



KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA

NOMOR HK.01.07/MENKES/1142/2022

TENTANG

SUPLEMEN KODEKS MAKANAN INDONESIA

DENGAN RAHMAT TUHAN YANG MAHA ESA

MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA,

- Menimbang : a. bahwa dalam rangka menjamin keamanan, mutu, dan gizi pangan, serta melaksanakan ketentuan Pasal 13 ayat (2) huruf a Peraturan Pemerintah Nomor 86 Tahun 2019 tentang Keamanan Pangan, telah disusun standar dan persyaratan bahan tambahan pangan yang ditetapkan melalui Keputusan Menteri Kesehatan Nomor HK.01.07/MENKES/261/2018 tentang Pemberlakuan Kodeks Makanan Indonesia;
- b. bahwa untuk melengkapi Kodeks Makanan Indonesia sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, perlu disusun Suplemen Kodeks Makanan Indonesia;
- c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud dalam huruf a dan huruf b perlu menetapkan Keputusan Menteri Kesehatan tentang Suplemen Kodeks Makanan Indonesia;
- Mengingat : 1. Undang-Undang Nomor 36 Tahun 2009 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2009 Nomor 144, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5063);

2. Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2012 tentang Pangan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2012 Nomor 227, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5360);
3. Peraturan Pemerintah Nomor 86 Tahun 2019 tentang Keamanan Pangan (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2019 Nomor 757);
4. Peraturan Presiden Nomor 18 Tahun 2021 tentang Kementerian Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2021 Nomor 83);
5. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2019 Nomor 723);
6. Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 5 Tahun 2022 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Kesehatan (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2022 Nomor 156);
7. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor HK.01.07/MENKES/261/2018 tentang Pemberlakuan Kodeks Makanan Indonesia;

MEMUTUSKAN:

Menetapkan : KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN TENTANG SUPLEMEN KODEKS MAKANAN INDONESIA.

KESATU : Menetapkan Suplemen Kodeks Makanan Indonesia sebagaimana tercantum dalam Lampiran yang merupakan bagian tidak terpisahkan dari Keputusan Menteri ini.

KEDUA : Suplemen Kodeks Makanan Indonesia sebagaimana dimaksud dalam Diktum KESATU merupakan standar persyaratan mutu bahan tambahan pangan yang harus dipenuhi oleh pelaku usaha pangan.

KETIGA : Pelaku usaha pangan sebagaimana dimaksud dalam Diktum KEDUA terdiri atas produsen bahan tambahan pangan, importir bahan tambahan pangan, distributor bahan tambahan pangan, importir distributor, dan produsen pangan.

- KEEMPAT : Pelaku usaha pangan sebagaimana dimaksud dalam Diktum KETIGA harus menyesuaikan dengan ketentuan dalam Keputusan Menteri ini paling lama 12 (dua belas) bulan sejak Keputusan Menteri ini ditetapkan.
- KELIMA : Keputusan Menteri ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Jakarta
pada tanggal 22 April 2022

MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA,

ttd.

BUDI G. SADIKIN

Salinan sesuai dengan aslinya
Kepala Biro Hukum
Sekretariat Jenderal Kementerian Kesehatan,



Indah Febrianti, S.H., M.H.
NIP 197802122003122003

LAMPIRAN
KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA
NOMOR HK.01.07/MENKES/1142/2022
TENTANG
SUPLEMEN KODEKS MAKANAN
INDONESIA

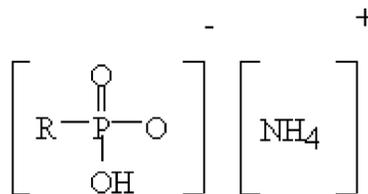
DAFTAR MONOGRAFI SUPLEMEN KODEKS MAKANAN INDONESIA

AMONIUM FOSFATIDAT

Ammonium salts of phosphatidic acid

INS 442;

SINONIM *Emulsifier YN, Mixed ammonium salts of phosphorylated glycerides.*



R mungkin bagian mono- atau di-gliserida.

DEFINISI Produk merupakan campuran senyawa amonium asam fosfatidat yang diperoleh dari lemak nabati (biasanya minyak lobak yang mengeras sebagian). Merupakan mono atau di gliserida yang terikat pada fosfor. Selain itu, dua ester fosfor dapat dihubungkan menjadi fosfatidil fosfatidat. Produk dibuat melalui proses gliserolisis lemak, fosforilasi dengan fosfor pentoksida, dan netralisasi dengan amonia. Dalam perdagangan dapat ditambahkan spesifikasi kandungan air, zat tidak larut heksana, zat tidak larut heksana anorganik, nilai pH, dan kadar trigliserida.

Amonium fosfatidat mengandung fosfor tidak kurang dari 3,0% dan tidak lebih dari 3,4%; mengandung amonium 1 N tidak kurang dari 1,2% dan tidak lebih dari 1,5%.

PEMERIAN Semi padat seperti sabun.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, tidak mudah larut dalam etanol dan dalam aseton, larut dalam lemak.

PENGGUNAAN Pengemulsi.

IDENTIFIKASI

1. *Fosfat Pijarkan* 1 g zat dengan 2 g *natrium karbonat anhidrat P*. Dinginkan, larutkan residu dalam 5 ml air dan 5 ml *asam nitrat P*. Tambahkan 5 ml *amonium molibdat LP*, didihkan: terbentuk endapan kuning.
2. *Asam Lemak Refluks* 1 g zat dalam labu alas bulat dengan 25 ml *kalium asam lemak hidroksida etanolat 0,5 N*, selama 1 jam. Tercium bau amonia pada ujung kondensor refluks dan memberikan reaksi pada kertas lakmus merah lembab. Dinginkan residu hingga suhu 0°: terbentuk endapan sabun kalium.
3. *Gliserol* Memberikan reaksi gliserol seperti tertera dalam *Uji Identifikasi umum <601>*

KEMURNIAN

Timbal Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR

Penetapan fosfor

Lakukan penetapan seperti tertera pada *Spektrofotometri serapan <901>*.

Pereaksi

Asam sulfat 1,84 g

Asam nitrat 1,42 g

Asam perklorat 60% 1,54 g

Larutan vanadat-molibdat Timbang saksama secara terpisah lebih kurang 20 g *amonium molibdat P* dan 1 g *amonium vanadat P*, masukkan ke dalam Labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air, campur. Tambahkan 140 ml *asam nitrat P*, encerkan dengan air hingga tanda. Homogenkan.

Larutan pembanding fosfat Timbang saksama lebih kurang 3,8346 g *kalium dihidrogen fosfat P* yang telah dikeringkan pada suhu 110°, masukkan ke dalam Labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan air hingga tanda. 1 ml larutan setara dengan 2,0 mg P₂O₅.

Larutan pembanding kerja fosfat Pindahkan secara kuantitatif 50,0 ml *Larutan pembanding fosfat* (1 ml larutan setara dengan 2,0 mg P₂O₅), masukkan ke dalam Labu tentukur 500-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Kocok, homogenkan. 1 ml larutan setara dengan 0,2 mg P₂O₅.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 1,5-1,6 g zat, masukkan ke dalam Labu *Kjeldahl* 300 ml yang berisi 5 ml *asam sulfat P* dan 10 ml *asam nitrat P*. Panaskan, kocok perlahan, secara terus-menerus, kemudian kocok kuat di atas nyala api. Dinginkan, tambahkan *asam nitrat P* secara bertahap. Lanjutkan pemanasan hingga digesti bening dan diasumsikan berwarna emas. Dinginkan, tambahkan 5 ml *asam perklorat 60% LP* dan lanjutkan oksidasi hingga terbentuk asap putih, dinginkan. Tambahkan 5 ml air, panaskan kembali hingga terbentuk asap putih. Dinginkan, encerkan secara hati-hati dengan air, dinginkan kembali. Pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu tentukur 500-ml. Encerkan dengan air sampai tanda, aduk. Lakukan penetapan blangko.

Prosedur Pindahkan secara kuantitatif melalui buret, pada labu tentukur 100-ml yang terpisah, 25,0 ml *Larutan pembanding kerja fosfat* yang setara dengan 5,0 mg P₂O₅ (*Larutan a*); 30,0 ml *Larutan pembanding kerja fosfat* yang setara dengan 6,0 mg P₂O₅ (*Larutan b*); 25 ml alikuot *Larutan uji* yang mengandung P₂O₅ antara 5 dan 6 mg (*Larutan c*). Pada masing-masing *Larutan a* dan *Larutan b*, tambahkan blangko sejumlah volum sama dengan *Larutan c* sebagai kompensasi keberadaan turunan fosfat dari pereaksi asam yang mungkin ada pada *Larutan uji*. Pada masing-masing *Larutan a*, *Larutan b*, dan *Larutan c*, tambahkan 25 ml *Larutan vanadat-molibdat*, campur. Encerkan dan larutkan dengan air sampai mendekati tanda. Kocok, homogenkan. Sesuaikan suhu larutan pada suhu 20°, encerkan dengan air sampai tanda, aduk. Diamkan selama 10 menit. Ukur serapan *Larutan b* dan *Larutan uji* terhadap kadar 5 mg yang terkandung dalam blangko pada panjang gelombang 420 nm atau saringan *liford 640* menggunakan kolorimeter foto elektrik. Hitung kadar (%) fosfor menggunakan rumus:

$$\left(5 + \frac{A_{\text{test}}}{A_{6\text{mg}}} \right) \times \frac{0,873}{W}$$

A_{test} = Selisih serapan antara kadar 5 mg dan *Larutan uji*

$A_{6\text{mg}}$ = Selisih serapan antara kadar 5 mg dan 6 mg

W = Bobot zat (g)

Penetapan amonium nitrogen

Lakukan penetapan dengan cara *Distilasi uap*.

Peralatan Distilasi uap terdiri dari labu 2-L bersumbat karet yang melewati pipa kaca sepanjang lebih kurang 7,5 cm. Susun alat sehingga ujung bawah berada dekat dasar labu dan pipa berbentuk L yang lebih pendek sebagai saluran keluar uap, disusun sedemikian rupa sehingga tabung memproyeksikan sekitar 0,625 cm di bawah permukaan bawah sumbat. Isi labu lebih kurang 2/3 volum dengan air yang diasamkan dengan *asam sulfat encer LP*, tambahkan batu didih untuk mencegah letupan ketika dipanaskan. Pasang corong keran ke labu untuk pengisian air guna mendinginkan labu. *Outlet* tabung uap dihubungkan melalui penjerap kondensasi pada *inlet* kepala distilasi uap, pasang pada leher labu bulat B34 1000-ml. Kepala distilasi dipasang sedemikian rupa sehingga *inlet* tabung uap hampir mencapai bagian dasar labu 1000-ml, *outlet* dilengkapi dengan dua penjerap percikan, satu pada bagian atas labu 1000-ml dan yang lainnya pada bagian atas penghubung vertikal B19. hubungkan permukaan kondensor tunggal dengan kepala distilasi. Kondensor vertikal dilengkapi dengan perpanjangan pipa *outlet*, sehingga dapat menjangkau bagian dasar Labu Erlenmeyer 500 ml.

Pereaksi

Larutan asam borat (2% b/v dalam air)

Larutan natrium hidroksida (40 b/v dalam air)

Asam hidroklorida 0,02 N

Indikator campuran Campurkan 5,0 dari 0,1% b/v larutan alkohol dari *hijau bromokresol P* dan 2,0 dari 0,1% b/v larutan alkohol dari *merah metil P*. Encerkan campuran hingga 30 ml dengan etanol 95%.

Prosedur Pasang dan alirkan uap melalui seluruh peralatan. Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan ke dalam botol kaca kecil (diameter 2 cm, tinggi 1,5 cm). Pindahkan botol dan isinya yang telah ditimbang ke dalam labu distilasi 500-ml. Tambahkan 250 ml air. Hubungkan kepala distilasi dan penjerap percikan pada labu distilasi dan kondensor vertikal. Atur kondensor hingga *outlet* berada di bawah permukaan 10 ml *asam borat 2% LP* dan 1 ml indikator campuran. Tambahkan 75 ml *natrium hidroksida 40%* ke dalam labu distilasi, melalui corong yang dipasang menggunakan pipa karet pendek ke pipa uap *inlet*. Bilas dengan air. Lepaskan corong dan sambungkan *inlet* uap pada pemasok uap. [Catatan Sebagai alternatif, *natrium hidroksida* dapat ditambahkan ke dalam labu melalui corong keran, yang dipasang pada labu distilasi, bilas dengan air. Pertahankan corong pada sumbat selama penambahan

natrium hidroksida dan distilasi. Uapkan dan kumpulkan 200 ml distilat dalam asam borat. Jika perlu, selama proses distilasi, kocok perlahan, untuk menghindari sampel menempel di sekitar permukaan atas labu. Ketika sejumlah distilat terkumpul, turunkan labu penerima, hentikan pasokan uap, dan bilas dengan sedikit air bagian dalam kondensor serta bagian luar ujung bawah, kumpulkan air bilasan pada labu penerima. Titrasi distilat beserta air bilasan dengan *asam hidroklorida 0,02 N*. Lakukan penetapan blangko. Jika pada proses distilasi terbentuk buih, tambahkan 2 tetes *silikon LP* ke dalam labu distilasi pada saat penambahan zat. Lakukan hal yang sama pada saat penetapan blangko. Hitung kadar (%) nitrogen dalam amonium nitrogen menggunakan rumus:

$$\frac{(\text{Titran zat} - \text{Titran blangko}) \times 28,02}{\text{Bobot zat (mg)}}$$

1 ml HCl 0,02 N

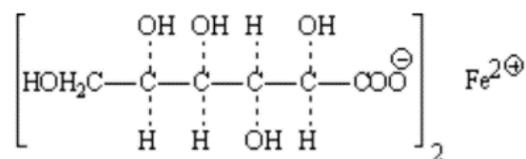
setara dengan 0,2802 mg nitrogen

BESI(II) GLUKONAT

Ferrous glukonat

INS 579;

CAS [299-29-6];



Besi(II) di-D-glukonat dihidrat

$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{FeO}_{14} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

BM 482,17

Besi(II) glukonat mengandung $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{FeO}_{14} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tidak kurang dari 95% dihitung terhadap zat yang dikeringkan.

PEMERIAN Serbuk atau granul halus, abu-abu kekuningan atau kuning kehijauan pucat, berbau seperti bau gula terbakar lemah.

KELARUTAN Mudah larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pewarna, penstabil, peretensi warna

IDENTIFIKASI

1. *Glukonat* Memberikan reaksi glukonat seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum <61>*
2. *Garam besi(II)* Memberikan reaksi garam besi(II) seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum <61>*

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan <912>* Tidak kurang dari 6,5%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 16 jam.
2. *Gula pereduksi* Timbang 0,5 g zat masukkan ke dalam labu erlenmeyer, tambahkan 10 ml air, hangatkan, basakan larutan dengan 1 ml *amonia 6 N LP*. Alirkan gas hidrogen sulfida ke dalam campuran untuk mengendapkan besi. Diamkan selama 30 menit sampai terbentuk endapan, saring. Bilas endapan dengan air, dua kali, tiap kali dengan 5 ml air. Asamkan filtrat dengan *asam klorida P*, tambahkan 2 ml asam klorida encer berlebih. Didihkan, hingga larutan tidak menimbulkan warna gelap pada kertas timbal asetat. Jika perlu, lanjutkan pendidihan hingga residu larutan 10 ml. Dinginkan, tambahkan 5 ml *natrium karbonat LP* dan 20 ml air, saring. Encerkan filtrat hingga 100,0 ml. Pipet 5,0 ml filtrat, tambahkan 2 ml *tembaga(II) tartrat, basa LP*, didihkan selama 1 menit: tidak terbentuk endapan merah dalam 1 menit.
3. *Besi(III)* Tidak lebih dari 2,0%. Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukkan ke dalam labu bersumbat kaca 250-ml, tambahkan 100 ml air dan 10 ml *asam klorida P*, campur. Tambahkan 3 g *kalium iodida P*, kocok, diamkan di tempat gelap selama 5 menit. Titrasi dengan iodum yang dibebaskan dengan *natrium tiosulfat 0,1 N LV*, tambahkan larutan *kanji LP* sebagai indikator.

*Tiap ml natrium tiosulfat 0,1 N
setara dengan 5,585 mg besi(III)*

4. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan teknik serapan atom seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 1,5 g zat, masukkan ke dalam Labu Erlenmeyer bersumbat kaca 300 ml, tambahkan 75 ml air, 15 ml *asam sulfat encer LP*, 250 mg bubuk seng, campur. Pasang sumbat labu yang mempunyai katup bunsen, diamkan pada suhu ruang selama 20 menit, saring dengan penyaring kaca masir yang dilapisi dengan selapis tipis bubuk seng. Lakukan penyaringan dengan labu isap, bilas saringan dengan 10 ml *asam sulfat encer LP* dan 10 ml air. Tambahkan *ortofenantolin LP* ke dalam filtrat dan air bilasan. Titrasi dengan larutan *serium(IV) sulfat 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml serium(IV) sulfat 0,1 N
setara dengan 44,61 mg C₁₂H₂₂FeO₁₄.2H₂O*

BESI OKSIDA MERAH

Iron oxide red

INS 172(ii);

CAS [1309-37-1]

SINONIM *CI Pigment Red 101 and 102; CI (1975) No. 77491;*

Besi oksida merah; Ferri oksida anhidrat, besi(III) oksida anhidrat;

Fe₂O₃

BM 159,70

DEFINISI Besi oksida diperoleh dari perendaman panas, hidrasi air, dekomposisi, pencucian, penyaringan, pengeringan, dan penggilingan besi sulfat. Besi oksida dihasilkan dalam bentuk anhidrat atau terhidrasi. Rentang warna mulai dari kuning, merah, coklat, dan hitam. Perbedaan besi oksida tara pangan dengan kualitas teknis adalah kadar cemaran logam yang rendah, hal ini diperoleh dengan cara pemilihan dan pengendalian sumber besi dan/atau dengan peningkatan kemurnian kimia selama proses pembuatan.

Besi oksida mengandung Fe tidak lebih 60,0%.

PEMERIAN Serbuk merah.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, dalam pelarut organik, larut dalam asam mineral pekat.

PENGGUNAAN Pewarna

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.
2. *Zat larut air* Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml, tambahkan 200 ml air dan panaskan selama 5 menit, aduk untuk mencegah percikan. Dinginkan, pindahkan larutan ke dalam labu tentukur 250-ml, cuci sisa larutan dengan 25 ml air, masukkan air pencuci ke dalam labu tentukur, encerkan dengan air sampai tanda. Diamkan selama 10 menit, saring. Pindahkan 100 ml filtrat ke dalam gelas piala kering yang sudah ditara, evaporasi secara hati-hati larutan di atas tangas air, keringkan residu pada suhu 105-110° selama 2 jam, dinginkan gelas piala dan residu pada desikator. Timbang residu dan hitung persentase zat larut air dengan rumus:

$$250 \times \left(\frac{W_R}{W_S} \right)$$

W_R = Bobot residu (g)

W_S = Bobot zat uji (g)

3. *Arsen* Tidak lebih dari 3 bpj. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>
4. *Kadmium* Tidak lebih dari 1 bpj. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>
5. *Timbal* Tidak lebih dari 10 bpj. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>
6. *Raksa* Tidak lebih dari 1 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik serapan atom uap dingin yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 0,2 g zat, masukkan ke dalam Labu Erlenmeyer 200 ml, tambahkan 10 ml asam hidroklorida 5N, didihkan secara hati-hati hingga zat larut. Dinginkan, tambahkan 6 sampai 7 tetes hidrogen peroksida 30%, didihkan kembali secara hati-hati lebih kurang 2-3 menit hingga hidrogen peroksida menguap. Dinginkan, tambahkan 30 ml air dan 2 g kalium iodida P, diamkan selama 5 menit. Tambahkan 30 ml air dan kanji LP sebagai indikator, titrasi dengan natrium tiosulfat 0,1 N LV.

*Tiap ml natrium tiosulfat 0,1N
setara dengan 5,585 mg Fe(III)*

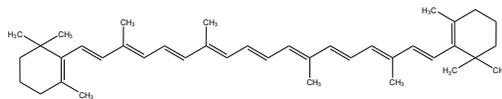
BETA-KAROTEN DARI BLAKESLEA TRISPORA

β -Caroten from Blakeslea trispora

INS 160a(iii);

CAS [7235-40-7]

SINONIM *CI Food Orange 5*



β-karoten

C₄₀H₅₆

BM 536,88

DEFINISI Beta karoten *Blakeslea trispora* diperoleh dari proses fermentasi jamur *Blakeslea trispora* tipe (+) dan (-) yang sudah matang seksual. Zat warna diisolasi dari biomassa dengan cara ekstraksi dan dilanjutkan dengan penghabluran. Zat warna utama sebagian besar mengandung isomer trans β-karoten dan isomer cis β-karoten dalam jumlah bervariasi. Dalam jumlah kecil terkandung juga karotenoid dengan γ-karoten sebagai komponen utama. Sebagai pelarut pengekstraksi dan pelarut dalam proses pemurnian hanya digunakan etanol, isopropanol, etil asetat dan isobutil asetat. Dalam perdagangan berbentuk suspensi dalam minyak nabati (*food grade*) dan serbuk yang dapat didispersikan dalam air.

Beta karoten dari *Blakeslea trispora* mengandung C₄₀H₅₆ tidak kurang dari 96,0% total senyawa pewarna sebagai β-karoten.

PEMERIAN Hablur atau serbuk hablur, merah atau merah kecokelatan.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol, sukar larut dalam minyak nabati.

PENGGUNAAN Pewarna.

IDENTIFIKASI

1. Ukur serapan *Larutan uji* yang digunakan pada *Penetapan kadar* pada panjang gelombang antara 300 dan 600 nm. Spektrum menunjukkan *shoulder* pada panjang gelombang 427 nm, serapan maksimum pada panjang gelombang 455 nm dan 483 nm: perbandingan A₄₅₅/A₄₈₃ antara 1,14 dan 1,18. Tetapkan serapan enceran *Larutan uji* yang digunakan pada *Penetapan kadar* pada panjang gelombang 455 nm dan 340 nm. Perbandingan A₄₅₅/A₃₄₀ tidak kurang dari 15.

KEMURNIAN

1. *Abu sulfat* Tidak lebih 0,2%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu <707>*.

2. *Karotenoid selain β-karoten* Tidak lebih dari 3,0% terhadap total senyawa pewarna. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*

Fase gerak metanol P-tetrahidrofuran P yang mengandung 50 mg/l L-asam askorbat (99:1)

Larutan uji Timbang saksama 25 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *tetrahidrofuran P* sampai tanda. Pipet 1 ml larutan tersebut ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan campuran *Fase gerak* sampai tanda. Larutan dibuat segar.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV/VIS panjang gelombang 445 nm atau detektor *photo diode array*, *refrigerated autosampler* dan *integrator*, kolom C18 berukuran 4,6 mm x 25 cm yang berisi Vydac 218 TP54 dengan ukuran partikel 5 μm atau yang setara, pertahankan suhu kolom pada suhu 30°, laju alir 0,6 ml per menit.

Prosedur Suntikkan sejumlah volume (10 μl) *Larutan uji*. Eluasi selama 25 menit. Rekam kromatogram, ukur semua respon puncak. Waktu retensi

untuk β -karoten (semua isomer trans) lebih kurang 19 menit dan merupakan puncak terbesar pada kromatogram. Waktu retensi untuk γ -karoten lebih kurang 20 menit dan puncak pada waktu retensi lebih kurang 22 menit merupakan isomer 13-cis. Hitung persentase γ -karoten terhadap total β -karoten dengan rumus:

$$\frac{A_1}{A_1 + A_2 + A_3} \times 100$$

A_1 = Respon puncak γ -karoten

A_2 = Respon puncak β -karoten all-trans

A_3 = Respon puncak gabungan dari semua isomer cis karoten.

3. *Sisa pelarut <716>* Etanol dan etil asetat tidak lebih dari 0,8% tunggal atau campuran; Isopropanol tidak lebih dari 0,1%; Isobutil asetat tidak lebih dari 1,0%.
4. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan *Kadar pewarna dengan spektrofotometri (metode 2)*, seperti tertera pada *Pewarna <1301>* menggunakan lebih kurang 80 mg zat; volume ketiga labu tentukur $V_1 = V_2 = V_3 = 100$ ml; volume dari dua pipet $v_1 = v_2 = 5$ ml; Serapan jenis ($A_{1cm}^{1\%}$) 2500. Ukur pada panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 455 nm. Hitung Kadar Pewarna Total (%) menggunakan rumus:

$$\frac{A \times V_1 \times D}{A_{1cm}^{1\%} \times W}$$

A = Serapan dari *Larutan uji* yang diencerkan 2 kali pada panjang gelombang 455 nm

D = Faktor pengenceran $\frac{(V_2 \times V_3)}{V_1 / V_2}$

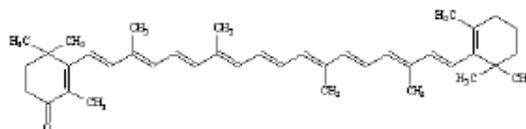
BETA-KAROTEN (SINTETIK)

β -Carotenes, synthetic

INS 160a(i);

CAS [7235-40-7] ;

SINONIM *CI food orange 5, CI (1975) No. 40800*



β-karoten

C₄₀H₅₆

BM 536,88

DEFINISI Spesifikasi berlaku terutama untuk isomer *alltrans* (Z) dari β-karoten yang mengandung sejumlah kecil karotenoid lainnya. Bentuk yang diencerkan dan distabilkan diperoleh dari β-karoten yang memenuhi persyaratan ini, termasuk larutan atau suspensi β-karoten dalam lemak atau minyak makan, emulsi dan serbuk terdispersi dalam air. Sediaan tersebut dapat memiliki rasio isomer cis/trans berbeda. Metode analisis yang diuraikan untuk zat pewarna induk/asal tidak selalu sesuai untuk penetapan kadar zat atau penentuan cemaran dalam sediaan zat pewarna yang distabilkan.

Beta-karoten (sintetik) mengandung C₄₀H₅₆ tidak kurang dari 96% dihitung terhadap total zat pewarna sebagai β-karoten.

PEMERIAN hablur atau serbuk hablur, warna merah atau merah kecokelatan, peka terhadap oksigen dan cahaya sehingga harus disimpan dalam wadah terlindung dari cahaya dan diisi gas inert.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, sukar larut dalam etanol dan dalam minyak nabati, mudah larut dalam kloroform.

PENGGUNAAN Pewarna.

IDENTIFIKASI

1. Ukur serapan *Larutan uji* seperti tertera pada *Penetapan kadar* pada panjang gelombang antara 300 dan 600 nm. Spektrum menunjukkan *shoulder* pada panjang gelombang 427 nm, serapan maksimum pada panjang gelombang lebih

kurang 455 nm dan 483 nm: perbandingan A_{455}/A_{483} antara 1,14 dan 1,18. Tetapkan serapan enceran *Larutan uji* yang digunakan pada *Penetapan kadar* pada panjang gelombang 455 nm dan 340 nm. Perbandingan A_{455}/A_{340} tidak kurang dari 1,5.

KEMURNIAN

1. *Abu sulfat Metode 1* Tidak lebih dari 0,1%. Lakukan penetapan seperti tertera pada Abu <707> menggunakan 2 g zat.
2. *Zat warna lain* Karoten selain β -karoten: Tidak lebih dari 3% total zat warna. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*

Fase gerak larutkan 50 mg BHT dalam 20 ml 2-propanol dan tambahkan 0,2 ml N-etildiisopropil-amin, 25 ml *amonium asetat LP* 0,2%, 455 ml *asetonitril P* dan lebih kurang 450 ml *metanol P* dalam labu tentukur 1000-ml. Diamkan sampai suhu ruang dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Larutan dapat bertahan selama 2 hari.

Larutan uji timbang saksama lebih kurang 10 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml larutkan dan encerkan dengan *tetrahidrofur P* (tambahkan 0,025% BHT sebagai penstabil) sampai tanda. Encerkan larutan dengan *etanol P* (1 : 10).

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV/Vis panjang gelombang 453 nm atau detektor *photo diode array*, *refrigerated autosampler* dan *integrator*, kolom C_{18} 4,6 mm x 25 cm yang berisi Suplex pkb-100 dari Supelco atau yang setara dengan ukuran partikel 5 μ m, pertahankan suhu kolom pada suhu 30°, laju alir 0,6 ml per menit.

Prosedur Suntikkan lebih kurang 10 μ l *Larutan uji* ke dalam kromatograf, lakukan kromatografi selama 35 menit. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Waktu retensi semua-*trans- β -karoten* dan *sis-isomer* berada dalam rentang 20-25 menit. Waktu retensi relatif Minor karotenoid dan *sis-isomer β -karoten* terhadap semua-*trans- β -karoten* seperti tertera pada tabel

Minor karotenoid dan <i>sis-isomer β-karoten</i>	Waktu retensi relatif
semua- <i>trans-retinal</i>	0,26
semua- <i>trans-β-apo-12'-karotenal</i>	0,33
semua- <i>trans-β-apo-10'-karotenal</i>	0,34
semua- <i>trans-γ-karoten</i>	0,85

Minor karotenoid dan <i>sis-isomer β-karoten</i>	Waktu retensi relatif
semua- <i>trans-a</i> -karoten	0,95
9- <i>sis-β</i> -karoten	1,05
13- <i>sis-β</i> -karoten	1,15
15- <i>sis-β</i> -karoten	1,18

Hitung karotenoid selain β-karoten (%) menggunakan rumus:

$$\left(\frac{A_1 - A_2}{A_1} \right) \times 100$$

A₁=jumlah total area puncak kromatogram selain area puncak pelarut

A₂=jumlah total area puncak dari semua-β-karoten (semua-*trans-β*-karoten, 9-*sis-β*-karoten, 13-*sis-β*-karoten, 15-*sis-β*-karoten) pada kromatogram

3. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan *Kadar pewarna dengan spektrofotometri (metode 2)*, seperti tertera pada *Pewarna <1301>* menggunakan lebih kurang 80 mg zat; volume dari tiga labu tentukur = V₁ = V₂ = V₃ = 100 ml; volume dari dua pipet = v₁ = v₂ = 5 ml; A_{1cm}^{1%} = 2500. Panjang gelombang serapan maksimum lebih kurang 455 nm. Hitung Kadar Pewarna Total (%) menggunakan rumus:

$$\frac{A \times V_1 \times D}{A_{1cm}^{1\%} \times W}$$

A = Serapan dari *Larutan uji* yang diencerkan 2 kali pada panjang gelombang 455 nm

D = Faktor pengenceran $\frac{(V_2 \times V_3)}{V_1 / V_2}$

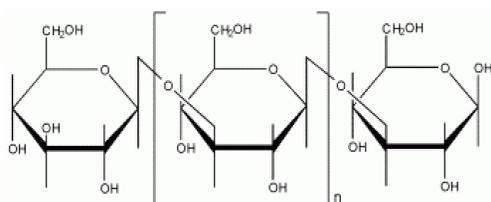
CURDLAN

Curdlan

INS No. 424

CAS [54724-00-4]

SINONIM Beta-1,3-glucan



DEFINISI Curdlan adalah polisakarida dengan bobot molekul tinggi yang terdiri dari unit glukosa terikat β -1,3, yang diperoleh dari fermentasi kultur murni strain *Agrobacterium* biovar 1 non-patogen dan non-toksikogenik (dikenali sebagai *Alcaligenes faecalis* var. *Myxogenes*) atau *Agrobacterium radiobacter*. Curdlan terdiri dari residu glukosa terikat β -1,3 dan saat suspensi dalam air dipanaskan akan terbentuk gel yang elastis.

Tidak kurang dari 80% dihitung sebagai glukosa anhidrat.

PEMERIAN Serbuk hablur, putih sampai hampir putih, tidak berbau atau hampir tidak berbau.

KELARUTAN Tidak larut dalam air dan dalam etanol.

PENGUNAAN Pengeras, pembentuk gel, penstabil, pengental.

IDENTIFIKASI

1. *Kelarutan dalam basa* Timbang 200 mg zat, larutkan dalam 5 ml air, tambahkan 1 ml *natrium hidroksida* 3N, kocok: zat larut.
2. *Pembentukan Gel* Panaskan suspensi zat dalam air (2%) di atas tangas air, didihkan selama 10 menit, dinginkan: terbentuk gel yang keras.
3. *Pembentukan endapan dengan kuprat tartrat* Buat 10 ml suspensi zat dalam air 2%. Tambahkan 5 ml *asam sulfat LP*. Panaskan di atas tangas air, didihkan selama 30 menit, dinginkan. Netralisasi campuran dengan *barium karbonat P*. Sentrifus campuran pada 900 xg selama 10 menit. Tambahkan 1 ml supernatant ke dalam 5 ml *basa kuprat tartrat LP* panas: terbentuk endapan merah kuprat oksida.

KEMURNIAN

1. *Kekuatan Gel* Tidak kurang dari 600 g/cm² (2% suspensi dalam air). Timbang 200 mg zat, masukkan ke dalam tube *potter homogenizer*, tambahkan 10 ml air dan homogenkan pada 3500 rpm selama 5 menit. Pindahkan suspensi ke dalam tabung reaksi dengan ukuran 16 mm x 150 mm, deaerasi dengan vakum selama 3 menit dan panaskan di atas tangas air, didihkan, selama 10 menit hingga terbentuk gel. Dinginkan tabung reaksi di bawah air mengalir, diamkan selama 30 menit, keluarkan gel dari tabung. Potong gel pada 20 mm dan 30 mm dari bagian bawah untuk memperoleh panjang 10 mm. Ukur kekuatan gel menggunakan *Rheo meter* atau instrument yang sejenis, dengan kondisi sebagai berikut : kecepatan plat bergerak 250 mm/menit, *plunger* tipe silinder dengan diameter 0,5 cm, Baca titik hancur gel (B). Hitung kekuatan gel (g/cm²) menggunakan rumus:

$$\frac{1,000 B}{\pi r^2}$$

r = jari-jari *plunger* (cm)

2. *pH* <909> Antara 6,0 dan 7,5 (suspensi air 1 dalam 100)
3. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 10%. Lakukan pengeringan pada suhu 60° selama 5 jam dalam hampa udara.
4. *Abu sulfat* <707> *Metode 1* Tidak lebih dari 6%. Lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.
5. *Nitrogen* <84> *Metode 2* Tidak lebih dari 0,3%. Lakukan penetapan menggunakan 1 g zat
6. *Timbal* Tidak lebih dari 0,5 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>
7. *Uji mikrobiologi* <51> *Angka lempeng total*: tidak lebih dari 1.000 cfu per g; *E.coli*: negatif dalam 1 g.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama 100 mg zat, masukan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dalam 90 ml *natrium hidroksida 0,1 N*, tambahkan *natrium hidroksida 0,1 N* sampai tanda. Pipet 5 ml ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan air sampai tanda. Pipet 1 ml larutan ke dalam labu atau tabung reaksi kecil, tambahkan 1 ml larutan *fenol P 5%* dalam air dan 5 ml *asam sulfat LP*. Kocok kuat dan dinginkan dalam air. Siapkan blangko dan *larutan baku*

referensi dengan cara yang sama, masing-masing gunakan 0,1 ml air dan 100 mg glukosa pa. Ukur serapan *larutan uji* dan *larutan baku referensi* menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang serapan maksimum 490 nm, sel 1-cm. Lakukan penetapan blangko.

Hitung persentase curdlan dalam zat menggunakan rumus:

$$\left(\frac{A}{A_R}\right) \times \left(0,9 \times \frac{W_R}{W}\right) \times 100$$

A = serapan *larutan zat*

A_R = serapan *larutan baku referensi*

0,9 = bobot molekul glukosa anhidrat dibagi bobot molekul glukosa

W = bobot sampel (mg)

W_R = bobot baku glukosa (mg)

DIAMONIUM HIDROGEN FOSFAT

Diammonium Hydrogen Phosphate

INS 342(ii)

CAS [7783-28-0]

SINONIM *Dibasic ammonium phosphate, diammonium phosphate.*

*Diammonium hydrogen phosphate, Diammonium hydrogen tetraoxohosphate,
Diammonium hydrogen orthophosphate.*

(NH₄)₂HPO₄

BM 132,06

Diamonium hidrogen fosfat mengandung (NH₄)₂HPO₄ tidak kurang dari 96,0% dan tidak lebih dari 102,0%.

PEMERIAN Hablur atau serbuk hablur, putih.

KELARUTAN Larut dalam air.

PENGGUNAAN Pengembang

IDENTIFIKASI

1. *Amonium* Memberikan reaksi amonium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>.
2. *Fosfat* Memberikan reaksi fosfat seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>.

KEMURNIAN

1. *pH* <909> Antara 7,6 dan 8,4 (1 dalam 100).
2. *Flourida* <710> *Metode 1* atau *Metode 3* Tidak lebih dari 10 bpj.
3. *Arsen* <708> *Metode 2* . Tidak lebih dari 3 bpj.
4. *Timbal* Tidak lebih dari 4 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 600 mg zat, larutkan dalam 40 ml air, titrasi dengan *asam sulfat 0,1 N* hingga pH 0,8.

*Tiap ml asam sulfat 0,1 N
setara dengan 13,21 mg (NH₄)₂PO₄*

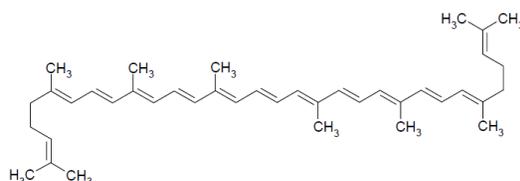
EKSTRAK LIKOPEN DARI TOMAT

Lycopene Extract from Tomato

INS 160d(ii);

CAS [502-65-8] (likopen);

SINONIM *Lycopene (tomato)*



*ψ, ψ – karoten; all-trans-likopen;
(all-E)- likopen; (all-E)-2,6,10,14,19,23,27,31-oktametil-
2,6,8,10,12,14,16,18,20,22,24,26,30-dotriakontatridekan*

Rumus molekul all-trans-likopen, sebagai pewarna utama

C₄₀H₅₆

BM 536,85

DEFINISI Ekstrak likopen dari tomat diperoleh dengan cara ekstraksi etil asetat daging buah tomat merah matang (*Lycopersicon esculentum L.*) kemudian pelarut dihilangkan. Zat warna utama ekstrak tomat adalah likopen, namun kemungkinan terdapat juga pigmen karotenoid dalam jumlah kecil. Ekstrak tomat tersebut juga mengandung minyak, lemak, lilin, dan komponen perasa yang terjadi secara alami.

Ekstrak likopen dari tomat mengandung C₄₀H₅₆ (likopen total) tidak kurang dari 5% dan tidak lebih dari 15%. Mengandung karotenoid total tidak kurang dari 6,5% dan tidak lebih dari 16,5% (dihitung sebagai likopen).

PEMERIAN Cairan kental, merah tua

KELARUTAN Mudah larut dalam etil asetat, dalam n-heksan; larut sebagian dalam etanol, dalam aseton; tidak larut dalam air.

PENGGUNAAN Pewarna alami.

IDENTIFIKASI

1. *Karotenoid* Warna larutan zat dalam *aseton P* hilang setelah penambahan larutan *natrium nitrit P 5%* dan *asam sulfat 2 N*.
2. Spektrum serapan zat dalam *n-heksan P* menunjukkan maksimum pada panjang gelombang lebih kurang 472 nm.

KEMURNIAN

1. *Abu Sulfat* Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu <707>* menggunakan 1-2 g zat.
2. *Sisa pelarut <716>* Etil asetat: tidak lebih dari 50 bpj. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi Gas Headspace* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*

Larutan baku persediaan etil asetat

Larutan A (10.000 mg/kg) Timbang saksama lebih kurang 500 mg *etil asetat P* masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai. Tambahkan

dietilftalat P hingga berat 50,00 g. Gunakan tangas ultrasonik untuk melarutkan. [Catatan Larutan stabil selama dua bulan pada suhu ruang.]

Larutan B (100 mg/kg) Timbang saksama lebih kurang 500 mg *Larutan A* masukkan ke dalam labu tentukur yang sesuai. Tambahkan *dietilftalat P* hingga berat 50,00 g. Gunakan tangas ultrasonik untuk melarutkan. [Catatan Larutan stabil selama dua bulan pada suhu ruang.]

Larutan baku etil asetat

Larutan C (5 mg/kg) Timbang saksama lebih kurang 500 mg *Larutan B* masukkan ke dalam vial *headspace* 20-mm. Tambahkan *dietilftalat P* hingga berat $10,00 \pm 0,0001$ g. Masukkan pengaduk magnetik 12 – 15mm dan tutup.

Larutan D (10 mg/kg) Timbang saksama lebih kurang 1000 mg *Larutan B* masukkan ke dalam vial *headspace* 20-mm. Tambahkan *dietilftalat P* hingga berat $10,00 \pm 0,0001$ g. Masukkan pengaduk magnetik 12 – 15mm dan tutup.

Larutan E (17,5 mg/kg) Timbang saksama lebih kurang 1750 mg *Larutan B* masukkan ke dalam vial *headspace* 20-mm. Tambahkan *dietilftalat P* hingga berat $10,00 \pm 0,0001$ g. Masukkan pengaduk magnetik 12 – 15mm dan tutup.

Larutan F (25 mg/kg) Timbang saksama lebih kurang 2500 mg *Larutan B* masukkan ke dalam vial *headspace* 20-mm. Tambahkan *dietilftalat P* hingga berat $10,00 \pm 0,0001$ g. Masukkan pengaduk magnetik 12 – 15mm dan tutup. [Catatan semua vial ditimbang dahulu sebelum digunakan]

Larutan uji Panaskan dan aduk homogen zat yang mewakili lot pada suhu 40-50°. Timbang lebih kurang 30 g zat dalam gelas piala, kemudian hangatkan hingga suhu 50° dalam tangas air, aduk dengan batang pengaduk atau spatula hingga homogen. Timbang saksama lebih kurang 5000 mg zat masukkan ke dalam vial *headspace* 20-mm yang telah ditimbang. Tambahkan *dietilftalat P* hingga berat $10,00 \pm 0,0001$ g. Masukkan pengaduk magnetik, tutup vial. [Catatan: Aduk homogen semua larutan menggunakan pengaduk magnetik.]

Letakkan empat *Larutan baku* (*C, D, E, dan F*) dan *Larutan uji* dalam tangas air termostatik suhu 70° selama tepat 2 jam, aduk masing-masing larutan selama 1 menit, setiap 30 menit.

Sistem kromatografi Kromatograf gas *headspace* dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, kolom 30 m x 0,53 mm, berisi *Megabore fused silica*, dilapisi dengan 5% difenil-95% dimetil polisiloksan dengan ukuran partikel 3 µm. Gas pembawa *nitrogen P*, laju alir 4 ml/menit, suhu injektor 180°, suhu detektor 230°. Suhu oven diprogram sebagai berikut: mula-mula pertahankan suhu oven pada 73° selama 5 menit kemudian naikkan suhu dengan

kecepatan 25° per menit sampai 160°, pertahankan suhu oven pada 160° selama 1 menit. Mode injeksi *splitless* 1:6. Lakukan kromatografi selama 9,5 menit.

