

NARRATIVE REVIEW : METODE ANALISIS NEOTAM PADA MAKANAN DAN MINUMAN

Narrative Review : Neotam Analysis Methods in Food and Drink

Sri Kris Mulyaningrum¹, Indah Saraswati¹, Widyandani Sasikirana^{1*}

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

*Corresponding author : widyandani.sasikirana@live.undip.ac.id

ABSTRAK

Neotam merupakan pemanis sintesis derivat aspartam yang baru muncul di pasaran pada tahun 2002 dan biasa ditambahkan pada produk pangan. Analisis kandungan neotam merupakan hal yang penting dilakukan untuk menjamin kualitas dan keamanan produk pangan. Tujuan review ini yaitu untuk mengetahui kekurangan dan kelebihan tiap metode analisis neotam dalam sampel makanan dan minuman, serta mengetahui metode yang dapat menghasilkan nilai-nilai validasi paling baik pada analisis kandungan neotam dalam sampel makanan dan minuman. Dalam penelitian ini dilakukan narrative review metode analisis neotam untuk menyajikan rangkuman data secara naratif. Pencarian artikel penelitian dilakukan dengan menggunakan lima jenis database, yaitu *Science direct*, *SpringerLink*, *Google Scholar*, *PubMed*, dan *Scopus*. Artikel yang didapat dari ketiga database diseleksi menggunakan aplikasi Mendeley. Hasil pencarian literatur ditemukan 23 artikel yang sesuai dengan kriteria inklusi penelitian. Pengembangan metode analisis neotam dalam sampel makanan dan minuman di antaranya yaitu metode kromatografi cair dengan instrumen HPLC dan UHPLC, metode *Capillary Zone Electrophoresis*, serta metode spektrofotometri UV-Vis. Metode analisis neotam terbaik dapat dilihat dari berbagai aspek. Berdasarkan aspek kualitas metode, meliputi nilai-nilai validasi, metode analisis neotam terbaik yaitu metode kromatografi cair dengan instrumen UHPLC-MS.

Kata Kunci: UV-Vis, HPLC, elektroforesis

ABSTRACT

Neotame is a synthetic aspartame-derived sweetener that appeared on the market in 2002 and is commonly added in food product. Neotame analysis is an important thing to do to ensure the quality and safety of food product. The purpose of this review is to find out the advantages and disadvantages of each method of neotame analysis and the method which can provide best validation on neotame analysis in food and beverage samples. In this study, a narrative review of neotame analysis methods is carried out to present a summary of data in a narrative manner. Article searches using five databases, there are Science direct, SpringerLink, Google Scholar, PubMed, and Scopus. Article obtained from the five databases were selected using Mendeley application. The result of the search found 23 articles that matched the research inclusion criteria. Development of neotame analytical methods in food and beverage samples including the chromatographic method with the HPLC and UHPLC instrument, capillary zone electrophoresis method, and spectrophotometry UV-Vis method. The best analysis method can be seen from various aspect. Based on the quality aspect, including validation values, the best neotame analytic method is the liquid chromatography method with UHPLC-MS instrument.

Keywords: UV-Vis, HPLC, electrophoresis

PENDAHULUAN

Neotam merupakan pemanis sintesis derivat aspartam yang muncul di pasaran sejak tahun 2002 (Prakash, et al., 2002). CSPI (*Center for Science in the Public Interest*) menyatakan bahwa neotam merupakan pemanis sintesis yang aman, tidak menimbulkan afek samping bagi penderita diabetes tipe 2, bahkan pada asupan di bawah ADI tidak dianggap karsinogenik atau mutagenik. Meski terbilang aman, konsumsi neotam yang berlebih tetap dapat membahayakan kesehatan. Bahaya neotam berasal dari tiga senyawa metabolitnya yaitu fenilalanin, asam aspartat, dan metanol. Fenilalanin pada wanita hamil dapat menyebabkan kecemasan dan tekanan darah tinggi, asam aspartat dapat merusak sel-sel otak, serta metanol di dalam tubuh akan mengalami metabolisme menjadi formaldehid yang bersifat karsinogenik (Pajor & Gibes, 2000).

