



**REVIEW: METODE ANALISIS SENYAWA ASAM BENZOAT DALAM PRODUK MAKANAN DAN MINUMAN**

**REVIEW: ANALYSIS METHODS OF BENZOIC ACID COMPOUND IN FOOD AND BEVERAGE PRODUCTS**

**Farah Adilla<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

**ABSTRAK**

Pengawet pangan menjadi hal yang penting seiring dengan meningkatnya sifat konsumerisme masyarakat. Salah satu contoh pengawet pangan adalah asam benzoat. Konsumsi asam benzoat dalam jumlah berlebih berbahaya bagi kesehatan. Berbagai metode analisis dengan spesifisitas dan selektivitas tinggi sangat dibutuhkan untuk pengujian kandungan asam benzoat dalam produk makanan dan minuman. Prosedur analisis perlu diperhatikan agar mampu menetapkan jumlah asam benzoat yang terdapat dalam produk pangan. Studi ini menyajikan tinjauan komprehensif tentang berbagai teknik analisis yang digunakan untuk analisis pengawet asam benzoat dalam produk pangan. Metode yang digunakan yaitu studi literatur terhadap jurnal nasional dan internasional yang membahas tentang metode analisis asam benzoat dalam produk pangan. Beragam prosedur analisis memiliki kelebihan dan kekurangan berdasarkan kondisi sampel yang akan dianalisis. Berbagai metode preparasi sampel yang telah dilakukan meliputi ekstraksi cair – cair, filtrasi membran, dan ultrasonik. Metode analisis asam benzoat yang telah digunakan yaitu spektrofotometri UV-Vis, Kromatografi Gas, dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Metode analisis RP-HPLC dengan detektor UV-Vis merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam analisis asam benzoat.

**Kata Kunci: Asam benzoat, Metode analisis, Makanan, Minuman**

**ABSTRACT**

*Food preservatives have become important in line with the increasing of consumerism. One example of a food preservative is benzoic acid. Consumption of benzoic acid in excess amounts is dangerous for health. Various analytical methods with high specificity and selectivity are needed for quality control of benzoic acid in food and beverage products. Analysis procedures need to be considered in order to be able to determine the amount of benzoic acid contained in food products. This study provides a comprehensive overview of various analytical methods used in the analysis of the preservative benzoic acid in food and beverages products. This paper reviews national and international journals that discussed the analysis method for benzoic acid in food and beverage products. Various analysis procedures have advantages and disadvantages based on the conditions of the sample. Various sample preparation methods that have been carried out include liquid - liquid extraction, membrane filtration, and ultrasonic. Analysis methods of benzoic acid that have been used are UV-Vis spectrophotometry, Gas Chromatography, and High Performance Liquid Chromatography. The Reverse Phase-HPLC with UV-Vis detector is the most widely used in the analysis of benzoic acid.*

**Keywords: Benzoic acid, Analytical methods, Food, Beverage**

Alamat Korespondensi:

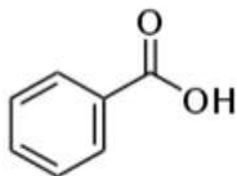
Farah Adilla: Universitas Udayana, Jalan Raya Kampus Unud Jimbaran, Kecamatan Kuta Selatan, Kabupaten Badung, Bali, Indonesia, 80361.

No. HP : 08563791237.Email : xxfarahadilla@gmail.com.

## PENDAHULUAN

Pengawet pangan menjadi hal yang penting seiring dengan meningkatnya sifat konsumerisme masyarakat. Pengawet merupakan zat yang digunakan untuk mencegah pembusukan dari mikroorganisme (1). Contoh pengawet yang umum digunakan adalah asam benzoat (2).

Asam benzoat merupakan senyawa asam karboksilat aromatis, bentuk hablur berupa jarum atau sisik, warna putih dengan sedikit bau. Kelarutan asam benzoat yaitu sukar larut dalam air, mudah larut dalam etanol, kloroform, dan eter (3). Asam benzoat bekerja maksimal sebagai antimikroba pada pH 2,5 - 4,5 (4).



