

PENERBIT CV. EUREKA MEDIA AKSARA

SERTIFIKAT

NO : 19177/EUREKA/VIII/2024



Diberikan Kepada :

Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc

Sebagai penulis buku

“Analisis Zat Gizi Pangan Teori Dan Praktik”

Yang telah diterbitkan oleh CV. EUREKA MEDIA AKSARA pada tahun 2024.

Dengan nomor ISBN (International Standard Book Number) 978-623-516-221-8

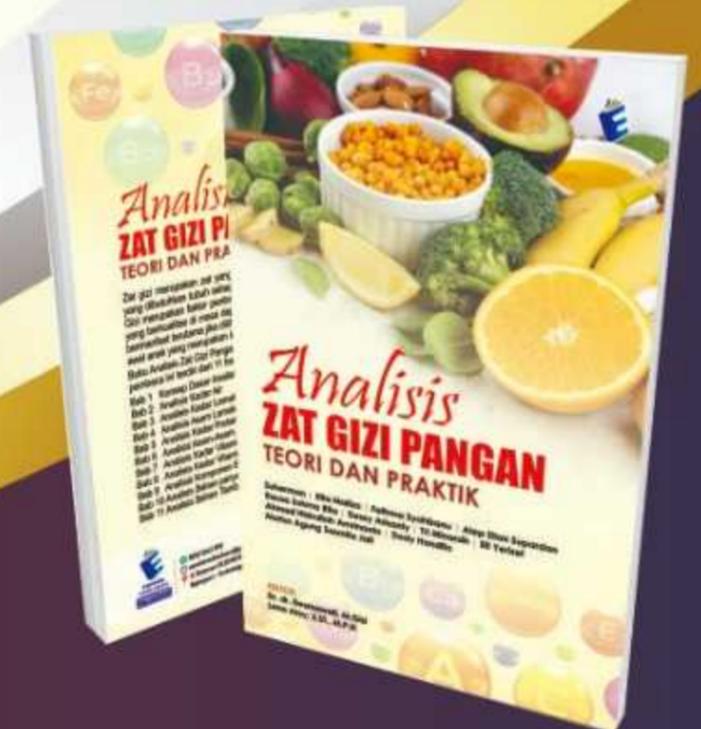
Purbalingga, 20 Agustus 2024

Direktur

CV. EUREKA MEDIA AKSARA



Umar Abduloh, S.Pd., Gr



Jl. Banjaran RT.20 RW.10 Bojongsari - Purbalingga 53362 | 0858 5343 1992

eurekamediaaksara@gmail.com | Eureka Aksara | eurekamediaaksara



Analisis **ZAT GIZI PANGAN** **TEORI DAN PRAKTIK**

Suherman | Rita Maliza | Fathma Syahbanu | Atep Dian Supardan
Rauza Sukma Rita | Dessy Arisanty | Tri Minarsih | Eti Yerizel
Ahmad Hisbullah Amrinanto | Dody Handito
Marius Agung Sasmita Jati

EDITOR:

Dr. dr. Desmawati, M.Gizi
Lena Atoy, S.ST., M.P.H



Analisis **ZAT GIZI PANGAN** **TEORI DAN PRAKTIK**

Zat gizi merupakan zat yang terkandung dalam makanan dan minuman yang dibutuhkan tubuh sebagai sumber energi untuk pertumbuhan tubuh. Gizi merupakan faktor penting dalam menciptakan sumber daya manusia yang berkualitas di masa depan. Dukungan gizi sesuai kebutuhan sangat bermanfaat terutama jika dilihat dari pertumbuhan fisik dan perkembangan awal anak yang merupakan landasan hidup sehat dan produktif.

Buku Analisis Zat Gizi Pangan Teori dan Praktik yang berada di tangan pembaca ini terdiri dari 11 bab, yaitu :

- Bab 1 Konsep Dasar Analisis Zat Gizi Pangan
- Bab 2 Analisis Kadar Air
- Bab 3 Analisis Kadar Lemak
- Bab 4 Analisis Asam Lemak Penyusun Lemak
- Bab 5 Analisis Kadar Protein
- Bab 6 Analisis Asam-Asam Amino Penyusun Protein
- Bab 7 Analisis Kadar Vitamin Larut Air
- Bab 8 Analisis Kadar Vitamin Yang Larut dalam Lemak
- Bab 9 Analisis Komponen Bioaktif
- Bab 10 Analisis Bahan penyegar
- Bab 11 Analisis Bahan Tambahan Pangan

ANALISIS ZAT GIZI PANGAN TEORI DAN PRAKTIK

Suherman, M.Si

Rita Maliza, S.Si., M.Si., Ph.D

Dr. Fathma Syahbanu, S.TP

Atep Dian Supardan, S.SI., M.Si

dr. Rauza Sukma Rita, Ph.D

Dr. Dessy Arisanty, M.Sc

Apt. Tri Minarsih, S.Si., M.Sc

Prof. Dr. Eti Yerizel, MS

Ahmad Hisbullah Amrinanto, S.Gz., M.Si

Dody Handito, S.T.P., M.P.

Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc



eureka
media aksara

PENERBIT CV. EUREKA MEDIA AKSARA

**ANALISIS ZAT GIZI PANGAN
TEORI DAN PRAKTIK**

Penulis : Suherman, M.Si | Rita Maliza, Ph.D | Dr. Fathma Syahbanu, S.TP | Atep Dian Supardan, S.Si., M.Si, | dr. Rauza Sukma Rita, Ph.D | Dr. Dessy Arisanty, M.Sc. | Apt. Tri Minarsih, S.Si, M.Sc. | Prof. Dr. Eti Yerizel, MS. | Ahmad Hisbullah Amrinanto, S.Gz., M.Si. | Dody Handito, S.T.P., M.P. | Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc

Editor : Dr. dr. Desmawati, M.Gizi
Lena Atoy, S.ST., M.P.H

Desain Sampul : Ardyan Arya Hayuwaskita

Tata Letak : Wildan Rasyid Mukhtar

ISBN : 978-623-516-221-8

Diterbitkan oleh : **EUREKA MEDIA AKSARA, AGUSTUS 2024**
ANGGOTA IKAPI JAWA TENGAH
NO. 225/JTE/2021

Redaksi:

Jalan Banjaran, Desa Banjaran RT 20 RW 10 Kecamatan Bojongsari
Kabupaten Purbalingga Telp. 0858-5343-1992

Surel : eurekamediaaksara@gmail.com

Cetakan Pertama : 2024

All right reserved

Hak Cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya tanpa seizin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin. Segala puji bagi Allah SWT. karena berkat rahmat, taufik, dan hidayah-Nya, sehingga kami bisa menyelesaikan proses penulisan buku berjudul “*Analisis Zat Gizi Pangan : Teori dan Praktik*”.

Buku ini merupakan salah satu dari buku referensi Analisis Zat Gizi Pangan yang diharapkan akan berguna bagi para pembaca yang berminat mendalami pengetahuan tentang Analisis Zat Gizi Pangan. Buku ini terdiri dari 11 BAB yang menjelaskan secara terstruktur hal-hal yang terkait:

Bab 1 Konsep Dasar Analisis Zat Gizi Pangan

Bab 2 Analisis Kadar Air

Bab 3 Analisis Kadar Lemak

Bab 4 Analisis Asam Lemak Penyusun Lemak

Bab 5 Analisis Kadar Protein

Bab 6 Analisis Asam-Asam Amino Penyusun Protein

Bab 7 Analisis Kadar Vitamin Larut Air

Bab 8 Analisis Kadar Vitamin Yang Larut dalam Lemak

Bab 9 Analisis Komponen Bioaktif

Bab 10 Analisis Bahan penyegar

Bab 11 Analisis Bahan Tambahan Pangan

Selanjutnya, penulis juga mengucapkan terima kasih pada segenap pihak yang telah memberikan dukungan dan arahan dalam penulisan hingga buku dapat diterbitkan.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan pada penulisan buku ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran ataupun kritik yang membangun dari pembaca demi perbaikan dan penyempurnaan pada edisi berikutnya. Atas perhatian yang diberikan, penulis ucapkan terimakasih.

Bulukumba, 13 Juli 2024

Tim Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
BAB 1 KONSEP DASAR ANALISIS ZAT GIZI PANGAN	
Oleh : Suherman, M.Si.....	1
A. Pendahuluan	1
B. Konsep Dasar Analisis Zat Gizi Pangan	2
C. Peningkatan Mutu Gizi Pangan	7
D. Penilaian Kualitas Pangan.....	9
DAFTAR PUSTAKA.....	14
BAB 2 ANALISIS KADAR AIR	
Oleh : Rita Maliza, S.Si., M.Si., Ph.D	17
A. Pendahuluan	17
B. Air dalam Sistem Pangan.....	19
C. Metode Penentuan Kadar Air.....	22
DAFTAR PUSTAKA.....	35
BAB 3 ANALISIS KADAR LEMAK	
Oleh : Dr. Fathma Syahbanu, S.TP	37
A. Pendahuluan	37
B. Metode Analisis Lipid dalam Makanan.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	55
BAB 4 ANALISIS ASAM LEMAK PENYUSUN LEMAK	
Oleh : Atep Dian Supardan, S.SI, M.Si.....	56
A. Pendahuluan	56
B. Trigliserida	57
C. Asam Lemak	58
D. Analisis Asam Lemak Secara Kualitatif	60
E. Analisis Asam Lemak Secara Kuantitatif.....	61
F. Ekstraksi Lemak Dalam Sampel.....	62
G. Analisis Asam Lemak Menggunakan Kromatografi Gas	64
H. Analisis Asam Lemak Dengan Spektrofotometer FTIR.....	68
I. Analisis Asam Lemak Secara Titrimetri.....	69

	DAFTAR PUSTAKA.....	72
BAB 5	ANALISIS KADAR PROTEIN	
	Oleh : dr. Rauza Sukma Rita, Ph.D.....	74
	A. Pendahuluan	74
	B. Metode Kjeldahl.....	75
	C. Metode Lowry.....	80
	D. Metode Bradford.....	80
	E. Metode Biuret.....	82
	F. Metode Dumas	82
	G. Bicinchoninic Acid (BCA).....	83
	H. Fluorescent Dye Methods.....	84
	I. Metode Spektroskopi Ultra Violet-Visible (UV-Vis)	84
	J. Kesimpulan.....	85
	DAFTAR PUSTAKA.....	87
BAB 6	ANALISIS ASAM-ASAM AMINO PENYUSUN PROTEIN	
	Oleh : Dr. Dessy Arisanty, M.Sc.....	91
	A. Pendahuluan	91
	B. Struktur, Klasifikasi, Fungsi Asam Amino	93
	C. Asam Amino dan Asal Usul Kehidupan di Bumi....	100
	D. Asam Amino sebagai Unit Penyusun Protein	102
	E. Teknik Analisis Asam Amino	105
	F. Aplikasi Analisis Asam Amino dalam Berbagai Bidang	114
	G. Kesimpulan.....	115
	DAFTAR PUSTAKA	117
BAB 7	ANALISIS KADAR VITAMIN LARUT AIR	
	Oleh : Apt. Tri Minarsih, S.Si, M.Sc	120
	A. Pendahuluan	120
	B. Jenis Vitamin Larut Air.....	120
	C. Metode Analisis Kadar Vitamin Larut Air.....	126
	D. Resume Metode KCKT	139
	DAFTAR PUSTAKA.....	141

BAB 8	ANALISIS KADAR VITAMIN YANG LARUT DALAM LEMAK	
	Oleh : Prof. Dr. Eti Yerizel, MS	143
	A. Pendahuluan	143
	B. Analisis Vitamin A	144
	C. Analisis Vitamin D	150
	D. Analisis Vitamin E	152
	E. Analisis Vitamin K	153
	DAFTAR PUSTAKA	155
BAB 9	ANALISIS KOMPONEN BIOAKTIF	
	Oleh : Ahmad Hisbullah Amrinanto, S.Gz., M.Si	157
	A. Pendahuluan	157
	B. Jenis Komponen Bioaktif dan Manfaatnya Bagi Kesehatan	158
	C. Ekstraksi Komponen Bioaktif	163
	D. Analisis Komponen Bioaktif	166
	DAFTAR PUSTAKA	169
BAB 10	ANALISIS BAHAN PENYEGAR	
	Oleh : Dody Handito, S.T.P., M.P.	173
	A. Pendahuluan	173
	B. Tujuan Analisis Bahan Penyegar	174
	C. Klasifikasi Jenis-Jenis Bahan Penyegar	175
	D. Fungsi Utama Bahan Penyegar	177
	E. Karakteristik Fisik dari Bahan Penyegar	179
	F. Metode Analisis Bahan Penyegar	182
	G. Inovasi dalam Teknologi Analisis Bahan Penyegar	186
	DAFTAR PUSTAKA	189
BAB 11	ANALISIS BAHAN TAMBAHAN PANGAN	
	Oleh : Marius Agung Sasmita Jati, S.Si, M.Sc	192
	A. Pendahuluan	192
	B. Pentingnya Pengetahuan Bahan Tambahan Pangan	193
	C. Tujuan Buku Telaah	194
	D. Klasifikasi Bahan Tambahan Pangan	194
	E. Regulasi dan Keamanan Bahan Tambahan Pangan	199

F. Penakaran untuk Keamanan BTP.....	200
G. Labeling dan Informasi Konsumen.....	200
H. Kesimpulan dan Rekomendasi	201
DAFTAR PUSTAKA.....	202
TENTANG PENULIS	204

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Metode Analisis Konvensional Untuk Penentuan Total Lemak Dan Asam Lemak Dalam Makanan Dan Bahan Pangan	40
Tabel 4.1	Jumlah Karbon, Ikatan Rangkap Dan Nama Asam Lemak.....	59
Tabel 4.2	Suhu Terprogram Untuk Pemisahan Asam Lemak Menggunakan Kromatografi Gas.....	68
Tabel 5.1	Faktor Konversi Nitrogen ke Protein (contoh dari ISO 16634-1:2008).....	83
Tabel 6.1	Metoda Hidrolisa Protein-Peptida Menjadi Asam Amino	109
Tabel 6.2	Kimia Derivatisasi untuk Analisis Asam Amino	111
Tabel 11.1	Pigmen, Warna Dan Asal Dari Pewarna Alami (Koswara 2009)	196
Tabel 11.2	Perkiraan Takaran Antara Sendok Makan Dan Sendok Teh (Pedoman BPOM 2012).....	200

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Metode Langsung Dan Tidak Langsung Dalam Penentuan Kadar Air.....	23
Gambar 2.2	Proses Dan Rumus Perhitungan Persentase Kadar Air.....	24
Gambar 2.3	Metode Titrasi Karl Fischer	28
Gambar 4.1	Asam stearat (a) dan Asam Oleat (b)	58
Gambar 4.2	Alat Ekstraksi Lemak Sokslet	64
Gambar 4.3	Skema Kromatografi Gas	65
Gambar 4.4	Hidrolisis Dan Metilasi Ester	66
Gambar 4.5	Reaksi Pemecahan Trigliserida menjadi Metil Ester	67
Gambar 6.1	Asam Amino Dalam Sintesis Protein	92
Gambar 6.2	Reaksi kondensasi dimana tiga molekul asam amino glisin menghasilkan rantai tripeptida, dengan eliminasi dua molekul air (H ₂ O) (Encyclopedia Britannica.Inc).....	94
Gambar 6.3	Ikatan Peptida: Pengikatan Atom-Atom Dalam Ikatan Peptide (Encyclopedia Britannica)	95
Gambar 6.4	Struktur Umum Asam Amino Adalah H ₂ NCH ₂ COOH.	95
Gambar 6.5	Struktur 20 Asam Amino Beserta Rumus Kimianya.	96
Gambar 6.6	Klasifikasi Asam Amino.	98
Gambar 6.7	Ciri khas asam amino adalah rantai samping (semua lingkaran berwarna)	103
Gambar 6.8	Struktur Keseluruhan Protein Mencakup Heliks Alfa (Hijau) Dan Lembaran Beta (Merah).	104
Gambar 6.9	Skema Dari Kuantifikasi Protein Menggunakan Analisis Asam Amino Melalui LC-MS/MS	107
Gambar 6.10	Tahapan Analisis Asam Amino Protein	108
Gambar 6.11	Derivatisasi Asam Amino Bebas Menggunakan Ortho-Phthalaldehyde (OPA)	112
Gambar 6.12	Derivatisasi Asam Amino Bebas Menggunakan Fluorenyl Methyl Chloroformate (FMOC-CI).....	112

Gambar 6.13	Diagram Alir Sistem Analisis Asam Amino (AAA) Menggunakan Derivatisasi Pascakolom.....	113
Gambar 6.14	Kromatogram identifikasi dari analisis asam amino.....	114
Gambar 7.1	Rumus Struktur Tiamin HCl (Kemenkes RI, 2020)	121
Gambar 7.2	Rumus Struktur Riboflavin	121
Gambar 7.3	Struktur Kimia Dari Komponen Niasin (a) Asam Nikotinat, (b) Nikotinamid (c) NAD+, (d) NADP+, dan (e) Bagian yang Tereduksi (Ross Catharine et all, 2007)	123
Gambar 7.4	Rumus Struktur Piridoksin	124
Gambar 7.5	Rumus Struktur Asam Folat	124
Gambar 7.6	Rumus Struktur Riboflavin	125
Gambar 7.7	Rumus Struktur Vitamin C	125
Gambar 7.8	Rumus Struktur Asam Pantotenat dan Koenzim A	126
Gambar 7.9	Kromatogram Campuran Vitamin B dalam Bahan Baku, Berturut-Turut 1= PM, 2=PL, 3=PN dan 4= Sianokobalamin	129
Gambar 7.10	Kromatogram Campuran Vitamin B dalam Sampel Tuna Asap, Berturut-Turut 1= PM, 2=PL, 3=PN dan 4= Sianokobalamin	129
Gambar 7.11	Kromatogram Campuran Vitamin B Dalam Sampel Tiram, Berturut-Turut 1= PM, 2=PL, 3=PN dan 4= sianokobalamin.....	130
Gambar 7.12	Kromatogram dengan Detektor Fluoresen (FLD) dan PDA/UV	132
Gambar 7.13	Kromatogram Dengan Detektor Koulometri Menggunakan 75% Fase Gerak B dengan Laju alir 0.8 mL/ menit, dan Volume Injeksi 0.5 μ L...	133
Gambar 7.14	Kromatogram Asam Askorbat Dengan Detektor Kuolometri Menggunakan 85% Fase Gerak B, dengan Laju Alir 0.8 mL/ Menit, dan Volume Injeksi 0.5 μ L.....	133

Gambar 7.15	Kromatogram Target Vitamin B1, B2, B3 dan B6 yang Akan Dianalisis di Dalam Sampel Sayuran Dengan Spektrofotometri Massa Dengan Mode Single Ion Monitoring (SIM) ... Error! Bookmark not defined.	
Gambar 7.16	Kromatogram target vitamin B1, B2, B3 dan B6 yang akan dianalisis di dalam sampel sayuran (biru) tumpang tindih dengan sampel yang diinjeksikan (hijau), serta fragmentasi dari larutan baku vitamin B6 (A), dengan vitamin B6 dari sampel (B)	136
Gambar 7.17	Kromatogram HPLC dari 13 vitamin pada panjang gelombang 210 nm, urutan dari 13 vitamin adalah: 1: Niasin, 2: Niasinamid, 3:Asam pantotenat, 4: Piridoksin, 5: Tiamin, 6: RMP, 7: Asam folat, 8: Biotin, 9: Hidroksokobalamin, 10: Riboflavin, 11: Kobalamin,	138
Gambar 8.1	Spektrofotometer dan Fotometer	146
Gambar 8.2	Fotometer Microlab 300.....	146
Gambar 8.3	Komponen dan Skema Kerja HPLC	149
Gambar 10.1	Bahan Penyegar (Kopi).....	180
Gambar 10.2	Bahan Penyegar (Teh)	181
Gambar 10.3	Bahan Penyegar (Kakao).....	182



ANALISIS ZAT GIZI PANGAN TEORI DAN PRAKTIK

Suherman, M.Si
Rita Maliza, S.Si., M.Si., Ph.D
Dr. Fathma Syahbanu, S.TP
Atep Dian Supardan, S.SI., M.Si
dr. Rauza Sukma Rita, Ph.D
Dr. Dessy Arisanty, M.Sc
Apt. Tri Minarsih, S.Si., M.Sc
Prof. Dr. Eti Yerizel, MS
Ahmad Hisbullah Amrinanto, S.Gz., M.Si
Dody Handito, S.T.P., M.P.
Marius Agung Sasmita Jati, S.Si., M.Sc



BAB 1

KONSEP DASAR ANALISIS ZAT GIZI PANGAN

Suherman, M.Si.

A. Pendahuluan

Pangan merupakan kebutuhan dasar manusia yang paling utama dan pemenuhannya merupakan bagian dari hak asasi manusia yang dijamin di dalam Undang-Undang Dasar Negara Republik Indonesia Tahun 1945 sebagai komponen dasar untuk mewujudkan sumber daya manusia yang berkualitas. Pangan sangat penting bagi kehidupan setiap insan baik secara fisiologis, psikologis, sosial maupun antropologis. Pangan selalu terkait dengan upaya manusia untuk mempertahankan hidupnya.

Pangan mengandung berbagai senyawa kimia alami. Senyawa kimia yang mutlak dibutuhkan oleh tubuh disebut zat gizi. Jika tubuh kekurangan senyawa kimia tersebut, maka keseimbangan fungsi organ akan terganggu, demikian pula sistem biologis dan proses biokimiawi di dalam tubuh yang pada akhirnya berakibat terjadinya penyakit. Umumnya, zat gizi yang terdapat dalam bahan pangan disebut gizi (Tejasari, 2019). UU No. 18 Tahun 2012 mendefinisikan bahwa zat gizi adalah zat atau senyawa yang terdapat dalam Pangan yang terdiri atas karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral, serat, air, dan komponen lain yang bermanfaat bagi pertumbuhan dan kesehatan manusia (Pemerintah Republik Indonesia, 2012).

B. Konsep Dasar Analisis Zat Gizi Pangan

Menurut Kamus besar bahasa Indonesia, Analisis adalah penguraian suatu pokok atas berbagai bagiannya dan penelaahan bagian itu sendiri serta hubungan antar bagian untuk memperoleh pengertian yang tepat dan pemahaman arti keseluruhan (Kemdikbud, 2021). Menurut Nana Sudjana menyatakan Analisis adalah usaha memilah suatu integritas menjadi unsur- unsur atau bagian-bagian sehingga jelas hierarkinya dan susunannya (Sudjana, 2002). Demikian juga Gorys Keraf menyatakan, Analisis adalah sebuah proses untuk memecahkan masalah sesuatu ke dalam bagian-bagian yang saling berkaitan satu dengan yang lainnya (Keraf, 2021). Dari beberapa penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa analisis adalah kemampuan menguraikan satuan menjadi unit-unit yang terpisah, membagi satuan menjadi sub-sub atau bagian, membedakan antara dua yang sama, dan mengenai perbedaan menurut kriteria tertentu yang saling berkaitan satu dengan yang lainnya.

Zat gizi merupakan senyawa dari makanan yang digunakan tubuh untuk fungsi fisiologis normal. Definisi yang luas ini mencakup senyawa yang digunakan langsung untuk produksi energi yang membantu dalam metabolisme (koenzim), untuk membangun struktur tubuh atau untuk membantu dalam sel tertentu. Suatu zat gizi sangat penting untuk organisme dalam kelangsungan siklus hidup dan terlibat dalam fungsi organisme (Desthi & Rini, 2019). Zat gizi adalah bentuk dari ikatan kimia yang dibutuhkan oleh tubuh dalam melakukan fungsinya sebagai penghasil energi, pembangun dan pemelihara jaringan, serta pengatur semua proses dalam kehidupan manusia (Putri et al., 2020).

Menurut Sunita Almatsier zat gizi adalah ikatan kimia yang diperlukan tubuh untuk melakukan fungsinya, yaitu menghasilkan energi, membangun sel-sel yang mati atau rusak, membangun dan memelihara jaringan, serta mengatur proses pencernaan, penyerapan, transportasi, penyimpanan, metabolisme dan pengeluaran zat gizi untuk mempertahankan

kehidupan, pertumbuhan dan fungsi normal organ tubuh, serta menghasilkan tenaga (Almatsier, 2009). Zat gizi (*Nutrients*) adalah ikatan kimia yang diperlukan tubuh untuk melakukan fungsinya, yaitu menghasilkan energi, membangun dan memelihara jaringan serta mengatur proses-proses kehidupan (Sediaoetama, 2008).

Dari penjelasan di atas dapat disimpulkan bahwa zat gizi merupakan ikatan kimia yang diperlukan tubuh untuk melakukan fungsinya mencakup senyawa yang digunakan langsung untuk produksi energi, membantu dalam metabolisme, serta membangun struktur tubuh atau untuk membantu dalam sel/jaringan tertentu.

Food and Agriculture Organization (FAO) mendefinisikan pangan adalah segala bahan, baik yang diolah, setengah jadi, atau mentah, yang dimaksudkan untuk konsumsi manusia, dan termasuk minuman, permen karet, dan bahan apa pun yang telah digunakan dalam pembuatan, penyiapan, atau pengolahan "makanan" namun tidak termasuk kosmetik atau tembakau atau zat yang hanya digunakan sebagai obat (*Food and Agriculture Organization* (FAO), 2023).

Sunita A. berpendapat bahwa pangan adalah semua bahan yang dapat dijadikan makanan (Almatsier, 2010). Hal ini sesuai dengan konsep dalam Undang-Undang tentang pangan terbaru, yaitu UU No. 18 Tahun 2012 yang menyatakan bahwa pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan, dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan Pangan, bahan baku Pangan, dan bahan lainnya yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan/atau pembuatan makanan atau minuman (Pemerintah Republik Indonesia, 2012). Pada UU tentang pangan terbaru juga menjelaskan, pangan pokok didefinisikan secara eksplisit. Pangan Pokok merupakan pangan yang diperuntukkan sebagai makanan utama sehari-hari sesuai dengan potensi sumber daya

dan kearifan lokal. Begitu juga dengan pangan lokal didefinisikan bahwa makanan yang dikonsumsi oleh masyarakat setempat sesuai dengan potensi dan kearifan lokal.

Berdasarkan penjelasan tentang pangan tersebut sehingga penulis menyimpulkan bahwa pangan merupakan segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan, dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan Pangan, bahan baku Pangan, dan bahan lainnya yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan/atau pembuatan makanan atau minuman namun tidak termasuk kosmetik atau tembakau atau zat yang hanya digunakan sebagai obat.

Analisis zat gizi pangan merupakan disiplin ilmu yang berkaitan dengan pengembangan (development), penerapan dan penelitian tentang prosedur analitik untuk mengetahui karakteristik pangan dan zat gizinya (Nio, 2012). Karakteristik pangan yang beragam seperti kandungan/komposisi zat gizinya (misal: jenis karbohidrat, asam lemak, asam amino, tinggi protein, zat besi), struktur (misal: berongga/*porous*, berserat/*fibrous*), sifat fisik (misal: titik didih, leleh, viskositas) dan kimia (misal: pH) serta sifat sensori (misal: renyah, kenyal, cerah, rasa karamel) dihasilkan dari melakukan analisis pangan dan gizi. Dengan mengetahui karakteristik pangan, dapat memudahkan orang yang berkecimpung dalam bidang ini baik sebagai produsen, konsumen, pemerintah atau pun peneliti untuk membuat produk yang aman, ekonomis tetapi kaya gizi, diterima konsumen, dan tidak melanggar peraturan.

Dari penjelasan tersebut dapat disimpulkan bahwa analisis zat gizi pangan merupakan usaha pemisahan suatu kesatuan materi bahan yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan, dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia menjadi komponen-komponen penyusunnya sehingga

dapat dikaji lebih lanjut sebagai data untuk menetapkan komposisi/susunan bahan tersebut.

Makanan dianalisis oleh para ilmuwan yang bekerja di industri makanan, termasuk produsen makanan, pemasok bahan mentah, laboratorium analitik, laboratorium pemerintah, dan laboratorium universitas. Tujuan analisis pangan dan gizi meliputi: 1. Kepatuhan terhadap peraturan dan rekomendasi Pemerintah; 2. Keamanan pangan; 3. Pengendalian mutu (*quality control*), 4. Pengembangan/penelitian produk (*food research and development*) (Finglas, 1993).

1. Peraturan dan Rekomendasi Pemerintah

Analisis zat gizi pangan digunakan oleh pemerintah untuk menerapkan peraturan dan rekomendasi guna memastikan ketersediaan pangan berkualitas tinggi, memastikan bahwa industri pangan menghasilkan produk berkualitas baik dan aman, serta memastikan bahwa pembeli menemukan label makanan yang dapat membantu menentukan jika pembeli ingin melihat kualitas makanan tersebut. Kami memastikan persaingan yang sehat dan tidak ada kecurangan antar perusahaan makanan. Pihak berwenang dan organisasi yang bertanggung jawab atau berperan dalam pemantauan dan evaluasi komposisi dan mutu pangan, serta pengaduan konsumen antara lain Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), Badan Ketahanan Pangan (BKP), dan Yayasan Lembaga Konsumen Indonesia (YLKI).

Analisis zat gizi pangan membantu menetapkan standar pangan wajib dan sukarela. Standar wajib berkaitan dengan komposisi, kualitas, pengujian, dan pelabelan produk tertentu. Misalnya, suatu kue disebut kue pisang jika mengandung paling sedikit 50% tepung pisang. Selai kacang (peanut butter) harus mengandung kurang dari 55% lemak (*fat*). Es krim harus mengandung 10% lemak susu. Keju cheddar harus mengandung setidaknya 50% lemak tetapi tetap mengandung air kurang dari 39% (BPOM RI, 2020).

2. Keamanan Pangan

Tujuan utama melakukan analisis zat gizi pangan adalah untuk menjamin keamanan produsen dan konsumen. Menjual produk yang berbahaya atau beracun dapat langsung membuat produsen gulung tikar. Apabila pangan mengandung zat pencemar berupa bahan haram, khususnya konsumen muslim (misalnya daging babi, darah, karkas, alkohol), mikroorganisme patogen (misalnya *L. Listeria*, *Salmonella*), maka pangan dianggap tidak aman apabila mengandung atau mengandung bahan kimia berbahaya (misalnya pestisida, herbisida) dan kontaminasi fisik (misalnya pecahan kaca, kayu, logam, serangga).

3. Pengendalian Mutu (*Quality Control*)

Analisis zat gizi pangan dipergunakan oleh perusahaan sebagai cara evaluasi kualitas produk (*quality control*). Perusahaan ingin menjamin produknya masuk dalam kategori kualitas lebih tinggi, harga lebih murah dan lebih disukai dibandingkan kompetitornya. Oleh karena itu, analisis zat gizi pangan harus dilakukan sebelum, selama, dan sesudah produksi pangan/produk. Perusahaan tentu ingin produknya sesuai standar yang sudah ditetapkan, bayangkan saja jika anda konsumsi minuman kaleng, hari ini warna kuning dan wangi, esok kehijauan dan tak beraroma tetapi pada kesempatan lain warnanya menjadi hitam dan berbau.

Terutama perusahaan yang memproduksi produk dari bahan baku campuran. Bahan-bahan tersebut tentu berbeda dalam bentuk, penanganan, pengemasan, dan penyimpanannya. Perubahan karakteristik produk pada saat pengemasan dapat mempengaruhi kuantitas dan kualitas produk yang dihasilkan.

4. Pengembangan/Penelitian Produk (*Food Research And Development*)

Ketika preferensi dan kebutuhan konsumen akan makanan bergizi dan sehat berubah, perusahaan makanan dan perguruan tinggi mungkin bereksperimen dalam

pengembangan dan penemuan produk. Contoh eksperimen pengembangan produk adalah pembuatan biskuit pisang dalam mempengaruhi karakteristik (Rate et al., 2023). Pembuatan Mi berbahan dasar tepung pisang (Aprianti et al., 2023) atau analisis kadar vitamin pada dendeng daun singkong (Syima et al., 2022).

Sedangkan menurut DeMan tujuan analisis pangan antara lain (DeMan, 1999):

- a. Menguraikan komponen-komponen bahan pangan (jenis dan jumlah).
- b. Menentukan suatu komponen bahan untuk menentukan kualitas bahan pangan
- c. Menentukan suatu komponen bahan untuk menyusun menu
- d. Menentukan ada atau tidak bahan tambahan dalam makanan
- e. Mendeteksi adanya bahan metabolik senyawa beracun dalam makanan
- f. Mengikuti terjadinya perubahan selama penanganan atau pengolahan

C. Peningkatan Mutu Gizi Pangan

Menurut UU No. 18 Tahun 2012 tentang Pangan, dinyatakan bahwa mutu pangan adalah nilai yang ditentukan atas dasar keamanan pangan, kandungan gizi, dan standar perdagangan terhadap bahan makanan, makanan dan minuman (Pemerintah Republik Indonesia, 2012). Penilaian kualitas makanan adalah penilaian mutu dari bahan pangan yang telah mengalami pengolahan atau pemasakan. Tujuan dari penilaian mutu makanan adalah untuk mendapatkan standar kualitas yang layak untuk dikonsumsi.

Mutu pangan merupakan seperangkat sifat atau faktor pada produk pangan yang membedakan tingkat kepuasan produk bagi konsumen. Aspek-aspek mutu pangan antara lain (DeMan, 1999):

1. Aspek gizi seperti kalori, protein, lemak, mineral, vitamin.
2. Aspek selera seperti inderawi, enak, menarik, segar.
3. Aspek bisnis seperti standar mutu dan kriteria mutu.
4. Aspek kesehatan seperti jasmani dan Rohani.
5. Aspek organoleptik seperti bau, aroma, rasa, dan warna.

Tujuan peningkatan kadar dan mutu gizi pangan yaitu (Ayustaningwarno et al., 2021):

1. Zat gizi yang ditambahkan tidak boleh mengubah warna atau rasa pangan.
2. Zat gizi harus stabil selama penyimpanan.
3. Tidak boleh berinteraksi secara merugikan dengan zat gizi lain dalam pangan
4. Jumlah zat gizi yang ditambahkan harus dicerna dengan memperhatikan kebutuhan individu untuk menghindari kemungkinan keracunan (akibat *overdosis*).

Adapun jenis-jenis peningkatan mutu gizi pangan (PATPI, 2020):

1. Suplementasi

Suplementasi harus dilakukan dengan memenuhi persyaratan tertentu. Untuk tujuan meningkatkan nilai gizi suatu bahan makanan, persyaratan yang harus dipenuhi antara lain sebagai berikut:

- a. Zat gizi yang ditambahkan tidak mengubah warna dan cita rasa bahan makanan.
- b. Zat gizi tersebut harus stabil selama penyimpanan.
- c. Zat gizi tersebut tidak menyebabkan timbulnya suatu interaktif negatif dengan zat gizi lain yang terkandung dalam bahan makanan.
- d. Jumlah yang ditambahkan harus memperhitungkan kebutuhan individu, sehingga kemungkinan terjadinya keracunan dapat dihindarkan.

2. Fortifikasi

Fortifikasi pangan adalah penambahan satu atau lebih zat gizi (*nutrien*) ke dalam pangan dengan tujuan-tujuan berikut:

- a. Untuk memperbaiki kekurangan zat-zat dari pangan (untuk memperbaiki defisiensi akan zat gizi yang ditambahkan).
- b. Untuk mengembalikan zat-zat yang awalnya terdapat dalam jumlah yang signifikan dalam pangan akan tetapi mengalami kehilangan selama pengolahan.
- c. Untuk meningkatkan kualitas gizi dari produk pangan olahan (pabrik) yang digunakan sebagai sumber pangan bergizi misa: biskuit kaya akan gizi dalam pencegahan stunting.
- d. Untuk menjamin ekuivalensi gizi dari produk pangan olahan yang menggantikan pangan lain, misalnya margarin yang difortifikasi sebagai pengganti mentega.

3. *Enrichment*

Enrichment (pengkayaan) adalah penambahan satu atau lebih zat gizi pada pangan asal pada taraf yang ditetapkan dalam standar internasional.

4. **Komplementasi (*Substitusi*)**

Komplementasi adalah suatu upaya melengkapi zat gizi yang terdapat pada bahan makanan yang mengandung defisiensi akan zat gizi tertentu

D. Penilaian Kualitas Pangan

Penilaian kualitas pangan terdiri dari dua, yaitu:

1. **Penilaian Objektif**

Penilaian Objektif dilakukan dengan menggunakan alat. Penilaian objektif meliputi:

a. Uji Fisik

Kualitas produk diukur secara objektif berdasarkan hal-hal fisik yang nampak dari suatu produk. Metode penilaian mutu dengan alat dapat digunakan untuk mengungkapkan karakteristik atau sifat-sifat mutu pangan yang tersembunyi. Umumnya, hasil pengukuran karakteristik mutu dengan uji sensori memiliki nilai korelasi yang tinggi dengan hasil pengukuran karakteristik mutu dengan alat. Metode pengukuran uji

fisik digunakan untuk menguji warna, volume, tekstur, viskositas atau kekentalan dan konsistensi, keempukan dan keliatan serta bobot jenis (Ratmana, 2019).