Neotam tergolong senyawa baru. Oleh karena itu, pengembangan metode analisis neotam harus terus dilakukan untuk mendapatkan metode terbaik. Pada studi ini dilakukan *narrative review* metode analisis neotam untuk mengetahui kekurangan dan kelebihan tiap metode analisis neotam pada makanan dan minuman serta menentukan metode terbaik yang dapat digunakan sebagai referensi dalam pengembangan metode analisis neotam berikutnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode kajian literatur naratif. Kajian literatur naratif akan menjelaskan apa yang telah dilakukan dalam artikel-artikel literatur secara deskriptif yang sesuai dengan topik dan tujuan penelitian. Pencarian literatur penelitian dilakukan menggunakan metode sistematis pada digital library dengan membatasi tanggal publikasi hingga April 2021. Pencarian artikel penelitian dilakukan dengan menggunakan lima jenis database, yaitu Google Scholar, PubMed,

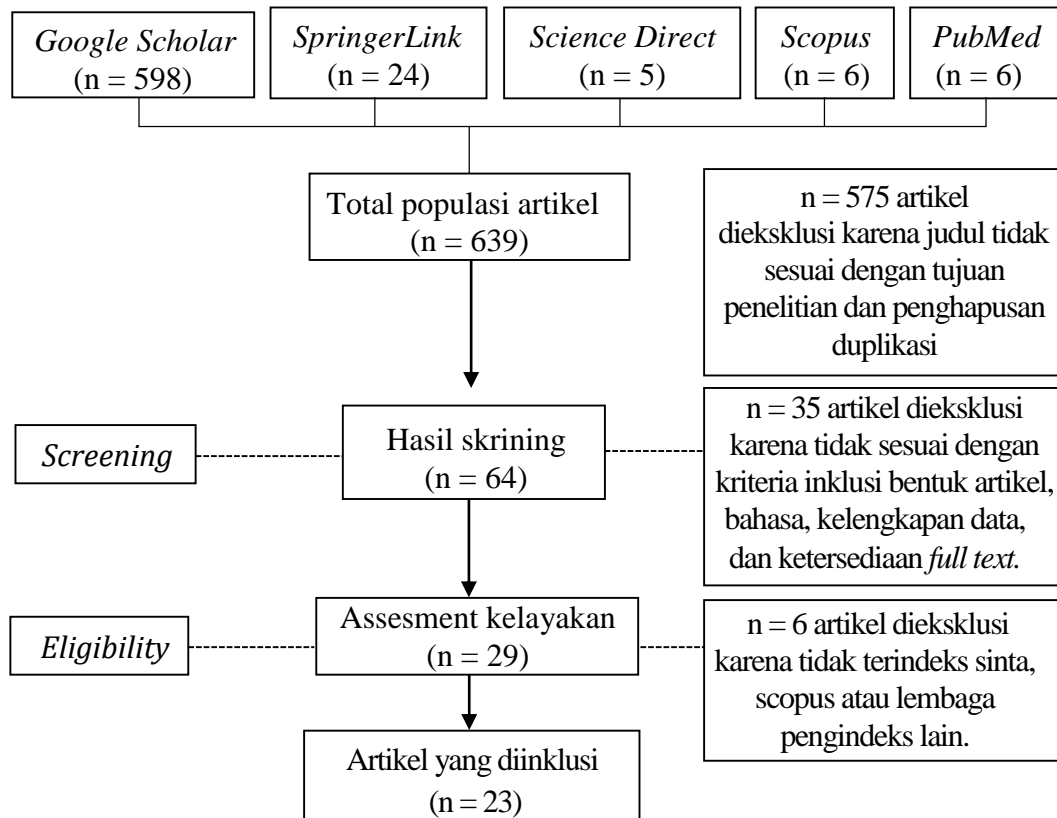
SpringerLink, Science Direct dan Scopus. Kata kunci yang digunakan adalah *Development, Determination, Quantification, Validation*, dan *Neotame*. Kriteria inklusi di antaranya yaitu : sumber literatur berupa artikel penelitian yang telah dipublikasikan dalam jurnal nasional atau internasional, iteratur yang tersedia full text, menggunakan Bahasa Indonesia atau Inggris, terindeks Sinta 1 - 2 untuk jurnal nasional dan terindeks scopus atau lembaga pengindeks lain untuk jurnal internasional, serta artikel dipublikasikan hingga April 2021. Sementara kriteria eksklusi di antaranya yaitu penelitian hanya berupa analisis kuantitatif neotam dalam sampel, tidak ada validasi metode, penelitian *grey article* dan *review article*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 menunjukkan bahwa ditemukan 23 artikel yang sesuai dengan kriteria inklusi penelitian. Dari 23 artikel tersebut terdiri dari berbagai macam metode analisis yang digunakan yaitu metode kromatografi cair dengan instrument HPLC dan UHPLC, spektrofotometri, serta *cappillary zone electrophoresis*.