**Gambar 1.** Struktur Asam Benzoat (3)

Asam benzoat banyak ditemukan pada produk pangan seperti keju, saos, minuman ringan, susu, dan daging (5,6). Penggunaan asam benzoat sebagai pengawet makanan diizinkan oleh BPOM RI dengan jumlah yang dibatasi. Asupan harian asam benzoat yang ditetapkan BPOM RI yaitu 0 – 5 mg/kg BB (7). Pengonsumsian asam benzoat

dalam jumlah berlebih berbahaya bagi kesehatan. Pemberian oral asam benzoat 35 g dalam 20 hari dilaporkan menyebabkan mual, sakit kepala, iritasi kerongkongan dan gangguan pencernaan pada sukarelawan (8). Penggunaan jangka panjang asam benzoat dapat menyebabkan kerusakan hati. Penelitian yang dilakukan pada tikus menunjukkan bahwa pemberian asam benzoat menyebabkan atrofi, hiperemia, vakuolasi sitoplasma, nekrosis difus koagulatif, dan pembengkakan sel di sekitar beberapa pembuluh darah (9).

Oleh sebab itu, berbagai metode analisis sangat dibutuhkan sebagai metode *quality control* asam benzoat dalam produk makanan dan minuman. Prosedur analisis perlu diperhatikan agar mampu menetapkan jumlah asam benzoat yang terdapat dalam produk pangan.

## METODE

Studi ini merangkum metode analisis asam benzoat dalam produk pangan. Kata kunci yang digunakan dalam proses pencarian pustaka antara lain “metode analisis asam benzoat pada makanan dan minuman” atau “*analysis methods of benzoic acid in food and beverage products*”. Kriteria inklusi

pada *review* jurnal ini meliputi jurnal nasional dan internasional tentang metode analisis asam benzoat pada produk makanan ataupun minuman dalam sepuluh tahun terakhir. Kriteria eksklusif pada *review* jurnal ini yaitu jurnal yang memuat metode analisis asam benzoat bukan pada produk pangan maupun jurnal terbitan lebih dari sepuluh tahun terakhir. Jurnal yang digunakan sebanyak 15 jurnal dengan 10 jurnal utama.

## PEMBAHASAN

### Preparasi Sampel

Senyawa asam benzoat dapat ditambahkan ke berbagai jenis pangan, sebagai konsekuensinya diperlukan variasi metode preparasi sampel berdasarkan jenis pangan yang dianalisis. Beberapa penelitian melaporkan preparasi sampel berupa minuman ringan yang tergolong sebagai minuman berkarbonasi perlu dilakukan penghilangan gas (*degassing*) (10). Adanya kandungan CO<sub>2</sub> dalam minuman berkarbonasi dapat menyebabkan gangguan dalam proses analisis serta dapat merusak instrumen analisis. Contoh lain yaitu sampel pangan berprotein dan lemak perlu dilakukan pengendapan matriks dengan penambahan pelarut yang sesuai dan

diikuti dengan proses sentrifugasi serta filtrasi (11). Berbagai metode preparasi sampel yang telah dipublikasikan dalam proses pemisahan asam benzoat pada produk makanan dan minuman meliputi ekstraksi cair – cair, ekstraksi padat – cair, filtrasi membran, dan *ultrasonic-assisted extraction*.

### Ekstraksi Cair – Cair

*Liquid – Liquid Extraction* (LLE) juga dikenal sebagai ekstraksi pelarut melibatkan pemisahan senyawa berdasarkan kelarutannya dalam dua cairan yang tak bercampur, biasanya fase organik dengan fase air. Penelitian Visscher, melaporkan bahwa pelarut trikloretilen, metilbenzena, dan heptana digunakan untuk ekstraksi asam benzoat (12).

Pelarut seperti asetonitril, tetrahidrofur, isopropanol dan metanol dapat digunakan untuk metode ekstraksi yang efisien dengan bantuan garam atau disebut “SAHLLE” (*salt-assisted homogeneous liquid-liquid extraction*). Dalam metode SAHLLE, penambahan garam anorganik ke dalam campuran air dan pelarut organik larut air menghasilkan pemisahan pelarut organik dari campuran dan membentuk sistem dua fase. Teknik SAHLLE sederhana, murah, dan menghasilkan

ekstrak yang mengandung zat terlarut dalam pelarut organik yang dapat diuapkan dan dilarutkan ke dalam volume kecil sehingga cocok dikombinasikan dengan kromatografi cair kinerja tinggi atau analisis kromatografi gas. Natrium karbonat dilaporkan dapat digunakan sebagai garam anorganik untuk ekstraksi asam benzoat dengan metode SAHHLLE (5).

