

## **Analisis Secara Simultan Beberapa Campuran Pemanis Pada Produk Minuman Ringan Dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**

### ***(Simultaneous Analysis of Sweetener in Beverages Samples Using High Pressure Liquid Chromatography)***

**Tetty Uli Situmeang<sup>1)</sup>, Jansen Silalahi<sup>1\*)</sup>, Hotnida Sinaga<sup>2)</sup>, dan Candra Sigalingging<sup>3)</sup>**

<sup>1,2)</sup> Departemen Ilmu Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

<sup>1\*)</sup> Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan Indonesia

<sup>3)</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Nahdlatul Ulama Sumatera Utara

Email korespondensi: [jansen@usu.ac.id](mailto:jansen@usu.ac.id)

#### **ABSTRAK**

Minuman ringan umumnya selalu mengandung pemanis, sehingga perlu adanya pengembangan metoda untuk mengukur kadar pemanis dalam minuman ringan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan pemanis dapat memicu timbulnya berbagai macam penyakit sehingga perlu dilakukan pengawasan terhadap penggunaannya pada minum ringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode analisis dan mengetahui kadar asesulfam, natrium sakarin dan aspartam pada sampel minuman ringan di kota Medan. Penelitian ini bersifat eksperimental deskriptif dengan menggunakan metode KCKT fase terbalik dengan kolom Eclipse plus C18 250 x 4,6 mm, 5 µm, fase gerak buffer fosfat pH 5 : metanol (70 : 30), laju alir 1,0 mL/menit. Hasil validasi metode menunjukkan uji linearitas telah memenuhi syarat dengan koefisien determinasi (R<sup>2</sup>) yaitu sebesar 0,99998 - 0,99999. Nilai LOD berkisar antara 0,0482 hingga 0,2482 mg/kg. LOQ berkisar antara 0,1605 hingga 0,8273 mg/kg, dan nilai persen RSD keterulangan berkisar 0,62% -0,91%, dan presisi antara metode 0,31% -0,63%. Hasil persen recoverynya rata-rata sebesar 93,59% – 105,28%. Metode ini telah berhasil diterapkan pada penentuan kadar pemanis pada produk minuman ringan.

**Kata Kunci:** KCKT, Minuman ringan, Pemanis

#### **PENDAHULUAN**

##### **Latar Belakang**

Di Indonesia, penjualan minuman ringan dalam kemasan (ready to drink) terus mengalami pertumbuhan pesat dari tahun ke tahun, terlihat dari semakin banyaknya produk minuman ringan dalam berbagai merek yang ada dipasaran. Data yang diperoleh dari kementerian perindustrian, pertumbuhan industri minuman dan makanan selama periode 2015-2019 rata-rata sekitar 8,16%. Industri makanan dan minuman masih mampu tumbuh positif sebesar 1,58% pada tahun

2020 ditengah kondisi pandemi (Nasution et al., 2022)

Minuman ringan adalah salah satu produk minuman yang banyak dikonsumsi masyarakat dan menjadi gaya hidup yang dikonsumsi secara rutin (Lim et al., 2018). Konsumsi soft drink dalam jumlah besar dapat membuat berlebihnya asupan energi dan dapat berakibat terjadinya. Minuman ringan yang mengandung pemanis dapat mempengaruhi fungsi insulin dan sistem gula darah tubuh sehingga meningkatkan risiko penyakit diabetes (Deliens et al., 2015).

Perubahan pola makan, termasuk peningkatan konsumsi minuman ringan,

berkontribusi terhadap prevalensi penyakit kronis seperti obesitas, diabetes tipe 2 dan hipertensi (Hwang et al., 2020)

Adapun penelitian terkait metode analisis simultan pemanis secara KCKT masih sedikit dilakukan seperti penetapan kadar asesulfam, aspartam, sakarin yang terkandung dalam minuman ringan (Asci et al., 2016 ;Purnomo, 2013; Cheng & Wu, 2011; Kritsunankul & Jakmunee, 2011; Liu et al., 2014; Mufidah, 2012; Suprianto et al., 2018). Oleh karena itu, perlu dikembangkan metode analisis secara simultan untuk mengukur kadar pemanis (asesulfam, natrium sakarin, aspartam) dengan menggunakan alat KCKT sehingga proses pengujian dapat lebih cepat, tepat, efisien dan dapat dipercaya secara ilmiah.

