

## PENENTUAN ASAM BENZOAT, NATRIUM SAKARIN, DAN SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

### *Determination of Benzoic Acid, Sodium Saccharin, And Caffeine By High Performance Liquid Chromatography*

Arief Yandra Putra<sup>1</sup>, Fitri Mairizki<sup>1</sup>, Hamzar Suyani<sup>1</sup>, dan Safni<sup>1\*</sup>

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Andalas

Kampus Limau Manis, Padang 25163

\*e-mail: [safni@yahoo.com](mailto:safni@yahoo.com)

Diterima: 3 Agustus 2012, Revisi akhir: 29 September 2012

#### ABSTRAK

Penelitian tentang penentuan asam benzoat, natrium sakarin dan kafein telah dilakukan secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Fasa Balik. Kondisi optimum analisis dari ketiga senyawa di atas adalah fasa gerak metanol-bufer fosfat (1:7) dengan pH 4,5, laju alir 1 mL/min, kolom C18 (150 x 4,6 mm i.d.) dengan temperatur 40°C dan pendeteksian dengan Spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 220 nm. Metoda ini diaplikasikan pada beberapa sampel minuman ringan. Kadar ketiga senyawa ini di dalam sampel tidak melebihi batas maksimum yang diizinkan yaitu berdasarkan SNI 01-0222-1995 untuk natrium sakarin dan asam benzoat serta SNI 01-6684-2002 untuk kafein. Standar Deviasi Relatif ketiga senyawa ini berdasarkan waktu retensi dan luas puncak secara berturut-turut adalah; asam benzoat 0,37% dan 0,59%, natrium sakarin 0,16% dan 0,21%, kafein 0,38% dan 0,60%. Hasil perolehan kembali dari ketiga senyawa ini adalah asam benzoat 100,82%, natrium sakarin 94,92%, kafein 90,32%. Standar Deviasi Relatif dan perolehan kembali ketiga senyawa ini memenuhi persyaratan metoda AOAC.

**Kata kunci: asam benzoat, natrium sakarin, kafein, KCKT, minuman ringan**

#### ABSTRACT

*Concentrations of benzoic acid, sodium saccharin and caffeine in soft drink samples were determined by using Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The optimum analytical conditions of those three samples was methanol-phosphate buffer (1:7) as mobile phases, with pH 4.5 and flow rate 1.0 mL/min, column C18 (150x4.6 mm i.d.) as stationary phases at 40°C with UV-Vis Spectrophotometer detection at 220 nm. The concentration level of those compounds observed was not beyond the maximum limit of SNI 01-011101995 for sodium saccharin and benzoic acid and SNI 01-6684-2002 for caffeine. The relative standard deviation based on retention time and peak area, as 0.37% and 0.59% for benzoic acid, 0.16% and 0.21% for sodium saccharin, 0.38% and 0.6% for caffeine. Finally, the recovery for benzoic acid, sodium saccharin and caffeine was 100.82%, 94.92% and 90.32%, respectively. The relative standard deviation and recovery of all samples met AOAC method requirements.*

**Keywords: Benzoic acid, sodium saccharin, caffeine, HPLC, soft drink**

#### PENDAHULUAN

Asam benzoat, natrium sakarin dan kafein merupakan bahan yang sering ditambahkan dalam makanan dan minuman, dimana penggunaannya harus

diperhatikan. Meskipun kandungan bahan tambahan ini umumnya tidak terlalu besar, akan tetapi jika dikonsumsi secara terus menerus akan memberikan efek terhadap gangguan kesehatan. Asam benzoat merupakan bahan pengawet yang

ditambahkan untuk mencegah atau menghambat terjadinya kerusakan atau pembusukan pada makanan atau minuman. Dengan penambahan pengawet pada produk minuman diharapkan dapat terpelihara kesegarannya (Winarno, 1997).