Prosedur Suntikkan secara terpisah masing-masing (1000 µl) *Larutan C, D, E, dan F*-ke dalam kromatograf gas *headspace*. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung rata-rata perbandingan kadar terhadap respon puncak dari masing masing larutan C, D, E, dan F. Suntikkan (1000 ul) *Larutan uji*. Rekam kromatogram dan ukur respon puncak. Hitung kadar etil asetat dalam (mg/kg) zat dengan rumus:

$$A_s \times \left(\frac{C_{ST}}{A_{ST}} \right) \times \frac{W_{tw}}{W_s}$$

A_s = respon puncak larutan uji

(C_{ST}/A_{ST}) = perbandingan rata-rata kadar terhadap respon puncak dari masing masing larutan C, D, E, dan F (mg/kg)

W_{tw} = bobot total larutan uji (g)

W_s = bobot zat (g)

3. *Timbal* Tidak lebih dari 1 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
4. *Arsen <708>* Tidak lebih dari 3 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR

Total Likopen Lakukan penetapan total likopen dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

Fase gerak Asetonitril P : metanol P : diklorometan P : n-heksan P : N-etil-diisopropilamin P (850:100:25:25:0,5). Campur homogen dan sonikasi selama 3-4 menit dalam tangas ultrasonik.

Larutan pengencer Timbang 0,5 g *BHT (2,6 di-ter-butyl-4-metilfenol) P*, masukkan kedalam labu Erlenmeyer 1000 ml tambahkan 600 ml *asetonitril P*, 100 ml *metanol P*, 150 ml *diklorometana P* dan 150 ml *n-heksana P*. Aduk dan sonikasi selama 3-4 menit dalam tangas ultrasonik.

Larutan baku persediaan likopen (500mg/l) Timbang saksama lebih kurang 50 mg ($\pm 0,1$ mg) baku *all-trans-likopen BPF* masukkan ke dalam labu

tentukur 100-ml, tambahkan 100 mg *a-tokoferol P* dan 100 mg *BHT P*. Larutkan dan encerkan dengan *toluen P* sampai tanda. Sonikasi selama 1-2 menit. Pindahkan larutan ke dalam beberapa *vial amber* 8-ml. [Catatan Larutan stabil selama enam bulan jika disimpan pada suhu -18°]

Larutan baku likopen

Larutan A Ambil satu vial berisi *Larutan baku persediaan likopen* dan hangatkan pada suhu 50° dalam tangas air selama beberapa menit. Kocok larutan sesekali untuk memastikan bahwa partikel likopen larut. Pipet 3 ml larutan tersebut ke dalam labu tentukur amber 25-ml. Tambahkan *Larutan pengencer* sampai tanda dan kocok.

Larutan B Ambil vial berisi *Larutan baku persediaan likopen* lainnya dan lakukan seperti pada *Larutan A*. Pipet 4 ml larutan tersebut ke dalam labu tentukur amber 25-ml ke dua. Tambahkan *Larutan pengencer* sampai tanda dan kocok. [Catatan *Larutan A* dan *Larutan B* stabil selama 3 minggu jika disimpan pada suhu -18° . Sebelum penggunaan, lakukan penetapan kadar likopen dalam setiap larutan dengan cara Spektrofotometri <901>]

Larutan BHT (5000 mg/l) Timbang 2,5 g *BHT* dalam botol 500-ml. Larutkan dan encerkan dengan 500 ml *diklorometan P*. [Catatan Simpan larutan terlindung dari cahaya. Larutan stabil selama 3 bulan.]

Larutan uji Masukkan sejumlah zat ke dalam vial dan tutup. Letakkan vial dalam tangas air pada suhu 50° selama 30 menit. [Catatan: Suhu tidak lebih dari 60°]. Aduk larutan menggunakan batang pengaduk kaca. Timbang saksama tiga kali, lebih kurang 1,0 hingga 1,2 g ($\pm 0,1$ mg) zat masukkan ke dalam masing-masing tiga labu tentukur 100-ml (V_A) (zat 1, 2 dan 3). Ke dalam masing-masing labu tambahkan 10 ml larutan *BHT* dan 40 ml *diklorometan P*. Homogenkan larutan menggunakan tangas ultrasonik. Dinginkan larutan hingga suhu ruang dan encerkan dengan *diklorometan P* sampai tanda (*Larutan C: C1, C2, C3*). Pipet 5 ml (V_B) masing-masing *Larutan C* ke dalam labu tentukur *amber* 50-ml (V_C) terpisah. Encerkan dengan *Larutan pengencer* sampai tanda dan kocok (*Larutan D: D1, D2, D3*).

Prosedur

Pembakuan Larutan baku likopen

Lakukan penetapan dengan cara *Spektrofotometer UV/VIS* seperti tertera pada *Spektrofotometri <901>*. Pipet 2 ml (V_D) masing-masing *Larutan A* dan *Larutan B* ke dalam labu tentukur 100-ml (V_E) terpisah. Pada masing masing labu tambahkan 10 ml *etanol P*, 10 ml larutan *BHT P*, dan *petroleum eter P*

sampai tanda (*Larutan E dan F*). Lakukan penetapan dengan cara *Spektrofotometer UV/VIS* seperti yang tertera pada *Spektrofotometri <901>*. Ukur serapan masing-masing larutan tersebut pada panjang gelombang 427 nm menggunakan *petroleum eter P* sebagai blangko. Hitung kadar likopen (C_{ST} mg/l) dalam larutan A dan B menggunakan rumus:

$$\frac{A_{max} \times D \times 10000}{3450}$$

- A_{max} = serapan larutan E atau larutan F
D = faktor pengenceran V_E dibagi V_D
10000 = faktor skala
3450 = absorbansi spesifik all-trans-likopen dalam petroleum eter ($A^{1\%}_{1\text{ cm}}$)

[*Catatan: Kadar likopen dalam larutan baku A dan B harus ditentukan ulang sebelum setiap analisis*]

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dengan *autosampler* atau injektor, dilengkapi detektor UV/VIS atau *diode array* 472 nm, kolom 250 x 4,6 mm berisi RP-C8 atau yang setara dengan ukuran partikel 5 μm , laju alir 0,7 ml/menit, lakukan kromatografi selama 12 menit.

Prosedur Suntikkan secara terpisah (10 μl) *Larutan A, Larutan B*; Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Suntikkan secara terpisah (10 μl) *Larutan uji (Larutan D1, D2, D3)* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram, dan ukur respon puncak likopen (waktu retensi semua isomer likopen lebih kurang 5 sampai 7 menit dan untuk β -karoten 8 hingga 9 menit). Respon puncak likopen untuk larutan uji harus diantara 80 dan 120% dari baku, jika tidak, encerkan *Larutan C* dengan *Larutan pengencer* untuk menghasilkan kadar pada rentang yang diinginkan atau menambah bobot zat.

Hitung persentase likopen total dalam zat 1 (TL_{1A}) sebagai berikut

$$\frac{A_S \times C_{ST} \times V_A \times D}{A_{ST} \times W_S} \times 100$$

- A_S = respon puncak zat
 A_{ST} = respon puncak larutan baku A
 C_{ST} = kadar likopen dalam larutan baku A (mg/l)

- V_A = volume dalam liter yang digunakan untuk mengencerkan W_S untuk menyiapkan larutan C
- D = faktor pengenceran V_C dibagi V_B
- W_S = bobot sampel (mg)

Ulangi perhitungan untuk mendapatkan TL_{2A} dan TL_{3A} . Lakukan penetapan sesuai prosedur sebelumnya untuk menghitung persentase total likopen dalam zat menggunakan respon puncak *Larutan baku B*. Catat hasil TL_{1B} , TL_{2B} dan TL_{3B} . Hitung rata-rata persentase total likopen dalam ekstrak tomat.

Total Karotenoid

Lakukan penetapan total karotenoid dengan cara *Spektrofotometri <901>*

Larutan G Pipet 2 ml (V_F) *Larutan D* ke dalam labu tentukur kaca *amber* 100-ml (V_G). Tambahkan 10 ml *etanol P*, encerkan dengan *petroleum eter P* sampai tanda dan kocok homogen.

Prosedur Lakukan penetapan menggunakan *spektrofotometer UV/VIS* yang sesuai dan sel 1 cm dengan penutup seperti tertera pada *Spektrofotometri <901>*. Rekam spektrum *Larutan D* dari 550 hingga 300 nm, gunakan *petroleum eter P* sebagai blangko. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum (lebih kurang 472 nm). Serapan harus diantara 0,2 dan 0,8. Hitung persentase total karotenoid (sebagai-likopen) dalam zat dengan rumus:

$$\frac{A \times D}{W_S \times 3450} \times 100$$

- A = serapan larutan G pada 472 nm
- 3450 = absorbansi spesifik all-trans-likopen dalam petroleum eter ($A^{1\%_{1\text{ cm}}}$)
- W_S = bobot sampel (g)
- D = faktor pengeceran $\left(\frac{V_G \times V_C}{V_F \times V_B}\right)$

EKSTRAK QUILLAIA, TIPE 1

Quillaia Extract (Type 1)

INS 999(i);

CAS [68990-67-0];

SINONIM *Quillaia extract, Soapbark extract, Quillay bark extract, Bois de Panama, Panama bark extract, Quillai extract.*

Rentang monomer saponin dari lebih kurang 1800 sampai lebih kurang 2300 triterpen dengan 8 dan 10 residu monosakarida.

DEFINISI Ekstrak *Quillaia* (Tipe 1) diperoleh dari ekstraksi air dari bagian dalam kulit kayu yang digiling atau dari batang dan cabang *Quillaja saponaria* Molina (family Rosacea). Mengandung saponin triterpenoid (*quillaia saponins, QS*) terutama terdiri dari glikosida asam kuillaiat. Komponen utama polifenol dan tanin, juga terdapat beberapa gula dan kalsium oksalat. Dalam perdagangan, tersedia dalam bentuk cair atau serbuk tabur kering dan mungkin mengandung pembawa seperti laktosa, maltitol atau maltodekstrin.

Ekstrak *quillaia* (Tipe 1) mengandung saponin tidak kurang dari 20% dan tidak lebih dari 26% dihitung terhadap zat kering.

PEMERIAN Cairan merah kecokelatan atau serbuk coklat muda dengan semburat merah muda.

KELARUTAN Sangat larut dalam air, tidak larut dalam etanol, dalam aseton, dalam metanol dan dalam butanol.

PENGGUNAAN Pembentuk busa.

IDENTIFIKASI

1. *Pembentukan busa* Timbang saksama lebih kurang 500 mg serbuk ekstrak zat. Masukkan ke dalam gelas ukur 100 ml, tambahkan 9,5 g air atau 1 ml zat ekstrak cair (1 dalam 10). Pindahkan 1 ml larutan ke dalam gelas ukur 1000 ml, tambahkan 350 ml air. Tutup gelas ukur, kocok kuat 30 kali. Catat volum (ml) busa yang terbentuk setelah 30 menit: terbentuk busa sebanyak 150 ml.
2. *Puncak utama KCKT* Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan Uji* sesuai dengan *Larutan pembanding* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.
3. *Warna dan kekeruhan* Bentuk serbuk : Larutkan 0,5 g zat dalam 9,5 ml air, larutan tidak menjadi keruh. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang 520 nm. Lakukan penetapan blangko: serapan tidak kurang dari 1,2.

KEMURNIAN

1. *Air* <908> *Metode Karl Fischer* Bentuk serbuk: Tidak lebih dari 6%
2. *Susut pengeringan* <912> Bentuk cair: antara 50 dan 80%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 5 jam.
3. *pH* <909> Antara 3,7 dan 5,5. Lakukan penetapan menggunakan larutan 4%.
4. *Abu total* Tidak lebih dari 14% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu* <707> menggunakan 1 g zat serbuk; atau residu susut pengeringan untuk bentuk cair.
5. *Tanin* Tidak lebih dari 8% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Timbang saksama lebih kurang 3 g zat serbuk atau zat cair yang setara, perhitungkan kandungan padatan yang ditentukan dari *Penetapan susut pengeringan*, masukkan ke dalam labu yang sesuai, tambahkan 250 ml air, aduk, homogenkan. Sesuaikan pH hingga 3,5 dengan *asam asetat P*. Pindahkan 25 ml larutan ke dalam labu terpisah, keringkan pada suhu 105° selama 5 jam, catat bobot zat kering dalam g (W_i). Pindahkan 50 ml larutan ke dalam labu terpisah, tambahkan 360 mg *polivinil polipirolidon P*, aduk selama 30 menit pada suhu ruang. Sentrifugasi pada kecepatan 800 x g. Ambil supernatan, keringkan larutan pada suhu 105° selama 5 jam, catat bobot dalam g (W_f). Hitung kadar tanin (%) dalam zat dengan rumus:

$$\frac{W_i - \frac{W_f}{2}}{W_i} \times 100$$

6. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <903>

Prinsip Saponin QS-7, QS-17, QS-18 dan QS-21 dipisahkan dengan fase terbalik *Kromatografi cair kinerja tinggi* dan kadarnya digunakan sebagai indikator total saponin dalam ekstrak quillaia (tipe 1).

Fase gerak A asam trifluoroasetat 0,15% dalam air kualitas *Kromatografi cair kinerja tinggi*.

Fase gerak B asam trifluoroasetat 0,15% dalam asetonitril kualitas *Kromatografi cair kinerja tinggi*.

Larutan uji

Bentuk serbuk Timbang saksama lebih kurang 0,5 g zat, larutkan dalam 9,5 ml air. Saring melalui saringan 0,2 µm.

Bentuk cair Timbang saksama lebih kurang 1 g zat (setara 0,55 g padatan/ml), larutkan dengan 9 ml air. Saring melalui saringan 0,2 µm.

[Catatan Dalam dua kasus tersebut, jumlah Larutan uji adalah lebih kurang 10 ml].

Larutan pembanding Timbang saksama lebih kurang 1,5 g saponin yang telah dimurnikan, masukkan ke dalam Labu Erlenmeyer 100 ml, tambahkan 100 ml air, aduk, homogenkan. Saring melalui saringan 0,2 µm.

Sistem kromatografi Kromatografi cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 220 nm, kolom Vydac 214TP54 (4,6 x 250 mm, dengan ukuran partikel 5 µm) atau yang setara, pertahankan suhu kolom pada suhu ruang, laju alir 1 ml/menit, elusi gradien kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0	70	30
40	55	45
45	70	30

Prosedur Suntikkan sejumlah sama (20 µl) *Larutan uji dan Larutan pembanding* ke dalam kromatograf. Rekam masing-masing respon puncak *Larutan uji dan Larutan pembanding*.

Hitung kadar (mg/ml) saponin ($C_{\text{Larutan pembanding}}$) *Larutan uji* menggunakan rumus:

$$\left(\frac{A_{\text{Larutan uji}}}{A_{\text{Larutan pembanding}}} \right) C_{\text{Larutan pembanding}}$$

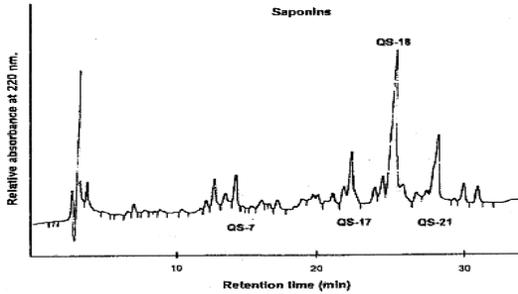
$C_{\text{Larutan pembanding}}$ = Kadar saponin *Larutan pembanding* (mg/ml)

Misal $C_{\text{Larutan pembanding}}$ = 13,5 mg/ml jika kadar saponin pada 1,5 g pembanding adalah 90%

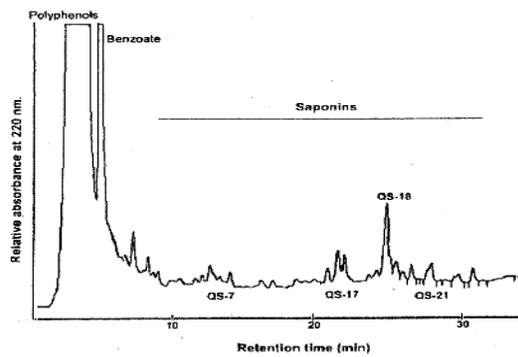
$A_{\text{Larutan uji}}$ dan $A_{\text{Larutan pembanding}}$ = Jumlah area puncak empat komponen saponin dalam *Larutan uji dan Larutan pembanding*, Tanin dan polifenol akan tereluasi sebelum saponin, area puncak saponin akan muncul setelah

A_{Larutan} puncak utama polifenol, dapat dilihat pada gambar di bawah
pembanding ini:

Kromatogram standar (15 mg padatan/ml setara 13,5 mg saponin/ml)



Kromatogram Ekstrak Quillaia (Tipe 1) (55 mg padatan/ml)



Hitung kadar (%) saponin dalam zat menggunakan rumus:

$$\frac{C_{\text{Larutan pembanding}}}{0,1 W_{\text{Larutan uji}}} \times 100$$

$W_{\text{Larutan uji}}$ = Bobot zat (mg)

0,1 = Inverse volume zat 10 ml

EKSTRAK QUILLAIA, TIPE 2

Quillaia Extract (Type 2)

INS 999(ii);

CAS [68990-67-0];

SINONIM *Quillaia extract, Soapbark extract, Quillay bark extract, Bois de Panama, Panama bark extract, Quillai extract.*

Bobot Molekul :

Monomer saponin antara ca. 1800 dan ca. 2300; *consistent with* triterpen antara 8 dan 10 residu monosakarida.

DEFINISI Ekstrak Quillaia (Tipe 2) diperoleh dari pemisahan kromatografi atau ultrafiltrasi ekstrak air dari bagian dalam kulit kayu yang digiling atau dari kayu batang dan cabang *Quillaja saponaria* Molina (*family Rosacea*). Mengandung saponin triterpenoid (*quillaia saponins*, QS) terutama terdiri dari glikosida asam kuillaiat. Komponen minor polifenol dan tanin, juga terdapat beberapa gula dan kalsium oksalat. Dalam perdagangan, tersedia dalam bentuk cair atau serbuk tabur kering dan mungkin mengandung pembawa seperti laktosa, maltitol atau maltodekstrin. Produk cair biasanya ditambahkan pengawet natrium benzoat atau etanol.

Ekstrak Quillaia (Tipe 2) mengandung saponin tidak kurang dari 65% dan tidak lebih dari 90% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

PEMERIAN Cairan atau serbuk coklat kemerahan.

KELARUTAN Sangat larut dalam air, tidak larut dalam etanol, dalam aseton, dalam metanol dan dalam butanol.

PENGUNAAN Pembentuk busa.

IDENTIFIKASI

1. *Pembentukan busa* Timbang saksama lebih kurang 500 mg serbuk ekstrak zat. Masukkan ke dalam gelas ukur 100 ml, tambahkan 9,5 ml air atau 1 ml zat cair (1 dalam 10). Pindahkan 1 ml larutan ke dalam gelas ukur 1000 ml, tambahkan 350 ml air. Tutup gelas ukur, kocok kuat 30 kali. Catat volum (ml) busa yang terbentuk setelah 30 menit: terbentuk busa sebanyak 260 ml.
2. *Puncak utama KCKT* Waktu retensi puncak utama kromatogram *Larutan Uji* sesuai dengan *Larutan pembanding* seperti tertera pada *Penetapan kadar*.
3. *Warna dan kekeruhan* Bentuk serbuk : Larutkan 0,5 g zat dalam 9,5 ml air, larutan tidak menjadi keruh. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang 520 nm. Lakukan penetapan blangko: serapan tidak kurang dari 0,7.

KEMURNIAN

1. *Air <908> Metode Karl Fischer* Bentuk serbuk: Tidak lebih dari 6%

2. *Susut pengeringan* <912> Bentuk cair: antara 50 dan 90%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 5 jam menggunakan 2 g zat.
3. *pH* <909> Antara 3,7 dan 5,5. Lakukan penetapan menggunakan larutan 4%.
4. *Abu total* Tidak lebih dari 5% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu* <707> menggunakan 1,0 g zat serbuk; atau residu susut pengeringan untuk bentuk cair.
5. *Tanin* Tidak lebih dari 8% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Timbang saksama lebih kurang 3 g zat serbuk atau zat cair yang setara, perhitungkan kandungan padatan yang ditentukan dari *Penetapan susut pengeringan*, masukkan ke dalam labu yang sesuai, tambahkan 250 ml air, aduk, homogenkan. Sesuaikan pH hingga 3,5 dengan *asam asetat P*. Pindahkan 25 ml larutan ke dalam labu terpisah, keringkan pada suhu 105° selama 5 jam, catat bobot zat kering dalam g (W_i). Pindahkan 50 ml larutan ke dalam labu terpisah, tambahkan 360 mg *polivinil polipirolidon P*, aduk selama 30 menit pada suhu ruang. Sentrifugasi pada kecepatan 800 x g. Ambil supernatan, keringkan larutan pada suhu 105° selama 5 jam, catat bobot dalam g (W_f). Hitung kadar tanin (%) dalam zat dengan rumus:

$$\frac{W_i - \frac{W_f}{2}}{W_i} \times 100$$

6. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <903>

Prinsip Saponin QS-7, QS-17, QS-18 dan QS-21 dipisahkan dengan fase terbalik *Kromatografi cair kinerja tinggi* dan kadarnya digunakan sebagai indikator total saponin dalam ekstrak quillaia (tipe 2).

Fase gerak A asam trifluoroasetat 0,15% dalam air kualitas *Kromatografi cair kinerja tinggi*.

Fase gerak B asam trifluoroasetat 0,15% dalam asetonitril kualitas *Kromatografi cair kinerja tinggi*.

Larutan uji

Bentuk serbuk Timbang saksama lebih kurang 0,5 g zat, larutkan dalam 9,5 ml air. Saring melalui saringan 0,2 µm.

Bentuk cair Timbang saksama lebih kurang 1 g zat (setara 0,55 g padatan/ml), larutkan dengan 9 ml air. Saring melalui saringan 0,2 µm.

[Catatan Dalam dua kasus tersebut, jumlah Larutan uji adalah ca. 10 ml].

Larutan pembanding Timbang saksama lebih kurang 1,5 g saponin yang telah dimurnikan, masukkan ke dalam Labu Erlenmeyer 100 ml, tambahkan 100 ml air, aduk, homogenkan. Saring melalui saringan 0,2 µm.

Sistem kromatografi Kromatografi cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 220 nm, kolom Vydac 214TP54 (4,6 x 250 mm, dengan ukuran partikel 5 µm) atau yang setara, pertahankan suhu kolom pada suhu ruang, laju alir 1 ml/menit, elusi gradien kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0	70	30
40	55	45
45	70	30

Prosedur Suntikkan sejumlah sama (20 µl) *Larutan uji dan Larutan pembanding* ke dalam kromatograf. Rekam masing-masing respon puncak *Larutan uji dan Larutan pembanding*.

Hitung kadar (mg/ml) saponin ($C_{\text{Larutan pembanding}}$) *Larutan uji* menggunakan rumus:

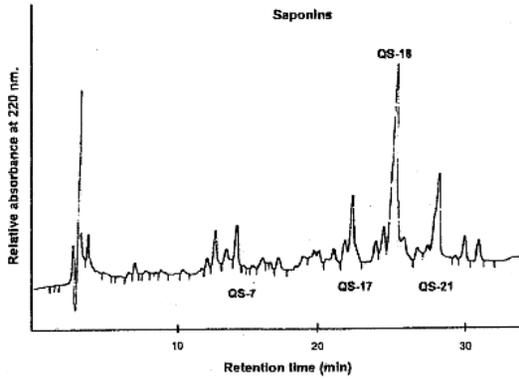
$$\left(\frac{A_{\text{Larutan uji}}}{A_{\text{Larutan pembanding}}} \right) C_{\text{Larutan pembanding}}$$

$C_{\text{Larutan pembanding}}$ = Kadar saponin *Larutan pembanding* (mg/ml)
Misal $C_{\text{Larutan pembanding}} = 13,5$ mg/ml jika kadar saponin pada 1,5 g pembanding adalah 90%

$A_{\text{Larutan uji}}$ dan $A_{\text{Larutan pembanding}}$ = Jumlah area puncak empat komponen saponin dalam *Larutan uji dan Larutan pembanding*, Tanin dan polifenol akan tereluasi sebelum saponin, area puncak saponin akan muncul setelah puncak

utama polifenol, dapat dilihat pada gambar di bawah ini:

Kromatogram standar (15 mg padatan/ml setara 13,5 mg saponin/ml)



Hitung kadar (%) saponin dalam zat menggunakan rumus:

$$\frac{C_{\text{Larutan pembanding}}}{0,1 W_{\text{Larutan uji}}} \times 100$$

$W_{\text{Larutan uji}}$ = Bobot zat (mg)

0,1 = *Inverse volume zat.* 10 ml

EKSTRAK ROSEMARY

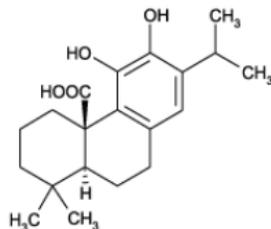
Rosemary Extract

INS 392;

CAS [84604-14-8] (ekstrak rosemary);

[3650-09-7] (asam karnosat);

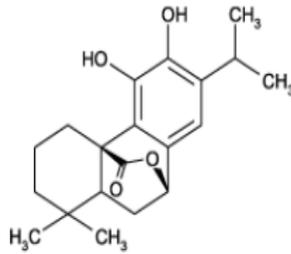
[5957-80-2] (karnosol);



Asam Karnosat; 4a(2H)-Asam fenantrenkarboksilat, 1,3,4,9,10,10a-heksahidro-5,6-dihidoksi-1,1-dimetil-7-(1-metiletil)-, (4aR-trans)-

$C_{20}H_{28}O_4$

BM 332,43



Karnosol; 2H-9,4a-(Epoksimetano)fenantren-12-on, 1,3,4,9,10,10a-heksahidro-5,6-dihidroksi-1,1-dimetil-7(1-metiletil),(4aR-(4aa,9a,10aβ))-

C₂₀H₂₆O₄

BM 330,42

DEFINISI Ekstrak rosemary terdiri dari diterpen fenolik, asam karnosat dan karnosol, sebagai antioksidan utama. Komponen antioksidan lainnya termasuk triterpen dan asam triterpenat. Ekstrak rosemary diperoleh dengan cara ekstraksi serbuk kering daun *Rosmarinus officinalis L.* menggunakan *aseton P* atau *etanol P* tara pangan, kemudian disaring dan pelarut diuapkan sampai kering. Ekstrak kering diayak untuk memperoleh serbuk halus. Langkah pemekatan dan atau pengendapan ini diikuti dengan proses penghilangan bau, penghilangan warna dan menggunakan pelarut serta pembawa tara pangan untuk mendapatkan produk akhir

Total kandungan asam karnosat dan karnosol pada produk komersial hingga 33%.

Ekstrak rosemary mengandung asam karnosat dan karnosol total tidak kurang dari 5% dan tidak lebih dari 33%

PEMERIAN Serbuk, krem sampai cokelat muda

KELARUTAN Tidak larut dalam air, larut dalam lemak tumbuhan; larut dalam lemak hewan dan larut dalam minyak-minyak.

PENGGUNAAN Antioksidan.

IDENTIFIKASI

1. *Perbandingan Antioksidan terhadap Baku pembanding volatile*

Perbandingan % total asam karnosat dan karnosol terhadap % total *Baku pembanding volatile*: tidak kurang dari 15.

% antioksidan (total asam karnosat dan karnosol) diperoleh berdasarkan *Penetapan kadar*.

Baku pembanding volatil: % total w/w [*(-)-borneol, (-)-bornil asetat, (-)-kamper, 1,8-cineole (eucalyptol) dan verbenon*] ditetapkan menggunakan GC-MS.

Baku pembanding volatile :

(-)-Borneol

(-)- Bornil asetat

(-)-Kamfer

1,8-Sineol (Eukaliptol)

Baku internal : 4-Heptanon

Pelarut Tetrahydrofuran (THF), kualitas kromatografi

Lautan Baku Pembanding Campuran (SS) Timbang seksama lebih kurang 20 mg masing-masing baku pembanding *(-)-Borneol; (-)-Bornil asetat; (-)-Kamper; 1,8-Cineole (Eucalyptol); Verbenon* masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *THF* sampai tanda. Kadar masing-masing baku pembanding lebih kurang 400 µg/ml.

Larutan baku internal (ISS) Timbang saksama lebih kurang 20 mg 4-heptanon *P* masukkan dalam labu tentukur 50-ml larutkan dan encerkan dengan *THF* sampai tanda. Kadar 4-heptanon lebih kurang 400 µg/ml.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 2,5 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml. Tambahkan 500 µl *Larutan baku internal* dan encerkan dengan *THF* sampai tanda. Sonikasi selama 10 menit, saring melalui penyaring dengan porisitas 0,45 µm.

Pembuatan Larutan baku kerja (WSS)

Standar	WSS (µg/ml)	SS (µl)	ISS (µl)	THF (µl)	Volume Total (µl)
Level 0	0	0	100	1900	2000
Level 1	± 4	20	100	1880	2000
Level 2	± 20	100	100	1800	2000
Level 3	± 40	200	100	1700	2000
Level 4	± 100	500	100	1400	2000
Level 5	± 200	1000	100	900	2000

Sistem Kromatografi Kromatograf massa (GC/MS) dengan autosampler dilengkapi dengan kolom *Factor FourVF-5MS* 0,25 mm x 30 m dengan ukuran

partikel 0,25 μm , gas pembawa *helium P*, laju alir 1 ml/menit dengan aliran konstan, split: 100:1, suhu injector 250°, suhu *ion source*: 150°; *transfer line*: 240°; *quadrupole*: 230°.

Suhu Program

Suhu (°)	Laju (°/menit)	Waktu tahan (menit)	Waktu total (menit)
70	0,0	1,00	1,00
130	5,0	0,00	13,00
240	10,0	1,00	25,00

Prosedur Masukkan Larutan baku kerja WSS dan *Larutan uji* ke dalam autosampler. Suntikan secara terpisah dengan volum injeksi 1 μl .

Akuisisi MS

Segment>Nama	Tipe Scan Ionisasi	Waktu kromatografi (menit)	Ion (m/z)
1	Off	0,00 – 3,00	-
2. 4- Heptanon (IS)	EI-SIM	3,00 – 3,50	43 71 114
3	Off	3,50 – 5,00	-
4. 1,8-Cineole	EI-SIM	5,00-6,50	43 139 154
5	Off	6,50 – 8,00	-
6. Kamper, Borneol, Verbenon	EI - SIM	8,00 – 11,00	95 107 110 135 152
7. Bornil asetat	EI - SIM	11,00 – 13,00	95 154 196

Rekam kromatogram, ukur semua respon puncak baku pembanding dan 4-heptanon. Hitung kadar zat dalam mg/kg menggunakan kurva kalibrasi baku

internal dengan analisis regresi linier untuk setiap baku pembanding volatil menggunakan rumus:

$$\frac{A}{a} \times \frac{V}{W}$$

A = Perbandingan respon puncak masing-masing referensi volatil terhadap baku internal dalam larutan uji

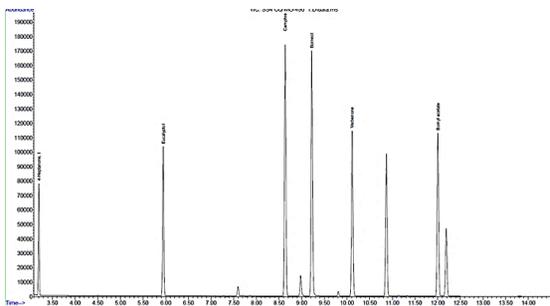
A = slope regresi linier

V = volume larutan uji dalam ml

W = bobot zat dalam g

Hitung jumlah 5 standar volatil.

Kromatogram GC-MS baku pembanding volatil



KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 5% Lakukan pengeringan menggunakan 1 g zat, pada suhu 80° dengan vakum selama 4 jam.
2. *Sisa pelarut* <716> Aseton: tidak lebih dari 50 bpj. Etanol: tidak lebih dari 500 bpj.

Lakukan penetapan secara Kromatografi gas-*headspace* seperti tertera pada *Kromatografi* <903>

Larutan baku persediaan (1mg/ml) Timbang saksama lebih kurang 0,1 g *aseton P* masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *N,N dimetilformamida P* sampai tanda. Kadar larutan 1mg/mL

Larutan baku kerja Encerkan secara kuantitatif dan jika perlu bertahap *Larutan baku persediaan* dengan *N,N dimetilformamida P* hingga diperoleh larutan baku kerja dengan kadar berturut-turut 1, 2, 5, 10, 20, 40 µg/ml. Pipet 1 ml masing-masing *Larutan baku kerja* ke dalam vial autosampler 20 ml dan tutup.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat masukkan ke dalam vial autosampler 20 ml. Tambahkan 1,0 ml *N,N dimetilformamida P*, sonikasi selama beberapa menit dan tutup.

Sistem kromatografi Kromatograf *gas-headspace* dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, kolom kapiler DB-624, 30 m x 0,53 mm dengan ukuran partikel 3 µm atau yang setara; pertahankan suhu detektor pada 300°, injektor 260°. Suhu kolom diprogram sebagai berikut: Suhu awal 40° selama 5 menit, naikkan suhu hingga 200° dengan kecepatan 10° per menit dan pertahankan suhu pada 200° selama 9 menit; gas pembawa *helium P*, laju alir 6 ml per menit. Laju alir gas hidrogen 30 ml per menit dan laju alir udara 400 ml per menit, laju alir gas nitrogen (sebagai *makeup* gas detektor) 25 ml per menit. Split ratio 1,2:1. Suhu *headspace* diprogram sebagai berikut: suhu pemanasan 70°, waktu pemanasan 60 menit, suhu siring 95°, suhu *transfer line* 95°.

Prosedur Letakkan masing-masing vial *Larutan baku kerja* dan *Larutan uji* pada baki autosampler. Suntikkan sejumlah volume (1000 µl) masing-masing *Larutan uji* dan *Larutan baku kerja* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Buat kurva kalibrasi baku aseton. Hitung kadar aseton (dalam mg/kg) menggunakan rumus

$$\frac{\left(\frac{As - y}{a} \times \frac{P_{std}}{100} \times 1000000\right)}{W}$$

As	=	respons puncak aseton dalam larutan uji
y	=	intersep kurva kalibrasi baku aseton
a	=	slope kurva kalibrasi baku aseton
P _{std}	=	persentase kemurnian baku (%)
W	=	bobot zat uji (mg)
1000000	=	konversi kadar dalam mg/kg

3. *Arsen <708>* Tidak lebih dari 3 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
4. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan asam karnosat dan karnosol dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*

Fase gerak Campur asetonitril P - asam fosfat P 0,5% (65:35). Awaudarkan dan lakukan penyesuaian sistem.

Larutan asam fosfat Larutkan 0,5 ml asam fosfat P kualitas ACS dalam 100 ml metanol P kualitas kromatografi .

Larutan baku pembanding Timbang saksama sejumlah serbuk ekstrak *Rosemary BPF* masukkan dalam labu tentukur yang sesuai, tambahkan *Larutan asam fosfat*, sonikasi selama 5 menit dan saring melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm, hingga diperoleh kadar 200-500 µg/ml.

Larutan kesesuaian sistem Timbang saksama lebih kurang sejumlah asam karnosat BPF masukkan dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dan encerkan dengan *Larutan asam fosfat*, sonikasi selama 5 menit, saring melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm, hingga diperoleh kadar 100 µg/ml.

Larutan uji Timbang saksama sejumlah zat, masukkan dalam labu tentukur yang sesuai, larutkan dan encerkan dengan *Larutan asam fosfat*, sonikasi selama 5 menit, saring melalui penyaring dengan porositas 0,45 µm, hingga diperoleh kadar 500 µg/ml.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi autosampler dengan detektor ultraviolet 230 nm, kolom 250 mm x 4,6 mm berisi mikropartikel silika dengan ukuran 5 µm yang terikat pada oktadesilsilan, pertahankan suhu kolom pada 25°, laju alir 1,5 ml per menit.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume (5 µl) *Larutan kesesuaian sistem*, *Larutan baku pembanding* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respons puncak. Faktor ikutan puncak asam karnosat antara 0,90 dan 1,30 dan simpangan baku relatif respon puncak asam karnosat pada penyuntikan ulang tidak lebih dari 2%. Hitung persentase asam karnosat atau karnosol dalam zat dengan rumus

Asam Karnosat

$$\frac{A_{\text{analit}}}{A_{\text{std}}} \times \frac{C_{\text{std}}}{C_{\text{u}}} \times 100$$

Karnosol

$$\frac{A_{\text{analit}}}{A_{\text{std}}} \times \frac{C_{\text{std}}}{C_{\text{u}}} \times \frac{1}{F} \times 100$$

- A_{analit} = respons puncak analit (asam karnosat atau karnosol) dari larutan uji
- A_{std} = respon puncak asam karnosat yang diperoleh dari larutan kesesuaian sistem
- C_{std} = kadar asam karnosat dalam larutan kesesuaian sistem ($\mu\text{g/ml}$)
- C_{u} = kadar asam karnosat dalam larutan uji ($\mu\text{g/ml}$)
- F = Faktor respon relatif dari analit (asam karnosat: 1,00; karnosol: 0,92)

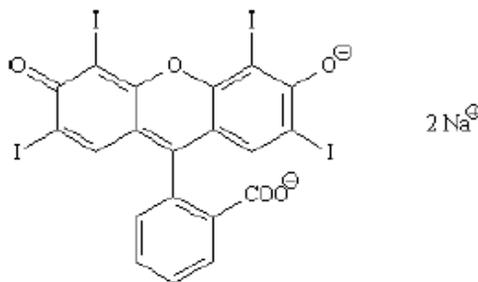
ERITROSIN

Erythrosine

INS 127

CAS [16423-68-0]

SINONIM *CI Food Red 14, CI (1975) No. 45430, Food Red No.3, FD&C Red No.3*



Dinatrium 2-(2,4,5,7-tetraiodo-6-oksido-3-oksoxanten-9-il)benzoat monohidrat;
Dinatrium;2',4',5',7'-tetraiodo-3-oksospiro[2-benzofuran-1,9'-xanten]-3',6'-diolat;
Dinatrium 2',4',5',7'-tetraiodofluoresein monohidrat

$\text{C}_{20}\text{H}_6\text{I}_4\text{Na}_2\text{O}_5 \cdot \text{H}_2\text{O}$

BM 879,86

DEFINISI Eritrosin mengandung garam dinatrium dari 2-(2,4,5,7-tetraiodo-6-oksido-3-oksoxanten-9-il)benzoat monohidrat dan zat warna lain. Natrium klorida dan/atau natrium sulfat sebagai komponen utama bahan tidak berwarna. Eritrosin diperoleh dengan cara iodinasi fluoresein, produk kondensasi resorsinol dan ftalat anhidrat.

Eritrosin dapat dibuat menjadi aluminium lake yang sesuai dan harus memenuhi persyaratan umum *Pewarna Aluminium-lakes*.

Eritrosin mengandung tidak kurang dari 87,0 % total zat warna.

PEMERIAN Serbuk atau granula, merah.

KELARUTAN Larut dalam air dan sukar larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pewarna pangan.

IDENTIFIKASI

Spektrum serapan larutan zat dalam air menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang lebih kurang 527 nm.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 13%. Lakukan penetapan klorida sebagai garam natrium, sulfat sebagai garam natrium pada suhu 135° selama 6 jam.
2. *Iodida anorganik* Tidak lebih dari 0,1% dihitung sebagai natrium iodida. Timbang saksama lebih kurang 1,0 g zat, masukkan ke dalam gelas piala 100-ml, tambahkan 75 ml air dan pengaduk magnetik. Aduk sampai larut. Celupkan elektroda iodida dan elektroda pembanding ke dalam larutan dan atur milivoltmeter untuk membaca sistem potensial dalam milivolt. Teteskan larutan *perak nitrat P 0,001 M* dari buret, mula-mula 0,5 ml, mendekati titik akhir diturunkan menjadi 0,1 ml sampai terjadi kenaikan potensial dan pembacaan mV stabil pada setiap penambahan. Catat mV yang dibaca, lanjutkan titrasi hingga mV tidak berubah pada penambahan titran. Tetapkan volume larutan perak nitrat yang ditambahkan terhadap pembacaan potensial maksimum dalam mV. Hitung persentase natrium iodida dalam zat dengan rumus:

$$\text{titer} \times 0,015 \%$$

dimana :

Titer = ml-setara dengan larutan *perak nitrat P*

0,015% = $0,001 \text{ mol/l} \times 10^{-3} \text{ l/ml} \times 149,89 \text{ g natrium iodida/mol} \times 1 \text{ mol/setara} \times 1/1,0 \text{ g (berat zat)} \times 100$

3. *Zat tidak larut air* <914> Tidak lebih dari 0,2 %.

4. *Zink* Tidak lebih dari 50 bpj. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*
5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*
6. *Pewarna ikutan <1302>* Tidak lebih dari 4 % (kecuali fluoresein). Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi <903>*

[Catatan Hindarkan zat dan baku dari paparan cahaya matahari langsung]

Pereaksi kualitas KCKT

Larutan pembanding

- 2',4',5'-Triiodofluoresein (C.A.S. 56254-06-9)
- 2',4',7'-Triiodofluoresein (C.A.S. 83498-90-2)
- Garam dinatrium 4',5'-Diiodofluoresein, (C.A.S. 33239-19-9)
- Garam dinatrium 2'- Monoiodofluoresein, (C.A.S. 52010-85-2)
- Garam dinatrium 4'-Monoiodofluoresein (C.A.S. 52010-86-3)
- Eritrosin (C.A.S. 16423-68-0) – TCI, >95,0%

Dinatrium 2',4',5',7'-tetraiodofluoresein, Cat.

No. F0139 atau yang setara (gunakan jika pewarna tambahan tidak tersedia)

Siapkan larutan pembanding sesuai kebutuhan.

Fase gerak A Ammonium asetat 0,1 M

Fase gerak B Metanol P

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat dan masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dalam air, encerkan sampai tanda. Jika perlu, buat pengenceran untuk memisahkan komponen pewarna ikutan dari pewarna primer untuk meningkatkan resolusi.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi fase balik dilengkapi dengan detektor UV/VIS pada panjang gelombang 514 nm atau detektor *diode array*, kolom C8 berukuran 250 mm x 4,6 mm dengan ukuran partikel 5 µm. Pertahankan suhu kolom pada suhu ruang, laju alir 1,0 ml per menit, volume penyuntikan 20 µl. Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase Gerak A (%)	Fase Gerak B (%)
0	55	45
20	34	66
21,1	0	100

25,5	0	100
26,0	55	45
40,0	55	45

Hitung persentase pewarna ikutan menggunakan kurva baku sesuai dengan pembanding yang digunakan. Jika eritrosin digunakan sebagai pembanding, hitung persentase pewarna ikutan

$$\frac{\text{total respon puncak pewarna ikutan}}{\text{total semua respon puncak termasuk eritrosin}} \times 100\%$$

7. *Fluoresein* Tidak lebih dari 20 bpj. Lakukan penetapan dengan *Kromatograf cair kinerja tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi <903>* pada *pewarna ikutan* menggunakan detektor UV-VIS pada panjang gelombang 492 nm atau *diode array* dan volume penyuntikan 50 µl.