### **Tujuan Penelitian**

1. Mengembangkan metode penetapan kadar asesulfam, sakarin dan aspartam, secara simultan mempergunakan KCKT.
2. Menentukan kondisi optimum metode analisis penetapan kadar asesulfam, sakarin dan aspartam secara simultan. Serta menguji penggunaan metode analisis hasil optimasi terhadap beberapa sampel minuman ringan yang beredar di pasaran.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Alat**

Seperangkat alat KCKT lengkap dengan detektor PDA (Shimadzu LD 20 AD) kolom Eclipse plus C18 ukuran partikel 5 µm, 250 x 4.6 mm (Shimadzu), timbangan analitik (Mettler Toledo), pH meter (Mettler Toledo), digital sonikator, seperangkat alat spektrofotometer UV 1800 (Shimadzu), vacuum pump, polytetrafluoroethylene (PTFE) membrane filter 0,45, wadah fase gerak, jarum suntik 1 cc, labu ukur 10, 25, 50, 100, 500 ml, pipet volume 1, 2, 3, 5, 10 ml, gelas ukur 10, 50, dan 100 ml, pipet mikro volume 100 – 1000 µl (Eppendorf) dan peralatan gelas lainnya.

### **Bahan**

Larutan standar asesulfam-K, natrium sakarin, aspartam (BPFI), sampel minuman ringan. Metanol HPLC Grade, Kalium dihidrogen fosfat, dikalium hidrogen fosfat, asam fosfat (Merck) dan aquabidest.

### **Prosedur Penelitian**

#### **Sampling Minuman Ringan**

Proses sampling dilaksanakan dengan melakukan survey komposisi bahan pemanis (asesulfam, aspartam, sakarin) dalam minuman ringan di Kota Medan. Dan dari hasil survey kemudian dilakukan pemilihan 5 merek sampel minuman ringan berdasarkan kandungan analit yang yang ditambahkan ke dalam sampel tersebut. Sampel yang dipilih harus memiliki kemasan yang baik dan belum kadaluarsa. Dari hasil survey tersebut dipilih 5 merek minuman ringan yang mengandung analit sebagai sampel uji penetapan kadar dengan diberi kode A, B, C, D dan E.

Ditimbang sejumlah lebih kurang 2 gram sampel minuman ringan yang telah homogen, dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 ml, ditambah aquadest hingga garis tanda dan disonikasi beberapa menit. Kemudian, larutan sampel dipipet sebanyak 2,0 ml dimasukkan kedalam labu tentukur 10 ml dan diencerkan dengan aquadest sampai garis tanda. Larutan uji disaring menggunakan penyaring membran syringe filter 0,45 µm ke dalam vial autosampler dan diinjeksikan sebanyak 20 µl. Kemudian diplot luas area vs konsentrasi dari masing-masing analit dan diperoleh persamaan garis regresi liniernya yaitu  $Y = bX + a$ . Kadar analit kemudian dihitung berdasarkan persamaan regresi masing-masing analit yang sudah diperoleh.

#### **Penentuan Panjang Gelombang**

Panjang gelombang analisis ditentukan dengan membuat kurva serapan baku asesulfam, aspartam, sakarin, benzoat dan sorbat. Masing-masing larutan baku 10 ppm, disaring dengan penyaring syringe PTFE 0,45 µm, disonikasi terlebih dahulu

dan diinjeksikan 20 µl, dilakukan pengukuran absorbansi pada rentang panjang gelombang 190 - 300 nm menggunakan spektrofotometer UV. Spektrum yang diperoleh kemudian dipakai untuk menetapkan kondisi percobaan selanjutnya.

### Penentuan kondisi optimum dari variasi komposisi fase gerak, pH fase gerak dan laju alir

Dilakukan optimasi pH fase gerak untuk memperoleh pH larutan dapar fosfat yang memberikan pemisahan senyawa dengan baik dimana parameter yang dipakai untuk menetapkan kondisi percobaan yang tepat yaitu berdasarkan waktu tambat, resolusi dan faktor kapasitas yang diperoleh. Pengujian dilakukan pada suhu oven 30 °C, fase gerak dengan perbandingan dapar fosfat : metanol (65 : 35; 70:30 dan 75:25), laju alir 1 ml/menit, larutan yang diinjeksi analit 20 µL larutan baku campuran (LBC) dengan variasi pH 3, 5 dan 7, dengan mempergunakan panjang gelombang detektor hasil optimasi dan diperoleh hasil pengukuran yang nilainya memenuhi parameter yang dipersyaratkan (faktor tailing, jumlah lempeng teoritis, waktu retensi dan resolusi).