Natrium sakarin merupakan senyawa kimia yang sering ditambahkan sebagai pemanis dan digunakan untuk produk olahan pangan, industri, serta minuman dan makanan kesehatan. Kebutuhan Industri pangan dan minuman terhadap pemanis sintesis ini semakin meningkat dari tahun ke tahun (Cahyadi, 2008).

Kafein merupakan salah satu derivat xantin yang mempunyai daya kerja sebagai pemberi efek stimulan sistem saraf pusat, stimulan otot jantung, relaksasi otot polos dan meningkatkan diuresis dengan tingkatan yang berbeda. Efek kafein dapat meningkat apabila berinteraksi dengan beberapa jenis obat antara lain: obat asma dan pil KB. Akibatnya mungkin terjadi kofeinisme disertai rasa gelisah, sakit kepala, pernafasan cepat, dan insomnia. Kafein dapat menghilangkan rasa letih, lapar dan mengantuk. Penggunaan kafein yang berlebihan dapat menimbulkan jantung yang berdebar, gangguan lambung, tangan gemetar, gelisah, daya ingat berkurang dan sukar tidur (Sianturi, 2011).

Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian terhadap bahan tambahan yang terdapat dalam minuman ringan yaitu asam benzoat sebagai pengawet, natrium sakarin sebagai pemanis sintesis dan kafein sebagai pemberi efek stimulan.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bahan baku standar/pembanding asam benzoat, natrium sakarin, dan kafein, kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), Natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ), asam asetat glasial, amonium asetat *p.a*, Metanol *HPLC grade*, *aquades ultra pure* (UP), dan sampel minuman ringan.

### Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat KCKT (Shidmadzu) dengan kolom C-18 (150 . 4,6 mm) dan detektor UV-Vis, pH meter, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), neraca analitik, pengaduk ultrasonik, saringan filter eluen (0,45  $\mu\text{m}$ ) dan sampel (0,2  $\mu\text{m}$ ) serta peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

### Prosedur Kerja

Sebanyak 0,1000 g asam benzoat, natrium sakarin, dan kafein dilarutkan dalam 100 mL akuades UP untuk mendapatkan larutan induk 1000 mg/L. Ketiga larutan dengan konsentrasi masing-masing 10 mg/L diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm dan ditentukan panjang gelombang untuk analisis.

Campuran ketiga larutan diinjeksikan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  ke dalam kolom KCKT dengan laju alir 1 mL/menit menggunakan fasa gerak campuran dari metanol dan bufer fosfat pH 4,0 ; 4,5 ; 5,0 ; 5,5 ; 6,0 dengan komposisi metanol dan bufer fosfat (10:90) pada panjang gelombang analisis yang telah ditentukan sebelumnya. Selanjutnya ditentukan pH bufer fosfat yang menghasilkan pemisahan paling baik. Campuran larutan asam benzoat, natrium sakarin, dan kafein diinjeksikan sebanyak 20  $\mu\text{L}$  ke dalam kolom KCKT dengan laju alir 1 mL/menit menggunakan komposisi fasa gerak metanol dan bufer fosfat 12,5:87,5 ; 15:85 dengan pH bufer fosfat yang telah ditentukan sebelumnya pada panjang gelombang analisis. Selanjutnya ditentukan komposisi fasa gerak yang menghasilkan pemisahan paling baik. Kurva kalibrasi dibuat dari sederetan larutan standar berdasarkan konsentrasi (mg/L) dan luas puncak. Kemudian ditentukan kadar ketiga senyawa tersebut dalam sampel minuman ringan.

Penentuan standar deviasi relatif dilakukan sebanyak 6 kali pengulangan menggunakan kondisi optimum analisis. Penentuan perolehan kembali dilakukan dengan menggunakan sampel yang telah diketahui konsentrasinya kemudian