Kelebihan Uji fisik:

- 1) Memiliki relevansi yang tinggi dengan mutu produk
- 2) Metode ini cukup mudah dan cepat untuk dilakukan, hasil pengukuran dan pengamatannya juga cepat diperoleh
- 3) Dapat membantu analisa usaha untuk meningkatkan produksi atau pemasarannya
- 4) Kekurangan Uji fisik:
- 5) Keterbatasan akibat beberapa sifat indrawi tidak dapat dideskripsikan.
- 6) Objektif alat/instrumen harus dapat dilakukan selalu terkalibrasi untuk dengan menjamin keakuratan menggunakan alat-alat dan kecermatan hasil alat yang sederhana.
- 7) Dapat terjadi pula salah komunikasi antara manajer dan panelis.

Uji fisik dapat dilakukan dengan menggunakan alat atau instrumen seperti:

- 1) Spektrofotometer
- 2) Planimeter.
- 3) Teksturometer.
- 4) Penetrometer & Hydrometer.
- 5) Lactometer.
- 6) Alcoholmeter.
- 7) Sakarometer.

b. Uji Kimia

Helrich, (1990), mengemukakan bahwa metode pengukuran uji kimia adalah uji dimana kualitas produk diukur secara objektif berdasarkan kandungan kimia yang terdapat dalam suatu produk. Metode pengukuran uji kimia dibagi menjadi dua kelompok yaitu:

- 1) Analisis proksimat yaitu kadar air dan kadar abu.
- 2) Analisis kualitatif/kuantitatif yaitu protein, lemak, karbohidrat, asam lemak, kadar gula reduksi maupun kadar asam amino.

Kelebihan Uji Kimia:

- 1) Sangat objektif, memiliki prosedur terstandar.
- 2) Hasil dapat dipercaya (*reliability* tinggi).
- 3) Dapat menentukan kualitas makanan dari kimia zat gizi yang terkandung didalamnya.

Kekurangan Uji Kimia:

- 1) Mahal.
- 2) Kompleks.
- 3) Menuntut keahlian dan pengetahuan di bidang analisa kimia.
- 4) Membutuhkan ketelitian dan kehati-hatian dalam pengerjaannya, karena melibatkan reagen-reagen kimia.

c. Uji Mikrobiologis

Metode pengukuran uji mikrobiologis untuk mengukur jumlah bakteri, kapang, ragi dan protozoa, contoh: uji total mikroba (*Total Plate Count/TPC*). Uji mikrobiologi merupakan salah satu uji yang penting, karena selain dapat menduga daya tahan simpan suatu makanan, juga dapat digunakan sebagai indikator sanitasi makanan atau indikator keamanan makanan.

Pengujian mikrobiologi diantaranya meliputi uji kualitatif untuk menentukan mutu dan daya tahan suatu makanan, uji kuantitatif bakteri patogen untuk menentukan tingkat keamanannya, dan uji bakteri indikator untuk mengetahui tingkat sanitasi makanan tersebut (Fardiaz, 2017).

Pada uji mikrobiologis kualitas produk diukur secara objektif berdasarkan keberadaan mikroorganisme yang terdapat dalam suatu produk. Uji ini berperan besar dalam mengetahui higiene sanitasi makanan akan tetapi

juga memiliki beberapa kekurangan yaitu adanya risiko kontaminasi terhadap penguji dan butuh waktu lama karena mikroba harus diinkubasi. Berbagai macam uji mikrobiologis dapat dilakukan terhadap bahan pangan, meliputi (Fardiaz, 2017):

- 1) Uji kuantitatif mikroba untuk menentukan daya tahan suatu makanan.
- 2) Uji kualitatif bakteri patogen untuk menentukan Tingkat keamanan
- 3) Uji indikator untuk menentukan tingkat sanitasi makanan tersebut.

Pengujian yang dilakukan terhadap tiap bahan pangan tidak sama tergantung berbagai faktor, seperti jenis dan komposisi bahan pangan, cara pengepakan dan penyimpanan serta konsumsinya, kelompok konsumen dan berbagai faktor lainnya (BPOM RI, 2020).

2. Penilaian Subjektif

a. Uji Organoleptik

Galuh Ratmana (2019), menjelaskan bahwa Uji Organoleptik merupakan Penilaian dengan indra. Penilaian Organoleptik atau Penilaian Sensorik merupakan suatu cara penilaian yang paling kuno. Penilaian dengan indra menjadi bidang ilmu setelah prosedur penilaian dibakukan, dirasionalkan, dihubungkan dengan penilaian secara obyektif, analisa data menjadi lebih sistematis, demikian pula metode statistic digunakan dalam analisa serta pengambilan keputusan. Penilaian organoleptik sangat banyak digunakan untuk menilai mutu dalam industri pangan. Kadang-kadang penilaian ini dapat memberi hasil penilaian yang sangat teliti. Dalam beberapa hal penilaian dengan indera bahkan melebihi ketelitian alat yang paling sensitif. Santoso juga mengemukakan tujuan serta kelebihan dan kekurangan dari organolaptik (Santoso et al., 2020).

Tujuan uji organoleptik adalah untuk:

- 1) Pengembangan produk dan perluasan pasar.
- 2) Pengawasan mutu terhadap bahan mentah, produk, dan komoditas.
- 3) Perbaikan produk.
- 4) Membandingkan produk sendiri dengan produk pesaing.
- 5) Evaluasi penggunaan bahan, formulasi, dan peralatan baru.

Kelebihan uji organoleptik:

- 1) Mampu mendeskripsikan sifat-sifat tertentu yang tidak dapat digantikan dengan cara pengukuran menggunakan mesin, instrumen ataupun peralatan lain
- 2) Disenangi karena dapat dilaksanakan dengan cepat dan langsung.

3) Kekurangan Uji Organoleptik:

- a) Bisa terjadi bias
- b) Kesalahan panelis
- c) Kesalahan pengetesan
- d) Subjektivitas
- e) Kelemahan pengendalian peubah
- f) Ketidaklengkapan informasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. (2009). Prinsip Dasar Ilmu Gizi. 2009. https://mafiadoc.com/prinsip-dasar-ilmu-gizi-sunita-almatsier-library-um-universitas-_5a27d6601723dddb630c505a.html
- Almatsier, S. (2010). Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Aprianti, D., Rosita, R., Rantani, D., & Rate, S. (2023). The Substitution of Noodles Made from Banana Flour and Cassava Leaf Flour as Functional Food. *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Scientific Health Journal)*, 8(2), 186-194. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.51933/health.v8i2.1246>
- Ayustaningwarno, F., Rustanti, N., Afifah, D. N., & Anjani, G. (2021). Teori dan Aplikasi Teknologi Pangan. In Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro (Issue August).
- BPOM RI. (2020). Peraturan BPOM No 8 Tahun 2020 tentang Pengawasan Obat dan Makanan. Badan Pengawas Obat Dan Makanan, 53.
- DeMan, J. M. (1999). Principles of Food Chemistry. In Science.
- Desthi, D. I. I. S., & Rini, W. A. (2019). Hubungan Asupan Makan Dan Aktivitas Fisik Dengan Status Gizi Peleton Inti Smp N 5 Yogyakarta. 04 Juli.
- Fardiaz, D. (2017). Food Regulations and Enforcement in Indonesia. In Reference Module in Food Science. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.21177-3>
- Finglas, P. M. (1993). Food Composition Data: Production, Management and Use. *Trends in Food Science & Technology*, 4(6). [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(93\)90130-3](https://doi.org/10.1016/0924-2244(93)90130-3)

- Food and Agriculture Organization (FAO). (2023). *FAO Publications Catalogue 2023*. FAO. <https://doi.org/10.4060/CC7285EN>
- Helrich, K. (1990). *AOAC:Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (Volume 1). Chemical and Functional Properties of Food Saccharides, 1(Volume 1)*.
- Kemdikbud. (2021). *Kamus Besar Bahasa Indonesia*. In *Kamus Besar Bahasa Indonesia*.
- Keraf, G. (2021). *Diksi dan Gaya Bahasa*. In PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, Indonesia.
- Nio, Oey Kam. (2012). *Daftar Analisis Bahan Makanan (6th ed.)*. Jakarta :: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (FKUI).
- PATPI. (2020). *Perspektif Global Ilmu dan Teknologi Pangan*. In *Perspektif Global Ilmu Dan Teknologi Pangan Jilid 2*.
- Pemerintah Republik Indonesia. (2012). *Undang-Undang (UU) Nomor 18 Tahun 2012 tentang Pangan*. In *Pemerintah Pusat Indonesia*.
- Putri, E. B. A., Tayong, S. N., Dhewi, S., Conterius, R. E. B., Afrinis, N., Badi'ah, A., Saragih, M., Fahrul, R., Bintanah, S., Widyarni, A., Pijaryani, I., Utami, D. K., Sambriang, M., Wahyuni, L. E. T., Wahyuningrum, D. R., Siddiq, M. N. A. A., Inayah, H. K., Lasepa, W., Yolanda, H., ... Majiding, C. M. (2020). *Ilmu Gizi dan Pangan (Teori dan Penerapan)*. Media Sains Indonesia; Kota Bandung. <https://zlibrary-id.se/book/26086279/fae0cf>
- Rate, S., Ishak, S., Sutriningsih, S., Safitri, O., Dewanti, R., Herman, H., Dewi, A. P., & Hadi, A. J. (2023). *Karakteristik Biskuit Berbahan Tepung Daun Kelor (Moringa oleifera) dan Tepung Pisang (Musa paradisiaca)*. *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Health Scientific Journal)*, 8(2), 225–236.

<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.51933/health.v8i2.1255>

- Ratmana, G. (2019). Buku Ajar Kimia Amami (Analisa Makanan Minuman). In Buku Ajar Kimia Amami (Analisa Makanan Minuman). <https://doi.org/10.21070/2019/978-602-5914-84-3>
- Santoso, U., Setyaningsih, W., Ningrum, A., Ardhi, A., & Sudarmanto. (2020). Analisa Pangan. In Gadjah Mada University Press.
- Sediaoetama, A. D. (2008). Ilmu Gizi: Untuk Mahasiswa Dan Profesi Jilid 1. 101, 1-6.
- Sudjana, N. (2002). Pembinaan dan Pengembangan kurikulum di Sekolah. In Sinar Baru (4th ed.).
- Syima, S. N. A., Kurnia Yusuf, Icha Dian Nurcahyani, Suherman, & St Nurintang. (2022). Analisis Kadar Vitamin C (Asam Askorbat) Dan Uji Organoleptik Dendeng Daun Singkong (Manihot Esculenta) Sebagai Upaya Meningkatkan Imunitas Tubuh Di Masa Pandemi Covid-19. *Jurnal Gizi Dan Kesehatan*, 14(1). <https://doi.org/10.35473/jgk.v14i1.249>
- Tejasari. (2019). Nilai Gizi Pangan (2nd ed.). Pustaka Panasea, Yogyakarta.

BAB 2

ANALISIS KADAR AIR

Rita Maliza, S.Si., M.Si., Ph.D

A. Pendahuluan

Semua bahan pangan mengandung air sebagai komponen esensial. Meskipun air bukan sumber zat gizi, keberadaannya sangat penting untuk mendukung proses biokimiawi yang vital bagi makhluk hidup. Air dalam bahan pangan hadir dalam beberapa bentuk, yaitu air bebas, air terikat lemah, dan air terikat kuat. Air bebas berperan dalam proses kerusakan bahan pangan, seperti melalui aktivitas mikrobiologis, reaksi kimia, dan aktivitas enzim, serta bahkan dapat dipengaruhi oleh serangan serangga. Sebaliknya, air yang terikat lemah dan kuat tidak berkontribusi pada kerusakan bahan pangan. Kadar air dalam bahan pangan dinyatakan dalam persen (%) dengan skala 0-100.

Analisis kadar air dalam makanan merupakan aspek penting dalam ilmu pengetahuan dan teknologi makanan, yang berdampak pada berbagai faktor seperti kualitas makanan, umur simpan, tekstur, dan kepatuhan hukum. Analisis ini melibatkan penentuan konsentrasi air dalam sampel makanan dengan menggunakan berbagai teknik.

1. Pentingnya Analisis Kadar Air

a. Kualitas dan Keamanan Makanan:

Kadar air mempengaruhi tekstur, rasa, penampilan, dan stabilitas produk makanan. Kelembaban yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba, pembusukan, dan berkurangnya masa simpan,

sementara kelembaban yang terlalu rendah dapat membuat makanan menjadi kering dan tidak enak.

b. Perpanjangan Umur Simpan

Mengontrol kadar air membantu memperpanjang masa simpan produk makanan dengan mengurangi laju pertumbuhan mikroba dan reaksi kimia yang menyebabkan pembusukan.

c. Persyaratan Hukum dan Pelabelan

Pengukuran kadar air yang akurat sangat penting untuk memenuhi peraturan dan standar pelabelan makanan yang ditetapkan oleh organisasi seperti FDA, BRC, dan ISO.

d. Dampak Ekonomi

Kadar air mempengaruhi berat dan, akibatnya, biaya produk makanan. Hal ini juga penting untuk menentukan hasil panen dan berat kering produk pertanian

2. Implikasi Analisis Kadar Air

a. Pemrosesan dan Manufaktur Makanan

Pengukuran kadar air yang akurat memastikan kualitas produk yang konsisten dan pemrosesan yang efisien. Hal ini membantu mengoptimalkan proses pengeringan dan mencegah masalah seperti penyumbatan pada mesin karena kelembaban berlebih.

b. Pengurangan Limbah Makanan

Dengan memperpanjang masa simpan produk makanan dan mencegah pembusukan, analisis kadar air memainkan peran penting dalam mengurangi limbah makanan, yang memiliki manfaat ekonomi dan lingkungan.

c. Penerimaan Konsumen

Mempertahankan kadar air yang tepat sangat penting untuk kepuasan konsumen karena mempengaruhi atribut sensorik produk makanan, seperti rasa dan tekstur.

Analisis kadar air merupakan aspek fundamental dalam ilmu pangan yang berdampak pada berbagai tahap produksi pangan, mulai dari pemeriksaan bahan baku hingga kontrol kualitas produk akhir. Dengan menggunakan metode yang akurat dan efisien, produsen makanan dapat memastikan keamanan produk, kepatuhan terhadap peraturan, dan mengurangi limbah makanan, yang pada akhirnya mengarah pada kepuasan konsumen dan manfaat ekonomi yang lebih baik (Pomeranza., 1994; Popescu., 2022; Alzeer., 2010)

B. Air dalam Sistem Pangan

Beberapa jenis makanan umumnya mengandung lima kelompok utama bahan kimia yaitu air, mineral, karbohidrat, lipid, dan protein. Selain itu, komposisi produk makanan juga mencakup vitamin, pigmen, asam, enzim, tanin, minyak esensial, glukosida, alkaloid, hormon, fitonsida, dan sebagainya. Perlu diperhatikan bahwa tidak semua makanan memiliki potensi gizi yang signifikan, beberapa makanan lebih berperan dalam memberikan rasa, aroma, atau sifat lain yang mendukung proses makan.

Di antara zat-zat alami dalam makanan, air adalah elemen yang paling dinamis, ditemukan dalam kisaran 0,05 - 95% tergantung pada produknya. Air, bersama dengan mineral, karbohidrat, dan protein, merupakan lingkungan yang baik untuk perkembangan mikroorganisme. Oleh karena itu, makanan yang kaya akan air mudah rusak. Stabilitas makanan berbanding terbalik dengan kandungan airnya, semakin sedikit air yang terkandung, semakin tinggi stabilitasnya.

Air yang digunakan dalam pembuatan produk makanan harus memenuhi standar kualitas yang sama dengan air minum. Sebagai agen teknologi, air tidak mempengaruhi kandungan air dalam produk, tetapi memfasilitasi produksinya. Sebagai contoh, pasta dibuat dari tepung dengan kadar air 14%. Untuk menghasilkan adonan dengan kelembaban 30% yang kemudian diuleni, dikeringkan, dan menghasilkan pasta dengan

kelembaban akhir 11-13%. Semua zat asing dalam air, sekali masuk ke dalam makanan, akan tetap ada meskipun air tersebut dihilangkan selama proses teknologi. Air langsung mempengaruhi kualitas produk baik dalam jumlah maupun kondisinya. Dalam produk makanan, air ditemukan dalam keadaan bebas (air bebas) dan dalam keadaan terikat (air terikat).

Air memiliki peran penting dalam melarutkan bahan kimia lain di dalam massanya dan merupakan nutrien yang diperlukan untuk aktivitas enzim bakteri. Oleh karena itu, kandungan air dalam makanan diawasi dan ditetapkan dalam standar, karena merupakan elemen esensial yang menentukan kondisi dan masa simpan makanan. Selain itu, kandungan air juga mempengaruhi persepsi konsumen terhadap beberapa karakteristik produk, seperti kesegaran.

Air dalam produk makanan dapat ditemukan dalam dua bentuk: air bebas dan air terikat. Namun, air dapat diklasifikasikan menjadi setidaknya tiga bentuk:

1. Air bebas yang ada di ruang antar butiran dan dalam pori-pori material. Air ini berfungsi sebagai media dispersi untuk makromolekul hidrofobik seperti protein, gom, dan zat fenolik untuk membentuk larutan molekuler atau koloid, serta sebagai pelarut untuk senyawa kristal.
2. Air higroskopis adalah air yang diserap sebagai lapisan tipis, mono- atau polimolekuler pada permukaan internal atau eksternal komponen padat seperti pati, pektin, selulosa, dan protein melalui gaya molekuler atau kondensasi kapiler. Molekul air tipe ini dan makromolekul penyerap terikat kuat melalui gaya adsorpsi yang diakibatkan oleh pembentukan ikatan hidrogen atau gaya Van der Waals.
3. "Air terikat" adalah air yang berada dalam kombinasi kimia sebagai air hidrat. Karbohidrat seperti dekstrosa, maltosa, dan laktosa membentuk monohidrat stabil, dan garam seperti kalium tartrat juga membentuk hidrat.

Air bebas dapat diekstraksi dari produk dengan menekan atau mengeringkan. Air higroskopis juga merupakan air bebas yang ditahan oleh penyerapan dalam mikrokapilari atau pada

permukaan produk. Semua proses enzimatik, beberapa reaksi enzimatik, dan perkembangan mikroorganisme hanya dapat berlangsung dengan kehadiran air bebas.

Air dalam makanan terikat dalam berbagai bentuk, tergantung pada sifat ikatan yang berbeda: air terikat fisik, fisiko-kimia, dan kimia. Air terikat fisik spesifik untuk bahan berpori dan ditahan oleh gaya mekanis oleh bahan higroskopis melalui gaya permukaan dan kapiler.

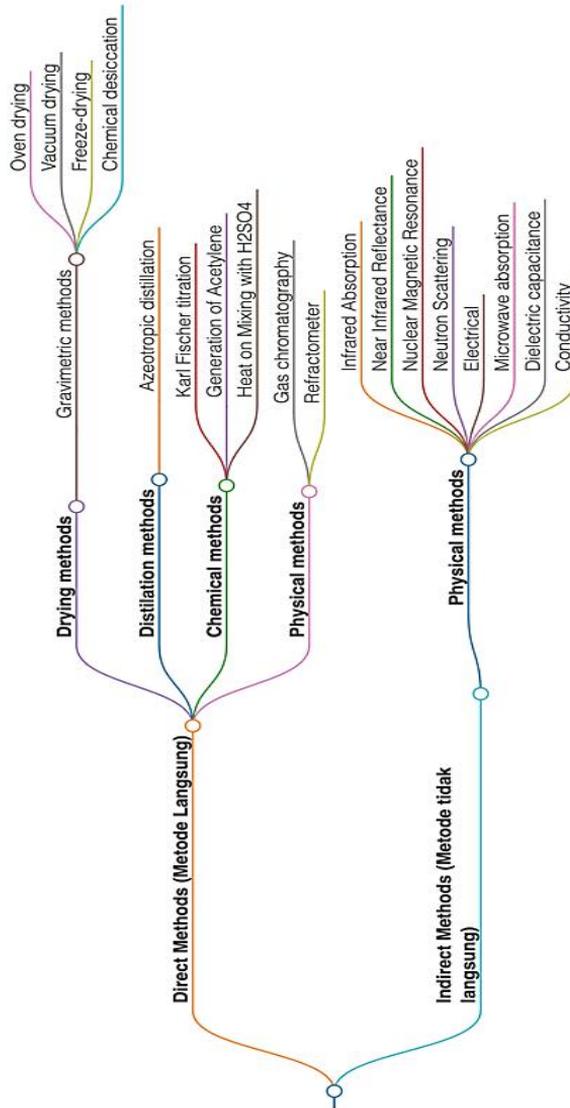
Air yang ditahan dalam mikrokapilari disebut air higroskopis dan yang ada dalam makrokapilari juga disebut air bebas atau kelembaban permukaan. Air kapiler mewakili 70% dari total kandungan kelembaban produk makanan dan karena ikatannya yang lemah dengan produk, air ini mudah dihilangkan dengan penguapan. Air yang terikat fisik dan kimia adalah bentuk ikatan air yang lebih stabil, hadir di sebagian besar makanan, tanpa terikat erat dengan material. Ikatan ini terbentuk melalui ikatan adsorben dan ikatan osmotik atau struktural. Ikatan adsorben spesifik untuk fenomena permukaan, memiliki intensitas sedang dan cukup sulit dibalik. Ikatan osmotik intensitasnya lebih lemah dan lebih mudah dibalik.

Air dalam makanan dapat berubah dari satu bentuk ke bentuk lain: dalam pembuatan keju, misalnya, air susu bebas berubah menjadi air terikat. Air terikat adalah bentuk air yang tetap tidak berubah ketika makanan menjalani perlakuan panas tertentu. Konsentrasi air terikat bervariasi dari satu makanan ke makanan lain. Produk yang memiliki kandungan air tinggi mudah rusak, memberikan kondisi yang menguntungkan bagi perkembangan mikroorganisme patogen dan oleh karena itu penyimpanan jangka panjangnya memerlukan kondisi khusus pada suhu rendah. Kategori ini termasuk daging dan ikan yang mudah diserang oleh bakteri pembusuk, buah-buahan, dan sayuran yang diserang oleh jamur. Penurunan kandungan air dari beberapa produk di bawah nilai normal menyebabkan penurunan nilai produk tersebut, misalnya pada buah dan sayuran.

C. Metode Penentuan Kadar Air

Salah satu metode penting yang digunakan dalam pengendalian makanan adalah penentuan kadar air (*moisture content determination*). Penentuan kadar air merupakan metode yang memberikan informasi mengenai nilai gizi, daya simpan, nilai kegunaan dalam pencernaan, serta efisiensi teknologinya. Penentuan kadar air dalam berbagai produk dapat dilakukan dengan metode fisika atau kimia, dan dengan metode langsung atau tidak langsung. Kadar air merupakan indikator kualitas, terutama untuk produk di mana koreksi kelembaban ke nilai optimal diperlukan dan memungkinkan, seperti sereal, keju, daging olahan, produk gula, dan lain-lain.

Metode analitis penentuan kelembaban dapat diklasifikasikan dengan dua cara. Salah satu cara klasifikasi didasarkan pada prinsip analitis, yang mencakup metode berdasarkan pengeringan sampel (metode pengeringan), metode berdasarkan distilasi (metode distilasi), metode fisika dan kimia. Cara lain dalam mengklasifikasikan metode ini tergantung pada prosedur dalam metode langsung dan tidak langsung.



Gambar 2.1 Metode Langsung Dan Tidak Langsung Dalam Penentuan Kadar Air

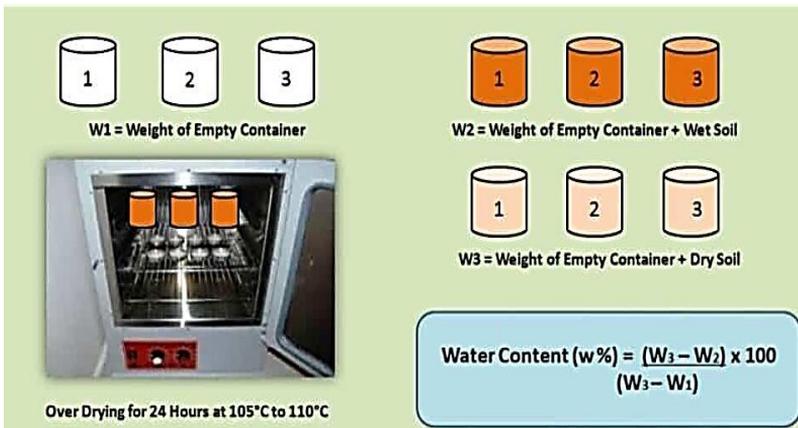
Dalam metode langsung, penghilangan air dari sampel makanan padat biasanya dilakukan dengan cara pengeringan, distilasi, dan sebagainya, serta jumlahnya diukur dengan cara penimbangan, titrasi, dan lain-lain. Sebaliknya, dalam metode

tidak langsung, sifat-sifat padatan basah diukur dan air (kelembaban) tidak dihilangkan dari sampel. Sifat-sifat padatan basah bergantung pada jumlah air atau jumlah atom hidrogen. Dalam metode tidak langsung untuk penentuan air, perlu dilakukan kalibrasi terhadap nilai kelembaban standar yang telah ditentukan secara akurat menggunakan satu atau lebih metode langsung. Oleh karena itu, nilai pengukuran langsung yang digunakan untuk kalibrasi menentukan akurasi metode tidak langsung.

Penilaian kelembaban dengan metode langsung dilakukan dengan presisi (mendapatkan nilai yang tepat dan bahkan absolut). Sayangnya, metode ini memerlukan waktu yang lama (lambat) dan sebagian besar manual. Sebaliknya, metode tidak langsung biasanya cepat, tidak merusak bahan yang diperiksa, dan menawarkan kemungkinan penentuan terus menerus melalui otomatisasi.

1. Metode Pengeringan Oven

Pengeringan oven adalah metode langsung yang banyak digunakan untuk menentukan kadar air berbagai produk makanan. Metode ini melibatkan pemanasan sampel dalam oven untuk menguapkan kandungan air dan kemudian mengukur penurunan beratnya.



Gambar 2.2 Proses Dan Rumus Perhitungan Persentase Kadar Air

Metode pengeringan oven dapat dilakukan dengan menggunakan proses satu tahap atau dua tahap, tergantung pada kadar air awal sampel.

a. Metode Satu Tahap

- 1) Persiapan Sampel: Giling 2-3 gram sampel makanan.
- 2) Penimbangan Awal: Timbang sampel yang sudah digiling dan catat beratnya.
- 3) Pengeringan: Tempatkan sampel dalam oven udara panas pada suhu 130°C selama 1 jam.
- 4) Pendinginan dan Penimbangan: Keluarkan sampel, letakkan di dalam desikator untuk didinginkan, lalu timbang kembali.
- 5) Perhitungan: Hitung kadar air dengan menggunakan rumus:

$$m = \left(\frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \right) \times 100\%$$

dimana:

W1 = Berat wadah kosong

W2 = Berat wadah dengan sampel sebelum dikeringkan

W3 = Berat wadah berisi sampel setelah dikeringkan

b. Metode Dua Tahap

- 1) Pengeringan Awal: Ambil 25-30 gram sampel biji-bijian utuh dan keringkan dalam oven udara panas pada suhu 130°C selama 14-16 jam untuk mengurangi kadar air hingga sekitar 13%.
- 2) Penggilingan dan Penimbangan: Giling sampel yang sudah dikeringkan, timbang, dan ikuti langkah-langkah metode satu

Keuntungan metode pengeringan oven:

- a. Akurasi: Metode pengeringan oven sangat akurat dan dapat diandalkan untuk menentukan kadar air.
- b. Kesederhanaan: Prosedurnya mudah dan tidak memerlukan peralatan yang rumit.

- c. **Fleksibilitas:** Cocok untuk berbagai macam produk makanan, termasuk biji-bijian, bahan pakan, dan produk pertanian lainnya.
- d. **Standardisasi:** Metode ini didokumentasikan dengan baik dan terstandarisasi, dengan panduan yang disediakan oleh organisasi seperti AOAC dan ASTM.

Keterbatasan metode pengeringan oven:

- a. **Memakan Waktu:** Proses pengeringan dapat memakan waktu beberapa jam, sehingga kurang cocok untuk analisis cepat.
- b. **Kehilangan Volatil:** Senyawa volatil lain selain air dapat menguap selama pengeringan, sehingga menyebabkan ketidakakuratan.
- c. **Dekomposisi Sampel:** Suhu tinggi dapat menyebabkan penguraian beberapa komponen makanan, sehingga mempengaruhi hasil.
- d. **Intensif Tenaga Kerja:** Membutuhkan penanganan dan pemantauan sampel yang cermat selama proses pengeringan.

Metode pengeringan oven sering dibandingkan dengan teknik penentuan kadar air lainnya, seperti pengeringan dengan microwave dan titrasi Karl Fischer. Meskipun pengeringan dengan microwave menawarkan hasil yang lebih cepat dan biaya operasional yang lebih rendah, metode ini mungkin tidak seakurat pengeringan dengan oven untuk jenis makanan tertentu. Titrasi Karl Fischer, di sisi lain, memberikan akurasi yang tinggi tetapi melibatkan penggunaan bahan kimia dan prosedur yang lebih rumit (Ahn dkk., 2014; Nirman dkk., 2020).

2. Titrasi Karl Fischer

Titrasi Karl Fischer (KF) adalah metode yang banyak digunakan dan sangat akurat untuk menentukan kadar air dalam berbagai jenis sampel, termasuk cairan, padatan, bubur, dan gas. Dikembangkan oleh ahli kimia Karl Fischer, metode ini didasarkan pada reaksi kimia spesifik antara air

dan reagen, sehingga memungkinkan kuantifikasi kadar air yang tepat.

Prinsip kerja titrasi Karl Fischer didasarkan pada oksidasi sulfur dioksida oleh yodium dengan adanya air dan metanol. Reaksi kimia dapat diringkas sebagai berikut:



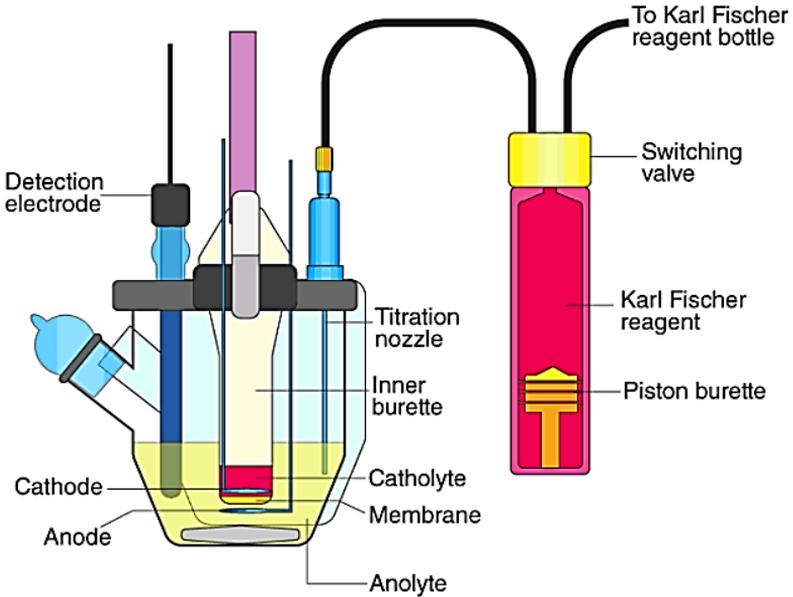
Dalam reaksi ini, air bereaksi dengan yodium dan sulfur dioksida dalam larutan metanol, membentuk bahan kimia non-konduktif. Jumlah yodium yang dikonsumsi dalam reaksi berbanding lurus dengan jumlah air yang ada dalam sampel.

Jenis-jenis Titrasi Karl Fischer

Ada dua jenis utama titrasi Karl Fischer yaitu volumetrik dan koulometri.

- a. Titrasi Volumetrik Karl Fischer: Dalam metode volumetrik, reagen Karl Fischer yang mengandung yodium ditambahkan ke dalam sampel sampai jejak pertama kelebihan yodium terdeteksi. Volume reagen yang digunakan diukur, dan kadar air dihitung berdasarkan volume ini. Pemakaian metode ini cocok untuk sampel dengan kadar air yang lebih tinggi (umumnya lebih dari 1% atau 2%). Metode ini ideal untuk sampel dengan tingkat kelembapan yang lebih tinggi. Dapat menangani berbagai jenis sampel, termasuk yang mengandung keton dan aldehida. Akan tetapi metode ini memerlukan penanganan yang hati-hati dan pengukuran volume reagen yang tepat. Kurang cocok untuk sampel dengan kadar air yang sangat rendah.
- b. Titrasi Koulometri Karl Fischer: Dalam metode koulometri, yodium dihasilkan secara elektrokimia di dalam sel titrasi. Jumlah listrik yang diperlukan untuk menghasilkan yodium diukur, dan kandungan air dihitung berdasarkan hukum Faraday. Metode ini cocok untuk sampel dengan kadar air rendah (antara 0,001% dan 1%) dan Sangat sensitif, mampu mendeteksi kadar air

serendah 0,1 mikrogram. Metode ini ideal untuk analisis jejak kelembaban. Akan tetapi membutuhkan peralatan khusus dan pengoperasian yang terampil dan terbatas pada sampel dengan kadar air yang sangat rendah.



Gambar 2.3 Metode Titrasi Karl Fischer

Titration Karl Fischer digunakan di berbagai industri, termasuk makanan dan pakan untuk memastikan kadar air dalam rentang yang dapat diterima untuk mencegah pembusukan dan menjaga kualitas. Dalam bidang farmasi memantau kadar air dalam bentuk sediaan padat dan produk terliofilisasi. Pelumas, menentukan konsentrasi air untuk mencegah keausan mesin dan industri bahan kimia mengukur kelembaban dalam bahan baku dan produk jadi.

Titration Karl Fischer merupakan standar emas untuk penentuan kadar air karena keakuratan, sensitivitas, dan kekhususannya yang tinggi. Meskipun memerlukan penanganan yang hati-hati dan peralatan khusus, keserbagunaan dan keandalannya menjadikannya metode yang penting di banyak industri. Kalibrasi, pemeliharaan,

dan kepatuhan yang tepat terhadap prosedur standar dapat membantu mengurangi beberapa keterbatasan dan memastikan hasil yang konsisten dan akurat (Aurand., 2010; Sigmaaldrich., 2024)

3. Metode Distilasi Azeotropik

Distilasi azeotropik adalah metode khusus untuk menentukan kadar air dalam sampel makanan, terutama yang mengandung senyawa volatil atau kadar air yang tinggi. Teknik ini didasarkan pada prinsip pembentukan campuran azeotropik antara air dan pelarut yang tidak dapat bercampur, sehingga memungkinkan pengukuran kadar air secara langsung.

Metode ini bergantung pada pembentukan azeotrop antara air dan pelarut organik (biasanya *toluene* atau *xylene*) yang memiliki titik didih lebih tinggi dari air. Azeotrop adalah campuran dua atau lebih cairan yang proporsinya tidak dapat diubah dengan destilasi sederhana. Dalam hal ini, campuran air-pelarut mendidih pada suhu konstan, membawa kedua komponen dalam bentuk uap, yang kemudian terpisah pada kondensasi karena tidak dapat bercampur.

Prosedur pengerjaan metode distilasi azeotropik:

- a. Persiapan Sampel: Sampel makanan yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam labu distilasi.
- b. Penambahan Pelarut: Pelarut organik yang tidak dapat bercampur (misalnya toluene) ditambahkan ke dalam labu.
- c. Distilasi: Campuran dipanaskan hingga mendidih. Uap air dan pelarut naik bersama-sama.
- d. Kondensasi: Uap melewati kondensor dan terkumpul dalam tabung penerima yang telah dikalibrasi (biasanya alat Dean-Stark).
- e. Pemisahan: Setelah kondensasi, air (yang lebih padat) mengendap di bagian bawah tabung penerima, sementara pelarut mengapung di atasnya.

- f. Pengukuran: Volume air yang terkumpul diukur secara langsung dari tabung yang telah dikalibrasi.
- g. Perhitungan: Kadar air dihitung berdasarkan volume air yang dikumpulkan dan berat sampel awal.

Metode ini efektif untuk makanan yang mengandung senyawa mudah menguap yang mungkin hilang dalam metode pengeringan oven. Metode ini menghindari potensi kesalahan akibat kehilangan berat senyawa volatil lainnya dan sangat berguna untuk sampel dengan kadar air yang tinggi, dan juga mampu menghindari potensi dekomposisi termal sampel yang dapat terjadi pada metode pengeringan oven. Metode ini khusus untuk air, karena komponen lain umumnya tidak membentuk azeotrop dengan pelarut yang dipilih.

Kelemahan metode ini dapat memakan waktu beberapa jam untuk menyelesaikannya dan membutuhkan peralatan distilasi khusus, seperti perangkap Dean-Stark. Umumnya, metode ini membutuhkan ukuran sampel yang lebih besar dibandingkan dengan metode lainnya dan kurang efektif untuk sampel dengan kadar air di bawah 1%. Pada beberapa komponen makanan dapat mengganggu proses distilasi atau membentuk emulsi dengan pelarut.

Distilasi azeotropik sangat berguna untuk sampel buah-buahan, sayuran dengan kadar air tinggi, rempah-rempah yang mungkin mengandung minyak atsiri, daging dan produk daging, produk susu dan makanan yang mengandung lebih banyak air dan zat yang mudah menguap.