Teknik mikroekstraksi mulai dikembangkan mengingat metode LLE memerlukan jumlah pelarut yang banyak dan umumnya bersifat toksik. Selain itu teknik mikro ekstraksi diharapkan dapat lebih memaksimalkan hasil ekstraksi senyawa. Berbagai penelitian mikroekstraksi telah dilakukan pada asam benzoat (13) (14). Metode ekstraksi mikro memiliki keunggulan dibandingkan metode ekstraksi konvensional, seperti penggunaan volume pelarut ekstraksi yang lebih sedikit serta mudah dikombinasikan dengan instrumen analisis seperti HPLC (15).

Pelarut ekstraksi dan disperser dengan cepat disuntikkan ke dalam sampel berair untuk membentuk larutan keruh. Keseimbangan ekstraksi cepat dicapai karena adanya kontak permukaan yang luas antara pelarut

ekstraksi dan sampel. Setelah sentrifugasi, pelarut ekstraksi dipisahkan di bagian bawah atau atas tabung dan diambil dengan *microsyringe* untuk analisis kromatografi selanjutnya (14).

Berbagai pelarut *dispersive* yang dilaporkan dapat digunakan pada metode ini adalah etanol dan aseton (14) (15). Sedangkan pelarut ekstraksi yang dapat digunakan adalah kloroform dan oktanol (13).

Dalam proses DLLME perlu diperhatikan beberapa parameter seperti pH, jumlah pelarut *dispersive*, dan jumlah pelarut ekstraksi. Penentuan parameter tersebut dapat dilakukan berdasarkan literatur serta optimasi percobaan. Kondisi optimum untuk proses ekstraksi asam benzoat dengan metode DLLME pada pH 4 (13).

### **Filtrasi Membran**

Membran merupakan lapisan tipis semi-permeabel yang dapat digunakan untuk memisahkan analit dari matriks. Berbagai jenis membran tersedia sesuai dengan kebutuhan analisis. Metode ini tergolong sederhana serta mudah dilakukan. Pemisahan analit dapat dilakukan dari padatan tersuspensi, logam berat, hingga mikroorganisme dari dalam sampel makanan dan

minuman. Namun penggunaan membran perlu diperhatikan karena membran dapat mengalami penyumbatan apabila dipenuhi dengan pengotor ataupun matriks dalam konsentrasi tinggi.

Yildiz *et al* (2012) melaporkan penggunaan filter paper untuk pemisahan asam benzoat dengan pelarut metanol dalam sampel makanan berbasis susu. Penggunaan metanol dilaporkan tidak mengganggu puncak kromatogram yang dihasilkan pada konsentrasi di atas 2,5 mg/kg asam benzoat. Metanol dapat memisahkan analit dari kompleksitas matriks produk susu, selain itu penggunaan metanol dinilai ekonomis dan menghemat waktu (11). Penggunaan membran filter juga dilaporkan dapat memisahkan analit asam benzoat dari matriksnya pada sampel minuman ringan (16).

#### ***Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)***

*Ultrasonic-assisted extraction* (UAE) merupakan salah satu metode ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik. Metode ekstraksi ini dapat menghasilkan kandungan analit yang tinggi dengan waktu relatif cepat. Selain itu, metode ini bersifat non-destruktif dan non-invasif. Proses dalam metode UAE meliputi fragmentasi berupa

tumbukan antar-partikel dan gelombang ultrasonik, yang menyebabkan pengecilan ukuran partikel sehingga memudahkan perpindahan massa. *Ultrasonic bath* dilaporkan dapat digunakan untuk proses penghilangan gas (*degassing*) terutama pada sampel minuman berkarbonasi (10). Penggunaan *ultrasonic* juga dilaporkan dapat memisahkan senyawa asam benzoat ke dalam fase air (*aqueous phase*) dengan penggunaan pelarut berupa air, kalium ferrosianida dan zink asetat (6). Penelitian serupa juga dilaporkan Ding *et al* (2015) pada sampel kecap menggunakan ekstraksi bertingkat. Proses ekstraksi awal dilakukan dengan bantuan ultrasonik dengan pelarut asam klorida dalam air (1: 1 v / v) dan dietil eter. Yang mana analit pada lapisan eter pada bagian diekstraksi kembali dengan natrium hidroksida encer (0,1 M). Lapisan eter atas dibuang, dan lapisan berair bawah dengan kandungan analit asam benzoat dianalisis lebih lanjut (17).