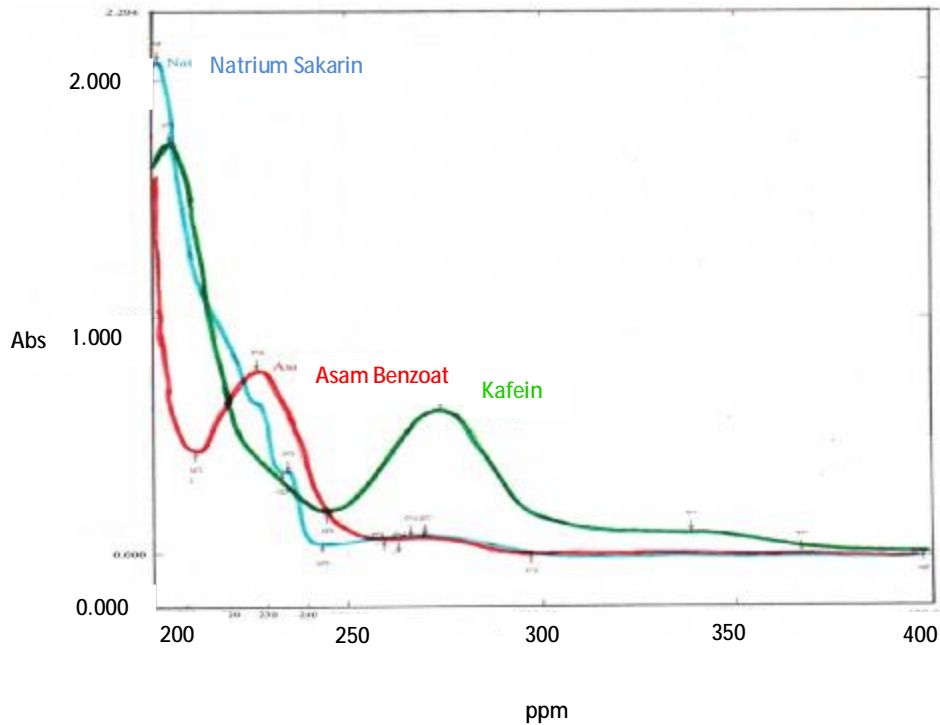
dilakukan adisi standar dengan konsentrasi tertentu.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Penentuan Panjang Gelombang Optimum Secara Spektrofotometri UV**

Penentuan panjang gelombang optimum atau panjang gelombang kompromis dari ketiga senyawa ini digunakan untuk melihat pada panjang

gelombang berapakah senyawa asam benzoat, natrium sakarin dan kafein dapat memberikan penyerapan yang baik sehingga pemisahan dapat digunakan pada metoda KCKT. Dari hasil pengukuran didapatkan panjang gelombang optimum yang dapat digunakan untuk pemisahan dengan metoda KCKT yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum UV Optimum Pemisahan Asam Benzoat, Natrium Sakarin dan Kafein dengan konsentrasi masing-masing 10 mg/L, dengan λ 200-400 nm

Dari spektrum serapan asam Benzoat, natrium sakarin dan kafein di atas dapat dilihat bahwa pada panjang gelombang 220 nm, masing-masing komponen dapat menyerap dengan baik sehingga panjang gelombang 220 nm dapat dijadikan sebagai panjang gelombang optimum pemisahan. Jika panjang gelombang optimum yang digunakan untuk pemisahan berada di bawah 220 nm, maka serapan kafein akan menjadi kecil sedangkan jika panjang gelombang optimum pemisahan berada di atas 220 nm, maka serapan natrium

sakarin dan asam benzoat akan menjadi kecil.

**Pengaruh pH Bufer Fosfat Sebagai Komponen Fasa Gerak**

Penentuan kondisi optimum pemisahan senyawa asam benzoat, natrium sakarin dan kafein dilakukan pada pH 4 ; 4,5 ; 5 ; 5,5 dan 6 yang masing-masing dengan komposisi fasa gerak metanol : bufer fosfat adalah 10 : 90 dengan laju alir 1 mL/min, yang dilakukan pemisahan dengan metoda KCKT pada panjang

gelombang 220 nm dengan kolom C18 (150 . 4,6 mm i.d) dengan volume injeksi 20 µL dan waktu retensi 30 menit. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan waktu retensi data pemisahan di atas didapatkan bahwa pH 4,0 dan 4,5 memberikan pemisahan yang baik ditandai dengan munculnya ketiga senyawa sedangkan pada pH 5,0 hanya muncul dua senyawa dan pada pH 5,5 dan 6,0 senyawa ini tidak muncul. Apabila dilihat berdasarkan waktu retensi, yang memberikan waktu retensi yang lebih cepat adalah pada pH 4,5. Oleh karena itu pH 4,5 dipilih sebagai pH yang baik untuk pemisahan.