Dibandingkan dengan pengeringan oven, distilasi azeotropik lebih kecil kemungkinannya untuk menyebabkan hilangnya senyawa yang mudah menguap atau dekomposisi termal sampel. Namun, metode ini lebih memakan waktu dan membutuhkan peralatan khusus. Berbeda dengan titrasi Karl Fischer, distilasi azeotropik kurang sensitif terhadap gangguan kimiawi tetapi umumnya kurang tepat untuk sampel dengan kelembaban rendah (Popescu dkk., 2022; Precisa., 2024; Zhen dkk., 2020).

4. Analisis Termogravimetri (TGA)

Teknik ini banyak digunakan untuk mengukur kadar air dalam berbagai bahan, termasuk makanan, obat-obatan, dan polimer. TGA mengukur kehilangan massa sampel sebagai fungsi suhu atau waktu. Untuk penentuan kadar air, kehilangan massa yang diamati pada suhu tertentu dikaitkan dengan penguapan air.

Sampel kecil (biasanya beberapa miligram) ditempatkan dalam timbangan presisi di dalam instrumen TGA. Sampel dipanaskan dengan laju yang terkendali, biasanya dalam atmosfer lembam (misalnya nitrogen). Saat suhu meningkat, air menguap dari sampel, menyebabkan penurunan massa. Instrumen mencatat perubahan massa secara terus menerus selama proses pemanasan. Kadar air biasanya dihitung dari kehilangan massa yang diamati pada kisaran suhu 25-150°C, yang umumnya disebabkan oleh penguapan air. Sampel yang lebih kompleks mungkin memerlukan interpretasi yang cermat untuk membedakan antara kehilangan air dan kehilangan senyawa volatil lainnya.

Keuntungan metode TGA

- a. TGA dapat mendeteksi perubahan massa yang sangat kecil, sehingga memungkinkan penentuan kadar air yang akurat.
- b. Cocok untuk berbagai jenis sampel dan tingkat kelembaban.
- c. TGA dapat memberikan data tentang stabilitas termal dan dekomposisi selain kadar air.

Aplikasi metode TGA

- a. Industri makanan: Menentukan kadar air dalam pemanis buatan, makanan, dan produk pertanian.
- b. Farmasi: Menganalisis kadar air dalam obat dan eksipien.
- c. Polimer: Menilai penyerapan air dan kadar air dalam bahan plastik.

TGA sering dibandingkan dengan teknik lain seperti titrasi Karl Fischer atau metode kehilangan air pada pengeringan. Meskipun TGA dapat memberikan informasi rinci tentang perilaku termal air dalam sampel, TGA tidak selalu dapat membedakan antara air dan senyawa volatil lainnya seefektif beberapa metode kimia. Akan tetapi, penggunaannya bersama dengan teknik analitik lain dapat memberikan informasi yang komprehensif tentang karakteristik kelembaban dan perilaku termal material (Sichina., 2024; TA instruments., 2024).

5. Spektroskopi Inframerah Dekat (*Near-Infrared (NIR) Spectroscopy*)

Spektroskopi inframerah dekat mengukur penyerapan cahaya inframerah dekat oleh molekul air dalam sampel. Teknik non-destruktif ini memungkinkan analisis kadar air yang cepat dan real-time. Metode ini bisa digunakan untuk berbagai macam bahan dan tingkat kelembaban.

Aplikasi metode NIR:

- a. Industri makanan: Menganalisis kelembaban pada butiran, produk pertanian, dan makanan olahan
- b. Farmasi: Mengukur kelembaban dalam obat, eksipien, dan produk terliofilisasi
- c. Industri kimia: Memantau tingkat kelembaban dalam berbagai bahan
- d. Pertanian: Menilai kadar air pada tanaman dan tanah.

NIR menawarkan analisis yang lebih cepat dibandingkan dengan metode seperti Loss on Drying (LOD), tanpa penghancuran sampel.

Spektroskopi NIR telah menjadi alat yang sangat berharga untuk pengukuran kadar air di berbagai industri karena ke`cepatannya, sifatnya yang tidak merusak, dan kemampuannya untuk menyediakan data waktu nyata untuk kontrol proses dan jaminan kualitas (Clarke dkk., 2019; Khanolkar dkk., 2024).

6. Penyerapan Gelombang Mikro (*Microwave Absorption*)

Metode ini bergantung pada interaksi antara gelombang mikro dan molekul air dalam sampel. Air, sebagai molekul polar, menyerap energi gelombang mikro, menyebabkan penurunan intensitas gelombang mikro saat melewati material. Jumlah penyerapan sebanding dengan kadar air.

Keuntungan Metode Penyerapan Gelombang Mikro

- a. Tidak merusak: Sampel tetap utuh setelah pengukuran.
- b. Penetratif: Gelombang mikro dapat menembus bahan non-konduktif, sehingga memungkinkan pengukuran dalam jumlah besar.
- c. Analisis cepat: Hasil dapat diperoleh dengan cepat, sering kali secara real-time.
- d. Cocok untuk pemantauan in-line: Dapat diintegrasikan ke dalam proses produksi.

Aplikasi Metode Penyerapan Gelombang Mikro

- a. Industri makanan: Mengukur kelembaban pada keju, kentang, keripik, tembakau, dll.
- b. Bahan konstruksi: Menganalisis kelembaban pada pasir, kerikil, serpihan kayu.
- c. Pertambangan: Kadar air dalam batu bara dan mineral lainnya.
- d. Pertanian: Menilai kelembaban pada biji jagung dan tanaman lainnya.

Teknik penyerapan gelombang mikro merupakan metode yang kuat dan tidak merusak sampel untuk pengukuran kadar air di berbagai industri. Kemampuannya untuk memberikan pengukuran yang cepat dan in-line menjadikannya sangat berharga untuk kontrol proses dan aplikasi jaminan kualitas. Namun, kalibrasi yang tepat dan pertimbangan sifat material sangat penting untuk mendapatkan hasil yang akurat (RGI GmbH., 2024; Roemhild., 2022).

7. Penyerapan Ultrasonik

Teknik ultrasonik menawarkan metode yang tidak merusak untuk mengukur kadar air dalam berbagai bahan, terutama pada kayu dan bahan berpori lainnya. Metode ini bergantung pada hubungan antara perambatan gelombang ultrasonik dan kadar air bahan.

Teknik ini didasarkan pada pengukuran kecepatan dan atenuasi gelombang ultrasonik saat melewati suatu bahan. Kedua parameter ini dipengaruhi oleh kadar air bahan. Memerlukan kalibrasi yang cermat untuk bahan dan rentang kelembaban tertentu. Sifat anisotropik beberapa bahan (seperti kayu) mempengaruhi pengukuran. Perubahan suhu dapat mempengaruhi perambatan gelombang ultrasonik.

Aplikasi Metode Penyerapan Ultrasonik

- a. Industri Kayu: Mengukur kadar air pada berbagai spesies kayu.
- b. Bahan Konstruksi: Menganalisis kelembaban pada beton dan bahan bangunan lainnya.
- c. Industri Makanan: Aplikasi potensial dalam kontrol kualitas makanan (Cantavella dkk., 20016; Aqualab., 2024; Oliveira dkk., 2005).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn JY, Kil DY, Kong C, Kim BG. Comparison of Oven-drying Methods for Determination of Moisture Content in Feed Ingredients. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2014 Nov;27(11):1615-22. doi: 10.5713/ajas.2014.14305. PMID: 25358322; PMCID: PMC4213707.
- Alzeer, Marwa. (2010). Determination of Moisture Content. 10.1007/978-1-4419-1463-7_3.
- Aqualab., 2024; <https://aqualab.com/en/moisture-content> diakses 24 Juni 2024
- Aurand, C. (2010). Moisture Determination by Karl Fischer Titration: Background of the Chemistry and Recent Developments. Sigma-Aldrich.
- Cantavella, V., Llorens, D., Mezquita, A., Moltò, C., Bhardwaj, M. C., Vilanova, P., & Maldonado-Zagal, S. (2006, February). Use of Ultrasound Techniques To Measure Green Tile Bulk Density And Optimise The Pressing Process. In IX World Congress on Ceramic Tile Quality (pp. 161-174).
- Fonteyne, M., Arruabarrena, J., de Beer, J., Hellings, M., Van Den Kerkhof, T., Burggraeve, A., ... & De Beer, T. (2014). NIR Spectroscopic Method For The In-Line Moisture Assessment During Drying In A Six-Segmented Fluid Bed Dryer Of A Continuous Tablet Production Line: Validation Of Quantifying Abilities And Uncertainty Assessment. *Journal of Pharmaceutical And Biomedical analysis*, 100, 21-27.
- <https://work-microwave.com/using-microwave-sensors-measure-moisture-levels-mozzarella-cheese/> diakses 24 juni 2024
- <https://www.precisa.com/article/determination-of-moisture-content-in-food/> diakses 23 juni 2024
- https://www.rgi-ms.com/html/moisture_principles.html diakses 24 juni 2024)

- <https://www.sigmaaldrich.com/TH/en/technical-documents/technical-article/analytical-chemistry/titration-and-karl-fischer/measuring-water-content-of-samples-that-do-not-easily-release-water> diakses 23 juni 2024
- <https://www.tainstruments.com/pdf/literature/TA134.pdf> diakses 24 juni 2024
- Khanolkar A, Pawale P, Thorat V, Patil B, Samanta G. Near Infrared Spectroscopy For Determination Of Moisture Content In Lyophilized Formulation. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 2024;32(1-2):18-28.
- Nirmaan, A.M.C., Rohitha Prasantha, B.D. & Peiris, B.L. Comparison Of Microwave Drying And Oven-Drying Techniques For Moisture Determination Of Three Paddy (*Oryza sativa* L.) Varieties. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 7, 1 (2020). <https://doi.org/10.1186/s40538-019-0164-1>
- Oliveira, F. G. R. D., Candian, M., Lucchette, F. F., Salgon, J. L., & Sales, A. (2005). Moisture Content Effect On Ultrasonic Velocity In *Goupia glabra*. *Materials research*, 8, 11-14.
- Pomeranz, Y., Meloan, C.E. (1994). Determination of Moisture. In: *Food Analysis*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6998-5_34
- Popescu, G. S., Radu, F., Velciov, A. B., Pîrvulescu, L., Cozma, A., Stănciugelu, M. M., & Hădărugă, N. G. (2022). A Review: Water And Methods Employed For Moisture Determination in Food.
- Zhen Z, Wang H, Yue Y, Li D, Song X, Li J. Determination Of Water Content Of Crude Oil By Azeotropic Distillation Karl Fischer Coulometric Titration. *Anal Bioanal Chem*. 2020 Jul;412(19):4639-4645. doi: 10.1007/s00216-020-02714-5. Epub 2020 May 30. PMID: 32474722.

BAB 3

ANALISIS KADAR LEMAK

Dr. Fathma Syahbanu, S.TP.

A. Pendahuluan

Analisis lipid makanan memiliki tantangan yang signifikan karena matriks sampel dan kandungan lemak total yang beragam serta komposisi asam lemak yang bersifat kompleks. Bab ini mengulas teknik analisis konvensional untuk kuantifikasi total lemak dan asam lemak dalam makanan dan bahan pangan, termasuk penentuan total lemak secara gravimetri, perhitungan lemak dan asam lemak menggunakan kromatografi gas (GC), dan analisis kandungan proksimat (yaitu lemak, protein, karbohidrat, kadar air, dan kadar abu) dengan spektroskopi *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR). Kemajuan terbaru dalam sistem persiapan sampel otomatis dan semi-otomatis serta perangkat spektroskopi yang cepat dan portabel disoroti karena potensinya yang secara signifikan dapat meningkatkan kecepatan dalam menentukan total lemak dan asam lemak secara akurat (Cynthia T. Srigley and Magdi M. Mossoba, 2017).

Lipid adalah kelas senyawa yang beragam serta kontribusi pada aspek organoleptik, fisikokimia, serta aspek zat gizi makanan dan bahan pangan. Lipid makanan menyediakan sumber energi utama dalam makanan. Lipid juga menyumbangkan asam lemak esensial dan zat gizi serta berfungsi sebagai pembawa (*carrier*) vitamin yang larut dalam lipid. Lipid makanan secara luas dibagi menjadi beberapa

kategori lemak dan minyak berdasarkan asal zat lipid dan keadaan fisiknya pada suhu kamar. Namun, sebagian besar minyak nabati dan minyak biji-bijian ditemukan dalam bentuk cairan pada suhu kamar karena konsentrasi asam lemak tak jenuh tunggal dan tak jenuh ganda yang tinggi. Dari sudut pandang konsumen, informasi yang berkaitan dengan perbedaan kandungan dan komposisi lemak total dan asam lemak dalam makanan dan bahan pangan penting untuk membuat pilihan makanan yang sehat dan bijak.

Nutrition Labeling and Education Act (NLEA) tahun 1990 mengamandemen *Federal Food, Drug and Cosmetic Act* (FD&CA) untuk mewajibkan pelabelan gizi wajib bagi makanan kemasan yang diatur oleh FDA dan Departemen Pertanian Amerika Serikat (USDA). NLEA juga memberikan kewenangan kepada FDA untuk mengatur klaim kesehatan pada label makanan dan pelabelan makanan. Berdasarkan ketentuan NLEA, pernyataan untuk kandungan lemak total harus dinyatakan dalam ekuivalen triasilgliserol (TAG), sedangkan untuk lemak jenuh dinyatakan sebagai ekuivalen asam lemak bebas. Kandungan asam lemak tak jenuh tunggal dan tak jenuh ganda cis juga diizinkan sebagai pernyataan yang bersifat voluntary pada label produk, kecuali dalam kondisi tertentu ketika klaim tentang asam lemak atau kolesterol dibuat pada label atau pelabelan makanan. Baru-baru ini, kandungan total asam lemak trans ditambahkan pada label nutrisi makanan konvensional dan suplemen makanan. Program kepatuhan FDA membantu memastikan bahwa label makanan dan suplemen makanan yang tersedia di pasar AS berisi pernyataan komposisi produk yang akurat dan jujur serta tidak menyesatkan. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) juga mengatur klaim kesehatan pada label makanan. Produk pangan hanya dapat mencantumkan klaim apabila mengandung tidak lebih dari 13 g lemak total, 4 g lemak jenuh, 60 mg kolesterol atau 480 mg natrium per saji.

Saat ini tersedia berbagai macam teknik analisis untuk analisis lemak total dan asam lemak dalam makanan dan bahan pangan. Metode analisis konvensional untuk penentuan lemak total meliputi penentuan gravimetri lipid yang diekstraksi dengan pelarut dan penghitungan lemak total berdasarkan kandungan asam lemak tertentu yang dianalisis dalam sampel uji. Prosedur spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) juga tersedia untuk penentuan lemak total dan proksimat lainnya (yaitu abu, protein, kadar air, karbohidrat) dalam komoditas makanan. Peraturan FDA tidak menetapkan metode analisis tertentu, tetapi Badan tersebut menerima metode yang memberikan hasil yang akurat dengan ketepatan yang memuaskan dan dianggap sesuai untuk analisis nutrisi tertentu dan komponen makanan lainnya.

Metode-metode ini, yang secara kolektif disebut sebagai metode analisis resmi, dievaluasi secara ketat untuk mengetahui kinerja metode dan divalidasi dalam studi kolaboratif nasional atau internasional oleh organisasi yang mendukung metode tersebut, seperti AOAC INTERNASIONAL, *American Oil Chemists Society* (AOCS), dan *International Organization for Standardization* (ISO). Metode tersebut secara rutin diterapkan pada analisis makanan dan bahan pangan di laboratorium lapangan FDA dan laboratorium kontrak independen yang menyediakan data bagi produsen untuk tujuan pelabelan nutrisi. Peraturan pelabelan FDA menunjukkan bahwa produsen dapat menggunakan metode analisis apa pun untuk menentukan kandungan nutrisi, termasuk penggunaan data historis atau basis data nutrisi. Namun, untuk tujuan kepatuhan, suatu produk dan labelnya tunduk pada metode analisis yang dianggap tepat oleh badan tersebut (yaitu metode resmi) untuk memverifikasi kandungan zat gizi. Gambaran skematis dari teknik-teknik ini disajikan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Metode Analisis Konvensional Untuk Penentuan Total Lemak Dan Asam Lemak Dalam Makanan Dan Bahan Pangan

Lemak Total (Jumlah Asam Lemak)	
1. Persiapan FAME	2. Pemisahan FAME melalui GC-FID
a. Makanan (Metode hidrolitik (asam, basa, dan asam/basa); Transesterifikasi; Metilasi langsung) b. Edible Fats dan Minyak (Saponifikasi/Esterifikasi ; Transesterifikasi)	a. CPS Columns b. PEG Columns
Lemak Total (Ekstraksi Pelarut)	
1. Metode Gravimetri	2. Metode Lainnya
a. Ekstraksi Pelarut (Conventional Glassware Setups; Automated/Semi-automated Systems; Pelarut Polar dan Non polar) b. Metode Hidrolitik (Asam; Basa; Asam/Basa)	
Lemak Total (Spektroskopi)	
1. MIR	2. NIR

B. Metode Analisis Lipid dalam Makanan

Metode analisis baku (*official*) adalah metode yang telah dievaluasi secara sistematis dan kemudian disetujui oleh organisasi yang mendukung metode tersebut untuk digunakan secara rutin di laboratorium regulasi dan laboratorium mitra. Metode-metode ini dicirikan oleh ruang lingkup, tujuan penggunaan, dan matriks sampel yang berlaku. Persetujuan metode baru yang tidak bersifat baku biasanya mencakup

penyelesaian studi *multi-laboratory validation* (MLV) yang berhasil untuk menyelidiki lebih lanjut kinerja metode yang diajukan. Studi MLV dirancang untuk menguji keakuratan protokol tertulis dan ketepatan antar laboratorium (pengulangan dan reprodutivitas), dengan mempertimbangkan variabilitas yang ditimbulkan oleh analisis yang berbeda, lingkungan laboratorium, dan instrumen analisis. Penelitian ini membutuhkan waktu dan sumber daya yang signifikan dari para pemimpin dan peserta penelitian. Oleh karena itu, hanya metode terakreditasi yang sebelumnya telah dikaji pada tingkat studi validasi laboratorium tunggal yang dianggap sebagai metode kandidat yang sesuai untuk studi MLV. Metode-metode ini ditentukan untuk spesifikasi kinerjanya sehubungan dengan akurasi, presisi, sensitivitas, linearitas, batas deteksi dan kuantifikasi, serta tingkat *robust*/keandalan untuk menentukan satu atau beberapa analit dalam matriks atau matriks-matriks yang telah ditentukan. Kriteria minimum untuk keberhasilan penyelesaian studi MLV kuantitatif mencakup analisis lima bahan uji, partisipasi dari minimal delapan laboratorium yang melaporkan data yang valid untuk setiap bahan uji, dan pengukuran minimal satu atau dua sampel ulangan, yang disediakan sebagai ulangan *blind* atau *split level*. Rentang konsentrasi analit yang dapat diterima ditentukan dari data presisi, yang dinyatakan sebagai deviasi standar relatif reproduktibilitas (RSDR) dan/atau rasio Horwitz (Horwitz and Albert, 2006).

1. Metode Baku untuk Penentuan Gravimetri dari Total Lemak

Pendekatan gravimetri memberikan estimasi kasar dari kandungan lemak total berdasarkan massa lipid yang diekstraksi dari sampel uji. Pendekatan ini cenderung memperkirakan kandungan kalori lemak total dengan memasukkan massa konstituen bukan asam lemak dalam penentuan gravimetri, yaitu vitamin yang larut dalam lemak, bahan yang tidak dapat disabunkan, dan makromolekul non-lemak tertentu yang juga diekstraksi. Penentuan kadar lemak

total secara gravimetri dapat dilakukan dengan ekstraksi lipid total dengan pelarut nonpolar dalam kondisi refluks atau dengan menggunakan kombinasi pelarut organik nonpolar dan polar untuk dapat mengatasi interaksi antara lipid dengan matriks sampel, seperti kloroform dan metanol yang direkomendasikan dalam metode Bligh dan Dyer. Sebagai alternatif, sampel uji dapat dilakukan dengan prosedur hidrolitik dua tahap yang mana matriks dihidrolisis terlebih dahulu dan kemudian diekstraksi untuk mendapatkan total lipid dengan pelarut nonpolar. Kedua pendekatan tersebut telah disetujui sebagai metode analisis baku. Berbagai macam metode sekarang tersedia untuk penentuan kadar kandungan lemak total dalam makanan dan bahan pangan. Berikut beberapa jenis metode baku penentuan gravimetri dari total lemak.

a. Prosedur Ekstraksi Pelarut

Metode ekstraksi pelarut, seperti prosedur Soxhlet konvensional, melibatkan pencucian semi-kontinyu, atau perkolasi, sampel yang dikeringkan dan dihomogenisasi dengan pelarut organik dalam kondisi refluks menggunakan peralatan gelas tertentu. Eter (etil dan/atau minyak bumi) dan heksana adalah pelarut yang umum digunakan meskipun dilaporkan tidak efisien untuk mengekstraksi lipid polar. Metode ekstraksi pelarut cenderung mudah dan membutuhkan pelatihan khusus yang minimal. Selain itu, pelarut organik yang digunakan untuk mengekstrak bahan uji tidak memerlukan penyaringan sebelum penguapan. Namun, metode ini memerlukan penggunaan pelarut organik dalam jumlah besar, yang mahal untuk dibuang dan berbahaya bagi lingkungan. Metode AOAC 948.22 menjelaskan prosedur ekstraksi pelarut untuk penentuan lemak total kasar pada kacang-kacangan dan produk kacang-kacangan.

Sampel diekstraksi dengan eter dalam ekstraktor tipe Soxhlet selama 16 jam, kemudian ekstrak lipid diuapkan hingga kering pada suhu 95-100°C dan

ditimbang. Modifikasi Randall/Soxtec dari prosedur ekstraksi pelarut Soxhlet, seperti yang direkomendasikan dalam AOAC 2003.05 dan 2003.06, memungkinkan ekstraksi dengan durasi yang lebih singkat karena bagian uji terendam dalam pelarut yang mendidih. Banyak produsen instrumen sekarang menawarkan sistem otomatis atau semi-otomatis, seperti sistem Soxtec dari FOSS (Hillerød, Denmark), CEM Discover SP-X (Matthews, NC, AS), dan Sistem Ekstraksi Buchi B-811 (New Castle, DE, AS), untuk ekstraksi lemak makanan dengan pelarut organik. Instrumen-instrumen ini memiliki banyak keunggulan dibandingkan dengan peralatan gelas konvensional, termasuk durasi ekstraksi yang dipercepat dan efisiensi ekstraksi yang lebih tinggi.

Sistem otomatis juga telah menemukan jalan mereka ke dalam metode analisis resmi. Metode Resmi AOAC 985.15 menjelaskan prosedur untuk penentuan lemak total kasar dalam produk daging dan unggas. Dengan metode ini, sampel uji yang dihomogenisasi dikeringkan menggunakan microwave moisture analyzer, diekstraksi dengan metilen klorida dalam ekstraktor pelarut otomatis, lalu dikembalikan ke microwave moisture analyzer untuk dikeringkan, dihilangkan sisa pelarutnya, dan ditimbang. Metode Baku AOCS Am 5-04 telah disetujui untuk penentuan cepat kandungan lemak total dalam biji minyak, daging, pakan, dan makanan.

Metode ini merekomendasikan penggunaan sistem ekstraksi otomatis atau semi otomatis, seperti ekstraktor XT10 dan XT15 (Ankom Technology, Macedonia, NY, USA), dengan teknologi filter bag yang dirancang untuk mengurangi kesalahan akibat kehilangan sampel. Penentuan kadar lemak total kasar menggunakan AOAC 985.15 atau AOCS Am 5-04 dianggap sebagai metode analisis tidak langsung karena kuantifikasi didasarkan pada perbedaan berat sampel sebelum dan sesudah ekstraksi. Sebaliknya, dengan metode langsung, berat

lipid yang diekstraksi diukur secara langsung dan kandungan lemak total dihitung sebagai massa lipid yang diekstraksi yang diambil sebagai proporsi dari berat bagian sampel yang diuji.

b. Prosedur Hidrolitik

Sebagai alternatif dari metode ekstraksi pelarut, prosedur hidrolitik melibatkan proses dua tahapan di mana sampel pertama-tama diolah dengan reagen asam dan/atau basa atau enzim untuk memecah matriks sebelum diekstraksi dengan pelarut. Prosedur hidrolitik memungkinkan gangguan ikatan lipid-karbohidrat, protein, polisakarida, dan dinding sel tanaman. Perlakuan awal sampel seperti itu sangat diperlukan untuk produk susu sehingga memudahkan ekstraksi lipid netral yang terkandung di dalam membran globula lemak susu. Pencernaan atau hidrolisis lengkap dari bahan uji memungkinkan pelarut ekstraksi kontak dengan semua lipid yang terkandung dalam bahan uji. Dengan demikian, ekstraksi total lipid yang akurat dan kuantitatif diharapkan dapat tercapai.

Prosedur hidrolitik enzimatik untuk penentuan lemak dalam makanan dijelaskan dalam Metode AOAC 983.23. Metode ini dikembangkan oleh Daugherty dan Lento sebagai modifikasi dari metode Bligh dan Dyer dan dapat diterapkan pada analisis sampel makanan komposit. AOAC 983.23 melibatkan pencernaan enzimatik sampel makanan menggunakan enzim amilase 1% dalam larutan natrium asetat 0,5 M, yang ditempatkan dalam penangas air yang dikocok pada suhu 45-50°C selama 60 menit. Total lipid kemudian diekstraksi dengan penambahan kloroform, metanol, dan air untuk memisahkan fase air dan organik. Lapisan kloroform dipindahkan ke gelas kimia 100 mL dan diuapkan hingga kering. Modifikasi AOAC 983.23 oleh Phillips et al. (2008) diusulkan untuk menyederhanakan prosedur standar yang telah ditetapkan dan mengeliminasi persyaratan

untuk pencernaan enzimatik (Phillips, Ruggio and Amanna, 2008).

Para peneliti menemukan bahwa metode yang disederhanakan ini tidak terlalu memakan banyak Tenaga Kerja dan memungkinkan tingkat keluaran sampel yang lebih tinggi daripada prosedur standar. Baru-baru ini, Phillips et al. (2008) memperluas penerapan metode yang disederhanakan untuk penentuan kuantitatif lemak total dalam berbagai matriks makanan kompleks, termasuk yang komponen lemaknya merupakan konstituen makanan rendah lemak (misalnya, makanan yang dipanggang, saus salad, dan makanan ringan) dan makanan yang matriksnya digiling halus atau dihomogenisasi (misalnya, makanan bayi, kacang-kacangan dan biji-bijian yang digiling halus, selai kacang, tepung, dan jaringan tiram yang diliofilisasi).

Prosedur untuk penentuan total lemak dalam tepung dengan hidrolisis asam dijelaskan dalam Metode AOAC 922.06. Sampel uji dimasukkan ke dalam etanol dan HCl 8 M dalam gelas kimia 50 mL dan dipanaskan pada suhu 70-80°C selama 30-40 menit sambil diaduk. Setelah pendinginan, lebih banyak etanol ditambahkan dan sampel dipindahkan ke alat ekstraksi lemak Mojonnier untuk ekstraksi berulang lipid total dengan etil dan petroleum eter. Ekstrak eter kemudian digabungkan dan diuapkan di atas penangas uap. Residu lipid dikeringkan dalam oven 100°C hingga beratnya konstan. Modifikasi AOAC 922.06 tersedia sebagai metode resmi AOAC untuk analisis produk makaroni, roti, telur, dan makanan laut.

Prosedur untuk penentuan total lemak dalam susu dijelaskan dalam metode resmi AOAC 989.05. Sampel uji ditimbang dan dicampurkan dengan larutan amonium hidroksida pekat untuk menetralkan asam yang ada, mengendapkan protein, dan mengganggu ikatan lipid-protein pada membran globula lemak susu.

Tiga ekstraksi berurutan dengan etanol dan etil/petroleum eter dilakukan. Ekstrak eter dituang ke dalam cawan timbangan dan diuapkan dalam lemari asam kimia di atas hot plate yang diatur pada suhu 100°C. Residu lipid kemudian dikeringkan hingga berat konstan dan didinginkan dalam desikator semalaman. Prosedur ini, yang biasa disebut sebagai metode Roese-Gottlieb, telah diadaptasi dan disetujui sebagai metode resmi AOAC untuk analisis krim, susu kental manis, susu malt, susu bubuk, keju, susu evaporasi, es krim dan makanan penutup beku, keju whey, dan susu formula berbasis susu. Versi dari prosedur Roese-Gottlieb juga tersedia sebagai metode ISO/IDF (International Dairy Federation), termasuk yang khusus untuk krim, susu evaporasi, dan makanan bayi berbahan dasar susu.

Beberapa metode alternatif juga telah disetujui untuk analisis lemak dalam susu, termasuk metode Babcock (AOAC 989.04), metode Gerber (AOAC 2000.18), metode deterjen cepat (AOAC 960.26), metode turbidimetri otomatis (AOAC 969.16 dan 973.22), dan metode spektroskopi inframerah menengah (AOAC 972.16).

2. Metode Baku untuk Penentuan Lemak Total dengan GC (Gas Chromatography)

Ketertarikan terhadap kandungan dan komposisi asam lemak dalam makanan dan bahan pangan mendorong pengembangan dan validasi metode analisis baru untuk kuantifikasi asam lemak dengan GC dengan deteksi ionisasi nyala (FID). Dengan demikian, metode analitik untuk penentuan lemak total secara gravimetri dimodifikasi untuk menyertakan protokol dalam persiapan dan pemisahan metil ester asam lemak (FAME) menggunakan GC-FID. Metode GC baru ditemukan untuk menghasilkan penentuan kandungan lemak total yang sebanding dengan hasil yang diperoleh dengan menggunakan metode gravimetri konvensional.

Penentuan lemak total dengan penjumlahan asam lemak satu persatu memungkinkan kuantifikasi yang akurat dari kandungan nutrisi lemak total dalam sampel uji. Dengan pendekatan ini, asam lemak diderivatisasi menjadi FAME dan dikuantifikasi dengan GC-FID (Delmonte and Rader, 2007). Persiapan turunan lain mungkin berguna dalam aplikasi tertentu, seperti penggunaan benzil ester untuk recovery kuantitatif asam lemak rantai pendek dari lemak susu. Standar internal ditambahkan selama persiapan sampel untuk memudahkan penghitungan FAME dengan basis mg/g. Faktor konversi diterapkan untuk mengekspresikan kandungan FAME yang dianalisis sebagai TAG atau asam lemak bebas yang setara untuk tujuan pelabelan zat gizi. Beberapa prosedur persiapan sampel tersedia, termasuk protokol dua tahap yang melibatkan ekstraksi lemak total yang diikuti dengan persiapan FAME, prosedur transesterifikasi langsung untuk analisis produk susu cair dan produk susu yang dilarutkan serta susu formula bayi, dan metilasi langsung yang melibatkan pencernaan in-situ dari bahan uji yang diikuti dengan derivatisasi. FAME yang berasal dari lemak dan minyak nabati dapat dibuat dengan kationasi transesterifikasi atau dengan menggunakan reaksi penyabunan dan esterifikasi secara berurutan. Pendekatan tersebut telah disetujui sebagai metode analisis baku.

a. Prosedur Persiapan Sampel

Prosedur untuk penentuan lemak (total, jenuh, dan tak jenuh cis) dalam produk sereal yang mengandung 0,5-13% lemak total dijelaskan dalam Metode Resmi AOAC 996.01. Sampel uji dipanaskan dalam tabung ekstraksi kaca dengan etanol, 8 M HCl, dan larutan standar internal C13: 0 TAG (5 mg/mL dalam kloroform) dalam penangas air yang dikocok pada suhu 80°C selama 40 menit. Sampel kemudian didinginkan hingga suhu kamar dan dipindahkan bersama etanol ke labu ekstraksi lemak Monjonier untuk ekstraksi cair-cair dengan etil dan petroleum eter. Fase air diekstraksi ulang dua kali dengan

campuran eter. Ekstrak eter kemudian digabungkan dan diuapkan hingga hampir kering di atas penangas uap di bawah aliran gas nitrogen.

Metilasi lipid yang diekstraksi dilakukan dengan penyabunan dengan natrium hidroksida (NaOH) 0,5 M dalam metanol, diikuti dengan esterifikasi dengan boron trifluorida (BF₃, 14%) dalam metanol. Prosedur ekstraksi hidrolisis asam otomatis berdasarkan AOAC 996.01 menggunakan Unit Hidrolisis SoxCap 2047 dari Foss (Hillerød, Denmark) baru-baru ini divalidasi untuk kuantifikasi lemak total, kelas lipid, dan lemak trans pada produk sereal. Matriks sampel termasuk keripik jagung, campuran makanan ringan, kerupuk, kue oatmeal, campuran kulit pai, campuran kue serbaguna, dan kue kering pemanggang roti, dengan kandungan lemak total bervariasi dari 5,0-38% (b/b). Performa metode dengan sistem otomatis sebanding dengan yang diamati untuk AOAC 996.01 dengan tingkat variabilitas analitik yang serupa. Sistem otomatis juga menunjukkan keuntungan berupa penurunan potensi kesalahan operator dan berkurangnya kebutuhan pelarut, yang dilaporkan lebih aman bagi analis dan lebih ramah lingkungan.

Tiga prosedur untuk menentukan lemak dan asam lemak dalam makanan yang digiling halus dan dihomogenisasi direkomendasikan dalam Metode Resmi AOAC 996.06. Untuk makanan yang tidak termasuk produk susu dan keju, sampel dicerna menggunakan 8,3 M HCl dan etanol dalam penangas air yang dikocok pada suhu 70-80°C selama 40 menit. Untuk produk susu, termasuk susu, keju krim dan yogurt, sampel diperlakukan dengan etanol dan larutan amonium hidroksida (19% b/v) untuk melemahkan ikatan lipid-protein dan memecah emulsi lemak. Untuk keju dan sampel yang dibuat dengan keju (misalnya, pizza), kombinasi prosedur hidrolisis asam dan basa diperlukan untuk memutuskan interaksi lipid-protein dan lipid-

karbohidrat. Sampel dihidrolisis dengan larutan amonium hidroksida (19% b/v) dan etanol dalam penangas air yang dikocok pada suhu 70-80°C selama 20 menit, kemudian ditambahkan 12 M HCl dan sampel ditempatkan dalam penangas uap mendidih selama 20 menit. Setelah pencernaan (asam dan/atau basa), lipid total diekstraksi dengan etil dan petroleum eter dan dikonversi menjadi FAME dengan BF₃ (7%) dalam metanol. AOAC 996.06 menyajikan data studi kolaboratif untuk penentuan lemak total dan asam lemak jenuh dan tak jenuh tunggal dalam delapan matriks makanan (sereal berbahan dasar gandum, selai kacang, stik ikan, keju parmesan, kue cokelat, camilan buah, daging giling, dan yoghurt) dengan kandungan lemak total yang dianalisis bervariasi dari 1,5-46% (b/b).

AOAC 2012.13 telah disetujui untuk penentuan lemak dan asam lemak, termasuk kandungan asam lemak jenuh, tak jenuh tunggal, tak jenuh ganda, dan asam lemak trans dalam produk susu, susu formula bayi, dan susu formula nutrisi dewasa/pediatrik. Produk yang mengandung lemak susu dan/atau minyak nabati dengan atau tanpa suplementasi asam lemak tak jenuh ganda rantai panjang (misalnya, asam arakidonat; asam eikosapentaenoat, EPA; dan asam dokosaheksaenoat, DHA) termasuk dalam lingkup ini. Protokol tersebut melibatkan transesterifikasi langsung dari sampel uji bubuk cair atau bubuk yang dilarutkan menggunakan natrium metoksida metanol. Larutan netralisasi yang terdiri dari disodium hidrogen sitrat dan natrium klorida ditambahkan setelah derivatisasi untuk mencegah hidrolisis lebih lanjut dari FAME. Kuantifikasi pada basis g/100 g dicapai dengan penambahan standar internal C11:0 FAME, sedangkan efisiensi transesterifikasi dapat dievaluasi dengan memasukkan C13:0 TAG. Hasil dari studi kolaboratif untuk AOAC 2012.13, yang didasarkan pada data dari 18 laboratorium yang berpartisipasi,

menunjukkan hasil transesterifikasi yang berkisar antara 98,9% hingga 100,0%. Nilai standar deviasi relatif reproduisibilitas antar laboratorium (RSDR) untuk masing-masing asam lemak ditemukan bervariasi berdasarkan konsentrasi analit. Asam lemak individu yang ada pada konsentrasi minimal 3 g/100 g menunjukkan nilai RSDR yang memuaskan sebesar $\leq 4\%$.

Prosedur metilasi langsung melibatkan hidrolisis dan derivatisasi lipid secara simultan dari matriks makanan dalam bejana reaksi tunggal. Metode ini memberikan keuntungan berupa peningkatan hasil sampel, penurunan potensi kehilangan sampel selama pemindahan, dan pengurangan volume pelarut dan reagen jika dibandingkan dengan prosedur ekstraksi/derivasi dua langkah konvensional. Metode AOCS Ce 2b-11 dan Ce 2c-11 telah disetujui untuk pembuatan FAME dari matriks makanan menggunakan pendekatan metilasi langsung. AOCS Ce 2b-11 dapat diterapkan untuk analisis sebagian besar matriks makanan. Proses ini melibatkan penyabunan sampel homogen dalam 0,5 M NaOH dalam metanol dalam kondisi refluks (100°C selama 15 menit), diikuti dengan penambahan 14% BF₃ dalam metanol untuk memetilasi asam lemak bebas.