High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) dan Ultrapure High Pressure Liquid Chromatography (UHPLC)

Metode ini sering digunakan karena mampu memberikan hasil dengan sensitivitas dan selektivitas yang tinggi dalam waktu yang cepat sehingga dapat menghemat waktu dan biaya analisis. Metode-metode dengan HPLC dan UHPLC yang dikembangkan untuk menganalisis neotam bervariasi, perbedaan tiap metode terletak pada cara preparasi sampel, kondisi analisis, atau detektor yang digunakan.



Gambar 1. Diagram alir pencarian literatur

Preparasi larutan standar pada berbagai metode analisis neotam berbasis HPLC/UHPLC dengan detektor MS dilakukan dengan cara yang sama yaitu melarutkan neotam pada deionized water. Preparasi sampel dilakukan secara sederhana maupun kompleks. Preparasi sederhana yaitu dengan ultrasonifikasi, sentrifugasi, dan filtrasi. Sementara metode yang lebih kompleks menggunakan SPE (*Solid Phase Extraction*). Dalam analisis menggunakan detektor massa, analit neotam diionisasi menggunakan *elecrospray ionization* menjadi senyawa dalam bentuk ion sehingga dapat terdeteksi oleh detektor massa. Berdasarkan *MassBank High Quality Mass Spectral Database* dalam NCBI, ionisasi neotam akan menghasilkan mode ion positif dengan tipe ion $[M^+H^+]^+$ dan nilai m/z 379,2224 (*National Center of Biotechnology Information*, 2021). Sebagian besar metode analisis

neotam dengan HPLC-MS atau UHPLC-MS yang diulas memiliki nilai rasio massa terhadap muatan 377 m/z untuk ion prekursor dan 200 m/z untuk ion produk. Tabel 1 dan Tabel 2 menunjukkan bahwa metode dengan UHPLC-MS memiliki kelebihan dibanding HPLC-MS yaitu sensitivitas yang lebih tinggi. Nilai LoD terkecil UHPLC-MS 0,06 $\mu\text{g/L}$ (Jia, et al., 2014) sementara nilai LoD terkecil HPLC-MS yaitu 0,1 $\mu\text{g/L}$ (Chang & Teh, 2013). Kolom UHPLC memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dari kolom HPLC. Sesuai dengan prinsip *Van Deemter*, ukuran partikel yang lebih kecil memberikan luas permukaan absorpsi yang lebih besar sehingga terjadi peningkatan efisiensi kolom, peningkatan laju alir, resolusi, dan sensitivitas lebih tinggi karena puncak yang lebih tajam dan tinggi, serta mempersingkat waktu analisis (Gumustas, et al., 2013).

Tabel 1. Metode dan Hasil Validasi dengan HPLC dan UHPLC (detektor PDA dan UV)