#### **Analisis Asam Benzoat dalam Pangan**

Beberapa metode analisis asam benzoat dalam makanan dan minuman dijabarkan dalam Tabel 1.

**Tabel 1. Metode Analisis Asam Benzoat dalam Makanan dan Minuman**

<b>Sampel / Analit</b>	<b>Metode</b>	<b>Perolehan Kembali</b>	<b>Ref.</b>
Minuman ringan, jus buah / Asam Benzoat	HPLC- UV Vis Kolom: Phenomenex Volume injeksi : 20 µL. Eluen asetonitril : buffer ammonium asetat pH 4,4 (10: 90) v/v Laju alir eluen : 0,4 mL/menit Elusi : isokratik Panjang gelombang analisis: 238 nm.	119%	(2)
Minuman ringan, teh/ sakarin, kafein, asam benzoate	RP HPLC UV detect Kolom C <sub>18</sub> . Fase gerak air (pH 3 dengan asam asetat) :asetonitril Laju alir : 1 mL/menit Volume injeksi : 10 µL. Elusi : Gradient 10% asetonitril selama 10 menit ditingkatkan sampai 50% dalam 10 menit dan dikembalikan dalam 10 menit selama 5 menit Panjang gelombang analisis: 220nm	91%	(5)
Wine, mi, daging / Asam Benzoat dan Asam Askorbat	RP HPLC UV detect Kolom C <sub>18</sub> . Eluen buffer ammonia asetat pH 4,2 dan metanol (95:5). Laju alir fase gerak : 1 mL/menit. Elusi : isokratik, Volume injeksi : 10 µL Panjang gelombang analisis: 230 nm	93 – 105%	(6)
Yogurt, Ayran, Keju / Asam benzoat	RP HPLC-DAD Kolom C <sub>18</sub> Eluen buffer asetat pH 4,4 dan metanol (65:35). Elusi: isokratik. Laju alir : 0,8 mL/menit Suhu analisis: suhu ruang (25°C) Panjang gelombang analisis: 226 nm	93,74 – 101,52%	(11)
Minuman Ringan / Asam sorbat dan benzoat	GC-FID Kolom: agilent HP-5, 5% fenil metil siloxane (30m, ketebalan 0,25 µm). Gas pembawa nitrogen, laju alir 2 mL/menit Suhu program : suhu awal 150°C tahan 1 menit, naikkan 200°C dengan 15°C/menit tahan 3 menit kemudian naikkan 260°C dengan 25°C/menit tahan 3 menit. Volume injeksi 1µL split mode (50:1) Suhu detektor : 300°C	104,8 – 107,7%	(13)
<i>Creamy cheese</i> / Asam sorbat dan benzoate	GC-FID Kolom: silika kapiler Gas pembawa: helium laju alir 1 mL/menit split rasio 60:1. Volume injeksi :2 µL Suhu program: 150°C selama 2 menit dinaikkan 240°C dengan 10°C/menit ditahan 9 menit. Suhu injektor: 260°C Suhu detektor: 270°C	103,7%	(14)

Minuman ringan, saus, roti / Asam benzoat dan asam sorbat	RP HPLC UV Kolom C <sub>18</sub> Eluen asetoni-tril 5 mmol/L : ammonium asetat (40:60 v/v). Laju alir fase gerak : 1 mL/menit. Elusi: isokratik. Suhu pemisahan : suhu ruang. Volume injeksi: 20 µL Panjang gelombang analisis: 254nm	106%	(15)
Minuman Ringan/ Asam Benzoat	RP-HPLC-PDA Kolom C <sub>18</sub> Eluen asetoni-tril:buffer ammonium asetat Panjang gelombang analisis: 228nm	85,69 - 92,86%	(16)
Soy sauce/ Asam sorbat dan asam benzoat	RP HPLC – UV Kolom C <sub>18</sub> . Eluen metanol-amonium sulfat (0,02M) (30:70 v/v) Laju alir : 1mL/menit. Volume injeksi: 20 µL Panjang gelombang analisis: 225 nm	96,1 – 104,3%	(17)
Keju/ Asam benzoat, asam sorbat.	RP HPLC PDA Kolom C <sub>18</sub> . Eluen 0,1% TFA dalam asetoni-tril/tetrahidrofur-an (5/1) Laju alir eluen 1 mL/menit. Elusi : isokratik Panjang gelombang analisis: 280 nm	> 91%	(18)

### Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri merupakan teknik analisis dengan biaya instrumen yang relatif rendah. Analisis kualitatif asam benzoat dengan metode spektrofotometri UV-Vis dilakukan dengan membandingkan spektrum analit yang diuji dengan spektrum standar asam benzoat. Penentuan kadar asam benzoat dilakukan dengan pembuatan kurva baku standar asam benzoat (19).

Pemilihan pelarut perlu diperhatikan pada penggunaan spektrofotometri UV-Vis. Nilai *cut-off* dari pelarut harus dipertimbangkan untuk menghindari risiko efek cahaya

menyimpang yang lebih besar. Nilai panjang gelombang maksimal yang digunakan yaitu 280 nm (19). Banyak terjadi perbedaan nilai panjang gelombang maksimal analisis pada berbagai penelitian yang disebabkan pada peristiwa pergeseran batokromik ataupun hipsokromik akibat pelarut yang digunakan (20).

### Kromatografi Gas

Kromatografi gas dengan detektor *flame ionization detector* (FID) umum digunakan untuk mendeteksi asam benzoat. Analisis asam benzoat dapat dilakukan tanpa derivatisasi namun harus memaksimalkan proses ekstraksi (14). Penggunaan metode LLE belum

mampu memberikan hasil kromatogram yang baik. Adapun ekstraksi dengan metode DLLME memberikan hasil kromatogram yang baik (13).

Spektrometer massa juga dapat digunakan sebagai kombinasi metode kromatografi gas. Spektrometer massa memberikan sensitivitas tinggi dalam matriks serta informasi struktural berdasarkan massa molekul dan pola fragmentasi senyawa. Teknik ionisasi yang kompatibel dengan kromatografi gas untuk analisa asam benzoat adalah *electro spray ionization* (ESI). Efisiensi ionisasi senyawa tergantung pada gangguan matriks yang ada dalam sampel dan fase gerak. Pada aspek sensitivitas, detektor MS bersifat lebih sensitif bila dibandingkan dengan FID. Berdasarkan penelitian yang telah dipublikasikan, ditunjukkan bahwa nilai LOD dan LOQ yang diperoleh dengan penggunaan detektor MS sebesar 0,05 µg/g dan 0.1 µg/g (21). Sedangkan nilai LOD dan LOQ yang diperoleh dengan penggunaan detektor FID sebesar 140 ng/g dan 473 ng/g sehingga diperoleh bahwa sensitivitas detektor MS lebih tinggi dibandingkan dengan FID (14).

#### **Kromatografi Cair Kinerja Tinggi**

*High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dikenal

memiliki sensitivitas dan selektivitas yang tinggi. Metode HPLC dapat digunakan dalam analisis kuantitatif secara akurat, serta dapat dioperasikan secara otomatis sehingga dapat digunakan dengan efisien.

Berbagai macam teknik berbasis kromatografi cair telah digunakan untuk menganalisis asam benzoat dalam pangan. Metode HPLC yang digunakan biasanya digabungkan dengan detektor UV-Vis atau PDA. Detektor ini digunakan karena mampu mendeteksi asam benzoat melalui gugus kromofor yang dimilikinya. Pemisahan yang efisien dilakukan dengan sistem fase terbalik atau *reversed phase* (RP) yang mana fase diam bersifat lebih non polar dibandingkan fase gerak. Kolom oktadesil (C<sub>18</sub>) dengan beragam diameter, panjang dan ukuran partikel paling banyak digunakan sebagai fase diam. Campuran pelarut umumnya digunakan sebagai fase gerak. Fase gerak perlu dioptimalkan untuk mencapai pemisahan yang baik. Penggunaan pelarut organik berupa asetonitril dan metanol sering digunakan dalam pemisahan asam benzoat dari produk makanan dan minuman. Pelarut asetonitril dan metanol memiliki kekuatan pelarut



terhadap adsorben silika ( $\epsilon$ ) berturut-turut yaitu 0.7 dan 0.5. Kekuatan pelarut organik tidak boleh sangat kuat agar nilai faktor kapasitas ( $k'$ ) tidak sangat rendah, sehingga mampu menghasilkan selektivitas yang baik dalam pemisahan dengan sistem fase terbalik (22).