Penambahan larutan natrium klorida jenuh selanjutnya, diikuti dengan pencampuran, sehingga fase organik dan air mudah terpisah, menyisakan sediaan FAME encer yang siap untuk pemisahan kromatografi. AOCS Ce 2c-11 digunakan untuk analisis matriks makanan yang memerlukan perlakuan awal asam, termasuk makanan hewan peliharaan yang diekstrusi, makanan berbasis gandum, dan beberapa minyak yang dienkapsulasi. Metode ini melibatkan pencernaan asam in-situ pada sampel homogen, diikuti dengan saponifikasi dengan 0,5 M NaOH dalam metanol dan metilasi dengan 14% BF₃ dalam metanol.

b. Analisis FAME Menggunakan GC-FID

Teknik GC-FID telah diterapkan secara luas pada penentuan kuantitatif turunan asam lemak dari makanan dan bahan pangan. Aturan dasar untuk pemisahan GC FAME didasarkan pada sifat fisik panjang rantai, tingkat ketidakjenuhan (yaitu, jumlah ikatan rangkap), dan geometri ikatan rangkap (yaitu, konfigurasi cis dan trans). Pemisahan kromatografi dicapai dengan mengoptimalkan kondisi untuk suhu oven (yaitu, program isothermal atau ramped), gas pembawa (laju alir dan komposisi kimia), dan pemilihan kolom GC. Berbagai macam kolom GC kapiler sekarang tersedia secara komersial, dengan panjang dan diameter internal yang bervariasi serta sifat dan ketebalan fase diam. Kolom dengan fase diam cyanopropyl polysiloxane (CPS), seperti SP-2560 (Supelco, Bellefonte, PA, USA) dan CP-Sil 88 (Agilent J&W, Santa Clara, CA, AS), sering digunakan dalam analisis lipid makanan karena memungkinkan pemisahan komprehensif dari sebagian besar isomer FAME berdasarkan posisi dan geometris.

AOAC 996.01 divalidasi untuk pemisahan GC FAME yang berasal dari sereal dan produk sereal. Kondisi kromatografi melibatkan penggunaan kolom CPS silika leburan 30-m (misalnya, Rtx-2330; Restek, Bellefonte, PA, USA) dan program suhu yang ditingkatkan dengan helium sebagai gas pembawa. Hasil dari studi kolaboratif untuk AOAC 996.01, yang didasarkan pada data dari 15 laboratorium yang terlibat, menunjukkan bahwa metode ini paling sesuai untuk penentuan lemak total dan asam lemak jenuh, sedangkan penentuan asam lemak tidak jenuh menunjukkan variabilitas yang lebih besar karena adanya ko-elusi parsial isomer C18:0, C18:1, dan C18:2.

Prosedur untuk pemisahan GC FAME yang berasal dari produk susu formula bayi, dan formula nutrisi dewasa/pediatrik dijelaskan dalam AOAC 2012.13. Kondisi kromatografi meliputi penggunaan Kolom CPS

100 m, program suhu yang ditingkatkan, dan helium atau hidrogen sebagai gas pembawa. Oven pada awalnya dipertahankan pada suhu yang relatif rendah suhu (60°C selama 5 menit) untuk mencapai resolusi puncak rantai pendek FAME. Kenaikan suhu selanjutnya dirancang untuk mengoptimalkan resolusi isomer C18:1 cis dan trans dan untuk memungkinkan elusi FAME secara menyeluruh, termasuk asam lemak tak jenuh ganda rantai panjang, EPA dan DHA. Kuantifikasi isomer mono-trans C18: 2 dan C18: 3 juga dimungkinkan untuk sampel yang mengandung minyak nabati yang dimurnikan, dijernihkan, dan dihilangkan baunya. Faktor respon empiris dapat ditentukan dengan analisis standar referensi FAME (GLC-Nestle-36 dari Nu-Chek Prep, Elysian, MN, USA), yang secara khusus dipersiapkan untuk AOAC 2012.13, yang mengandung konsentrasi FAME individu yang diketahui.

Metode AOCS Ce 1i-07 cocok untuk analisis FAME dari minyak laut, termasuk minyak ikan, konsentrat minyak ikan (dalam bentuk etil ester), dan minyak alga. Kondisi kromatografi melibatkan penggunaan kolom 30 m dengan fase diam polietilen glikol (PEG), program suhu yang ditingkatkan secara gradien, dan helium atau hidrogen sebagai gas pembawa. Namun, AOCS Ce 1i-07 tidak sesuai untuk kuantifikasi cis dan trans FAME individu karena selektivitas yang terbatas dari fase diam PEG untuk menyelesaikan isomer geometris. Dengan demikian, perkiraan yang terlalu tinggi dalam kuantifikasi all-cis EPA dan DHA dapat terjadi dengan sampel minyak olahan, pemutih, dan penghilang bau karena ko-elusi isomer trans EPA dan DHA dengan isomer all-cis yang sesuai. Dalam evaluasi kolom GC untuk pemisahan FAME yang berasal dari sumber ikan, Santercole et al. melaporkan pentingnya kolom PEG untuk mengidentifikasi asam lemak tak jenuh, serta merekomendasikan agar melakukan analisis tambahan

sebagai pelengkap untuk mencapai resolusi isomer FAME geometris, terutama pada produk yang mengandung sumber minyak campuran. Selain AOCS Ce 1i-07, metode lain, seperti AOAC 991.39, AOCS Ce 1b-89, dan metode yang dilaporkan dalam Organisasi Global untuk EPA dan DHA Omega-3 juga telah disetujui untuk analisis FAME dari minyak laut dengan menggunakan kolom PEG 30 m.

3. Metode Spektroskopis FTIR

Makanan dan bahan pangan sebagian besar terdiri dari lima konstituen utama, yaitu lemak, protein, karbohidrat, kadar air, dan kadar abu. Penentuan analitik senyawa-senyawa ini, yang secara keseluruhan disebut sebagai proksimat, sangat penting untuk mengevaluasi kualitas dan komposisi bahan makanan mentah serta makanan dan bahan pangan selama dan setelah pemrosesan (Mossoba *et al.*, 2014). Metode analitik konvensional untuk mengukur proksimat makanan, seperti metode kimia basah yang direkomendasikan oleh AOAC INTERNATIONAL dan AOCS, sering kali melelahkan, memakan waktu, dan memerlukan pelatihan khusus. Pendekatan alternatif yang memungkinkan penentuan proksimat yang sederhana, cepat, dan simultan menawarkan potensi kepada industri makanan untuk secara signifikan meningkatkan efisiensi biaya dan penghematan waktu dalam penentuan analitik, terutama bila digunakan dalam aplikasi pemrosesan secara *real-time*.

Alat analisis spektroskopi FTIR sangat cocok untuk analisis konstituen proksimat makanan dan bahan pangan karena potensi penentuan beberapa analit secara simultan dari satu sampel uji. Selain itu, prosedur spektroskopi FTIR menawarkan keuntungan karena cepat dan tidak merusak, serta hanya membutuhkan sedikit atau tanpa persiapan sampel atau penggunaan pelarut atau reagen. Selama ini beberapa dekade terakhir, kemajuan dalam penganalisis spektroskopi FTIR, termasuk pengenalan aksesori attenuated total reflection (ATR) dan rutinitas penanganan data yang canggih, yang secara signifikan meningkatkan luasnya

aplikasi spektroskopi FTIR untuk analisis kuantitatif. Kuantifikasi dengan spektroskopi IR didasarkan pada sifat aditif dari hukum Beer-Lambert di mana fitur spektral gugus fungsi utama sebanding dengan konsentrasi konstituen yang sesuai dalam sampel uji. Dengan demikian, kandungan lemak, protein, karbohidrat, dan kadar air dapat dengan mudah dikuantifikasi karena adanya fitur spektral yang kuat pada daerah mid-IR (MIR) dalam spektrum elektromagnetik ($4.000-400\text{ cm}^{-1}$). Sebaliknya, karena fitur spektral yang luas dan tumpang tindih yang diamati di wilayah near-IR (NIR) ($14.000-4.000\text{ cm}^{-1}$), penggunaan teknik kemometrik multivariat yang kuat, seperti regresi kuadrat terkecil parsial (PLSR), analisis komponen utama (PCA), atau *artificial neural networks* (ANN), diperlukan untuk mengekstrak informasi kuantitatif dari wilayah spektrum ini. Prosedur spektroskopi MIR dan NIR telah divalidasi sebagai metode baku untuk analisis perkiraan kuantitatif.

Prosedur untuk menentukan lemak, laktosa, protein, dan padatan dalam susu dengan spektroskopi MIR dijelaskan dalam Metode Resmi AOAC 972.16. Analisis didasarkan pada penyerapan energi MIR pada bilangan gelombang tertentu, yaitu yang sesuai dengan gugus CH rantai asam lemak dan gugus karbonil ikatan ester untuk lemak, ikatan peptida antara asam amino untuk protein, dan gugus OH molekul laktosa. Prosedur untuk penentuan lemak, protein, dan kadar air pada daging dan produk daging dengan spektroskopi NIR dijelaskan dalam Metode Resmi AOAC 2007.04. Metode ini divalidasi untuk digunakan dengan spektrofotometer NIR FoodScan dari FOSS (Hillerød, Denmark) dan model kalibrasi FOSS ANN serta basis data terkait. Prosedur ini berlaku untuk analisis daging segar, emulsi, dan produk jadi dengan kisaran konstituen 1-43% lemak, 27-74% kadar air, dan 14-25% protein.

DAFTAR PUSTAKA

- Cynthia T. Srigley and Magdi M. Mossoba (2017) 'Current Analytical Techniques for Food Lipids', *Food Safety: Innovative Analytical Tools for Safety Assessment*, pp. 33-64. Available at: <http://digitalcommons.unl.edu/usfda/7>.
- Delmonte, P. and Rader, J.I. (2007) 'Evaluation Of Gas Chromatographic Methods For The Determination Of Trans Fat', *Analytical and bioanalytical chemistry*, 389, pp. 77-85.
- Horwitz, W. and Albert, R. (2006) 'The Horwitz ratio (HorRat): a Useful Index Of Method Performance With Respect To Precision', *Journal of AOAC International*, 89(4), pp. 1095-1109.
- Mossoba, M.M. et al. (2014) 'Evaluation Of The Performance Of A Portable Mid-Infrared Analyzer For The Rapid Determination Of Total Trans Fat In Fast Food', *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 91, pp. 1651-1663.
- Phillips, K.M., Ruggio, D.M. and Amanna, K.R. (2008) 'Extended Validation Of A Simplified Extraction And Gravimetric Determination Of Total Fat To Selected Foods', *Journal of Food lipids*, 15(3), pp. 309-325.

BAB 4 | ANALISIS ASAM LEMAK PENYUSUN LEMAK

Atep Dian Supardan, S.Si., M.Si.

A. Pendahuluan

Asam lemak merupakan senyawa organik yang keberadaannya di alam sangat kompleks yang tergabung dengan senyawa lain dalam lemak, sehingga asam lemak harus dipisahkan terlebih dahulu dari komponen lainnya sebelum dilakukan analisis secara langsung. Asam lemak di alam tergabung dalam lipid. Lipid merupakan salah satu biomolekul yang sangat dibutuhkan bagi tubuh manusia. Lipid mempunyai banyak variasi seperti contohnya trigliserol dan lipoprotein. Trigliserol adalah sumber cadangan kalori dalam tubuh dengan nilai energi yang tinggi. Metabolisme karbohidrat dan protein hanya menghasilkan energi 4-5 kkal/g, sedangkan trigliserol dapat menghasilkan 9 kkal/g. Lipid mempunyai fungsi yang berbeda bergantung pada struktur kimianya. Diantaranya minyak dan lemak merupakan cadangan makanan pada banyak organisme. Fosfolipid dan sterol merupakan struktur primer pembentuk membran. Jenis lipid lainnya berfungsi sebagai kofaktor, electron carriers, pigmen pengabsorpsi cahaya, ujung hidrofobik protein, agen pengemulsi, hormon dan messenger intraselular.

Lipid secara umum mengandung asam lemak dan derivatnya. Asam lemak merupakan derivat hidrokarbon yang memiliki tingkat oksidasi rendah. Lipid relatif tidak bisa larut dalam air dan bisa larut dalam pelarut nonpolar seperti eter dan

kloroform. Lipid secara umum terdiri atas lipid sederhana dan lipid kompleks.

Lipid sederhana merupakan ester yang terbentuk dari asam lemak dengan beberapa gugus alkohol. Contohnya lemak yaitu bentuk ester asam lemak dengan gliserol dan minyak merupakan bentuk cair dari lemak. Lilin yang merupakan bentuk ester asam lemak yang memiliki berat molekul besar dengan bentuk alkohol monohidrat.

Lipid kompleks merupakan ester yang terbentuk dari asam lemak yang mengandung gugus lain yang teradisi pada gugus alkohol atau asam lemak. Contohnya fosfolipid yaitu lipid yang mengandung residu asam fosfat. Glikolipid atau glikosfingolipid yaitu lipid yang mengandung asam lemak, spingosin dan karbohidrat. Lipid kompleks lainnya. Misalnya sulfolipid, aminolipid dan lipoprotein. Lipid prekursor dan derivat. Contoh lipid kategori ini adalah asam lemak, gliserol, steroid, aldehyd lemak, keton bodies, lipid yang terlarut pada vitamin dan hormon.

B. Trigliserida

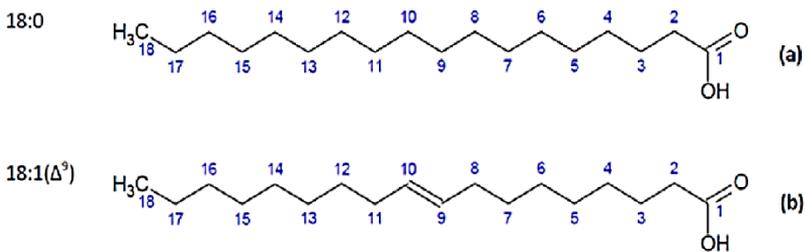
Trigliserida merupakan lipid sederhana yang mengandung asam lemak. Triasilgliserida terdiri atas tiga asam lemak yang tersambung pada gliserol melalui reaksi esterifikasi antara gugus karboksilat pada asam lemak dan gugus alkohol pada gliserol. Asam lemak pembentuk trigliserida dapat terdiri dari 3 buah jenis yang sama atau campuran dua atau lebih asam lemak. Trigliserida yang mempunyai sifat nonpolar, hidrofobik dan tidak larut dalam air, sehingga membutuhkan pelarut nonpolar untuk mengekstrak atau memisahkannya dalam sampel. Trigliserida merupakan cadangan makanan yang kaya energi yang digunakan pada vertebrata dengan cara menyimpan trigliserida dalam bentuk lemak di dalam sel dan pada tumbuhan yang menyimpan trigliserida dalam benihnya. Enzim lipase dapat menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak untuk menghasilkan energi dan gliserol. Keuntungan

trigliserida sebagai cadangan makanan dibandingkan dengan glikogen atau pati adalah:

1. Atom karbon pada asam lemak lebih mudah direduksi daripada atom karbon pada sakarida (gula) sehingga proses oksidasi trigliserida lebih banyak menghasilkan energi dua atau lebih kali lipat dibandingkan dengan polisakarida.
2. Trigliserida bersifat hidrofobik dan anhidrat sehingga organisme yang menimbun lemak sebagai cadangan makanan tidak memiliki berat ekstra yang disebabkan oleh hidrasi air.

C. Asam Lemak

Asam Lemak merupakan salah satu komponen penyusun lipid yang memiliki bentuk berupa kepala (gugus karboksil) dan ekor (senyawa hidrokarbon jenuh atau tidak jenuh). Kepala asam lemak merupakan gugus karboksil, untuk kemudahan pemberian nama maka penomoran karbon no 1 dimulai dari bagian kepala sampai karbon yang berada di ujung ekor. Asam lemak memiliki jumlah karbon 4-36 buah (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Asam stearat (a) dan Asam Oleat (b)

Asam lemak jenuh adalah asam lemak yang rantai hidrokarbon pembentuknya tidak memiliki ikatan rangkap sedangkan asam lemak tak jenuh memiliki ikatan rangkap pada rantai karbon penyusunnya atau bagian ekornya. Penanda adanya ikatan rangkap diberikan tanda delta(Δ) dan diikuti dengan nomor karbon yang memiliki ikatan rangkap tersebut (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Jumlah Karbon, Ikatan Rangkap Dan Nama Asam Lemak

No	Σ Karbon & Ikatan Rangkap 2	Asam Lemak
1	(C4:0)	Butyric Acid
2	(C6:0)	Caproic Acid
3	(C8:0)	Caprylic Acid
4	(C10:0)	Capric Acid
5	(C11:0)	Undecanoic Acid
6	(C12:0)	Lauric Acid
7	(C13:0)	Tridecanoic Acid
8	(C14:0)	Myristic Acid
9	(C14:1)	Myristoleic Acid
10	(C15:0)	Pentadecanoic Acid
11	(C15:1)	cis-10-Pentadecenoic Acid
12	(C16:0)	Palmitic Acid
13	(C16:1)	Palmitoleic Acid
14	(C17:0)	Heptadecanoic Acid
15	(C17:1)	cis-10-Heptadecenoic Acid
16	(C18:0)	Stearic Acid
17	(C18:1n9c)	Oleic Acid
18	(C18:1n9t)	Elaidic Acid
19	(C18:2n6c)	Linoleic Acid
20	(C18:2n6t)	Linolelaidic Acid
21	(C18:3n6)	γ -Linolenic Acid
22	(C18:3n3)	α -Linolenic Acid
23	(C20:0)	Arachidic Acid
24	(C20:1n9)	cis-11-Eicosenoic Acid
25	(C20:2)	cis-11,14-Eicosadienoic Acid
26	(C20:3n6)	cis-8,11,14-Eicosatrienoic Acid
27	(C20:3n3)	cis-11,14,17-Eicosatrienoic Acid
28	(C20:4n6)	Arachidonic Acid
29	(C20:5n3)	cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic Acid
30	(C21:0)	Heneicosanoic Acid

No	Σ Karbon & Ikatan Rangkap 2	Asam Lemak
31	(C22:0)	Behenic Acid r
32	(C22:1n9)	Erucic Acid
33	(C22:2)	cis-13,16-Docosadienoic Acid
34	(C22:6n3)	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic Acid
35	(C23:0)	Tricosanoic Acid
36	(C24:0)	Lignoceric Acid
37	(C24:1n9)	Nervonic Acid

Asam lemak tak jenuh dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

1. *Mono-unsaturated*. Asam lemak yang memiliki satu ikatan rangkap dalam molekulnya. Misalnya asam oleat (omega 9).
2. *Poly-unsaturated*. Asam lemak ini memiliki dua atau lebih ikatan rangkap dalam molekulnya. Contohnya adalah omega 6 (asam linoleat, Conjugated Linoleic Acid (CLA), Glucopyranocyl Lipid Adjuvant (GLA), dan asam arachidonat) dan omega 3 (asam linolenat, Eicosapentaenoic Acid (EPA) dan Docosahexaenoic Acid (DHA)).
3. Eicosanoid. Senyawa ini merupakan derivat dari asam lemak eikosa polinoat yang terdiri dari 20 karbon. Misalnya prostanoat, leukotrien (LTs) dan lipoksin (LXs). Prostanoat meliputi prostaglandin (PGs), prostasiklin (PGIs) dan tromboksan (TXs).

D. Analisis Asam Lemak Secara Kualitatif

Analisis lemak atau asam lemak secara kualitatif dapat dilakukan melalui cara

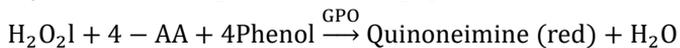
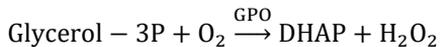
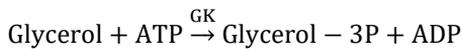
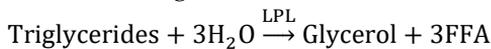
1. Uji Kelarutan. Uji kelarutan lipid dapat dilakukan dengan cara memasukkan lipid pada beberapa macam pelarut, namun karena lipid bersifat polar maka lipid akan larut pada pelarut yang bersifat polar seperti aseton, alkohol, kloroform atau benzena.
2. Uji Kobalt Asetat. Uji kobalt asetat digunakan untuk membedakan lipid yang terdiri atas asam lemak jenuh dan tak jenuh. Uji kobalt asetat dilakukan dengan mencampurkan

beberapa tetes lipid ke dalam 3 mL dietil eter yang kemudian ditambahkan 3 mL kobalt asetat 1%. Campuran dibiarkan membentuk inversi tanpa dikocok sampai membentuk dua lapisan. Jika lipid yang diuji mengandung asam lemak jenuh maka lapisan atas akan jernih dan akan terbentuk endapan pada lapisan bawah. Sedangkan asam lemak tak jenuh akan membentuk lapisan atas berwarna biru kehijauan dan lapisan bawah tidak berwarna.

E. Analisis Asam Lemak Secara Kuantitatif

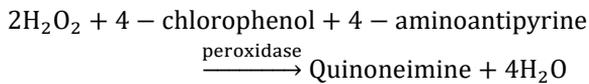
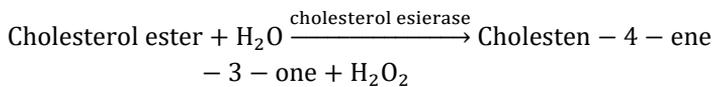
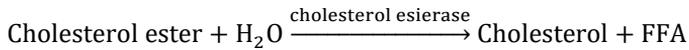
Analisis lemak atau asam lemak secara kuantitatif dapat dilakukan melalui cara

1. Penentuan Triasilgliserol secara Enzimatik-Colorimetry. Metode Triasilgliserol secara Enzimatik-Colorimetry dilakukan berdasarkan hidrolisis enzimatik triasilgliserol dalam serum atau plasma menjadi gliserol dan asam lemak bebas (FFA) oleh lipoprotein lipase (LPL). Gliserol akan mengalami proses fosforilasi oleh ATP dengan bantuan glycerolkinase (GK) untuk membentuk glycerol-3-phosphate (G-3-P) dan ADP. G-3-P kemudian akan dioksidasi oleh glycerophosphate oxidase (GPO) membentuk dihydroxy acetone phosphate (DHAP) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan 4-aminoantipyrine (4-AA) dan fenol dengan bantuan peroxydase (PO) untuk menghasilkan senyawa berwarna merah. Intensitas warna yang terbentuk memiliki proporsi yang sama dengan trigliserida pada sampel dan dapat dianalisis dengan fotometer.



2. Penentuan Kolesterol Total secara Enzimatik-Colorimetry. Kolesterol ester dapat dianalisis secara kuantitatif dapat menggunakan hidrolisis dengan kolesterol esterase (CHE)

menjadi kolesterol bebas dan asam lemak (FFA). Adanya oksigen menyebabkan oksidasi oleh kolesterol oxidase (CHO) menjadi cholesten-4-ene-3-one dan hidrogen peroksida (H₂O₂). Hidrogen peroksida akan bereaksi dengan 4-cholestrophenol dan 4-aminoantipyrine dengan bantuan peroxydase (POD) membentuk zat warna quinoneimine. Warna yang terbentuk setara dengan konsentrasi kolesterol dan dapat dihitung dengan fotometer pada panjang gelombang antara 480 – 520 nm.



3. Penentuan Fosfolipid secara Fotoelektro-kolorimetri. Fosfolipid diendapkan dengan penambahan asam trikloroasetat dan protein. Endapan yang terbentuk ditambahkan dengan mineral dan garam fosfat anorganik. Fosfolipid dapat dihitung setara dengan asam fosfat dengan menggunakan metode fotoelektroklorimetri. Sampel yang akan dianalisis ditambahkan dengan TCA. 10% kemudian endapan diperoleh dengan cara centrifuge. Larutan ditambahkan dengan asam klorit, amonium molibdat dan amino-naftol-asam sulfonat. Larutan kemudian dianalisis dengan *Final Enrichment Culture* (FEC) pada panjang gelombang 670 nm.

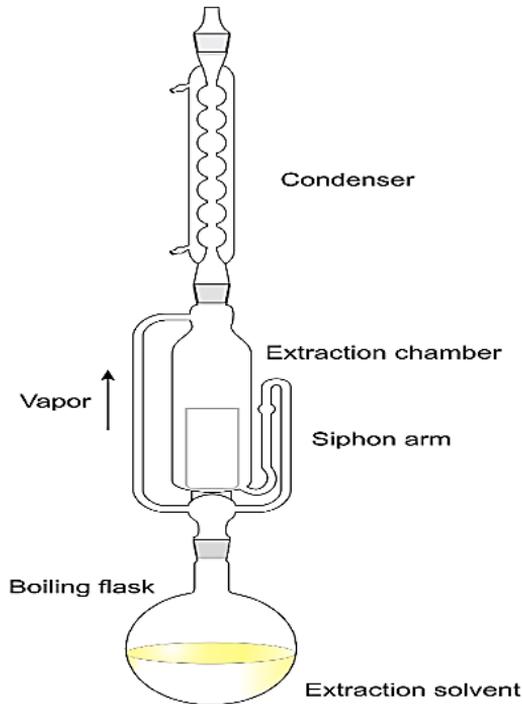
F. Ekstraksi Lemak Dalam Sampel

Secara umum, asam lemak yang terdapat dalam sampel akan ditemukan dalam bentuk lemak sehingga ketika akan dianalisis maka bagian lemak harus dipisahkan terlebih dahulu dari bagian lainnya. Salah satu cara untuk menganalisis kadar lemak adalah dengan metode sokset. Lemak yang terdapat dalam sampel mempunyai sifat nonpolar maka untuk

mengekstraknya dapat digunakan pelarut yang bersifat nonpolar. Metode sokhlet mempunyai prinsip yaitu diekstrak menggunakan pelarut non polar (lemak bersifat non polar).

Prosedur pengujian kadar lemak diawali dengan labu lemak yang akan digunakan dioven selama 30 menit pada suhu 100-105°C, didinginkan sampai mencapai suhu ruang dalam desikator dan ditimbang (W1). Sampel kemudian ditimbang sebanyak 2gram (W2) kemudian dibungkus dengan kertas saring, ditutup dengan kapas bebas lemak lalu diikat (thimble) dan dimasukkan ke dalam alat ekstraksi sokhlet yang terhubung dengan labu lemak yang telah dioven sebelumnya. Labu bulat yang terhubung dengan alat soklet kemudian diletakan di atas hot plate. Pelarut heksan sebanyak 150mL ditambahkan melewati soklet. Labu lemak dan soklet dihubungkan dengan penangas kemudian dipanaskan mengikuti suhu dari titik didih pelarut yang digunakan. Lemak kemudian diekstrak selama 6 jam. Pelarut lemak yang digunakan, disuling dan ditampung. Ekstrak lemak yang ada dalam labu lemak dikeringkan dalam oven bersuhu 105°C selama 1 jam, kemudian labu lemak didinginkan dalam desikator dan ditimbang (W3) (Gambar 4.2). Perhitungan kadar lemak sebagai berikut:

$$\begin{aligned} & \% \text{ Kadar lemak} \\ & = \frac{(W3 = \text{Berat labu} + \text{lemak}) - (\text{Berat labu kosong})}{W2 = \text{Berat sampel}} \times 100\% \end{aligned}$$



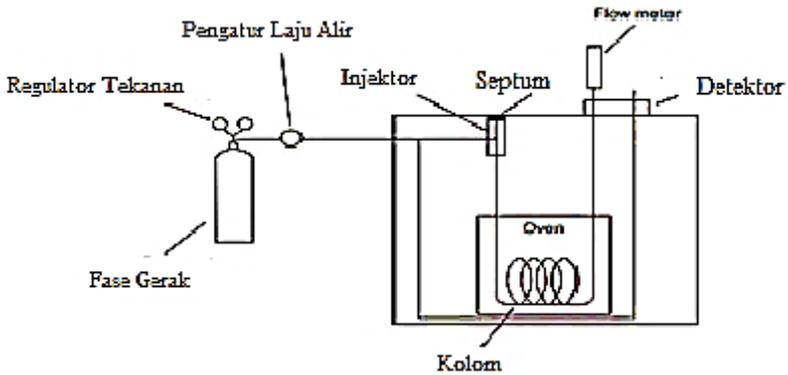
Gambar 4.2 Alat Ekstraksi Lemak Sokslet

G. Analisis Asam Lemak Menggunakan Kromatografi Gas

Analisis asam lemak dalam sampel dilakukan menggunakan kromatografi gas. Kromatografi gas merupakan salah satu teknik kromatografi yang menggunakan prinsip pemisahan campuran berdasarkan perbedaan migrasi komponen-komponen penyusunnya berdasarkan perbedaan titik didih senyawa yang dipisahkan.

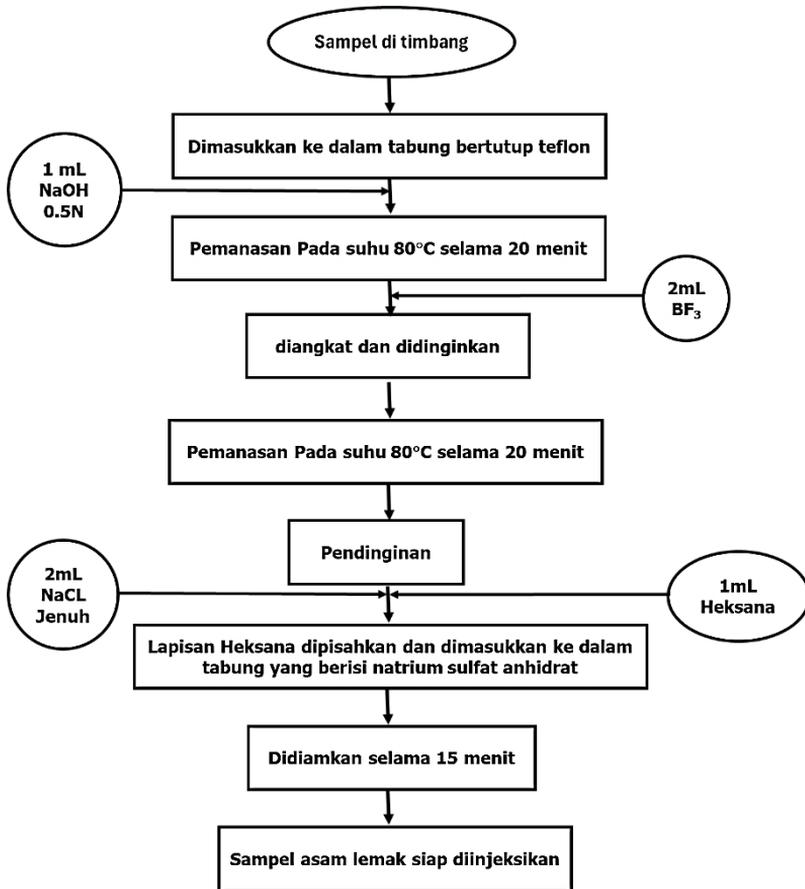
Mekanisme kerja kromatografi gas adalah sebagai berikut, gas di dalam tabung gas bertekanan tinggi dialirkan melalui kolom yang berisi fase diam. Sampel berupa campuran yang akan dipisahkan diinjeksikan ke dalam aliran gas fase gerak. Sampel akan dibawa oleh fasa gerak ke dalam kolom untuk dipisahkan. Pemisahan senyawa didasarkan atas volatilitas dan polaritas. Senyawa yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap terlebih dahulu dan akan terdeteksi yang ditampilkan oleh recorder. Sedangkan senyawa yang memiliki titik didih

lebih tinggi akan terdeteksi lebih lama. Pemisahan juga didasarkan atas kecepatan migrasi sampel dalam fase diam dan fase gerak. Detektor diletakkan di ujung kolom untuk menganalisis jenis dan jumlah senyawa asam lemak dalam sampel (Gambar 4.3).



Gambar 4.3 Skema Kromatografi Gas

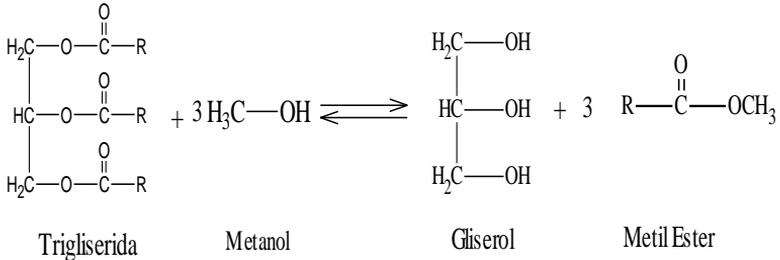
Tahap pertama analisis asam lemak yaitu proses ekstraksi dengan menggunakan metode sokslet, selanjutnya yaitu proses metilasi, proses ini bertujuan untuk membentuk senyawa turunan asam lemak yaitu metil ester. Instrumen kromatografi gas dapat digunakan untuk menganalisis asam lemak dalam sampel dalam bentuk metil esternya. Asam lemak bersifat tidak volatil sehingga susah diuapkan. Karena asam lemak akan dianalisis menggunakan kromatografi gas maka harus diubah bentuknya dari asam lemak menjadi metil ester yang bersifat volatil dengan cara mereaksikan lipid atau asam lemak dengan alkohol sederhana dalam kondisi basa dengan bantuan katalis boron triflorida (Gambar 4.4).



Gambar 4.4 Hidrolisis Dan Metilasi Ester

Prinsip analisis asam lemak dalam sampel menggunakan kromatografi gas adalah dengan mengubah asam lemak pada sampel lemak atau minyak menjadi senyawa volatil metil ester lemak yang akan dideteksi oleh detektor ionisasi nyala api dalam bentuk respon berupa puncak dalam kromatogram. Jenis dan jumlah asam lemak yang ada pada contoh dapat diidentifikasi dengan membandingkan puncak sampel contoh dengan puncak standar dalam kromatogram yang telah diketahui jenis dan konsentrasinya, kemudian diketahui komposisi asam lemaknya dalam total asam lemak yang ada.

Metil ester merupakan hasil reaksi asam lemak dengan metanol. Metil ester dapat dibuat melalui proses esterifikasi atau transesterifikasi. Reaksi esterifikasi merupakan reaksi antara asam lemak bebas dengan alkohol membentuk ester dan air. Sedangkan reaksi transesterifikasi merupakan reaksi antara trigliserida dengan alkohol yang menghasilkan ester dan gliserin (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Reaksi Pemecahan Trigliserida menjadi Metil Ester

Proses metilasi dilakukan dengan cara merefluks asam lemak di atas penangas air menggunakan pelarut NaOH-metanol, isooktan dan BF₃. Sampel sebanyak 20mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah NaOH-metanol 0.5N sebanyak 1mL, selanjutnya dipanaskan selama 20menit, kemudian sampel didinginkan. Larutan BF₃ 20% sebanyak 2mL dan standar internal sebanyak 5mg/mL, selanjutnya sampel dipanaskan kembali selama 20menit dan didinginkan. Campuran yang telah dingin kemudian ditambah NaCl jenuh sebanyak 2mL dan isooktan sebanyak 1mL, kemudian campuran dikocok dengan hati-hati. Larutan isooktan yang terbentuk, selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung yang sudah dicampur dengan garam Na₂SO₄ anhidrat sebanyak 0,1 gram dengan bantuan pipet tetes dan dibiarkan selama 15 menit. Instrumen kromatografi yang digunakan kemudian dikondisikan sebagai berikut Kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala, kolom kapiler berisi *cyanopropil methylsil* dengan dimensi kolom panjang kolom = 60m, internal diameter = 0.25mm, dan ketebalan film dalam kolom = 025µm. Laju alir gas N₂ 30 mL/menit, laju alir gas He 30mL/menit, laju alir gas H₂ 40

mL/menit dan laju alir udara 400mL/menit. Suhu injektor 220°C, suhu detektor 240°C dan suhu kolom dibuat secara program sebagai berikut (Tabel 2).

Tabel 4.2 Suhu Terprogram Untuk Pemisahan Asam Lemak Menggunakan Kromatografi Gas

<i>Temperature Rate</i> (°C/menit)	<i>Temp (°C) Hold</i>	<i>Time (menit)</i>
-	125	5
10	185	5
5	205	10
3	225	7

Pada bagian injektor diseting *Split Ratio* 1:80, Volume sampel yang diinjeksikan sebesar 1µL, *Linier Velocity* 23.6cm/sec. Selanjutnya dilakukan penginjeksian sebanyak 1µL campuran standar Supelco 37 *component fatty acid methyl ester mix* (FAME). Sampel sebanyak 1µL diinjeksikan ke dalam kromatografi gas. Ukur waktu retensi dan puncak masing-masing komponen. Bandingkan waktu retensinya dengan standar untuk mendapatkan informasi mengenai jenis dari komponen-komponen dalam contoh.

$$[Sampel] = \left[\frac{Area\ Sampel}{Area\ Standar} \right] \times [Standar]$$

H. Analisis Asam Lemak Dengan Spektrofotometer FTIR

Adanya kandungan lemak dalam suatu sampel dapat diketahui menggunakan spektrofotometer FTIR. Spektrofotometer FTIR merupakan instrumen yang dapat menganalisis gugus fungsi yang terdapat dalam suatu sampel. Berdasarkan gugus fungsi hasil pengukuran FTIR maka dapat diketahui jenis molekul lemak yang diukur dan juga dapat dikembangkan untuk mengetahui asal lemak yang diukur, apakah diperoleh dari jenis hewan yang sama atau berbeda. Pengukuran sampel yang mengandung lemak dengan spektrofotometer FTIR dapat dilakukan dengan cara menghaluskan sampel terlebih dahulu, jika sampelnya masih

basah maka dapat dikeringkan untuk mengurangi atau bahkan menghilangkan kandungan air di dalamnya menggunakan oven selama 2 jam pada suhu 100°C. Sampel kemudian diambil lemaknya menggunakan bersifat non polar seperti kloroform sebanyak 100 mL selama 3 jam. Selain itu kloroform mudah diuapkan dibandingkan pelarut organik lain, sehingga ekstrak lemak akan jauh lebih mudah dipisahkan dan dimurnikan. Ekstrak yang diperoleh diuapkan selama 24 jam. Selanjutnya lemak dapat dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR.