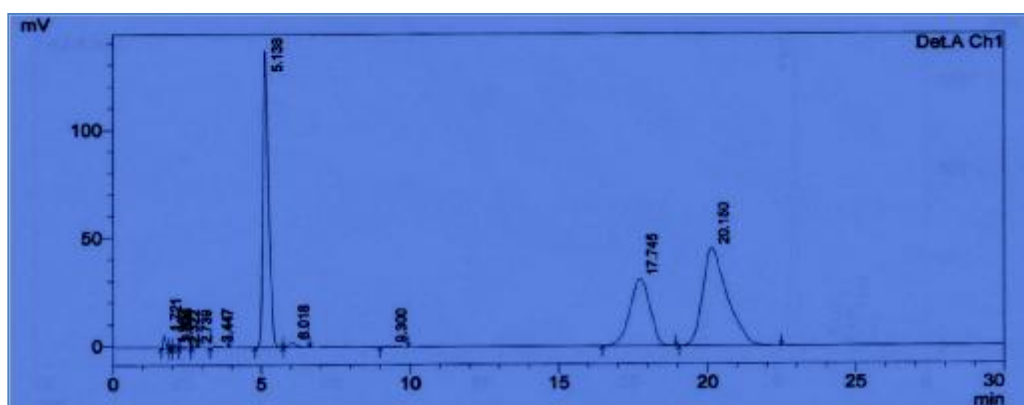
Tabel 1. Pengaruh pH bufer fosfat sebagai campuran fasa gerak terhadap waktu pemisahan asam benzoat, natrium sakarin, dan kafein dengan komposisi 10 : 90 dengan laju alir 1 mL/min

pH Bufer fosfat	Waktu Retensi (menit)		
	Natrium Sakarin	Asam Benzoat	Kafein

4,0	5,875	22,895	28,020
4,5	5,458	20,819	27,612
5,0	-	13,189	23,917
5,5	-	-	-
6,0	-	-	-

### Penentuan Komposisi Fasa Gerak Optimum

Tabel 1 menunjukkan bahwa pada komposisi fasa gerak metanol dengan bufer fosfat pH 4,5 (10 : 90) telah terjadi pemisahan yang baik. Akan tetapi ketiga senyawa ini masih mempunyai waktu retensi yang lama, maka untuk jumlah metanol yang lebih sedikit tidak perlu dilakukan pengukuran. Oleh karena itu jumlah metanol dinaikkan dan jumlah bufer dikurangi dengan komposisi fasa gerak 15 ; 85 ; 12,5 : 87,5 dengan panjang kolom (150 x 4,6 mm i.d) yang bertujuan untuk lebih menghemat waktu retensi dan didapatkan hasil pemisahan yang lebih baik dengan menggunakan metoda KCKT. Dari hasil pengukuran didapatkan kromatogram pemisahan optimum dengan komposisi 12,5 : 87,5 seperti Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram pemisahan asam benzoat (17,745), natrium sakarin (5,138), dan kafein (20,150) yang dilakukan pada panjang gelombang 220 nm, komposisi fasa gerak metanol : bufer fosfat (12,5:87,5) pada pH 4,5, kolom C18(150 . 4,6 mm id)

