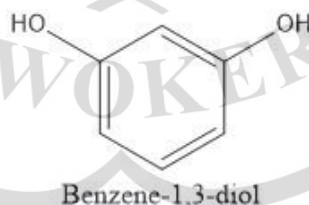
Struktur sakarin terdiri atas cincin benzene yang terikat pada gugus imida (NH) dan gugus sulfonil (SO<sub>2</sub>) membentuk heterosiklik. Struktur tersebut menyebabkan sakarin memiliki sifat kimia stabil, tidak mudah terurai pada suhu tinggi, dan sangat larut dalam air dalam bentuk garamnya seperti natrium sakarin. Bentuk cincin aromatik memberikan kestabilan, sementara gugus sulfonil dan imida berperan dalam interaksi dengan reseptor rasa manis. Garam natrium yang digunakan dalam produk makanan, pelarutnya menjadi jauh lebih baik. Garam natrium inilah yang digunakan sebagai pemanis dalam industri pangan dan farmasi.

**Tabel 2.2 Sifat Fisika Kimia Sakarin**

Sifat Fisika dan Kimia	
Rumus Kimia	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>3</sub> S
Bobot molekul	183,1845
Bentuk	Kristal putih
Titik lebur	228,8-229,7°C
Kelarutan	Larut dalam air

Sakarin memiliki rasa dengan tingkat kemanisan sekitar 300-500 kali lebih manis dari sukrosa, sukrosa merupakan pemanis alami yang berasal dari tebu atau bit gula dan termasuk dalam golongan disakarida yang terdiri atas glukosa dan fruktosa, sedangkan sakarin merupakan pemanis buatan, dari beberapa data keluhan yang sudah beredar sudah ditetapkan batas maksimum untuk penggunaan sakarin yaitu sekitar 80 mg/kg (BPOM, 2024) dan sekitar 0-5 mg/kg BB, artinya konsumsi harian sakarin dianggap aman selama tidak melebihi angka tersebut perhari tergantung berat badan seseorang. Sakarin bekerja dengan cara berinteraksi dengan reseptor manis (T1R1/T1R3) pada permukaan sel pengecap lidah, reseptor ini bekerja seperti kunci dan gembok- sakarin mengunci reseptor sehingga otak menerima sinyal bahwa kita sedang merasakan sesuatu yang manis meskipun sebenarnya tidak ada gula.

2. Resorsinol



**Gambar 2.2 Struktur Resorsinol (ChemDraw Professional., 2016)**

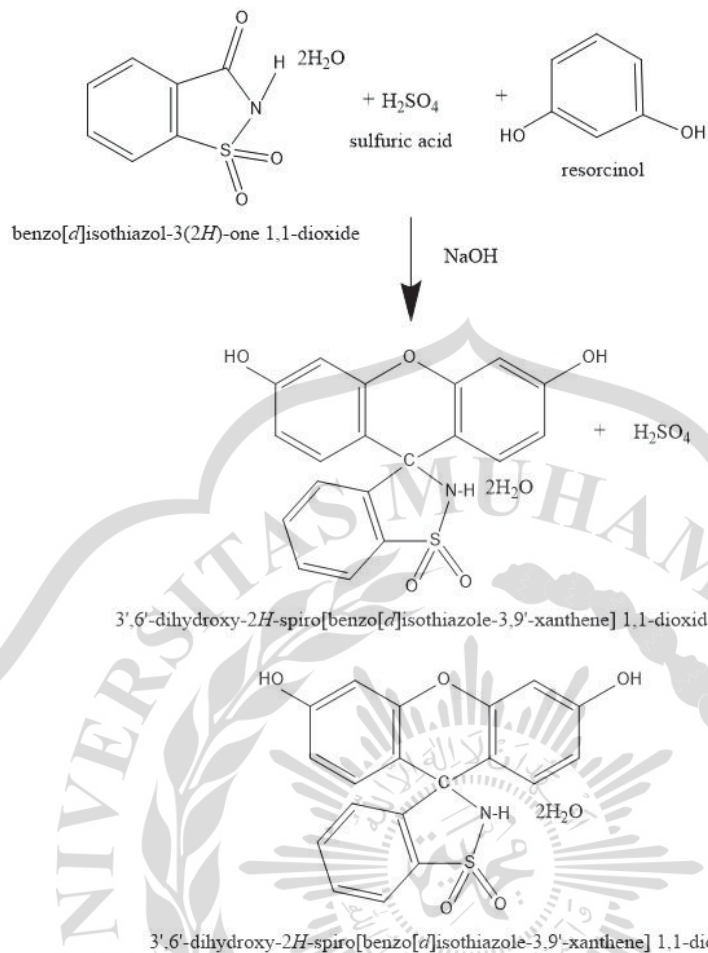
Resorsinol merupakan senyawa aromatic yang termasuk kedalam golongan diol fenolik, dengan gugus hidroksil (OH) yang terikat pada posisi 1 dan 3 dari cincin benzene. Struktur simetrisnya menjadikan senyawa ini bersifat polar dan mudah larut dalam air serta pelarut organik seperti etanol dan eter. Resorsinol