### Validasi Metoda

Hasil optimasi metoda analisis yang diperoleh, kemudian divalidasi dengan parameter yang meliputi linieritas, batas deteksi, batas kuantitasi, akurasi dan presisi.

### Linieritas Baku

Dibuat larutan baku seri disaring dengan syringe filter PTFE 0,45 µm dan disonikasi kurang lebih selama 15 menit. Larutan baku seri ini kemudian diinjeksikan ke alat KCKT sebanyak 20 µL. Hasil kromatogram yang diperoleh, dianalisis luas area masing-masing analit kemudian ditentukan persamaan regresi linier dari setiap analit sebagai  $Y = aX + b$  dan dihitung nilai korelasi regresi ( $r$ ). Suatu metode dikatakan memiliki

linearitas yang baik jika nilai  $r > 0,99$  atau  $R^2 > 0,997$  (Meyer, 2010; ICH, 2014; AOAC, 2016).

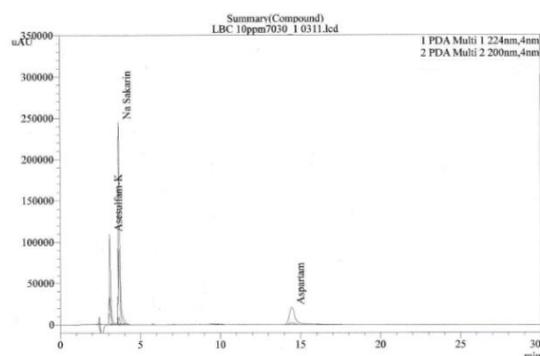
### Akurasi dan Presisi

Pada penelitian ini dilakukan uji keterulangan (*repeatability*) dan presisi antara (*intermediate precision*) yang direplikasi sebanyak enam kali. Uji keterulangan dapat digunakan untuk mengetahui adanya galat acak yang berasal dari preparasi sampel dilakukan pada hari yang sama (uji keterulangan) dan pada hari yang berbeda (presisi antara) (Betz *et al.*, 2011). Presisi dinyatakan dalam % RSD. Semakin kecil nilai RSD maka presisinya semakin baik ((Susanti & Dachriyanus, 2017). Presisi untuk uji kesesuaian sistem juga dilakukan dengan menyuntikkan larutan baku 10 ppm yang direplikasi sebanyak 6 kali.

Uji akurasi dinyatakan dengan % perolehan kembali dilakukan dengan menggunakan metode simulasi (*spiked placebo recovery*), dimana sejumlah analit ditambahkan ke dalam sampel yang tidak mengandung analit (plasebo) lalu campuran tersebut dianalisis (Susanti & Dachriyanus, 2017).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan panjang gelombang analisis dilakukan dengan membuat spektrum serapan larutan standar asesulfam, natrium sakarin dan aspartam.



Keterangan: LBC = Larutan baku campur ketiga analit

Gambar 1. Kromatogram dari masing-masing analit pada sistem optimal secara KCKT

Dari spektrum seluruh analit diketahui bahwa panjang gelombang maksimal dari seluruh analit tersebut berada pada rentang panjang gelombang 190 nm – 300 nm. Diperoleh tiga panjang gelombang detektor yang akan digunakan untuk mengukur serapan ketiga analit tersebut yang memberikan serapan optimal yaitu pada panjang gelombang 200 nm, 224 nm, (Suprianto *et al.*, 2018; Mufidah, 2012; Ascii *et al.*, 2016);Liu *et al.*, 2014; Purnomo, 2013; Kritsunankul & Jakmunee, 2011).