Perbandingan waktu retensi dan luas puncak dari asam benzoat, natrium sakarin, dan kafein pada berbagai komposisi fasa gerak metanol : bufer fosfat 15 : 85 , 12,5 : 87,5 dan 10 : 90 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa waktu retensi yang lebih cepat adalah dengan komposisi campuran fasa gerak 15 : 85, tapi puncak yang dihasilkan ada dua puncak padahal sebenarnya campuran

senyawa didalamnya ada tiga. Hal ini terjadi karena bersatunya puncak antara asam benzoat dengan kafein yang dapat dilihat pada luas puncak yang naik dua kali lipat. Komposisi fasa gerak 10 : 90 dengan 12,5 ; 87,5 ternyata yang memberikan waktu retensi yang lebih cepat dan pemisahan yang lebih baik adalah

komposisi campuran metanol dengan bufer fosfat adalah pada campuran 12,5 : 87,5. Oleh karena itu, komposisi fasa gerak 12,5:87,5 dipilih sebagai komposisi fasa gerak optimum untuk pemisahan asam benzoat, natrium sakarin dan kafein.

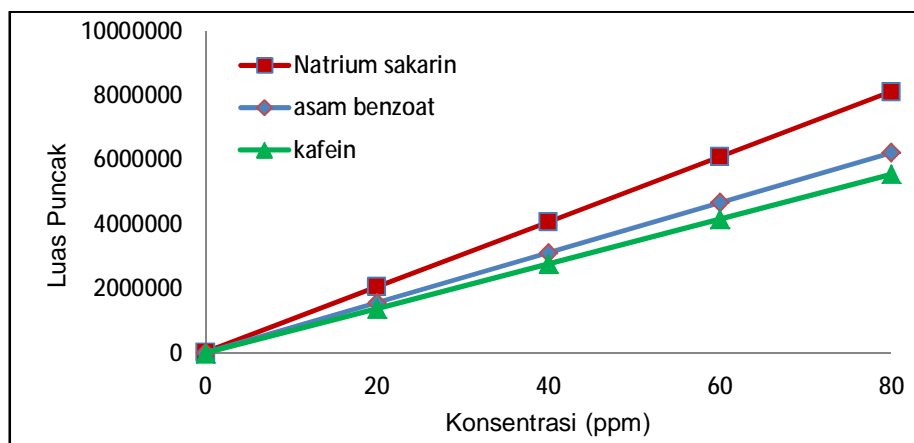
Tabel 2. Perbandingan waktu retensi dan luas puncak dari asam benzoat, natrium sakarin dan kafein pada berbagai komposisi fasa gerak metanol : bufer fosfat

Fasa Gerak ( Metanol : Bufer Posfat pH 4,5)	Natrium Sakarin		Asam Benzoat		Kafein	
	Waktu Retensi	Luas Puncak	Waktu Retensi	Luas Puncak	Waktu Retensi	Luas Puncak
10 : 90	5,458	1.844.744	20,646	1.455.891	27,612	2.628.229
12,5 : 87,5	5,138	1.779.567	17,745	1.438.102	20,150	2.583.290
15 : 85	4,385	1.838.255	14.848	4.128.347	-	-

**Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Benzoat, Natrium Sakarin dan Kafein**

pada kondisi optimum pH 4,5 dengan campuran 12,5 : 87,5 dapat dilihat gambar kurva kalibrasi pada Gambar 3.

Hasil pengukuran deretan larutan standar asam benzoat, natrium sakarin dan kafein



Gambar 3. Kurva kalibrasi (♦ asam benzoat, ■ natrium sakarin, ▲ kafein)

Berdasarkan hasil pengukuran, didapatkan persamaan regresi dari asam benzoat adalah  $Y = 18839,8 + 77563,205x$  dengan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) = 0,9996. Persamaan regresi dari Natrium Sakarin adalah  $Y = 44046,6 + 100881,62x$  dengan nilai  $R^2$  adalah 0,9996. Persamaan regresi dari kafein adalah  $Y = 1340 + 69370,35x$  dengan nilai  $R^2$  adalah 0,9996. Menurut metoda AOAC nilai koefisien determinasi) yang didapatkan ini telah memenuhi standar yang ditetapkan, yaitu

0,9990. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa telah terjadi hubungan yang linier antara konsentrasi asam benzoat, natrium sakarin dan kafein dengan luas puncak pada kromatogram.