Larutan pembanding Fluorosein, garam dinatrium (C.A.S. 518-47-8).

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 2 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dalam air, encerkan sampai tanda.

8. *Senyawa organik selain zat warna <1304>* Tri-iodoresorsinol: tidak lebih dari 0,2%; Asam benzoat 2-(2,4-dihidroksi-3,5-di-iodobenzoil): tidak lebih dari 0,2%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatograf cair kinerja tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi <903>*

Pereaksi kualitas KCKT

Larutan pembanding

- 2,4,6-triiodoresorsinol (C.A.S. 19403-92-0)
- Asam benzoat 2-(2,4-dihidroksi-3,5-di-iodo benzoil)

Timbang saksama sejumlah zat pembanding, masukkan ke dalam labu tentukur amber yang sesuai, larutkan dan encerkan dalam *metanol P*. Larutan pembanding dibuat segar. Buat kurva baku.

Fase gerak A Natrium dihidrogen fosfat 0,05 M dalam campuran air:metanol P (95:5), pH 4,0.

Fase gerak B metanol P

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi fase balik dilengkapi dengan detektor UV/VIS panjang gelombang 223 nm atau detektor *diode array*, kolom C18 berukuran 150 mm x 2,1 mm dengan ukuran partikel 5 µm,

pertahankan suhu kolom pada 27°, laju alir 0,5 ml per menit, volume penyuntikan 5 µl.

Waktu (menit)	Fase Gerak A (%)	Fase Gerak B (%)
0	95	5
3	95	5
5	80	20
13	35	65
15	0	100
25	0	100
27	95	5
37	95	5

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan *metanol P* sampai tanda. Suntikan sejumlah 5 µl, ukur seluruh respon puncak.

Hitung persentase senyawa organik lain menggunakan kurva baku.

9. *Zat terekstraksi eter <1303>* Tidak lebih dari 0,2 %. Lakukan penetapan menggunakan larutan dengan pH tidak kurang dari 7
10. *Zat tidak larut asam hidroklorida dalam 'Erythrosine Lake'* Tidak lebih dari 0,5%.

Pereaksi:

- *Asam hidroklorida P*
- *Asam hidroklorida 0,5% v/v*
- Larutan ammonium hidroksida encer yang dibuat sebagai berikut: 10 ml *ammonium hidroksida 14,5 M* diencerkan hingga 100 ml.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 5 g '*Erythrosine Lake*', masukkan ke dalam gelas piala 500-ml, tambahkan 250 ml air dan 60 ml *asam hidroklorida P*. Didihkan untuk melarutkan alumina dan mengubah eritrosin menjadi bentuk asam bebas yang tidak larut asam. Saring melalui penyaring kaca masir No. 4 yang telah ditimbang, bilas penyaring dengan sedikit larutan *asam klorida P 0,5%* panas lalu dengan air panas. Pindahkan filtrat asam dari labu penyaring, angkat penyaring, ganti penampung, bilas dengan *amonia encer LP* panas sampai hasil bilasan tidak berwarna. Keringkan penyaring pada suhu 135° hingga bobot tetap. Hitung persentase

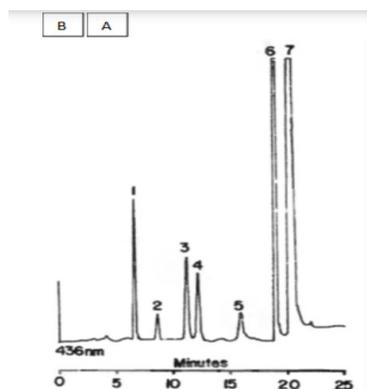
zat tidak larut asam hidroklorida dalam 'Erythrosine Lake' terhadap bobot zat yang ditimbang.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur 1* dalam *Kadar total pewarna secara spektrofotometri* seperti tertera pada *Pewarna <1301>*.

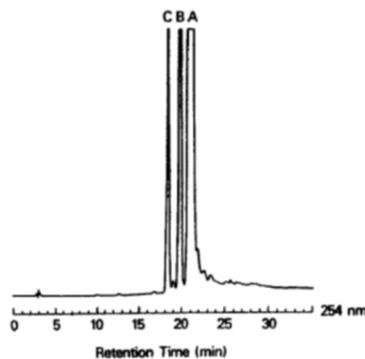
Gunakan air sebagai pelarut

Serapan jenis (a) = 110 l/(g x cm)

Panjang gelombang serapan = 527 nm



Kromatogram Eritrosin



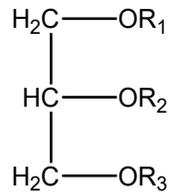
- 1 – Fluoresein A – 2',4',5',7'-tetraiodofluoresein
- 2 – 4'-Iodofluoresein B – 2',4',7'-triiodofluoresein
- 3 – 2'-Iodofluoresein C – 2',4',5'-triiodofluoresein
- 4 – 4',5'-Diiodofluoresein
- 5 – 2',5'-Diiodofluoresein
- 6 – 2',7'-Diiodofluoresein dan 2',4',5'-Triiodofluoresein
- 7 – 2',4',7'-Triiodofluoresein dan 2',4',5',7'-tetraiodofluoresein

ESTER ASAM LEMAK DAN SITRAT DARI GLISEROL

Citric and Fatty Acid Esters of Glycerol

INS 472c

SINONIM *Citric acid esters of mono- and di-glycerides, citroglycerides, CITREM;*



R1, R2 atau R3 mewakili moiety asam sitrat, asam lemak, atau hidrogen.

DEFINISI Ester asam lemak dan sitrat dari gliserol (CITREM) terdiri dari campuran ester dari asam sitrat dan asam lemak yang dapat dimakan dengan gliserol. CITREM diperoleh dari esterifikasi gliserol dengan asam sitrat dan minyak lemak yang dapat dimakan, atau reaksi mono- dan di- gliserida dari minyak asam lemak yang dapat dimakan dengan asam sitrat. Dapat mengandung sejumlah kecil asam lemak bebas, gliserol bebas, asam sitrat bebas dan mono- dan digliserida. Mono- dan digliserida mencakup satu atau dua asam lemak yang dapat dimakan (C12:0 sampai C18:0), terutama asam palmitat (C16:0) dan asam stearat (C18:0). Dapat mengandung sejumlah kecil asam lemak lain seperti miristat (C14:0), oleat (C18:1), linoleat (C18:2) dan asam arakidat (C20:4). Dapat dinetralkan sebagian atau seluruhnya dengan natrium atau kalium hidroksida atau dengan menggunakan garam natrium, kalium atau kalsium dari asam lemah seperti asam asetat, laktat, propionat atau karbonat.

PEMERIAN Menyerupai minyak cair sampai malam padat, putih sampai putih gading.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, larut dalam minyak dan dalam lemak, tidak larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Garam pengemulsi, pengemulsi, penstabil.

IDENTIFIKASI

1. *Asam lemak* Memberikan reaksi asam lemak seperti tertera dalam *Uji identifikasi gugus fungsional <1104>*.
2. *Asam sitrat* Memberikan reaksi asam sitrat seperti tertera dalam *Uji identifikasi gugus fungsional <1104>*.
3. *Gliserol* Memberikan reaksi gliserol seperti tertera dalam *Uji identifikasi gugus fungsional <1104>*.

KEMURNIAN

1. *Abu sulfat Metode 1*. Produk yang tidak netral, tidak lebih dari 0,5%. Sebagian produk netral, tidak lebih dari 3%. Seluruh produk netral tidak lebih dari 10%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu <707>* menggunakan 2 g zat.
2. *Gliserol bebas* Tidak lebih dari 4%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *1-monogliserida dan gliserol bebas <1106>*
3. *Gliserol total* 8-33%. Lakukan penetapan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi seperti yang tertera pada *Kromatografi <903>* pada zat yang telah dihidrolisis dengan *kalium hidroksida*.

Fase gerak Timbang saksama lebih kurang 6,8 g *kalium dihidrogen fosfat P* ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan 5 ml *asam fosfat 85%*, encerkan dengan air sampai tanda.

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 20, 40, 60, 80, 100 mg gliserol, masukkan ke dalam masing-masing labu tentukur 100-ml, tambahkan air sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, tambahkan 2 ml *kalium hidroksida metanolat 0,5 M*. Masukkan ke dalam vial 25-ml bersumbat ulir. Lakukan hidrolisis selama 2 jam di atas plat panas pada suhu 110°. Dinginkan, tambahkan 20 ml *asam fosfat P* dan kocok. Pindahkan 500 µl fase air dan saring menggunakan penyaring membran dengan porositas 0,45 µm.

Sistem kromatografi Kromatografi cair kinerja tinggi yang dilengkapi dengan detektor indeks bias, *autosampler* dan kolom termostat. Kolom 4,6 mm x 250 mm x 5 µm berisi C18 dengan ukuran partikel 5 µm. Pertahankan suhu kolom dan detektor indeks bias pada suhu 35°. Laju alir 1 ml/menit. Waktu retensi gliserol adalah 2,6 menit.

Prosedur Suntikkan secara terpisah dalam volume sama (10 µl) serial *Larutan baku* dan *Larutan uji*. Rekam kromatogram, ukur semua respon puncak. Buat kurva baku. Hitung persentase gliserol menggunakan kurva baku atau menggunakan rumus :

$$\frac{(CU \left(\frac{mg}{ml}\right) \times 22 (ml))}{W} \times 100$$

W = bobot zat (mg)

CU = konsentrasi gliserol pada kurva baku (mg/ml)

4. *Asam sitrat total* 13-50%. Lakukan penetapan menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi seperti yang tertera pada *Kromatografi <903>* pada zat yang telah dihidrolisis.

Fase gerak Timbang saksama lebih kurang 6,8 g *kalium dihidrogen fosfat P* ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan 5 ml *asam fosfat 85%*, encerkan dengan air sampai tanda.

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 10, 25, 40, 55, 70, 85 mg asam sitrat, masukkan ke dalam masing-masing labu tentukur 100-ml, larutkan dalam pelarut netralisasi (5 ml *asam fosfat 85%* dalam 1 L air *grade KCKT*), tambahkan pelarut netralisasi sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, tambahkan 2 ml *kalium hidroksida metanolat 0,5 M*. Masukkan ke dalam vial 25-ml bersumbat ulir. Lakukan hidrolisis selama 2 jam di atas plat panas pada suhu 110°. Dinginkan, tambahkan 20 ml *asam fosfat encer* (5 ml *asam fosfat P* dalam 1 L air) dan kocok. Pindahkan 500 µl fase air dan saring menggunakan penyaring membran dengan porositas 0,45 µm.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi yang dilengkapi dengan detektor UV pada panjang gelombang 205 nm, *autosampler* dan kolom termostat. Kolom Hidro-RP 4,6 mm x 250 mm berisi 80 Å dengan ukuran partikel 4 µm. Kolom dipertahankan pada suhu 25°. Laju alir 1 ml/menit. Waktu retensi asam sitrat adalah 6,9 menit.

Prosedur Suntikkan secara terpisah dalam volume sama (10 µl) serial *Larutan baku* dan *Larutan uji*. Rekam kromatogram, ukur semua respon puncak. Buat kurva baku. Hitung persentase asam sitrat menggunakan kurva baku atau menggunakan rumus :

$$\frac{(CU \left(\frac{mg}{ml}\right) \times 22 (ml))}{W} \times 100$$

W = bobot zat (mg)

CU = konsentrasi asam sitrat pada kurva baku (mg/ml)

5. *Asam lemak total 37-81%*. Timbang saksama lebih kurang 5 g zat ke dalam labu alas bulat 250 ml, tambahkan 50 ml larutan *kalium hidroksida etanolat 1 N*, refluks selama 1 jam dalam tangas air. Pindahkan secara kuantitatif isi labu ke dalam corong pisah 1000 ml, bilas labu tiga kali, tiap kali dengan 25 ml air. Masukkan air bilasan ke dalam corong pisah, tambahkan 5 tetes *jingga metil LP*. Tambahkan hati-hati *asam hidroklorida P* hingga larutan berubah menjadi merah, tambahkan 1 ml berlebih. Kocok kuat, pisahkan lapisan asam. Dinginkan hingga suhu ruang, ekstraksi asam lemak yang terpisah tiga kali, tiap kali dengan 100 ml *eter P*. kumpulkan ekstrak eter, cuci dengan 50 ml larutan *natrium klorida 10%* hingga larutan pencuci menjadi netral. Pindahkan lapisan eter ke dalam cawan penguap yang telah ditara. Keringkan lapisan eter dengan *natrium sulfat anhidrat P*, uapkan eter di atas tangas uap sampai kering, biarkan selama 10 menit, dinginkan, dan timbang. Hitung persentase asam lemak total dengan rumus:

$$\frac{\text{bobot asam lemak (g)}}{\text{bobot zat (g)}} \times 100\%$$

6. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj (tidak lebih dari 0,5 bpj untuk penggunaan formula bayi dan formula bayi untuk keperluan medis khusus). Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*

ESTER SUKROSA ASAM LEMAK

Sucrose Esters of Fatty Acids

INS 473

DEFINISI Mono-, di-, dan tri-ester dari sukrose dengan asam lemak dapat dimakan, dibuat dari sukrose, metil dan etil ester asam lemak dapat dimakan melalui reaksi esterifikasi yang dikatalisis atau melalui ekstraksi sukrogliserida. Pelarut yang digunakan untuk produksi: dimetilformamida, dimetilsulfoksida, etil asetat, isopropanol, propilen glikol, isobutanol, dan metil etil keton.

Ester sukrosa asam lemak mengandung tidak kurang dari 80% ester sukrosa.

PEMERIAN Serbuk, putih hingga putih keabuan atau kuning muda; padatan lunak atau gel.

KELARUTAN Sangat mudah larut dalam etanol pada suhu 50°

PENGGUNAAN Pengemulsi.

IDENTIFIKASI

1. *Asam lemak* Tambahkan 1 ml *etanol P* ke dalam 100 mg zat, hangatkan hingga larut, tambahkan 5 ml *asam sulfat encer LP*, panaskan menggunakan tangas air selama 30 menit dan dinginkan: terbentuk padatan atau cairan menyerupai minyak, putih kekuningan terbentuk, tidak berbau asam isobutirat, dan larut dengan penambahan 3 ml eter.
2. *Gula* Masukkan 2 ml lapisan air dari penetapan *Asam lemak* ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 ml *antron LP* melalui dinding tabung: terjadi warna biru atau hijau pada batas permukaan dua lapisan.

KEMURNIAN

1. *Abu sulfat Metode I* Tidak lebih dari 2%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu <707>* menggunakan 1 g zat.
2. *Bilangan asam <1101>* Tidak lebih dari 6.
3. *Sukrose bebas* Tidak lebih dari 5%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

Fase gerak Helium P.

Larutan baku Buat larutan baku induk yang mengandung 5 mg/ml *sukrose P* dalam *N,N-dimetilformamida P*. Buat enceran larutan baku mengandung 0,5; 1,25; dan 2,5 mg/ml *sukrose*. Buat larutan baku tersililasi seperti tertera pada *Larutan uji* menggunakan 1 ml masing-masing enceran *Larutan baku*.

Larutan baku internal Timbang saksama lebih kurang 250 mg *oktakosana* masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml, larutkan dan encerkan dengan *tetrahidrofurana P* sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 20–50 mg ke dalam tabung sentrifuga, tambahkan 1 ml *Larutan baku internal*, 1 ml *N,N-dimetilformamida P*, 0,4 ml *N,O-bis(trimetilsilil)asetamida P*, dan 0,2 ml *trimetilklorosilan P*. Tutup tabung, kocok dan diamkan selama 5 menit pada suhu ruang.

Sistem kromatografi Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, kolom 30 m x 0,32 mm dilapisi dengan 100% dimetilpolisiloksana setebal 0,25 µm. Laju alir lebih kurang 1,5 ml/menit. Pertahankan suhu kolom pada 100° selama 1 menit, 100–300° dengan kenaikan 12 ° per menit, dan pertahankan selama 45 menit pada suhu 300°; injektor 280°; dan detektor 320°. Waktu retensi sukrose bebas dan oktakosana berturut-turut 18,8 dan 19,3 menit.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 µl) enceran *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf gas. Gambar kurva baku dengan jumlah sukrose (mg) dalam 1 ml larutan baku sebagai sumbu-X dan perbandingan respons puncak masing-masing larutan baku terhadap baku internal sebagai sumbu-Y. Ukur perbandingan respons puncak sukrose dan baku internal. Tentukan rasio jumlah sukrose menggunakan kurva baku. Hitung persentase sukrose bebas dengan rumus

$$\frac{\text{Jumlah sukrose yang ditemukan (mg)}}{\text{Bobot zat (mg)}} \times 100$$

4. *Dimetilformamida* Tidak lebih dari 1 bpj. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

Fase gerak Helium P.

Larutan baku Buat larutan baku induk yang mengandung 1 mg/ml *dimetilformamida P* dalam *tetrahidrofur* *P*. Buat enceran larutan baku mengandung 0,05; 0,1; dan 0,2 µg/ml *dimetilformamida*.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 2 g zat, masukkan ke dalam tabung tentukur 20-ml, larutkan dan encerkan dengan *tetrahidrofur* *P* sampai tanda.

Sistem kromatografi Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor nitrogen/ fosfor atau detektor spesifik termoionik, kolom 30 m x 0,32 mm dilapisi polietilen glikol setebal 0,5 µm. Tekanan 150 kPa tetap. Pertahankan suhu kolom pada 40° selama 2 menit, 40–160° dengan kenaikan 20° per menit, dan pertahankan selama 2 menit pada suhu 160°; injektor 180°; dan detektor 325°. Waktu retensi *dimetilformamida* 6,4 menit.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 1 µl) enceran *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf gas, menggunakan injektor otomatis, diikuti dengan *purge* setelah 1 menit. Buat kurva baku antara kadar *dimetilformamida* dengan respon puncak enceran

Larutan baku. Tentukan kadar dimetilformamida dalam zat. Hitung kadar dimetilformamida dalam bpj dengan rumus

$$\frac{C \times 20}{W}$$

C =kadar dimetilformamida dalam *Larutan uji* ($\mu\text{g/ml}$).

W =bobot zat dalam gram.

[*Catatan: Kolom harus sering di rekondisikan. Rekondisikan semalam (alirkan gas pembawa dengan arah terbalik pada 180° tanpa terhubung dengan detektor) diperlukan setelah setiap 15 pengujian.*]

5. *Dimetilsulfoksida* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

Fase gerak Nitrogen P.

Larutan baku Buat larutan baku induk yang mengandung 0,25 mg/ml *dimetilsulfoksida P* dalam *tetrahidrofur* *P*. Buat enceran larutan baku mengandung 0,1; 0,2; 0,4; 1,0 $\mu\text{g/ml}$ *dimetilsulfoksida*.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukkan ke dalam tabung tentukur 25-ml, larutkan dan encerkan dengan *tetrahidrofur* *P* sampai tanda.

Sistem kromatografi Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor fotometrik nyala (menggunakan membran belerang 394 nm), kolom 2 m x 3 mm, berisi 10% PEG 20 M dan 3% KOH pada Chromosorb W AW DMCS dengan ukuran 60/80 mesh [*Catatan: Kondisikan kromatograf gas dengan menaikkan suhu oven hingga 180° dengan kenaikan $10^\circ/\text{menit}$ dan biarkan hingga stabil 24–48 jam dengan 30–40 ml/menit nitrogen.*] Laju alir lebih kurang 30 ml/menit. Pertahankan suhu kolom pada 160° ; injektor 210° . Waktu retensi *dimetilsulfoksida* 3,4 menit.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 3 μl) enceran *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf gas. Buat kurva baku antara kadar *dimetilsulfoksida* dengan respon puncak enceran *Larutan baku*. Tentukan kadar *dimetilsulfoksida* dalam zat. Hitung kadar *dimetilsulfoksida* dalam bpj dengan rumus

$$\frac{C \times 25}{W}$$

C = kadar dimetilsulfoksida dalam *Larutan uji* ($\mu\text{g/ml}$)
W = bobot zat dalam gram

6. *Etil asetat, isopropanol, dan propilen glikol* Tidak lebih dari 350 bpj, satuan atau dalam kombinasi. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

Etil asetat, isopropanol

Fase gerak Nitrogen P.

Larutan baku A Timbang saksama lebih kurang 200 mg masing-masing etil asetat dan isopropanol masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml yang berisi 20 ml air, tambahkan air sampai tanda, sehingga diperoleh kadar masing-masing 4000 mg/l.

Larutan baku B Encerkan *Larutan baku A* hingga diperoleh kadar masing-masing 2000 mg/l.

Larutan baku C Encerkan *Larutan baku B* hingga diperoleh kadar masing-masing 1000 mg/l.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang empat kali 1 g masing-masing zat, masukkan ke dalam empat vial. Pada vial pertama, tambahkan 5 μl air, vial kedua sampai keempat, tambahkan berturut-turut *Larutan baku A, B, dan C*, dan tutup dengan cepat menggunakan septum. Kadar tiap larutan zat setelah penambahan 5 μl larutan baku A, B, dan C berturut-turut adalah 20, 10, dan 5 bpj. Letakkan vial dalam *head space sampler*.

Sistem kromatografi Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, kolom 30 m x 0,53 mm dilapisi 100% polidimetilsiloksan setebal 1,5 μm . Laju alir lebih kurang 3,5 ml/menit. Pertahankan suhu kolom pada 40°; injektor 110°; detektor 110°; *head space sampler* 80°; periode *sample heat insulating* 40 menit; suhu *syringe* 85°; volume penyuntikan 1 ml.

Prosedur Buat kurva baku antara jumlah etil asetat atau isopropanol yang ditambahkan dan yang terdapat dalam zat dengan masing-masing respon puncak. Hubungan harus linear. Ekstrapolasi dan tentukan intersep-x (w_i) dan hitung konsentrasi etil asetat atau isopropanol (C_i) dalam zat dengan rumus

$$\frac{w_i}{W}$$

- w_i = intersep-x dari hubungan garis menggunakan metode standar adisi (μg)
 W = bobot zat dalam gram

Propilen glikol

Fase gerak Helium P.

Larutan baku Buat enceran larutan baku yang mengandung 1, 5, 10, 25, dan 50 μl propilen glikol masing-masing dengan 5 $\mu\text{g/ml}$ etilen glikol dalam tetrahidrofur *P.*

Larutan baku internal Buat larutan etilen glikol 500 $\mu\text{g/ml}$ dalam tetrahidrofur *P.*

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, tambahkan 100 μl *Larutan baku internal*. Tambahkan tetrahidrofur *P* sampai tanda. Masukkan 0,5 ml *Larutan uji* ke dalam tabung sentrifuga, tambahkan 0,25 ml larutan 1,1,1,3,3,3-heksametildisilasan LP (*HMDS*) dan 0,1 ml trimetilklorosilan *P*. Tutup tabung, kocok kuat, diamkan selama 30 menit pada suhu ruang, kemudian sentrifuga.

Sistem kromatografi Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, kolom 30 m x 0,32 mm dilapisi 100% polidimetilsiloksan setebal 0,25 μm . Laju alir lebih kurang 1,5 ml/menit. Pertahankan suhu kolom pada 40° selama 3 menit, kemudian naikan sampai 250° dengan kenaikan 20° per menit, pertahankan suhu 250° selama 5 menit; injektor 230°; detektor 270°. Waktu retensi etilen glikol dan propilen glikol diukur berdasarkan kondisi di atas berturut-turut sekitar 7,6 dan 7,8 menit.

Prosedur Buat kurva baku antara kadar propilen glikol dengan respon puncak enceran *Larutan baku*. Perlakukan masing-masing 0,5 ml enceran *Larutan baku* seperti tertera pada *Larutan uji*. Tentukan kadar propilen glikol dalam zat. Hitung kadar propilen glikol dalam bpj dengan rumus

$$\frac{C \times 10}{W}$$

C =kadar propilen glikol yang ditentukan dengan kurva baku ($\mu\text{g/ml}$).

W =bobot zat dalam gram.

7. *Isobutanol* Tidak lebih dari 10 bpj. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Etil asetat, isopropanol* dengan menggunakan isobutanol sebagai pengganti etil asetat atau isopropanol.

8. *Metanol* Tidak lebih dari 10 bpj. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Etil asetat, isopropanol* dengan menggunakan metanol sebagai pengganti etil asetat atau isopropanol.
9. *Metil etil keton* Tidak lebih dari 10 bpj. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Etil asetat, isopropanol* dengan menggunakan metil etil keton sebagai pengganti etil asetat atau isopropanol.
10. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom/emisi atom (AAS/ICP-AES) yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

*Fase gerak Tetrahidrofur*an untuk *KCKT* yang telah diawaudarakan.

Larutan baku Larutan baku dibuat dari baku pembanding yang terdiri dari berbagai ester asam lemak seperti tertera pada tabel.

Tabel waktu retensi (menit) dari mono-, di-, dan tri-ester teresterifikasi dengan asam lemak utama

Asam lemak teresterifikasi	Mono-ester	Di-ester	Tri-ester
Asam laurat	40,0	38,2	37,0
Asam palmitat	39,3	37,2	36,0
Asam stearat	39,0	37,0	35,7
Asam oleat	39,1	37,1	35,9

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 50-ml. Larutkan dan encerkan dengan *Tetrahidrofur*an untuk *KCKT* sampai tanda. Saring dengan penyaring membran, diameter 0,45 µm.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor indeks bias, kolom 30 cm x 7,8 mm berisi kopolimer stiren-divinilbenzena untuk kromatografi permeasi gel dengan diameter 5 µm. Laju alir lebih kurang 0,8 ml/menit, pertahankan kolom dan detektor pada suhu 40°.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volume sama (lebih kurang 80 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf gas. Suntikkan 80 µl *Larutan uji* ke kromatograf yang telah distabilkan. Rekam kromatogram selama sekitar 50 menit dan ukur semua respons puncak. Hitung persentase ester sukrose dalam sampel dengan rumus

$$\frac{A}{T} \times 100$$

A = jumlah respons puncak dari tiga komponen utama *Larutan baku*.

T = jumlah semua respons puncak yang dievaluasi selama 43 menit.

GOM ARAB DIMODIFIKASI DENGAN ASAM OKTENIL SUKSINAT

Octenyl succinic acid modified gum arabic

INS 423;

CAS [455885-22-0];

SINONIM *Gum arabic hydrogen octenylbutandioate, Gum arabic hydrogen octenylsuccinate, OSA Modified gum arabic, OSA Modified gum acacia.*

DEFINISI Gom arab dimodifikasi dengan asam oktenil suksinat diperoleh dari proses esterifikasi Gom arab (*Acacia seyal*) atau Gom arab (*Acacia senegal*) dalam larutan air yang mengandung asam oktenil suksinat anhidrat tidak lebih dari 3%. kemudian di-*spray dried*

PEMERIAN Serbuk mudah mengalir, putih pudar hingga coklat muda.

KELARUTAN Mudah larut dalam air, tidak larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pengemulsi.

IDENTIFIKASI

1. *pH* <909> Antara 3,5 dan 6,5. Lakukan penetapan menggunakan larutan (5 dalam 100).
2. *Pembentukan endapan* Tambahkan 0,2 ml *timbal subasetat LP* ke dalam 10 ml larutan zat (1:50) dalam air dingin: segera terbentuk endapan flokulan putih.
3. *Kekentalan* Tidak lebih dari 30 cP. Lakukan penetapan menggunakan larutan (5 dalam 100) pada suhu 25°. Timbang saksama 5 g zat, masukkan ke dalam Labu Erlenmeyer 100 ml, tambahkan 95 ml air, aduk dengan kecepatan sedang selama 2 jam. Ukur viskositas menggunakan viskometer *Brookfield LV* atau yang setara menggunakan spindle 3 pada kecepatan 30 rpm (faktor=40).

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 15,0%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 5 jam.
2. *Abu total* Tidak lebih dari 10,0%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu* <707> menggunakan suhu 530°.
3. *Abu tidak larut asam* Tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu* <707>.
4. *Zat tidak larut air* <914> Tidak lebih dari 1,0%.
5. *Pati atau dextrin* Didihkan larutan zat (1 dalam 50), tambahkan 0,1 *iodum LP*: tidak terjadi warna kebiruan atau kemerahan.
6. *Tanin* Pada 10 ml larutan zat (1 dalam 50) tambahkan 0,1 ml *besi(III) klorida LP*: tidak terjadi warna kehitaman atau tidak terbentuk endapan kehitaman.
7. *Uji mikrobiologi* <51> *Salmonella* spp: negatif dalam 25 g; *Escherichia coli*: negatif dalam 1 g.
8. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.
9. *Esterifikasi asam oktenil suksinat* Tidak lebih dari tidak 3%. Lakukan penetapan asam oktenil suksinat (OSA) dalam produk sisa ekstraksi menggunakan metode H-NMR.

Prosedur

Ekstraksi residu OSA Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, dispersikan dalam 15 ml *metanol P* dalam gelas piala 25 ml, tutup, kocok dengan pengocok mekanik selama 1 malam. Saring melalui kertas saring, sisihkan filtrat, cuci sisa penyaringan pada kertas saring tiga kali tiap kali dengan 7 ml *metanol P*. Diamkan dalam lemari asam, keringkan residu dalam oven dengan tekanan pada suhu 40° selama 1 malam. Residu dihaluskan menggunakan mortar.

Pelarut A H-NMR Dimetil sulfoksida-d₆ (DMSO-d₆ mengandung 1,88% b/b asam trifluoroasetat deuterasi (TFA-d₁) dan 0,42% b/b 1,4-bis (triklorometil) benzena yang direkristalisasi (BTCMB, direkristalisasi dari heksana).

Baku internal 1,4bis (triklorometil) benzena

Pelarut B H-NMR Dimetil sulfoksida-d₆ (DMSO-d₆ mengandung 1,88% b/b asam trifluoroasetat deuterasi (TFA-d₁) dan 1,25 mg/ml baku OSA.

Validasi Larutkan 15 mg Gom Arab non-modifikasi murni dalam 750 µl campuran *Pelarut A H-NMR* dan *Pelarut B H-NMR* sesuai dengan tabel berikut.

Panaskan di atas tangas air hingga padatan larut. Masukkan larutan ke dalam tabung NMR 5 mm.

Pelarut A (µl)	Pelarut B (µl)	BTCMB (mg)	OSA (mg)	OSA % (teori)
750	0	3,75	0	0
620	130	3,1	0,16	1,08
500	250	2,5	0,31	2,08
400	350	1,75	0,44	2,92

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 15 mg zat yang telah dikeringkan, masukkan ke dalam tabung yang berisi 750 µl Pelarut A H-NMR. Panaskan di atas tangas air hingga padatan larut. Masukkan larutan ke dalam tabung NMR 5 mm.

Lakukan penetapan menggunakan spektrometer H-NMR pada frekuensi 400 MHz. Dengan parameter percobaan suhu 85°, pulsa 17,8 µs 90°, penundaan relaksasi 32 detik, waktu akuisisi 1,37 detik, 8.192 titik data, lebar sapuan 5.973,8 Hz, pelebaran garis apodisasi eksponensial 0,5 Hz, 16 pemindaian.

Gunakan puncak metil proton OSA pada 0,8-0,89 ppm dan puncak BTCMB pada 8,1 ppm untuk menghitung persentase OSA yang diesterifikasi dalam zat

$$\frac{I_{\text{OSA-Me}}}{I_{\text{BTCMB}}} \times \frac{4}{3} \times \frac{210.27}{312.84} \times \frac{W_{\text{BTCMB}}}{W_{\text{MGA}}} \times 100$$

$I_{\text{OSA-Me}}$: area puncak terintegrasi dari puncak metil proton OSA

I_{BTCMB} : area puncak terintegrasi puncak proton *baku internal* BTCMB

W_{BTCMB} : Bobot *baku internal* BTCMB dalam mg (diperoleh dari 4,2 mg/ml x 0,750 ml)

W_{MGA} : Bobot zat (mg)

[Catatan :

1. Intensitas sinyal untuk OSA-Me berasal dari 3 proton/molekul, oleh karena itu, $I_{\text{OSA-Me}} / 3$ sesuai dengan jumlah molekul OSA. Intensitas sinyal untuk

BTCMB berasal dari 4 proton/molekul sehingga $I_{BTCMB}/4$ sesuai dengan jumlah molekul BTCMB. Bobot molekul OSA 210,27 dan BTCMB 312,84.

2. *Plot persentase OSA secara teoritis dihitung dalam Tabel di atas dibandingkan dengan persentase OSA yang dihitung dengan pengukuran H-NMR, menggunakan bobot zat sebagai pengganti W_{MGA} . (Korelasi linier harus diperoleh dengan koefisien korelasi $> 0,99$, kemiringan mendekati 1 dan intersep rendah).*
3. *Gunakan nilai kemiringan dan intersep untuk mengoreksi jumlah yang dihitung dalam zat]*

10. *Residu Asam Oktenil Suksinat Lakukan penetapan menggunakan Kromatografi cair kinerja tinggi seperti tertera pada Kromatografi <903>*

Fase gerak Elusi gradien dari campuran metanol P 70% dalam air hingga metanol P 80% dalam air selama 5 menit.

Pereaksi derivatisasi Timbang saksama lebih kurang 2,8 g 2 p-dibromoasetofenon dan 0,28 g 18-Crown-6 dalam 50 ml metil sianida P.

Larutan pembanding Buat larutan asam oktenil suksinat anhidrat dalam metanol P dengan kadar 105,14 mg/l (Larutan A).

Enceran larutan pembanding Dengan syringe ambil 0,25 ml Larutan A masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml. Larutkan dan encerkan dengan metanol P sampai tanda (Larutan B).

Larutan kurva kalibrasi Pipet masing-masing 0,5; 1 dan 2 ml Larutan B, masukkan ke dalam tiga labu alas bulat 50 ml. Pada tiap labu tambahkan 1 ml kalium hidroksida metanolat 0,16 N. Keringkan tiap larutan menggunakan evaporator pada suhu 30°. Larutkan masing-masing residu dalam 2,0 ml metanol P (Larutan C₁, C₂ dan C₃). Masukkan ke dalam vial terpisah, 0,5 ml masing-masing larutan residu, tambahkan 0,5 ml Pereaksi derivatisasi, tambahkan 2 ml metil sianida P, tutup vial dan panaskan pada suhu 80° selama 30 menit. Dinginkan hingga suhu ruang dan segera ukur. Berikut kadar asam oktenil suksinat tiap 5-µl injeksi:

Larutan C₁: 0,2375 µg

Larutan C₂: 0,4750 µg

Larutan C₃: 0,9500 µg

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, ekstraksi dengan 15 ml metanol P selama semalam dengan pengocokan konstan. Saring, bilas residu melalui penyaring kertas, tiga kali, tiap kali dengan 7 ml metanol P.

Kumpulkan seluruh filtrat (sekitar 80% residu terekstraksi dengan prosedur ini), tambahkan 1 ml kalium hidroksida metanolat 0,16 N. Keringkan ekstrak dengan evaporator pada suhu 30°. Larutkan residu dalam 2,0 ml metanol P. Pipet 0,5 ml larutan ke dalam vial dan tambahkan 0,5 ml Pereaksi derivatisasi, tambahkan 2 ml metil sianida P. Tutup vial dan panaskan pada suhu 80° selama 30 menit. Dinginkan hingga suhu ruang, gunakan dalam 24 jam.

Sistem kromatografi Kromatografi cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 254 nm, kolom Mikro-Bondapak C18 atau yang setara, laju alir 1,5 ml per menit.

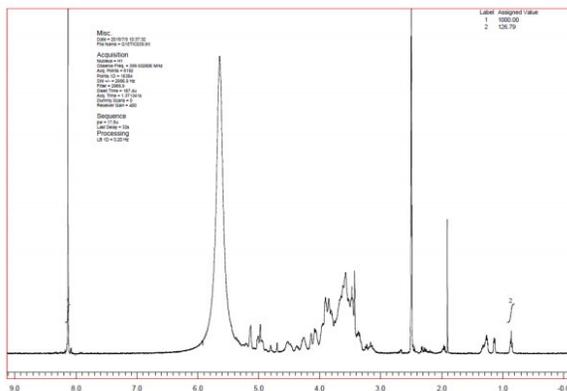
Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah sama (5 µl) Larutan kurva kalibrasi dan Larutan uji ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respon puncak. Buat kurva kalibrasi antara respon puncak dan kadar asam oktenil suksinat menggunakan kurva kalibrasi. Hitung kadar (%) residu asam oktenil suksinat menggunakan rumus:

$$\frac{300 \times V}{W} \times 100$$

V = Volume Larutan uji yang diperoleh pada kurva kalibrasi

W = Bobot zat (mg)

[Catatan Rumus dikoreksi terhadap perolehan kembali 100% melalui pembagian dengan 0,80, sehingga $240/0,80 = 300$]



GOM GATTI

Gum Ghatti

INS 419

CAS [9000-28-6];

SINONIM *Indian gum, ghatti gum, gum ghati*

DEFINISI Eksudat kering tembus cahaya yang diperoleh dalam bentuk tetesan dari kulit pohon *Anogeissus latifolia* (famili *Combretaceae*). Gom gatti diproduksi dengan melarutkan bentuk tetesan dalam air diikuti dengan filtrasi dan sterilisasi. Larutan dapat dikeringkan menjadi bentuk *gummy lump* atau *spray dried* menjadi bentuk serbuk. Produk terdiri dari kompleks polisakarida dengan berat molekul larut air tinggi (lebih kurang beberapa ratus kDa), terdapat sebagai kalsium (atau dalam bentuk garam magnesium). Produk juga mengandung kelembaban yang rendah, sedikit protein dan tannin. Polisakarida memiliki *backbone* β -D-galaktosa yang terhubung α 1-6 dengan rantai samping mengandung unit L-arabinosa. Hidrolisis polisakarida menghasilkan L-arabinosa (setara dengan 40%), D-galaktosa (setara dengan 25%), asam D-glukuronat (setara dengan 20%), D-manosa (setara dengan 7%), dan sejumlah kecil L-rhamnosa (setara dengan 1%) dan D-silosa (setara dengan 1%).

PEMERIAN Produk adalah getah berbentuk *gummy lump* yang dikeringkan atau serbuk yang di-*spray dried*. Produk yang tidak digiling terjadi dalam bentuk *amorphous tears* dengan ukuran yang bervariasi dalam potongan/pecahan tidak beraturan warna coklat terang sampai gelap; dalam bentuk serbuk warna abu-abu sampai abu-abu kemerahan, tidak berbau atau bau lemah.

KELARUTAN Jika 1 g zat didispersikan dalam 5 ml air maka akan membentuk musilago kental dan lengket. Tidak larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pengental, penstabil.

IDENTIFIKASI

1. *Komponen gom* Harus terdapat L-arabinosa, D-galaktosa, D-manosa, L-rhamnosa, D-silosa, dan asam glukuronat. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi*, seperti tertera pada *Kromatografi* <903>.

Fase gerak A Natrium hidroksida 5mM

Fase gerak B Natrium hidroksida 1,0 M

Larutan pembanding Buat masing-masing baku pembanding L-arabinosa, D-galaktosa, D-mannosa, L-rhamnosa, D-silosa dan asam glukuronat dengan kemurnian lebih besar dari 99%, Campur dan larutkan hingga kadar yang sesuai menggunakan air deionisasi.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 50 mg zat, masukan ke dalam tabung reaksi sumbat ulir dengan PTFE. Tambahkan 4 ml air deionisasi dan 0,5 ml *asam trifluoroasetat P*. Sumbat tabung reaksi dan kocok hati-hati. Simpan tabung reaksi dalam oven pada suhu 120° selama 1 jam. Pindahkan *Larutan uji* yang terhidrolisis ke dalam Labu tentukur 100-ml, larutkan dengan air deionisasi sampai tanda. Encerkan *Larutan uji* 20 kali

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor pulsa amperometri Dionex DX-50 atau yang setara, Kolom diisi dengan resin penukar anion Carbopax PA1 berukuran 4 mm x 25 cm dengan ukuran partikel 5 µm atau yang setara. Pertahankan suhu kolom 30°. Laju alir 1,0 ml/menit. Elusi gradien kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0-30	100	0
30-50	0	100
50-70	100	0

Prosedur Suntikkan secara terpisah dalam volume sama (5 µl) masing-masing *Larutan pembanding* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf, rekam kromatogram, catat waktu retensi masing-masing *Larutan pembanding*. Identifikasi L-arabinosa, D-galaktosa, D-manosa, L-rhamnosa, D-silosa, dan asam glukuronat dengan membandingkan waktu retensi dengan larutan pembanding.

2. *Rotasi optik* Larutan zat 1 dalam 50, saring melalui tanah diatomae memutar bidang polarisasi ke kiri.
3. *Pembentukan endapan* Pada 5 ml larutan zat 1 dalam 100 ml (jika perlu saring melalui tanah diatomae) tambahkan 0,2 ml *timbang subasetat encer LP*. Terbentuk endapan halus atau tidak, pada penambahan 0,5 ml *amoniam LP* terbentuk flokulasi keruh.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 14%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 5 jam
2. *Abu Total* Tidak lebih dari 6 %. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu* <707>.

3. *Abu tidak larut asam* Tidak lebih dari 1%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu <707>*.
4. *Uji Mikrobiologi <51>* *Salmonella* spp: negatif per uji; *E. coli* negatif dalam 1 g per uji
5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*

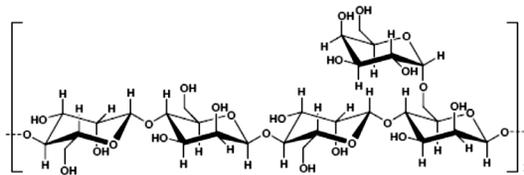
GOM KACANG LOKUS

Carob Bean Gum

INS 410

CAS [9000-40-2];

SINONIM *Locust bean gum*



DEFINISI Gum kacang karob atau dikenal juga dengan nama gum kacang lokus adalah polisakarida galaktomanan yang diperoleh dari biji *Ceratonia siliqua* (L.) Taub. (Fam. Leguminosae). Endosperm dari biji terutama mengandung polisakarida dengan berat molekul tinggi (sekitar 50.000-3.000.000) yang terdiri dari galaktomanan dengan perbandingan manosa dan galaktosa lebih kurang 4:1. Kupas kulit biji dengan bantuan asam sulfat encer atau secara mekanik dengan pemanasan, kemudian giling dan pisahkan biji dari kulit untuk memperoleh endosperm (gom kacang karob alami). Gom dapat dicuci dengan etanol atau isopropanol untuk mengendalikan cemaran mikrobiologi (gom kacang karob yang telah dicuci)

PEMERIAN Serbuk putih sampai putih kekuningan, hampir tidak berbau.