berfungsi sebagai reagen pewarna penting terutama dalam metode kolorimetri. Dalam kondisi asam dan pemanasan, resorsinol dapat bereaksi dengan sakarin dan ditambah dengan larutan basa NaOH sebagai indikator keberadaan sakarin dalam sampel pangan (Silva & Lopes, 2022).

**Tabel 2.3 Sifat Fisika Kimia Resorsinol**

Sifat Fisika dan Kimia	
Rumus Kimia	$C_6H_4(OH)_2$
Bobot Molekul	110,11 g/mol
Bentuk	Kristal sangat putih
Titik Leleh	109-111°C
Titik Didih	280°C
Kelarutan	Larut dalam air

Resorsinol memiliki rumus kimia  $C_6H_4(OH)_2$  dengan berat molekul sekitar 110,11 g/mol dan membentuk seperti kristal berwarna sangat putih dengan titik leleh sekitar 109-111°C dan titik didih sekitar 280°C serta kelarutan resorsinol ini larut dengan air (Depkes,2020). Resorcinol biasanya dapat digunakan untuk mendeteksi sakarin Bersama dengan NaOH dengan perubahan warna yang terjadi menjadi warna hijau kekuningan. Resorcinol pada alternatif metode pengembangan *microfluidic paper-based analytical device* ini menjadi reagen terhadap reaksi warna yang terjadi secara cepat dan efisien di dalam minuman.



**Tabel 2.4 Reaksi Pembentukan Warna Sakarin dengan Resorsinol (Suliati, 2020)**

Natrium sakarin merupakan bentuk garam dari sakarin, penambahan HCl pada sampel berfungsi untuk melepas garam natrium sehingga memberikan suasana yang asam. Suasana asam ini untuk memungkinkan proses ekstraksi dan menggunakan pelarut organik nonpolar seperti dietil eter yang memisahkan sakarin dari matriks sampel lainnya. Setelah diekstraksi, pelarut di uapkan hingga diperoleh residu kering. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> yang mempunyai tujuan untuk memecah sisa garam pada sakarin. Penambahan resorsinol untuk memberi perubahan warna menjadi hijau kekuningan yang bereaksi secara spesifik dengan gugus amida aromatic dalam struktur sakarin, resorsinol dapat bereaksi dengan sakarin karena terdapat senyawa organik yang memiliki gugus amida dan dapat berinteraksi dengan senyawa fenolik yang ada dalam resorcinol dan penambahan NaOH akan mengubah sampel menjadi suasana basa dan memperjelas perubahan warna yang terjadi. Mekanisme pewarnaan ini

didukung oleh reaksi konjugasi antara system aromatic resorsinol dan heterosiklik sakarin yang menghasilkan senyawa kromofor yang dapat diamati (Suliaty *et al.*, 2020).