**Penentuan Kadar Asam Benzoat, Natrium Sakarin dan Kafein dalam Sampel Minuman Ringan**

Pada penentuan asam benzoat, natrium sakarin dan kafein di dalam sampel

minuman ringan digunakan empat buah jenis sampel yang telah dilakukan perlakuan awal sebelum diukur dengan menggunakan metoda KCKT, dimana kondisi yang digunakan adalah kondisi optimum yang didapatkan yaitu dengan pH 4,5 dan komposisi fasa gerak 12,5 : 87,5 dimana sampel yang dipipet sebanyak 5 ml dan diencerkan sampai volume 10 ml. Kromatogram dari masing-masing sampel dapat dilihat pada Gambar 2.

Data pengukuran empat jenis sampel yang diukur sebanyak dua kali, berdasarkan luas puncak dan besarnya konsentrasi masing-masing standar di dalam sampel dapat dilihat pada Tabel 3. Dari data pengukuran dan perhitungan pada semua sampel tidak terdapat natrium sakarin sebagai pemanis buatan. Untuk sampel B dan D terdapat asam benzoat dimana kandungan yang paling tinggi terdapat pada sampel B yaitu 140 mg/L sedangkan pada sampel D kandungannya adalah 102 mg/L. Untuk kafein sebagai pemberi efek stimulan bagi tubuh terdapat pada semua jenis sampel dimana kandungan yang paling tinggi terdapat pada sampel D yaitu 120 mg/L sedangkan kandungan yang paling rendah pada sampel B sebesar 92 mg/L. Kadar asam benzoat, natrium sakarin dan kafein yang ditemukan pada sampel semuanya tidak melebihi batas maksimum yang diizinkan yaitu berdasarkan SNI 01-0222-1995 untuk natrium sakarin dan asam benzoat serta SNI 01-6684-2002 untuk kafein.

Tabel 3. Konsentrasi natrium sakarin, asam benzoat dan kafein di dalam sampel minuman ringan.

Nama Sampel	Konsentrasi (mg/L)		
	Natrium Sakarin	Asam Benzoat	Kafein
Sampel A	-	-	93
Sampel B	-	140	92
Sampel C	-	-	105
Sampel D	-	102	120

#### Penentuan Nilai Standar Deviasi Relatif (SDR) dari masing-masing Senyawa

Penentuan standar deviasi relatif (SDR) bertujuan untuk melihat ketelitian suatu metoda pada kondisi operasi yang sama dalam interval waktu yang tidak lama. Penentuan nilai standar deviasi dari asam benzoat, natrium sakarin dan kafein dilakukan pada konsentrasi 40 mg/L dengan enam kali pengulangan. Metoda yang dijadikan acuan dalam penentuan nilai standar deviasi ini adalah metoda AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*), dimana nilai standar deviasi untuk konsentrasi 40 mg/L yang berada dalam range 100 mg/L adalah kecil dari 5 % . Nilai standar deviasi relatif dari masing-masing senyawa ditentukan berdasarkan waktu retensi dan area seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai Standar Deviasi Relatif Dari masing-masing senyawa

Nama Senyawa	Standar Deviasi Relatif (%)	
	Waktu Retensi	Luas Puncak
Natrium Sakarin	0,16	0,21
Asam Benzoat	0,37	0,59
Kafein	0,38	0,60

Dari Tabel 4 di atas, dapat diketahui bahwa nilai standar deviasi relatif yang diperoleh untuk natrium sakarin adalah 0,16% berdasarkan waktu retensi dan 0,21% berdasarkan area. Nilai standar deviasi relatif asam benzoat adalah 0,37% berdasarkan waktu retensi dan 0,59% berdasarkan area. Nilai standar deviasi relatif kafein adalah 0,38% berdasarkan waktu retensi dan 0,60% berdasarkan area. Nilai standar deviasi relatif yang diperoleh memenuhi syarat dari metoda AOAC yaitu lebih kecil dari 5,3% sehingga dapat dikatakan bahwa metoda ini sudah cukup teliti.