KELARUTAN Tidak larut dalam etanol.

PENGUNAAN Pengemulsi, pengental, penstabil, pembentuk gel.

IDENTIFIKASI

1. *Pembentukan gel* Dispersikan zat dalam air, tambahkan sedikit *natrium borat LP*: terbentuk gel.
2. *Kekentalan* Masukkan 2 g zat ke dalam gelas piala 400 ml, basahkan dengan lebih kurang 4 ml *isopropanol P*. Tambahkan 200 ml air sambil diaduk kuat, dan lanjutkan pengadukan sampai zat terdispersi merata, terbentuk larutan agak kental dan beropalensi. Masukkan 100 ml larutan ini ke dalam gelas piala 400 ml, panaskan campuran dalam tangas air selama 10 menit, dinginkan sampai suhu ruang: terbentuk larutan yang lebih kental.
3. *Komposisi gom* Lakukan penetapan sesuai tertera pada *Penetapan Identifikasi komponen gom* <63> menggunakan 100 mg zat dan 1 sampai 10 µl hidrolisat. gunakan pembanding galaktosa dan manosa: terdapat galaktosa dan manosa.
4. *Pemeriksaan mikroskopik* Taburkan zat yang sudah diserbukhaluskan di atas kaca objek yang ditetesi larutan *iodum P* 0,5% dan *kalium iodida P* 1%, amati di bawah mikroskop: terlihat sel-sel berbentuk tabung yang terpisah, berwarna coklat, lebih tidak teratur dibandingkan gom guar.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 14% Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 5 jam
2. *Abu total* Tidak lebih dari 1,5%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu* <707>.
3. *Zat tidak larut asam* <902> Tidak lebih dari 4,0%
4. *Protein* Tidak lebih dari 7,0%. Lakukan penetapan sesuai tertera pada *Penetapan kadar nitrogen (Metode Kjeldahl)* <84> Persentase nitrogen yang diperoleh dikalikan dengan 6,25 sehingga menghasilkan persentase protein di dalam zat.
5. *Pati* Tambahkan beberapa tetes *iodum LP* ke dalam dispersi zat (1 dalam 10): tidak terbentuk warna biru
6. *Sisa pelarut* Tidak lebih dari 1% etanol atau isopropanol, tunggal atau campuran. Lakukan penetapan menggunakan *Kromatografi Gas Headspace* seperti tertera pada *Kromatografi Metode 1* <903>

Larutan baku internal Tambahkan 50,0 ml air ke dalam vial 50-ml dan tutup. Timbang saksama dan suntikan 15 µl *3-metil-2-pentanon* melalui septum dan timbang saksama kembali.

Larutan baku Tambahkan 50,0 ml air ke dalam vial 50-ml dan tutup. Timbang saksama dan suntikkan 15 µl etanol dan timbang saksama kembali. Suntikkan 15 µl isopropanol melalui septum dan timbang saksama kembali.

Larutan blangko Masukkan 5,0 ml air ke dalam vial *headspace* dan tambahkan melalui pipet 1,0 ml *Larutan baku internal*. Tutup vial, vortex.

Larutan kalibrasi Tambahkan 4,0 ml air ke dalam vial *headspace*. Pipet masing-masing 1,0 ml *Larutan baku internal* dan *Larutan baku*. Tutup vial, vortex.

Larutan uji Timbang saksama 500 mg zat. Pipet 5 ml air dan 1 ml *Larutan baku internal*, ke dalam vial *headspace*. Tambahkan zat dengan hati-hati agar tidak menggumpal di dasar botol. Tutup vial, vortex. Jangan kocok vial.

Lakukan prosedur seperti tertera pada *Kromatografi Metode 1 <903>*

7. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*
8. *Arsen* Tidak lebih dari 3 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*
9. *Uji mikrobiologi <51>* Siapkan pengenceran 10^{-1} dengan menambahkan 50 g zat ke dalam 450 ml *Butterfield's phosphate-buffered dilution water*, homogenkan campuran dengan blender kecepatan tinggi. *Angka lempeng total*: tidak lebih dari 5.000 cfu per g; *E.coli*: negatif dalam 1 g; *Salmonella spp*: negatif dalam 25 g; *Kapang dan khamir*: tidak lebih dari 500 cfu per g.

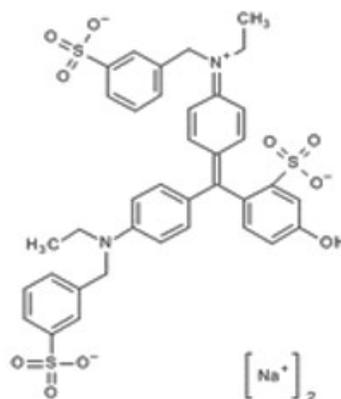
HIJAU FCF

Fast Green FCF

INS 143

CAS [2353-43-9];

SINONIM *CI Food Green 3; CI (1975) No. 42053; FD&C Green No.3*



$C_{37}H_{34}N_2Na_2O_{10}S_3$

BM 808,86

Dinatrium 3-[N-etil-N-[4-[[4-[N-etil-N-(3-sulfonobenzil)amino]fenil](4-hidroksi-2-sulfofenil) metilen]-2,5-sikloheksadien-1-iliden]amoniometil] benzensulfonat

Inner salt, garam dinatrium N-etil-N- [4[[4-etil[(3-sulfofenil) - metil]amino]fenil](4hidroksi-2-sulfofenil)metilen]-2,5-sikloheksadin-1-iliden]-3-sulfobenzenmetanaminium hidroksida;

Dinatrium;2-[[4-[etil-[(3sulfonatofenil)metil] amino]-fenil]-[4-[etil-[(3-sulfonatofenil)metil] azaniumiliden]-sikloheksa-2,5-dien-1-iliden] methyl] -5-hidroksibenzen-sulfonat

DEFINISI Pada dasarnya terdiri dari dinatrium 3-[N-etil-N-[4-[[4-[N-etil-N-(3-sulfobenzil)amino]fenil](4-hidroksi-2sulfofenil)metilen]-2,5-sikloheksadin-1-yliden] ammoniomethyl]benzenesulfonat dan isomernya bersama dengan zat pewarna tambahan, serta natrium klorida dan / atau natrium sulfat sebagai komponen utama yang bukan pewarna. Diproduksi dengan mengkondensasi asam 2-formil-5-hidroksibenzenesulfonat dengan campuran 3-[(N-etil-N-fenilamino)metil]asam benzensulfonat dan isomer 2- dan 4- untuk membentuk prekursor basa leuco. Oksidasi prekursor basa leuco dengan senyawa yang mengandung kromium atau mangan menghasilkan pewarna, yang dimurnikan dan diisolasi sebagai garam dinatrium.

Dapat digantikan oleh aluminium lakes yang sesuai dan harus memenuhi persyaratan umum *Pewarna Aluminium-lakes*

Hijau FCF mengandung $C_{37}H_{34}N_2Na_2O_{10}S_3$ tidak kurang dari 85,0% total zat warna.

PEMERIAN Serbuk atau hablur, hijau biru atau coklat merah.

KELARUTAN Mudah larut dalam air dan agak larut dalam etanol.

PENGUNAAN Pewarna

IDENTIFIKASI Spektrum serapan ultra violet-sinar tampak larutan zat dalam air, menunjukkan maksimum pada panjang gelombang 624 nm.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan <912>* Tidak lebih dari 15% Tetapkan klorida sebagai garam natrium klorida, tetapkan sulfat sebagai garam natrium sulfat, dan susut pengeringan pada suhu 135°

Prosedur Timbang saksama lebih kurang 2,0 - 3,0 g zat (W_1) dalam botol timbang yang sudah ditara dan sumbatnya. Panaskan dalam oven pada suhu 135° ($\pm 5^\circ$) hingga bobot tetap (W_2). Dinginkan botol dan residu dalam desikator sebelum setiap penimbangan. Hitung susut pengeringan dengan rumus berikut:

$$100 \times \left(1 - \frac{W_2}{W_1}\right)$$

2. *Zat tidak larut air <914>* Tidak lebih dari 0,2%.
3. *Pewarna ikutan <1302>* Tidak lebih dari 6%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

Fase gerak A Amonium asetat 0,05 N dalam air

Fase gerak B Amonium asetat 0,05 N dalam metanol P

Pembanding Bahan pewarnaan tambahan - bahan hasil sintesis; *Hijau FCF* (gunakan jika standar zat pewarna tambahan tidak tersedia)

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 500 mg (± 5 mg) zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Jika diperlukan, untuk memisahkan pewarna ikutan dari komponen pewarna utama.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis/PDA 624 nm, kolom 150 mm x 2,1 mm berisi C-18, dengan ukuran partikel 5 μ m, laju alir 0,25 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0	100	0
8	63	37
16	55	45
33,5	49	51
48,5	0	100
48,6	100	0
60	100	0

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 2 µl) *Larutan uji* dan *pembanding* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung persentase tiap zat warna ikutan dalam zat.

4. *Senyawa organik selain pewarna <1304>*

- Tidak lebih dari 0,5% jumlah garam natrium dari asam 2-,3-, dan 4-formilbenzensulfonat;
- Tidak lebih dari 0,3% jumlah garam dinatrium dari asam 3- dan 4-[N-etil-N-(4-sulfopenil)amino] metilbenzensulfonat;
- Tidak lebih dari 0,5% garam natrium dari asam 2-formil-5-hidroksibenzensulfonat.

Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi <903>* menggunakan kondisi seperti pada uji *Pewarna ikutan*.

Pembanding Natrium 2- Formilbenzensulfonat; Garam kalsium 3-[[N-etil-N(4sulfopenil)amino]metil]asam benzensulfonat; Garam natrium 2-formil-5-asam hidroksibenzensulfonat.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 500 mg (\pm 5 mg) zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis/PDA 246 nm, kolom 150 mm x 2,1 mm berisi C-18, dengan ukuran partikel 5 µm, laju alir 0,25 ml/menit.

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 2 µl) *Larutan pembanding* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung total persentase senyawa organik dalam zat.

5. *Leuco base* Tidak lebih dari 5,0%. Timbang saksama lebih kurang 130 mg (\pm 5 mg) zat. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Leuco base dalam pewarna triarilmetana tersulfonasi <1306>*. Gunakan serapan jenis (a) = 156 L/(g-cm) pada panjang gelombang 624 nm dan R = 0,971.

6. *Amin aromatik primer tak tersulfonasi <1305>* Tidak lebih dari 0,01% dihitung sebagai anilin

7. *Zat terekstraksi eter <1303>* Tidak lebih dari 0,2%

8. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*
9. *Krom* Tidak lebih dari 50 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*
10. *Mangan* Tidak lebih dari 100 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur 1* dalam *Kadar total pewarna secara spektrofotometri* seperti tertera pada *Pewarna <1301>* Gunakan *amonium asetat 0,04 N* sebagai pelarut, absorptivitas (α) 156 L/(g-cm). Ukur pada panjang gelombang serapan maksimum 624 nm.

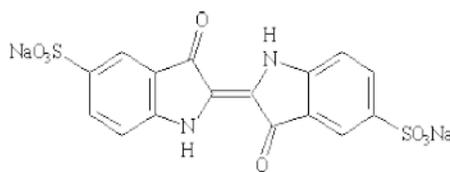
INDIGOTIN

Indigotine

INS 132

CAS [860-22-0] (5,5' isomer)

SINONIM *CI Food Blue 1, CI (1975) No. 73015, Indigo Carmine, Food Blue No. 2, FD&C Blue No. 2*



Dinatrium 3,3'-diokso-[delta2,2'-biindolin]-5,5'-disulfonat

$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$

BM 466,36

DEFINISI Indigotin terdiri dari campuran dinatrium 3,3'-diokso-[delta2,2'-biindolin]-5,5'-disulfonat dan dinatrium 3,3'-diokso-[delta2,2'-biindolin]-5,7'-disulfonat dan bahan pewarna subsider. Natrium klorida dan/atau natrium sulfat merupakan komponen utama tidak berwarna. Indigotin diproduksi dengan pemanasan indigo dengan asam sulfat. Indigo (atau pasta indigo) diproduksi dengan fusi N-fenilglisin (dibuat dari anilin dan formaldehida) dalam

campuran sodamid, natrium dan kalium hidroksida dengan bantuan uap amonia. Diisolasi dan dimurnikan sebelum sulfonasi.

Mungkin dapat dibuat menjadi aluminium lakes yang sesuai dan harus memenuhi persyaratan umum *Pewarna Aluminium-lakes*

Indigotin mengandung $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$ tidak kurang dari 85% total senyawa pewarna. Tidak lebih dari 18 % dari dinatrium 3,3'-diokso-[delta2,2'-biindolin]-5,7'-disulfonat

PEMERIAN Serbuk atau granula biru.

KELARUTAN Mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pewarna.

IDENTIFIKASI

Spektrum serapan UV-Vis larutan zat dalam air, menunjukkan maksimum pada panjang gelombang 610 nm.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 15% sebagai natrium klorida dan natrium sulfat. Lakukan pengeringan pada suhu 135° selama 6 jam.

Prosedur Timbang saksama lebih kurang 2,0 – 3,0 g zat (W_1) dalam botol timbang yang sudah ditara dan sumbatnya. Panaskan dalam oven pada suhu 135° ($\pm 5^\circ$) hingga bobot tetap (W_2). Dinginkan botol dan residu dalam desikator sebelum setiap penimbangan. Hitung susut pengeringan dengan rumus berikut:

$$101 \times \left(1 - \frac{W_2}{W_1}\right)$$

2. *Zat tidak larut air* <914> Tidak lebih dari 0,2%.

3. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>

4. *Pewarna ikutan* <1302> Tidak lebih dari 18% dinatrium 3,3'-diokso-[delta2,2'-biindolin]-5,7'-disulfonat (isomer zat warna ikutan). Tidak lebih dari 1% pewarna ikutan lainnya. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi* <903>.

Fase gerak A Amonium asetat 0,2 N dalam air

Fase gerak B Asetonitril P

Pembanding

- Garam dinatrium indigotin (isomer 5,7') (isomer zat warna ikutan);
- Garam monosodium natrium indigo sulfonat (monosulfonat zat warna ikutan);
- Garam kalium trinatrium indigo-5,5', 7'-trisulfonat (trisulfonat zat warna ikutan)
- Indigotin (gunakan jika bahan baku pewarna tambahan tidak tersedia)

Siapkan larutan pembanding sesuai kebutuhan.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air hingga tanda. Jika perlu buat enceran larutan, untuk memisahkan pewarna ikutan dari komponen utama warna agar meningkatkan resolusinya. Lakukan analisa dengan segera.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis 610 nm atau *diode array*, kolom 250 mm x 4 mm berisi C-18, dengan ukuran partikel 5 µm, pertahankan suhu kolom pada suhu ruang, laju alir 1,0 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0	100	0
20,0	40	60
30,0	40	60
32,0	100	0
40,0	100	0

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji* dan *pembanding* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung persentase tiap zat warna ikutan dalam zat.

5. *Senyawa organik selain pewarna <1304>* Tidak lebih dari 0,5% dari jumlah isatin-5-asam sulfonat, 5-asam sulfoantranilat, dan asam antranilat. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

Fase gerak A Asam triflouroasetat 0,1 % dalam air

Fase gerak B Asetonitril P

Pembanding

- Garam natrium dihidrat dari asam isatin-5-sulfonat
- 5-Asam sulfoantranilat (2-amino-5-asam sulfobenzoat)
- Asam antranilat

Siapkan larutan pembanding sesuai kebutuhan

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Lakukan analisa segera setelah persiapan.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis 244 nm atau *diode array*, kolom 250 mm x 4,6 mm berisi Luna C-18, dengan ukuran partikel 5 µm, suhu kolom 25°, laju alir 1,0 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0	100	0
15,0	80	20
20,0	0	100
22,0	0	100
22,1	100	0
32	100	0

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji* dan larutan *Pembanding* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung total persentase senyawa organik dalam zat.

6. *Amin aromatik primer tak tersulfonasi <1305>* Tidak lebih dari 0,01 % dihitung sebagai anilin.
7. *Zat terekstraksi eter <1303>* Tidak lebih dari 0,2%. Lakukan penetapan menggunakan 2 g zat.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur 1* dalam *Kadar total pewarna secara spektrofotometri* seperti tertera pada *Pewarna <1301>* Gunakan air sebagai pelarut, absorptivitas (a) 48,0 L/(g-cm). Ukur pada panjang gelombang serapan maksimum 610 nm.

Lakukan penetapan isomer dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada pengujian *Pewarna ikutan*.

KALIUM ALUMINIUM SILIKAT

Potassium aluminium silicate

INS 555;

CAS [12001-26-2]

SINONIM *Mica, Muscovite*

$\text{KAl}_2[\text{AlSi}_3\text{O}_{10}](\text{OH})_2$

BM 398,31

DEFINISI Kalium aluminium silikat ditambang dari sumber alami dan dimurnikan.

Kalium aluminium silikat mengandung $\text{KAl}_2[\text{AlSi}_3\text{O}_{10}](\text{OH})_2$ tidak kurang dari 98,0%.

PEMERIAN Hablur atau pelet, putih hingga abu terang.

KELARUTAN Praktis tidak larut atau tidak larut dalam air, dalam asam dan alkali encer, dan dalam pelarut organik.

PENGGUNAAN Anti kempal.

IDENTIFIKASI

Aluminium dan Silika Lakukan penetapan menggunakan teknik spektrofotometer emisi atom (ICP-AES) seperti tertera pada *Spektrofotometri <901>* menggunakan *Larutan uji* seperti tertera pada *Penetapan kadar*. Panjang gelombang berturut-turut untuk aluminium dan silika adalah 396,15 dan 251,611 nm.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan <912>* Tidak lebih dari 0,5%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.
2. *Cemaran larut asam hidroklorida 0,5 N* Antimoni tidak lebih dari 20 bpj; Arsen tidak lebih dari 3 bpj; Barium tidak lebih dari 25 bpj; Kadmium tidak lebih dari 2 bpj; Kromium tidak lebih dari 100 bpj; Tembaga tidak lebih dari 25 bpj;

Timbal tidak lebih dari 5 bpj; Merkuri tidak lebih dari 1 bpj; Nikel tidak lebih dari 50 bpj; Zink tidak lebih dari 25 bpj. Lakukan penetapan arsen menggunakan AAS (*Hydride generation*); antimoni, barium, kromium, tembaga, nikel dan zink menggunakan ICP-AES (*untuk ditambahkan*) dengan kondisi sebagai berikut:

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 20 g zat yang telah digerus halus, ekstraksi (untuk mencegah hilangnya merkuri) dengan 100 ml *asam hidroklorida 0,5 N* selama 30 menit. Dinginkan, saring melalui penyaring membran 0,1 µm. Bilas penyaring dua kali dengan *asam klorida 0,5 N* panas. Kumpulkan filtrat dan air pembilas dalam labu tentukur 200 ml, tambahkan *asam klorida 0,5 N* sampai tanda.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan menggunakan teknik spektrofotometer emisi atom (ICP-AES) seperti tertera pada *Spektrofotometri <901>*

Larutan A Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, masukkan ke dalam krusibel platina atau nikel, tambahkan 5 g *kalium hidroksida P* dan 2 g *asam borat P*, campur. Lelehkan pada *torch burner* (fusi alkali), diamkan hingga suhu ruang. Pindahkan lelehan zat uji dengan krusibel ke dalam labu PTFE 250 ml, tambahkan 150 ml air deionisasi panas, larutkan residu dengan pengocokan. Bilas krusibel dengan sedikit air panas dan tambahkan air bilasan ke dalam labu. Tambahkan 50 ml *asam hidroklorida 0,5 N*. Pindahkan larutan ke dalam labu tentukur 250-ml. Bilas labu tiga kali dengan air panas, pindahkan air bilasan ke labu tentukur, encerkan dengan air sampai tanda.

Larutan uji Encerkan *Larutan A* dengan *asam hidroklorida 2%* untuk mendapatkan larutan dalam rentang analisis.

Prosedur Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang 396,15 nm. Tetapkan kadar aluminium dari kurva baku (µg/ml). Hitung persentase $KAl_2[AlSi_3O_{10}](OH)_2$ dalam zat dengan rumus:

$$\frac{4,92 \times CAI \times 250 \times DF}{W \times 10^6}$$

- CAI = Kadar aluminium dalam zat (µg/ml)
 DF = Faktor pengenceran *Larutan uji*
 W = Bobot zat (g)

KALIUM ASETAT

Potassium Acetate

INS 261(i);

CAS [127-08-2];

CH₃-COOK

C₂H₃KO₂

BM 98,14

PEMERIAN Hablur atau serbuk hablur, higroskopis, tidak berwarna hingga putih, tidak berbau atau bau lemah seperti asetat.

Kalium asetat mengandung C₂H₃KO₂ tidak kurang dari 99,0% dihitung terhadap bobot kering.

KELARUTAN Sangat mudah larut dalam air, mudah larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pengatur keasaman.

IDENTIFIKASI

1. *pH* <909> Antara 7,5-9,0. Lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 20).
2. *Kalium* Memberikan reaksi kalium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>
3. *Asetat* Memberikan reaksi asetat seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 8,0%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.
2. *Kebasaan* Timbang lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu erlenmeyer, tambahkan 20 ml *air bebas karbon dioksida*, campur. Tambahkan 3 tetes indikator *fenolftalein LP*: terjadi warna merah muda. Dibutuhkan tidak lebih dari 0,5 ml *asam hidroklorida* untuk menetralkan indikator *fenolftalein LP*.
3. *Natrium* Tidak memberikan reaksi natrium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>

4. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat kering, masukan ke dalam labu erlenmeyer, tambahkan 25 ml *asam asetat glasial*, campur. Tambahkan 2 tetes *ungu kristal LP*, titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N* dalam *asam asetat glasial*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml asam perklorat 0,1 N
setara dengan 9,814 mg C₂H₃KO₂*

KALSIUM SILIKAT

Calcium Silicate

INS 552

CAS [1344-95-2];

SINONIM *Silicic Acid, Calcium Silicon Oxide*



DEFINISI Kalsium silikat adalah senyawa anorganik dapat berupa hidrat atau anhidrat dari kalsium sebagai kalsium oksida dan silikon sebagai silikon dioksida dalam jumlah yang bervariasi. Diperoleh dari sejumlah reaksi senyawa silika (seperti tanah diatomae) dengan senyawa kalsium (contoh *lime*, kalsium hidroksida)

PEMERIAN Serbuk sangat halus, putih atau putih buram, dengan bobot jenis ruahan rendah dan daya serap air yang tinggi.

KELARUTAN Tidak larut dalam air dan dalam etanol.

PENGGUNAAN Anti kempal.

IDENTIFIKASI

1. *pH* <909> Antara 8,4 dan 12,5. Lakukan penetapan menggunakan suspensi (5 dalam 100).
2. *Kalsium* dan *Silikat* Lakukan penetapan kalsium dan silikat menggunakan teknik *ICP-AES* seperti tertera pada *Cemaran Logam* <702>. Tetapkan parameter instrumen seperti yang ditetapkan oleh produsen. Gunakan garis analitik untuk Ca (393,366 nm) dan Si (251,611 nm).

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 10%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama lebih kurang 2 jam hingga bobot tetap.
2. *Sisa pemijaran* <913> Tidak kurang dari 5,0% dan tidak lebih dari 14,0% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Lakukan pemijaran pada suhu 1000° hingga bobot tetap.
3. *Flourida* <710> *Metoda 2*. Tidak lebih dari 50 bpj. Lakukan penetapan menggunakan 1 g zat.
4. *Cemaran larut asam hidroklorida 0,5 N Arsen* tidak lebih dari 3 bpj; Timbal tidak lebih dari 5 bpj. Ekstraksi 20 g serbuk zat dan refluk dalam 100 ml *asam hidroklorida 0,5 M* selama 30 menit. Dinginkan larutan, saring menggunakan penyaring membran 0,1 µm. Cuci penyaring dua kali, tiap kali dengan *asam hidroklorida 0,5 M* panas. Gabungkan filtrat dan air bilasan dalam labu tentukur 200-ml dan tambahkan *asam hidroklorida 0,5 M* sampai tanda. Lakukan penetapan timbal dengan teknik atomisasi serapan atom elektrotermal; arsen menggunakan teknik serapan atom hidrida; seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

PENETAPAN KADAR Tidak kurang dari 50% dan tidak lebih dari 95% silikon dioksida (SiO₂) dan tidak kurang dari 3% dan tidak lebih dari 35% kalsium oksida (CaO) dihitung dari sisa pijar. Lakukan penetapan Kalsium dan Silika dalam *Larutan uji* dengan teknik *ICP-AES* seperti tertera pada *Cemaran Logam* <726>.

Larutan A Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat dalam krus platina atau nikel, tambahkan 5 g *kalium hidroksida P* dan 2 g *asam borat P*, campur dan lelehkan menggunakan *torch burner* dan biarkan pada suhu ruang. Masukkan krus yang berisi lelehan zat ke dalam gelas piala 250-ml yang berisi 150 ml air deionisasi panas. Larutkan residu dengan pengocokan. Bilas krus dengan air deionisasi panas dan angkat. Tambahkan 50 ml *asam hidroklorida P* dan

pindahkan larutan ke dalam labu tentukur propilen 250-ml. Bilas gelas piala sebanyak tiga kal, tiap kali dengan air deionisasi panas. Masukkan bilasan ke labu tentukur, tambahkan air sampai tanda.

Larutan uji Encerkan *Larutan A* dengan asam hidroklorida 2% (1 dalam 5).

Lakukan penetapan Kalsium dan Silika dalam *Larutan uji* dengan teknik ICP-AES seperti tertera pada *Cemaran Logam <726>*.

Tetapkan parameter instrumen seperti yang ditetapkan oleh produsen. Gunakan garis analitik untuk Ca (393,366 nm) dan Si (251,611 nm). Rekam dan buat kurva baku. Hitung kadar kalsium oksida dan silikon dioksida dalam larutan menggunakan kurva baku. Hitung persentase masing-masing Ca dan Si dalam zat menggunakan rumus:

Kalsium

$$\frac{1,399 \times C \times 250 \times DF}{W \times 10^6} \times 100$$

Silika

$$\frac{2,139 \times C \times 250 \times DF}{W \times 10^6} \times 100$$

C : konsentrasi kalsium atau silika *larutan uji* ($\mu\text{m/ml}$)

W : bobot zat pijar (g)

DF : faktor pengenceran (pengenceran *larutan A* pada *larutan uji*)

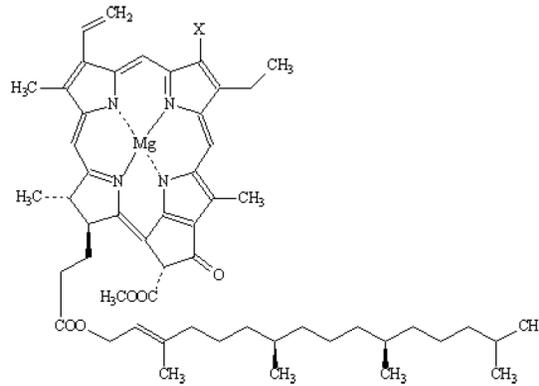
KLOROFIL TEMBAGA KOMPLEKS

Chlorophylls, Copper Complexes

INS 141(i)

CAS 65963-40-8;

SINONIM *Copper chlorophyll, copper phaeophytin, Cl Natural Green 3; C.I. (1975) No. 75810*



X = CH₃ untuk komponen “a”

X = CHO untuk komponen “b”

C₅₅H₇₂CuN₄O₅

BM 932,75

C₅₅H₇₀CuN₄O₆

BM 946,73

DEFINISI Klorofil tembaga kompleks diperoleh dari penambahan garam organik dari tembaga ke substansi yang diperoleh dari ekstraksi pelarut pada rumput-rumputan, jelatang, dan bahan tumbuhan lainnya; Produk yang dihasilkan, pada saat pelarut sudah dihilangkan, mengandung pigmen lain seperti karotenoids, juga lemak dan lilin yang terbawa dari sumber tanamannya. Bahan pewarna utama adalah feofitin tembaga. Hanya pelarut-pelarut berikut ini yang dapat digunakan untuk ekstraksi: Aseton, diklorometan, metanol, etanol, propan-2-ol dan heksan.

Klorofil tembaga kompleks mengandung total tembaga feofitin tidak kurang dari 10%.

PEMERIAN Substansi padat berkilin, hijau biru sampai hijau tua sesuai sumber zat.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, larut dalam etanol, dalam eter, dalam kloroalkana, dalam hidrokarbon dan dalam minyak.

PENGGUNAAN Pewarna alami

IDENTIFIKASI

1. *Spektrofotometri* <901> Serapan jenis zat ($A_{1\text{ cm}}^{1\%}$) dalam kloroform pada panjang gelombang 422 nm tidak kurang dari 54.

2. *Kromatografi lapis tipis* Lakukan penetapan seperti tertera pada *Identifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis <62>*

Fase gerak heksan P – kloroform P – etanol P (50:45:5)

Larutan uji Larutan zat (1 dalam 20) kloroform

Penjerap Silika 60C

Prosedur Totolkan lebih kurang 2 μ l *Larutan uji* dalam bentuk pita sepanjang 2 cm pada lempeng kromatografi silika 60C. Masukkan ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak*, biarkan merambat hingga lebih kurang 15 cm dari titik awal. Angkat lempeng biarkan *Fase gerak* menguap, amati secara visual bercak yang terpisah dan identifikasi komponennya berdasarkan harga R_f dan warna bercak. Harga R_f dan warna bercak sebagai berikut:

Tembaga Feofitin a: 0,5, hijau

Tembaga Feofitin b: 0,73, kuning/hijau

Bercak tambahan dapat terlihat untuk β -karoten pada R_f 0,81 dan santofil pada R_f 0,47 dan 0,23

KEMURNIAN

1. *Sisa pelarut <716>* Aseton, metanol, etanol, propan-2-ol, heksan: Tidak lebih dari 50 bpj, tunggal atau campuran. Diklorometan: Tidak lebih dari 10 bpj.
2. *Tembaga bebas ion* Tidak lebih dari 200 bpj. Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dalam 20 ml minyak *arachid*, dengan bantuan sedikit panas, tambahkan dengan air hingga tanda, aduk secara mekanik, dan atur pada pH 3,0 dengan penambahan secara hati-hati *asam hidroklorida 0,5 N* (hindari penambahan yang berlebihan). Biarkan campuran selama 10 menit. Jika perlu atur kembali pH 3,0 dengan penambahan *asam hidroklorida 0,5 N*. Pindahkan ke dalam corong pisah dan biarkan selama 20 menit. Saring fase air melalui kertas saring Whatman No. 50, buang 10 ml filtrat pertama. Lakukan penetapan tembaga menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
3. *Tembaga Total* Tidak lebih dari 8% dari tembaga feofitin total. Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, pijarkan pada suhu tidak lebih dari 500° dalam cawan silika, sampai seluruh karbon hilang, basahkan dengan satu atau dua tetes *asam sulfat P* dan abukan kembali. Larutkan abu dengan mendidihkan 3 bagian tiap kali 5 ml dengan *asam hidroklorida 10%*, saring tiap kali penambahan melalui kertas saring yang sama ke dalam labu

tentukur 100-ml, dinginkan, tambahkan air hingga tanda. Lakukan penetapan tembaga menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

4. *Arsen <708>* Tidak lebih dari 3 bpj.
5. *Timbal* Tidak lebih dari 5 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan *eter P* hingga tanda. Pipet 2,0 ml masukkan ke dalam labu tentukur 25-ml, encerkan dengan *eter P* hingga tanda. Kadar zat memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 660,4 nm dengan penyimpangan tidak melebihi 0,7. Ukur serapan larutan terhadap blangko *eter P* pada panjang gelombang 667,2 nm, 654,4 nm, 649,8 nm, dan 628,2 nm (Hal ini menjadi serapan maksimum berturut-turut dalam *eter P* untuk tembaga feofitin a dan tembaga feofitin b).

Hitung kadar masing- masing senyawa tunggal dalam mikromol per liter dari persamaan berikut:

Tembaga feofitin a = $45,6 A(649,8 \text{ nm}) - 2,75 A(628,2 \text{ nm}) + 3,10A(667,2 \text{ nm}) - 35,4 A(654,4 \text{ nm})$

Tembaga feofotin b = $-8,46 A(649,8 \text{ nm}) + 20,7 A(628,2 \text{ nm}) - 1,69 A(667,2 \text{ nm}) + 5,13 A(654,4 \text{ nm})$

Konversikan persamaan dalam mikromol per liter menjadi persentase menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\%Tembaga \text{ feofitin } a = \frac{\text{mikromol} \times 0,9327 \times 12,5 \times 100}{\text{Bobot zat (mg)}}$$

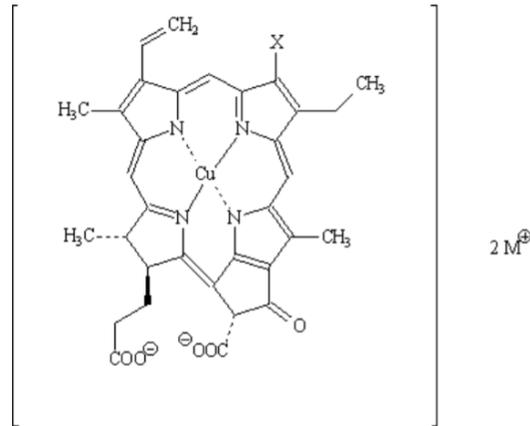
$$\%Tembaga \text{ feofitin } b = \frac{\text{mikromol} \times 0,9467 \times 12,5 \times 100}{\text{Bobot zat (mg)}}$$

KLOROFILIN, GARAM NATRIUM DAN KALIUM TEMBAGA KOMPLEKS

Chlorophyllins, Copper Complexes Sodium and Potassium Salts

INS 141(ii);

SINONIM *Sodium copper chlorophyllin, potassium copper chlorophyllin; C.I. (1975) No. 75815*



3-(10-Karboksilato-4-etil-1,3,5,8-tetrametil-9-okso-2-vinilforbin-7-yl)propionat, tembaga kompleks (Klorofilin tembaga a); 3-(10-Karboksilato-4-etil-3-formil-1,5,8-trimetil-9-okso-2-vinilforbin-7-yl)propionat, tembaga kompleks (Klorofilin tembaga b);

(bergantung pada derajat hidrolisis cincin siklopentenil dapat terputus dengan produksi yang dihasilkan dari fungsi karboksil ketiga)

X = CH₃ untuk komponen “a”

X = CHO untuk komponen “b”

M = Kalium dan/atau natrium

C₃₄H₃₂CuN₄O₅

BM 640,20

C₃₄H₃₀CuN₄O₆

BM 654,18

DEFINISI Garam alkali dari tembaga klorofilin diperoleh dengan penambahan tembaga pada produk yang diperoleh dari saponifikasi ekstraksi pelarut pada rumput-rumputan, jelatang, dan bahan tumbuhan lainnya; Saponifikasi menghilangkan metil dan gugus siklofitol ester dan mungkin sebagian membelah cincin pentenil; setelah penambahan tembaga ke klorofilin yang dimurnikan yaitu gugus asam dinetralkan menjadi garam kalium dan/atau natrium; iklan produk dapat disajikan sebagai larutan encer atau bubuk kering. Hanya pelarut-pelarut berikut ini yang dapat digunakan untuk ekstraksi: Aseton, diklorometan, metanol, etanol, propan-2-ol dan heksan.

Klorofilin, garam natrium dan kalium tembaga kompleks mengandung total tembaga klorofilin tidak kurang dari 95% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan pada suhu 100° selama 1 jam.

PEMERIAN Serbuk hijau gelap sampai biru hitam atau larutan hijau gelap.

KELARUTAN Larut dalam air, sangat mudah larut dalam etanol rendah, dalam keton, dan dalam dietil eter, tidak larut dalam kloroalkana, dalam hidrokarbon, dan dalam minyak.

PENGGUNAAN Pewarna alami

IDENTIFIKASI

1. *Spektrofotometri <901>* Serapan jenis zat ($A_{1\text{ cm}}^{1\%}$) yang dikeringkan pada suhu 100° selama 1 jam, dalam dapar fosfat pH 7,5 dan panjang gelombang 405 nm tidak kurang dari 540.
2. *Natrium* Memberikan reaksi natrium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum <61>*
3. *Kalium* Memberikan reaksi kalium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum <61>*
4. *Uji tembaga*

Larutan uji Larutkan abu sulfat dari zat (menggunakan 1 g zat, Metode I) dalam 10 ml *asam hidroklorida encer LP*, panaskan di atas tangas air. Jika perlu, saring. Encerkan dengan 10 ml air.

Prosedur

Dalam 5 ml *Larutan uji* tambahkan *amoniam LP* untuk membuat larutan basa: terjadi warna biru.

Dalam 5 ml *Larutan uji* tambahkan 0,5 ml *natrium dietilditiokarbamat LP* (1 dalam 1000): terbentuk endapan coklat

KEMURNIAN

1. *Bahan warna dasar* Masukkan 5 ml larutan zat (5 dalam 1000) dalam tabung reaksi, tambahkan 1 ml *asam hidroklorida 1 N* dan 5 ml *dietil eter P*. Campur dan biarkan terpisah: Lapisan eter tidak lebih gelap dari hijau pucat.
2. *Sisa pelarut <716>* Aseton, metanol, etanol, propan-2-ol, heksan: Tidak lebih dari 50 bpj, tunggal atau campuran. Diklorometan: Tidak lebih dari 10 bpj.

Lakukan penetapan kromatografi gas menggunakan metode destilasi *entrainment* atau metode *headspace*.

3. *Tembaga bebas yang dapat terionisasi* Tidak lebih dari 200 bpj. Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 200-ml, larutkan dalam 20 ml minyak *arachid*, dengan bantuan sedikit panas. Tambahkan air hingga tanda, aduk secara mekanik, dan atur pH hingga 3,0 dengan penambahan secara hati-hati *asam hidroklorida 0,5 N* (hindari penambahan yang berlebihan). Biarkan campuran selama 10 menit. Jika perlu atur kembali pH 3,0 dengan penambahan *asam hidroklorida 0,5 N*. Pindahkan ke dalam corong pisah dan biarkan selama 20 menit. Saring fase air melalui kertas saring Whatman No. 50, buang 10 ml filtrat pertama. Lakukan penetapan tembaga menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
4. *Tembaga Total* Tidak lebih dari 8% dari tembaga feofitin total. Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, pijarkan pada suhu tidak lebih dari 500° dalam cawan silika, sampai seluruh karbon hilang, basahkan dengan satu atau dua tetes *asam sulfat P* dan abukan kembali. Larutkan abu dengan mendidihkan 3 bagian tiap kali 5 ml dengan *asam hidroklorida 10%*, saring tiap kali penambahan melalui kertas saring yang sama ke dalam labu tentukur 100-ml, dinginkan, tambahkan air sampai tanda. Lakukan penetapan tembaga menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
5. *Arsen <708>* Tidak lebih dari 3 bpj
6. *Timbal* Tidak lebih dari 5 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 1000-ml, keringkan pada suhu 100° selama 1 jam, tambahkan 20 ml larutan dapar fosfat (pH 7,5) dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10,0 ml ke dalam labu tentukur 1000-ml, encerkan dengan 100 ml larutan dapar fosfat (pH 7,5), encerkan dengan air hingga tanda. Ukur kerapatan optik dari larutan akhir (0,001% w/v) menggunakan spektrofotometer yang sesuai. Ukur serapan maksimum pada panjang gelombang antara 403 dan 406 nm.

Hitung kadar (%) natrium klorofilin tembaga dengan rumus:

$$\frac{\text{Kerapatan optik} \times 10^4}{565 \times \text{bobot zat (g)}}$$

Rumus ini diturunkan dengan asumsi bahwa 100% natrium klorofilin tembaga murni memiliki serapan 565 nm.

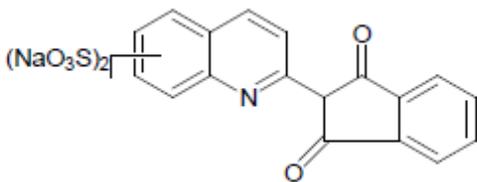
KUNING KUINOLIN

Quinoline Yellow

INS 104

CAS [80583-08-0]

SINONIM *CI Food Yellow 13, CI (1982) No. 47005*



Dinatrium 2-(2-kuinolin)indan-1,3-diondisulfonat (komponen utama)

$C_{18}H_9NO_8S_2 Na_2$

BM 477,38

DEFINISI Kuning kuinolin dibuat dengan sulfonasi 2-(2-kuinolil)-1,3-indandion. Terutama mengandung garam natrium 2-(2-kuinolil)-1,3-indandion disulfonat serta garam natrium 2-(2-kuinolil)-1,3-indandion monosulfonat dan trisulfonat dalam jumlah yang lebih kecil; dan zat warna ikutan lainnya, natrium klorida dan/atau natrium sulfat.

Mungkin dapat digantikan oleh aluminium lakes yang sesuai dan harus memenuhi persyaratan umum *Pewarna Aluminium-lakes*

Kuning kuinolin mengandung $C_{18}H_9NNa_2O_8S_2$ tidak kurang dari 70% zat pewarna total. Zat pewarna total mengandung:

- tidak kurang dari 80% dinatrium 2-(2-kuinolil)-indan-1,3-diondisulfonat;
- tidak lebih dari 15% natrium 2-(2-kuinolil)-indan-1,3-dionmonosulfonat;
- tidak lebih dari 7% trinatrium 2-(2-kuinolil)-indan-1,3-diontrisulfonat.

PEMERIAN Serbuk atau granul, kuning.

KELARUTAN Sangat mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pewarna

IDENTIFIKASI

Spektrum serapan UV-Vis larutan dalam air, menunjukkan maksimum pada panjang gelombang 414 nm

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan <912>* Tidak lebih dari 30% bersama klorida dan sulfat dihitung sebagai garam natrium. Lakukan pengeringan pada suhu 135°.

Prosedur Timbang 2,0 – 3,0 g zat (W_1) dalam botol timbang yang sudah ditara dan sumbatnya. Panaskan dalam oven pada suhu 135° ($\pm 5^\circ$) hingga bobot tetap (W_2). Dinginkan botol dan residu dalam desikator sebelum setiap penimbangan. Hitung susut pengeringan dengan rumus berikut:

$$100 \times \left(1 - \frac{W_2}{W_1}\right)$$

2. *Zat tidak larut air <914>* Tidak lebih dari 0,2%.