Pada spektrofotometer sampel lemak akan discanning pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} dengan laju pemayaran sebesar 4 cm^{-1} . Lemak dari strukturnya mengandung asam lemak baik yang jenuh maupun tak jenuh. Gugus fungsi yang terdapat dalam asam lemak antara lain, alkana, alkena dan asam karboksilat. Jadi analisis menggunakan spektrofotometer akan fokus memeriksa apakah dalam sampel terdapat asam lemak atau tidak secara kualitatif. Jika akan ditingkatkan pada tahapan kuantitatif maka analisis menggunakan FTIR dapat dilanjutkan dengan mengukur spektrum serapan sampel lalu membuat model persamaan pada bagian bilangan gelombang tertentu yang mempunyai tingkat linieritas tinggi namun memiliki pola atau kekhasan yang berbeda dengan sampel lainnya. Spektrum serapan tersebut kemudian diolah datanya menggunakan bantuan alat statistika sehingga dapat diperoleh pola ataupun model matematika yang dapat menggambarkan linieritas ataupun perbedaan jenis. Tentu saja analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometer FTIR akan sangat membutuhkan waktu pada awalnya karena semuanya harus diseting dan divalidasi, namun jika model matematisnya sudah diperoleh maka pengukuran akan jauh lebih cepat dibandingkan pengukuran menggunakan peralatan lainnya.

I. Analisis Asam Lemak Secara Titrimetri

Analisis titrimetri merupakan analisis kuantitatif yang dilakukan dengan menetapkan volume suatu larutan yang konsentrasinya telah diketahui dengan tepat. Larutan yang telah

diketahui konsentrasinya dengan tepat disebut titran yang disimpan dalam buret. Syarat titrimetri yaitu reaksi analit dengan pentitrasi harus diketahui, berlangsung cepat, stoikiometri, dan terdapat penanda yang menunjukkan terjadinya reaksi kuantitatif yang disebut titik akhir titrasi. Aplikasi dari metode titrasi salah satunya adalah menentukan senyawa organik dan gugus fungsi senyawa organik, seperti gugus hidroksil, sehingga metode titrasi ini dapat digunakan dalam penentuan bilangan hidroksil.

1. Analisis Bilangan Hidroksil

Sampel ditimbang sebanyak 2 gram dalam erlenmeyer 250mL kemudian ditambahkan 5mL campuran piridin-anhidrida asam asetat (3:1), dan dipanaskan dengan kondensor refluks selama 60 menit. setelah itu, ditambahkan 10 mL akuades melalui kondensor refluks. Campuran dipanaskan kembali selama 10 menit, dinginkan campuran pada suhu ruangan dengan kondensor masih dalam keadaan terpasang. Setelah dingin, sebanyak 25 mL etanol ditambahkan melalui kondensor, erlenmeyer dilepaskan dari kondensor dan ditutup. Campuran ditambahkan indikator fenolftalein dan dititrasi dengan KOH etanolik 0.5N sampai terjadi perubahan warna dari tidak berwarna menjadi merah muda seulas. Perlakuan yang sama dilakukan untuk blangko. Nilai bilangan hidroksil dihitung menggunakan rumus berikut

$$\text{Bilangan hidroksil} = \frac{[(V_{\text{Blanko}} - V_{\text{Sampel}}) \times N_{\text{KOH}}] \times 56.1}{W \text{ sampel}}$$

2. Analisis Kadar Asam Lemak Bebas dan Penentuan Bilangan Asam

Pengukuran asam lemak bebas diawali dengan standarisasi yang dilakukan dengan cara diambil 5mL larutan $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1N kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL lalu ditambahkan 3 tetes indikator PP. Larutan tersebut kemudian dititrasi dengan KOH sampai terbentuk larutan merah muda dan dicatat volume KOH yang digunakan. Selanjutnya, dihitung normalitas larutan

KOH. Penentuan asam lemak bebas dilakukan dengan cara sebanyak 10 gram sampel ditambahkan 25 mL alkohol 96% kemudian dipanaskan di dalam penangas air selama 10 menit lalu campuran tersebut ditetesi indikator PP sebanyak 2 tetes. Campuran kemudian dikocok dan dititrasi dengan KOH 0.1N hingga timbul warna merah jambu yang tidak hilang dalam 10 detik. Nilai kadar asam lemak bebas dapat digunakan untuk menghitung bilangan asam dengan mengubah konversi BM asam lemak menjadi BM KOH. Persentase Asam Lemak Bebas (ALB) dan nilai Bilangan Asam (BA) dapat dihitung sebagai berikut

Asam Lemak bebas (%)

$$= \frac{V \text{ KOH(mL)} \times N \text{ KOH} \times \text{BM Asam Lemak}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100\%$$

Bilangan asam $\left(\text{mg} \frac{\text{KOH}}{\text{kg}} \right)$

$$= \frac{V \text{ KOH(mL)} \times N \text{ KOH} \times \text{BM KOH}}{\text{Berat sampel (g)}}$$

DAFTAR PUSTAKA

- Aditia RP, Darmanto YS, Romadhon. 2014. Perbandingan Mutu Minyak Ikan Kasar yang Diekstrak dari Berbagai Jenis Ikan yang Berbeda. *J Pengolah dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(3):55-60.
- Christie, W. 1993. Preparation of Ester Derivates of Fatty Acids for Chromatography Analysis. *Advance in Lipid Methodology*. Ed. WW Christie. Oily Press. Dundee, Scotland.
- Eva Y, Ade Heri M, Farida N. 2017. Kualitas Minyak Goreng Curah Yang Beredar Di Pasar Tradisional Di Daerah Jabotabek Pada Berbagai Penyimpanan. *Ekologia*, 17(2):29-38.
- Islami MN, R Fatahillah, S Suriana, A Wati, SK Aini. 2019. Analisis Lemak Babi Pada Bakso Menggunakan Spektrofotometer Fourier Transform Infrared (FTIR). *Alkimia: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 3(2): 75-78.
- Laurelles, LR, FM Rodriguez, CE Reano, GA Santos, AC Laurena, EMT Mendoza. 2002. Variability in Fatty Acid and Triacilglycerol Composition of the Oil of Coconut (*Coconut nucifera L.*) Hybrids and Their Parentals. *J. Agric. Food Chem*. 50 :1581-1586
- Maleta HS, Indrawati R, Limantara L, Hardo T, Brotosudarmo P. 2018. Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir. *J Rekayasa Kim Lingkungan*, 13(1):40-50.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J Kesehatan*, 8(2): 361-367.
- Ngginak J, Semangun H, Mangimbulude JC, Rondonuwu FS. 2013. Komponen Senyawa Aktif pada Udang Serta Aplikasinya dalam Pangan. *J Sains Med*. 5(2):128-145.
- Pontoh J, NTN Buyung. 2011. Analisa Asam Lemak Dalam Minyak Kelapa Murni (Vco) Dengan Dua Peralatan Kromatografi Gas. *Jurnal Ilmiah Sains* 11(2) 274-281

- Pursetyo KT, Tjahjaningsih W, Pramono H. 2015. Perbandingan Morfologi Kerang Darah Di Perairan Kenjeran Dan Perairan Sedati. *J Ilmu Perikanan Dan Kelaut*, 7(1): 31-33.
- Rita K, Muhammad Nur C, Tyas U, Sri R. 2016. Karakteristik Fisikawi, Kimiawi, dan Mikrobiologis Ronto Selama Penyimpanan. *JPHPI*, 19(3): 348-355. doi:10.17844/jphpi.2016.19.3.348
- Sopianti DS, Saputra HT. 2017. Penetapan kadar asam lemak bebas pada minyak goreng. *J Katalisator*, 2(2):100-105.
- Suroso AS. 2013. Kualitas Minyak Goreng Habis Pakai Ditinjau dari Bilangan Peroksida, Bilangan Asam dan Kadar Air. *J Kefarmasian Indones*, 3(2):77-88.
- Untari B, Miksusanti, Al Ainna. 2020. Penentuan Kadar Asam Lemak Bebas dan Kandungan Jenis Asam Lemak dalam Minyak yang Dipanaskan dengan Metode Titrasi Asam Basa dan Kromatografi Gas. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi* 1: 1-10
- Zulfadli T. 2018. Kajian Sistem Pengolahan Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil) dengan Metode Pemanasan. *Int J Nat Sci Eng*, 2(1):34-41.

BAB 5

ANALISIS KADAR PROTEIN

dr. Rauza Sukma Rita, Ph.D

A. Pendahuluan

Protein di dalam makanan merupakan salah satu penyedia energi, namun juga memiliki fungsi lain termasuk komponen membran sel dan aktivitas enzim. (Malecki et al., 2021) Pentingnya upaya untuk memenuhi kecukupan asupan protein dalam makanan merupakan faktor nutrisi penting untuk pencegahan penyakit seperti sarkopenia dan penuaan. (Beasley et al., 2013) Kekuatan dan massa otot menurun dengan cepat pada usia 50-an, dan 30–50% massa otot hilang antara usia 40-80 tahun. Protein dikenal sebagai faktor nutrisi yang dapat memperlambat bahkan mencegah hilangnya kekuatan dan massa otot, namun studi intervensi pola makan manusia mengenai kesehatan otot yang dilakukan hingga saat ini sebagian besar telah mengamati hal tersebut terutama protein yang bersumber dari hewan.

Penentuan jumlah protein dalam makanan memerlukan metode analisis yang terstandar. Ada beberapa metode berbeda yang digunakan dalam industri makanan yang untuk mengukur kandungan protein dalam makanan, seperti metode Kjeldahl, Lowry, Bradford dan metode lainnya. Penentuan kandungan protein makanan yang benar penting karena menentukan nilai ekonomi produk pangan. (van Dijk et al., 2021)

Kualitas gizi protein dalam suatu produk makanan juga penting, kualitas protein dapat diartikan menjadi beberapa hal, yaitu protein untuk menunjang pertumbuhan optimal, keseimbangan asam amino, dan kualitas pencernaan dan penyerapan protein. (Endrinikapoulos et al., 2023) Kualitas protein menurut *Food and Agriculture Organization* (FAO), berkaitan dengan komposisi asam amino dari sumber protein dan ketersediaan hayati (berkaitan dengan daya cerna) protein. Beberapa metode untuk mengukur kualitas protein biasanya melibatkan penelitian pada hewan yang menggunakan biaya yang mahal yang digunakan untuk menentukan nilai biologis, daya cerna dan bioavailabilitas protein, yang biasanya dicapai dengan mengukur kadar nitrogen yang tersisa di dalam kotoran dan urin setelah percobaan pemberian pakan dan pencernaan makanan tertentu dengan atau tanpa protein hewan pilihan. Perbandingan kemudian dilakukan dengan protein standar baku emas untuk mengetahui apakah sangat mudah dicerna dan tersedia secara hayati serta kaya akan asam amino.

Berikut ini akan dijelaskan lebih lanjut beberapa metode yang dapat digunakan untuk menganalisis kadar protein dalam suatu makanan.

B. Metode Kjeldahl

Ahli kimia Denmark Johan Kjeldahl (1849–1900) telah mengembangkan metode analisis kadar protein yang saat ini dikenal sebagai metode Kjeldahl. Nitrogen dalam bahan organik terdapat berupa gugus amina ($-NH_2$) sebagai penyusun asam amino (protein) dan gula amino. Metode Kjeldahl secara tidak langsung mengukur kandungan protein total makanan dengan pengukuran nitrogen langsung dan selanjutnya dilakukan perkalian dengan faktor konversi. (Langyan et al., 2022) Faktor konversi umum yaitu 6.25 ($100/16$), digunakan untuk sebagian besar makanan karena kandungan nitrogen non proteinnya dapat diabaikan. Penentuan protein dalam makanan merupakan prosedur rutin untuk jaminan kualitas dan pelabelan makanan. (Derbyshire, 2022)

Pada metode Kjeldahl, sebagian besar sampel yang mengandung nitrogen organik dicerna dengan asam sulfat menjadi amonium sulfat. Amonium kemudian dibebaskan dengan menaikkan pH dan diukur dengan titrasi. (Mihaljev et al., 2015)

Metode Kjeldahl untuk penentuan kadar nitrogen total sangat luas digunakan untuk makanan, pakan ternak, kontrol kualitas pupuk dan bahan pertanian lainnya (tanah, bahan tanaman), sampel dari lingkungan (sedimen, matriks air dan air limbah), jaringan biologis, dan analisis farmasi. (Muñoz-Huerta et al., 2013) Metode Kjeldahl yang pertama kali diterbitkan pada tahun 1883 telah diterima dengan modifikasi, sebagai metode standar penentuan nitrogen (protein) selama beberapa dekade.

Sifat kimia nitrogen cukup rumit karena nitrogen mengasumsikan beberapa keadaan oksidasi. Nitrogen merupakan salah satu elemen terpenting untuk nutrisi tanaman. Senyawa nitrogen sangat bermanfaat dalam sumber daya air, di atmosfer, dan dalam proses kehidupan tumbuhan dan hewan. Empat bentuk nitrogen terlarut yang terbesar yaitu nitrogen organik, amonia, nitrit, dan nitrat, berada dalam keadaan oksidasi yang meningkat. (Jiang et al., 2019) Semua bentuk nitrogen ini, serta gas nitrogen, saling dapat diubah pada komponen siklus nitrogen biologis.

Metode asli yang diciptakan oleh Kjeldahl terus menerus ditingkatkan (Hicks et al., 2022) Perkembangan ini telah meningkatkan kualitas lingkungan hidup dan aspek keselamatan pribadi, meningkatkan kecepatan dan manfaat yang banyak dari metode ini, dan menyederhanakan seluruh prosedur analisis. Pengambilan sampel dan penanganan sampel yang tepat sangat penting untuk keberhasilan analisis dan harus diatasi secara individual untuk bahan dari jenis yang berbeda.

Prosedur Kjeldahl memiliki beberapa varian, terutama mikro dan makro, berdasarkan ukuran sampel dan peralatan yang dibutuhkan. Dalam prosedur aslinya, yang peralatan dengan ukuran besar diperlukan, seringkali menempati seluruh ruangan laboratorium, dan menggunakan porsi analitis yang

relatif besar, yang membutuhkan asam dalam jumlah besar. Metode mikro Kjeldahl lebih umum digunakan karena menghasilkan jumlah asam yang lebih sedikit asap dan membutuhkan lebih sedikit campuran asam dan katalis. Prosedur mikro Kjeldahl didasarkan pada prinsip yang sama dengan prosedur makro Kjeldahl, namun peralatan yang digunakan diperkecil. Kondisi optimal untuk metode makro tidak selalu berlaku untuk metode mikro. Perlu diberikan tekanan pada pencernaan semimikro. Pilihan kondisi yang tepat juga akan menghilangkan beberapa kesulitan dalam analisis bahan yang kompleks, dan juga menghasilkan penghematan ruang laboratorium dengan peralatan yang lebih kompak.

Meskipun prosedur Kjeldahl berbahaya, panjang, dan sudah menjadi standar industri, metode yang akurat, tepat, dan dapat diandalkan serta digunakan untuk membakukan metode lainnya. Sistem analisis nitrogen (protein) semi-otomatis atau otomatis sepenuhnya berdasarkan metode klasik prosedur Kjeldahl lebih disukai untuk menghemat biaya dan menghemat waktu dan sejumlah besar sampel yang perlu dianalisis.

Prosedur Kjeldahl

Prosedur Kjeldahl melibatkan tiga langkah utama, yaitu digesti, distilasi, dan titrasi. (Sáez-Plaza et al., 2013)

1. Digesti

Pada langkah digesti nitrogen yang terikat secara organik diubah menjadi ion amonium. Karbon organik dan hidrogen membentuk karbon dioksida dan air yang berkaitan dengan proses pembakaran. Dalam proses ini, bahan organik mengkarbonisasi yang dapat divisualisasikan dengan transformasi sampel menjadi busa hitam. Selama proses digesti, busa terurai dan akhirnya menjadi cairan bening yang menunjukkan selesainya reaksi kimia. Persamaan umum kimia non-stoikiometri menunjukkan bagaimana suatu zat awal yang mengandung nitrogen secara umum (CHNO) termineralisasi menjadi ion amonium terlarut.



Dalam prosedur asli yang diterbitkan oleh Kjeldahl, mineralisasi dilakukan ke dalam asam sulfat yang mendidih. Oksidasi ini didukung oleh penambahan zat pengoksidasi kuat yaitu kalium permanganat. Setelah diperkenalkan oleh Kjeldahl, reaksi digesti semakin ditingkatkan dan dioptimalkan. Contohnya yaitu penambahan garam dan penggunaan katalis yang memungkinkan waktu digesti lebih singkat. Garam yang paling umum digunakan secara historis adalah kalium sulfat dan katalis selenium dan garam logam, terutama merkuri, tembaga atau titanium.

Dua jenis unit pemanas yang digunakan untuk memanaskan sampel bersama-sama reagen hingga suhu mendidih 340 hingga 370 °C. Salah satu jenisnya adalah IR-digester dan yang lainnya adalah blok digesti.

Setelah proses digesti menghasilkan cairan bening, waktu pencernaan tambahan misalnya 30 menit untuk memungkinkan mineralisasi sempurna. Untuk digesti yang bekerja di lemari asam sangat dianjurkan penggunaan Scrubber B-414 yang memberikan keamanan tambahan bagi personel laboratorium dan lingkungan serta menawarkan perlindungan peralatan terhadap korosi.

2. Distilasi

Setelah digesti sampel dibiarkan dingin hingga suhu kamar, gelas tabung sampel dipindahkan ke unit distilasi.

Netralisasi Asam Sulfat

Sebelum distilasi sampel yang bersifat asam dinetralkan dengan cara dipekatkan dengan larutan natrium hidroksida (NaOH) seperti persamaan di bawah ini:



Distilasi Dalam Tabung Sampel Kaca

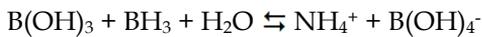
Pada langkah distilasi, ion amonium diubah menjadi amonia dipindahkan ke bejana penerima dengan cara distilasi uap. Dalam kesetimbangan kimia, ion amonium terlarut (NH_4^+) menghasilkan gas amonia (NH_3) yang bereaksi dengan kelebihan ion hidroksil (OH^-) natrium

hidroksida. Melalui proses distilasi uap, amonia dipisahkan dari kaca tabung sampel dan dikondensasi bersama dengan air di bejana penerima.



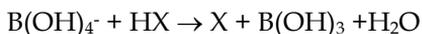
Pengumpulan Kondensat Di Bejana Penerima

Prosedur umum untuk mengumpulkan amonia di dalam bejana penerima melibatkan keberadaan asam borat $\text{B}(\text{OH})_3$ yang dilarutkan dalam air yang membentuk ion dengan amonia. Amonia secara kuantitatif ditangkap oleh larutan asam borat membentuk ion amonium terlarut.



3. Titrasi

Konsentrasi ion amonium yang ditangkap dalam asam borat ditentukan melalui titrasi asam basa yang umumnya menggunakan larutan standar dari asam sulfat atau asam klorida. Tergantung pada jumlah ion amonium saat ini, digunakan konsentrasi dalam kisaran 0,01 N hingga 0,5 N. Titrasi mungkin dilakukan dengan menggunakan buret menggunakan indikator pH yang sesuai untuk menunjukkan titik akhir $\text{pH} = 4,65$. Pilihannya yaitu memasang kedudukan titrasi ke unit distilasi dan membaca volume asam yang dikonsumsi dari tampilan titrator. Prosedur paling canggih yaitu dengan penggunaan unit distilasi Kjeldahl dengan titrator bawaan dan memiliki perhitungan yang dilakukan oleh instrument perangkat lunak. Apapun pilihan metode yang akan digunakan, reaksi kimia dijelaskan dengan persamaan yang ditunjukkan oleh reaksi anion tetrahidroksiborat $\text{B}(\text{OH})_4^-$ dengan larutan asam kuat HX di bawah ini:



Prinsip pemeriksaan protein dengan metode Kjeldahl yaitu senyawa yang mengandung nitrogen organik dicerna dengan asam sulfat menjadi amonium sulfat, kemudian dibebaskan sebagai amonia dengan menaikkan pH dan

diukur dengan titrasi. Metode Kjeldahl bergantung pada kandungan nitrogen organik total dalam sampel, sehingga keakuratan kandungan protein tidak akan dipengaruhi oleh struktur protein. Karena memberikan hasil protein yang akurat terlepas dari keadaan fisik sampel, metode ini tetap menjadi metode referensi yang dapat diandalkan

C. Metode Lowry

Metode Lowry adalah salah satu metode yang paling sensitif dan bisa mendeteksi sampel protein dengan rentang konsentrasi 2 hingga 100 μ g. Metode ini didasarkan pada reaksi biuret, dengan penambahan reagen Folin-Ciocalteu untuk meningkatkan perkembangan warna. Protein dengan tembaga alkalisulfat dengan adanya tartrat diikuti dengan penambahan Reagen Folin-Ciocalteu. Tembaga berinteraksi dengan atom nitrogen peptida untuk menghasilkan kompleks tembaga sementara reagen Folin-Ciocalteu berinteraksi dengan ion tembaga, residu tirosin, triptofan dan sistein di rantai samping dan menghasilkan warna biru kehijauan yang dapat dideteksi di antara panjang gelombang 650 hingga 750 nm. Warna disebabkan oleh transisi elektronik yang melibatkan elektron valensi ke elektron valensi lainnya. (Lu et al., 2010)

Keuntungan utama dari metode Lowry yaitu 100 kali lebih sensitif daripada pereaksi biuret asli. Metode Lowry ini merupakan reaksi dua tahap dengan waktu inkubasi sekitar 40 menit dan reagen Folin-Ciocalteu hanya reaktif untuk jangka waktu singkat setelah penambahannya.

D. Metode Bradford

Metode Bradford merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memperkirakan konsentrasi protein sangat penting di banyak bidang studi protein. Sebuah pengujian yang awalnya dijelaskan oleh Bradford menjadi metode pilihan untuk mengukur protein di banyak laboratorium. Teknik ini lebih sederhana, lebih cepat, dan lebih sensitif dibandingkan metode Lowry. Apabila dibandingkan dengan metode Lowry, gangguan

yang ditimbulkan oleh reagen umum dan komponen non protein dari sampel biologis lebih sedikit.

Uji Bradford bergantung pada pengikatan pewarna Coomassie Blue G250 ke protein. Studi terperinci menunjukkan bahwa pewarna bebas dapat berada dalam empat bentuk ionik yang berbeda yang nilai pKa-nya 1,15, 1,82, dan 12,4. Dari tiga bentuk bermuatan tersebut, pewarna yang mendominasi dalam larutan reagen uji asam, semakin banyak warna merah kationik dan bentuk hijau memiliki serapan maksimum masing-masing pada 470 nm dan 650 nm. Sebaliknya, bentuk pewarna biru yang lebih anionik, yang berikatan dengan protein, memiliki daya serap maksimum pada 590nm. Dengan demikian, jumlah protein dapat diperkirakan dengan menentukan jumlah pewarna dalam bentuk ionik biru. Hal ini biasanya dicapai dengan mengukur serapan larutan pada panjang gelombang 595 nm.

Pewarna tampaknya paling mudah berikatan dengan residu protein arginil dan lisil. Kekhususan ini dapat menyebabkan variasi dalam respon pengujian terhadap protein yang berbeda, yang merupakan kelemahan utama metode ini. Uji Bradford yang asli menunjukkan variasi besar dalam respon antara protein yang berbeda. Beberapa modifikasi metode telah dikembangkan untuk mengatasi masalah ini. Namun, perubahan ini umumnya menghasilkan pengujian yang kurang kuat dan seringkali lebih rentan terhadap gangguan oleh bahan kimia lainnya. Akibatnya, metode asli yang dirancang oleh Bradford tetap menjadi formulasi yang paling nyaman dan banyak digunakan. Dua jenis pengujian yaitu pengujian standar, yang cocok untuk mengukur antara 10 dan 100 μg protein, dan *microassay*, yang mendeteksi antara 1 dan 10 μg protein. Pemeriksaan dengan *microassay*, meskipun lebih sensitif, juga lebih rentan terhadap gangguan dari senyawa lain karena jumlah sampel yang lebih besar dibandingkan dengan reagen pewarna dalam bentuk pengujian tersebut. (Nouroozi et al., 2015)

E. Metode Biuret

Metode biuret merupakan salah satu teknik uji protein kolorimetri pertama yang dilakukan untuk mengukur konsentrasi protein dalam sampel tertentu. (Sapan & Lundblad, 2015) Interaksi reagen biuret dengan ikatan peptida menghasilkan kompleks berwarna ungu. Kompleks koordinasi yang dibentuk oleh atom tembaga dan dua atom nitrogen dari masing-masing rantai peptida menghasilkan pengembangan produk berwarna pada intensitas puncaknya setelah sekitar 15 menit, dan kompleks yang terbentuk stabil selama jangka waktu yang lama. Pendekatan ini dapat diandalkan, dan kesalahannya ditentukan kurang dari 5%.

Menurut Kingsley, teknik biuret terbukti sesuai dengan metode Kjeldahl dalam hal kuantifikasi protein total. Metode biuret merupakan pilihan populer di laboratorium klinis karena kemudahan penggunaan dan kecepatannya, serta keandalannya bila dibandingkan dengan pendekatan yang mengandalkan keberadaan asam amino spesifik. Sensitivitas uji biuret dilaporkan sebagai sampel protein dengan konsentrasi berkisar antara 0,0100 hingga 5,00mg/mL. (Janairo et al., 2011)

F. Metode Dumas

Metode pembakaran Dumas merupakan metode mutlak untuk penentuan kandungan nitrogen total dalam matriks yang biasanya organik. Sampel dibakar dengan suhu tinggi dalam atmosfer oksigen. Melalui tabung oksidasi dan reduksi berikutnya, nitrogen secara kuantitatif diubah menjadi N_2 . Detektor konduktivitas termal mengukur gas nitrogen. Hasil diberikan dalam % atau mg Nitrogen, yang dapat diubah menjadi protein dengan menggunakan faktor konversi.

Keuntungan metode Dumas yaitu mudah digunakan dan bersifat otomatis. Prosesnya jauh lebih cepat dibandingkan metode Kjeldahl, yang memerlukan waktu beberapa menit untuk setiap pengukuran, dibandingkan dengan satu jam atau lebih untuk Kjeldahl. (Simonne et al., 1997) Metode Dumas juga tidak menggunakan bahan beracun atau bahan kimia atau

katalis berbahaya. Metode Kjeldahl menggunakan asam sulfat pekat dan katalis untuk digesti sampel. Ketika penggunaan merkuri dan kadmium di laboratorium dilarang di sebagian besar negara selama tahun 1990-an, banyak laboratorium mengevaluasi penggunaan metode Dumas sebagai alternatif dan banyak studi banding telah dilakukan. Salah satu hasil dari pengakuan ini adalah sejumlah standar internasional. Layanan inspeksi atau pemeriksaan biji-bijian di Amerika Serikat, Kanada, dan Australia juga diakui metode Dumas.

Tabel 5.1 Faktor Konversi Nitrogen ke Protein
(contoh dari ISO 16634-1:2008)

Commodity	Conversion factor
Barley	5,88
Coconut meal	5,30
Oats	5,50
Rice	5,95
Rye	5,83
Sun flower (seed, meal)	5,30
Soy bean (seeds, flour or products)	5,71
Triticale	5,78
Wheat (whole meal, flour or bulgur)	5,83
Wheat (bran)	5,26

Menurut ISO/TS 16634-2:2009, faktor konversi yang disepakati secara umum untuk produk yang dianalisis adalah sama dengan 5,7 untuk gandum, gandum hitam dan produk gilingnya dan 6,25 untuk semua produk lain yang termasuk dalam ruang lingkup standar ISO.

G. Bicinchoninic Acid (BCA)

Penentuan protein merupakan salah satu prosedur yang paling umum dilakukan dalam penelitian biokimia. Prinsip pengujian asam bicinchoninic (BCA) mirip dengan prosedur

Lowry, yaitu keduanya mengandalkan pembentukan kompleks protein Cu^{2+} dalam kondisi basa, diikuti dengan reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^{1+} . (Huang et al., 2010) Jumlah pengurangan sebanding dengan protein yang ada. Telah terbukti bahwa sistein, sistin, triptofan, tirosin, dan ikatan peptida mampu mereduksi Cu^{2+} menjadi Cu^{1+} . BCA membentuk kompleks ungu-biru dengan Cu^{1+} dalam lingkungan basa, sehingga memberikan dasar untuk memantau reduksi basa Cu^{2+} oleh protein.

Uji BCA lebih sensitif dan dapat diterapkan dibandingkan prosedur biuret atau Lowry. Selain itu, variabilitasnya lebih sedikit dibandingkan uji Bradford. Uji BCA memiliki banyak keunggulan dibandingkan teknik penentuan protein lainnya, meliputi:

1. Kompleks warnanya stabil
2. Kerentanan terhadap deterjen berkurang
3. Berlaku pada berbagai konsentrasi protein

H. Fluorescent Dye Methods

Metode deteksi kuantifikasi protein berbasis fluoresensi memberikan sensitivitas unggul yang berarti dapat menggunakan lebih sedikit sampel protein untuk kuantisasi dan memiliki lebih banyak sampel yang tersedia untuk eksperimen. Uji fluoresensi ini juga berguna ketika uji kolorimetri tidak dapat digunakan karena mengganggu warna dalam sampel. Untuk pengujian ini, hanya diperlukan beberapa langkah, dan pengaturan waktu tidak terlalu penting sehingga pengujian dapat disesuaikan untuk penanganan otomatis dalam aplikasi *throughput* tinggi. Sinyal fluoresensi dapat dideteksi menggunakan *fluorometer* atau *microplate reader*. (Gooran & Kopra, 2024)

I. Metode Spektroskopi Ultra Violet-Visible (UV-Vis)

Kuantisasi protein adalah langkah kontrol kualitas yang diperlukan dalam alur kerja biologi molekuler untuk memastikan eksperimen hilir menghasilkan hasil yang akurat.

Spektrometri mikrovolumen memungkinkan pengguna laboratorium mengambil sampel bahan proteomik pada volume yang sangat rendah, memungkinkan laboratorium untuk mengawetkan sampel yang berharga.

Spektroskopi ultraviolet (UV)-Visible beroperasi berdasarkan prinsip penyerapan sinar ultraviolet atau cahaya tampak oleh zat kimia, yang pada gilirannya menghasilkan spektrum unik. (Thakkar et al., 2012) Prinsip ini didasarkan pada interaksi antara cahaya dan materi. Ketika materi menyerap cahaya, akan mengalami keadaan eksitasi dan deeksitasi, yang pada akhirnya menghasilkan terciptanya spektrum.

Ketika materi menyerap radiasi ultraviolet, elektron-elektronnya menjadi tereksitasi. Rangsangan ini mendorong mereka untuk melompat dari keadaan dasar (keadaan energi dengan energi lebih rendah) ke keadaan tereksitasi (keadaan energi dengan energi lebih tinggi). Penting untuk dicatat bahwa perbedaan energi antara keadaan dasar dan keadaan tereksitasi suatu elektron selalu setara dengan jumlah radiasi ultraviolet atau radiasi tampak yang diserapnya.

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa ketika seberkas cahaya monokromatik menumbuk larutan yang mengandung zat penyerap cahaya, laju berkurangnya intensitas sinar sepanjang ketebalan larutan dan berbanding lurus dengan konsentrasi zat penyerap dalam larutan dan dengan intensitas insiden radiasi monokromatik. Menurut hukum Lambert-Beer, semakin tinggi jumlah molekul penyerap (yang mampu menyerap cahaya dengan panjang gelombang tertentu), semakin besar pula penyerapan radiasinya. (Mayerhöfer et al., 2020)

J. Kesimpulan

Protein merupakan salah satu unsur makronutrien yang penting bagi tubuh. Makanan yang kaya protein dapat menjaga kesehatan tubuh dengan baik. Analisis kadar protein di dalam makanan dapat dilakukan dengan beberapa cara, seperti Kjeldahl, Lowry, Bradford, Biuret, Dumas, Bicinchoninic Acid (BCA), *Fluorescent Dye Methods*, dan Spektroskopi UV-Vis.

Masing-masing metode mempunyai keunggulan dan kekurangan masing-masing. Salah satu keunggulan yaitu dapat menentukan kadar protein dalam waktu yang lebih cepat dan jumlah sampel yang sedikit volumenya.

DAFTAR PUSTAKA

- Beasley, J. M., Shikany, J. M., & Thomson, C. A. (2013). The role of dietary protein intake in the prevention of sarcopenia of aging. In *Nutrition in Clinical Practice* (Vol. 28, Issue 6, pp. 684–690). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/0884533613507607>
- Derbyshire, E. (2022). Food-Based Dietary Guidelines and Protein Quality Definitions – Time to Move Forward and Encompass Mycoprotein? *Foods*, 11(5), 647. <https://doi.org/10.3390/foods11050647>
- Endrinikapoulos, A., Afifah, D. N., Mexitalia, M., Andoyo, R., Hatimah, I., & Nuryanto, N. (2023). Study of the importance of protein needs for catch-up growth in Indonesian stunted children: a narrative review. In *SAGE Open Medicine* (Vol. 11). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/20503121231165562>
- Gooran, N., & Kopra, K. (2024). Fluorescence-Based Protein Stability Monitoring – A Review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Issue 3). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms25031764>
- Hicks, T. D., Kuns, C. M., Raman, C., Bates, Z. T., & Nagarajan, S. (2022). Simplified Method for the Determination of Total Kjeldahl Nitrogen in Wastewater. *Environments - MDPI*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/environments9050055>
- Huang, T., Long, M., & Huo, B. (2010). Competitive Binding to Cuprous Ions of Protein and BCA in the Bicinchoninic Acid Protein Assay. In *The Open Biomedical Engineering Journal* (Vol. 4).
- Janairo, G., Linley, M., Leonisa, S. ;, Llanos-Lazaro, N., & Robles, J. (2011). Determination of the Sensitivity Range of Biuret Test for Undergraduate Biochemistry Experiments. *E -Journal of Science & Technology*, 77–83. <http://e-jst.teiath.gr77>

- Jiang, S., Müller, M., Jin, J., Wu, Y., Zhu, K., Zhang, G., Mujahid, A., Rixen, T., Fakharuddin Muhamad, M., Sia, E. S. A., Jang, F. H. A., & Zhang, J. (2019). Dissolved inorganic nitrogen in a tropical estuary in Malaysia: transport and transformation. *Biogeosciences*, 16(14), 2821–2836. <https://doi.org/10.5194/bg-16-2821-2019>
- Langyan, S., Bhardwaj, R., Radhamani, J., Yadav, R., Gautam, R. K., Kalia, S., & Kumar, A. (2022). A Quick Analysis Method for Protein Quantification in Oilseed Crops: A Comparison With Standard Protocol. *Frontiers in Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.892695>
- Lu, T.-S., Yiao, S.-Y., Lim, K., Jensen, R. V., & Hsiao, L.-L. (2010). Interpretation of biological and mechanical variations between the Lowry versus Bradford method for protein quantification. *Www.Najms.Org North American Journal of Medical Sciences*, 2(7). <https://doi.org/10.4297/najms.2010.2325>
- Małecki, J., Muszyński, S., & Sołowiej, B. G. (2021). Proteins in food systems – bionanomaterials, conventional and unconventional sources, functional properties, and development opportunities. In *Polymers* (Vol. 13, Issue 15). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/polym13152506>
- Mayerhöfer, T. G., Pahlow, S., & Popp, J. (2020). The Bouguer-Beer-Lambert Law: Shining Light on the Obscure. In *Chemphyschem : a European journal of chemical physics and physical chemistry* (Vol. 21, Issue 18, pp. 2029–2046). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1002/cphc.202000464>
- Mihaljev, Ž. A., Jakšić, S. M., Prica, N. B., Čupić, Ž. N., & Živković-Baloš, M. M. (2015). Comparison of the Kjeldahl method, Dumas method and NIR method for total nitrogen determination in meat and meat products. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 21(4), 365–370. <http://>

- Muñoz-Huerta, R. F., Guevara-Gonzalez, R. G., Contreras-Medina, L. M., Torres-Pacheco, I., Prado-Olivarez, J., & Ocampo-Velazquez, R. V. (2013). A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: Advantages, disadvantages and recent advances. In *Sensors (Switzerland)* (Vol. 13, Issue 8, pp. 10823–10843). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/s130810823>
- Nouroozi, V., Nouroozi, R. V., Noroozi, M. V., & Ahmadizadeh, M. (2015). Determination of Protein Concentration Using Bradford Microplate Protein Quantification Assay. In *International Electronic Journal of Medicine* (Vol. 4, Issue 1).
- Sáez-Plaza, P., Navas, M. J., Wybraniec, S., Michałowski, T., & Asuero, A. G. (2013). An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(4), 224–272. <https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751787>
- Sapan, C. V., & Lundblad, R. L. (2015). Review of methods for determination of total protein and peptide concentration in biological samples. In *Proteomics - Clinical Applications* (Vol. 9, Issues 3–4, pp. 268–276). Wiley-VCH Verlag. <https://doi.org/10.1002/prca.201400088>
- Simonne, A. H., Simonne, E. H., Eitenmiller, R. R., Mills, H. A., & Cresman, C. P. (1997). Could the Dumas Method Replace the Kjeldahl Digestion for Nitrogen and Crude Protein Determinations in Foods? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73(1), 39–45. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0010\(199701\)73:1<39::aid-jsfa717>3.0.co;2-4](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0010(199701)73:1<39::aid-jsfa717>3.0.co;2-4)
- Thakkar, S. V., Allegre, K. M., Joshi, S. B., Volkin, D. B., & Middaugh, C. R. (2012). An application of ultraviolet spectroscopy to study interactions in proteins solutions at high concentrations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 101(9), 3051–3061. <https://doi.org/10.1002/jps.23188>

van Dijk, M., Morley, T., Rau, M. L., & Saghai, Y. (2021). A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2(7), 494–501. <https://doi.org/10.1038/s43016-021-00322-9>.