Nilai pKa dari asam benzoat yaitu 4,21, maka pemisahan yang baik dimungkinkan dengan menggunakan eluen berupa campuran pelarut organik dengan penyangga yang memiliki nilai pH di antara nilai pKa analit (10). Pemilihan variasi pH dilakukan secara selektif agar tidak merusak kolom. Jika pH yang divariasikan terlalu rendah maka ikatan silika yang berfungsi sebagai fasa diam dapat putus (terhidrolisis), dan jika pH terlalu basa maka silika akan larut, karena silika larut dalam suasana basa, sehingga tidak akan diperoleh hasil pemisahan yang baik (23). Berdasarkan beberapa penelitian pH penyangga yang paling banyak digunakan adalah 4,4 (2) (18). Penelitian lain menunjukkan pH 3,5 dapat digunakan untuk analisis (23). Nilai pH yang beragam dapat disebabkan karena adanya variasi analit yang dianalisis.

Pemilihan panjang gelombang perlu diperhatikan. Penelitian (Guarino

*et al.*, 2011) melaporkan penggunaan panjang gelombang 280 nm untuk analisis senyawa asam benzoat, asam sorbat, natamisin, dan lizozim (18). Pemilihan panjang gelombang yang baik yaitu panjang gelombang yang memberikan puncak yang baik pada semua analit yang dianalisis (24).

### **Elektroforesis Kapiler**

Elektroforesis kapiler atau *capillary electrophoresis* merupakan metode analisis menggunakan medan listrik dalam pipa kapiler. Detektor yang dapat digunakan dalam analisis asam benzoat yaitu detektor berbasis UV-Vis. pH larutan penyangga harus diperhatikan sesuai dengan senyawa yang dianalisis. Larutan hidroksida atau larutan penyangga basa dapat diadopsi sebagai fase akseptor asam organik dalam proses analisis. Penelitian Ling (2010) menggunakan penyangga berupa  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  (pH 9,2). Nilai pH ini dianggap cukup tinggi sehingga zat terlarut terionisasi sepenuhnya (25).

### **KESIMPULAN**

Beragam prosedur analisis yang memiliki kelebihan dan kekurangan dan dapat diaplikasikan sesuai target yang ingin dicapai serta kondisi sampel yang akan dianalisis. Preparasi sampel diperlukan untuk menunjang proses

analisis. Berbagai metode preparasi sampel yang telah dilakukan meliputi LLE (*Liquid-Liquid Extraction*), Filtrasi Membran (*Membrane Filtration*), dan UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*). Metode analisis asam benzoat yang telah digunakan yaitu spektrofotometri UV-Vis, Kromatografi Gas, dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Metode analisis RP-HPLC dengan detektor UV-Vis merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam analisis asam benzoat.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Seetaramaiah K, A. Anton Smith, R.Murali RM. Preservatives in Food Products. *Int J Pharm Biol Arch*. 2011;2(2):583–99.
- Kusi JK J, Acquaaah SO. Levels of Benzoic Acid in Soft Drinks and Fruit Juices in Ghana. *IOSR J Environ Sci Toxicol Food Technol*. 2014;8(12):36–9.
- Kemenkes. Farmakope Indonesia. V. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2014.
- Joye I. Acids and Bases in Food. *Ref Modul Food Sci*. 2018;
- Heydari R, Mousavi M. Simultaneous Determination of Saccharine, Caffeine, Salicylic Acid And Benzoic Acid in Different Matrixes By Salt And Air-Assisted Homogeneous Liquid-Liquid Extraction And High-Performance Liquid Chromatography. *J Chil Chem Soc*. 2016;61(3):3090–4.
- Xu C, Liu J, Feng C, Lv H, Lv S, Ge D, et al. Investigation of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Snack Foods in Jilin province, China. *Int J Food Prop*. 2019;22(1):670–7.
- BPOM. Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 tentang Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan; 2019.
- Hartwig A. Benzoic Acid and Alkali Benzoates [MAK Value Documentation, 2017]. Vol. 3, The MAK-Collection for Occupational Health and Safety. 2018. 1758–1828 p.
- Hassan MM, Elrrigieg MAA, Sabahelkhier M, Idris. O. Impacts of The Food Additive Benzoic Acid on Liver Function of Wistar Rats. *Int J Adv Res*. 2016;4(8):568–75.
- Dzieciol, Alicja Wodnicka, Elzbieta Huzar M. Determination of Benzoic and Sorbic Acid in Foods. *Ecol Chem Eng A*. 2012;19(4):451–6.
- Yildiz A, Erdogan S, Saydut A, Hamamci C. High-Performance Liquid Chromatography Analysis and Assessment of Benzoic Acid in Yogurt, Ayran, and Cheese in Turkey. *Food Anal Methods*. 2012;5(3):591–5.
- Visscher F, Gaakeer WA, Granados Mendoza P, De Croon MHJM, Van Der Schaaf J, Schouten JC. Liquid-liquid Extraction Systems Of Benzoic Acid In Water and Heptane, Methylbenzene, Or Trichloroethylene As Cosolvent. *J Chem Eng Data*. 2011;56(9):3630–6.
- Kokya TA, Farhadi K, Kalhori AAM. Optimized Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Determination of Sorbic