3. *Pewarna ikutan <1302>* Tidak lebih dari 4 bpj: 2-(2-kuinolil)-1,3-indandion dan 2-[2-(6-metilkuinolil)]-1,3-indandion. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

Fase gerak A Ammonium asetat 0,05 N

Fase gerak B Asetonitril P

Pembanding 2-(2-kuinolil)-1,3-indandion; 2-[2-(6-metil-kuinolil)]-1,3-indandion.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan air panas sampai tanda. Dinginkan hingga suhu ruang. Ekstraksi larutan tersebut dengan *kloroform P*, uapkan ekstrak kloroform hingga kering. Larutkan residu dengan *asetonitril P* dengan volum tertentu yang tepat.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis/PDA 436 nm, kolom 250 mm x 4,6 mm berisi C-18, dengan ukuran partikel 5 μ m, laju alir 1 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
---------------	------------------	------------------

0	40	60
19,9	40	60
20,0	0	100
35,0	0	100

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 100 µl) *Larutan uji* dan *pembanding* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung persentase tiap zat warna ikutan dalam zat.

4. *Senyawa organik selain pewarna <1304>* Tidak lebih dari 0,5%, gabungan 2-metilkuinolin, asam 2-metilkuinolin sulfonat, asam ftalat. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi <903>*

Fase gerak A Ammonium asetat 0,2 N dalam campuran air : metanol P (95:5, v/v)

Fase gerak B Metanol P

Larutan baku Buat larutan 0,1% Asam kuinaldin-6-sulfonat, Asam kuinaldin-6,8-disulfonat, Garam trinitrium 4-sulfoftalat dan Asam 3-sulfoftalat dalam *Fase gerak A*.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat, masukkan dalam labu tentukur 10-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis/PDA 254 nm, laju alir 1 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0	100	0
8,8	80	20
9,0	0	100
12,0	0	100

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung total persentase senyawa organik dalam zat.

5. *Amin aromatik primer tidak tersulfonasi <1305>* Tidak lebih dari 0,01%, dihitung sebagai anilin.
6. *Zat terekstrasi eter <1303>* Tidak lebih dari 0,2%.

7. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
8. *Zink* Tidak lebih dari 50 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur 1* dalam *Kadar total pewarna* secara *spektrofotometri* seperti tertera pada *Pewarna <1301>* Gunakan air sebagai pelarut, absorptivitas (a) 87,9 L/(g-cm). Ukur pada panjang gelombang serapan maksimum 414 nm.

Lakukan penetapan *mono-, di-, dan trisulfonat* dari *2-(2-kuinolin)-indan-1,3-dion* secara *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* fase balik, seperti tertera pada *Kromatografi <903>*.

Fase gerak A Ammonium asetat 0,1 N dalam campuran air-*metanol P* (95:5)

Fase gerak B Metanol P

Larutan baku Timbang saksama lebih kurang 10 mg *Kuning kuinolin P* yang mengandung *mono-, di-, dan trisulfonat*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan campuran air-*metanol P* (75:25) sampai tanda. (untuk waktu retensi)

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 10 mg zat masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan campuran air -*metanol P* (75:25) sampai tanda.

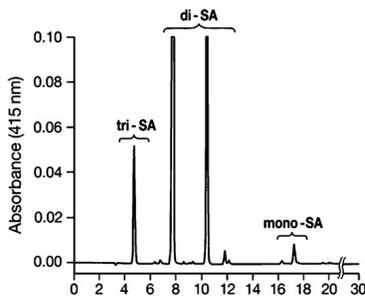
Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis/PDA 414 nm, kolom 250 mm x 4,6 mm berisi Hypersil RP C8 dengan ukuran partikel 5 µm atau setaranya, pertahankan suhu kolom pada 25°, laju alir 1 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0	90	0
30	0	100

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji* dan *Larutan baku* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung persentase masing-masing respon senyawa terhadap respon total.

Kromatogram kuning kuinolin



mono-SA : natrium 2-(2-kuinolil)-indan-1,3-dion-monosulfonat

di-SA : dinatrium 2-(2-kuinolil)-indan-1,3-dion-disulfonat

tri-SA : trinatrium 2-(2-kuinolil)-indan-1,3-dion-trisulfonat

LESITIN, TERHIDROLISIS SEBAGIAN

Lecithin, partially hydrolyzed

INS 322(ii)

CAS [8002-43-5]

SINONIM Fosfatida, fosfolipid

DEFINISI Dibuat dengan hidrolisis sebagian lesitin menggunakan lipase yang sesuai. Ketika tingkat hidrolisis yang diinginkan tercapai, produk dipanaskan untuk menonaktifkan sisa enzim.

Lesitin, terhidroilsis sebagian, mengandung tidak kurang dari 56% zat yang tidak larut dalam aseton (fosfatida).

PEMERIAN Konsistensi dapat bervariasi dari plastis ke cair, tergantung pada asam lemak bebas dan kandungan minyak, dan ada atau tidak adanya pengencer lainnya. Warna bervariasi dari kuning muda hingga coklat, tergantung pada sumbernya, pada variasi tanaman, dan apakah diputihkan; tidak berbau atau memiliki karakteristik, sedikit bau seperti kacang. Pengencer yang bisa dimakan, seperti mentega kakao dan minyak nabati, sering menggantikan minyak kedelai untuk meningkatkan fungsional dan karakteristik rasa.

KELARUTAN Larut sebagian dalam air, tetapi mudah terhidrasi untuk membentuk emulsi; fosfatida bebas lemak larut dalam asam lemak, tetapi praktis tidak larut dalam minyak lemak.

PENGGUNAAN Pengemulsi, antioksidan sinergis

IDENTIFIKASI

1. *Fosfor* Nyalakan 1 g zat dengan 2 g *natrium karbonat anhidrat P*. Dinginkan, larutkan residu dalam 5 ml air dan 5 ml *asam nitrat P*. Tambahkan 5 ml *amonium molibdat LP* dan panaskan hingga mendidih: terbentuk endapan kuning.
2. *Kolin* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi kertas* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*
 - Fase gerak* Campuran *n-butanol- air-asam asetat P* (4:2:1)
 - Larutan baku* Buat larutan *kolin klorida P* (1 dalam 200)
 - Larutan uji* Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat, tambahkan 5 ml campuran *asam hidroklorida P-air* (1:1), panaskan dalam tangas air selama 2 jam, saring.
 - Prosedur* Totolkan secara terpisah masing-masing (lebih kurang 10 µl) *Larutan uji* dan *Larutan baku* pada kertas saring No. 2. Masukkan kertas ke dalam bejana kromatografi yang berisi *Fase gerak*, biarkan merambat hingga 25 cm, angkat kertas, tandai batas rambat, keringkan di udara, semprot dengan *Dragendorff LP*. Amati di bawah cahaya matahari: bercak jingga-merah pada *Larutan uji* sesuai dengan *Larutan baku*.
3. *Asam lemak* Masukkan 1 g zat dalam labu alas bulat, tambahkan 25 ml *kalium hidroksida etanolat 0,5 N*, refluks selama 1 jam. Dinginkan hingga 0°: terbentuk endapan sabun kalium.
4. *Hidrolisis* Masukkan 500 ml air (30-35°) ke dalam gelas piala 800 ml. Tambahkan perlahan 50 ml zat sambil tetap diaduk. Lesitin yang terhidrolisis akan membentuk emulsi homogen. Lesitin yang tidak terhidrolisis akan membentuk massa lebih kurang 50 g.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan <912>* Tidak lebih dari 2%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 1 jam.
2. *Bilangan asam* Tidak lebih dari 45. Timbang saksama lebih kurang 2 g zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml, larutkan dengan 50 ml *petroleum eter P* sambil dikocok perlahan. Tambahkan 50 ml *etanol P* yang telah dinetralkan dengan *natrium hidroksida 0,1 N* menggunakan indikator *fenolftalein LP*, campur. Tambahkan 4 tetes *fenolftalein LP* dan titrasi dengan

natrium hidroksida 0,1 N LV hingga terjadi warna merah muda menetap selama 5 detik.

$$\frac{\text{ml NaOH } 0.1 \text{ N} \times 5,6}{\text{Bobot zat (g)}}$$

3. *Bilangan peroksida* Tidak lebih dari 10

Larutan asam asetat-kloroform Campuran *asam asetat P-kloroform P* (3:2)

Larutan jenuh kalium iodida Larutkan *kalium iodida P* berlebih dalam *air bebas karbon dioksida*. Harus ada sisa padatan. Simpan di tempat gelap. Uji setiap hari dengan menambahkan 0,5 ml pada 30 ml *Larutan asam asetat-kloroform*, tambahkan 2 tetes *kanji LP*. Jika warna biru tidak hilang dengan penambahan 1 tetes *natrium tiosulfat 0,1 N*, larutan *jenuh kalium iodida* harus dibuat baru.

Prosedur Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 ml. Tambahkan 30 ml larutan *asam asetat-kloroform* dan goyang sampai larut. Tambahkan 0,5 ml larutan jenuh *kalium iodida P*, diamkan selama 1 menit kocok sesekali, kemudian tambahkan 30 ml air. Titrasi perlahan dengan *natrium tiosulfat 0,01 N LV* dengan pengocokan kuat hingga berwarna kuning hampir hilang. Tambahkan sekitar 0,5 ml *kanji LP*, dan lanjutkan titrasi, kocok kuat agar semua iodin terlepas dari lapisan kloroform, titrasi sampai warna biru hilang. Lakukan penetapan blangko.

$$\frac{S \times N \times 100}{W}$$

S = Volum (ml) *natrium tiosulfat (N)*

N = Normalitas *natrium tiosulfat*

W = Bobot zat (g)

4. *Zat yang tidak larut toluen* Tidak lebih dari 0,3%. Timbang 10 g zat masukkan ke dalam labu 250 ml yang sesuai, tambahkan 100 ml *toluen P* dan kocok sampai larut. Saring melalui penyaring G3 dengan porositas 16-40 μm atau penyaring yang setara, yang telah ditara. Bilas labu dengan 25 ml *toluen P* dan tuangkan pembilas melalui penyaring. Keringkan penyaring pada suhu 105° selama 1 jam, dinginkan sampai suhu ruang dalam desikator, timbang. Hitung persentase residu tidak larut toluen dengan rumus:

$$\frac{\text{Bobot residu (g)}}{\text{Bobot zat (g)}} \times 100\%$$

5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR

Pemurnian fosfatida Bilas lebih kurang 10 g zat tiga kali, tiap kali dengan 100 ml *aseton P*. Gunakan residu tidak larut (fosfatida) atau residu (fosfatida) yang diperoleh dari pengujian *Zat tidak larut dalam aseton*. Larutkan 5 g fosfatida dalam 10 ml *petroleum eter P*, dan tambahkan 25 ml *aseton P*. Bagi endapan menjadi dua bagian yang sama, masukkan masing-masing ke dalam 2 tabung sentrifus 40-ml terpisah, dengan bantuan *aseton*. Aduk, encerkan dengan 40 ml dengan *aseton P*, aduk, dinginkan selama 15 menit dalam tangas es, aduk, lalu sentrifus selama 5 menit. Enaptuangkan *aseton* dan ulangi prosedur seperti di atas. Zat padat sesudah sentrifugasi kedua tidak memerlukan pemurnian lagi dan dapat digunakan untuk pembuatan *Larutan fosfatida aseton*. Untuk menjenuhkan lebih kurang 16 liter *aseton P* diperlukan 5 g fosfatida murni.

Larutan fosfatida aseton Tambahkan sejumlah fosfatida murni ke dalam *aseton P* secukupnya, yang sebelumnya telah didinginkan pada suhu lebih kurang 5°, hingga terjadi larutan jenuh, pertahankan suhu pada 5° selama 2 jam, kocok kuat tiap 15 menit. Enaptuangkan melalui kertas saring. Penyaringan dilakukan pada suhu tidak lebih dari 5°.

Prosedur Jika zat berbentuk plastis atau setengah padat, lunakkan sebagian zat dengan menghangatkan di dalam tangas air pada suhu tidak lebih dari 60°, campur. Timbang saksama lebih kurang 2 g zat, masukkan ke dalam tabung sentrifus 40-ml yang telah ditara beserta batang pengaduk, tambahkan 15 ml *Larutan fosfatida aseton* dari buret. Hangatkan campuran di dalam tangas air sampai lesitin meleleh, cegah penguapan *aseton*. Aduk sampai tersebar merata dan pindahkan tabung ke dalam tangas es, dinginkan selama 5 menit. Keluarkan dari tangas es, dan tambahkan lebih kurang setengah bagian volum *Larutan fosfatida aseton*, yang sebelumnya telah didinginkan selama 5 menit di dalam tangas es. Aduk campuran sampai tersebar merata, encerkan dengan *Larutan fosfatida aseton* bersuhu 5° sampai 40 ml, aduk, dan tempatkan tabung dalam tangas es selama 15 menit, aduk sekali lagi setelah 15 menit. Angkat batang pengaduk, sentrifugasi campuran segera, selama 5 menit, pada

kecepatan lebih kurang 2000 rpm. Enaptuangkan beningan dari tabung sentrifus, hancurkan bagian padat dengan batang pengaduk yang sama, isi kembali tabung sampai 40 ml dengan *Larutan fosfatida aseton* bersuhu 5°, ulangi prosedur seperti di atas. Hancurkan lagi bagian padat dengan batang pengaduk, dan tempatkan tabung dan isinya horizontal pada suhu ruang sampai kelebihan aseton menguap. Campur residu, keringkan tabung sentrifus dan isinya pada suhu 105° selama 45 menit, dinginkan, dan timbang. Hitung persentase zat yang tidak larut dalam aseton dengan rumus:

$$(100R / S) - B$$

R = Bobot residu

S = Bobot zat

B = Jumlah (%) zat tidak larut dalam toluen

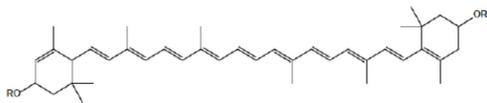
LUTEIN ESTER DARI *Tagetes erecta*

Lutein Esters From Tagetes Erecta

INS 161b(iii)

CAS

SINONIM *Xanthophyll ester*



Lutein esters

BM 496,43

R = CH₃(CH₂)₁₀CO, CH₃(CH₂)₁₂CO, CH₃(CH₂)₁₄CO atau CH₃(CH₂)₁₆CO

DEFINISI Ester lutein diperoleh dari ekstraksi dan pemurnian vakum kelopak kering *Tagetes erecta* L. Diester lutein merupakan komponen terbesar dan diester zeaxanthin merupakan bagian kecil. Ester mengandung asam lemak jenuh rantai panjang, seperti miristat, palmitat, dan asam stearat dalam berbagai variasi komponen, namun asam palmitat tetap merupakan komponen utama. Malam dapat juga terbentuk secara alami pada bahan asal. Pelarut yang dapat digunakan adalah metanol, etanol, 2-propanol, heksana, aseton, metil etil-

keton dan karbondioksida. Untuk menjaga kestabilan produk, umumnya ditambahkan antioksidan yang dapat dimakan.

Dalam perdagangan, formulasi digunakan untuk tujuan pewarnaan atau untuk memperoleh produk yang dapat didispersikan atau larut air.

Total ester karotenoid dihitung sebagai ester lutein tidak kurang dari 75%.

PEMERIAN Padatan coklat jingga gelap.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, larut dalam heksana.

PENGGUNAAN Pewarna.

IDENTIFIKASI

1. *Spektrofotometri* Larutan zat dalam heksana memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 444 nm.
2. *Karotenoid* Warna Larutan zat dalam aseton ditambah larutan *natrium nitrit P* 5% dan *asam sulfat 0,5 M*: warna hilang

KEMURNIAN

1. *Abu sulfat Metode 1* Tidak lebih dari 1%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu <707>*.
2. *Zeaxanthin* Tidak lebih dari 10% dari total karotenoid. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi <903>* menggunakan zat yang telah disaponifikasi.

Pelarut ekstraksi Heksana : aseton : toluena : etanol absolut (10:7:7:6)

Kalium hidroksida metanolat 40% Timbang saksama 40 g kalium hidroksida, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dalam 50 ml *metanol P*, encerkan dengan *metanol P* sampai tanda.

Larutan natrium sulfat 10% Timbang 10 g natrium sulfat, larutkan dalam 100-ml air.

Heksana, *Grade* KCKT

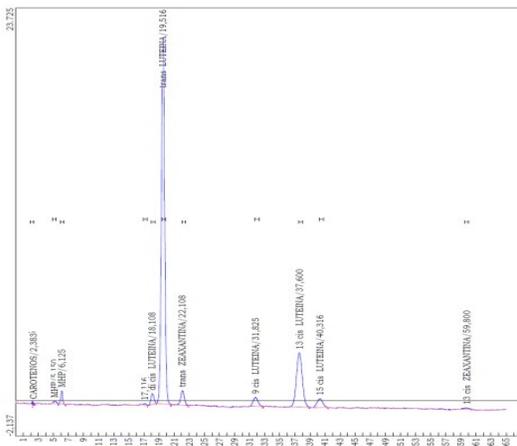
Etil asetat, *Grade* KCKT

Fase gerak Heksana P- etil asetat P (75:25), saring melalui penyaring membran dengan porositas 0,45 µm.

Sistem Kromatografi Kromatografi cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-VIS/PDA panjang gelombang 445 nm, kolom 4,6 mm x 250 mm berisi beta siklodekstrin (siklobond I atau setara), lajur alir 1 ml/menit.

Prosedur Timbang 10 mg zat dan masukkan ke dalam labu ekstraksi, larutkan dalam 30 ml *Pelarut ekstraksi*, tambahkan 2 ml larutan *kalium hidroksida metanolat P*, refluk selama 20 menit pada suhu 56° di atas tangas air. Dinginkan dan pindahkan zat ke dalam labu tentukur 100-ml menggunakan sejumlah kecil *Pelarut ekstraksi*. Diamkan pada ruang gelap selama 1 jam. Tambahkan 30 ml heksana, dan aduk selama 1 menit, tambahkan larutan natrium sulfat sampai tanda, kocok selama 1 menit. Diamkan selama 1 jam pada ruang gelap hingga lapisan atas menjadi jernih. Pindahkan 1 ml lapisan atas ke dalam vial *scintiliasi*. Uapkan pada suhu 45° hingga hampir kering. Larutkan residu dengan 1 ml *fase gerak*. Suntikkan 10 µl larutan ke dalam kromatograf.

Tipe kromatogram seperti gambar berikut :



Integrasikan respon puncak pada kira-kira :

- 18 menit, di-cis lutein
- 19,5 menit, trans lutein
- 22 menit, trans zeaxanthin
- 32 menit, 9-cis lutein
- 37,6 menit, 13-cis lutein
- 40,3 menit, 15-cis lutein
- 59,8 menit, 13-cis zeaxanthin

Hitung persentase zeaxanthin dari penjumlahan respon puncak trans-zeaxanthin (waktu retensi 20-22 menit) dan puncak cis-zeaxanthin (waktu

retensi 55-65 menit) dibandingkan penjumlahan seluruh respon puncak lutein dan zeaxanthin.

3. *Sisa pelarut <716> Metode 1.* Tidak lebih dari 50 bpj, tunggal atau campuran heksana, metanol, etanol, 2-propanol, aseton, metil etil keton.
4. *Malam* Tidak lebih dari 25%. Lakukan penetapan menggunakan Kromatografi gas seperti yang tertera pada *Kromatografi <903>*

Gas pembawa Helium P

Baku Hidrokarbon campuran baku : C25 hingga C46.

Larutan baku internal Heksatriankontan (C36)

Larutan baku Buat larutan baku dengan menambahkan baku hidrokarbon ke dalam *metilen klorida P* hingga didapatkan konsentrasi hidrokarbon masing-masing 2,0; 5,0; 10; 25; 50 mg/ml. Tambahkan sejumlah baku internal heksatriankontan hingga didapatkan konsentrasi 50 mg/l pada semua *larutan baku*.

Larutan uji Timbang saksama 100 mg zat, masukkan ke dalam tabung sentrifus dan larutkan dalam 20-ml *metilen klorida P*. Sonikasi/vortex untuk melarutkan zat secara sempurna. Sentrifugasi zat pada 2500 rpm selama 5 menit, jika zat terlihat keruh. Tambahkan 1,6 ml *metilen klorida P* dan 20 µl (5000 mg/l) larutan heksatriankontan ke dalam labu tentukur 2-ml hingga konsentrasi akhir menjadi 50 mg/l. Pindahkan 40 µl larutan zat dan encerkan dengan *metilen klorida P* 2 ml. Pindahkan larutan ke dalam vial *autosampler* 2-ml.

Sistem kromatografi Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, *autosampler* dan sistem injeksi *splitless*, kolom kapiler 0,25 mm x 30 m dengan ketebalan film 0,25 µm. Suhu diprogram 50° selama 2 menit, dengan kenaikan 13° per menit hingga 340° dan pertahankan suhu selama 8 menit. Suhu injektor 280°, suhu detektor ionisasi nyala 350°. Laju alir 1,0 ml/menit.

Prosedur Suntikkan masing-masing 1,0 µl seri *larutan baku*. Rekam kromatogram, ukur semua respon puncak. Buat kurva baku menggunakan perbandingan respon puncak masing-masing hidrokarbon dengan respon puncak *Larutan baku internal*. Suntikkan 1,0 µl *Larutan uji* dan lakukan penetapan masing-masing malam dalam zat (mg/l) menggunakan kurva baku. Jumlahkan konsentrasi masing-masing malam untuk mendapatkan

konsentrasi total malam dalam *Larutan uji*. Hitung persentase malam dengan menggunakan rumus:

$$\begin{aligned} \% \text{ malam} &= \frac{C \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right) \times 2 \text{ ml} \times 20 \text{ ml}}{1000 \left(\frac{\text{ml}}{\text{l}}\right) \times W \text{ (mg)} \times 0,04 \text{ ml}} \times 100 \\ &= \frac{(100 \times C)}{W} \end{aligned}$$

C = konsentrasi total malam dalam zat (mg/l)

W = berat zat (mg)

5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 1 g zat ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 80 ml *heksana P* dan 5 ml *2-propanol P*. Tangaskan pada penangas ultrasonik selama 5 menit hingga terlarut sempurna. Dinginkan pada suhu ruang. Tambahkan *heksana P* sampai tanda. Buat larutan seri *heksana P* antara 0,2 dan 0,8 dan ukur serapan pada panjang gelombang 428 nm. Ukur serapan zat menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan sel 1-cm pada panjang gelombang serapan maksimum 428 nm (titik infleksi isosbestik pada kurva dari seluruh isomer lutein) menggunakan *heksana P* sebagai blangko.

Hitung persentase total karotenoid ester menggunakan rumus:

$$\frac{\text{Abs} \times d \times 100}{A_{\text{Isosbestic}}^{1\%} \times W}$$

Abs = absorbansi

d = faktor pengenceran

$A_{\text{Isosbestic}}^{1\%}$ = absorbansi spesifik titik isosbestik lutein ester pada panjang gelombang 898 nm

W = bobot zat (g)

MAGNESIUM SILIKAT (SINTETIS)

Magnesium Silicate Synthetic

INS 553 (i)

CAS [1343-88-0]

DEFINISI Magnesium silikat (sintetik) dihasilkan dari reaksi pengendapan antara natrium silikat dan garam magnesium mudah larut. Suspensi air disaring, endapan dikumpulkan, dicuci, dikeringkan, dan dikelompokkan berdasarkan ukuran partikel, kemudian dikemas. Partikel yang paling halus digunakan sebagai antikempal dan partikel yang lebih kasar digunakan sebagai bahan pembantu penyaring. Jika akan digunakan sebagai anti kempal, kadar air tidak lebih dari 15%. Meskipun magnesium silikat mempunyai komposisi yang bervariasi, perbandingan molar MgO terhadap SiO₂ mendekati 2 : 5.

Magnesium silikat mengandung MgO tidak kurang dari 15% dan mengandung SiO₂ tidak kurang dari 67%, dihitung terhadap zat yang telah dipijarkan.

PEMERIAN Serbuk sangat halus, putih, tidak berbau, bebas butiran.

KELARUTAN Tidak larut dalam air.

PENGUNAAN Anti kempal.

IDENTIFIKASI

1. *pH* <909> Antara 7,0 dan 11,0. Lakukan penetapan menggunakan suspensi (1 dalam 10)
2. *Magnesium* Campur 500 mg zat dengan 10 ml *asam hidroklorida encer LP*, saring, netralkan filtrat terhadap *kertas lakmus* dengan penambahan *amoniam LP*. Filtrat netral memberikan reaksi magnesium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>
3. *Silikat* Buat butiran dengan membakar beberapa kristal natrium amonium fosfat dengan *loop* platina pada api bunsen. Totolkan butiran pada zat, dan bakar kembali. Silika menempel pada butiran, jika didinginkan terjadi butiran keruh dengan struktur seperti jala.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 15 %. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam menggunakan zat yang telah dikeringkan. Simpan zat kering untuk penetapan *Sisa pemijaran*.
2. *Sisa pemijaran* <913> Tidak lebih dari 15 % dihitung terhadap bobot yang telah dikeringkan. Timbang saksama lebih kurang 1 g zat kering pada cawan platina yang telah ditara dan ditutup. Perlahan panaskan cawan, kemudian pijarkan pada suhu 900 hingga 1000° selama 20 menit. Dinginkan, timbang dan hitung persentasenya.
3. *Garam terlarut* Tidak lebih dari 3 %. Didihkan 10 g zat dengan 150 ml air selama 15 menit. Dinginkan hingga suhu ruang, dan tambahkan air untuk mengembalikan ke volume semula. Biarkan campuran selama 15 menit, dan saring, sisihkan 20 ml filtrat untuk uji *Basa bebas*. Uapkan 75 ml filtrat, yang mengandung 5 g zat pada cawan platina yang ditara dengan menggunakan tangas uap sampai kering, dan pijar hingga diperoleh bobot tetap. Dinginkan, timbang dan hitung persentase residu: bobot residu tidak lebih dari 150 mg.
4. *Basa bebas* Tidak lebih dari 1 % (sebagai NaOH). Tambahkan 2 tetes *fenolftalein LP* ke dalam 20 ml filtrat encer pada uji *Garam terlarut*, mengandung lebih kurang 1 g zat. Diperlukan tidak lebih dari 2,5 ml *asam hidroklorida 0,1 N* untuk menghilangkan warna merah muda yang dihasilkan
5. *Fluorida* <710> *Metode 1 atau 3*. Tidak lebih dari 10 bpj. Lakukan penetapan menggunakan 2,5 g zat
6. *Timbal* Tidak lebih dari 5 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

PENETAPAN KADAR

Magnesium oksida dan silikon dioksida Tidak kurang dari 15% magnesium oksida dan tidak kurang dari 67% silikon dioksida dihitung dari sisa pijar.

Larutan A Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat dalam krus platina atau nikel, tambahkan 5 g *kalium hidroksida P* dan 2 g *asam borat P*, campur dan lelehkan menggunakan *torch burner* dan biarkan pada suhu ruang. Masukkan krus yang berisi lelehan zat ke dalam gelas piala 250-ml yang berisi 150 ml air deionisasi panas. Larutkan residu dengan pengocokan. Bilas krus dengan air deionisasi panas dan angkat. Tambahkan 50 ml *asam hidroklorida P* dan pindahkan larutan ke dalam labu tentukur propilen 250-ml. Bilas gelas piala sebanyak tiga kali, tiap kali dengan air deionisasi panas. Masukkan bilasan ke labu tentukur, dan tambahkan air sampai tanda.

Larutan uji Encerkan *larutan A* ke dalam *asam hidroklorida 2%* (1 dalam 5).

Lakukan penetapan Magnesium dan Silika dalam *Larutan uji* menggunakan teknik *ICP-AES* seperti tertera pada *Cemaran Logam <702>*.

Tetapkan parameter instrumen seperti yang ditentukan oleh prosedur instrumen. Gunakan garis analitik untuk Si (251,611 nm) dan Mg (279,553 nm). Rekam dan buat kurva *larutan baku* masing-masing 0,2 sampai 5,0 µg/ml. Tetapkan kadar dalam µg/ml magnesium dan silika dengan menggunakan kurva baku. Hitung persentase magnesium oksida dan silikon dioksida dari sisa pijar dalam *Larutan uji* menggunakan rumus :

Magnesium

$$\frac{4,1458 \times C \times D}{W \times [100 - (\%LOD + \%LOI)]}$$

Silika

$$\frac{5,3504 \times C \times D}{W \times [100 - (\%LOD + \%LOI)]}$$

- C = konsentrasi magnesium
atau silika *larutan uji*
(µm/ml)
- D = faktor pengenceran
- %LOD = susut pengeringan (%)
- % LOI = susut pemijaran (%)
- W = bobot zat (g)

MAGNESIUM STEARAT

Magnesium Stearate

INS 470 (iii)

Magnesium stearat **CAS** [557-04-0];

Garam magnesium dari asam lemak C16-18 **CAS** [91031-63-9]

Magnesium distearat

Mg(C₁₈H₃₅O₂)₂

BM 591,27

SINONIM *Magnesium distearate, dibasic magnesium stearat*

DEFINISI Magnesium stearat merupakan campuran dari garam magnesium dari asam lemak yang berasal dari lemak yang dapat dimakan dan minyak, terutama mengandung magnesium stearat dan palmitat dengan perbandingan yang beragam. Senyawa ini dihasilkan dengan salah satu dari dua proses berikut: a) proses langsung yaitu asam lemak secara langsung bereaksi dengan sumber magnesium, seperti magnesium oksida membentuk garam magnesium dari asam lemak; b) proses tidak langsung yaitu hasil penyabunan antara asam lemak dengan natrium hidroksida dalam air ditambah garam magnesium sehingga terbentuk endapan.

Magnesium stearat mengandung Mg tidak kurang dari 4,0% dan tidak lebih dari 5,0% dihitung terhadap zat kering; dan mengandung $C_{18}H_{35}O_2$ tidak kurang dari 40,0% pada fraksi asam lemak; dan tidak kurang dari 90% sebagai jumlah dari asam stearat dan asam palmitat pada fraksi asam lemak.

PEMERIAN Serbuk sangat halus, hampir putih sampai putih, berminyak jika disentuh.

KELARUTAN Praktis tidak larut dalam air.

PENGUNAAN Antikempal.

IDENTIFIKASI

1. *Magnesium* Lakukan penetapan seperti yang tertera pada *Penetapan kadar magnesium*.
2. *Komposisi asam lemak* Lakukan penetapan seperti yang tertera pada *Penetapan kadar komposisi asam lemak*.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 6%. Lakukan pengeringan menggunakan 1 g zat pada suhu 105° hingga bobot konstan.
2. *Keasaman atau kebasaan* Timbang saksama lebih kurang 1 g zat ke dalam labu yang sesuai, tambahkan 20 ml air bebas karbon dioksida, didihkan selama 1 menit sambil dikocok terus menerus. Dinginkan dan saring. Pipet

10 ml filtrat, tambahkan 0,05 larutan biru bromotimol (dibuat dengan melarutkan 100 mg *biru bromotimol P* dalam campuran etanol (96%) dan air (1:1). Encerkan hingga 100 ml, saring jika perlu): diperlukan tidak lebih dari 0,05 ml asam hidroklorida 0,1 N atau natrium hidroksida 0,1 N untuk merubah warna indikator.

3. *Zat tidak tersabunkan* Tidak lebih dari 2%. Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukkan ke dalam labu alas bulat 250 ml, tambahkan 50 ml larutan *kalium hidroksida 0,5 N* dan beberapa batu didih, pasang kondensor, dan didihkan perlahan selama 1 jam. Setelah dingin, tambahkan 100 ml air mendidih melalui bagian atas kondensor, goyangkan.

Setelah dingin, pindahkan larutan ke dalam corong pisah. Bilas labu dan batu didih beberapa kali dengan dietil eter, (total 100ml); tuang ke dalam corong pisah, tutup dan kocok kuat selama 1 menit, hilangkan tekanan secara berkala dengan membuka dan menutup penutup corong pisah. Biarkan kedua fase terpisah sempurna, pindahkan fase air ke dalam corong pisah lain. Ekstraksi fase air dua kali, masing-masing dengan 100 ml dietil eter. Gabung fase eter yang diperoleh dengan fase eter sebelumnya dan masukkan ke dalam corong pisah yang berisi 40 ml air. Kocok, perlahan, biarkan hingga terbentuk dua fase yang terpisah sempurna dan pisahkan fase air. Cuci fase eter dua kali masing-masing dengan 40 ml air, kocok kuat, dan buang fase air. Ambil 2 ml pada tiap larutan yang telah dicuci, putar corong pisah perlahan pada posisi vertikal, diamkan selama beberapa menit hingga sisa fase air terkumpul di dasar corong pisah, buang sisa fase air tersebut.

Cuci fase eter berturut-turut dengan 40 ml larutan *kalium hidroksida 0,5 N*, 40 ml air, 40 ml larutan *kalium hidroksida 0,5 N*, dan beberapa kali dengan 40 ml air, hingga fase air tidak lagi berwarna merah muda terhadap *fenolftalein LP*.

Pindahkan fase eter secara kuantitatif sedikit demi sedikit melalui bagian atas corong pisah ke dalam labu alas bulat yang telah dikeringkan, dan ditimbang sampai 0,0001 g terdekat.

Uapkan eter dengan destilasi pada tangas air. Tambahkan 5 ml aseton dan uapkan perlahan dengan aliran udara. Keringkan residu pada suhu $103 \pm 2^\circ$ selama 30 menit, tempatkan labu pada posisi horisontal. Dinginkan dalam desikator dan timbang sampai 0,0001 g terdekat (m_1). Ulangi pengeringan secara berturut-turut selama 15 menit sampai susut bobot antara dua penimbangan kurang dari 0,002 g.

Setelah penimbangan, larutkan residu dalam 4 ml dietil eter dan tambahkan 20 ml etanol yang sebelumnya telah dinetralkan dengan *natrium hidroksida* 0,05 N terhadap *fenolftalein LP*. Titrasi larutan dengan *kalium hidroksida etanolat* 0,1 N LV

Koreksi dengan menggunakan blangko. Hitung presentase zat tidak tersabunkan dengan rumus:

$$\frac{100 \times (m_1 \times T \times V)}{m}$$

m = bobot zat dalam g

m₁ = bobot residu dalam g

V = volume kalium hidroksida etanolat LV yang digunakan dalam ml

T = normalitas kalium hidroksida etanolat LV yang digunakan

4. *Kadmium* Tidak lebih dari 1 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
6. *Nikel <714>* Tidak lebih dari 3 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai. Gunakan panjang gelombang 231,60 nm, kurva linear dan jarak kalibrasi 0,10 – 10,0 µg/ml

PENETAPAN KADAR

1. *Magnesium*. Lakukan penetapan menggunakan teknik *ICP-AES* seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
2. *Komposisi asam lemak* Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi gas* seperti tertera pada *Kromatografi <903>*

Fase gerak Helium P

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 100 mg zat masukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang dapat dipasang kondensor refluks, larutkan dalam 5 ml *boron trifluorida-metanol LP*. Refluks selama 10 menit. Tambahkan 4 ml *heptana P* melalui kondensor dan refluks kembali selama 10 menit, dinginkan pada suhu ruang. Tambahkan 20 ml larutan natrium klorida jenuh, kocok, diamkan hingga terbentuk lapisan terpisah. Keringkan lapisan organik

dengan menggunakan 100 mg natrium sulfat anhidrat (yang sebelumnya telah dicuci dengan heptana)

Larutan pembanding Timbang saksama lebih kurang 50 mg asam palmitat (kemurnian 96%) dan 50 mg asam stearat (kemurnian 96%). Lakukan penyiapan seperti tertera pada *Larutan uji*.

Sistem kromatografi Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala, kolom polietilen glikol 20000 (0,32 mm x 30 m) berisi film 0,5 µm Macrogol 20000 R atau yang setara, pertahankan suhu kolom 180°, suhu tempat penyuntikan 250° dan suhu detektor 250°, laju alir lebih kurang 1 ml/menit.

Kesesuaian sistem Lakukan kromatografi terhadap *Larutan pembanding*. Rekam kromatogram dan ukur respon puncak. Resolusi, R, antara puncak metil palmitat dan metil stearat tidak kurang dari 5,0. Simpangan baku pada 6 kali penyuntikan ulang untuk metil palmitat tidak lebih dari 3,0% dan untuk metil stearat tidak lebih dari 1,0%.

Prosedur Suntikkan secara terpisah dengan volume sama (1,0 ml) dari *headspace* labu yang berisi *Larutan pembanding* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur respon puncak. Hitung presentasi relatif asam lemak dalam *Larutan uji* dengan membandingkan tinggi puncak dari kedua kromatogram

MERAH ALLURA

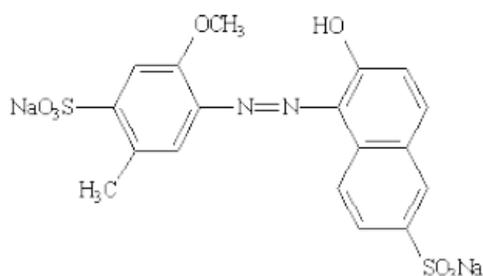
Allura Red AC

INS 129

CAS [25956-17-6]

SINONIM *CI Food Red 17; CI (1975) No.16035;*

FD&C Red No.40



Dinatrium 6-hidroksi-5-(2-metoksi-5-metil-4-sulfonatofenilazo)-2-naftalensulfonat

$C_{18}H_{14}N_2Na_2O_8S_2$

BM 496,43

DEFINISI Mengandung dinatrium 6-hidroksi-5-(2-metoksi-5-metil-4-sulfonato-fenilazo)-2-naftalensulfonat dan zat warna ikutan beserta natrium klorida dan/atau natrium sulfat yang bukan merupakan komponen warna utama. Merah allura dibuat dengan reaksi kopling diazotasi antara asam 4-amino-5-metoksi-2-metilbenzensulfonat dengan asam sulfonat 6-hidroksi-2-naftalena. Pewarna yang dihasilkan dimurnikan dan diisolasi sebagai garam natrium. Mungkin dapat dibuat menjadi aluminium lakes yang sesuai dan harus memenuhi persyaratan umum *Pewarna Aluminium-lakes*

Merah allura mengandung tidak kurang dari 85% pewarna total.

PEMERIAN Granula atau serbuk, merah kehitaman.

KELARUTAN Mudah larut dalam air, tidak larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pewarna

IDENTIFIKASI

Spektrum serapan ultra violet-sinar tampak larutan zat dalam air, menunjukkan maksimum pada panjang gelombang 501 nm

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 15% Tetapkan klorida sebagai garam natrium klorida, tetapkan sulfat sebagai garam natrium sulfat, dan susut pengeringan pada suhu 135°

Prosedur Timbang 2,0 – 3,0 g zat (W_1) dalam botol timbang yang sudah ditara dan sumbatnya. Panaskan dalam oven pada suhu 135° ($\pm 5^\circ$) hingga bobot tetap (W_2). Dinginkan botol dan residu dalam desikator sebelum setiap penimbangan. Hitung susut pengeringan dengan rumus berikut:

$$100 \times \left(1 - \frac{W_2}{W_1}\right)$$

2. *Zat tidak larut air* <914> Tidak lebih dari 0,2%.
3. *Pewarna ikutan* <1302> Tidak lebih dari 3%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi* <903>.

Fase gerak A Ammonium asetat 0,05 M

Fase gerak B Metanol P

Pembanding

- *Pewarna ikutan tersulfonasi tinggi* Garam trinitrium, asam 3-hidroksi-4-[(2-metoksi-5-metil-4-sulfofenil)azo]-2,7-naftalendisulfonat; 7-hidroksi-8-[(2-metoksi-5-metil-4-sulfofenil)azo]-1,3-naftalendisulfonat
- *Pewarna ikutan tersulfonasi rendah* Garam natrium, asam 4-[(2-hidroksi-1-naftalenil)azo]-5-metoksi-2-metilbensensulfonat

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 150 mg zat, masukkan dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan *amonium asetat 0,05 M* sampai tanda.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis/PDA 500 nm, kolom 250 mm x 4,6 mm berisi C-18, dengan ukuran partikel 5 µm, laju alir 1 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0	95	5
3	95	5
19	25	75
20	0	100
25	0	100

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan uji* dan *Pembanding* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung persentase tiap zat warna ikutan dalam zat.

4. *Senyawa organik selain pewarna* <1304> Tidak lebih dari 0,3% *Natrium 6-hidroksi-2-naftalensulfonat*; Tidak lebih dari 0,2% *4-amino-5-metoksi-2-asam metilbensensulfonat*; Tidak lebih dari 1,0% *dari dinatrium 6,6'-oksibis(2-naftalensulfonat)*.

Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* seperti tertera pada *Kromatografi* <903>.

Fase gerak A Amonium asetat 0,05 M

Fase gerak B Metanol P

Pembanding

Natrium 6-hidroksi-2-naftalensulfonat; Asam 4-amino-5-metoksi-2-metilbensulfonat; Dinatrium 6,6'-oksibis(2-naftalensulfonat)

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 150 mg zat, masukkan dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan *amonium asetat 0,05 M* sampai tanda.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis/PDA 235 dan 254 nm, kolom 250 mm x 4,6 mm berisi C-18, dengan ukuran partikel 5 µm, laju alir 1 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	Fase gerak A (%)	Fase gerak B (%)
0	95	5
3	95	5
19	25	75
20	0	100
25	0	100

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 20 µl) *Pembanding* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung total persentase senyawa organik dalam zat.

5. *Amin aromatik primer tak tersulfonasi <1305>* Tidak lebih dari 0,01% dihitung sebagai anilin.
6. *Zat terekstraksi eter <1303>* Tidak lebih dari 0,2%.
7. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur 1* dalam *Kadar total pewarna secara spektrofotometri* seperti tertera pada *Pewarna <1301>* Gunakan air sebagai pelarut, absorptivitas (a) 54,0 L/(g-cm). Ukur pada panjang gelombang serapan maksimum 510 nm.

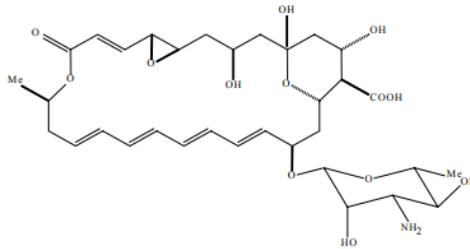
NATAMISIN

Natamycin

INS 235;

CAS [7681-93-8];

SINONIM Pimaricin



A stereoisomer dari Asam karboksilat 22-(3-Amino-3,6-dideoksi-β-D-manopiranosiloksi)-1,3,26-trihidroksi-12-metil-10-okso-6,11,28-trioksatrisiklo[22.3.1.0^{5,7}]oktakosa-8,14,16,18,20-pentaene-25

C₃₃H₄₇O₁₃

BM 665,74

DEFINISI Antimikotik fungisida dari kelompok makrolida poliena, diproduksi oleh beberapa species *Streptomyces*. Dalam perdagangan, mungkin mengandung sampai tiga molekul air.

Natamisin mengandung C₃₃H₄₇O₁₃ tidak kurang dari 95,0% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

PEMERIAN Serbuk hablur, putih hingga putih krem, hampir tidak berbau.