Metode	Fase diam	Fase gerak	Deteksi			Nilai Validasi		
			PDA	UV	LoD	LoQ	r ²	Rec; RSD (%)
Sezgin (2021) HPLC	Kolom C18 (2,7 µm, 100 mm x 4,6 mm id)	ACN : buffer fosfat (25mM, pH 3,00) : air (2 : 40: 48, v/v)	210 nm	-	0,14 mg/L	0,45 mg/L	1,0	Liquid (10 mg/L): 100,25; 0,74 Semi-liquid (10 mg/L): 100,73; 0,55 Solid (10 mg/L): 0,98; 99,56
Kumari (2016) HPLC	Kolom C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm)	0,09% TFA dalam ACN : 0,09% TFA dalam air (60 : 40, v/v)	210 nm	-	0,25 mg/kg	0,5 mg/kg	1,0	Kue (25 mg/l) : 97,98; 1,86 Es krim : (20 mg/l) : 98,54; 1,43
Dajing Yang (2014) HPLC	Kolom 1: C18 (5 µm, 4,6 x 150 mm) Kolom 2: 5ODS- 3 (5 µm, 4,6 x 100 mm)	Asam fosfor + <i>ultrapure water</i> + asetoneitril (3,5 : 700 : 300 ml) A : 2,5 mmol/L ammonium asetat dan 0,01% TFA dalam air B : 2,5 mmol/L ammonium asetat dan 0,01% TFA dalam ACN	-	210 nm	0,2 mg/kg	0,5 mg/kg	0,999	Minuman: 94; 3,4 Buah siap makan: 92; 4,8 Teh : 94; 1,7 Jus : 102; 2,9 Kue: 98; 4,8
Zhao (2012) HPLC	Kolom C18 (5 µm, 4,6 x 250 mm)	A : 2,5 mmol/L ammonium asetat dan 0,01% TFA dalam air B : 2,5 mmol/L ammonium asetat dan 0,01% TFA dalam ACN	-	210 nm	0,19 mg/L	0,63 mg/L	0,9991	80,2; 5,1
Dias (2014) UHPLC	Kolom C18 (2,1 mm x 50 mm, 1,9 µm)	A: natrium fosfat 5 mmol/L dalam air; B: ACN	192 nm	-	0,178 µg/mL	0,446 µg/mL	0,9475	Standar (1,2 µg/mL): Teh: 96,8; 5,07 Softdrink: 103,4; 5,07 Madu: 97,5; 6,04 Jus: 96,8; 4,85 Puding: 95,2; 1,94 Selai: 88,5; 1,06 Saus barbeque: 111,3; 1,06 Saus tomat: 99,1; 1,06
Lorenzo (2015) UHPLC	<i>Analytical column</i> C18 (50 mm x 2,1 mm, 1,7 µm) dengan <i>Guard column</i> C18 Guard Cartridge (2,1 mm)	ACN dan buffer fosfat pH 6	210 nm	-	-	100 ng/mL	0,9995	Standar (0,1 µg/mL) : 101,2; 2,3

Selain detektor massa, detektor UV-Vis juga digunakan untuk analisis neotam. Salah satu syarat suatu analit dapat dianalisis dengan detektor UV-Vis adalah memiliki gugus kromofor atau aoksokrom. Neotam merupakan senyawa yang memiliki gugus kromofor benzena namun tidak memiliki gugus aoksokrom (*National Center of Biotechnology Information*, 2021). *Photodiode Array* merupakan detektor yang memiliki prinsip deteksi sama seperti UV-Vis dengan

kemampuan deteksi analit pada banyak panjang gelombang sekaligus. Metode analisis menggunakan detektor UV dilakukan pada panjang gelombang 210 nm dan fase gerak yang digunakan di antaranya yaitu campuran asam fosfor, air, dan asetoneitril (Yang & Chen, 2010), ammonium asetat, asam trifloroasetat, asetoneitril, dan air (Zhao, et al., 2013), asam trifloroasetat, asetoneitril, dan air (Kumari, et al., 2016), serta buffer fosfat, asetoneitril, dan air (Sezgin, et al., 2021).

Tabel 2. Metode dan Hasil Validasi dengan HPLC (detektor MS)