- Acid and Benzoic Acid in Beverage Samples by Gas Chromatography. *Food Anal Methods*. 2012;5(3):351–8.
14. Abedi AS, Mohammadi A, Azadniya E, Mortazavian AM, Khaksar R. Simultaneous Determination of Sorbic and Benzoic Acids in Milk Products Using an Optimised Microextraction Technique Followed by Gas Chromatography. *Food Addit Contam - Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2014;31(1):21–8.
  15. Javanmardi F, Nemati M, Ansarin M, Arefhosseini SR. Benzoic and Sorbic Acid in Soft Drink, Milk, Ketchup Sauce and Bread by Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Coupled With HPLC. *Food Addit Contam Part B Surveill*. 2015;8(1):32–9.
  16. Jurcovan MM, Diacu E, Ene CP. Quantification of The Analytical Parameters and Uncertainty Budget For Traceable Measurements of Benzoic Acid in Soft Drinks By HPLC Method. *UPB Sci Bull Ser B Chem Mater Sci*. 2012;74(1):97–108.
  17. Ding M, Peng J, Ma S, Zhang Y. An Environment-Friendly Procedure For The High Performance Liquid Chromatography Determination of Benzoic Acid And Sorbic Acid In Soy Sauce. *Food Chem* []. 2015;183:26–9.
  18. Guarino C, Fuselli F, Mantia A La, Longo L. Development of an RP-HPLC Method For The Simultaneous Determination of Benzoic Acid, Sorbic Acid, Natamycin and Lysozyme in Hard And Pasta Filata Cheeses. *Food Chem*. 2011;127(3):1294–9.
  19. Wati WI, Guntarti A. Penetapan Kadar Asam Benzoat dalam Beberapa Merk Dagang Minuman Ringan Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Pharmaciana*. 2012;2(2).
  20. Skoog, DA., James, F., and Stanley R. *Principles of Instrumental Analysis*. Sixth. Canada: Thomson Brooks/Cole; 2007.
  21. Sen I, Shandil A, Shrivastava VS. Determination of Benzoic acid Residue from Fruit Juice by Gas Chromatography with Mass Spectrometry Detection Technique. *Arch Appl Sci Res*. 2011;3(2):245–52.
  22. Ahuja and Dong M. *Handbook of Pharmaceutical Analysis by HPLC*. Sixth. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2005.
  23. Sanjaya R, Oktavia B. Analisis Kadar Asam Askorbat dan Asam Benzoat dalam Minuman Ringan dengan HPLC Menggunakan Fasa Gerak Metanol dan Buffer Asetat. 2012;1(2):42–6.
  24. Hayun H, Harahap Y, Azizah CN. Penetapan Kadar Sakarin, Asam Benzoat, Asam Sorbat, Kofeina, dan Aspartam di Dalam Beberapa Minuman Ringan Bersoda Secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Maj Ilmu Kefarmasian*. 2004;1(3):148–59.
  25. Ling DS, Xie HY, He YZ, Gan WE, Gao Y. Determination of Preservatives by Integrative Coupling Method of Headspace Liquid-Phase Microextraction and Capillary Zone Electrophoresis. *J Chromatogr A*. 2010;1217(49):7807–11.