KELARUTAN Praktis tidak larut dalam air, dalam lemak dan minyak mineral, sukar larut dalam metanol, larut dalam asam asetat glasial dan dalam dimetil formamid

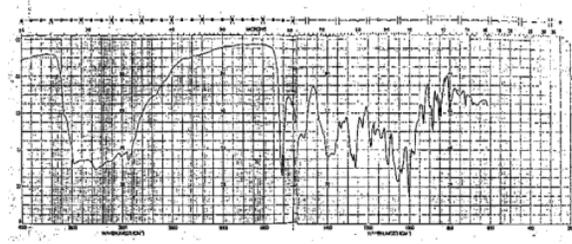
PENGGUNAAN Pengawet

IDENTIFIKASI

1. *Reaksi warna* Pada hablur zat di plat tetes tambahkan asam hidroklorida pekat: terjadi warna biru; tambahkan *asam fosfat pekat P*: terjadi warna hijau yang berubah menjadi merah pucat setelah beberapa menit.
2. *Serapan inframerah* Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan bilangan gelombang yang sama seperti gambar di bawah ini:

Appendix A

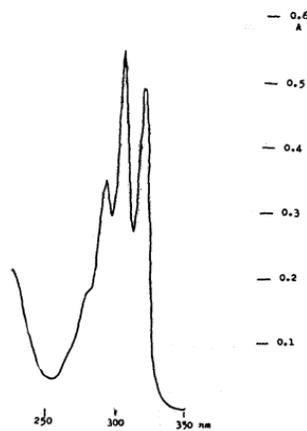
Reference Infrared Spectrum (1.3 mg solid in 300 mg potassium bromide) for natamycin



3. Serapan *uv-vis* Larutan 5 mg (1 dalam 100) dalam asam asetat glasial 0,1% dalam metanol menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 290, 303, dan 318 nm; bahu pada panjang gelombang 280 nm; serapan minimum pada panjang gelombang 250; 295,5; dan 311 nm.

Appendix B

Ultraviolet absorption spectrum of natamycin
Concentration: 5 µg/ml in methanol/glacial acetic acid mixture



KEMURNIAN

1. *pH* <909> Antara 5,0 dan 7,5. Lakukan penetapan menggunakan larutan zat (1% b/v).
2. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 8,0%. Lakukan pengeringan pada suhu 60° dengan tekanan kurang dari 5 mmHg diatas P₂O₅.
3. *Rotasi optik* <910> Antara +250 dan +295. Lakukan penetapan menggunakan larutan 1% (b/v) dalam asam asetat glasial P.
4. *Abu sulfat Metode 2* Tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu* <707> menggunakan 2 g zat.
5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi*, seperti tertera pada *Kromatografi* <903>.

[Catatan: Sepanjang pengujian, lindungi semua larutan yang mengandung natamisin dari cahaya langsung].

Fase gerak Masukkan 3,0 g amonium asetat P dan 1,0 g amonium klorida P ke dalam labu tentukur 1000-ml, tambahkan 760 ml air, campur, larutkan. Tambahkan 5,0 ml tetrahidrofuran dan 240 ml asetonitril, campur, saring melalui saringan 0,5 µm atau lebih halus. Jika perlu lakukan penyesuaian untuk memenuhi persyaratan kesesuaian sistem.

Larutan pembanding Timbang saksama lebih kurang 20 mg baku pembanding natamisin, pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu tentukur 100-ml. Tambahkan 5,0 ml tetrahidrofuran P, sonikasi selama 10 menit. Tambahkan 60 ml metanol P, aduk. Tambahkan 25 ml air, aduk. Dinginkan hingga suhu ruang. Encerkan dan larutkan dengan air sampai tanda, aduk, saring melalui saringan 0,5 µm atau lebih halus.

Larutan uji ester metil natamisin Timbang saksama lebih kurang 20 mg natamisin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, tambahkan 99 ml metanol P dan 1 ml asam hidroklorida 0,1 N, campur. Diamkan selama 2 jam.

[Catatan: Gunakan Larutan uji dalam 1 jam].

Larutan uji natamisin Timbang saksama lebih kurang 20 mg natamisin, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Lanjutkan seperti yang tertera pada proses *Larutan pembanding*, dimulai dari “Tambahkan 5,0 ml tetrahidrofuran...”

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor ultraviolet pada panjang gelombang 303 nm, kolom Supelcosil LC yang dilapisi Oktadekilsilan berukuran 4,6 mm x 25 cm atau yang setara. Pertahankan laju alir 3 ml/menit.

Kesesuaian sistem Suntikkan secara terpisah dalam volume sama sejumlah *Larutan uji natamisin*, *Larutan uji ester metil natamisin*, dan *Larutan pembanding*, ke dalam kromatograf, catat respon puncak: Efisiensi kolom tidak kurang dari 3000 lempeng teoritis dan *tailing factor* antara 0,8 dan 1,3. Simpangan baku relatif respon puncak *Larutan pembanding* dengan penyuntikkan berulang: tidak lebih dari 1,0%. Waktu retensi relatif secara berturut-turut untuk natamisin dan ester metil natamisin lebih kurang 0,7 dan 1,0. Resolusi (R) antara natamisin dan ester metil natamisin tidak kurang dari 2,5 yang dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{2(t_2 - t_1)}{(W_2 + W_1)}$$

- t_1 = Waktu retensi natamisin
 t_2 = Waktu retensi ester metil natamisin
 W_1 dan W_2 = Lebar puncak yang diekstrapolasi ke garis dasar

Prosedur Suntikkan secara terpisah dalam volume sama (20 μ l) *Larutan pembanding* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Catat respon puncak utama. Hitung kadar natamisin (%) dalam zat dengan rumus:

$$\frac{0,1 \left(\frac{W_s P_s}{W_u} \right)}{\frac{r_u}{r_s}}$$

- W_s = Bobot *Larutan pembanding* (mg)
 P_s = Kadar *Larutan pembanding* (μ g/ml)
 W_u = Bobot zat (mg)
 r_u = Respon puncak *Larutan uji*
 r_s = Respon puncak *Larutan pembanding*

NATRIUM ALUMINOSILIKAT

Sodium Aluminiumsilicate

INS 554

CAS 1344-00-9

SINONIM *Sodium silicoaluminate, Sodium aluminosilicate; Aluminium sodium silicate; Silicic acid, Aluminium sodium salt.*



DEFINISI Natrium aluminosilikat merupakan jenis dari hablur natrium aluminium silikat hidrat dengan variasi jumlah Na_2O , Al_2O_3 and SiO_2 . Dihasilkan melalui pengendapan dari reaksi aluminium sulfat dan natrium silikat.

PEMERIAN Serbuk hablur halus atau butiran; putih; tidak berbau.

KELARUTAN Tidak larut dalam air.

PENGGUNAAN Anti kempal.

IDENTIFIKASI

1. *Aluminium, Natrium, Silika* Lakukan penetapan dan penyiapan *Larutan uji* dengan teknik *ICP-AES* seperti tertera pada *Cemaran Logam <726>*. Tetapkan parameter instrumen seperti yang ditetapkan produsen. Gunakan garis analitik untuk Al (396,15 nm), Na (589,52 nm) dan Si (251,611 nm).
2. *pH <909>* Antara 6,5 dan 11,5. Lakukan penetapan menggunakan larutan (5 dalam 100)
3. *Susut pengeringan <912>* Tidak lebih dari 8,0%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam.
4. *Sisa pemijaran <913>* Tidak kurang dari 5,0% dan tidak lebih dari 11,0% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Lakukan pemijaran pada suhu 1000° hingga bobot tetap.

KEMURNIAN

1. *Cemaran larut asam hidroklorida 0,5 N* Timbal tidak lebih dari 5 bpj; Arsen tidak lebih dari 3 bpj; Raksa tidak lebih dari 1 bpj. Timbang sejumlah zat, digesti dalam *asam hidroklorida 0,5 M grade* spektroskopi selama 30 menit. Dinginkan, saring menggunakan penyaring membran dengan porositas 0,1 µm. Bilas penyaring membran dua kali, tiap kali menggunakan *asam hidroklorida 0,5 M*. Gabungkan filtrat dan bilasan dan tambahkan *asam hidroklorida 0,5 M* sampai volume tertentu. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*

PENETAPAN KADAR

Silikon dioksida:

Tidak kurang dari 66% dan tidak lebih dari 88%.

Aluminium oksida (Al₂O₃):

Tidak kurang dari 5% dan tidak lebih dari 15%.

Natrium oksida (Na₂O):

Tidak kurang dari 5% dan tidak lebih dari 8.5%.

Dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat dalam krus platina atau nikel, tambahkan 5 g *kalium hidroksida P* dan 2 g *asam borat P*, campur dan lelehkan menggunakan *torch burner* dan biarkan pada suhu ruang. Masukkan krus yang berisi lelehan zat ke dalam gelas piala 250-ml yang berisi 150 ml air deionisasi panas. Larutkan residu dengan pengocokan. Bilas krus dengan air deionisasi panas dan angkat. Tambahkan 50 ml *asam hidroklorida P* dan pindahkan larutan ke dalam labu tentukur propilen 250-ml. Bilas gelas piala sebanyak tiga kali, tiap kali dengan air deionisasi panas. Masukkan bilasan ke labu tentukur, tambahkan air sampai tanda.

Larutan blangko Encerkan *asam hidroklorida 2%* (1 dalam 5)

Lakukan penetapan Alumunium, Natrium dan Silika terhadap zat yang telah dikeringkan dengan teknik *ICP-AES* seperti tertera pada *Cemaran Logam <726>*.

Tetapkan parameter instrumen seperti yang ditetapkan oleh produsen. Gunakan garis analitik untuk Al (396,15 nm), Na (589,52 nm) dan Si (251,611 nm). Rekam dan buat kurva *larutan baku* masing-masing 0,2 sampai 5,0 µg/ml. Tetapkan kadar dalam µg/ml Alumunium, Natrium dan Silika dengan menggunakan kurva baku.

Hitung persentase alumunium oksida, natrium oksida dan silikon dioksida dalam zat menggunakan rumus

Alumunium

$$\frac{1,899 \times (C - B) \times 250 \times DF}{W \times 10^6} \times 100$$

Natrium

$$\frac{1,348 \times (C - B) \times 250 \times DF}{W \times 10^6} \times 100$$

Silika

$$\frac{2,139 \times (C - B) \times 250 \times DF}{W \times 10^6} \times 100$$

C = konsentrasi alumunium, natrium atau silika *larutan uji* (µm/ml)

B = konsentrasi alumunium, natrium atau silika *larutan blangko* (µm/ml)

W = bobot zat pijar (g)

DF = faktor pengenceran

NATRIUM ASETAT

Sodium acetate

INS 262(i);

CAS [127-09-3];

Rumus bangun

$C_2H_3NaO_2 \cdot nH_2O$

BM 82,03 (anhidrat)

BM 136,08 (trihidrat)

Natrium asetat mengandung $C_2H_3NaO_2 \cdot nH_2O$ tidak kurang dari 98,5% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

PEMERIAN Anhidrat: Serbuk higroskopis, granular, putih, tidak berbau. Trihidrat: Hablur, serbuk hablur granular, transparan atau tidak berwarna, tidak berbau atau bau asetat yang samar. Mengembang di udara yang hangat dan kering.

KELARUTAN Sangat mudah larut dalam air dan larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pengatur keasaman, pendapar

IDENTIFIKASI

1. *pH* <909> Antara 8,0 dan 9,5. Lakukan penetapan menggunakan larutan zat (1 dalam 100).
2. *Natrium* Memberikan reaksi natrium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>
3. *Asetat* Memberikan reaksi asetat seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>
4. *Tes pemanasan* Anhidrat: Jika dipanaskan perlahan, zat melebur secara bertahap, mendidih, terurai menghasilkan bau aseton tidak sedap; residu memberikan reaksi basa terhadap kertas lakmus; Trihidrat: Jika dipanaskan perlahan, zat mencair, air menguap dan terbentuk serbuk. Dengan pemanasan lebih kuat, serbuk melebur, menggumpal, terurai menghasilkan

bau aseton tidak sedap: residu memberikan reaksi basa terhadap kertas lakmus.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Anhidrat: Tidak lebih dari 2,0%; Trihidrat: Antara 36 dan 42%. Lakukan pengeringan pada suhu 120° selama 4 jam.
2. *Kalium* Tidak memberikan reaksi kalium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>
3. *Keasaman dan Kebasaan* Anhidrat: Larutkan 1,2 g zat dalam 20 ml *air bebas karbon dioksida*, dinginkan pada suhu 10°. Jika larutan tidak menimbulkan warna, dibutuhkan tidak lebih dari 0,1 ml *natrium hidroksida 0,1 N* untuk terbentuk warna merah muda. Jika warna merah muda terbentuk, dibutuhkan tidak lebih dari asam klorida 0,1 N untuk menghilangkan warna;

Trihidrat: Timbang lebih kurang 2 g zat, lakukan pengujian seperti tertera pada zat anhidrat.
4. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan teknik serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 2 g zat yang diperoleh pada penetapan *Susut pengeringan* <912>. Masukkan ke dalam Labu Erlenmeyer, larutkan dalam 40 ml *asam asetat glasial P*, tambahkan 2 tetes *ungu kristal LP*. Titrasi dengan *asam perklorat 0,1 N LV* dalam *asam asetat glasial P*. Lakukan penetapan blangko.

*Tiap ml asam perklorat 0,1 N
setara dengan 8,203 mg C₂H₃NaO₂.*

NATRIUM DIASETAT

Sodium diacetate

INS 262(ii);

CAS Natrium asetat [127-09-3]; Asam asetat [64-19-7];

SINONIM *Sodium hydrogen diacetate*

Natrium diasetat

$C_4H_7NaO_4 \cdot xH_2O$

BM 142,09 (anhidrat)

DEFINISI Senyawa molekul natrium asetat dan asam asetat.

Natrium diasetat mengandung asam asetat bebas antara 39% dan 41%; natrium asetat antara 58% dan 60%.

PEMERIAN Padatan hablur higroskopis, putih, bau khas asetat

KELARUTAN Mudah larut dalam air.

PENGUNAAN Anti kempal dan *antirope*, sekuestran, pengatur keasaman

IDENTIFIKASI

1. *Natrium* Memberikan reaksi natrium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum <61>*
2. *Asetat* Memberikan reaksi asetat seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum <61>*
3. *Uji pemijaran* Pijarkan zat: terbentuk residu bersifat basa dan membentuk gelembung udara pada penambahan asam.

KEMURNIAN

1. *pH <909>* Antara 4,5 dan 5,0. Lakukan penetapan menggunakan larutan zat (1 dalam 10).
2. *Air <908> Metode Karl Fischer* Tidak lebih dari 0,2%.
3. *Asam format dan cemaran yang dapat teroksidasi* Tidak lebih dari sesepora. Larutkan 2,5 g zat dalam 5 ml air, tambahkan 2,5 ml kalium dikromat 0,1 N dan 6 ml *asam sulfat P*, diamkan selama 1 menit. Tambahkan 20 ml air, dinginkan hingga suhu 15°, tambahkan 1 ml *kalium iodida LP*: terjadi warna kuning pucat atau coklat yang terbentuk dengan segera.
4. *Aldehid* Tidak lebih dari 0,2% (sebagai propanal). Larutkan 5 g zat dalam 10 ml air, saring. Pada 5 ml distilat pertama, tambahkan 10 ml *merkuri klorida LP*, basakan dengan natrium hidroksida 1 N. Diamkan 5 menit, asamkan dengan *asam sulfat encer LP*: Larutan menunjukkan tidak lebih dari kekeruhan samar.

5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan teknik serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*

PENETAPAN KADAR

Natrium asetat Timbang saksama lebih kurang 0,5 g zat, larutkan dalam 50 ml *asam asetat glasial P*. Keringkan bagian luar unit elektroda kalomel-kaca pengukur pH dan tempatkan elektroda di dalam larutan. Tambahkan *asam perklorat 0,1 N LV* secara bertahap hingga mV berubah. Buat kurva penambahan volum terhadap pembacaan mV. Tentukan jumlah titran setara dengan pada setengah lompatan maksimum. Hitung kadar natrium diasetat (%) dengan rumus:

$$\frac{VxNx0,1421}{w} \times 100$$

V = Jumlah asam perklorat (ml)

N = Normalitas asam perklorat

w = Bobot zat (g)

Asam asetat bebas Timbang saksama lebih kurang 4 g zat, masukkan ke dalam Labu Erlenmeyer, larutkan dalam 50 ml air suling. Titrasi dengan *natrium hidroksida 1 N LV* menggunakan *fenolftalein LP* sebagai indikator. Hitung kadar asam asetat bebas (%) dengan rumus:

$$\frac{VxNx0,060}{w} \times 100$$

V = Jumlah natrium hidroksida (ml)

N = Normalitas natrium hidroksida

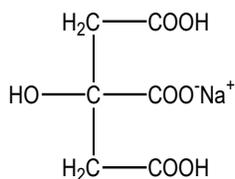
w = Bobot zat (g)

NATRIUM DIHIDROGEN SITRAT

Sodium Dihydrogen Citrate

INS 331(i)

SINONIM *Monosodium citrate, sodium citrate monobasic*



Mononatrium sitrat, garam mononatrium dari asam 2-hidroksi-1,2,3-propantrikarboksilat

$\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_7$

BM 214,11

Natrium dihidrogen sitrat mengandung $\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_7$ tidak kurang dari 99,0% dan tidak lebih dari 101,0%.

PEMERIAN Hablur atau serbuk hablur, putih, tidak berbau.

KELARUTAN Mudah larut dalam air dan praktis tidak larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Dapar, sekuestran.

IDENTIFIKASI

1. *pH* <909> Antara 3,4 dan 3,8. Lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 10)
2. *Sitrat* Memberikan reaksi sitrat seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>
3. *Natrium* Menunjukkan reaksi natrium seperti tertera dalam *Uji identifikasi umum* <61>

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 0,4%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 4 jam.
2. *Oksalat* <715> Memenuhi syarat, warna larutan tidak lebih intensif dari larutan asam oksalat 0,005%.
3. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 180 mg zat yang telah dikeringkan. Larutkan dalam 25 ml air dan titrasi dengan *natrium hidroksida* 0,1 N LV. Tetapkan titik akhir secara potensiometrik.

*Tiap ml natrium hidroksida 0,1 N LV
setara dengan 10,706 mg C₆H₇NaO₇*

NATRIUM HIDROGEN SULFAT

Sodium Hydrogen Sulfate

INS 514(ii);

CAS [7681-38-1];

SINONIM *Sodium Acid Sulfate, Nitre Cake, Sodium Bisulfate, Sulfuric Acid, Monosodium Salt.*

NaHSO₄

BM 120,06

DEFINISI Natrium hidroklorida dan asam sulfat digabungkan pada suhu tinggi untuk menghasilkan natrium hidrogen sulfat cair. Natrium hidrogen sulfat cair disemprotkan dan didinginkan untuk membentuk padatan dengan ukuran partikel yang seragam.

Natrium hidrogen sulfat mengandung NaHSO₄ tidak kurang dari 85,0%.

PEMERIAN Hablur atau granula, putih.

KELARUTAN Mudah larut dalam air.

PENGGUNAAN Pengatur keasaman.

IDENTIFIKASI

1. *Natrium* Memberikan reaksi natrium seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>
2. *Sulfat* Memberikan reaksi sulfat seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum* <61>

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 0,8%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam menggunakan 25 g zat.
2. *Zat tidak larut air* <914> Tidak lebih dari 0,05%. Menggunakan 50 g zat dalam 300 ml air panas.
3. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.
4. *Selenium* <717> *Metode 2* Tidak lebih dari 5 bpj.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukan ke dalam labu erlenmeyer 250 ml, tambahkan 125 ml *air*, campur. Tambahkan *fenolftalein LP*, titrasi dengan *natrium hidroksida 1 N*.

*Tiap ml natrium hidroksida
setara dengan 120,06 mg NaHSO₄*

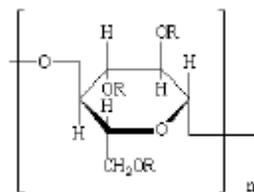
NATRIUM KARBOKSIMETIL SELULOSA

Sodium Carboxymethyl Cellulose

INS 466

CAS [9004-32-4]

SINONIM *Sodium cellulose glycolate, Na CMC, cellulose gum, sodium CMC*



R = H atau CH₂COONa

Garam natrium karboksimetileter selulosa

$[C_6H_7O_2(OH)_x(OCH_2COONa)_y]_n$

n adalah derajat polimerisasi

x = 1,50 sampai 2,80

y = 0,2 sampai 1,50

x + y = 3,0

(y = derajat substitusi)

Bobot molekul

Unit struktural dengan derajat substitusi 0,20: 178,14.

Unit struktural dengan derajat substitusi 1,50: 282,18.

Makromolekul: lebih besar dari 17.000 (n lebih kurang 100).

DEFINISI Natrium karboksimetil selulosa dibuat dari selulosa dan asam monokloro-asetat atau garam natriumnya dalam suasana basa. Dalam perdagangan dapat ditambahkan spesifikasi kekentalan.

Natrium karboksimetil selulosa mengandung $[C_6H_7O_2(OH)_x(OCH_2COONa)_y]_n$ tidak kurang dari 99,5% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

PEMERIAN Granula, serbuk atau serat halus, higroskopis, putih atau sedikit kekuningan, hampir tidak berbau.

KELARUTAN Larut dalam air membentuk koloidal kental, tidak larut dalam etanol.

PENGUNAAN Pengemulsi, pengental, peningkat volum, penstabil.

IDENTIFIKASI

1. *Busa Kocok* kuat larutan zat 0,1%: tidak terbentuk lapisan busa. Uji ini membedakan natrium karboksimetil selulosa dari eter selulosa lain, alginat, dan gom alami.
2. *Pembentukan endapan* Tambahkan 5 ml larutan tembaga(II) sulfat P 5% atau aluminium(III) sulfat P 5% pada 5 ml larutan zat 0,5%: terbentuk endapan. Uji ini membedakan natrium karboksimetil selulosa dari eter selulosa lainnya, gelatin, gom kacang lokus dan gom tragakan.
3. *Reaksi warna* Tambahkan 500 mg zat yang diserbukkan ke dalam 50 ml air, aduk sampai terbentuk dispersi homogen. Lanjutkan pengadukan sampai larutan jernih. Encerkan 1 ml larutan dengan 1 ml air dalam tabung reaksi kecil. Tambahkan 5 tetes 1-naftol LP. Miringkan tabung, dan teteskan perlahan 2 ml asam sulfat P melalui dinding tabung: terbentuk cincin ungu kemerahan.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 12%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° hingga bobot tetap.

2. *pH* <909> Antara 6,0 dan 8,5. Lakukan penetapan menggunakan larutan zat (1 dalam 100)
3. *Natrium* Tidak lebih dari 12,4% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektrofotometer serapan atom atau fotometri nyala api seperti tertera pada *Spektrofotometri* <901>
4. *Natrium klorida* Tidak lebih dari 0,5% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan. Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml, tambahkan 50 ml air dan 5 ml *hidrogen peroksida* 30%, panaskan di dalam tangas uap selama 20 menit sambil sesekali diaduk hingga larut sempurna. Dinginkan, tambahkan 100 ml air dan 10 ml *asam nitrat P*, titrasi dengan *perak nitrat 0,05N LV* secara potensiometri menggunakan elektroda perak kalomel sambil diaduk terus menerus. Hitung persentase natrium klorida dengan rumus:

$$\frac{(V \times N \times 584,4)}{(100 - b) \times W}$$

V = volume dalam ml perak nitrat yang digunakan

N = Normalitas perak nitrat

584,4 = Faktor ekivalensi natrium klorida

b = hasil dari *Susut pengeringan*

W = bobot zat dalam mg yang digunakan

5. *Natrium glikolat* Tidak lebih dari 0,4% sebagai natrium glikolat dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Larutan baku persediaan Timbang saksama lebih kurang 100 mg *asam glikolat P*, yang telah dikeringkan dalam desikator vakum selama semalam, larutkan dalam 100 ml air (*Catatan: Gunakan larutan tidak lebih dari 30 hari*).

Larutan baku Pipet 1, 2, 3, dan 4 ml *Larutan baku persediaan* ke dalam labu tentukur 100-ml terpisah. Tambahkan air dalam masing-masing labu hingga 5 ml, lalu tambahkan 5 ml *asam asetat glasial P*, encerkan dengan *aseton P* sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama 500 mg zat, masukkan ke dalam gelas piala 100 ml. Basahkan dengan 5 ml *asam asetat glasial P* kemudian dengan 5 ml air, aduk dengan batang pengaduk gelas sampai larut sempurna (dibutuhkan waktu 15 menit). Secara perlahan tambahkan 50 ml *aseton P* sambil diaduk kemudian tambahkan 1 g *natrium sulfat P*. Aduk beberapa menit hingga karboksimetil selulosa mengendap sempurna. Saring melalui kertas saring

halus yang telah dibasahi dengan *aseton P*, tampung filtrat dalam labu tentukur 100-ml. Gunakan 30 ml *aseton P* untuk memindahkan dan mencuci semua endapan, tambahkan *aseton P* sampai tanda, campur.

Larutan blangko Buat larutan 5 ml asam *asetat glasial P*, 5 ml air, dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan *aseton P* sampai tanda.

Prosedur Pipet 2,0 ml *Larutan uji* dan 2,0 ml *Larutan blangko* dan 2,0 ml *Larutan baku* masing-masing ke dalam labu tentukur 25-ml terpisah. Masukkan labu tidak bersumbat dalam tangas air mendidih selama tepat 20 menit. Dinginkan sampai suhu ruang dan tambahkan 5 ml *2,7-dihidroksinaftalen LP*, campur, lalu tambahkan lagi 15 ml *2,7-dihidroksinaftalen LP* dan campur. Sumbat mulut tiap-tiap labu dengan aluminium foil kecil dan masukkan semua labu dalam tangas air mendidih selama 20 menit, angkat, dinginkan dan encerkan dengan *asam sulfat LP* sampai tanda. Ukur serapan masing-masing larutan pada panjang gelombang 540 nm. Buat kurva baku dari serapan *Larutan baku*. Hitung persentase natrium glikolat dalam zat dengan rumus:

$$\frac{(w \times F)}{(100 - b) \times W}$$

w = bobot asam glikolat dalam *Larutan uji* yang diperoleh dari kurva baku

F = Faktor konversi asam glikolat terhadap natrium glikolat (12,9)

b = hasil dari *Susut pengeringan*

W = bobot zat dalam mg yang digunakan

6. *Derajat substitusi* Tidak kurang dari 0,20 dan tidak lebih dari 1,50 gugus karboksimetil per unit anhidroglukosa dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

Timbang saksama lebih kurang 5 g zat, masukkan ke dalam labu erlenmeyer 500 ml. Tambahkan 350 ml *metanol P* atau *etanol 80%*. Kocok suspensi menggunakan pengocok mekanik selama 30 menit. Dekantasi menggunakan krus penyaring kaca yang telah ditara dengan penghisap. Hindari udara penghisap melalui krus penyaring pada akhir dekantasi. Ulangi pada cairan ekstraksi hingga uji ion klorida menggunakan *perak nitrat LP* memberikan hasil negatif. Pindahkan natrium karboksimetil selulosa ke dalam krus yang sama. Hilangkan sisa cairan ekstraksi pada zat menggunakan *aseton P*. Keringkan krus pada suhu 110° hingga bobot tetap. Timbang setelah 2 jam.

Dinginkan krus pada desikator dan timbang dengan hati-hati karena natrium karboksi metil selulosa bersifat sedikit higroskopis.

Prosedur Timbang saksama lebih kurang 2 g zat yang telah dikeringkan menggunakan prosedur ekstraksi-alkohol pada krus porcelain yang telah ditara. Arangkan secara hati-hati menggunakan nyala api kecil selama 10 menit dan lanjutkan dengan nyala api yang lebih besar. Dinginkan dan lembapkan residu menggunakan 3-5 ml *asam sulfat P*. Panaskan perlahan sampai asap putih tidak terlihat lagi. Dinginkan, tambahkan 1 g *ammonium karbonat P*, taburkan serbuk hingga menutupi seluruh permukaan zat di krus. Panaskan kembali, awali dengan menggunakan nyala api kecil hingga asap putih tidak terlihat lagi dan lanjutkan pemanasan sampai jadi merah selama 10 menit. Ulangi dengan penambahan *asam sulfat P* dan *amonium karbonat P* jika residu natrium sulfat masih mengandung sejumlah karbon. Dinginkan krus dalam desikator dan timbang. Selain menggunakan penambahan *amonium karbonat P* dan menggunakan nyala api, dapat juga dilakukan dengan memanaskan krus dalam tanur pada suhu 600° selama 1 jam.

Hitung persentase natrium dalam zat yang dalam ekstrak alkohol menggunakan rumus :

$$\frac{a \times 32,28}{b}$$

a = bobot residu natrium sulfat

b = bobot zat kering yang diekstraksi dalam alkohol

Hitung *derajat substitusi* menggunakan rumus :

$$\frac{162 \times \% \text{ natrium}}{2300 - (80 \times \% \text{ natrium})}$$

7. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik ICP-AES yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*

PENETAPAN KADAR Hitung persentase natrium karboksimetil selulosa dalam zat dengan rumus sebagai berikut :

100% – (% natrium klorida + % natrium glikolat)

% *Natrium klorida* dan % *Natrium glikolat* ditetapkan dengan cara yang tertera pada *Kemurnian*.

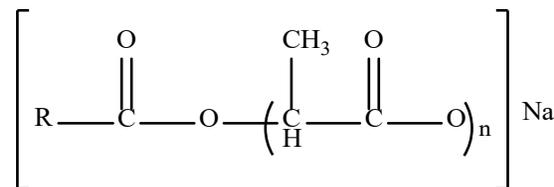
NATRIUM STEAROIL-2-LAKTILAT

Sodium stearoyl-2-lactylate

INS 481(i)

CAS [25383-99-7]

SINONIM *Sodium stearoyl lactylate, Sodium stearoyl lactate*



Natrium di-2-stearoil laktat, Natrium di-(2-stearoiloksi)propionat (komponen utama)

R = C₁₇H₃₅ atau C₁₅H₃₁; nilai rata-rata n adalah 2.

C₂₁H₃₉O₄Na; C₁₉H₃₅O₄Na (komponen utama).

DEFINISI Natrium stearoil-2-laktilat adalah campuran garam natrium dari asam stearoil laktilat dan sejumlah kecil garam natrium dari asam sejenis yang lain, dibuat dengan esterifikasi asam stearat dalam perdagangan dengan asam laktat dan dinetralisasi menjadi garam natrium. Dapat mengandung asam stearoil laktilat dan palmitoil tidak ternetralisasi, asam lemak bebas (terutama stearat dan palmitat), asam laktat bebas dan garam dari ester asam lemak dari asam laktat dan asam laktat terpolimerisasi.

PEMERIAN Serbuk atau padatan rapuh, putih atau sedikit kekuningan, bau khas.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, larut dalam etanol.

PENGUNAAN Pengemulsi, perlakuan tepung, pengental.

IDENTIFIKASI

1. *Natrium* Pada 2 g zat tambahkan 10 ml *asam hidroklorida encer LP*, panaskan selama 5 menit dalam tangas air, saring dan netralkan filtrat dengan *amonia LP*. Simpan residu. Pada filtrat, tambahkan *zink uranil asetat LP*: terbentuk endapan kristal kuning dalam waktu beberapa menit.
2. *Asam lemak* Ambil residu pada uji *Natrium*, tambahkan 30 ml *natrium hidroksida LP*, panaskan selama 30 menit di atas tangas uap dan saring. Tambahkan 20 ml *asam hidroklorida encer LP* pada filtrat setelah pendinginan, ekstraksi dua kali dengan 30 ml dietil eter, cuci larutan eter dengan 20 ml air, keringkan dengan *natrium sulfat anhidrat P* dan uapkan eter: residu meleleh antara suhu 54° dan 69°.
3. *Laktat* Memberikan reaksi laktat seperti tertera dalam *Uji Identifikasi Umum <61>*

KEMURNIAN

1. *Kadar natrium* Tidak kurang dari 2,5% dan tidak lebih 5,0%.

Larutan lantanum persediaan Timbang saksama lebih kurang 5,86 g *lantanum oksida P*, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml, basahi dengan beberapa ml air, tambahkan hati-hati 25 ml *asam hidroklorida P*, dan goyangkan sampai larut sempurna. Encerkan dengan air sampai tanda, dan campur.

Larutan natrium persediaan Timbang saksama lebih kurang 1,271 g *natrium klorida* yang telah dikeringkan pada suhu 150° selama 2 jam, masukkan ke dalam labu tentukur 500-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Larutan ini mengandung *natrium* 1 mg per ml

Larutan pembanding natrium Pipet 10,0 ml *Larutan lantanum persediaan* pada masing-masing tiga labu tentukur 100-ml. Dengan menggunakan siring mikroliter pindahkan 0,20 ml *Larutan natrium persediaan* ke dalam labu pertama, 0,40 ml ke dalam labu kedua, dan 0,50 ml ke dalam labu ketiga. Encerkan masing-masing dengan air sampai tanda. Larutan mengandung masing-masing 2,0 µg, 4,0 µg dan 5,0 µg Na per ml. Larutan dibuat segar.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 250 mg, masukkan ke dalam gelas piala 30 ml, larutkan dalam 10 ml *etanol P* dengan pemanasan, pindahkan larutan secara kuantitatif dengan saksama ke dalam labu tentukur 25-ml. Cuci gelas piala dua kali tiap kali dengan 5 ml *etanol P*, tambahkan pencuci ke dalam labu tentukur, encerkan dengan *etanol P* sampai tanda. Pindahkan 2,5 ml

Larutan lantanum persediaan ke dalam labu tentukur 25-ml kedua. Dengan menggunakan siring mikroliter pindahkan 0,25 ml *Larutan uji* ke dalam labu kedua, encerkan dengan air sampai tanda, dan campur.

Prosedur Ukur serapan masing-masing *Larutan pembanding* dan *Larutan uji* pada panjang gelombang 589 nm dengan spektrofotometer serapan atom yang sesuai. Buat kurva baku antara serapan *Larutan pembanding* dengan kadar natrium dalam µg per ml. Dari kurva baku didapatkan kadar natrium dalam µg per ml *Larutan uji* (C)

Hitung jumlah dalam mg natrium dalam zat dengan rumus:

$$2,5 \times C$$

2. *Asam laktat total* Tidak kurang dari 15% dan tidak lebih dari 40%.

Kurva baku Timbang saksama lebih kurang 1,067 g litium laktat, masukkan ke dalam labu tentukur 1000 ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 10,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Pipet masing-masing 1,0 ml, 2,0 ml, 4,0 ml, 6,0 ml, dan 8,0 ml larutan ke dalam masing-masing labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda. Masing-masing larutan baku mengandung asam laktat 1 µg, 2 µg, 4 µg, 6 µg dan 8 µg per ml. Pipet 1,0 ml dari masing-masing larutan ke dalam tabung reaksi terpisah, dan lanjutkan seperti yang tertera pada *Prosedur*, mulai dengan “Tambahkan 1 tetes *tembaga(II)sulfat LP...*”. Setelah terjadi warna dan diukur serapannya, buat kurva baku yang menggambarkan hubungan antara serapan dan kadar asam laktat dalam µg per ml.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 200 mg, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 125-ml, tambahkan 10 ml *kalium hidroksida etanolat 0,5 N LP* dan 10 ml air, hubungkan dengan pendingin udara, refluks hati-hati selama 45 menit. Cuci bagian dalam labu dan pendingin dengan lebih kurang 40 ml air, dan panaskan di atas tangas uap sampai tidak berbau alkohol. Tambahkan 6 ml larutan *asam sulfat P* (1 dalam 2), panaskan sampai asam lemak melebur, dinginkan sampai suhu lebih kurang 60°, tambahkan 25 ml *eter minyak tanah P*. Goyang campuran hati-hati, dan pindahkan secara kuantitatif ke dalam corong pisah. Kumpulkan lapisan air ke dalam labu tentukur 100-ml, dan cuci lapisan *eter minyak tanah P* dengan air dua kali tiap kali dengan 20 ml, masukkan air pencuci ke dalam labu tentukur. Encerkan dengan air sampai tanda. Pipet 1,0 ml larutan ke dalam labu tentukur 100-ml, encerkan dengan air sampai tanda.

Prosedur Masukkan 1,0 ml *Larutan uji* ke dalam tabung reaksi, dan masukkan 1,0 ml air ke dalam tabung reaksi kedua sebagai blangko. Lakukan terhadap

masing-masing tabung sebagai berikut: tambahkan 1 tetes *tembaga(II) sulfat LP*, goyang hati-hati, kemudian tambahkan dengan cepat dari buret 9,0 ml *asam sulfat P*. Longgarkan tutup tabung, dan panaskan dalam tangas air pada suhu 90° selama tepat 5 menit. Dinginkan segera sampai suhu di bawah 20° dalam tangas es selama 5 menit, tambahkan 3 tetes *p-fenilfenol LP* (dibuat segar) kocok segera, dan panaskan di atas tangas air pada suhu 30° selama 30 menit, dengan pengocokan dua kali untuk mendispersi pereaksi. Panaskan tabung dalam tangas air pada suhu 90° selama tepat 90 detik, dan dinginkan segera sampai suhu ruang dalam tangas es. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang 570 nm dengan spektrofotometer yang sesuai. Lakukan penetapan blangko. Tetapkan bobot asam laktat dalam µg *Larutan uji* menggunakan *kurva baku*.

3. *Bilangan asam* Tidak kurang dari 60 dan tidak lebih dari 130. Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 100ml, tambahkan 25 ml *etanol P* yang telah dinetralkan terhadap *fenolftalein LP*, dan panaskan di atas lempeng pemanas sampai larut. Dinginkan, tambahkan 5 tetes *fenolftalein LP*, titrasi segera dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV* sampai warna merah jambu pertama yang bertahan selama tidak kurang dari 30 detik. Hitung bilangan asam dengan rumus:

$$56,1V \times \frac{N}{W}$$

V = volume natrium hidroksida 0,1 N yang digunakan untuk titrasi (ml).

N = normalitas natrium hidroksida.

W = bobot zat (g).

Gunakan larutan netral untuk penetapan *Bilangan ester*.

4. *Bilangan ester* Tidak kurang dari 90 dan tidak lebih dari 190. Pada larutan netral yang diperoleh pada penetapan *Bilangan asam*, tambahkan 10,0 ml larutan *kalium hidroksida etanolat LP*, Tambahkan 5 tetes *fenolftalein LP*, hubungkan dengan pendingin yang sesuai, refluks selama 2 jam. Dinginkan, tambahkan 5 tetes *fenolftalein LP*, dan titrasi kelebihan basa dengan *asam hidroklorida 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko dengan menggunakan 10,0 ml larutan *kalium hidroksida etanolat LP*. Hitung bilangan ester dengan rumus:

$$56,1(B - S) \times \frac{N}{W}$$

(B-S) = selisih volume *asam hidroklorida 0,1 N* yang digunakan untuk titrasi blangko dan titrasi zat.

N = normalitas *asam hidroklorida* yang digunakan untuk titrasi.

W = bobot zat (g).

5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

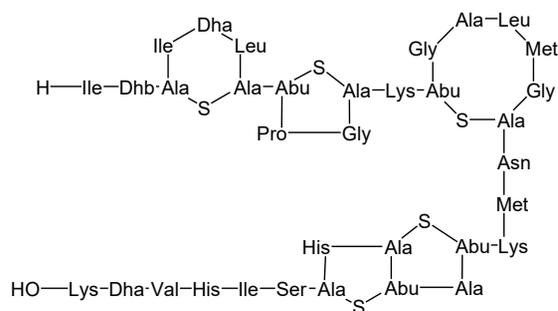
NISIN

Nisin

INS 234

CAS [1414-45-5];

DEFINISI Nisin merupakan senyawa polipeptida bersifat anti mikroba yang dihasilkan *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* dengan kondisi fermentasi yang sesuai. Polipeptida utama hasil fermentasi adalah Nisin A. Nisin diproduksi dari media steril padat susu tanpa lemak atau non susu, seperti ekstrak ragi dan padatan karbohidrat. Proses fermentasi diatur untuk waktu dan pH, sampai produksi nisin optimum telah dicapai. Nisin ini kemudian dipekatkan, diambil dan dimurnikan dari medium fermentasi dengan berbagai metode, seperti injeksi steril, filtrasi membran, pengasaman, penggaraman, ultrafiltrasi atau pengeringan semprot. Nisin murni kemudian distandardisasikan dengan natrium klorida untuk mencapai tingkat aktivitas yang diinginkan. Nisin stabil pada suhu ruang dan ketika dipanaskan di bawah kondisi asam (sampai pH 3). Nisin secara komersial tersedia sebagai sediaan seperti mengandung 2,5% b/b nisin, >50% natrium klorida; bahan lainnya adalah susu padat dan produk hasil fermentasi meliputi protein dan karbohidrat. Aktivitas nisin ditentukan dalam Unit Internasional (UI). Satu UI nisin setara dengan 0,025 µg.



Abu = *alpha-aminobutyric acid*

Dha = *dehydroalanine*

Dhb = *dehydrobutyrine*

Nisin A

C₁₄₃H₂₃₀O₃₇N₄₂S₇

BM 3354,12

Nisin mengandung C₁₄₃H₂₃₀O₃₇N₄₂S₇ tidak kurang dari 900 IU per miligram (atau 22,5 µg/mg).

PEMERIAN Serbuk halus, putih sampai coklat muda

KELARUTAN Larut dalam air, tidak larut dalam pelarut non polar

PENGGUNAAN Pengawet Antibakteri

IDENTIFIKASI

1. *Perbedaan dari anti mikroba lain* Memenuhi syarat. Lakukan penetapan seperti tertera pada prosedur berikut:

Stabilitas terhadap asam

Larutan persediaan zat: suspensikan 1 g zat dalam 1 liter asam klorida 0,02 N sehingga larutan mengandung 1000 IU/ml.

Larutan zat: buat pengenceran *Larutan persediaan zat* dengan asam klorida 0,02 N sehingga memberikan konsentrasi 50 IU/ml. Didihkan larutan ini selama 5 menit dan ukur aktivitas nisin seperti pada *Penetapan aktivitas nisin* pada metode *Penetapan kadar*. Konsentrasi nisin pada zat yang didihkan harus 100% (+/-5%) dari nilai kadar mengindikasikan tidak ada penurunan kadar yang bermakna pada pemanasan.

Ketidakstabilan terhadap basa

Atur pH pada sisa larutan nisin yang didihkan dari uji *Stabilitas terhadap asam* sampai 11,0 menggunakan *natrium hidroksida 5N*. Panaskan larutan pada 65° selama 30 menit, dan kemudian dinginkan. Atur pH sampai 2,0 dengan penambahan asam klorida tetes demi tetes. Ukur aktivitas nisin seperti tertera pada *Penetapan aktivitas nisin* pada *Penetapan kadar*. Hitung kehilangan aktivitas anti mikroba nisin dengan perlakuan ini. Kehilangan total aktivitas anti mikroba harus terlihat pada perlakuan yang dijelaskan berikut ini.