Metode	Fase diam	Fase gerak	Deteksi MS		LoD	LoQ	r ²	Nilai Validasi Rec; RSD (%)
			Prec. ion	Prod. ion				
Chang (2014)	Kolom Phenyl-Hexyl (5 µm, 4,6 x 150 mm)	A : 10 mM ammonium asetat dalam <i>deionized water</i> ; B : 10 mM ammonium asetat dalam metanol	379 m/z	172 m/z	-	0,1 µg/g	0,9985	Bir tanpa warna (0,5 µg/g): 107; 4,2, Jambu biji kering (1,0 µg/g): 80; 6,9
Gao (2013)	Kolom C18 (3,5 µm, 2,1 x 150 mm)	A : metanol; B : 20 mM ammonium asetat; C : ACN	377,2 m/z	200,1 m/z	0,6 µg/g	-	0,9993	98,8; 5,4
Hwang (2018)	Kolom C18 (2,5 µm, 2,0 x 100 mm)	A : 10 mM ammonium asetat pada <i>deionized water</i> ; B : 10 mM ammonium asetat pada metanol	379,3 m/z	172 m/z	0,02 mg/kg	0,06 mg/kg	0,9978	Standar (10 mg/kg): 97,5; 1,85
Ho so lim (2013)	Kolom BPS C18 (5 µm, 3,0 x 250 mm)	A : Metanol + buffer pH 5,0 + aseton (69 : 24 : 7, v/v/v); B : Metanol + buffer pH 5,0 + aseton (11 : 82 : 7, v/v/v) Campuran metanol : larutan buffer (asam format + TEA + air) : aseton	377 m/z	199,9 m/z	0,001 µg/mL	0,003 µg/mL	0,998	Standar (10 mg/mL): Permen: 5,1; 4,9 Yoghurt: 97,2; 2,5 Minuman: 99,0; 3,5
Dajin Yang (2009)	C18 Silica (5 µm, 4,5 x 250 mm)	A: (69 : 24 : 7, v/v); B : (11 : 82 : 7, v/v)	377 m/z	-	0,02 µg/mL	0,05 µg/mL	0,9986	Standar (100 µg): 99,2; 3,5
Zyglar (2011)	Kolom C18 (5 µm, 3 x 250 mm)	A: Metanol + larutan buffer + aseton (69 : 24 : 7, v/v); B: Metanol + larutan buffer + aseton (11 : 82 : 7, v/v)	377 m/z	-	0,005 µg/mL	0,02 µg/mL	0,9993	Kola (10 µg/mL): 87,6; 0,2 Yoghurt (16 µg/mL): 100,0; 3,3 Asinan ikan (10 µg/mL): 90,3; 8,9
Lorenzo (2015)	Kolom C8 (150 mm x 4,6 mm, 5 µm) dengan <i>security guard cartridge</i> (4,6 mm x 12,5 mm, 5 µm)	A: 20 mmol/L amonium asetat dalam air B: 20 mmol/L amonium asetat dalam metanol	377,2 m/z	199,9 m/z	-	0,5 ng/mL	0,9998	Standar (10 ng/mL): 91,3; 7,5
Edgar (2013)	Kolom C18 (4 µm, 3 x 150 mm)	A: 5 mM ammonium asetat dalam air; B: etanol	377 m/z	200 m/z	0,05 mg/L	0,17 mg/L	0,9999	Standar (250 mg/L): Susu dan jus: 107; 4 Madu: 99; 4 Minuman berenergi: 104; 4 Bir dan buah: 108; 4 <i>Softdrink</i> : 108; 5

Keterangan:

Prec.ion = Precursor ion

Prod. Ion = Product ion

Sensitivitas detektor UV dan PDA untuk menganalisis neotam lebih rendah dari detektor massa. Hal ini disebabkan karena HPLC dengan detektor massa mampu mendeteksi neotam dengan kadar

terendah 0,001 µg/mL atau 0,1 µg/L (Lim, et al., 2013). Sementara HPLC dengan detektor UV atau PDA mampu mendeteksi neotam dengan kadar terendah pada 0,19 mg/L (Zhao, et al., 2013).

Tabel 3. Metode dan Hasil Validasi dengan UHPLC (detektor MS)

Metode	Fase diam	Fase gerak	Deteksi MS		Nilai Validasi			
			Prec. ion	Prod. ion	LoD	LoQ	r ²	Rec; RSD (%)
Wei Jia (2014)	C-18 Analytical column (10 mm x 2,1 mm, 2,6 µm) dengan C-18 Guard column (10 mm x 2,1 mm)	A: 0,1% asam format dan 4 mM ammonium format dalam air; B: 0,1% asam format dan 4 mM ammonium format dalam metanol	379,2 m/z	-	0,06 µg/kg	0,1 µg/kg	0,9992	Standar (%) : 96,7; 4,3
Hong Chen (2012)	Kolom ODS (2,2 µm, 2,0 x 100 mm)	A: 2,5 mmol/L amonium asetat dan 0,01% TFA dalam asetonitril B: 2,5 mmol/L amonium asetat dan 0,01% TFA dalam air	377,2 m/z	199,9 m/z	0,15 µg/L	0,50 µg/L	0,9993	Standar (1 µg/L) Minuman alami: 81,0; 1,3, Dry red wine: 79,8; 0,46, Demi-sec wine: 79,5; 2,0
Hiroaki (2015)	BEH C18 column (100 mm x 2,1 mm, 1,7 µm)	A: larutan 0,1% asam format B: ACN	377 m/z	200 m/z	0,06	0,1	0,9992	Minuman berkarbonasi (1 µg/mL): 98,8; 8,4 Kopi dengan susu (1 µg/mL): 108,7; 5,7