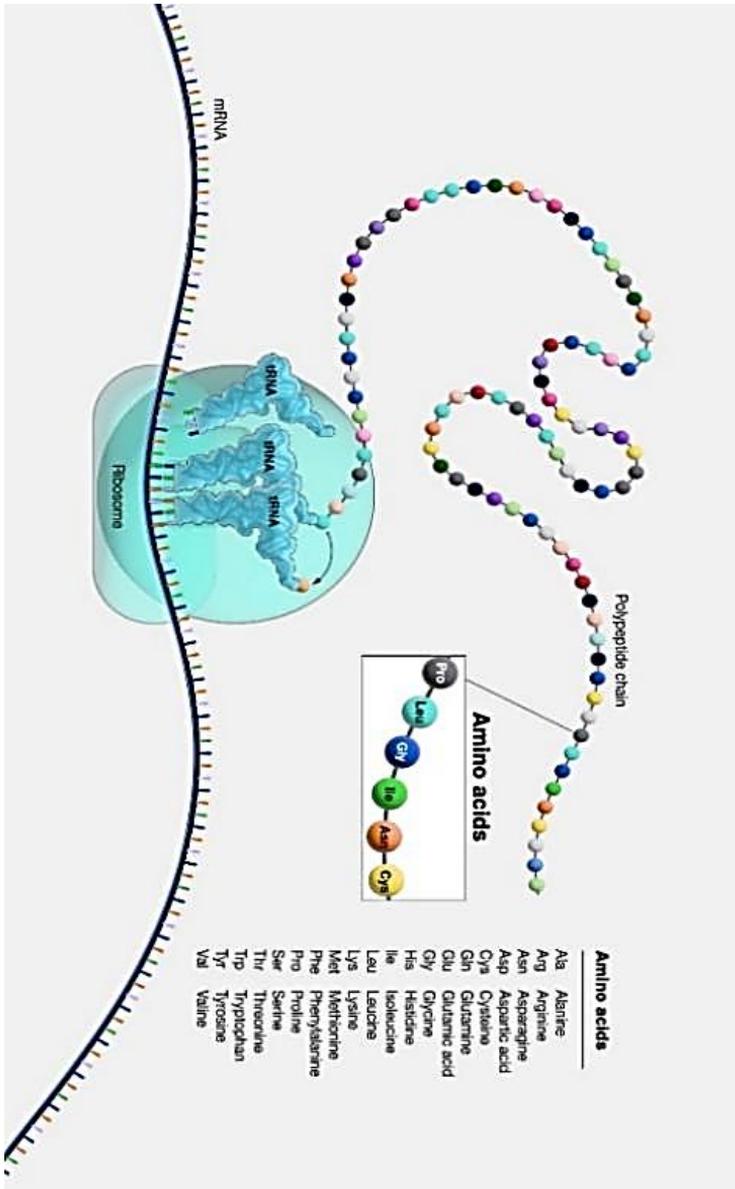
BAB 6

ANALISIS ASAM- ASAM AMINO PENYUSUN PROTEIN

Dr. Dessy Arisanty, M.Sc.

A. Pendahuluan

Asam amino adalah penyusun dasar protein dan tulang punggung nitrogen untuk senyawa seperti hormon dan neurotransmitter. Protein terdiri dari satu atau lebih rantai asam amino (disebut polipeptida), yang urutannya dikodekan dalam suatu gen. Dua puluh asam amino standar yang secara dikodekan langsung dalam materi genetik, dan beberapa asam amino non-standar melakukan berbagai fungsi biologis (Lopez & Mohiuddin, 2024). Setiap asam amino memiliki gugus α -karboksil, gugus α -amino primer, dan rantai samping yang disebut gugus R.



Gambar 6.1 Asam Amino Dalam Sintesis Protein

Asam amino berperan penting dalam metabolisme sel. Banyak diantara kita yang mengenal asam amino saat pertama kali mempelajari translasi, yaitu sintesis protein dari kode asam nukleat dalam mRNA. Sampai saat ini ilmuwan telah menemukan

lebih dari 500 senyawa asam amino di alam, namun hanya 22 diantaranya yang berperan dalam proses translasi. Gordon Martin dan Syngge (1943) menggunakan kromatografi partisi untuk memisahkan dan mempelajari konstituen protein sehingga menjadi terobosan besar yang berkontribusi dalam identifikasi 20 asam amino yang digunakan dalam protein semua organisme hidup. Kemudian, dua asam amino tambahan, yang tidak digunakan oleh semua organisme hidup, ditambahkan dalam daftar (Nature, 2014).

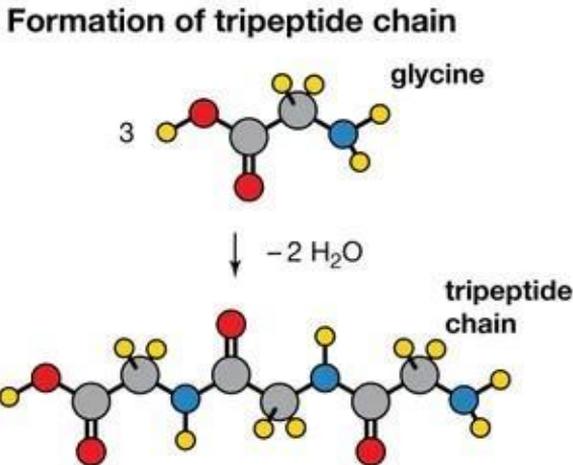
Analisis asam amino merupakan tahapan penting dalam berbagai disiplin ilmu dan industri. Dalam biokimia, analisis ini membantu dalam memahami struktur dan fungsi protein serta cara mereka berinteraksi dengan molekul lain. Dalam nutrisi, mengetahui jenis dan komposisi asam amino dari sumber makanan sangat penting untuk memaksimalkan proses diet dan meningkatkan kesehatan. Analisis profil asam amino juga dapat digunakan dalam bidang medis untuk mendiagnosis gangguan metabolik dan kondisi kesehatan lainnya. Meningkatnya produksi protein rekombinan untuk terapi dan aplikasi industri menandakan bahwa sangat penting menggunakan metode analisis yang tepat dan akurat.

Tujuan dari bab ini adalah untuk memberikan wawasan menyeluruh tentang asam amino, mulai dari struktur dan klasifikasinya hingga teknik analisis dan aplikasinya dalam berbagai bidang serta memberikan pemahaman yang kuat tentang pentingnya asam amino dan bagaimana analisisnya dapat berkontribusi signifikan dalam bidang akademik dan industri.

B. Struktur, Klasifikasi, Fungsi Asam Amino

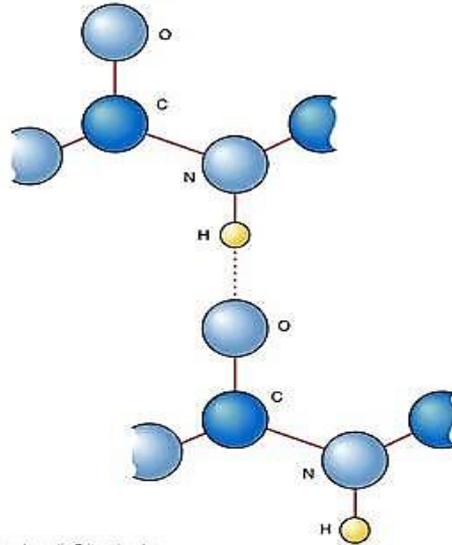
Protein adalah rantai panjang atau polimer yang tersusun dari jenis asam amino tertentu yang dikenal sebagai asam α -amino. Asam amino dapat dihubungkan melalui reaksi kondensasi dimana -OH hilang dari gugus karboksil dari asam amino bersama dengan hidrogen dari gugus amino kedua, membentuk molekul air dan meninggalkan dua asam amino yang terikat melalui sebuah molekul air. Asam α -amino ini unik

karena gugus fungsi amino dan asam karboksilatnya hanya dipisahkan oleh satu atom karbon, biasanya karbon kiral (Lopez & Mohiuddin, 2024; Reddy, 2024b).



Gambar 6.2 Reaksi kondensasi dimana tiga molekul asam amino glisin menghasilkan rantai tripeptida, dengan eliminasi dua molekul air (H₂O) (Encyclopedia Britannica.Inc)

Peptida terbentuk ketika asam amino digabungkan melalui berbagai ikatan peptida. Residu asam amino adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan setiap asam amino yang telah dimasukkan ke dalam peptida. Polimer asam amino yang lebih besar disebut polipeptida dan polimer yang lebih kecil disebut oligopeptida. Molekul protein terdiri dari banyak residu asam amino dan saling bergabung dengan residu berikutnya melalui ikatan peptida (Reddy, 2024b).

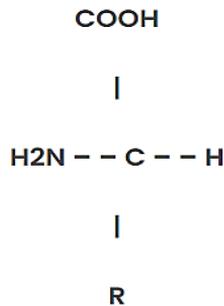


© Encyclopaedia Britannica, Inc.

Gambar 6.3 Ikatan Peptida: Pengikatan Atom-Atom Dalam Ikatan Peptide (Encyclopedia Britannica)

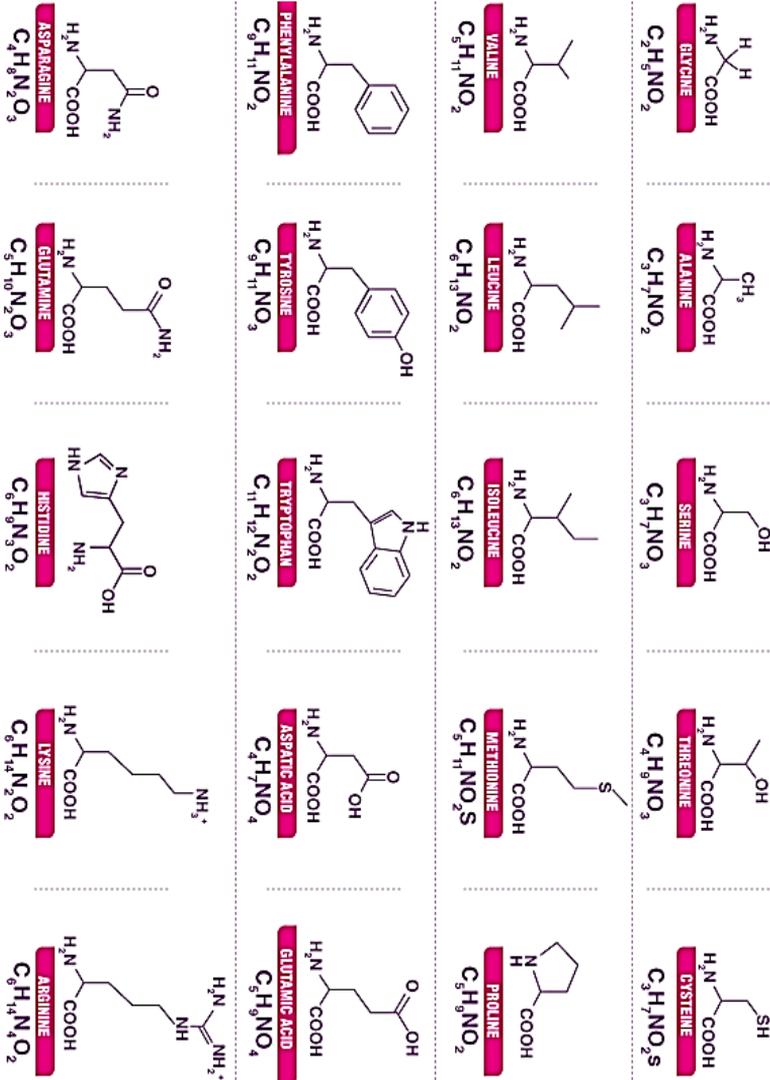
1. Struktur Asam Amino

Terdapat 20 asam amino alami yang memiliki karakteristik struktural yang sama. Semuanya memiliki gugus amino ($-NH^3+$), gugus karboksilat ($-COO^-$), dan ikatan hidrogen pada atom karbon yang sama. Setiap asam amino memiliki empat gugus berbeda yang terikat pada karbon α . Empat kelompok ini adalah kelompok amino, $COOH$, atom hidrogen, rantai samping (kanan).



Gambar 6.4 Struktur Umum Asam Amino Adalah $H_2NCH(R)COOH$.

Asam amino merupakan zat padat kristal putih yang memiliki beberapa sifat umum, ini termasuk titik leleh dan titik didih yang sangat tinggi, sebagian besar larut dalam air, tetapi tidak larut dalam pelarut organik. Selain itu, asam amino yang manis, tidak berasa, dan pahit.

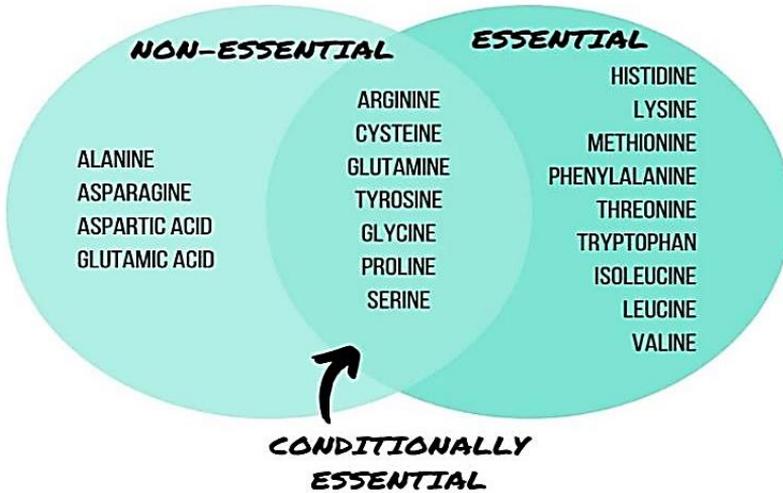


Gambar 6.5 Struktur 20 Asam Amino Beserta Rumus Kimianya.

2. Klasifikasi Asam Amino Berdasarkan Kepentingan Biologi

Asam amino dapat dibedakan menjadi tiga golongan: asam amino esensial, asam amino non-esensial, dan asam amino kondisional.

- a. Asam amino esensial adalah jenis asam amino yang tidak dapat disintesis atau diproduksi oleh tubuh dan hanya ditemukan dalam suplemen makanan. Leusin, isoleusin, histidin, lisin, metionin, treonin, fenilalanin, triptofan, dan valin merupakan sembilan asam amino esensial. Sumber makanan yang mengandung asam amino esensial antara lain yaitu quinoa, telur, daging, ayam, dan protein nabati (Lopez & Mohiuddin, 2024).
- b. Asam amino non esensial adalah asam amino yang diproduksi atau disintesis oleh tubuh, selalu tersedia, dan tidak didapatkan dari suplemen makanan. Terdapat total 20 asam amino yang umum dan dapat ditemukan di semua bentuk kehidupan. Asam amino non-esensial seperti arginin, alanin, asam aspartat, asparagin, sistein, glutamin, asam glutamat, prolin, glisin, serin, dan tirosin adalah beberapa diantaranya. Tanpa asam amino ini, tubuh tidak dapat membuat protein yang dibutuhkan untuk perbaikan, pertumbuhan, dan pemeliharaan sel.
- c. Beberapa asam amino yang biasanya tidak penting disebut asam amino kondisional. Asam amino ini sangat penting saat sakit maupun stres. Biasanya diperlukan dalam kondisi seperti prematuritas pada bayi. Sistein, arginin, tirosin, glutamin, ornitin, glisin, serin, dan prolin adalah enam asam amino kondisional (Kubala, 2023).



Gambar 6.6 Klasifikasi Asam Amino.

3. Fungsi Asam Amino

Asam amino berperan penting dalam menjalankan beberapa fungsi biologis dan kimia di berbagai bagian tubuh, termasuk membangun dan memperbaiki jaringan, pembentukan dan fungsi enzim, pencernaan makanan, transportasi molekul, dan lainnya. Tubuh kita hanya dapat mensintesis asam amino tertentu, sehingga setiap harinya makanan kaya protein harus dikonsumsi agar asam amino esensial dapat tersedia. Tubuh melakukan berbagai fungsi penting dengan memanfaatkan asam amino esensial

- Fenilalanin meningkatkan daya ingat membantu menjaga kesehatan sistem saraf.
- Valin memainkan peran penting dalam meningkatkan pertumbuhan otot.
- Threonine membantu dalam meningkatkan fungsi sistem imun.
- Triptofan bertanggung jawab atas pembuatan vitamin B3 dan hormon serotonin yang keduanya sangat penting untuk menjaga nafsu makan, mengatur pola tidur, dan meningkatkan mood.

- e. Isoleusin memainkan peran penting dalam pembentukan hemoglobin dan mengangkut oksigen dari paru-paru ke berbagai bagian, serta merangsang pankreas untuk mensintesis insulin.
- f. Metionin digunakan untuk mengobati batu ginjal, menjaga kesehatan kulit, serta mengontrol serangan bakteri patogen.
- g. Leusin membantu sintesis protein dan hormon pertumbuhan. Selain membantu pengembangan dan fiksasi tulang
- h. Lisin juga diperlukan untuk membantu pembentukan antibodi, hormon, dan enzim.
- i. Histidin terlibat dalam pembentukan sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit), serta berbagai proses enzimatisnya (Kubala, 2023).

Asam amino non esensial juga memainkan peran penting dalam tubuh.

- a. Alanin mengeluarkan racun dari tubuh dan berperan dalam produksi glukosa dan asam amino lainnya.
- b. Sistein memainkan peran penting dalam pembentukan kolagen yang mempengaruhi tekstur dan elastisitas kulit.
- c. Glutamin meningkatkan fungsi otak yang sehat dan diperlukan untuk sintesis asam nukleat (DNA dan RNA).
- d. Glisin diperlukan dalam menjaga pertumbuhan dan fungsi sel, serta memainkan peran penting dalam penyembuhan luka.
- e. Asam glutamat bertindak sebagai neurotransmitter dan terutama terlibat dalam perkembangan dan fungsi otak manusia.
- f. Arginin dapat meningkatkan sintesis protein dan hormon, detoksifikasi ginjal, penyembuhan luka, dan menjaga sistem imun.
- g. Tirosin berperan penting dalam produksi hormon tiroid - T3 dan T4, serta dalam sintesis kelas neurotransmitter dan melanin, yaitu pigmen alami yang ditemukan di mata,

- rambut, dan kulit. Serine meningkatkan pertumbuhan otot dan sintesis protein sistem imun.
- h. Asparagine terlibat dalam transportasi nitrogen ke dalam sel-sel tubuh, menghasilkan purin dan pirimidin untuk sintesis DNA, membangun sistem saraf, dan meningkatkan stamina tubuh.
 - i. Asam aspartat memainkan peran utama dalam metabolisme dan mendorong sintesis asam amino lainnya.
 - j. Prolin terlibat dalam perbaikan jaringan dalam pembentukan kolagen, mencegah penebalan dan pengerasan dinding arteri (arteriosklerosis) dan regenerasi kulit baru (Choi & Coloff, 2019).

Makanan kaya asam amino termasuk produk nabati mengandung banyak asam amino termasuk brokoli, kacang-kacangan, bit, labu, kubis, kacang-kacangan, buah-buahan kering, biji chia, oat, kacang polong, wortel, mentimun, sayuran berdaun hijau, bawang bombay, kedelai, gandum utuh, kacang tanah, kacang-kacangan, lentil, dan sebagainya. Buah-buahan yang kaya asam amino adalah apel, pisang, beri, buah ara, anggur, melon, jeruk, pepaya, nanas, dan delima. Produk hewani lainnya termasuk produk susu, telur, makanan laut, ayam, daging, babi, dan lainnya.

C. Asam Amino dan Asal Usul Kehidupan di Bumi

Salah satu misteri terbesar dalam ilmu pengetahuan adalah bagaimana kehidupan di Bumi dimulai. Penelitian tentang asam amino, blok bangunan protein yang sangat penting bagi kehidupan, menjadi salah satu kunci untuk memahami fenomena ini. Penelitian terbaru menunjukkan bagaimana asam amino mungkin terbentuk pada awal kehidupan di Bumi dan peran meteorit dalam menyuplai komponen organik penting ini.

1. Pembentukan Asam Amino di Bumi

Kondisi lingkungan Bumi berubah secara signifikan sekitar empat miliar tahun yang lalu, memungkinkan terbentuknya sistem dengan sifat-sifat biologi. Banyak

ilmuwan berpendapat bahwa asam amino memainkan peran penting dalam proses ini melalui berbagai reaksi kimia yang kompleks. Studi yang dilakukan oleh tim Luke Leman menunjukkan bahwa asam amino yang membentuk protein pada makhluk hidup telah dipilih secara alami karena kecenderungan mereka untuk bereaksi dan membentuk rantai peptida yang lebih baik daripada asam amino lainnya (Scripps Research, 2019).

2. Peran Meteorit dalam Menyediakan Asam Amino

Beberapa teori menyatakan bahwa komet dan meteorit mungkin membuat sebagian besar senyawa organik, termasuk asam amino, pada awal kehidupan di Bumi. Meteorit Murchison, yang jatuh di Australia pada tahun 1969, mengandung puluhan jenis asam amino, beberapa di antaranya tidak ditemukan di Bumi. Lebih menarik lagi, meteorit ini menunjukkan kelebihan asam amino tipe L, yang digunakan oleh semua organisme hidup di Bumi. Ini menunjukkan bahwa sumber kelebihan asam amino L mungkin telah ada sebelum kehidupan pertama kali muncul di Bumi, yang membantu menjelaskan mengapa kehidupan di Bumi menggunakan bentuk asam amino ini (Reddy, 2024a).

3. Alterasi Akuatik pada Planetesimal

Awan molekuler yang runtuh menghasilkan matahari pertama dan cakram gas serta debu yang mengorbit, bertabrakan, dan menghasilkan material berbatu yang akhirnya menjadi planetesimal. Planetesimal yang terbentuk jauh dari matahari juga mengandung banyak es, termasuk air dan senyawa volatil lainnya. Es ini mencair selama periode alterasi akuatik, yang memungkinkan reaksi kimia seperti sintesis Strecker dan reaksi mirip Formose terjadi. Reaksi-reaksi ini menghasilkan asam amino dan bahan organik lainnya (Cowing, 2023).

4. Studi Kasus: Asteroid Ryugu

Analisis terbaru terhadap fragmen asteroid Ryugu memberikan wawasan lebih lanjut tentang bagaimana kondisi alterasi akuatik pada planetesimal mempengaruhi kelimpahan asam amino. Fragmen Ryugu menunjukkan perbedaan besar dalam kelimpahan asam amino tertentu. Tingkat alterasi akuatik dan komposisi mineral dalam partikel tersebut berkontribusi dalam hal ini. Misalnya, partikel A0022 mengandung kelimpahan tinggi dari dimetil glisin (DMG) yang jarang ditemukan dalam bahan ekstraterestrial, sementara partikel C0008 tidak mengandung DMG di atas batas deteksi. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi tertentu selama alterasi akuatik dapat mengubah komposisi akhir asam amino. Ketersediaan asam amino pada awal kehidupan di Bumi dipengaruhi oleh kondisi ini (Cowing, 2023).

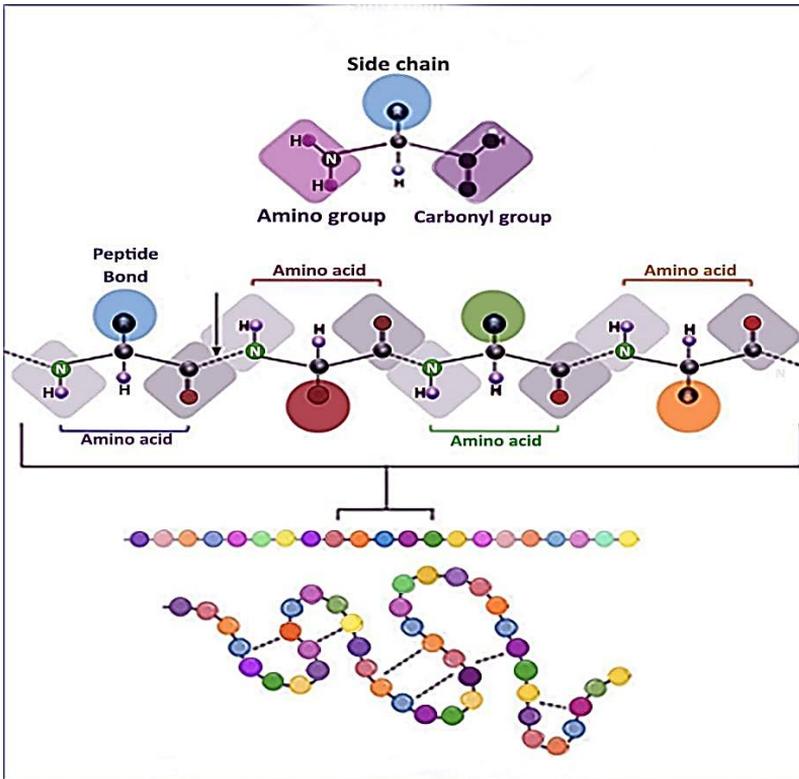
Penelitian terbaru memperkuat pemahaman tentang asal usul awal kehidupan di Bumi dengan menyoroti peran penting asam amino dan bagaimana mereka mungkin terbentuk serta terdistribusi melalui mekanisme ekstraterestrial dan proses kimia pada awal kehidupan di Bumi. Meteorit dan proses alterasi akuatik pada planetesimal memberikan bukti bahwa kondisi awal di tata surya kita menyediakan bahan organik esensial yang diperlukan untuk munculnya kehidupan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengeksplorasi interaksi antara asam amino dan molekul penting lainnya, seperti RNA, untuk memahami langkah-langkah selanjutnya dalam evolusi kehidupan.

D. Asam Amino sebagai Unit Penyusun Protein

Protein terdiri dari sejumlah asam amino yang terikat satu sama lain melalui ikatan peptida. Struktur primer setiap protein ditentukan oleh urutan linear asam amino. Masing-masing dari 20 jenis asam amino memiliki rantai samping yang berbeda. Sifat kimia rantai samping ini bervariasi, termasuk hidrofobik,

hidrofilik, bermuatan positif, bermuatan negatif, dan polar tetapi tidak bermuatan (Nature, 2014).

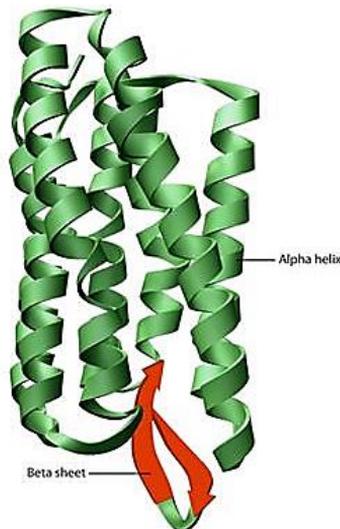
Ikatan non kovalen antara rantai samping asam amino menentukan konformasi tiga dimensi dari protein. Asam-asam amino dengan rantai samping bermuatan dapat membentuk ikatan ionik, sedangkan yang polar dapat membentuk ikatan hidrogen. Rantai samping yang hidrofobik berinteraksi melalui ikatan van der Waals. Hanya sistein yang mampu membentuk ikatan kovalen.



Gambar 6.7 Ciri khas asam amino adalah rantai samping (semua lingkaran berwarna). Ketika dihubungkan bersama melalui serangkaian ikatan peptida, asam amino membentuk polipeptida (protein). Polipeptida kemudian terlipat menjadi konformasi tertentu tergantung pada interaksi (garis putus-putus) antara rantai samping asam aminonya.

Ikatan non kovalen antara rantai samping asam amino menentukan konformasi tiga dimensi dari protein. Asam-asam amino dengan rantai samping bermuatan dapat membentuk ikatan ionik, sedangkan yang polar dapat membentuk ikatan hidrogen. Rantai samping yang hidrofobik berinteraksi melalui ikatan van der Waals. Hanya sistein yang mampu membentuk ikatan kovalen.

Urutan dan interaksi rantai samping asam amino menentukan pelipatan protein. Pola folding konsisten yang diatur oleh ikatan hidrogen antara gugus amino dan karboksil dalam rantai polipeptida membantu pembentukan struktur sekunder protein seperti heliks alfa dan lembaran beta. Rantai polipeptida dan lingkungannya melakukan banyak hal untuk menghasilkan semua bentuk protein, termasuk struktur tersier dan kuarterner (Nature, 2014). Singkatnya, asam amino merupakan unit dasar yang membentuk protein, yang melakukan berbagai fungsi biologis tergantung pada urutan dan sifat kimia dari masing-masing asam amino dalam rantai polipeptida.



Gambar 6.8 Struktur Keseluruhan Protein Mencakup Heliks Alfa (Hijau) Dan Lembaran Beta (Merah).

E. Teknik Analisis Asam Amino

Analisis asam amino protein adalah metode untuk menentukan jenis dan jumlah asam amino dalam sampel protein, yang memberikan informasi tentang komposisi, modifikasi pasca-translasi, dan kualitas protein secara keseluruhan. Dengan mendapatkan pemahaman tentang kandungan asam amino, para peneliti dapat menilai kemurnian protein, mengidentifikasi perubahan dalam komposisi asam amino, dan mengevaluasi stabilitas protein.

1. Tahapan Analisis Asam Amino

Proses analisis asam amino protein dimulai dari persiapan sampel hingga analisis data. Tahapan analisis asam amino protein meliputi:

a. Persiapan sampel

Persiapan sampel melibatkan ekstraksi protein dari sampel biologis target, diikuti dengan denaturasi protein untuk memecah struktur tersier dan mengekspos asam amino. Berbagai metode seperti sonikasi, perlakuan panas, atau denaturasi kimia dapat digunakan.

b. Hidrolisis

Setelah protein terdenaturasi, perlu dihidrolisis untuk melepaskan asam amino individu. Ini dapat dicapai dengan hidrolisis asam, biasanya menggunakan asam klorida (HCl) atau asam trifluoroasetat (TFA). Proses hidrolisis memecah ikatan peptida, mengubah protein menjadi asam amino penyusunnya.

c. Derivatisasi

Asam amino umumnya tidak mudah dideteksi secara langsung oleh LC-MS karena efisiensi ionisasinya yang rendah. Oleh karena itu, derivatisasi sering dilakukan untuk meningkatkan detektabilitas dan sifat kromatografis mereka. Metode derivatisasi umum meliputi penggunaan reagen seperti klorida dansil, fenil isotiosianat (PITC), atau 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC).

d. Pemisahan LC

Setelah derivatisasi, asam amino dipisahkan menggunakan kromatografi cair. Kolom fase terbalik umumnya digunakan untuk analisis asam amino. Kolom ini memisahkan asam amino berdasarkan hidrofobisitas mereka, memungkinkan deteksi dan pengukuran individu. Fase gerak, biasanya gradien air dan pelarut organik, memfasilitasi elusi asam amino dari kolom.

e. Deteksi Spektrometri Massa

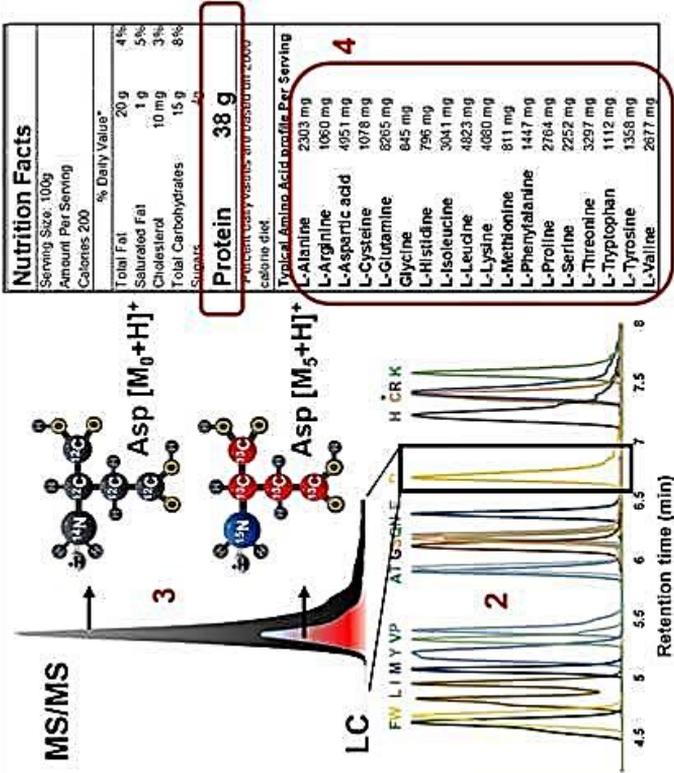
Setelah dipisahkan oleh LC, asam amino masuk ke spektrometer massa untuk deteksi dan pengukuran. Spektrometer massa mengionisasi asam amino yang telah terderivatisasi, menghasilkan ion bermuatan yang kemudian dianalisis berdasarkan rasio massa-ke-charge (m/z) mereka. Teknik ionisasi yang paling umum digunakan untuk analisis asam amino adalah ionisasi semprot listrik (ESI) dan ionisasi kimia tekanan atmosfer (APCI).

f. Analisis Data

Langkah terakhir melibatkan analisis dan interpretasi data. Spektra massa yang diperoleh diproses menggunakan perangkat lunak khusus, yang mengidentifikasi asam amino berdasarkan waktu retensi, rasio massa-ke-charge, dan kelimpahan. Perbandingan dapat dilakukan terhadap campuran asam amino standar untuk identifikasi dan pengukuran yang akurat (Kambhampati et al., 2019; Reddy, 2024c). Secara keseluruhan gambaran umum analisa asam amino dari suatu bahan protein dapat dilihat pada gambar berikut (Gambar 6.9)

Summary of protein quantitation

1. Hydrolysis of tissue with internal standard mix
2. LC-MS/MS using HILIC + triple quadrupole MS
3. Quantification of amino acids using respective internal standards
4. Protein quantitation as a sum of all the individual amino acids.



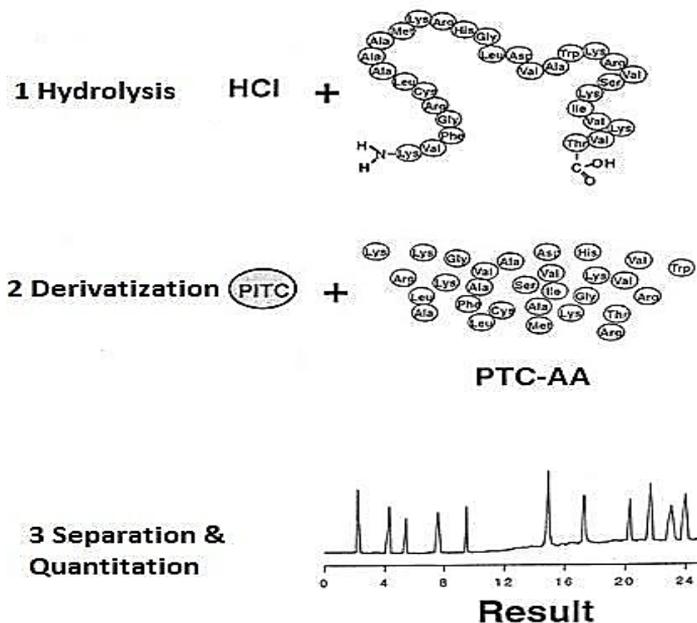
Gambar 6.9 Skema Dari Kuantifikasi Protein Menggunakan Analisis Asam Amino Melalui LC-MS/MS Teknik Memisahkan Asam Amino

2. Tahap Memisahkan Asam Amino

Dalam analisis asam amino protein, beberapa pendekatan umum digunakan untuk menentukan jenis dan jumlah asam amino dalam sampel protein. Penentuan komposisi asam amino polipeptida merupakan proses analisis yang relatif rumit yang terdiri dari dua langkah:

- Hidrolisis substrat secara menyeluruh untuk menghasilkan residu,
- Analisis kromatografi dan kuantifikasi asam amino yang dibebaskan.