Tabel 1. Panjang gelombang optimum dari masing-masing baku secara KCKT

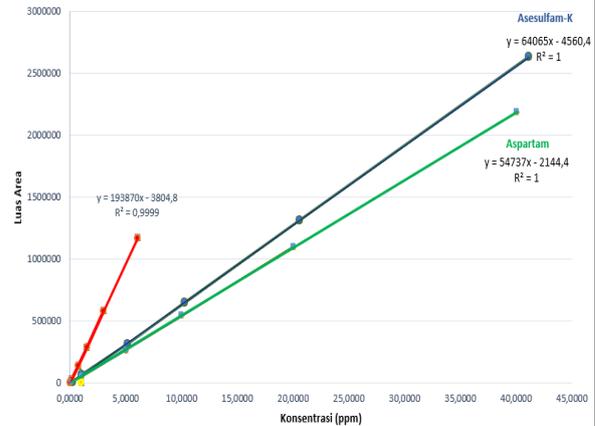
Analit	Panjang gelombang(nm)	Waktu Retensi	Resolusi	Faktor tailing
Asesulfam	224 nm	3,090	3,457	1,702
Natrium Sakarin	200 nm	3,657	3,182	1,696
Aspartam	200 nm	14,457	10,548	1,534

Kondisi analisis optimum diperoleh pada perbandingan komposisi fase gerak dari fosfat pH 5 : metanol (70:30). Hal ini dapat dilihat dari parameter waktu retensi, lempeng teoritis (*theoretical plate*), resolusi dan faktor tailing yang memenuhi persyaratan dan memberikan hasil yang lebih baik dari pH dari fosfat lainnya.

### Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan metode untuk memperoleh hasil yang ada berbanding lurus dengan konsentrasi analit dalam kisaran tertentu (FDA, 2019).

Linieritas baku dari analit asesulfam, aspartam, natrium sakarin dilakukan dengan menggunakan enam larutan baku seri. Kurva linieritas ketiga analit tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi

Dari kurva linieritas diatas diperoleh analit asesulfam, aspartam dan natrium sakarin menunjukkan hubungan yang linier dengan adanya respon yang linier dari instrumen yang dipakai terhadap konsentrasi analit dengan nilai r mendekati 1. Hal ini sesuai dengan yang direkomendasikan oleh AOAC dimana nilai koefisien korelasi adalah > 0,99 dan ini menunjukkan bahwa kurva baku memiliki linieritas yang baik ((AOAC, 2016;(Badan Standardisasi Nasional, 2018).

### % Recovery

% Recovery dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil sebenarnya. Pada penelitian ini, sejumlah 2 gram sampel placebo (tidak mengandung analit) ditimbang dan ditambahkan sejumlah standar asesulfam-K, aspartam dan natrium sakarin dengan tingkat konsentrasi yang berbeda 80%, 100% dan 120%, yang diinjek masing-masing sebanyak 3 kali. Hasil yang diperoleh memenuhi syarat keberterimaan % recovery yang dipersyaratkan AOAC yaitu 90% -107% (AOAC, 2016). Hal ini menunjukkan metoda penelitian ini mempunyai ketepatan yang baik dalam

menunjukkan kesesuaian nilai dari suatu pengukuran yang sebanding dengan nilai sebenarnya.

Tabel 2. Nilai Perolehan Kembali (% Recovery) dari masing-masing baku.

No	Perlakuan Akurasi	% Recovery		
		Asesulfam	Natrium Sakarin	Aspartam
1	80%	96,3242	105,0270	96,0234
2	100%	93,5930	105,2832	93,7997
3	120%	94,8354	103,8771	93,9396

### Presisi

Presisi biasanya dinyatakan sebagai simpangan baku relatif atau relative standard deviation (RSD) (Harmita, 2014). Uji presisi yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji terhadap keterulangan dengan menyuntikkan campuran larutan sampel yang ditambah analit secara homogen pada satu konsentrasi (konsentrasi 100%) dengan enam kali replikasi (ICH, 2014). Pada penelitian ini dilakukan uji keterulangan (*repeatability*) dan presisi antara (*intermediate precision*) yang direplikasi sebanyak enam kali. Uji keterulangan dapat digunakan untuk mengetahui adanya galat acak yang berasal dari preparasi sampel dilakukan pada hari yang sama (uji keterulangan) dan pada hari yang berbeda (presisi antara) (Betz *et al.*, 2011). Semakin kecil nilai RSD maka presisinya semakin baik (Susanti & Dachriyanus, 2017). Presisi untuk uji kesesuaian sistem juga dilakukan dengan menyuntikkan larutan baku 10 ppm yang direplikasi sebanyak 6 kali.