Keterangan:

Prec. ion = Precursor ion

Prod. Ion = Product ion

Sementara itu, hasil validasi yang berbeda jauh antara metode UHPLC-PDA dengan HPLC-MS adalah nilai LoQ. Nilai LoQ metode HPLC-MS yaitu 0,5 ng/mL sedangkan nilai LoQ metode UHPLC-PAD yaitu 100 ng/mL (Lorenzo, et al., 2015). Berdasarkan nilai LoQ tersebut, dapat diketahui bahwa metode dengan detektor MS lebih sensitif dari metode dengan detektor PDA. Hal ini terjadi karena pada penggunaan detektor MS analit neotam diionisasi secara sempurna sehingga detektor mampu mendeteksi senyawa dengan lebih kuat. Sedangkan, detektor PDA yang menggunakan sinar UV untuk analisis sampel hanya bisa mendeteksi senyawa yang mengandung gugus kromofor atau auksokrom. Neotam merupakan senyawa yang memiliki gugus kromofor namun tidak memiliki gugus auksokrom sehingga sinyal yang diteruskan ke detektor menjadi sedikit dan membuat metode kurang sensitif.

Spektrofotometri UV-Vis

Metode analisis neotam menggunakan spektrofotometri UV-Vis telah dikembangkan oleh

(Kurnia, et al., 2018). Uji kualitatif untuk melihat ada atau tidaknya neotam dalam suatu sampel dilakukan dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Fase diam dalam uji kualitatif berupa silika gel GF254 60 dan fase gerak berupa campuran n-butanol, asam asetat glasial, dan aquadest (6 : 1 : 1, v/v). Neotam merupakan senyawa yang tidak berwarna sehingga noda pemisahan pada plat KLT dapat dilihat menggunakan sinar UV 254 nm. Adanya residu fenilalanin dalam neotam dapat digunakan sebagai penanda hasil pemisahan KLT yaitu dengan disemprot menggunakan pereaksi warna ninhidrin. Reaksi yang terjadi akan mengubah neotam menjadi berwarna ungu karena adanya reaksi pembentukan imina dengan gugus fungsi ketamina sekunder (RC(=NR''R')) (Gonzales & Herrador, 2007). Nilai Rf yang didapat pada studi ini yaitu 0,725. Uji kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 210 nm.

Tabel 4. Kelebihan dan kekurangan metode-metode analisis neotam dari beberapa aspek

Aspek	HPLC	UHPLC	UV-Vis	CZE
Sensitifitas	tinggi	paling tinggi terutama untuk detektor MS	paling rendah	tinggi
Selektifitas dan spesifitas	tinggi	tinggi	paling rendah	tinggi
Akurasi	tinggi	tinggi	paling rendah	tinggi
Biaya operasi	paling tinggi	lebih rendah dari HPLC	paling rendah	lebih rendah dari HPLC dan UHPLC
Waktu analisis	lama	lebih singkat dari HPLC	singkat	singkat
Kemudahan mendapatkan instrumen	mudah	lebih sulit dari HPLC dan spektrofotometri	mudah	lebih sulit dari HPLC dan spektrofotometri
Kemudahan analisis	cukup rumit	cukup rumit	paling mudah	paling rumit
<i>Eco-friendly</i>	paling tidak ramah lingkungan	lebih ramah dari HPLC	ramah lingkungan	ramah lingkungan

Uji akurasi dilakukan menggunakan metode adisi standar dengan menambahkan 472,5 µg standar neotam ke dalam 200 mL larutan sampel (2,36 mg/L). Hasil uji akurasi yaitu didapat nilai recovery 81 – 120,2%. Angka ini sudah memenuhi syarat nilai recovery yang diterima untuk konsentrasi penambahan lebih dari 1 ppm dan kurang dari 10 ppm. Selain itu, hasil uji linieritas dan uji presisi metode ini juga sudah memenuhi syarat yang dapat diterima yaitu dengan nilai $RSD \leq 2$ dan nilai $r \geq 0,995$. Namun dalam artikel ini, gambar spektrum neotam dalam sampel tidak ditunjukkan sehingga tidak bisa dipastikan bahwa sampel yang dianalisis telah bebas dari pengganggu.