Toleransi *Lactococcus lactis* terhadap nisin konsentrasi tinggi

Siapkan kultur *L. lactis* (ATCC 11454, NCIMB 8586) pada skim steril (<1% lemak) susu dengan menginkubasi selama 18 jam pada 30 °. Siapkan satu atau lebih labu mengandung 100 ml susu lakmus, dan sterilkan pada 121° selama 15 menit. Suspensikan 0,1 g zat dalam susu lakmus steril, dan biarkan pada suhu ruang selama 2 jam. Tambahkan 0,1 ml biakan *L. lactis*, dan inkubasi pada

30° selama 24 jam. Catat pertumbuhan *L. lactis*. *L. lactis* akan tumbuh pada kadar zat (lebih kurang 1000 UI/ml); namun akan terhambat pertumbuhannya pada kadar yang serupa terhadap anti mikroba lain.

2. *Aktivitas nisin* Zat memperlihatkan aktivitas nisin. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Penetapan kadar*.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 3,0% Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 2 jam
2. *Natrium klorida* Tidak kurang dari 50%. Lakukan penetapan dengan prosedur berikut ini:

Timbang saksama lebih kurang 200 mg zat, masukkan dalam labu bersumbat kaca yang mengandung 50 ml air. Kocok labu untuk melarutkan zat, sabil ditambahkan 3 ml *asam nitrat P*, 5 ml *nitrobenzen P*, 50,0 ml larutan *perak nitrat 0,1 N* baku dan 2 ml *besi amonium sulfat LP*. Kocok larutan agar homogen, dan titrasi kelebihan perak nitrat dengan larutan *amonium tiosianat 0,1 N LV*. Titik akhir titrasi ditandai dengan kemunculan warna merah. Hitung persentase kadar natrium klorida dalam zat dengan formula berikut:

$$100 \times 58,44 \times \frac{[(50 \times A) - (V \times B)]}{W}$$

A =konsentrasi larutan perak nitrat;

B =konsentrasi larutan ammonium tiosianat;

V =volume ammonium tiosianat (ml)

W =berat zat (mg)

3. *Timbal* Tidak lebih dari 1 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.
4. *Uji mikrobiologi* <51> *Salmonella* spp: negatif per 25 g zat, *Koliform*: Tidak lebih dari 30 per g zat, *E. coli*: negatif per 25 g zat

PENETAPAN KADAR Penetapan kadar nisin dinyatakan dalam Unit Internasional (UI), menyatakan jumlah nisin yang dibutuhkan untuk menghambat satu sel bakteri dalam satu mililiter *broth*. 1 UI nisin setara dengan

0,025 µg. Sediaan komersial nisin secara spesifik terdiri dari nisin 2,5% b/b bersama dengan natrium klorida padatan lemak susu.

Penentuan aktivitas nisin

Pembuatan organisme uji Lactococcus lactis subsp. cremoris (ATCC 14365, NCDO 495) disubkultur setiap hari pada susu steril dengan memindahkan satu ose ke dalam botol McCartney susu lakmus dan diinkubasi pada suhu 30°. Buat inokulasi susu untuk penetapan kadar dengan menginokulasikan sejumlah susu skim steril dengan 2% dari kultur 24 jam, dan tempatkan dalam tangas air pada 30° selama 90 menit. Gunakan segera.

Larutan persediaan baku Larutkan sejumlah nisin baku yang telah ditimbang saksama dalam 0,02 N asam hidroklorida sehingga diperoleh larutan dengan kadar 5000 UI per ml. Segera sebelum digunakan, encerkan larutan dengan asam hidroklorida 0,02 N agar diperoleh kadar 50 unit/ml. [Catatan: Nisin mengandung 2,5% nisin b/b, pada potensi minimum 106 UI nisin per gram (UI/g).]

Larutan uji Timbang saksama zat dengan jumlah nisin uji mirip dengan seri larutan baku. Encerkan larutan dengan asam hidroklorida 0,02 N agar diperoleh kadar larutan mendekati 50 UI per ml.

Larutan Resazurin Buat larutan resazurin 0,0125% b/v dalam air, selalu dibuat baru sebelum digunakan.

Prosedur Pipet sejumlah larutan dengan volume bertingkat (0,60; 0,55; 0,50; 0,45; 0,41; 0,38; 0,34; 0,31; 0,28; 0,26 ml) dari 50 UI/ml *Larutan uji* dan *Larutan baku* ke dalam dua baris berisi 10 tabung reaksi untuk bakteriologis dengan ukuran 6 x 5/8 inci. Tambahkan masing-masing 4,6 ml susu terinokulasi dengan pipet otomatis [Catatan Penambahan susu terinokulasi harus dilakukan secara bergantian, berseberangan tiap baris tabung yang mengandung kadar yang sama, bukan sepanjang tiap baris.] Tempatkan tabung reaksi dalam tangas air dengan suhu 30° selama 15 menit, kemudian dinginkan dalam tangas es sambil ditambahkan 1 ml larutan resazurin. Tambahkan larutan resazurin dengan urutan yang sama seperti urutan penambahan susu terinokulasi, gunakan pemipet otomatis. Homogenkan campuran dengan pengocokan. Lanjutkan inkubasi di atas tangas air selama 3-5 menit.

Amati tabung reaksi baku dan zat di bawah lampu berfluorosensi dalam lemari khusus. Bandingkan tabung reaksi zat dengan konsentrasi tertinggi yang memperlihatkan perbedaan jernih pertama dalam warna (yaitu berubah dari biru ke ungu muda) dengan tabung baku untuk menentukan warna yang paling mendekati. Tentukan persamaan lebih lanjut pada dua konsentrasi lebih rendah

berikutnya dari zat dengan baku. Interpolasikan kesusain yang dibuat pada pengenceran setengahnya. Tentukan dari tiga kali pembacaan larutan dan buat reratanya. Hitung aktivitas nisin dalam zat dari aktivitas nisin baku.

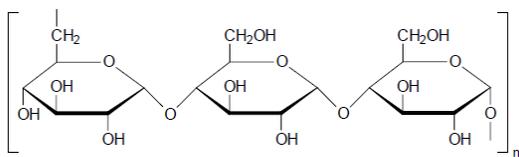
Konversi aktivitas nisin dari UI ke μg nisin menggunakan faktor konversi 1 UI = 0,025 μg

PULLULAN

Pullulan

INS 1204;

CAS [9057-02-7];



$(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_x$

DEFINISI Glukan linier dan netral yang sebagian besar terdiri dari unit maltotriosa yang dihubungkan oleh ikatan α -1,6 glikosidik. Diproduksi dari fermentasi pati tara pangan terhidrolisis menggunakan strain non-toksik *Aureobasidium pullulans*. Setelah proses fermentasi selesai, sel jamur dihilangkan dengan penyaringan mikro. Filtrat disterilisasi dengan panas, pigmen serta cemaran lainnya dihilangkan dengan cara adsorpsi dan kromatografi pertukaran ion.

Pullulan mengandung $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_x$ tidak kurang dari 90% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.

PEMERIAN Serbuk, putih sampai putih pucat, tidak berbau.

KELARUTAN Larut dalam air, praktis tidak larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Zat pelapis, zat pembentuk film, pengental.

IDENTIFIKASI

1. *pH* <909> Antara 5,0 dan 7,0. Lakukan penetapan menggunakan larutan (1 dalam 10).
2. *Pembentukan endapan dengan polietilen glikol 600*. Dalam 100 ml larutan pullulan 2% tambahkan 2 ml *polietilen glikol 600*: terbentuk endapan putih.
3. *Depolimerisasi dengan pullulanase* Pada dua tabung reaksi yang terpisah, masukkan masing-masing 10 ml larutan pullulan 10%. Tambahkan 0,1 ml larutan *pullulanase* aktivitas 10 unit/g (Lakukan penetapan seperti tertera pada *Aktivitas pullulanase* <1002>) pada salah satu tabung reaksi, dan 0,1 ml air pada tabung reaksi lainnya. Inkubasi pada suhu 25° selama 20 menit: viskositas larutan dengan penambahan pullulanase lebih rendah dibandingkan larutan tanpa penambahan pullulanase.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 6,0%. Lakukan pengeringan pada suhu 90° selama 6 jam pada tekanan tidak lebih dari 50 mmHg.
2. *Mono-, di- dan oligosakarida* Tidak lebih dari 10% (sebagai glukosa). Lakukan penetapan menggunakan teknik spektrofotometer UV-Vis seperti tertera pada *Spektrofotometri* <901>

Prinsip Mono-, di-, oligosakarida yang larut dalam pullulan diukur dengan metode asam antron sulfat, setelah pullulan diendapkan dengan metanol dan kalium klorida.

Pereaksi antron modifikasi Timbang saksama lebih kurang 0,2 g antron, larutkan dalam 100 ml *asam sulfat 75% LP*. Larutan disiapkan segar.

Larutan pembanding Timbang saksama lebih kurang 0,2 g glukosa, masukkan ke dalam Labu tentukur 1000-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 0,8 g zat. masukkan ke dalam Labu tentukur 100-ml, larutkan dan encerkan dengan air sampai tanda. Pindahkan 1 ml larutan ke dalam tabung sentrifugasi. Tambahkan 0,1 ml *kalium klorida jenuh P* dan 3 ml *metanol P*. Kocok kuat selama 20 detik. Sentrifugasi pada kecepatan 11000 rpm selama 10 menit. Kumpulkan supernatan sebagai *Larutan uji*.

Prosedur Pada 5 ml larutan antron modifikasi, tambahkan sejumlah sama secara terpisah, 0,2 ml *Larutan uji*, *Larutan pembanding*, dan air (sebagai blangko). Ukur serapan masing-masing *Larutan uji*, *Larutan pembanding*, dan air pada panjang gelombang 620 nm. Hitung kadar (%) mono-, di-, dan oligosakarida (sebagai glukosa) dalam zat menggunakan rumus:

$$\frac{[(A_t - A_b) \times 0,41 \times G]}{(A_s - A_b) \times W} \times 100$$

- A_t = Serapan *Larutan uji*
 A_b = Serapan blangko
 A_s = Serapan *Larutan pembanding*
 G = Bobot glukosa (g)
 W = Bobot zat (g)

3. *Viskositas* Antara 100 dan 180 mm²/detik. Lakukan penetapan menggunakan larutan 10% pada suhu 30°. Timbang saksama lebih kurang 10,0 g zat yang telah dikeringkan pada suhu 90° selama 6 jam pada tekanan 50 mmHg, masukkan ke dalam Labu tentukur 100-ml, encerkan dan larutkan dalam air sampai tanda. Masukkan zat dalam viskometer *Ubbelohde-type (falling-ball)* sesuai dengan cara yang ditentukan oleh desain instrumen. Celupkan viskometer secara vertikal ke dalam tangki termostatik pada suhu 30° lebih kurang 0,1°, diamkan selama 20 menit sebagai penyesuaian dengan suhu tangki. Sesuaikan miniskus kolom cairan dalam tabung kapiler lebih kurang 5 mm di atas tanda pertama. Ukur waktu yang diperlukan zat mengalir bebas untuk melewati miniskus pertama ke miniskus kedua. Hitung viskositas (mm²/detik) pullulan menggunakan rumus:

$$C \times t$$

- C = Kalibrasi viskometer secara konstan (mm²/detik)
 t = Laju alir (detik)

4. *Timbal* Tidak lebih dari 1 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
5. *Uji mikrobiologi <51> Kapang dan khamir*: tidak lebih dari 100 cfu per g; *Koliforms*: negatif per 25 g; *Salmonella spp*: negatif per 25 g.

PENETAPAN KADAR Hitung kadar (%) pullulan dalam zat yang telah dikeringkan sebagai selisih antara 100% dengan jumlah kadar (%) cemaran (mono-, di- dan oligosakarida dan air).

$$100 - (L + C)$$

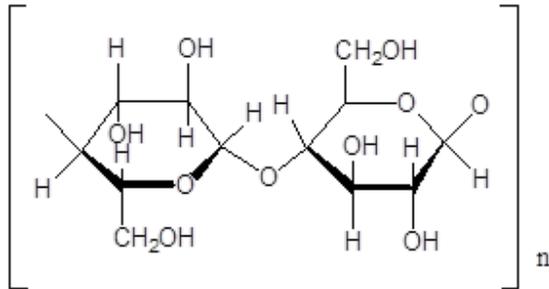
- L = Susut pengeringan (%)
 C = Cemaran mono-, di-, dan oligosakarida (%)

SELULOSA BUBUK

Powdered Cellulose

INS 460(ii)

CAS [9004-34-6]



*Selulosa, polimer linier
dari residu glukosa ikatan 1:4*

(C₁₂H₂₀O₁₀)_n

BM (324)_n

(n biasanya 500 atau lebih)

Dengan orde 1,6 x 10⁵ dan lebih

DEFINISI Selulosa serbuk diperoleh dari selulosa yang dihancurkan secara mekanik dan dimurnikan, dibuat dengan memproses alfa selulosa dari bubur serat tanaman.

Selulosa bubuk mengandung (C₁₂H₂₀O₁₀)_n tidak kurang dari 92,0%

PEMERIAN Bentuk serbuk bervariasi dari yang sangat halus dan mudah mengalir sampai bentuk lebih kasar dan tidak dapat mengalir, putih, tidak berbau, terdiri dari partikel serat yang dapat dibentuk menjadi tablet yang mudah pecah dalam air.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, dalam etanol, dalam eter dan dalam asam mineral encer, sedikit larut dalam larutan natrium hidroksida.

PENGUNAAN Peningkat volume, pengental, penstabil, pengemulsi, anti kempal.

IDENTIFIKASI

Pembentukan suspensi Campur lebih kurang 30 g zat dengan 270 ml air dengan blender kecepatan tinggi (lebih kurang 12.000 rpm) selama 5 menit. Campuran dapat membentuk suspensi mudah mengalir atau suspensi kental yang sukar mengalir, keduanya hanya sedikit membentuk endapan dan mengandung banyak gelembung udara. Jika diperoleh suspensi mudah mengalir, masukkan 100 ml campuran ke dalam gelas ukur 100 ml, biarkan mengendap selama 1 jam: terbentuk endapan dan cairan yang terpisah

KEMURNIAN

1. *Susut Pengeringan* <912> Tidak lebih dari 7,0%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam
2. *pH* <909> Antara 5,0 dan 7,5. Timbang saksama lebih kurang 10 g zat yang telah dikeringkan, campur dengan 90 ml air, diamkan selama 1 jam sambil sesekali diaduk.
3. *Zat larut air* Tidak lebih dari 1,5%. Timbang saksama lebih kurang 6 g zat yang telah dikeringkan, campur dengan 90 ml *Air bebas karbondioksida* biarkan 10 menit sambil sesekali diaduk. Saring, buang 10 ml filtrat pertama, jika perlu lewatkan filtrat melalui penyaring yang sama untuk kedua kalinya, untuk mendapatkan filtrat yang jernih. Uapkan 15 ml filtrat sampai kering dalam cawan penguap yang telah ditara di atas tangas uap, keringkan pada suhu 105° selama 1 jam, dinginkan dalam desikator, timbang: residu tidak lebih dari 15 mg.
4. *Abu total* Tidak lebih dari 0,3%. Lakukan pemijaran pada suhu 800° hingga bobot tetap seperti tertera pada *Abu* <707>.
5. *Amilum* Tidak terdeteksi. Pada 20 ml campuran yang diperoleh dari identifikasi, tambahkan beberapa tetes *iodum LP*: tidak terjadi warna ungu-biru atau biru.
6. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

SELULOSA MIKROKRISTALIN

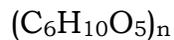
Microcrystalline cellulose

INS 460(i)

CAS [9004-34-6]

SINONIM *Cellulose gel*

Selulosa



DEFINISI Selulosa mikrokristalin adalah selulosa yang dimurnikan dan didepolimerisasi sebagian, dibuat dengan mereaksikan alfa selulosa dari pulp dari serat tanaman dengan asam mineral. Derajat polimerisasi umumnya kurang dari 400. Tidak lebih dari 10% partikel dengan diameter di bawah 5 μ m.

Selulosa mikrokristalin mengandung $(C_6H_{10}O_5)_n$ tidak kurang dari 97% karbohidrat dihitung sebagai selulosa terhadap zat yang telah dikeringkan.

PEMERIAN Serbuk hablur halus mudah mengalir, putih atau hampir putih, tidak berbau

KELARUTAN Tidak larut dalam air, dalam etanol, dalam eter dan dalam asam mineral encer. Sedikit larut dalam larutan natrium hidroksida.

PENGGUNAAN Pembuih, pengemulsi, penstabil pengental, peningkat volume, anti kempal.

IDENTIFIKASI

1. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* memberikan spektrum seperti tertera dalam gambar.
2. *Suspensi* Campur 30 g zat dengan 270 ml air dengan blender kecepatan tinggi (18000 rpm) selama 5 menit. Masukkan 100 ml campuran ke dalam gelas ukur 100 ml, diamkan selama 3 jam: pada lapisan atas diperoleh suspensi warna putih buram dan bebas busa.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 7,0%. Lakukan pengeringan pada suhu 105°selama 3 jam
2. *pH* <909> Antara 5,0 dan 7,5. Kocok 5 g zat dengan 40 ml air selama 20 menit kemudian sentrifus. Ukur pH beningan

3. *Abu sulfat Metode 1* Tidak lebih dari 0,05 %. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu <707>* menggunakan 10 g zat
4. *Zat larut air* Tidak lebih dari 0,24%. Kocok 5 g zat dengan lebih kurang 80 ml air selama 10 menit, saring melalui kertas saring Whatman No. 42 atau setara ke dalam gelas piala yang telah ditara. Cuci residu dengan 20 ml air dan uapkan sampai kering di atas tangas uap. Keringkan pada suhu 105° selama 1 jam, dinginkan, timbang.
5. *Pati* Tidak terdeteksi. Tambahkan beberapa tetes *iodum LP* pada 20 ml dispersi zat: tidak terjadi warna ungu sampai biru atau warna biru.
6. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 125 mg zat, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 300 ml, menggunakan lebih kurang 25 ml air. Tambahkan 50 ml *kalium dikromat 0,5 N* dan aduk. Tambahkan hati-hati 100 ml *asam sulfat P*, panaskan sampai mendidih. Pindahkan dari pemanas, diamkan pada suhu ruang selama 15 menit dan dinginkan dalam tangas air. Pindahkan isinya ke dalam labu tentukur 250-ml, bilas labu dengan air, masukkan air bilasan ke dalam labu tentukur dan encerkan dengan air sampai hampir tanda. Diamkan labu tentukur sampai suhu ruang, tambahkan air sampai tanda. Titrasi 50 ml larutan dengan *besi(II) amonium sulfat 0,1 N LV* menggunakan 2-3 tetes indikator *ortofenantrolin LP*. Catat volume *besi(II) amonium sulfat 0,1 N* yang diperlukan (S). Lakukan penetapan blangko dan catat volume *besi(II) amonium sulfat 0,1 N* yang diperlukan (B). Hitung persentase selulosa dalam zat dengan rumus:

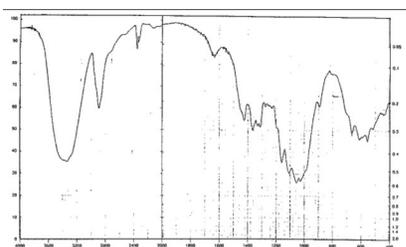
$$(B - S) \times \frac{338}{W} \%$$

W = bobot zat (mg), dikoreksi dengan susut pengeringan.

Spektrum inframerah

Transmitans

(%)



Panjang gelombang (cm⁻¹)

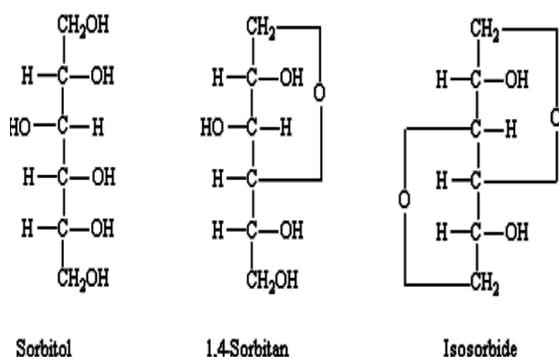
SORBITAN MONOOLEAT

Sorbitan monooleate

INS 494;

CAS [1338-43-8];

DEFINISI Campuran ester parsial sorbitol dan mono- serta di- anhidratnya dengan asam oleat yang dapat dimakan. Unsur terbanyak adalah 1,4-sorbitan monooleat, dengan sedikit monooleat isosorbida, sorbitan dioleat dan sorbitan triolet. Mengandung asam oleat yang diesterifikasi dengan poliol yang diturunkan dari sorbitol, termasuk dalam jenis berikut :



Sorbitan monooleat mengandung poliol tidak kurang dari 95% campuran sorbitol, 1,4-sorbitan dan isosorbida. Saponifikasi 100 g zat menghasilkan poliol tidak kurang dari 28 g dan tidak lebih dari 32 g; asam lemak tidak kurang dari 73 g dan tidak lebih dari 77 g.

PEMERIAN Cairan kuning kecokelatan kental berminyak, butiran atau serpihan krem hingga coklat muda, padatan seperti lilin, sedikit berbau.

KELARUTAN Larut pada suhu di atas titik leleh dalam etanol, dalam eter, dalam etil asetat, dalam anilin, dalam toluena, dalam dioksan, dalam petroleum eter dan dalam karbon tetraklorida; tidak larut dalam air dingin, larut dalam air hangat.

PENGUNAAN Pengemulsi, penstabil.

IDENTIFIKASI

Bilangan Iodum <1105> Antara 80 dan 100. Residu asam oleat diperoleh dari proses saponifikasi sorbitan monooleat dalam pengujian.

KEMURNIAN

1. *Air <908> Metode I Karl Fischer* Tidak lebih dari 2%.
2. *Abu sulfat* Tidak lebih dari 0,5%; Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu <707>*.
3. *Bilangan asam <1101>* Tidak lebih dari 8.
4. *Bilangan penyabunan <1108>* Tidak kurang dari 145 dan tidak lebih dari 160.
5. *Bilangan hidrosil <1103>* Tidak kurang dari 193 dan tidak lebih dari 210.
6. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 25 g zat, masukkan ke dalam Labu alas bulat 500 ml, tambahkan 250 ml *etanol P* dan 7,5 g *kalium hidroksida P*, aduk, homogenkan. Hubungkan kondensor yang sesuai ke labu, refluks antara 1 dan 2 jam, pindahkan larutan ke dalam gelas piala 800 ml, bilas labu refluks dengan 100 ml air, kumpulkan larutan dan air bilasan ke dalam gelas piala. Panaskan di atas tangas uap untuk menguapkan *etanol P*, sesekali tambahkan air untuk menggantikan *etanol P*, hingga bau etanol tidak terdeteksi. Sesuaikan volum akhir menjadi sekitar 250 ml dengan air panas. Netralkan larutan sabun dengan *asam sulfat P* (1 dalam 2), tambahkan 10% berlebih, panaskan, aduk hingga lapisan asam lemak terpisah. Pindahkan asam lemak ke dalam corong pisah 500 ml, bilas tiga atau empat kali, tiap kali dengan 20 ml air panas untuk menghilangkan poliol. Kumpulkan air bilasan dengan lapisan air poliol dari proses saponifikasi, kemudian ekstraksi 3 kali tiap kali dengan 20 ml *petroleum eter P*. Kumpulkan ekstrak lapisan lemak, keringkan dalam cawan yang telah ditara, dinginkan dan timbang. Netralkan larutan poliol dengan larutan *kalium hidroksida P* (1 dalam 10) hingga pH 7 (diukur menggunakan pH meter yang sesuai). Uapkan larutan hingga menjadi residu yang lembab, pisahkan poliol dari garam dengan beberapa ekstraksi dengan *etanol P* panas. Keringkan ekstrak *etanol P* di atas tangas uap dalam cawan yang telah ditara, dinginkan, dan timbang hingga bobot tetap. [Catatan Hindari pengeringan dan pemanasan yang berlebih].

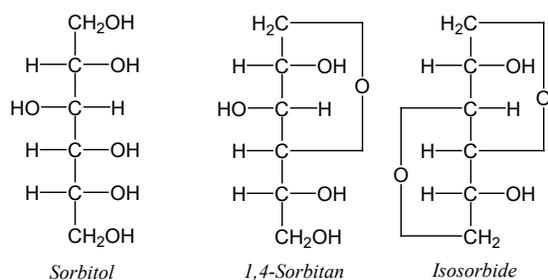
Tetapkan sorbitan ester menggunakan 25 g zat seperti tertera pada *Penetapan kadar ester sorbitan <85>*

SORBITAN MONOSTEARAT

Sorbitan Monostearate

INS 491

CAS [1338-41-6]



DEFINISI Campuran ester parsial sorbitol dan mono- serta dianhidridanya dengan asam stearat yang dapat dimakan.

Sorbitan monostearat, mengandung tidak kurang dari 31,5 g campuran poliol dan 73 g asam lemak; dan kadar poliol tidak kurang dari 95% campuran sorbitol, 1,4-sorbitan dan isosorbid dihitung terhadap 100 g zat.

PEMERIAN Serpihan atau butiran berwarna kuning muda sampai cokelat, atau padatan berlilin dan berbau khas.

PENGUNAAN Pengemulsi.

KELARUTAN Tidak larut dalam air dingin tetapi terdispersi dalam air hangat; pada suhu di atas suhu lebur, larut dalam toluen, dioksan, karbon tetraklorida, eter, metanol, etanol dan anilin; tidak larut dalam eter minyak tanah dan aseton; menghasilkan larutan keruh pada suhu di atas 50° dalam minyak mineral dan etil asetat.

IDENTIFIKASI

1. *Suhu beku* <919> Antara 50 dan 52°.
2. *Serapan inframerah* Spektrum serapan inframerah zat memiliki karakteristik ester parsial asam lemak dari poliol.

KEMURNIAN

1. *Air* <908.> *Metode Karl Fischer* Tidak lebih dari 1,5%.
2. *Bilangan asam* <1101> Tidak kurang dari 5 dan tidak lebih dari 10.
3. *Bilangan penyabunan* <1108> Tidak kurang dari 147 dan tidak lebih dari 157.
4. *Bilangan hidroksil* <1103.> Tidak kurang dari 235 dan tidak lebih dari 260.

5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>

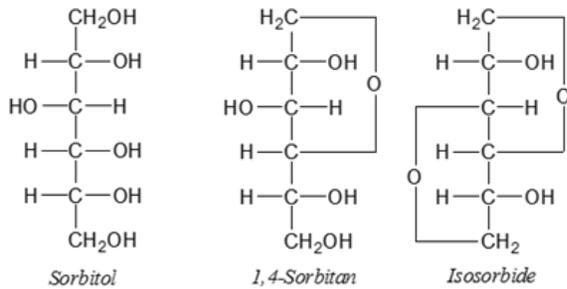
PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan dengan cara seperti tertera pada *Penetapan kadar ester sorbitan* <85>

SORBITAN TRISTEARAT

Sorbitan Tristearate

INS 492

CAS [26658-19-5]



DEFINISI Campuran ester parsial dari sorbitol dan mono- serta dianhidridanya dengan asam stearat yang dapat dimakan.

Sorbitan tristearat menghasilkan tidak kurang dari 14 g dan tidak lebih dari 21 g poliol dan tidak kurang dari 85 g dan tidak lebih dari 92 g asam lemak; dan kadar poliol tidak kurang dari 95% campuran sorbitol, 1,4- sorbitan dan isosorbid dihitung terhadap penyabunan 100 g zat.

PEMERIAN Padatan seperti malam, butiran atau serpihan berwarna krem muda sampai coklat.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, metanol dan etanol, agak larut dalam toluen, eter, karbon tetraklorida, dan etil asetat, terdispersi dalam petroleum eter, minyak mineral, minyak sayur, aseton dan dioksan.

KEGUNAAN Pengemulsi.

IDENTIFIKASI

Jarak lebur <907> Antara 47° dan 50°.

KEMURNIAN

1. *Air* <908> *Metode Karl Fischer* Tidak lebih dari 1,5%.
2. *Abu sulfat* Tidak lebih dari 0,5%. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu* <707>.
3. *Bilangan asam* <1101> Tidak kurang dari 66 dan tidak lebih dari 188.
4. *Bilangan hidroksil* <1103> Tidak kurang dari 66 dan tidak lebih dari 80.
5. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

PENETAPAN KADAR Timbang saksama lebih kurang 25 g zat dan pindahkan ke dalam labu bulat, tambahkan 250 ml alkohol dan 7,5 g *kalium hidroksida P* dan kocok. Pasang kondensor, refluks selama 1 sampai 2 jam, kemudian pindahkan isi labu ke dalam gelas piala 800 ml, bilas labu dengan 100 ml air, dan masukkan ke dalam gelas piala. Panaskan menggunakan tangas air untuk menguapkan alkohol, sesekali tambahkan air untuk mengganti volum yang hilang. Uapkan sampai bau alkohol tidak terdeteksi. Atur volume hingga 250 ml dengan air panas. Netralkan larutan sabun dengan larutan *asam sulfat encer LP* (1 dalam 2), tambahkan asam berlebih 10%, dan panaskan, sambil diaduk, sampai lapisan asam lemak terpisah. Pindahkan asam lemak ke dalam corong pisah 500 ml, cuci dengan tiga atau empat kali 20 ml air panas untuk menghilangkan poliol, dan gabungkan cucian dengan lapisan poliol awal dari hasil penyabunan. Ekstrak gabungan lapisan air dengan 3 kali masing-masing 20 ml *petroleum eter P*, dan tambahkan ekstrak ke dalam lapisan asam lemak, uapkan sampai kering dalam cawan yang telah ditara, dinginkan dan timbang sampai bobot tetap.

Netralisasi larutan poliol dengan 1 bagian dalam 10 larutan *kalium hidroksida P* sampai pH 7 ditetapkan menggunakan pH meter yang sesuai. Uapkan larutan ini, pisahkan poliol dari garam dengan beberapa kali penyarian menggunakan alkohol panas. Uapkan ekstrak alkohol menggunakan tangas uap sampai kering dalam cawan yang telah ditara, dinginkan dan timbang sampai bobot tetap. *[Catatan Hindari pengeringan dan pemanasan yang berlebih].*

Tetapkan sorbitan ester menggunakan 25 g zat seperti tertera pada *Penetapan kadar ester sorbitan* <85>

SYELAK

Shellac, Bleached

INS 904

CAS [9000-59-3]

DEFINISI Syelak merupakan resin poliester yang dihasilkan dari lak, resin-resin yang dikeluarkan serangga *Laccifer (Tachardia) lacca* Kerr (famili *Coccidae*). Syelak putih diperoleh dengan melarutkan lak dalam larutan natrium karbonat, diikuti dengan pelunturan menggunakan natrium hipoklorit, endapkan menggunakan asam sulfat encer dan keringkan. Syelak putih bebas lilin diperoleh melalui pemisahan lilin dengan cara disaring.

PEMERIAN Syelak putih: Resin granular amorf, putih buram sampai kecoklatan. Syelak putih bebas lilin: resin granular amorf, kuning terang.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, mudah larut dalam etanol (lambat), sukar larut dalam aseton dan dalam eter.

PENGGUNAAN Pelapis, pengkilap

IDENTIFIKASI

1. *Reaksi warna* Tambahkan beberapa tetes larutan 1 g *amonium molibdat P* dalam 3 ml *asam sulfat P* ke dalam 50 mg zat: terjadi warna hijau. Jika larutan dinetralkan dengan larutan *amonium hidroksida 6 N*: berubah menjadi ungu.
2. *Bilangan asam* Antara 60 dan 89. Timbang saksama lebih kurang 1 g zat yang sudah digerus halus, larutkan dalam alkohol yang sudah dinetralkan dengan larutan *natrium hidroksida P* menggunakan indikator *fenolftalein LP*. Titrasi dengan *natrium hidroksida 0,1 N LV* dengan indikator *fenolftalein LP* sampai terjadi warna merah muda tetap selama 30 detik. Atau tetapkan titik akhir secara potensiometri. Hitung bilangan asam dengan rumus:

$$56,1 V \times \frac{N}{W}$$

V =volume larutan (ml)

N =normalitas sebenarnya larutan natrium hidroksida

W =bobot zat (g), dihitung terhadap bobot kering.

KEMURNIAN

1. *Susut Pengeringan* <912> Tidak lebih dari 6%. Lakukan pengeringan pada suhu 40° selama 4 jam kemudian pada suhu ruang di atas silika gel selama 15 jam
2. *Rosin* Masukkan 2 g zat ke dalam labu yang sesuai larutkan dalam 10 ml *etanol mutlak P* dan tambahkan perlahan sambil dikocok 50 ml *heksan P*. Masukkan ke dalam corong pisah, cuci dua kali, tiap kali dengan 50 ml air, buang air pencuci. Saring dan uapkan sampai kering. Pada residu tambahkan 2 ml campuran *fenol cair P-metilen klorida P* (1:2), aduk dan masukkan sebagian campuran ke dalam pelat tetes. Isi cekungan yang berdekatan dengan campuran *brom P-metilen klorida P* (1:4), tutup kedua cekungan dengan kaca arloji terbalik: tidak terjadi warna ungu atau biru indigo tua di dalam atau di atas cairan zat.
3. *Lilin Syelak putih*: tidak lebih dari 5,5%. *Syelak putih bebas lilin*: tidak lebih dari 0,2%. Timbang saksama lebih kurang 10 g zat yang sudah digerus halus dan 2,5 g *natrium karbonat P*, masukkan ke dalam gelas piala tinggi 200 ml. Tambahkan 150 ml air panas, panaskan gelas piala dalam tangas air mendidih dan aduk sampai larut. Tutup gelas piala dengan kaca arloji, panaskan selama 3 jam tanpa digoyang dan dinginkan dalam tangas air dingin. Setelah lilin mengapung, saring campuran secara kuantitatif melalui kertas saring bebas abu berporositas sedang, pindahkan lilin ke dalam kertas saring tersebut dan cuci kertas saring dengan air. Tuangkan 5 sampai 10 ml etanol ke atas kertas saring untuk mempercepat pengeringan, bungkus kertas saring agak longgar dengan kertas saring lain yang berukuran lebih besar, ikat dengan kawat dan keringkan dengan bantuan panas rendah. Ekstraksi dengan kloroform dalam alat ekstraksi kontinu selama 2 jam. Masukkan ekstrak ke dalam labu yang telah ditara. Uapkan pelarut dan keringkan lilin pada suhu 105° sampai bobot tetap.
4. *Timbal* Tidak lebih dari 1 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam* <702>.

TALK

Talc

INS 553 (iii);

CAS [14807-96-6];

SINONIM *Talcum*

DEFINISI Talk berupa bentuk hidro magnesium silikat yang terdapat di alam, mengandung mineral terkait seperti alfaquart, kalsit, klorit, dolomit, magnesit, dan plogopit dalam berbagai perbandingan.

PEMERIAN Serbuk kristal, sangat halus, putih atau keabuan, tidak berbau; tidak beraturan, mudah melekat pada kulit, bebas dari *gritty*.

KELARUTAN Tidak larut dalam air dan etanol.

PENGGUNAAN Anti kempal.

IDENTIFIKASI

1. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam kalium bromida P menunjukkan puncak utama pada bilangan gelombang $3677 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya OH; bilangan gelombang $1018 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya Si-O-Si; bilangan gelombang $669 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya Mg-O-Si.
2. *Difraksi sinar X* Pola difraksi sinar X dari serbuk zat menunjukkan refleksi yang kuat pada nilai $d = 9,34 \text{ \AA}$, $4,66 \text{ \AA}$, dan $3,12 \text{ \AA}$.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 0,5%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 1 jam.
2. *Sisa pemijaran* <913> Tidak lebih dari 9% .
3. *Zat larut air* Tidak lebih dari 0,2%. Timbang saksama 20 g zat dalam Erlenmeyer 250 ml selama 15 menit, tambahkan 200 ml air, didihkan sambil diaduk, dinginkan hingga suhu ruangan, pindahkan larutan ke dalam labu tentukur 250-ml, bilas Erlenmeyer dengan 25 ml air, tambahkan bilasan ke Erlenmeyer hingga tanda. dan saring. Diamkan larutan selama 15 menit dan saring (lakukan penetapan besi larut air menggunakan filtrat). Uapkan 100 ml bagian filtrat sampai kering menggunakan tangas air, dan keringkan residu: residu tidak lebih dari 16 mg.
4. *Besi larut air* Encerkan residu zat larut air dengan *asam hidroklorida LP*. Tambahkan 1 ml *kalium besi(II) sianida LP*. Larutan tidak berubah menjadi biru.

5. *Zat Larut Asam* Tidak lebih dari 2,5%. Timbang saksama lebih kurang 2 g zat, masukkan ke dalam gelas piala yang sesuai. Tambahkan 35 ml *asam hidroklorida 3N*. Panaskan pada suhu 50° selama 15 menit. Dinginkan, pindahkan ke dalam labu tentukur-50 ml. Bilas gelas piala dengan air, masukkan ke dalam labu tentukur, tambahkan air sampai tanda. Kocok dan saring. Pindahkan 20 ml filtrat ke dalam cawan penguap, tambahkan 2 ml *asam sulfat LP*. Uapkan dan pijarkan hingga bobot tetap: residu tidak lebih dari 20 mg.

6. *Asbestos* Bebas dari asbestos seperti yang diujikan pada amfibol dan serpentin. Adanya amfibol dan serpentin ditunjukkan dengan serapan infra merah atau dengan difraksi sinar X (Lihat A dan B). Jika terdeteksi, keberadaan asbestos dikonfirmasi dengan mikroskop optik.

A. Spektrum serapan inframerah zat yang dipijarkan pada suhu 850° selama 30 menit, dan didispersikan dalam *kalium bromida P* menunjukkan termolit, amfibol pada bilangan gelombang serapan $758 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$, dan menunjukkan serpentin pada bilangan gelombang serapan antara 600 dan 650 cm^{-1} .

B. Pola difraksi sinar X menunjukkan amfibol pada puncak difraksi $10,5 \pm 0,1\theta$ 2θ , dan menunjukkan serpentin pada puncak difraksi $24,3 \pm 0,1\theta$ 2θ dan $12,1 \pm 0,1\theta$ 2θ .

Jika terdeteksi adanya amfibol atau serpentin, lakukan pengujian zat menggunakan mikroskop optik untuk mengkonfirmasi keberadaan asbestos.

Konfirmasi dapat dilakukan jika memenuhi kriteria berikut :

- Rentang rasio panjang ke lebar (20:1) atau lebih tinggi untuk serat lebih panjang dari 5 m.
- Kemampuan membelah untuk menjadi serat yang sangat tipis.
- Dan jika dua atau lebih dari 4 kriteria berikut terpenuhi:
 - a. serat paralel menjadi bundelan,
 - b. bundel serat yang menunjukkan ujung berjumbai,
 - c. serat berupa jarum tipis,
 - d. massa kusut dari serat individu dan/atau serat yang menunjukkan kelengkungan.

7. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

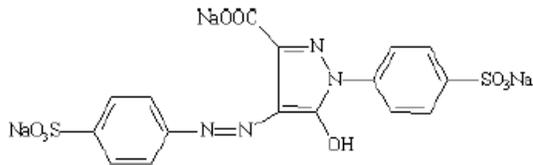
TARTRAZIN

Tartrazine

INS 102

CAS [1934-21-0]

SINONIM CI *Food yellow 4*, FD&C *yellow No. 5*, CI (1975) No. 19140.



Trinatrium 4,5-dihidro-5-okso-1-(4-sulfofenil)-4-[(4-sulfofenil)azo]-1H-pirazol-3-karboksilat.

$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$

BM 534,37

DEFINISI Terutama terdiri dari trinatrium 4,5-dihidro-5-okso-1-(4-sulfofenil)-4-[(4-sulfofenil)azo]-1H-pirazol-3-karboksilat dan zat warna lain bersama dengan natrium klorida dan/atau natrium sulfat sebagai komponen utama bukan pewarna. Dapat diproduksi dengan menggabungkan asam 4-aminobenzensulfonat diazotisasi dengan asam 5-okso-1-(4-sulfofenil)-2-pirazolin-3-karboksilat atau dengan metil ester, etil ester, atau garam dari asam karboksilat. Dan juga dapat diproduksi dengan mengkondensasi asam fenilhidrazin-4-sulfonat dengan asam dioksosuksinat atau turunan asam oksalasetat. Pewarna yang dihasilkan dimurnikan dan diisolasi sebagai garam natrium.

Mungkin dapat dibuat menjadi aluminium lakes yang sesuai dan harus memenuhi persyaratan umum *Pewarna Aluminium-lakes*

Tartrazin mengandung $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$ tidak kurang dari 85% total zat warna.

PEMERIAN Granula atau serbuk, oranye muda

KELARUTAN Mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol.

PENGGUNAAN Pewarna.

IDENTIFIKASI

Spektrum serapan UV-Vis larutan dalam air menunjukkan maksimum pada panjang gelombang sekitar 427 nm.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 15% bersama klorida dan sulfat dihitung sebagai garam natrium. Lakukan pengeringan pada suhu 135°.

Prosedur Timbang 2,0 – 3,0 g zat (W_1) dalam botol timbang yang sudah ditara dan sumbatnya. Panaskan dalam oven pada suhu 135° ($\pm 5^\circ$) hingga bobot tetap (W_2). Dinginkan botol dan residu dalam desikator sebelum setiap penimbangan. Hitung susut pengeringan dengan rumus berikut:

$$100 \times \left(1 - \frac{W_2}{W_1}\right)$$

2. *Zat tidak larut air* <914> Tidak lebih dari 0,2%.

3. *Pewarna ikutan* <1302> Tidak lebih dari 1%. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi* <903>.

Fase gerak A Amonium asetat 0,2 N

Fase gerak B Metanol P

Larutan baku (semua bahan hasil sintesis):

- garam trinatrium 4,4'-[4,5-Dihidro-5-okso-4-[(4-sulfofenil)hidrazono]-1H-pirazol-1,3diyl]bis [asam benzensulfonat];
- garam tetranatrium 4-[(4',5-Disulfo[1,1'-bifenil]-2-yl)hidrazono]-4,5-dihidro-5-okso-1-(4-sulfofenil)-1H-pirazol-3-asam karboksilat;
- garam dinatrium Ethil 4,5-dihidro-5-okso-1-(4-sulfofenil)-4-[(4sulfofenil)hidrazono]-1H-pirazol-3-karboksilat;
- garam dinatrium Metil 4,5-dihidro-5-okso-1-(4-sulfofenil)-4-[(4sulfofenil)hidrazono]-1H-pirazol-3-karboksilat;
- garam dinatrium 4,5-Dihidro-5-okso-1-fenil-4-[(4-sulfofenil)azo]-1H-pirazol-3-asam karboksilat;
- garam dinatrium 4,5-dihidro-5-oxo-4-(fenilazo)-1-(4-sulfofenil)-1H-pirazol-3-asam karboksilat.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat masukkan dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan *amonium asetat 0,2 N* sampai tanda.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis/PDA 254 nm, kolom 250 mm x 4,6 mm berisi C-18, dengan ukuran partikel 5 µm, laju alir 1 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	A (%)	B (%)
0	100	0
5	90	10
15	75	25
35	60	40

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak. Hitung persentase pewarna ikutan.