### 3. *Microfluidic Paper-Based Analytical Device* ( $\mu$ PADs)

#### a. Metode $\mu$ PADs

Sensor kimia merupakan perangkat yang dapat merubah energi atau reaksi kimia yang termasuk dalam informasi kimianya. Sensor kimia ini digunakan dengan meneteskan reagen yang dapat merubah analit elemen sensor sehingga terjadi reaksi atau perubahan warna (Mulyani *et al.*, 2022). *Microfluidic paper-based analytical device* ini dikonseptualisasikan pertama kali pada tahun 2007 dan metode ini sangat inovatif dan ramah lingkungan, dalam beberapa tahun terakhir metode ini semakin banyak diminati oleh peneliti dengan dilihat dari potensi yang mulai berkembang untuk menganalisis baik makanan maupun minuman dengan penyaringan bahan secara cepat, mudah, dan sedikit reagen yang digunakan sehingga mempertahankan akurasi dalam mendeteksi *microfluidic paper-based analytical device* ini termasuk dalam metode yang mudah dan hemat karena menggunakan kertas yang merupakan bahan selulosa dan terdapat dimana-mana. Kertas memiliki pori sehingga dapat menyerap lebih banyak reagen dan sampel (Convery, 2019).

#### b. Fabrikasi $\mu$ PADs

Fabrikasi  $\mu$ PADs pertama kali didemonstrasikan pada tahun 1949 dengan membuat pola paraffin melalui cetakan yang ditekan ke arah kertas yang sudah dipanaskan agar parafin bisa meleleh dipindahkan menjadi polahidrofobik sehingga aliran pada kertas akan terjadi secara otomatis. Penghalang hidrofobik juga dapat dibuat dengan menggunakan beberapa pola seperti:

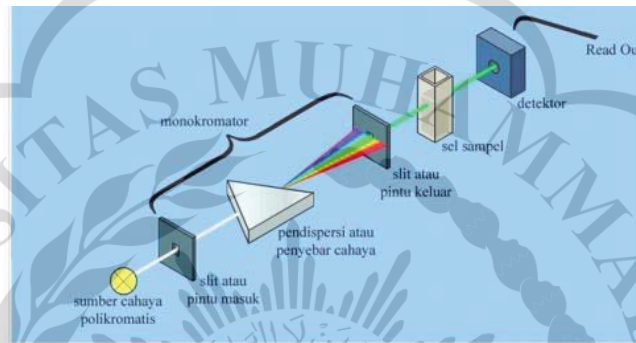
**Tabel 2.5 Perbandingan Berbagai Pola Fabrikasi  $\mu$ PADs (Nuchtavorn & Suntornsuk, 2022)**

Pola	Kelebihan	Kekurangan
<i>Photolithography</i>	Resolusi tinggi, dapat membuat struktur yang lebih kompleks dan presisi.	Mebutuhkan reagen banyak, biaya cukup mahal. Waktu yang lama dan kontrol suhu kelembaban secara ketat.
<i>Wax printing</i>	Mebutuhkan waktu <5 menit untuk membuat pola dan minim terhadap kontaminasi dengan polimer lain.	Kurang baik untuk gambar yang ukuran kecil, kualitas gambar berpengaruh pada bahan yang digunakan dan kurang tepat untuk gambar yang kompleks.
<i>Screen printing</i>	Limbah lebih ramah lingkungan dibandingkan pola <i>photolithography</i> , dan memungkinkan fabrikasi dalam jumlah yang besar produksi massal.	Ketahanan pada pola ini terbatas terhadap pelarut, hanya bisa digunakan untuk pola yang sederhana dan konsistensi tinta juga tergantung dari viskositas tinta yang digunakan.
<i>Inject printing</i>	Mengurangi resiko rusak pada kertas, mudah untuk produksi massal dan limbahnya lebih sedikit	Kurang efektif pada pola hidrofobik, memerlukan lapisan tinta yang tebal, pola kurang presisi jika permukaan tidak rata dan tidak semua tinta dapat digunakan pada <i>inject printing</i> .
<i>Drawing</i>	Mudah dilakukan, biaya rendah, sederhana, limbah yang dihasilkan juga lebih sedikit dan prosesnya cepat.	Produksi massal tidak efisien dan tidak cocok untuk pola yang kompleks

#### 4. Spektrofotometri Uv-Vis

Spektrofotometri Uv-Vis merupakan salah satu teknik analisis instrumental yang digunakan untuk mengukur absorbansi suatu zat terhadap radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang 200-400 nm dan cahaya tampak 400-800 nm (FI edisi IV, 1995). Alat ini berfungsi untuk mendeteksi serapan cahaya sebagai akibat dari interaksi antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari

suatu senyawa kimia. Prinsip kerja spektrofotometer Uv-Vis mengacu pada hukum Lambert-Beer, yang menyatakan bahwa absorbansi cahaya oleh suatu zat dalam larutan berbanding lurus dengan konsentrasi zat tersebut dan panjang lintasan yang dilalui. Prosesnya, sebagian cahaya akan diserap oleh sampel sementara sebagian lainnya dipantulkan dan diteruskan. Spektrofotometer Uv-Vis memiliki jangkauan panjang gelombang yang luas dari ultraviolet sehingga mendekati inframerah, sehingga memungkinkan untuk menganalisis berbagai jenis senyawa, baik organik maupun anorganik (Oshina & Spigulis, 2021).