Capillary Zone Electrophoresis (CZE)

Pengembangan metode analisis neotam menggunakan metode Capillary Zone Electrophoresis (CZE) ini telah dilakukan oleh (Hu, Xu, Luan, & Gao, 2013). Pada metode ini digunakan kombinasi CZE detektor UV pada sampel minuman

tidak beralkohol. CZE adalah teknik pemisahan berdasarkan laju pergerakan partikel-partikel bermuatan dalam suatu medan listrik. Pemisahan dilakukan dalam suatu tabung kapiler yang berisi larutan buffer. Tabung berada di antara dua wadah buffer yang menyangga elektroda platina. Sampel diinjeksikan ke dalam tabung dan diberikan listrik bertegangan yang menyebabkan molekul-molekul bermuatan atau netral bergerak ke katoda.

Nilai validasi yang dihasilkan pada metode ini yaitu nilai r sama dengan 1, LoD 0,118 µg/mL, LoQ 0,395 µg/mL, recovery pada sampel kola 92,3 – 95,1% dengan penambahan analit 1 µg/mL, recovery pada sampel yoghurt 90,3 – 93,2% dengan penambahan analit 1,14 µg/mL, dan nilai RSD pada kedua sampel kurang dari 2. Nilai-nilai validasi metode ini sudah memenuhi kriteria yang dapat diterima menurut AOAC.

Dalam metode ini, deteksi dilakukan dengan UV. Penggunaan metode ini mempunyai kelebihan dari metode HPLC atau UHPLC, yaitu waktu

analisis yang lebih singkat dan tidak membutuhkan banyak pelarut/reagen sehingga metode ini lebih murah. Sementara itu, kelemahan metode CZE yaitu variasi kecil pada pH akan mempengaruhi muatan dan aliran molekul sehingga memberikan dampak yang besar.

KESIMPULAN

Metode kromatografi cair dengan HPLC dan UHPLC mampu menghasilkan akurasi yang baik namun membutuhkan biaya yang mahal dalam operasinya, metode spektrofotometri UV-Vis sederhana dan mudah dikerjakan namun akurasi metode kurang baik, sementara metode CZE mampu menghasilkan akurasi yang baik dan biaya operasi lebih murah namun rentan terhadap bias. Dalam studi ini, metode analisis neotam terbaik ditentukan berdasarkan aspek kualitas metode, yaitu metode yang dapat memberikan nilai-nilai validasi (sensitivitas, spesifitas, selektifitas, dan akurasi) paling baik. Berdasarkan ulasan, metode analisis neotam yang dapat memberikan nilai-nilai validasi paling baik yaitu metode kromatografi cair dengan UHPLC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

Chang, C. & Teh, T. (2013) 'Detection of 10 sweeteners in various foods by liquid chromatography/tandem mass spectrometry', *Journal Food Drug Analysis* 30, pp. 1-11. doi: 10.1016/j.jfda.2014.01.024

Chen, X.-H., Zhao, Y.-G., Shen, H.-Y. & Jin, M.-C. (2012) 'Application of dispersive solid- phase extraction and ultra-fast liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry in food additive residue analysis of red wine', *Journal Chromatography A*, 1263,

pp. 34-42. doi: 10.1016/j.chroma.2012.09.074

Dias, C. B., et al. (2015) 'Multivariate Optimisation and Validation of a Method for the Separation of Five Artificial Sweeteners by UPLC-DAD in Nine Food Matrices', *Food Analytical Methods*, 8(7), p. 1824. doi: 10.1007/s12161-014-0056-8

Gao, H. et al. (2013) 'Determination of 30 synthetic food additives in soft drinks by HPLC/electrospray ionization-tandem mass spectrometry', *Journal AOAC International*, 96(1), pp. 110-115. doi: 10.5740/jaoacint.12-046

Gonzales, A. & Herrador, M. (2007) 'A Practical Guide to Analytical Method Validation, Including Measurement Uncertainty and Accuracy Profules', *Trends Analytical Chemical*, 26(3). doi: 10.1016/j.trac.2007.01.009

Gumustas, M., Kurbaniglu, S., Uslu, B. & Ozkan, S. (2013) 'UPLC versus HPLC on Drug Analysis: Advantageous, Applications and Their Validation Parameters', *Chromatographia*. doi: 10.1007/s10337-013-2477-8

Hiroaki, S. et al. (2015) 'Simultaneous determination of sweeteners in beverages by LC-MS/MS', *Food Additive & Contamination*, 32(6), pp. 808-816. doi: 10.1080/19440049.2015.1018341