#### Pengaruh Komposisi Fasa Gerak Terhadap Hasil Analisis

Pada penelitian ini juga dipelajari pengaruh komposisi fasa gerak terhadap hasil analisis Natrium Sakarin, Asam benzoat dan Kafein, dimana juga digunakan komposisi fasa gerak metanol :

bufer asetat dengan perbandingan 1 : 9, dengan pH 5,5 dan panjang gelombang 230 nm. Berdasarkan hasil pengukuran, didapatkan nilai regresi natrium sakarin  $y = 30.796,8 + 45.826,44 x$  dengan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) 0,9996. Asam benzoate;  $y = 46.590,8 + 64.891,355 x$  dengan nilai  $R^2$  0,9994. Kafein;  $y = 66.513 + 30.971,87 x$  dengan nilai  $R^2$  0,9844. Nilai standar deviasi relatif yang diperoleh untuk natrium sakarin adalah 0,1485% berdasarkan waktu retensi dan 0,5663% berdasarkan luas puncak. Nilai standar deviasi relatif asam benzoat adalah 0,1142% berdasarkan waktu retensi dan 0,9563% berdasarkan luas puncak. Nilai standar deviasi relatif kafein adalah 0,0860% berdasarkan waktu retensi dan 0,9402% berdasarkan luas puncak.

Hasil yang diperoleh dari komposisi campuran metanol : bufer asetat ini juga telah memenuhi syarat dari metoda AOAC. Dari hasil nilai regresi dan standar deviasi dapat disimpulkan bahwa komposisi campuran fasa gerak metanol : bufer posfat lebih memberikan hasil nilai regresi dan standar deviasi dari komposisi campuran fasa gerak metanol : bufer asetat sehingga komposisi campuran fasa gerak metanol : bufer posfat dapat dikatakan memiliki ketelitian metoda yang baik dibandingkan komposisi campuran metanol : bufer asetat.

#### Penentuan Perolehan Kembali (Recovery)

Penentuan perolehan kembali dilakukan bertujuan untuk mengetahui tingkat ketepatan metoda yang dilakukan dengan cara membandingkan konsentrasi sampel setelah adisi (penambahan) dengan sejumlah konsentrasi standar dan sampel. Nilai perolehan kembali menurut standar AOAC untuk konsentrasi yang berada didalam range 100 ppm adalah 90-107 % berarti menunjukkan tingkat kesesuaian dari rata-rata suatu pengukuran yang sebanding dengan nilai sebenarnya. Hasil perolehan kembali dan perhitungannya untuk asam benzoat, natrium sakarin dan kafein dapat dilihat pada Tabel 5.

Dari Tabel 5, didapatkan hasil pengukuran persen perolehan kembali

untuk standar asam benzoat adalah 100,82%, natrium sakarin adalah 94,92 % dan kafein adalah 90,32 %. Dari hasil persen perolehan kembali, nilai yang didapatkan memenuhi syarat metoda AOAC sehingga dapat dikatakan bahwa metoda ini memiliki ketepatan metoda yang cukup baik.

Tabel 5. Hasil Perolehan Kembali asam Benzoat, natrium sakarin dan kafein.

Jenis Standar	Perolehan Kembali (%)
Natrium Sakarin	94,92
Asam Benzoat	100,82
Kafein	90,32

#### KESIMPULAN

Kondisi optimum penentuan asam benzoat, natrium sakarin dan kafein yang didapatkan adalah dengan komposisi fasa gerak metanol : bufer fosfat (1 : 7), pada panjang gelombang 220 nm dengan pH 4,5. Jumlah asam benzoat, natrium sakarin dan kafein yang terkandung dalam masing-masing sampel, dimana natrium sakarin tidak terdapat pada semua sampel, asam benzoat tidak terdapat pada sampel A dan C dan pada sampel B dengan kadar tertinggi sebesar 140 mg/L. Kadar kafein terdapat pada semua sampel dengan kadar tertinggi terdapat pada sampel D sebesar 120 mg/L, dimana kadarnya tidak melebihi batas maksimum yang diizinkan menurut SNI 01-0222-1995 untuk natrium sakarin dan asam benzoat serta SNI 01-6684-2002 untuk kafein.