4. *Senyawa organik selain pewarna <1304>* Tidak lebih dari 0,5% jumlah asam 4-hidrazinobenzensulfonat; asam 4-aminobenzensulfonat; asam 5-okso-1-(4-sulfofenil)-2-pirazolin-3-karboksilat; 4,4'-(diazamino)asam dibenzensulfonat; asam tetrahidroksisuksinat. Lakukan penetapan dengan cara *Kromatografi cair kinerja tinggi* fase balik seperti tertera pada *Kromatografi <903>*

Fase gerak A Amonium asetat 0,2 N

Fase gerak B Metanol P

Larutan baku:

- 4-Asam Hidrazinobenzensulfonat;
- asam 4-Aminobenzensulfonato;
- 5-Okso-1-(4-sulfofenil)-2-pirazolin-3-asam karboksilat;
- garam dinatrium 4,4'-(Diazamino) asam dibenzensulfonat,;
- Tetrahidroksisuksinat.

Larutan uji Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat masukkan dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dan encerkan dengan *amonium asetat 0,2 N* sampai tanda.

Sistem kromatografi Kromatograf cair kinerja tinggi dilengkapi dengan detektor UV-Vis/PDA 254 nm dan 358 nm, kolom 250 mm x 4,6 mm berisi C-18, dengan ukuran partikel 5 µm, laju alir 1 ml/menit.

Kromatograf diprogram sebagai berikut:

Waktu (menit)	A (%)	B (%)
0	100	0
5	90	10
15	75	25
35	60	40

Prosedur Suntikkan secara terpisah sejumlah volum sama (lebih kurang 20 µl) *Larutan baku* dan *Larutan uji* ke dalam kromatograf. Rekam kromatogram dan ukur semua respon puncak, Hitung persentase tiap zat warna ikutan dalam zat.

5. *Amin aromatik primer tak tersulfonasi <1305>* Tidak lebih dari 0,01% dihitung sebagai anilin.
6. *Zat terekstraksi eter <1303>* Tidak lebih dari 0,2%.
7. *Timbal* Tidak lebih dari 2 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan seperti tertera pada *Prosedur 1* dalam *Kadar total pewarna secara spektrofotometri* seperti tertera pada *Pewarna <1301>*. Gunakan air sebagai pelarut, absorptivitas (a) 53,0 L/(g-cm). Ukur pada panjang gelombang serapan maksimum 427 nm.

THAUMATIN

Thaumatococcus

INS 957;

CAS [53850-34-3];

Thaumatococcus I

BM 22,209

Thaumatococcus II

BM 22,293

DEFINISI Thaumatococcus diperoleh dari ekstraksi kulit luar buah *Thaumatococcus daniellii* (Benth) menggunakan pelarut air (pH 2,5 – 4,0); terdiri dari protein Thaumatococcus I dan Thaumatococcus II bersama dengan sejumlah kecil unsur tanaman yang berasal dari bahan sumber.

Thaumatococcus mengandung nitrogen tidak kurang dari 15,1% dihitung terhadap zat kering setara dengan protein tidak kurang dari 93% (N x 6,2).

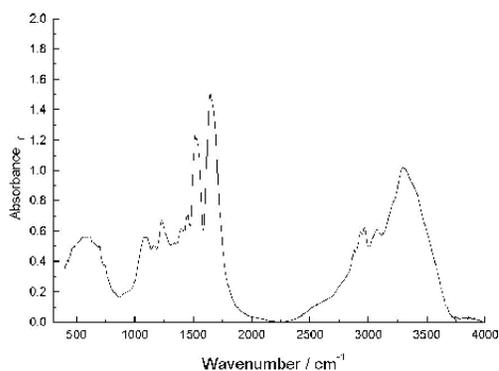
PEMERIAN Serbuk, krem, tidak berbau.

KELARUTAN Sangat mudah larut dalam air, tidak larut dalam aseton.

PENGGUNAAN Pemanis.

IDENTIFIKASI

1. *Ninhidrin* Pada 5 ml larutan zat (1 dalam 1000) tambahkan 1 ml larutan *triketohidrin hidrat P segar (ninhidrin)* (larutkan 200 mg triketohidrin hidrat dalam air, encerkan hingga 100 ml): terjadi warna kebiru-biruan.
2. Spektrum serapan inframerah zat yang didispersikan dalam *kalium bromida P* (1-2 mg zat digerus dengan 100-200 mg *kalium bromida P*) menunjukkan bilangan gelombang 3300, 2960, 1650, 1529, 1452, 1395, 1237, 1103 dan 612 cm^{-1} , seperti ditunjukkan pada gambar di bawah ini:



KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan <912>* Tidak lebih dari 9,0%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° hingga bobot tetap.
2. Spektrum serapan zat dalam air (1 dalam 100) pada pH 2,7 menunjukkan maksimum pada panjang gelombang lebih kurang 279 nm. Serapan antara 11,5 dan 13,0.
3. *Abu Sulfat* Tidak lebih dari 2,0% dihitung terhadap zat kering. Lakukan penetapan seperti tertera pada *Abu <707>*
4. *Karbohidrat* Tidak lebih dari 3,0% dari zat yang dikeringkan. Lakukan penetapan seperti berikut:

Pereaksi Sistein-asam sulfat Buat larutan segar 0,5 ml larutan *L-sistein klorida monohidrat P 3% b/v* dalam air dengan 25 ml *asam sulfat 86% b/v*. Dinginkan dalam es.

Kurva baku Siapkan larutan baku glukosa pada rentang konsentrasi 10-100 µg/ml. Buat kurva baku dari larutan tersebut. Lakukan penetapan kurva baku menggunakan 0,2 ml zat sesuai *Prosedur* dimulai dari Pindahkan 0,2 ml larutan.

Prosedur Timbang saksama lebih kurang 0,2 g zat masukkan ke dalam Labu tentukur 100-ml, tambahkan 100 ml air, aduk, homogenkan. Pindahkan 0,2 ml larutan ke dalam tabung reaksi, dinginkan di atas tangas es. Tambahkan 1,2 ml larutan *Pereaksi sistein-asam sulfat* dingin. Tutup dengan penutup bola kaca, aduk, homogenkan. Masukkan dalam tangas es selama 2 menit, angkat dan diamkan pada suhu ruang selama 3 menit. Masukkan dalam tangas air selama 3 menit. Dinginkan segera dalam tangas es selama 5 menit sebelum pembacaan serapan pada panjang gelombang 412 nm. Hitung kadar karbohidrat (sebagai glukosa) dalam zat menggunakan *Kurva baku*.

5. *Uji mikrobiologi <51>* Angka lempeng total *aerob*: tidak lebih dari 1000 cfu/g; *E. coli*: negatif dalam 1 g.
6. *Aluminium* Tidak lebih dari 100 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.
7. *Timbal* Tidak lebih dari 3 bpj. Lakukan penetapan menggunakan teknik spektroskopi serapan atom yang sesuai seperti tertera pada *Cemaran logam <702>*.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan menggunakan *Penetapan Kadar Nitrogen (Metode Kjehdal) <84>*

TITANIUM DIOKSIDA

Titanium Dioxide

INS 171

CAS [13463-67-7]

SINONIM *Titania, CI Pigment White 6, CI (1975) No. 77891*

Titanium dioksida

TiO₂

BM 79,88

DEFINISI Titanium dioksida diperoleh melalui proses dengan sulfat atau klorida. Proses ini menentukan bentuk produk akhir (struktur *anatase* atau *rutile*). Pada proses dengan sulfat, asam sulfat digunakan agar bereaksi dengan ilmenit (FeTiO_3) atau kerak/ampas bijih ilmenit dan titanium. Setelah beberapa tahap pemurnian, isolat titanium dioksida dibilas dengan air, dikalsinasi, dan dihaluskan.

Pada proses dengan klorida, (a) mineral mengandung titanium direaksikan dengan gas klorin hingga terbentuk titanium tetraklorida anhidrat yang kemudian dimurnikan dan diubah menjadi titanium dioksida dengan cara oksidasi panas atau reaksi dengan uap air pada fase gas; (b) mineral mengandung titanium direaksikan dengan asam hidroklorida pekat hingga menghasilkan larutan titanium tetraklorida, yang kemudian dimurnikan dan dihidrolisis menjadi titanium dioksida. Larutan kemudian disaring, dibilas dan dikalsinasi.

Dalam perdagangan, titanium dioksida dapat disalut dengan alumina dan/atau silika untuk meningkatkan penampilan produk.

Titanium dioksida mengandung TiO_2 tidak kurang dari 99,0% dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan dan bebas aluminium oksida dan silikon dioksida.

PEMERIAN Serbuk amorf, putih sampai sedikit berwarna.

KELARUTAN Tidak larut dalam air, dalam asam hidroklorida, dalam asam sulfat encer dan dalam pelarut organik. Larut perlahan dalam asam hidrofluorida dan dalam asam sulfat pekat panas.

PENGGUNAAN Pewarna alami.

IDENTIFIKASI

Reaksi warna Masukkan 500 mg zat ke dalam wadah yang sesuai, tambahkan 5 ml *asam sulfat P*, panaskan hati-hati hingga terbentuk uap asap asam sulfat, dinginkan. Encerkan hati-hati dengan air hingga lebih kurang 100 ml, saring. Pada 5 ml filtrat tambahkan beberapa tetes *hidrogen peroksida LP*: segera terjadi warna merah jingga.

KEMURNIAN

1. *Susut pengeringan* <912> Tidak lebih dari 0,5%. Lakukan pengeringan pada suhu 105° selama 3 jam.
2. *Susut pemijaran* <913> Tidak lebih dari 1,0%. Lakukan pemijaran pada suhu 800° dihitung terhadap zat yang telah dikeringkan.
3. *Aluminium oksida dan/atau silikon dioksida* Tidak lebih dari 2%, dalam bentuk tunggal atau campuran.

Larutan A Timbang lebih kurang 500 mg zat dengan ketelitian 0,1 mg dalam krus platina atau nikel, tambahkan 5 g *kalium hidroksida P* dan 2 g *asam borat P*, campur dan lelehkan menggunakan *torch burner* dan biarkan pada suhu ruang. Masukkan krus yang berisi lelehan zat ke dalam gelas piala 250-ml yang berisi 150 ml air deionisasi panas. Larutkan residu dengan agitasi. Bilas krus dengan air deionisasi panas dan angkat. Tambahkan 50 ml *asam hidroklorida P* dan pindahkan larutan ke dalam 250-ml labu tentukur propilen. Bilas gelas piala sebanyak tiga kali dengan air deionisasi panas. Masukkan bilasan ke labu tentukur sampai tanda.

Larutan uji Encerkan *Larutan A* dengan *asam hidroklorida 2%* (1 dalam 5) secara bertahap dan kuantitatif.

Prosedur Lakukan penetapan Alumunium dengan teknik *Larutan uji* dengan teknik ICP-AES seperti tertera pada *Cemaran Logam <702>* dan Lakukan penetapan Silika dalam *Larutan uji* dengan teknik ICP-AES seperti tertera pada *Cemaran Logam <702>*. Tetapkan parameter instrumen seperti yang ditentukan oleh prosedur instrumen. Gunakan garis analitik untuk Al (396.152 nm) dan Si (251.611 nm) dan buat kurva standar menggunakan larutan standar masing – masing 0,2 – 0,5 µg/ml. Baca kadar Al dan Si dalam *Larutan uji* (sebagai µg/ml) dan hitung kandungan alumunium oksida dan silikon dioksida dalam larutan menggunakan rumus

Al₂O₃

$$\frac{1,889 \times C \times 250 \times 5}{W \times 10^6} \times 100$$

SiO₂

$$\frac{2,139 \times C \times 250 \times 5}{W \times 10^6} \times 100$$

C = kadar Al atau Si dalam *Larutan uji*, µg/ml

W = berat zat, g

4. *Zat larut asam* Tidak lebih dari 0,5%; Tidak lebih dari 1,5% untuk produk yang mengandung alumina atau silika. Suspensikan 5 g zat dalam 100 ml *asam hidroklorida 0,5 N*, panaskan di atas tangas uap selama 30 menit sambil sesekali diaduk. Saring melalui krus Gooch yang dilengkapi dengan kertas saring berserat kaca. Bilas tiga kali, tiap kali dengan 10 ml *asam hidroklorida 0,5 N*, kumpulkan filtrat dan pembilas, uapkan sampai kering, dan pijarkan, timbang sampai bobot tetap.
5. *Zat larut air* Tidak lebih dari 0,5%. Gunakan air sebagai pengganti *asam hidroklorida 0,5 N* pada prosedur *Zat larut asam*
6. *Cemaran larut asam hidroklorida 0,5 N* Antimoni tidak lebih dari 2 bpj; Arsen tidak lebih dari 1 bpj; Kadmium tidak lebih dari 1 bpj; Timbal tidak lebih dari 10 bpj; Merkuri tidak lebih dari 1 bpj. Timbang saksama lebih kurang 10,0 g zat, masukkan ke dalam gelas piala 250 ml, tambahkan 50 ml *asam hidroklorida 0,5 N*, tutup dengan kaca arloji, didihkan di atas lempeng pemanas. Didihkan hati-hati selama 15 menit, kemudian pindahkan ke dalam tabung sentrifus 100 -150 ml, sentrifugasi selama 10-15 menit, atau sampai zat yang tidak larut mengendap. Enap tuangkan beningan melalui kertas saring Whatman No.4 atau yang setara, kumpulkan filtrat dalam labu tentukur 100-ml, pertahankan endapan sebanyak mungkin di dalam tabung sentrifus. Bilas gelas piala dan kaca arloji dengan 10 ml air panas, tuang ke dalam tabung sentrifus, aduk dengan pengaduk kaca, kemudian sentrifugasi. Enap tuangkan beningan melalui kertas saring yang sama dan kumpulkan filtrat ke dalam labu tentukur yang sama. Ulangi proses pembilasan dua kali lagi, terakhir cuci kertas saring dengan 10-15 ml air panas. Dinginkan isi labu sampai suhu ruang, encerkan dengan air sampai tanda, dan campur. Lakukan penetapan kadmium, dan timbal dengan teknik *AA-Electrothermal atomization*; antimoni dengan (*ICP-AES*); arsen menggunakan teknik serapan atom hidrida; seperti tertera pada *Cemaran Logam <702>*
7. *Raksa* Tidak lebih dari 1 bpj. Tetapkan menggunakan teknik serapan atom uap dingin sesuai seperti tertera pada *Cemaran Logam <702>*. Gunakan jumlah zat yang sesuai.

PENETAPAN KADAR Lakukan penetapan Titanium dalam larutan uji dengan teknik *ICP-AES* seperti tertera pada *Cemaran Logam <702>*

Larutan uji Lakukan 1000 kali pengenceran *Larutan A* secara kuantitatif (disiapkan pada uji *Kemurnian alumunium oksida dan silikon dioksida*) dengan

asam hidroklorida 2%. Faktor pengenceran dalam setiap langkah pengenceran tidak boleh lebih dari 20.

Prosedur Lakukan penetapan parameter instrumen seperti yang ditentukan oleh prosedur instrumen. Gunakan garis analitik untuk Ti (334,941 nm) dan buat kurva standar menggunakan *Larutan standar* Ti : 0,5 – 1,5 µg/ml. Baca kadar dalam larutan uji (sebagai µg/ml) dan hitung kandungan *titanium dioksida* menggunakan rumus

TiO₂ (dalam basis kering)

$$\frac{1,668 \times C \times 250 \times 1000}{W \times 10^6 \times (100 - \%LOD - \%Al_2O_3 - \%SiO_2)/100} \times 100$$

C = kadar Ti dalam *Larutan uji*, µg/ml

W = berat zat, g

%LOD = % susut pengeringan

%Al₂O₃ dan = kadar (%) Alumunium oksida dan Silikon oksida

%SiO₂

CEMARAN LOGAM <702>

Penetapan mineral dan logam menggunakan metode *inductively coupled plasma-spektrofotometri emisi atom (ICP-AES)*

Larutan baku pembanding Siapkan Larutan baku pembanding masing-masing unsur Na, K, Ca, Mg, P, Al, Fe, Cu, Zn, Co, Mo, Mn, Pb, Cd, dan As dengan kadar 1000 mg/l). Sebagai alternatif, siapkan larutan baku pembanding multi-unsur dengan kadar masing-masing 1000 mg/l. Rentang linier kurva baku pembanding dapat berbeda berdasarkan instrumen yang digunakan dan metode pemasangan *torch (axial atau radial)*.

Siapkan seri larutan baku pembanding kerja pada rentang 0,1 hingga 50 µg/ml setelah seri pengenceran dari larutan baku pembanding multi-unsur (100 µg/ml). Pastikan untuk membatasi faktor pengenceran kurang dari 25.

Kesesuaian sistem Pilih panjang gelombang emisi yang sesuai untuk digunakan setiap unsur. Pengaturan yang direkomendasikan untuk berbagai parameter instrumen mungkin berbeda dari instrumen satu dengan lainnya. Parameter tertentu diperlukan optimasi untuk mendapatkan hasil terbaik. Instrumen harus dikondisikan secara optimal seperti dijelaskan pabrikan. Panjang gelombang emisi spesifik, jenis kurva dan rentang kalibrasi seperti pada Tabel di bawah ini merupakan panduan dan kebutuhan bagi analis untuk memilih panjang gelombang emisi dan parameter lain berdasarkan instrumen yang digunakan dan jenis zat uji sebagai cemaran yang akan dianalisis.

No	Analit	Panjang gelombang emisi (nm)	Tipe kurva	Rentang kalibrasi (µg/ml)
1	Na	589,520; 588,995	Kuadratik	0,50-20,0
2	K	766,491	Kuadratik	0,50-20,0
3	Ca	318,127	Kuadratik	0,50-20,0
4	Mg	279,079	Kuadratik	0,50-20,0
5	P	213,618	Linear	0,10-20,0
6	Al	257,509; 308,215; 396,152	Linear	0,10-20,0
7	Fe	259,940	Linear	0,10-20,0
8	Cu	224,700; 324,754	Linear	0,10-20,0
9	Zn	213,857	Linear	0,10-20,0
10	Co	228,616; 235,341	Linear	0,10-20,0

11	Mo	202,032	Linear	0,10-20,0
12	Mn	257,610	Linear	0,10-20,0
13	Pb	220.353	Linear	0,10-20,0
14	Cd	226,502	Linear	0,10-5,0
15	As	188,98; 193,696	Linear	0,10-5,0
16	Sb	206,833	Linear	0,10-20,0
17	Ba	455,403	Linear	0,10-20,0
18	Cr	267,716	Linear	0,10-20,0
19	Si	251,611	Linear	0,10-20,0
20	Ni	231,604	Linear	0,10-20,0
21	Ti	334,941	Linear	0,10-20,0

Prosedur Tetapkan parameter instrumental yang sesuai untuk analisis analit yang paling mungkin sebagai cemaran. Siapkan instrumen, aspirasi larutan blanko, dan setel instrumen ke nol. Aspirasi larutan baku pembanding kerja dan buat kurva baku pembanding kerja untuk setiap unsur menggunakan intensitas emisi dan kadar unsur dalam baku pembanding kerja: koefisien determinasi (R²) adalah > 0,99. Aspirasi larutan uji atau enceran larutan uji dan simpulkan kadar unsur dalam larutan uji (µg/ml).

Hitung kadar unsur (mg/kg) dengan rumus:

$$\frac{(A - B) \times V \times DF}{W}$$

A = Kadar unsur dalam larutan uji (µg/ml)

B = Kadar unsur dalam larutan blanko yang sesuai (µg/ml)

V = Volume sampel yang digunakan (ml)

DF = Faktor pengenceran

W = Bobot zat (g)

UJI BATAS NIKEL DAN NIKEL DALAM POLIOL <714>

Nikel dalam Polioliol

[Catatan Metode ini juga dapat digunakan untuk penetapan nikel dalam polidekstrosa]

Larutan uji Timbang 20,0 g zat uji masukkan ke dalam labu yang sesuai, larutkan dengan campuran pelarut *asam asetat encer LP* dan air (1:1), encerkan hingga 100 ml. Tambahkan 2,0 ml larutan *amonium pirolidinditiokarbamat P 1%* dan 10 ml *metil isobutil keton P*, campur dan biarkan hingga membentuk lapisan, diamkan sampai lapisan terpisah. Gunakan lapisan metil isobutil keton untuk pengujian.

Larutan blangko Buat larutan seperti pada *Larutan uji* tanpa menambahkan zat.

Larutan baku kerja Pipet 0,5 ml, 1,0 ml dan 1,5 ml *Larutan baku nikel* yang mengandung 10 bpj Ni, ke dalam labu yang sesuai. Lakukan seperti tertera pada *Larutan uji*.

Prosedur Lakukan penetapan menggunakan cara *Spektrofotometri serapan atom* seperti tertera pada *Spektrofotometer <901>*. Gunakan *Larutan blangko* untuk set instrumen ke titik nol. Gunakan lampu nikel holow katoda sebagai sumber radiasi dan api dari udara-asetilen. Ukur serapan pada panjang gelombang 232,0 nm. Lakukan tiga kali pengukuran untuk tiap kadar larutan.

Tetapkan kadar nikel menggunakan kurva kalibrasi.

UJI BATAS OKSALAT <715>

Larutkan sejumlah zat seperti yang tertera dalam spesifikasi masing-masing monografi dalam 4 ml air, tambahkan 3 ml *asam hidroklorida pekat P* dan 1 g granula *zink P*. Panaskan selama 1 menit dalam tangas air mendidih; Diamkan selama 2 menit dalam suhu ruang, enaptuangkan beningan ke dalam tabung reaksi yang berisi 0,25 ml larutan *fenilhidrazin hidroklorida P 1%*. Campurkan, panaskan sampai mendidih dan dinginkan segera.

Pindahkan larutan ke dalam gelas ukur dengan sumbat kaca asah dan tambahkan sejumlah volum sama *asam hidroklorida pekat P*. Tambahkan 0,25 ml larutan *kalium heksasianoferat(III) P 5%*, campur, diamkan selama 30 menit. Ukur serapan larutan pada panjang gelombang 520 nm: warna larutan tidak lebih intensif dari larutan pembanding yang dibuat dengan cara sama dan mengandung 4,0 ml larutan *asam oksalat P 0,005%*.

PENETAPAN FOSFOR, KALSIMUM, MAGNESIUM, DAN ALUMINIUM METODE INDUCTIVELY COUPLED PLASMA-SPEKTROFOTOMETRI EMISI ATOM (ICP-AES) <726>

Timbang saksama lebih kurang 500 mg zat yang sudah digiling halus, masukkan ke dalam gelas kimia PTFE 100 ml, tambahkan 10 ml air, 5 ml aquaregia atau campuran (Asam nitrit : Asam hidroklorida (3:1). diamkan dalam lemari asam lebih kurang 15 menit, jika diperlukan, di atas lempeng pemanas dengan api kecil selama lebih kurang 30 menit. Pertahankan suhu sehingga zat uji tidak mendidih atau mengering, pastikan larutan zat tidak memercik. Pindahkan secara kuantitatif larutan zat ke dalam Labu tentukur 100-ml dan encerkan dengan air sampai tanda. Encerkan larutan zat hingga berada pada kisaran kerja kurva pembandingan. Lakukan penetapan blangko.

[Catatan Pemilihan ukuran zat uji dan metode persiapan zat uji seperti tertera pada masing-masing monografi. Bobot zat mungkin akan bervariasi sesuai dengan kadar zat dalam penetapan. Kemurnian asam dan reagensia lain yang digunakan harus sesuai dengan kualitas spektroskopi atom].

Tentukan unsur fosfor, magnesium, kalsium, dan aluminium menggunakan teknik ICP-AES yang sesuai dengan panjang gelombang secara berturut-turut masing-masing 213,618 nm, 279,078 nm, 318,127 nm, dan 396,152 nm. Hitung kadar fosfor, magnesium, kalsium, dan aluminium (%) menggunakan rumus:

$$\frac{(A - B) \times V \times DF}{10.000 \times W}$$

A = Kadar unsur dalam larutan zat ($\mu\text{g/ml}$)

B = Kadar unsur dalam larutan blangko yang sesuai ($\mu\text{g/ml}$)

V = Volume sampel yang digunakan (ml)

DF = Faktor pengenceran

W = Bobot zat (g)

Konversi unsur mineral menjadi oksida yang sesuai menggunakan rumus:

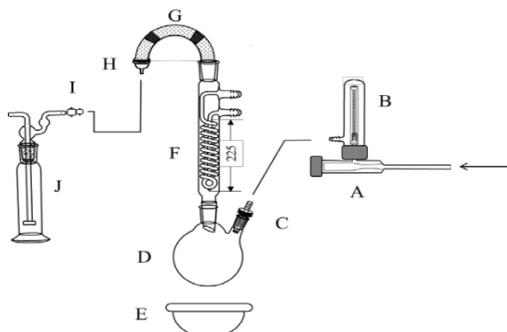
% b/b P_2O_5 = % P x 4,583

% b/b MgO = % Mg x 1,658

% b/b CaO = % Ca x 1,399

% b/b Al_2O_3 = % Al x 3,779

PENETAPAN KADAR ALGINAT (PENETAPAN KARBONDIOKSIDA DENGAN DEKARBOKSILASI) <81>



Alat penetapan karbondioksida secara dekarboksilasi

Rangkaian alat terdiri dari: Katup pengukur kapiler A, Pengukur aliran B, Tabung plastik vinil terhalogenasi dan sumbat karet, untuk mengontrol dan memantau aliran nitrogen masuk ke dalam sistem C, Labu reaksi alas bulat 250 ml untuk menghubungkan pengukur aliran (B) ke sisi lengan labu (D) D, Mantel pemanas E, Pendingin refluks Hopkins coil 225 mm atau yang setara F, Penjerap berbentuk U berisi dua buah 25 g pita zink dengan ukuran partikel 20 mesh, pita dibatasi dan dipisahkan dengan sumbat *glass wool* ukuran 3 inci G Adaptor H, Tabung plastik vinil terhalogenisasi dan sambungan tombol putar I, Botol pembilas gas 250 ml J. Tabung *Inlet* (tabung berbentuk gelembung) memanjang hingga bagian bawah botol pembilas gas, berakhir pada cakram bercabang yang memiliki porositas kasar. Semua sambungan kaca berukuran 24/40, kecuali sambungan botol pembilas gas berukuran 45/50.

Kesesuaian sistem Gunakan D-glukoronolakton sebagai pembanding seperti tertera pada *Prosedur* tanpa perlakuan langkah pra-pemanasan: nilai kesesuaian sistem antara 0,02 dan 0,06. Hitung kesesuaian sistem menggunakan rumus:

$$(C_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}}) - (C_{\text{HCl}} \times V_{\text{Blangko}})$$

C_{NaOH} = Kadar *natrium hidroksida* (mol/l)

V_{NaOH} = Volum *natrium hidroksida* (ml)

C_{HCl} = Kadar *asam hidroklorida* (mol/l)

V_{Blangko} = Volum *asam hidroklorida* yang digunakan sebagai titrasi blangko (ml)

Prosedur Timbang saksama lebih kurang 250 mg zat, masukkan ke dalam labu, D, tambahkan 50 ml *asam hidroklorida 0,1 N* dan masukkan beberapa butir batu didih. Hubungkan labu pendingin refluks, F, menggunakan sirup asam fosfat sebagai pelumas.

[Catatan: pada sambungan lain dapat digunakan lemak silikon]

Sambungkan aliran nitrogen pada sisi lengan labu, sesuaikan laju alir air pendingin 21 per menit. Pertahankan laju alir nitrogen pada 90 hingga 100 ml/menit. Naikkan mantel pemanas, E, hingga mencapai labu, panaskan zat hingga mendidih, didihkan secara hati-hati selama 2 menit. Matikan dan turunkan mantel pemanas, dinginkan selama 10 menit. Sambungkan botol pencuci gas kosong, J, aliri dengan nitrogen dengan laju alir antara 90 dan 100 ml/menit selama 5 menit. Kurangi aliran nitrogen hingga laju alir antara 60 dan 65 ml/menit. Tambahkan 10 tetes *1-butanol P*, 25,0 ml *natrium hidroksida 0,25 N* dan 50 ml air ke dalam botol pembilas gas. Bilas bagian dalam botol, pasang kembali sumbat karet. Lepas sumbat karet sisi lengan, C, tambahkan 46 ml *asam hidroklorida P* melalui sisi lengan labu pemanas. Pasang kembali aliran nitrogen, naikkan mantel pemanas, panaskan hingga mendidih..

Setelah pendidihan selama 3 jam, naikkan laju alir nitrogen hingga antara 90 dan 100 ml/menit. Hentikan pemanasan, turunkan mantel pemanas, dinginkan selama 10 menit. Lepaskan sambungan botol pembilas gas. Bilas semua bagian tabung *inlet* dan sumbat karet dengan aliran air. Kumpulkan air bilasan botol pembilas gas. Gunakan nitrogen untuk mengeluarkan secara perlahan semua air dalam tabung *inlet*. Dengan segera, tambahkan *barium klorida 10% LP* dan batang pengaduk magnetik. Masukkan sumbat yang rapat, aduk perlahan selama 1 menit. Diamkan selama 5 menit. Tambahkan tiga tetes *fenolftalein LP*, titrasi dengan *asam hidroklorida 0,1 N LV*. Lakukan penetapan blangko. Hitung kadar (%) Karbondioksida dalam zat menggunakan rumus:

$$\frac{22 C_{\text{HCl}} (V_{\text{Blangko}} - V_{\text{zat}})}{1000 W(1 - 0,01 \text{LD})} \times 100$$

C_{NaOH} = Kadar *natrium hidroksida* (mol/l)

V_{NaOH} = Volum *natrium hidroksida* (ml)

C_{HCl} = Kadar *asam hidroklorida* (mol/l)

V_{Zat} = Volum *asam hidroklorida* yang digunakan sebagai titrasi zat (ml)

V_{Blangk} = Volum *asam hidroklorida* yang digunakan sebagai titrasi blangko (ml)

LD = Susut pengeringan (%)

W = Bobot zat (g)

*Tiap ml natrium hidroksida
setara dengan 22 mg karbondioksida*

PENETAPAN KADAR ESTER SORBITAN <85>

Prinsip Ester sorbitan dapat ditetapkan dengan saponifikasi basa diikuti dengan perolehan kembali polioliol dan penetapan kadar isosorbida menggunakan metode kromatografi gas-cair.

Prosedur

Saponifikasi dan perolehan kembali polioliol

Timbang saksama lebih kurang 25 g zat, masukkan ke dalam Labu alas bulat 500 ml, tambahkan 250 ml *etanol P* dan 7,5 g *kalium hidroksida P*, aduk, homogenkan. Didihkan campuran hingga 2 jam dengan refluks, pindahkan campuran ke dalam gelas piala 800 ml, bilas labu refluks dengan 100 ml air, kumpulkan larutan dan air bilasan ke dalam gelas piala. Panaskan di atas tangas uap untuk menguapkan *etanol P*, sesekali tambahkan air untuk menggantikan *etanol P*, hingga bau etanol tidak terdeteksi. Sesuaikan volum akhir menjadi sekitar 250 ml dengan air panas.

Asamkan larutan sabun panas dengan *asam sulfat P* (1:1), tambahkan 10% berlebih, panaskan, aduk hingga lapisan asam lemak terpisah. Pindahkan asam lemak ke dalam corong pisah 500 ml, ekstraksi tiga kali, tiap kali dengan 100 ml *petroleum eter P*. Kumpulkan ekstrak petroleum eter pada corong pisah kedua dan bilas dengan 100 ml air. Kumpulkan bilasan air dengan fasa air dalam gelas piala 800 ml

Netralkan larutan polioliol dengan larutan *kalium hidroksida 10% LP* hingga pH 7 (diukur menggunakan pH meter yang sesuai). Uapkan di atas tangas uap dan evaporasi hingga pelarut hampir kering. Ekstraksi residu empat kali, tiap kali dengan 150 ml *etanol P* panas. Saring ekstrak gabungan, masukkan ke dalam labu isap melalui corong Buchner 10 cm yang berisi silika gel. Bilas corong dengan *etanol absolut P*. Pindahkan filtrat dan air bilasan ke dalam labu tentukur 1000-ml. Dinginkan hingga suhu ruang, encerkan dengan etanol sampai tanda. Gunakan larutan ini dalam penetapan pada kromatografi gas-cair.

Penetapan Kromatografi gas cair

Kesesuaian sistem untuk analisis isosorbida tidak kritis sesuai kondisi di bawah ini. Fluktuasi minor pada suhu dan laju alir tidak mempengaruhi resolusi atau hasil analisis.

Fase diam Carbowax 20 M 15%

Fase gerak Argon

Sistem kromatografi Kromatograf gas dilengkapi dengan detektor ionisasi nyala (FID), pertahankan suhu kolom antara 195°, injektor 295° dan detektor 250°.

Perhitungan Kadar isosorbida (%) dari alikuot larutan perolehan kembali polioliol diperkirakan langsung dari kurva kalibrasi yang dibuat dari ester sorbitan pembanding atau dengan mengalikan daerah puncak yang diamati dengan kemiringan kurva (μg isosorbida per satuan luas) dengan rumus:

$$\frac{(I \times 20)}{(f \times W)}$$

- I = Kadar isosorbida dalam alikuot larutan perolehan kembali polioliol yang diperoleh dari Kromatografi gas (μg)
- f = Hasil isosorbida fraksional dari ester sorbitan pembanding (lihat catatan di bawah)
- W = Ester sorbitan yang diambil untuk dianalisis (g)

[Catatan zat uji ester sorbitan yang diketahui diperlakukan seperti tertera dalam Saponifikasi dan perolehan kembali polioliol. Sesuaikan alikuot larutan untuk prosedur kromatografi gas. Hasil fraksi isosorbida dihitung terhadap berat zat dikoreksi dari basis kering, bebas asam lemak. Prosedur tersebut diperkirakan memiliki akurasi 5%]

AKTIVITAS PULLULANASE <1002>

Prosedur ini dirancang untuk penetapan aktivitas pullulanase. Pullulan diperoleh dari fermentasi pati tara pangan terhidrolisis oleh *Aureobasidium pullulan*.

Prinsip Pullulanase menghidrolisis ikatan polisakarida α -1,6 glikosidik dan memecah pullulan untuk menghasilkan hanya senyawa maltotriosa. Setelah reaksi selesai, gula pereduksi yang terbentuk diperkirakan melalui reaksi dengan asam dinitrosalisilat. 1 unit pullulanase adalah aktivitas yang akan menghasilkan gula pereduksi setara dengan 1 mg maltosa anhidrat setelah 1 menit, dengan kondisi pengujian yang sesuai. *[Catatan Maltosa digunakan sebagai standar pembanding karena maltotriosa harganya mahal dan tingkat kemurniannya rendah. Metode mengukur grup akhir gula pereduksi tinggi maltotriosa menggunakan maltosa sebagai pembanding].*

Pereaksi asam 3,5-Dinitrosalisilat (DNS) Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu yang sesuai. Tambahkan 16 ml *natrium hidroksida 10% LP*, 30 g *kalium natrium tartrat tetrahidrat P*, dan 50 ml air, hangatkan hingga larut. Encerkan dan larutkan dengan air hingga 100 ml. Larutan dapat disimpan selama 5 hari pada suhu 5°.

Larutan pembanding pullulan Timbang saksama lebih kurang 1 g zat, masukkan ke dalam labu yang sesuai. Tambahkan 70 ml air, panaskan selama 5 menit, dinginkan. Tambahkan 10 ml *dapar molar asetat pH 5,0*, encerkan, dan larutkan dengan air hingga 100 ml. Jika perlu saring. Larutan dapat disimpan hingga dua minggu dalam lemari pendingin.

Larutan pembanding maltosa Siapkan *Larutan pembanding maltosa* sehingga 1 ml mengandung 0,4 mg maltosa anhidrat. Gunakan larutan ini dalam pengujian sebagai pengganti enzim.

Larutan uji Pipet 1 ml substrat *Larutan pembanding pullulan*, masukkan ke dalam tabung reaksi berukuran 17 x 1,5 cm, panaskan di atas tangas air pada suhu 50° selama 5 menit. Tambahkan 1 ml larutan enzim, biarkan reaksi berlangsung hingga tepat 10 menit. Hentikan reaksi dengan penambahan 2 ml *Pereaksi asam 3,5-Dinitrosalisilat (DNS)*.

Larutan blangko Tambahkan 2 ml *Pereaksi asam 3,5-Dinitrosalisilat (DNS)* pada substrat sebelum penambahan enzim.

Kurva kalibrasi Nilai pereduksi yang diukur dibandingkan dengan *Larutan pembanding maltosa*. Grafik pembanding maltosa tidak diperlukan karena hasil akurat jika serapan *Larutan uji* antara 0,2 dan 0,5.

Karena 1 mg maltosa memberikan serapan 0,82, untuk tujuan perhitungan maka definisi disesuaikan menjadi “0,4 unit aktivitas akan menghasilkan 0,4 mg maltosa anhidrat yang setara...”. Serapan diukur seperti sebelumnya dan harus berada pada 0,325. Pembacaan ini sangat konstan, jika terdapat perbedaan maka periksa kalibrasi panjang gelombang pada spektrofotometer. Hal ini menjadi titik kritis karena kesalahan kecil pada panjang gelombang memiliki dampak yang besar terhadap serapan.

Prosedur Didihkan *Larutan uji* dan *Larutan blangko* di atas tangas air hingga tepat 5 menit, dinginkan segera, tambahkan 10 ml air. Aduk, homogenkan. Ukur serapan *Larutan uji* terhadap *Larutan blangko* menggunakan kuvet gelas 2 cm pada panjang gelombang 540 nm.

Untuk *Larutan uji* yang tidak diketahui, lakukan beberapa pengenceran dan pengukuran serapan. Plot serapan terhadap kadar enzim dalam grafik seperti pada Tabel 1. Kadar enzim yang memberikan serapan 0,325 akan diketahui.

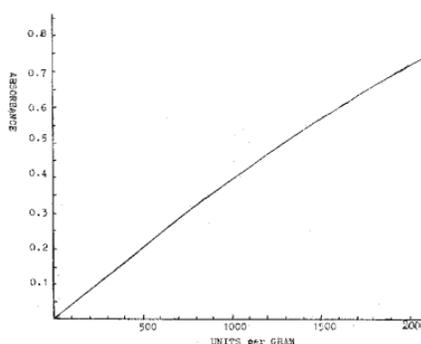
Dengan definisi kadar enzim mengandung 0,4 unit pullulanase, maka aktivitas pullulanase (unit/g) dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\left(\frac{1000}{\text{bobot enzim (mg)}} \right) \times \left(\frac{0,4}{10} \right)$$

Kadar enzim (%)	Bobot enzim (mg)	Serapan
0,002	0,02	0,170
0,003	0,03	0,245
0,004	0,04	0,325
0,005	0,05	0,390
0,006	0,06	0,465
0,008	0,08	0,595
0,010	0,10	0,720

Dari grafik, serapan 0,325 diberikan oleh larutan enzim 0,004%. Aktivitas pullulanase setara dengan

$$\left(\frac{1000}{0,04} \right) \times \left(\frac{0,4}{10} \right) = 1000 \text{ unit/g}$$



Gambar 1. Aktivitas pullulanase (50 bpj larutan)

Untuk kadar enzim tetap, grafik ini dapat digunakan untuk semua zat uji selanjutnya. Jika larutan 0,005% diambil sebagai standar, maka serapan 0,39 harus memberikan aktivitas 1000 unit/g.

Kadar enzim (%)	Serapan	Unit/g
0,002	0,170	400
0,003	0,245	600

0,004	0,325	800
0,005	0,390	1,000
0,006	0,465	1,200
0,008	0,595	1,600
0,010	0,720	2,000

Contoh:

Untuk kadar enzim 0,0025%, 0,005%, dan 0,0075%, maka serapan sebagai berikut:

Kadar enzim (%)	Serapan	Unit/g
0,0025	0,200	480
0,005	0,375	950
0,0075	0,553	1,470

Maka, aktivitas pullulanase adalah sebagai berikut:

$$0,0025\% = \left(\frac{480}{0,005} \right) \times \left(\frac{0,005}{0,0025} \right) = 960 \text{ unit/g}$$

$$0,005\% = \left(\frac{950}{0,005} \right) \times \left(\frac{0,005}{0,005} \right) = 950 \text{ unit/g}$$

$$0,0075\% = \left(\frac{1,470}{0,005} \right) \times \left(\frac{0,005}{0,0075} \right) = 980 \text{ unit/g}$$

Rerata = 953 unit/g

PEREAKSI DAN LARUTAN PEREAKSI

Asam trifluoroasetat P CF_3COOH ; BM 114,02; [76-05-11]; murni pereaksi.

Barium karbonat P BaCO_3 ; BM 197,34; [513-77-9]; murni pereaksi.

Dietilftalat P Etil ester; Etil ftalat; $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_4$; BM 222,24; [84-66-2]; murni pereaksi.

Kalium hidroksida metanolat LP Timbang saksama 40 g kalium hidroksida, masukkan ke dalam labu tentukur 100-ml. Larutkan dalam 50 ml metanol P, encerkan dengan metanol P sampai tanda.

Merkuri klorida LP Larutkan 6,5 g Merkuri klorida dalam 100 mL air.

Natrium Peroksida P Natrium dioksida; Na_2O_2 ; BM 77.98; [1313-60-6]; murni pereaksi.

DAFTAR MONOGRAFI YANG DIHAPUS

1. α -Amilase dari *Aspergillus oryzae*, var.
2. α -Amilase dari *Bacillus megaterium* dinyatakan sebagai *B. Subtilis*
3. α -Amilase dari *Bacillus stearothermophilus* dinyatakan sebagai *B. Subtilis*
4. α -Amilase dari *Bacillus stearothermophilus*
5. α -Amilase dari *Bacillus subtilis*
6. α -Amilase (Karbohidrase) dari *Bacillus licheniformis*
7. Bromelain
8. Protease dari *Aspergillus oryzae*, var.

MENTERI KESEHATAN
REPUBLIK INDONESIA,

ttd.

BUDI G. SADIKIN

Salinan sesuai dengan aslinya
Kepala Biro Hukum
Sekretariat Jenderal Kementerian Kesehatan,

Indah Febrianti, S.H., M.H.
NIP 197802122003122003