Tabel 3. Nilai Presisi dari masing-masing senyawa baku

No	Presisi	Senyawa baku		
		Asesulfam	Natrium Sakarin	Aspartam

		RSD (%)	RSD (%)	RSD (%)
1	Uji kesesuaian sistem: RT Area	0,09	0,11	0,20
2	Uji repitabilitas	0,62	0,91	0,68
3	Uji presisi antara	0,33	0,63	0,31

### Limit Deteksi & Limit Kuantitasi

Penentuan limit deteksi dan limit kuantitasi dilakukan dengan pengukuran deret standar sebanyak 8 seri baku standar yang diukur dengan rentang konsentrasi 0,2 ppm hingga 40 ppm. Limit deteksi dan kuantitasi dapat dihitung melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi. Data yang dibutuhkan yaitu nilai absorbansi dan slope persamaan garis yang digunakan (ICH, 2014; (Rao, 2018).

Tabel 4. Limit deteksi dan limit kuantitasi

Parameter	Asesulfam	Natrium Sakarin	Aspartam
LOD (µg/ml)	0,2136	0,0482	0,2482
LOQ (µg/ml)	0,7120	0,1605	0,8273

Dari hasil penelitian diperoleh limit deteksi dalam kisaran konsentrasi 0,0482 µg/ml sampai 0,2482 µg/ml dan Limit kuantitasi berada pada kisaran 0,1605 µg/ml sampai 0,8273 µg/ml pada penetapan kadar dari ketiga analit tersebut. Dengan demikian, metode penelitian ini memberikan hasil yang cukup sensitif karena mampu untuk mendeteksi senyawa dalam kisaran konsentrasi diatas.

### Kadar Analit dalam Sampel

Penentuan kadar asesulfam, natrium sakarin, dan aspartam dalam sampel minuman ringan dilakukan dengan tiga kali replikasi pada satu merek yang beredar di kota Medan. Perhitungannya dilakukan dengan memasukkan nilai luas ke dalam kurva standar persamaan regresi yang diperoleh dari uji linearitas. Dari hasil penelitian diperoleh kadar tertinggi dari

analit asesulfam terdapat pada sampel C sebesar 201,75 mg/kg dan terendah pada sampel B yaitu 59,50 mg/kg. Kadar natrium sakarin diperoleh sebesar 51,65 mg/kg dan kadar tertinggi aspartam diperoleh pada sampel D sebesar 129,99 mg/kg dan kadar terendah pada sampel E yaitu 94,91 mg/kg. Tabel 5. Kadar asesulfam, natrium sakarin dan aspartam dalam minuman ringan

Minuman Ringan	Aditif makanan yang ditemukan	Konsentrasi analit yang ditemukan dalam sampel (mg/kg)	Batas penggunaan maksimum pada produk minuman ringan (BPOM RI No 11 Tahun 2019)
A	Asesulfam-K	195,7158	600 mg/kg
B	Asesulfam-K	59,5047	600 mg/kg
C	Asesulfam-K	201,7503	600 mg/kg
D	Aspartam Asesulfam-K	129,9978 35,7136	600 mg/kg 600 mg/kg
E	Aspartam Natrium Sakarin	94,9101 51,6500	600 mg/kg 120 mg/kg

Kisaran konsentrasi dari masing-masing analit yang ditemukan dalam sampel masih memenuhi persyaratan yang ditetapkan peraturan BPOM no 11 tahun 2019 sehingga aman untuk dikonsumsi oleh masyarakat. Dari kromatogram dapat dilihat analit dalam sampel memberikan pemisahan yang baik dan mampu dideteksi sekalipun adanya matriks dari komponen zat lain pada sampel. Dan ini menunjukkan metode pengujian selektif dalam mendeteksi ketiga analit yang diuji.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dapat digunakan untuk menetapkan kadar dari asesulfam, natrium sakarin, dan aspartam secara simultan dengan kondisi analisis menggunakan kolom eclipse plus C18 (240 x 4 mm), fase gerak metanol dapar fosfat pH 4 (70:30), laju alir 1,0 ml/menit, detektor PDA pada

panjang gelombang 200 nm dan 224 nm. Hasil dari penentuan kadar analit dalam minuman ringan berada di kisaran nilai 35,71 mg/kg sampai dengan 201,7503 mg/kg. Nilai ini menunjukkan jumlah yang masih berada dibawah aturan persyaratan.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terimakasih banyak yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan laporan penelitian ini. Kami berharap semoga laporan penelitian ini membawa pengaruh positif bagi kita.

### DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. (2016). Appendix F : Guidelines for Standard Method Performance Requirements. AOAC Official Methods of Analysis.
- Asci, B., Zor, S.D., & Donzem, O.A. (2016). Development and Validation of HPLC Method for the Simultaneous determination of Five Food Additives and Caffeine in Soft Drinks. *International Journal of Analytical Chemistry*.doi.org/10.1155/2016/2879406
- Badan Standardisasi Nasional. (2018). SNI ISO/IEC 17025:2017 Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi (Vol. 20). Jakarta.
- Betz, J.M., Brown, P.N., & Roman, M.C. (2011). Accuracy, precision, and reliability of chemical measurements in natural products research. *Fitoterapia* 82 (2011)44–52.doi:10.106/j.fitote. 2010.09.011.
- Cheng, C., & Wu, S. C. (2011). Simultaneous analysis of aspartame and its hydrolysis products of Coca-Cola Zero by on-line postcolumn derivatation fluorescence detection and ultraviolet detection coupled two-dimensional high-performance liquid chromatography. *Journal of*

- Chromatography A, 1218(20), 2976–2983.<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.03.033>
- Deliens, T., Clarys, P., De Bourdeaudhuij, I., & Deforche, B. (2015). Correlates of university students' soft and energy drink consumption according to gender and residency. *Nutrients*, 7(8), 6550–6566.<https://doi.org/10.3390/nu7085298>
- FDA. (2019). *Guidelines for the Validation of Chemical Methods in Food, Feed, Cosmetics and veterinary Products 3rd Edition*. U.S. Food and Drug Administration.
- Hwang, S.B., Park, S., Jin, G.R., Jung, J.H., Park, H.J., Lee, S.H., Shin, S., & Lee, B.H. (2020). Trends in Beverage consumption and related demographic factors and obesity among Korean children and adolescents. *Nutrients*, 12(9), 1–13.  
<https://doi.org/10.3390/nu12092651>
- ICH. (2014). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)*. ICH Harmonised Tripartite Guideline.
- Kritsunankul, O., & Jakmune, J. (2011). Simultaneous determination of some food additives in soft drinks and other liquid foods by flow injection on-line dialysis coupled to high performance liquid chromatography. *Talanta*, 84(5), 1342–1349.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.02.045>
- Lim, H., Lee, H. J., Choue, R., & Wang, Y. (2018). Trends in Fast-Food and Sugar-Sweetened Beverage Consumption and Their Association with Social Environmental Status in South Korea. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 118(7), 1228-1236.e1.  
<https://doi.org/10.1016/j.jand.2017.08.001>
- Liu, T., Jiang, Z. T., Li, R., & Tan, J. (2014). Simultaneous Determination of Cyclamate, Acesulfame, and Aspartame in Beverages by Titanate-Based RP-HPLC. *Food Analytical Methods*, 7(7), 1400–1406.  
<https://doi.org/10.1007/s12161-013-9762-x>
- Meyer, V. R. (2010). *Practical High-Performance Liquid Chromatography: Fifth Edition*. John Wiley and Sons, Ltd.
- Mufidah. (2012). *Validasi Metode Analisis Asesulfam K dan Aspartam dalam Minuman Serbuk Instan dengan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Nasution, A.S., Devi, N. H., Winda, M.D., & Purnama, R. . (2022). Peningkatan Kinerja Industri Makanan dan Minuman Melalui Transformasi Digital di Indonesia. *Trending: Jurnal Manajemen Dan Ekonomi*, 1(1), 165–176.<https://doi.org/10.30640/trending.v1i1.493>
- Purnomo, S. (2013). *Validasi Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Penetapan Kadar Natrium Benzoat, Aspartam, Kalium Asesulfam. Aspartam, Natrium Siklamat dan Kafein dalam Minuman Energi*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rao, T. N. (2018). *Validation of Analytical Methods*. *Analytical Chemistry*, 55(6).  
<http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.720871>
- Suprianto, Putra, E. D. L., & Sinaga, S. M. (2018). Optimization of Volume Void and Wavelengths at Simultaneous Determination Method Development of Sweeteners, Preservatives and Dyes by UFLC. *International Journal of ChemTech Research*, 10(1), 89–97.
- Susanti, M., & Dachriyanus. (2017). *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.Padang.