Hidrolisis merupakan langkah penting dan kinerja yang tepat merupakan prasyarat untuk analisis yang sukses. Kesalahan dalam kinerja hidrolisis terutama bertanggung jawab atas variasi dalam komposisi yang ditentukan.



Gambar 6.10 Tahapan Analisis Asam Amino Protein: Didahului Dengan Persiapan Sampel, Hidrolisis, Derivatisasi Dengan Phenilisothiocyanate (PITC) Menjadi phenilthiocyanate - Amino acid (PTC-AA) , Pemisahan, Dan Kuantifikasi.

Tergantung pada jenis sampel dan kompleksitasnya, modifikasi pada metode hidrolisis yang dijelaskan mungkin diperlukan. Salah satu kemajuan teknologi terpenting dalam sepuluh tahun terakhir adalah

- a. Penggunaan energi radiasi gelombang mikro untuk mempersingkat waktu hidrolisis.
- b. Peningkatan sensitivitas deteksi residu, kuantifikasi residu sensitif, dan pemisahan bentuk enansiomer asam amino.
- c. Penerapan analisis asam amino dalam identifikasi protein skala besar melalui pencarian basis data.
- d. Secara bertahap menggantikan pemisahan residu penukar ion yang asli dengan reverse-phase HPLC (Khabampati et al., 2019)

Selama bertahun-tahun, banyak upaya telah dilakukan untuk meningkatkan perolehan kembali asam amino yang peka terhadap hidrolisis. Mulai dari metoda dasar hingga yang sudah dimodifikasi tabel 6.1 dibawah ini:

Tabel 6.1 Metoda Hidrolisa Protein-Peptida Menjadi Asam Amino

Metoda	Reagent dan Kondisi	Referensi
1. <i>Metoda Standard</i>	6N HCl, 110 °C, 24-96h (<i>vakum</i>)	
2. <i>Peningkatan Trp, Cys, Thr, Ser, Tyr yang lebih baik</i>	6N HCl +/- Phenol, 110°C, 20-24h (<i>vakum</i>), 150°C, 1-4 h (<i>vakum</i>)	Moore & Stein (1963)
3. <i>Peningkatan Met, Cys, Tyr</i>	6N HCL-Na ₂ SO ₃ , 110°C, 24h (<i>vakum</i>)	Swadesh et al. (1984)
4. <i>Peningkatan Trp, Cys, Thr, Ser, Tyr</i>	HCl/Propionic acid (1:1); 150 - 160°C 15 min, 130°C, 2h (<i>vakum</i>)	Westall & Hesser (1974)

5. <i>Peningkatan Trp, Cys, Thr, Ser, Tyr lebih baik</i>	HCl/TFA (2:1), 166°C 25 menit (<i>vakum</i>)	Tsugita & Scheffler (1982)
6. <i>Peningkatan Trp, Cys, Thr, Ser, Tyr lebih baik</i>	HCl/TFA (2:1), 5% (v/v) thioglycolic acid, 166°C, 25 menit (<i>vakum</i>)	Yokote, et al., (1986)
7. <i>Peningkatan Trp, lebih baik</i>	6 N HCl, 0.5-6% (v/v) thioglycolic acid, 110°C, 24-64h <i>in vacuo</i>	Matsubara & Sasaki (1969)
8. <i>Peningkatan Trp, lebih baik</i>	3N p-Toluenesulphonic acid, 110°C 24-72 h (<i>vakum</i>)	Lui & Chang (1971)
9. <i>improved Trp, lebih baik</i>	3N Mercaptoethanesulfonic acid, 110°C 24-72 h (<i>vakum</i>)	Penke et al., (1980)
10. <i>Asam Phosphoamino O-phospho Ser/Thr O-phospho-Tyr O-phospho-Ser, Thr & Tyr</i>	1-3 N NaOH, 37-50°C 3-18 h; or 6N HCl 2 h and 4 h, respectively at 110°C, 1 h, 110°C, 6N HCl or 5N KOH 155°C for 30 menit 6 N HCl, 110°C, 1-4 h	Kemp (1980) Martensen (1982) Capony & Demaille (1983)

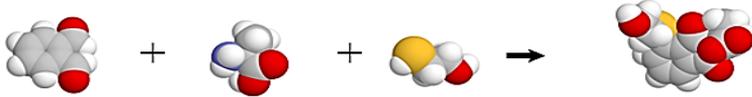
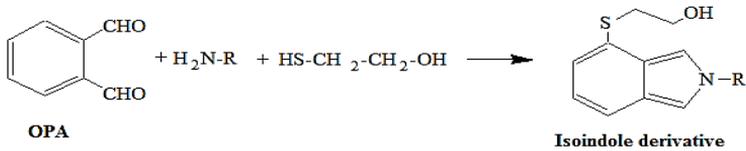
Metode derivatisasi untuk memeriksa asam amino, peptida, dan protein dilakukan setelah tahapan hidrolisis.

Selama bertahun-tahun, banyak bahan kimia derivatisasi pra-kolom telah diteliti. Kelemahan utama masing-masing termasuk gangguan pada puncak reagen dalam kromatogram analisis atau ketidakcocokan dengan sampel berair atau garam terlarut. Tabel berikut menunjukkan daftar metode derivatisasi yang umum digunakan.

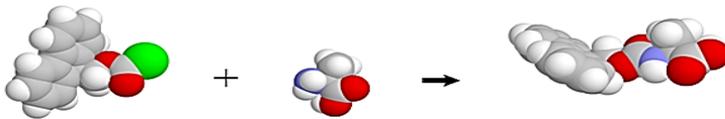
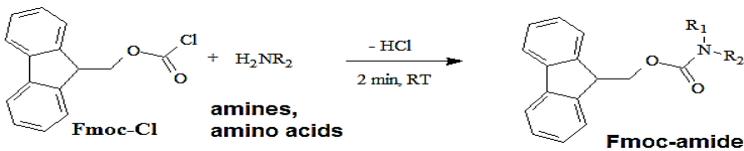
Tabel 6.2 Kimia Derivatisasi untuk Analisis Asam Amino

Metoda	Senyawa	Mode Deteksi
1. PITC	Phenylisothiocyanate	Derivatisasi Precolumn, UV- deteksi
2. OPA	Orthophthaldehyde	Derivatisasi Precolumn, Deteksi fluorescent dan chemiluminescent
3. FMOC-Cl	fluorenyl methyl chloroformate	Derivatisasi Precolumn, fluorescent and chemiluminescent detection
4. OPA/FMO C-Cl combined	OPA/Fmoc-Cl	Derivatisas Precolumn, Deteksi fluorescent and chemiluminescent
5. DABS	4-dimethylaminoazo- benzene-4-sulfonyl (dabsyl) chloride	DerivatisasPre- column, Deteksi visible light
6. AQC, AccQ•Tag	6-aminoquinolyl-N- hydroxy-succinimidyl carbamate	Derivatisas Precolumn, Deteksi fluorescent
7. Ninhydrin	Ruhemans purple	DerivatisasPost- column, Deteksi UV-visible (440 and 570 nm).

<https://www.biosyn.com/tew/amino-acid-analysis-overview>



Gambar 6.11 Derivatisasi Asam Amino Bebas Menggunakan Ortho-Phthalaldehyde (OPA)



Gambar 6.12 Derivatisasi Asam Amino Bebas Menggunakan Fluorenyl Methyl Chloroformate (Fmoc-Cl)

Tahapan selanjutnya adalah pemisahan dan kuantifikasi. Teknik umum digunakan yaitu:

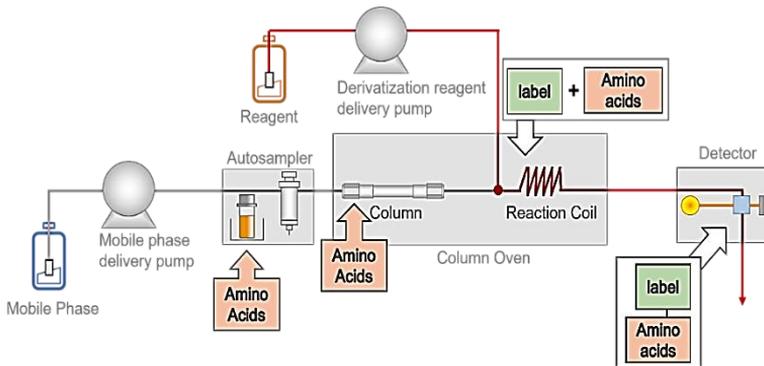
3. Kromatografi

Kromatografi merupakan metode yang sudah umum digunakan dalam analisis asam amino dalam suatu sampel. Dan untuk mengetahui apa komposisi asam amino tersebut, biasanya alat kromatografi yang sudah dikombinasi dengan spektrofotometri massa. Berikut beberapa metoda analisa asam amino dengan metoda kromatografi

- a. *Ion exchange chromatography* (IEC): Metode ini memisahkan asam amino berdasarkan karakteristik muatan mereka menggunakan resin pertukaran ion. Asam amino dikeluarkan dalam urutan tertentu dan konsentrasinya dapat ditentukan dengan berbagai metode deteksi.

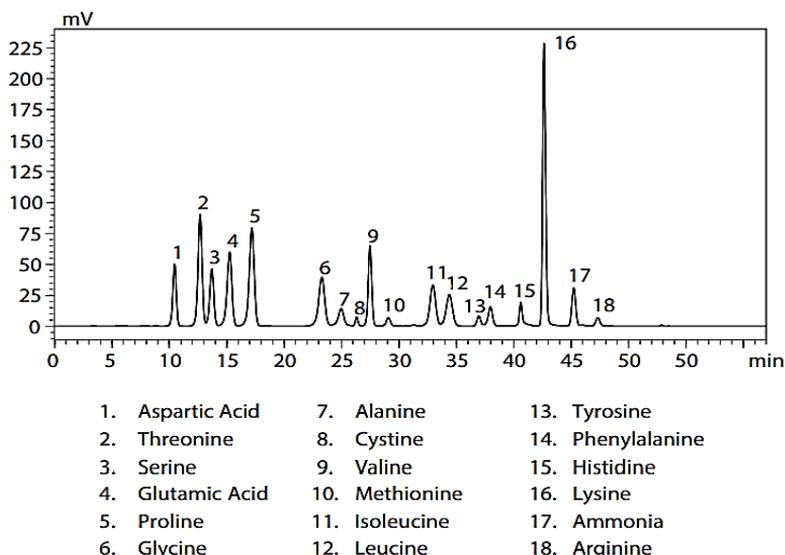
- b. *High performance liquid chromatography* (HPLC): HPLC dapat mendeteksi dan mengidentifikasi jumlah asam amino. Teknik ini sering dikombinasikan dengan deteksi UV atau fluoresensi untuk meningkatkan akurasi analisis.
- c. *Gas chromatography* (GC): GC digunakan untuk menganalisis asam amino yang volatil dan diderivatisasi. Setelah dikonversi menjadi derivat volatil, asam amino dipisahkan dan dideteksi menggunakan kromatografi gas.

Teknik pemisahan dengan kromatografi dilakukan dengan berbagai metoda kromatografi yang dipilih berdasarkan jenis sampel. Dan dilanjutkan untuk kuantifikasi dengan spektroskopi. Dan banyak kondisi, terdapat penggabungan metode derivatisasi dan pemisahan dan ada juga menggunakan metoda ini dipadukan antara pemisahan dan kuantifikasi. Modifikasi metoda dan peralatan dilakukan untuk memudahkan kerja analisis asam amino. Seperti pada contoh gambar 6.13 dibawah ini



Gambar 6.13 Diagram Alir Sistem Analisis Asam Amino (AAA) Menggunakan Derivatisasi Pascakolom

Tahapan setelah derivatisasi dilanjutkan dengan analisis kromatografi. Berikut hasil kromatogram dari analisis asam amino dapat dilihat pada Gambar 6.14 berikut (www.shimadzu.cz)



Gambar 6.14 Kromatogram identifikasi dari analisis asam amino

4. *Capillary electrophoresis (CE)*: CE memisahkan asam amino berdasarkan mobilitas elektroforesis mereka dalam sebuah kapiler yang diisi dengan larutan buffer.

F. Aplikasi Analisis Asam Amino dalam Berbagai Bidang

Analisis asam amino berperan penting dalam berbagai bidang, dari nutrisi dan kesehatan hingga industri farmasi dan bioteknologi. Memahami profil asam amino dengan baik dapat membantu dalam pemenuhan kebutuhan gizi, diagnosis penyakit, dan pengembangan produk bioteknologi.

Analisis asam amino dalam makanan sangat penting untuk mengevaluasi kualitas protein yang dikonsumsi dan membantu dalam perencanaan diet yang tepat sehingga tidak terjadi defisiensi asam amino. Analisis asam amino memanfaatkan profil asam amino untuk menentukan nilai biologis protein yang terkandung dalam makanan. Selain itu, dapat digunakan untuk merekomendasikan formulasi diet untuk penderita penyakit sehingga dapat memastikan ketersediaan asam amino esensial yang cukup (Rose, 2019). Kemudian juga dapat digunakan dalam pengawasan mutu

makanan dengan mengidentifikasi kontaminan atau perubahan komposisi protein dalam makanan yang menyebabkan suplemen makanan menjadi tidak efektif (Smriga, 2020).

Analisis asam amino dapat digunakan dalam dunia medis untuk mendiagnosis dan mengobati gangguan metabolisme asam amino yang menyebabkan sejumlah kondisi patologis, termasuk penyakit metabolik, penyakit kardiovaskular, penyakit imun, dan kanker (Ling et al., 2023). Aplikasi medis dan klinis termasuk deteksi dan pemantauan berbagai penyakit melalui analisis perubahan profil asam amino, evaluasi status gizi dengan menilai kecukupan asam amino pasien dengan malnutrisi atau kekurangan gizi, pemantauan gizi, serta pemantauan terapi dengan menggunakan perubahan dalam profil asam amino sebagai indikator respons terhadap terapi atau intervensi medis (Bel'skaya et al., 2023; Rose, 2019).

Analisis asam amino digunakan dalam industri farmasi dan bioteknologi untuk mengkarakterisasi protein dan mengembangkan produk bioteknologi (Ivanov et al., 2013). Beberapa fungsi analisis asam amino dalam bioteknologi yaitu, dalam produksi protein rekombinan untuk memastikan kualitas dan keseragaman produk protein rekombinan dengan analisis asam amino, melakukan validasi proses untuk memantau dan mengontrol proses produksi untuk memastikan integritas dan konsistensi produk bioteknologi, serta dalam penelitian dan pengembangan obat untuk menganalisis interaksi protein-obat melalui profil asam amino untuk pengembangan obat baru (Kumar et al., 2020).

G. Kesimpulan

Asam amino memainkan peran kunci dalam berbagai aspek kehidupan, mulai dari penyusun dasar protein hingga perannya dalam metabolisme sel dan fungsi biologis yang kompleks. Protein, sebagai polimer dari asam amino, memiliki struktur primer yang menentukan fungsi biologisnya. Asam amino esensial, non-esensial, dan kondisional masing-masing memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan dan fungsi

tubuh manusia. Analisis asam amino melalui teknik seperti kromatografi cair, kromatografi gas, dan elektroforesis kapiler memberikan wawasan mendalam tentang komposisi asam amino dalam protein, vital dalam bidang biokimia, nutrisi, dan diagnosa medis. Selain itu, pemahaman tentang asal-usul asam amino dari awal kehidupan di Bumi, seperti melalui pengaruh meteorit dan proses alterasi akwatik, memberikan gambaran evolusi kehidupan dan sumber-sumber organik dalam sistem tata surya. Analisis asam amino memiliki peran yang luas dan krusial dalam berbagai aplikasi, mulai dari nutrisi dan kesehatan hingga industri dan lingkungan. Pemahaman mendalam tentang metode dan aplikasi ini penting untuk mengoptimalkan penggunaan asam amino dalam berbagai konteks ilmiah dan industri. Dengan demikian, studi mengenai asam amino tidak hanya memberikan pemahaman mendalam tentang struktur protein dan fungsi biologisnya tetapi juga relevan dalam konteks evolusi kehidupan dan aplikasi teknologi modern.

DAFTAR PUSTAKA

- Bel'skaya, L. V., Gundyrev, I. A., & Solomatin, D. V. (2023). The Role of Amino Acids in the Diagnosis, Risk Assessment, and Treatment of Breast Cancer: A Review. *Current Issues in Molecular Biology* 2023, Vol. 45, Pages 7513-7537, 45(9), 7513–7537. <https://doi.org/10.3390/CIMB45090474>
- Choi, B. H., & Coloff, J. L. (2019). The Diverse Functions of Non-Essential Amino Acids in Cancer. *Cancers*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/CANCERS11050675>
- Cowing, K. (2023, April 5). How Were Amino Acids Formed Before The Origin Of Life On Earth? - Astrobiology. *Astrobiology*. <https://astrobiology.com/2023/04/how-were-amino-acids-formed-before-the-origin-of-life-on-earth.html>
- Ivanov, K., Stoimenova, A., Obreshkova, D., & Saso, L. (2013). Biotechnology in the Production of Pharmaceutical Industry Ingredients. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 27(2), 3620–3626. <https://doi.org/10.5504/BBEQ.2012.0134>
- Kambhampati, S., Li, J., Evans, B. S., & Allen, D. K. (2019). Accurate and efficient amino acid analysis for protein quantification using hydrophilic interaction chromatography coupled tandem mass spectrometry. *Plant Methods*, 15(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S13007-019-0430-Z/FIGURES/5>
- Kubala, J. (2023, August 7). Essential Amino Acids: Definition, Benefits, and Food Sources. *Healthline*. <https://www.healthline.com/nutrition/essential-amino-acids#how-many-are-there>
- Kumar, J., Chauhan, A. S., Shah, R. L., Gupta, J. A., & Rathore, A. S. (2020). Amino acid supplementation for enhancing recombinant protein production in *E. coli*. *Biotechnology and Bioengineering*, 117(8), 2420–2433. <https://doi.org/10.1002/BIT.27371>

- Ling, Z. N., Jiang, Y. F., Ru, J. N., Lu, J. H., Ding, B., & Wu, J. (2023). Amino acid metabolism in health and disease. *Signal Transduction and Targeted Therapy* 2023 8:1, 8(1), 1–32. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01569-3>
- Lopez, M. J., & Mohiuddin, S. S. (2024). *Biochemistry, Essential Amino Acids*. StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557845/>
- Nature. (2014). Protein Structure | Learn Science at Scitable. Nature Education. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/protein-structure-14122136/>
- Reddy, M. K. (2024a, May 26). Amino acid - Origin, Life, Earth. Encyclopaedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/amino-acid/Amino-acids-and-the-origin-of-life-on-Earth>
- Reddy, M. K. (2024b, May 26). Amino acid - Origin, Life, Earth | Britannica. Encyclopaedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/amino-acid/Amino-acids-and-the-origin-of-life-on-Earth>
- Reddy, Michael. K. (2024c, May 26). Amino acid - Nonstandard, Synthesis, Biochemistry | Britannica. Encyclopaedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/amino-acid/Nonstandard-amino-acids#ref277273>
- Rose, A. J. (2019). Amino Acid Nutrition and Metabolism in Health and Disease. *Nutrients*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/NU11112623>
- Scripps Research. (2019, July 31). A Chemical Clue to How Life Started on Earth. Scripps Research. <https://www.scripps.edu/news-and-events/press-room/2019/20190731-leman-aminoacids.html>
- Smriga, M. (2020). International Regulations on Amino Acid Use in Foods and Supplements and Recommendations to Control Their Safety Based on Purity and Quality. *The Journal of*

Nutrition, 150,
<https://doi.org/10.1093/JN/NXAA093>.

2602S-2605S.

BAB 7 | ANALISIS KADAR VITAMIN LARUT AIR

Apt. Tri Minarsih, S.Si, M.Sc

A. Pendahuluan

Vitamin merupakan golongan zat organik amina yang mempunyai berat molekul kecil dan memiliki manfaat yang sangat penting pada proses metabolisme setiap makhluk hidup dan tidak bisa diproduksi oleh tubuh

Berdasarkan kelarutannya, vitamin digolongkan dalam 2 kelompok yaitu: Vitamin yang larut di dalam air, serta vitamin yang larut didalam lemak (Teresia, 2021)

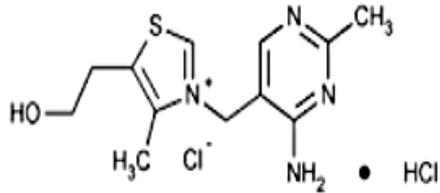
Vitamin yang larut di dalam air antara lain: vitamin C, Vitamin B1 (Tiamin HCl), Vitamin B2 (Riboflavin), Niasin (Asam nikotinat dan nikotinamid), Vitamin B6 (Piridoksin HCl), Vitamin B9 (asam folat), Vitamin B12 (Sianokobalamin) dan asam pantotenat.

B. Jenis Vitamin Larut Air

1. Vitamin B1 (Tiamin HCl)

Tiamin HCl (Vitamin B1) adalah senyawa organik yang rumit mengandung satu inti tiazol dan pirimidin. Di dalam tubuh, akan terurai membentuk tiamin pirofosfat (tiamin-PP), melalui mekanisme berikut ini :
 $\text{Tiamin} + \text{ATP} \rightarrow \text{Tiamin-PP} + \text{AMP}$. (Ross Catharine et al, 2007)

Makanan yang berisi vitamin B1 antara lain: gandum, daging, susu, kacang hijau, ragi, beras, telur, dan lain-lainnya. Manfaat vitamin B1 bagi kesehatan adalah membantu proses peruraian karbohidrat menjadi energi.

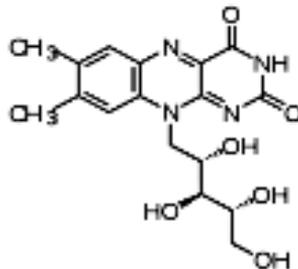


Gambar 7.1 Rumus Struktur Tiamin HCl
(Kemenkes RI, 2020)

Tiamin mempunyai organoleptis berbentuk Kristal atau serbuk kristal, putih; aroma spesifik tidak terlalu kuat. Dalam susunan yang tidak mengandung molekul air, jika terkena udara, maka segera menyerap air sekitar 4%. Mempunyai titik leleh kurang dari 248° C berbarengan dengan pelepasan. Kelarutan mudah larut dalam air; larut dalam gliserin; sukar larut dalam etanol; tidak larut dalam eter dan dalam benzen.

2. Vitamin B2 (Riboflavin)

Riboflavin (Vitamin B2) merupakan vitamin yang mengandung ribosa dalam rumus kimianya. Makanan yang berisi vitamin B2 antara lain: daging, hati, ragi, telur, sayur-sayuran dan lain-lain.

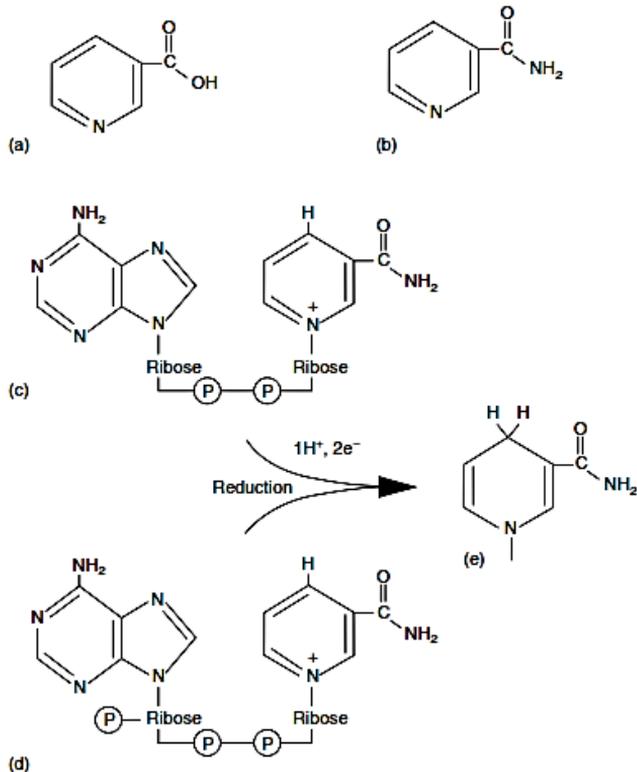


Gambar 7.2 Rumus Struktur Riboflavin

Riboflavin mempunyai organoleptis Serbuk kristal; kuning sampai kuning jingga; aroma tidak kuat. Mempunyai titik leleh pada suhu sekitar 280 °C. Larutannya mempunyai pH netral. Dalam bentuk serbuk tidak terurai karena adanya cahaya, tetapi dalam bentuk larutan, cahaya dapat menyebabkan dekomposisi, terutama dalam suasana basa. Riboflavin sangat sukar larut dalam air, dalam etanol, dan dalam larutan natrium klorida 0,9%; sangat mudah larut dalam larutan basa encer; tidak larut dalam eter serta dalam kloroform

3. Niasin

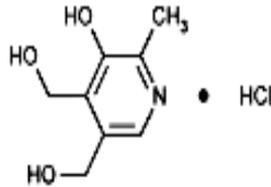
Niasin ditemukan pertama kali sebagai vitamin pada saat adanya kebutuhan yang mendesak untuk menyembuhkan pellagra pada kelompok sosial ekonomi rendah di Amerika Serikat Tenggara pada awal abad ke-20. Hal ini yang akhirnya menyebabkan niasin disebut sebagai faktor PP (*Pellagra Preventive*). Niasin dikenal secara luas sebagai vitamin, dan aktivitas biologisnya dikaitkan dengan aktivitas dari nikotinamid, asam nikotinat dan berbagai struktur nukleotida piridin. Asam nikotinat merupakan padatan kristal putih, tidak terurai di udara pada temperatur kamar. Kelarutan asam nikotinat, cukup larut dalam air dan alkohol, tetapi tidak larut dalam eter. Larutan berair memiliki serapan ultraviolet terbesar pada panjang gelombang 263 nm. Struktur kimia dari niasin dan turunannya ada pada gambar 7.3



Gambar 7.3 Struktur Kimia Dari Komponen Niasin (a) Asam Nikotinat, (b) Nikotinamid (c) NAD⁺, (d) NADP⁺, dan (e) Bagian yang Tereeduksi (Ross Catharine et all, 2007)

4. Vitamin B6

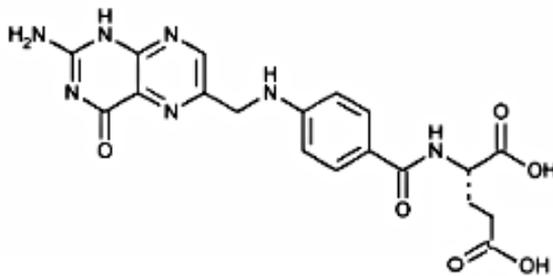
Piridoksin (Vitamin B6) di bumi terdiri dari tiga wujud, antara lain: piridoksin yang bersumber dari tanaman, piridoksal, dan piridoksamin yang sebagian besar bersumber pada hewan. Ketiga wujud piridoksin tersebut dalam badan ditransformasi menjadi piridoksal fosfat. Makanan yang berisi vitamin B6 antara lain: ragi, biji-bijian (gandum, jagung, dan lain-lain)



Gambar 7.4 Rumus Struktur Piridoksin

Piridoksin mempunyai bentuk kristal atau serbuk kristal putih atau hampir putih, tidak terurai di udara; secara berangsur-angsur terurai oleh sinar matahari. Kelarutan Mudah larut dalam air, sukar larut dalam etanol, idak larut dalam eter. Larutan bersifat asam kuat.

5. Vitamin B 9 (Asam Folat)



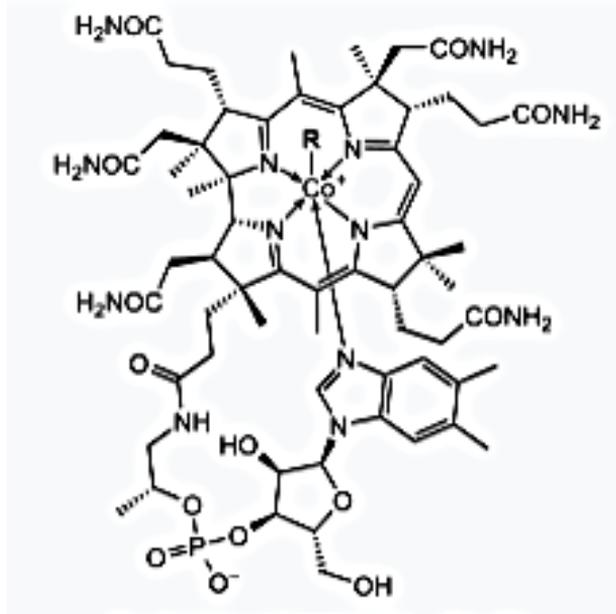
Gambar 7.5 Rumus Struktur Asam Folat

Asam folat mempunyai bentuk serbuk kristal kuning, kuning kecokelatan atau jingga kekuningan, tidak beraroma. Larut dalam air, mudah larut dalam alkali hidroksida dan dalam alkali karbonat encer tidak larut dalam etanol dan dalam pelarut organik. Makanan yang berisi asam folat, antara lain: sayuran berdaun, kentang, tomat, jeruk serta kacang-kacangan.

6. Vitamin B12 (Sianokobalamin)

Vitamin B12 mempunyai bentuk Kristal atau tidak jelas bentuknya, berwarna merah tua atau serbuk hablur merah. Keadaan tidak mengandung air sangat higroskopis. Jika

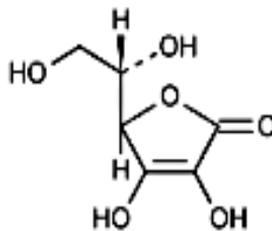
terkena udara, maka akan menampung air sekitar 12%. Vitamin B12 tidak mudah larut dalam air, larut dalam etanol serta tidak larut dalam pelarut organik.



Gambar 7.6 Rumus Struktur Riboflavin

7. Vitamin C

Vitamin C berperan sebagai kofaktor redoks dan dapat mempercepat berbagai reaksi dan proses biokimia. Vitamin C ditetapkan sebagai asam askorbat karena kandungannya kemampuan untuk menyembuhkan dan mencegah penyakit kudis

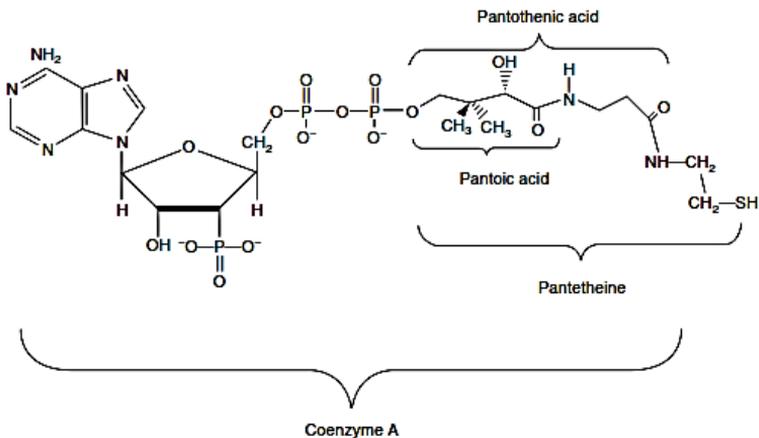


Gambar 7.7 Rumus Struktur Vitamin C

Vitamin C berbentuk kristal atau serbuk putih atau agak kuning. Warna berubah menjadi pekat disebabkan karena adanya efek adanya sinar. Dalam bentuk serbuk, tidak terdekomposisi di udara, sedangkan dalam bentuk larutan mudah teroksidasi. Titik leleh pada temperature sekitar 190°C. Vitamin C mudah larut dalam air, tidak mudah larut dalam etanol, tidak larut dalam pelarut organik. Makanan yang berisi vitamin C antara lain: buah-buahan, sayuran, kentang serta ubi-ubian.

8. Asam Pantotenat

Asam pantotenat membentuk koenzim A yang sangat penting dalam metabolisme, karena berfungsi mempercepat jalannya reaksi perpindahan gugus asetil. Makanan yang berisi asam pantotenat antara lain: daging, susu, gandum, kacang hijau, ragi, beras dan telur.



Gambar 7.8 Rumus Struktur Asam Pantotenat Dan Koenzim A

C. Metode Analisis Kadar Vitamin Larut Air

Untuk melakukan analisis kadar vitamin larut air di dalam sampel makanan ataupun minuman, diperlukan suatu metode analisis yang valid. Untuk menghasilkan metode yang valid, maka perlu dilakukan penelitian, optimasi dan validasi terhadap metode analisis tersebut. Maka perlu dilakukan penelitian untuk mengembangkan metode analisis kadar

vitamin yang larut air, agar metode tersebut mampu mempunyai spesifitas yang baik, mampu memisahkan beberapa vitamin yang larut air dalam berbagai macam sampel serta metode tersebut memiliki sensitivitas yang baik, sehingga mampu menganalisis kadar yang vitamin yang kecil di dalam sampel makanan/minuman. Metode analisis yang banyak dikembangkan untuk analisis kadar vitamin larut air adalah metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Rochman, 2010)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau biasa juga disebut dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dikembangkan pada akhir tahun 1960an atau awal tahun 1970an. Pada masa kini, KCKT adalah metode yang digunakan secara luas untuk menetapkan kadar dan menghilangkan pengotor zat-zat tertentu suatu contoh pada bidang-bidang tertentu, misalnya farmasi, lingkungan, bioteknologi serta industri makanan. Beberapa perkembangan KCKT terbaru, bisa diaplikasikan lebih luas lagi, yaitu dilakukan miniaturisasi system KCKT, digunakan pada analisis asam-asam nukleat, protein, karbohidrat serta senyawa kiral(Rochman, 2010).

Manfaat dari KCKT antara lain adalah untuk pemurnian sejumlah senyawa organik, anorganik, maupun senyawa biologis, analisis adanya zat pengotor (*impurities*), analisis senyawa yang stabil terhadap pemanasan, isolasi dan pemurnian senyawa, analisis molekul netral, kation, anion maupun zwitter ion. KCKT merupakan metode yang tidak destruktif dan bisa digunakan untuk identifikasi maupun penetapan kadar suatu zat. Keterbatasan KCKT adalah jika digunakan untuk identifikasi zat, akan maksimal jika dihubungkan dengan spektrofotometer massa, serta jika contohnya sangat rumit, maka pemisahan yang baik akan tidak mudah untuk didapatkan.

Beberapa penelitian penggunaan metode KCKT untuk analisis vitamin yang larut air., antara lain:

Liebiedzinska dkk (2007), melakukan analisis kombinasi vitamin B1, B6 dan B12 dalam sampel makanan dari sampel tiram dan tuna asap. Analisis sampel pada penelitian ini

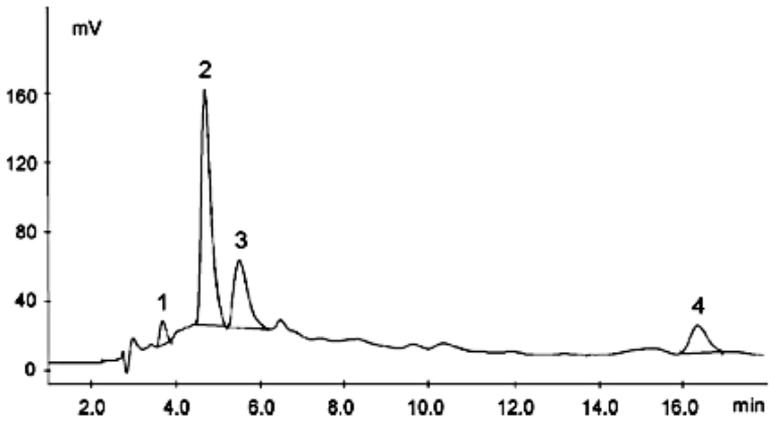
menggunakan detektor Uv dan elektrokimia koulometri. Pemisahan sampel menggunakan metode KCKT Fase terbalik, dan elusi fase gerak dilakukan secara isokratik. Fase diam yang digunakan adalah kolom C18 dengan ukuran 5 μ m (25 cm x 4.6 mm), dengan fase diam metanol: dapar fosfat dengan perbandingan 10:90 ditambahkan pereaksi trimetilamin dan dicukupkan dengan asam orthofosfat 85% sampai pH yang didapatkan 3.55 (Lebiedzińska *et al.*, 2007)

Metode KCKT Fase terbalik adalah suatu metode KCKT yang menggunakan Fase diam bersifat non polar serta fase gerak yang bersifat non polar. KCKT fase terbalik banyak digunakan untuk melakukan analisis senyawa senyawa obat yang bersifat non polar. Pada penelitian ini menggunakan fase diam C18 yang bersifat non polar serta fase gerak, campuran methanol dan dapar fosfat yang bersifat polar

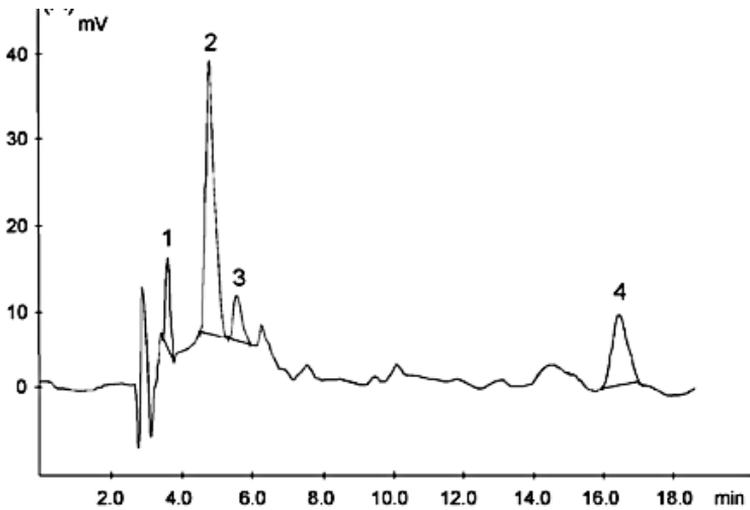
Metode isokratik adalah suatu metode penambahan fase gerak yang digunakan selama proses *running* KCKT adalah konstan.