Sumber: [wocono.wordpress.com](http://wocono.wordpress.com)

**Gambar 2.3 Skema kerja alat spektrofotometri UV-Vis**

Spektrofotometer UV-Vis terdiri dari lima komponen utama yaitu sumber cahaya, seperti lampu untuk UV dan *tungsten/wolfram* untuk Vis, dengan menghasilkan cahaya polikromatis. Monokromator untuk mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Kuvet yang berfungsi sebagai tempat atau wadah sampel atau larutan selama pengukuran. Detektor menangkap cahaya yang melewati sampel dan mengubahnya menjadi sinyal listrik, idealnya memiliki sensitivitas tinggi, respon, cepat, dan noise rendah (Cam-posso *et al.*, 2020).

Tipe instrumentasi dari spektrofotometer Uv-Vis (Purbaningtias *et al.*, 2020):

a. Spektrofotometer *Single Beam*

Spektrofotometer tipe *single beam* hanya menggunakan satu jalur cahaya. Sinar dari sumber cahaya diarahkan melalui monokromator untuk memilih Panjang gelombang tertentu, lalu melewati kuvet yang berisi larutan sampel, sehingga bisa dideteksi oleh sensor optik. Pengukuran blanko dan sampel dilakukan secara bergantian, sehingga intensitas cahaya dari blanko digunakan sebagai acuan untuk mengoreksi hasil pengukuran sampel, tipe ini memiliki struktur alat lebih sederhana.

b. Spektrofotometer *Double Beam*

Spektrofotometer *double beam* ini menggunakan dua jalur cahaya yang bekerja secara bersamaan. Cahaya dipilih oleh monokromator, sinyal dibagi menjadi dua jalur, satu diarahkan ke kuvet yang berisi larutan sampel dan satunya diarahkan ke kuvet yang berisi blanko. Kedua sinyal tersebut ditangkap dan dibandingkan oleh detektor. Analisis menjadi cepat dan efisien karena tidak perlu mengukur blanko dan sampel secara terpisah. Perbedaan mendasar antara keduanya terletak pada jalur cahaya serta cara pengukuran sampel dan blanko dilakukan secara simultan atau bergantian.

5. Validasi Metode

a. Linearitas

Linearitas merupakan metode analisis yang digunakan untuk mengetahui hubungan linear antara konsentrasi dengan detector dilihat dari nilai koefisien korelasi atau nilai R pada kurva baku kalibrasi pada analisis regresi linear  $y=bx+a$ .

b. Presisi

Presisi merupakan hasil konsistensi yang sudah diukur berulang-ulang menggunakan sampel dan perlakuan yang sama. Terdapat 3 kategori utama dalam presisi yaitu *repeatability* (keterulangan), *intermediate precision* (presisi menengah) dan *reproducibility* (presisi antara laboratorium. *Repeatability* menggambarkan tingkat kecocokan hasil dari pengukuran berulang yang dilakukan oleh analisis yang sama, menggunakan alat dan bahan yang sama, serta dalam kondisi lingkungan yang konstan, dalam rentang waktu yang singkat atau pada hari yang sama. Presisi menengah menunjukkan konsistensi hasil uji yang diperoleh dari pengukuran yang dilakukan di satu laboratorium, tetapi oleh analisis yang berbeda atau pada hari yang berbeda, meskipun masih menggunakan alat dan bahan yang sama. Sedangkan *reproducibility* mengacu pada konsistensi hasil uji yang diperoleh di berbagai laboratorium berbeda, dengan variasi alat, operator, atau lingkungan pengujian. Kriteria keberterimaan dari presisi ini dilihat dari simpang baku relatif kurang dari 2% (Purbaningtias *et al.*, 2020).