Hu, F., Xu, L., Luan, F. & Gao, Y. (2013) 'Determination of neotame in non-alcoholic beverage by capillary zone electrophoresis', *Journal Science*

- Food & Agricultural*, 93(13), pp. 3334-3338. doi: 10.1002/jsfa.6181
- Lim, H. S., Choi, E., Hwang, J. Y., Lee, G., Yun, S. S., & Kim, M. (2018) 'Improved method for the determination of 12 non-nutritive sweeteners and monitoring in various foods using liquid chromatography–tandem mass spectrometry', *Food Additive & Contamination*, 35(9), pp. 1674-1688. doi: 10.1080/19440049.2018.1486043
- Jia, W., Ling, Y., Lin, Y., Chang, J., & Chu, X. (2014) 'Analysis of additives in dairy products by liquid chromatography coupled to quadrupole-orbitrap mass spectrometry', *Journal Chromatography A*, 1336, pp. 67-75. doi: 10.1016/j.chroma.2014.02.028
- Kang, M., Li, X., Zhang, Y. & Liu, F. (2020) 'Determining high-intensity sweeteners in white spirits using an ultrahigh performance liquid chromatograph with a photo-diode array detector and charged aerosol detector', *Molecules*, 25(1), p. 40. doi: 10.3390/molecules25010040
- Kumari, A., Arora, S., Singh, A. & Choudhary, S. (2016) 'Development of an analytical method for estimation of neotame in cake and ice cream', *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 142, p. 70. doi: 10.1016/j.lwt.2016.02.045
- Kurnia, D., Yuliantini, A. & Faizal, D. (2018) 'Pengembangan Metode Penentuan Kadar Neotam Dalam Sediaan Obat Dengan Spektrofotometri UV', *EduChemia*, 3(1), pp. 66-76.
- Lim, S. H. et al. (2013) 'HPLC- MS/MS analysis of 9 artificial sweeteners in imported foods', *Food Science Biotechnology*, 22(1), pp. 233-240. doi: 10.1007/s10068-013-0072-2
- Lorenzo, R. et al. (2015) 'Artificial sweeteners in beverages by ultra performance liquid chromatography with photodiode array and liquid chromatography tandem mass spectrometry', *Food Control*, 47, pp. 43-52. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.06.035
- National Center of Biotechnology Information (2021) *PubChem Compound Database*. [Online] Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/neotame> [Accessed 2021].
- Pajor, L. & Gibes, K. (2000) N-[N-(3,3-dimethylbutyl)-L- α -aspartyl]-L-phenylalanine 1-methyl ester synergistic sweetener blends. *US Pat*.
- Prakash, I., Corliss, G., Ponakala, R. & Ishikawa, G. (2002) Neotame : The Next Generation Sweetener. *Food Technol Mag*.
- Sezgin, B., Arli, G. & Can, N. (2021) 'Simultaneous HPLC-DAD determination of seven intense sweeteners in foodstuffs and pharmaceuticals using a core-shell particle column', *Journal Food Compos Analysis*, 103768, p. 97. doi: 10.1016/j.jfca.2020.103768

- Yang, D. & Chen, B. (2009) 'Simultaneous determination of nonnutritive sweeteners in foods by HPLC/ESI-MS', *Journal Agricultural Food Chemistry*, 57(8), pp. 3022-3027. doi: 10.1021/jf803988u
- Yang, D. & Chen, B. (2010) 'Determination of neotame in beverages, cakes and preserved fruits by column-switching high-performance liquid chromatography', *Food Additive & Contamination*, 27 (9), 1221-1225. doi: 10.1080/19440049.2010.487875
- Zhao, Y. G., Chen, X. H., Yao, S. S., Pan, S. D., Li, X. P., & Jin, M. C. (2013) 'Analysis of nine food additives in red wine by ion-suppression reversed-phase high-performance liquid chromatography using trifluoroacetic acid and ammonium acetate as ion-suppressors', *Analytical sciences : the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry*, 28(10), 967-971. doi: 10.2116/analsci.28.967
- Zygler, A., Wasik, A., Kot-Wasik, A. et al. (2011) 'Determination of nine high-intensity sweeteners in various foods by high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection', *Journal Analytical Bioanalytical Chemistry*, 400, 2159-2172. doi: 10.1007/s00216-011-4937-z