Nilai standar deviasi dari masing-masing standar berdasarkan waktu retensi dan area berturut-turut sebagai berikut: natrium sakarin 0,16% dan 0,21%, asam benzoat 0,37% dan 0,59%, serta kafein 0,38% dan 0,60%. Nilai perolehan kembali dari masing-masing standar yaitu asam benzoat 100,82%, natrium sakarin 94,92%, dan kafein 90,32%. Hasil % SDR dan perolehan kembali ketiga senyawa ini memenuhi persyaratan metoda AOAC, (*Association of Official Analytical Chemists*).

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2002. AOAC Guidelines for Single Laboratory [http://www.aoac.org/Official\\_Methods/slv\\_guidelines.pdf](http://www.aoac.org/Official_Methods/slv_guidelines.pdf), 19/12/2002. Diakses 02/07/2011.
- Braun, R.D., 1983. Introduction to Instrumental Analysis, MC Graw Hill International, Louisiana.
- Cahyadi, W., 2006. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan, Bumi Aksara. Jakarta.
- Day, R.A. dan A.L. Underwood., 1989. Analisa Kimia Kuantitatif. Erlangga. Jakarta.
- Direktorat Jenderal POM, 1995. Farmakope Indonesia. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Gitter, J.R., M. J. Bobbit, dan E. A. Schwarting, 1991. Kromatografi. [Terjemahan], K. Padmawinata, ITB, Bandung.
- Harmita, 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metoda dan Cara Penghitungannya. Majalah Ilmu Kefarmasian, 1(3): 114 – 135.
- Heftman, E., 1992. Chromatography, Part A Fundamental and Techniques, Elsevier. Amsterdam.
- Jacobson, M., 2000. How Soft Drinks are Harming Americans Health. 25/12/2000. Diakses 15/01/2011.
- Khopkar, S.M., 2008. Konsep Dasar kimia Analitik, Terjemahan A. Saptorahardjo dan A. Nurhadi, UI Press. Jakarta..
- Kroger, M., K. Meister, dan R. Kava, 2006. Low Calorie Sweeteners and Other Sugar Substitutes: A Review of Safety Issues, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety (CRFSFS), 5: 35-47.
- Misra, D.H., B.K. Mehta, M. Soni dan D.C. Jain, 2008. Study of Extraction and HPTLC–UV Method for Estimation of Caffeine in Marketed Tea (*Camellia sinensis*) Granules. International Journal of Green Pharmacy, 3(1) : 47-51, (2008).
- Mokhtar, H. dan N. Ahmed, 2000. Tea Polyphenols: Prevention of Cancer and Optimizing Health. American Journal Clinique Nutrition. Suppl, 71: 16985–17028.
- Mulja, M., 1995. Analisis Instrumental. ITB. Bandung.
- Mumin, A., F.A. Kazi, A. Zainal, dan H. Zakir, 2006. Determination and Characterization of Caffeine in Tea, Coffee, and Soft Drink by Solid Phase Extraction and High Performance Liquid Chromatography (SPE–HPLC). Malaysian Journal of Chemistry, 8 : 45-51.
- Sianturi, 2001. Kafein dan Minuman Kesehatan, (<http://www.gizi.net/>), 03/12/2001. Diakses 13/01/2011.
- Widodo, R., 2008. Mengenal Minuman Ringan Berkarbonasi (Soft Drink). <http://www.untag-sby.ac.id/> 03/06/2008, diakses 13/01/2011.
- Wilson dan Gisvold, 1982. Textbook of Organic Medical and Pharmaceutical Chemistry. JB Lippincolt Company, Philadelphia.
- Winarno, F.G. 1997. Kimia Pangan dan Gizi, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.