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$\text{RSD} = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

Pada Kadar 1% atau lebih, standar deviasi relative antara laboratorium adalah sekitar 2,5%, jika satu per seribu sekitar 5%, pada kadar satu persepjuta atau dalam bentuk ppm adalah 16% dan pada kadar part per billion (ppb) sekitar 32%. Pada metode yang sangat kritis, secara umum diterima bahwa RSD harus lebih dari 2% (Riyanto, 2014).

c. Sensitivitas

Tingkat Sensitivitas suatu metode analisis dapat dilihat dari nilai LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantification*). LOD merupakan jumlah analit yang paling kecil dalam suatu sampel yang dapat dideteksi sedangkan LOQ merupakan konsentrasi terendah analit dalam suatu sampel (Riyanto, 2014).

Nilai LOD diperoleh dari  $3x$  standar error intersep dan membaginya dengan nilai slope (*kemiringan*) dari persamaan regresi linear. Sedangkan pada nilai LOQ dihitung dari 10 kali dari standar error intersep dibagi dengan slope kurva baku natrium sakarin, sehingga menurut Riyanto, 2014:

$$\text{LOD} = \frac{3x \text{ Sa Blanko}}{\text{Slope}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10x \text{ Sa Blanko}}{\text{Slope}}$$

Keterangan:

SD = *Standard error* intersep

Slope = Nilai b dari persamaan kurva baku

d. Akurasi

Validasi akurasi dalam penelitian ini dilakukan dengan membandingkan hasil yang diperoleh dari pengukuran kadar sampel menggunakan alat  $\mu$ PADs dengan hasil spektrofotometri UV-Vis. Prinsip kerja spektrofotometri Uv-Vis yaitu pada absorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dari suatu sampel yang dianalisis (Abriyani *et al.*, 2022).

1) Aplikasi Kadar Natrium Sakarin Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Metode Spektrofotometri UV-Vis digunakan sebagai metode referensi atau pembanding dalam penelitian ini karena memiliki sensitivitas yang tinggi dan telah banyak digunakan dalam penetapan kadar senyawa kimia secara kuantitatif

(Abriyani *et al.*, 2022). Prinsip kerja metode ini didasarkan pada pengukuran absorpsi cahaya oleh larutan analit pada Panjang gelombang tertentu.

2) Aplikasi Kadar Natrium Sakarin menggunakan Metode  $\mu$ PADs

Metode  $\mu$ PADs berbasis reaksi kolorimetri antara sakarin dan reagen resorsinol menghasilkan perubahan warna yang diukur menggunakan *ImageJ* dengan membandingkan terhadap kurva baku. Kurva kalibrasi diperoleh dari larutan standar sakarin 2,4,6,8, dan 10 ppm dan diperoleh hubungan linear antara intensitas warna dan konsentrasi.

Dilakukan juga uji *recovery* dengan menambahkan standar sakarin ke dalam sampel control negative sebanyak 2,4, dan 6 ppm. *Recovery* merupakan analisis hasil dengan kadar analit sebenarnya setelah analisis. Kriteria keberterimaan pada akurasi yaitu sekitar 80% - 110% (AOAC, 2016).

Rumus *recovery*:

$$Recovery = \frac{Konsentrasi\ Terukur\ (hasil\ analisis)}{Konsentrasi\ yang\ ditambahkan\ standar} \times 100\%$$

**Tabel 2.6 Batas Penerimaan Recovery Menurut AOAC berdasarkan Konsentrasi analit**

Kadar Analit (ppm)	Recovery yang Diterima (%)
1-10 ppm	80-110
10-100 ppm	85-110
100-1000 ppm	90-108
>1000 ppm	95-105

3) Perbandingan antara metode Spektrofotometri UV-Vis dengan metode  $\mu$ PADs

Perbandingan metode ini dilakukan untuk mengevaluasi kesesuaian metode  $\mu$ PADs dibandingkan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dengan membandingkan nilai kadar yang dihasilkan dari kedua metode tersebut dengan dilakukan uji statistic (*paired t-test*). Jika nilai  $p > 0,05$ , maka tidak terdapat perbedaan signifikan antara metode (McClave & Sincich, 2017).

### C. Kerangka Konsep