Pada penelitian ini, dilakukan optimasi konsentrasi methanol yang digunakan sebagai fase gerak, dari 5 sampai 40%. Konsentrasi methanol yang lebih besar dari 10% akan mempercepat waktu retensi dari sianokobalamin, tetapi piridoksal dan piridoksin tidak dapat terpisah dengan baik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa methanol 10% memberikan waktu retensi dan pemisahan vitamin yang dianalisis secara optimal

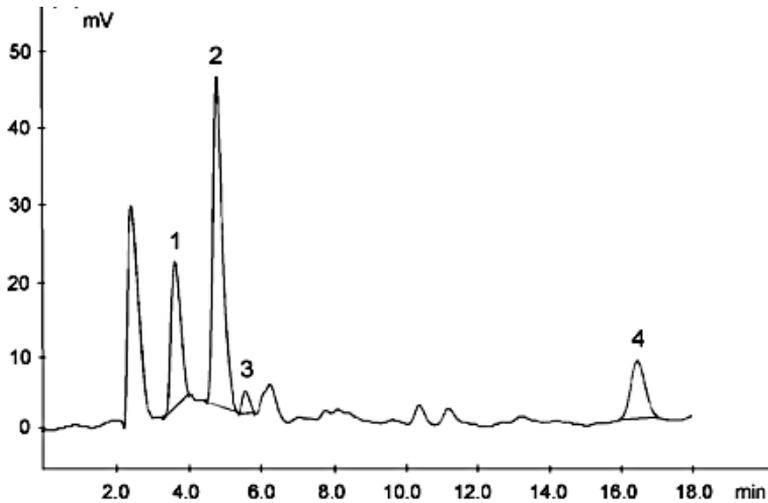
Vitamin B1 terdeteksi dengan detektor UV, sedangkan vitamin B6 dan B12 terdeteksi dengan detektor elektrokimia. Thiamine terdeteksi pada $\lambda = 283$ nm, dengan waktu retensi 9.8 ± 0.12 menit, sedangkan waktu retensi dari piridoksamin (PM), piridoksal (PL), piridoksin (PN) dan sianokobalamin dilakukan dengan $E_2 = 0.85$, berturut-turut adalah 3.7 ± 0.08 ; 4.7 ± 0.04 ; 5.6 ± 0.09 and 16.4 ± 0.05 menit.



Gambar 7.9 Kromatogram Campuran Vitamin B dalam Bahan Baku, Berturut-Turut 1= PM, 2=PL, 3=PN dan 4= Sianokobalamin



Gambar 7.10 Kromatogram Campuran Vitamin B dalam Sampel Tuna Asap, Berturut-Turut 1= PM, 2=PL, 3=PN dan 4= Sianokobalamin



Gambar 7.11 Kromatogram Campuran Vitamin B Dalam Sampel Tiram, Berturut-Turut 1= PM, 2=PL, 3=PN dan 4= sianokobalamin

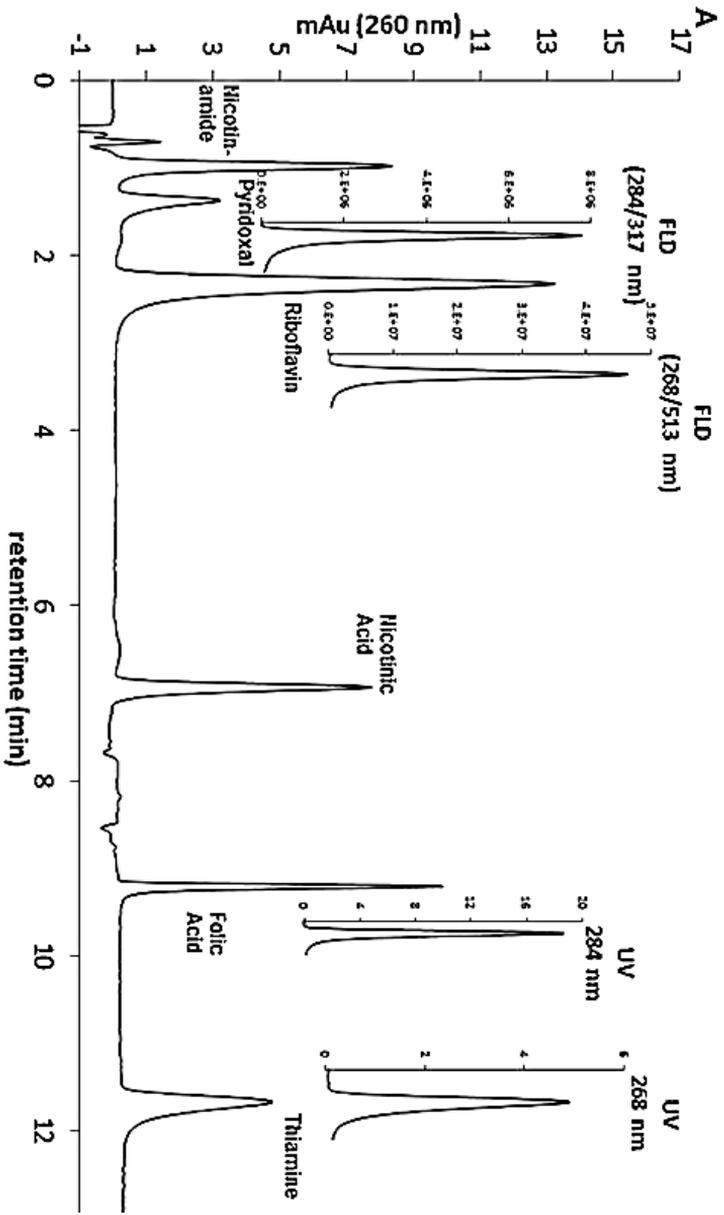
Berdasarkan gambar 7.9-7.11, dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan memberikan hasil yang valid karena hasil analisis dari larutan standar, sampel tuna asap dan tiram, memberikan waktu retensi yang hampir sama, baik untuk PM, PL, PN maupun sianokobalamin.

Langer S dan John K Lodge (2014), melakukan analisis campuran beberapa vitamin larut air menggunakan metode KCKT interaksi hidrofilik. Penelitian ini membandingkan beberapa detektor, antara lain photodiode array, fluoresensi serta koulometri. Sampel yang digunakan adalah sereal

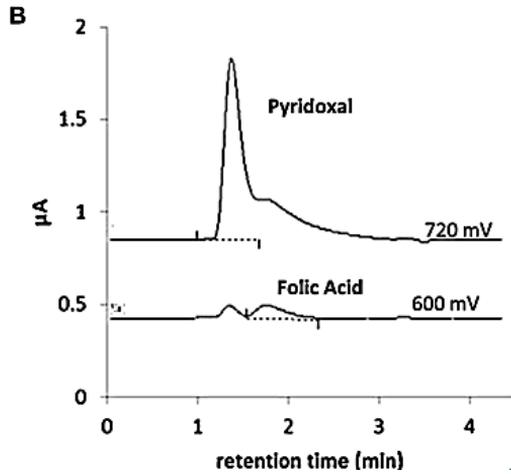
Interaksi hidrofilik merupakan metode pemisahan di dalam KCKT, yang menggunakan fase diam serta fase gerak yang bersifat polar. Merupakan pengembangan dari fase terbalik, tetapi dengan fase diam yang bersifat polar (di dalam KCKT Fase terbalik, fase diam yang digunakan bersifat non polar). Metode Interaksi hidrofilik banyak digunakan untuk melakukan analisis pada sampel yang bersifat polar. Hal ini sesuai dengan sampel pada penelitian ini, menggunakan sampel vitamin yang larut air antara lain: asam nikotinat, nikotinamid, riboflavin, piridoksal HCl, tiamin HCl, asam folat dan asam askorbat

Metode KCKT menggunakan fase diam yang sama yaitu kolom Zorbac Hilic dengan silica ukuran 100×4.6 mm, $3.5 \mu\text{m}$, dengan fase gerak fase A 10 mM ammonium asetat (pH 5.0) dalam air: asetonitril (95:5,v:v), mobile phase B was 10 mM ammonium asetat (pH 5.0) dalam asetonitril:air(95:5, v:v).

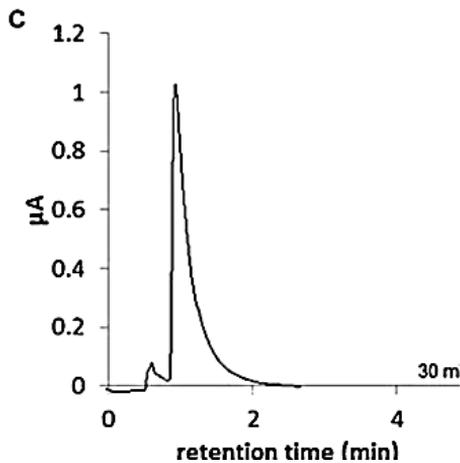
Pada detektor UV/PDA dan Fluoresen, 6 Vitamin B terdeteksi dengan satu kali *running* menggunakan elusi gradien dengan fase gerak dari 100% hingga 60% [10 mM ammonium asetat, pH 5.0, dalam asetonitril dan air 95:5 (v:v) setelah 18 menit. Laju alir yang digunakan adalah 0.8 mL/ menit, dengan volume injeksi $0.5 \mu\text{L}$. Hasil dari metode KCKT dengan detektor FLD dan PDA/UV dapat dilihat pada Gambar 7.12 (Langer and Lodge, 2014)



Gambar 7.12 Kromatogram dengan Detektor Fluoresen (FLD) dan PDA/UV



Gambar 7.13 Kromatogram Dengan Detektor Koulometri Menggunakan 75% Fase Gerak B dengan Laju alir 0.8 mL/ menit, dan Volume Injeksi 0.5 µL.



Gambar 7.14 Kromatogram Asam Askorbat Dengan Detektor Kuolometri Menggunakan 85% Fase Gerak B, dengan Laju Alir 0.8 mL/ Menit, dan Volume Injeksi 0.5 µL.

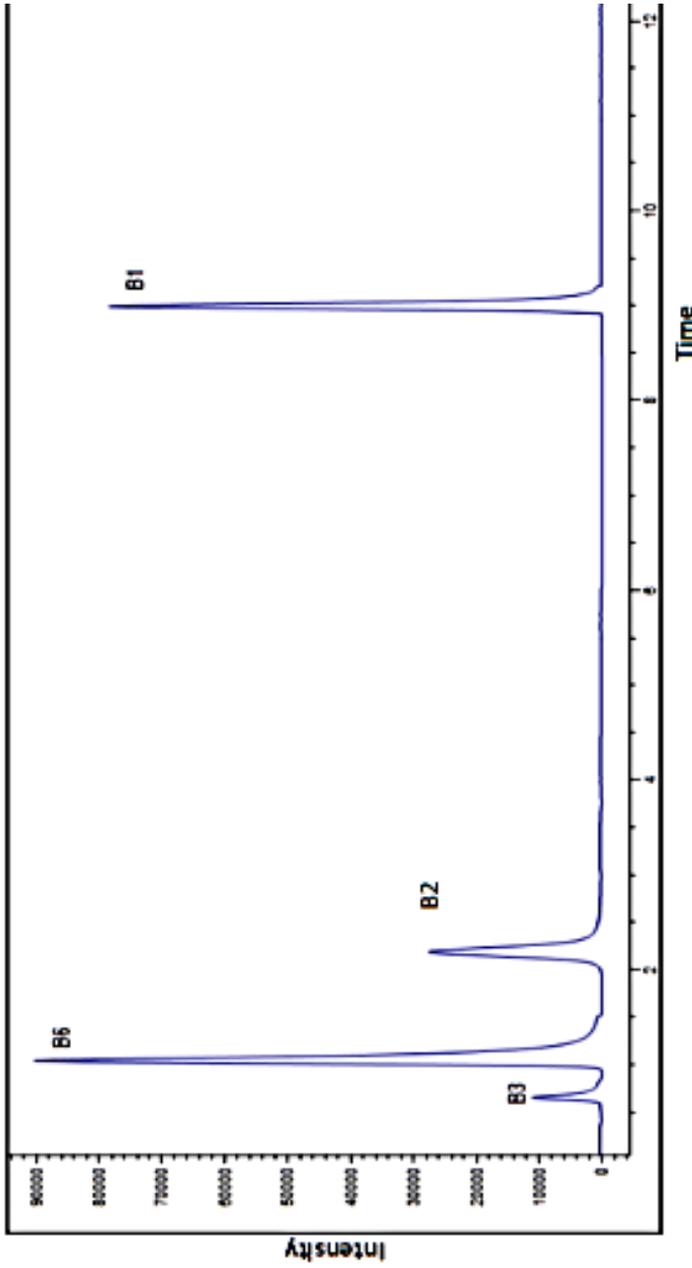
Kate porter dan John K Lodge (2021), melakukan analisis campuran vitamin larut air (tiamin, riboflavin, nikotinamid dan piridoksin di dalam sampel makanan menggunakan KCKT

Interaksi hidrofilik yang digabungkan dengan spektrofotometri massa (Porter and Lodge, 2021)

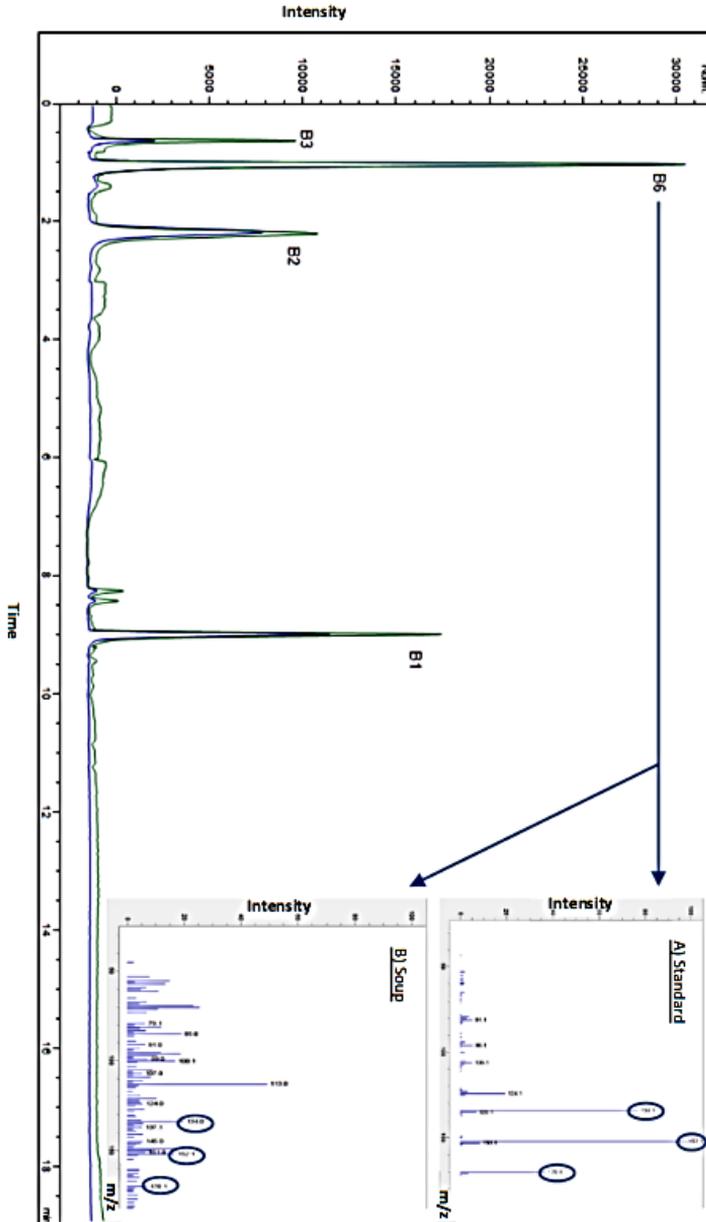
Fase diam yang digunakan adalah kolom Zorbac Hilic dengan silica ukuran $100 \times 4.6 \text{ mm}$, $3.5 \mu\text{m}$ dan fase gerak A: 10 mM ammonium asetat (pH 5,0) dalam 95:5 (V;V) air : asetronitril, fase gerak B: 10 mM ammonium asetat (pH 5,0) dalam 95:5 (V : V) asetronitril : air. Sebelum digunakan kolom diseimbangkan dengan fase gerak A:B sebanyak 40:60, selama 2 jam, setelah itu dilanjutkan dengan 100% fase gerak B sebanyak 100%.

Untuk analisis, elusi dilakukan dengan metode gradient, dimulai dengan isokratik 100% fase gerak B selama 4,5 menit, dikurangi menjadi 60% B selama 6 menit, selanjutnya kembali ke metode isokratik 100% fase gerak B, sampai selesai proses running selama 19 menit.

Laju alir yang digunakan pada metode ini adalah 0.8 mL/ menit. Pada alat spektrofotometer massa diatur dengan aliran gas pengering 12.0 L/ menit, tekanan nebulizer 35 psig, serta suhu gas pengering 350°C . Pengaturan sinyal diatur ke pemantau ion sinyal (SIM)



Gambar 7.15 Kromatogram Target Vitamin B1, B2, B3 dan B6 yang Akan Dianalisis di Dalam Sampel Sayuran Dengan Spektrofotometri Massa Dengan Mode Single Ion Monitoring (SIM)

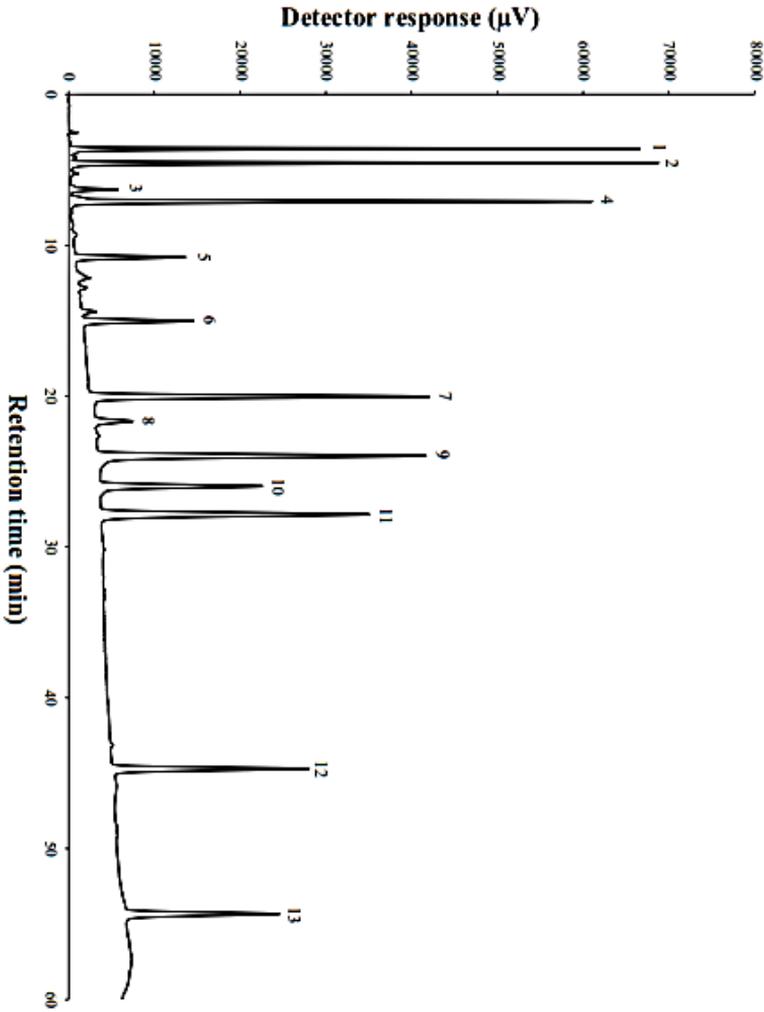


Gambar 7.16 Kromatogram target vitamin B1, B2, B3 dan B6 yang akan dianalisis di dalam sampel sayuran (biru) tumpang tindih dengan sampel yang diinjeksikan (hijau), serta fragmentasi dari larutan baku vitamin B6 (A), dengan vitamin B6 dari sampel (B)

Kaede sasaki, Hideo hatate dan Ryusuke tanaka (2020), melakukan penelitian, mengembangkan metode KCKT dengan detektor UV untuk menganalisis 13 vitamin B di dalam sampel makanan. Fase diam yang digunakan adalah kolom ODS dengan fase gerak menggunakan elusi gradient menggunakan dapar fosfat pH 3 asetonitril, pereaksi pasangan ion dengan laju alir 1 mL/ menit dengan detektor UV pada panjang gelombang 210 nm (Sasaki, Hatate and Tanaka, 2020)

Ke-13 komponen vitamin B dapat dipisahkan dalam waktu 60 menit, vitamin B yang mempunyai waktu retensi tercepat adalah Niasin, dan yang terlama adalah metilkobalamin. Validasi metode meliputi spesifitas, linearitas, rentang, persen perolehan kembali, presisi pada hari yang sama dan hari berbeda, batas deteksi dan batas kuantifikasi, memberikan hasil yang memuaskan, memenuhi persyaratan validasi yang ada, dengan batas deteksi sebesar 0,03 sampai 0,41 μ g/ mL.

Kromatogram dari metode ini, dapat dilihat pada Gambar 7.17



Gambar 7.17 Kromatogram HPLC dari 13 vitamin pada panjang gelombang 210 nm, urutan dari 13 vitamin adalah: 1: Niasin, 2: Niasinamid, 3:Asam pantotenat, 4: Piridoksin, 5: Tiamin, 6: RMP, 7: Asam folat, 8: Biotin, 9: Hidroksokobalamin, 10: Riboflavin, 11: Kobalamin,

D. Resume Metode KCKT

Berdasarkan penelitian-penelitian analisis kadar vitamin yang larut air yang sudah dijabarkan tersebut terdapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut:

1. Metode KCKT

Metode KCKT yang digunakan pada penelitian, terdiri dari fase terbalik dan interaksi hidrofilik. Pada KCKT fase terbalik, fase diam yang digunakan bersifat non polar, sedangkan fase gerak yang digunakan bersifat polar.

Sedangkan pada KCKT interaksi hidrofilik, fase diam dan fase gerak yang digunakan bersifat polar. KCKT interaksi hidrofilik merupakan pengembangan dari KCKT fase terbalik, menggunakan fase diam yang bersifat polar. Metode ini dikembangkan untuk analisis contoh yang bersifat polar. Metode KCKT interaksi hidrofilik banyak dikembangkan pada analisis vitamin yang larut didalam air.

2. Fase Gerak

Fase gerak yang digunakan pada penelitian-penelitian tersebut, sama-sama menggunakan zat yang bersifat polar, yaitu menggunakan kombinasi antara asetoneitril dan larutan dapar, serta metanol dan larutan dapar.

Metode elusi fase diam yang digunakan, terdiri dari metode isokratik dan metode gradien.

Metode isokratik adalah metode dimana elusi dilakukan dengan perbandingan fase gerak yang konstan selama waktu *running*, sedangkan metode gradien adalah elusi dilakukan dengan perbandingan fase gerak yang berbeda-beda selama waktu *running*.

3. Fase Diam

Fase diam yang digunakan pada penelitian-penelitian tersebut, terdiri dari fase diam yang bersifat polar dan fase diam yang bersifat non polar. Fase diam yang digunakan pada metode KCKT fase terbalik bersifat non polar, sedangkan fase diam yang digunakan pada metode interaksi hidrofilik bersifat polar.

4. Detektor

Detektor yang digunakan pada penelitian tersebut berbeda-beda. Jenis detektor yang digunakan adalah detektor UV, PDA (*Photo Diode Array*), Fluoresensi dan elektrokimia (Kuolometri).

DAFTAR PUSTAKA

- Kemenkes RI (2020) Farmakope Indonesia edisi VI, Jakarta.
- Langer, S. and Lodge, J. K. (2014) 'Determination Of Selected Water-Soluble Vitamins Using Hydrophilic Chromatography: A Comparison Of Photodiode Array, Fluorescence, And Coulometric Detection, and Validation In A Breakfast Cereal Matrix', *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 960, pp. 73–81. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.04.001
- Lebiedzińska, A. et al. (2007) 'Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography Method With Coulometric Electrochemical And Ultraviolet Detection For The Quantification Of Vitamins B1 (Thiamine), B6 (Pyridoxamine, Pyridoxal And Pyridoxine) and B12 in Animal And Plant Foods', *Journal of Chromatography A*, 1173(1-2), pp. 71–80. doi: 10.1016/j.chroma.2007.09.072.
- Porter, K. and Lodge, J. K. (2021) 'Determination Of Selected Water-Soluble Vitamins (Thiamine, Riboflavin, Nicotinamide And Pyridoxine) From A Food Matrix Using Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography Coupled With Mass Spectroscopy', *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1171(January), pp. 1–9. doi: 10.1016/j.jchromb.2021.122541.
- Rochman, A. (2010) *Kimia Farmasi Analisis*. VI. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ross Catharine et al (2007) *Handbook of Vitamins*. 4th edn, Choice Reviews Online. 4th edn. Edited by Janos Zempleni et al. New York: CRC Press. doi: 10.5860/choice.52-0307.
- Sasaki, K., Hatate, H. and Tanaka, R. (2020) 'Determination of 13 Vitamin B and the Related Compounds Using HPLC with UV Detection and Application to Food Supplements', *Chromatographia*, 83(7), pp. 839–851. doi: 10.1007/s10337-020-03902-2.

Teresia, J. dan sisilia (2021) Buku ajar farmakologi ii, Jurnal Sains dan Seni ITS. Makassar: Kemenkes RI. Available at: <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf><http://fiskal.kemenkeu.go.id/ejournal><http://dx.doi.org/10.1016/j.cirp.2016.06.001><http://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2016.12.055><https://doi.org/10.1016/j.ijfatigue.2019.02.006><https://doi.org/10.1>.

BAB

8

ANALISIS KADAR VITAMIN YANG LARUT DALAM LEMAK

Prof. Dr. Eti Yerizel, MS.

A. Pendahuluan

Vitamin merupakan zat gizi yang penting dalam tubuh manusia, Setiap jenis vitamin mempunyai peran masing masing dan walaupun dibutuhkan dalam jumlah kecil, tetapi kekurangan dan kelebihan vitamin akan menimbulkan suatu kelainan. Vitamin tidak disintesis dalam tubuh, untuk memenuhi kebutuhannya diperoleh dari makanan. Vitamin dibagi dua golongan, yaitu vitamin yang larut dalam air dan vitamin yang larut dalam lemak. Vitamin yang larut dalam air adalah vitamin B (B1, B2, B5,B6,B kompleks) dan vitamin C. Vitamin B adalah vitamin yang berperan sebagai koenzim pada reaksi kimia dalam tubuh, vitamin C merupakan antioksidan yang berperan dalam meredam radikal bebas. Vitamin yang larut dalam lemak adalah vitamin A, D, E dan K. Vitamin A pada tumbuh tumbuhan berupa senyawa beta karoten. Sintesis vitamin A berlangsung dalam hati.sebagai sumber vitamin A adalah sayur sayuran seperti wortel,sayuran berwarna orange dan ubi jalar. Vitamin A berperan untuk Kesehatan mata. Vitamin D termasuk senyawa steroid, vitamin D berperan pada metabolisme kalsium,yakni membantu proses absorpsi kalsium. Kalsium merupakan logam yang penting untuk pembentukan tulang. Kekurangan vitamin D akan menyebabkan gangguan terhadap metabolisme kalsium dan fosfor sehingga pembentukan tulang terganggu. Vitamin E (alfa, beta dan

gamma tokoferol), jenis yang terbanyak dalam bentuk alfa tokoferol, vitamin E banyak ditemukan dalam sayur sayuran, kecambah dan biji bijian yang sedang tumbuh seperti toge. Defisiensi vitamin dapat menyebabkan kemandulan, kulit bersisik dan kelemahan otot. Vitamin E juga berfungsi sebagai anti oksidan. Vitamin K merupakan senyawa quinon, terdiri dari 3 jenis yaitu K1, K2 dan K3. K1 dari tumbuh tumbuhan, K2 dari daging dan ikan dan K3 berasal dari bakteri. Vitamin K berperan dalam sintesis prothrombin di hepar. Vitamin K tidak disintesis dalam tubuh, tetapi diperoleh dari makanan dan flora usus. Defisiensi vitamin dapat menyebabkan perdarahan, seperti pada gangguan penyerapan lemak di usus menyebabkan vitamin K berkurang. Vitamin A, D, E dan K dapat dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif.

Analisis vitamin A dan D secara kualitatif dan kuantitatif dengan menggunakan reagen Carr Price. Kadarnya diukur dengan alat spektrofotometer, selain itu kadar vitamin A dapat ditentukan dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Untuk analisis vitamin E dan K dapat dianalisis dengan alat High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Gas (KG) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

B. Analisis Vitamin A

Untuk analisis vitamin A secara kualitatif dan kuantitatif dapat digunakan Pereaksi Carr-Price. Reagen Carr-Price terdiri dari larutan $SbCl_3$ (Antimon triklorida) dalam kloroform.

Prinsip reaksinya, vitamin A direaksikan dengan $SbCl_3$ akan membentuk larutan berwarna biru. Warna biru ini kurang stabil. Pada analisis ini semua alat gelas harus betul betul kering, reaksi tidak akan terjadi kalau ada air. Untuk analisis vitamin A secara kuantitatif seperti penentuan kadar vitamin A dalam plasma juga dapat dengan menggunakan Reagen Carr-Price. Vitamin A dilarutkan dengan kloroform, selanjutnya diberi reagen Carr-Price. Larutan biru yang terbentuk diukur dengan alat spektrofotometer pada Panjang gelombang 620 nm.

Berhubung warna kurang stabil, maka pengukuran dilakukan secepat mungkin. Hasil ini dibandingkan dengan larutan standar berupa vitamin A1 yang terdapat dalam hati ikan laut, dan vitamin A2 yang terdapat dalam hati ikan air tawar.

Alat spektrofotometer merupakan metode fotometri, yaitu alat yang digunakan untuk analisis kuantitatif yang berdasarkan pada pengukuran besarnya penyerapan (Absorban) sinar atau sinar yang ditransmisikan (% T) oleh larutan berwarna dari sampel pada panjang gelombang tertentu. syarat sampel harus berupa larutan berwarna atau suspensi. Warna larutan sampel dibentuk dengan pemberian reagen pewarna.

Analisis sampel dengan metode spektrofotometri berdasar pada Hukum Lambert -Beer

Absorpsi sinar oleh larutan mengikuti hukum Lambert-Beer, yaitu:

$$A = \log \left(\frac{I_0}{I_t} \right) = a b c$$

$$A = c$$

Keterangan :

I_0 = Intensitas sinar datang

I_t = Intensitas sinar yang diteruskan

a = Absorptivitas molar

b = Panjang sel/kuvet

c = konsentrasi (g/l)

A = Absorban



Gambar 8.1 Spektrofotometer dan Fotometer



Gambar 8.2 Fotometer Microlab 300

Alat spektrometer terdiri dari sumber Cahaya atau lampu, monokromator yang berperan untuk memonokromatiskan sinar/radiasi. Kuvet atau tempat cuplikan/sampel dan detector.

Sebagai Sumber cahaya adalah berupa radiasi elektromagnetik, radiasi ini melalui monokromator untuk membuat sinar/radiasi yang mempunyai satu Panjang gelombang. Monokromator untuk radiasi ultra violet, sinar tampak dan infra merah adalah serupa, yaitu berupa celah (slit), lensa, cermin, dan prisma atau grating. Monokromator terdiri

dari dua macam yaitu monokromator prisma bunsen dan monokromator grating Czerny-Turney.

Jenis spektrometer antara lain adalah spectrometer sinar tampak, spektrometer ultra ungu, spektrometer inframerah, spektrometer resonansi magnet inti, spektrometer serapan, spektrometer massa, dan spektrometer fluoresensi.

Perbedaan dari jenis spektrometer tersebut terletak pada sumber cahaya atau sampel yang disesuaikan dengan apa yang akan diteliti.

Pada spektrometer sinar tampak, contohnya pada serapan cahaya dari radiasi panas.

Pemeliharaan Alat Fotometer

1. Gunakan lampu yang sesuai dengan fotometer
2. Tegangan listrik harus stabil
3. Hidupkan alat terlebih dahulu selama 5-30 menit (tergantung jenis/merk alat) supaya cahaya lampu menjadi stabil.
4. Monokromator atau filter harus bersih, tidak lembab dan tidak berjamur.
5. Kuvet (tergantung jenisnya) harus tepat meletakkannya. Sisi dilalui cahaya harus menghadap ke cahaya. Bagian tersebut harus bersih, tidak ada bekas tangan/goresan ataupun embun.
6. Isi kuvet harus cukup sehingga seluruh cahaya dapat melalui isi kuvet.

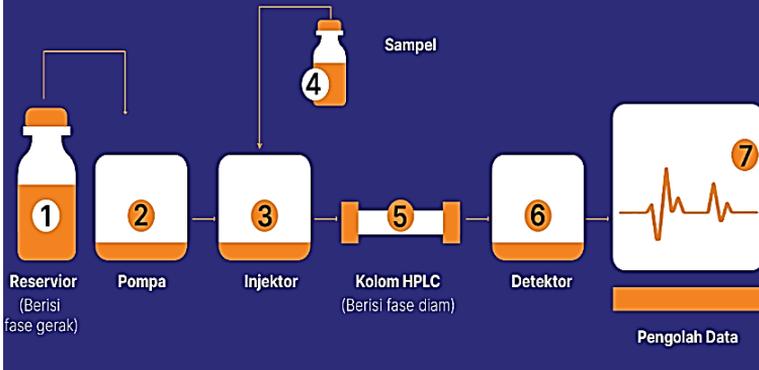
Selanjutnya metode yang lebih modern untuk analisis vitamin A adalah metode kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Analisis vitamin A dalam minyak goreng sawit dan produk pangan lainnya dapat dilakukan dengan KCKT telah sering dilakukan oleh beberapa peneliti terdahulu. Metode KCKT ini sedikit rumit pada tahap persiapan sampel, pada persiapan sampel meliputi proses saponifikasi, ekstraksi, pemekatan atau penguapan pelarut organik yang digunakan. Diperlukan pengembangan suatu metode kromatografi yang lebih praktis, mudah dan cepat untuk analisis kadar vitamin A minyak goreng sawit dan memberikan hasil yang valid. Para peneliti telah mengembangkan metode kromatografi tanpa

proses saponifikasi, tanpa ekstraksi dan tanpa penguapan pelarut organik.

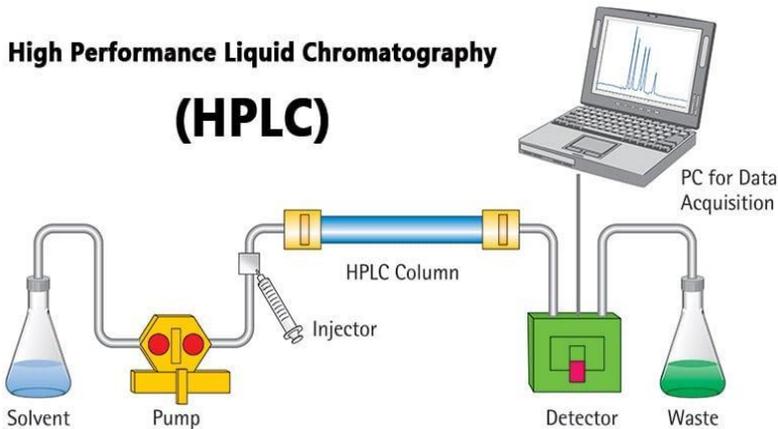
Kromatografi merupakan alat yang dapat digunakan untuk pemisahan atau pemurnian suatu senyawa, seperti protein dan lemak. Selain itu alat kromatografi sering digunakan untuk penentuan kadar suatu senyawa, seperti vitamin, lemak dll. Kromatografi terdiri dari beberapa jenis, diantaranya Kromatografi penukar ion, kromatografi kolom, kromatografi gas (GSC), kromatografi afinitas dan High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi (KCKT).

Prinsip HPLC

Untuk pemisahan suatu senyawa dengan senyawa lainnya, maka terjadi interaksi senyawa tersebut dengan fase diam secara kuat dan akan bergerak lebih lambat sehingga dapat terpisah dari senyawa lain dengan interaksi yang lemah. Pemisahan dengan kromatografi dengan cara memisahkan molekul berdasarkan perbedaan struktur ataupun komposisinya. Pemisahan molekul terjadi saat sampel bergerak melewati fase diam berupa zat padat atau cair karena terbawa oleh fase gerak berupa zat cair atau gas. Perbedaan HPLC dengan kromatografi lain adalah HPLC menggunakan zat cair sebagai fase geraknya. Larutan sampel dipisahkan dan dihitung konsentrasi senyawa yang dikandungnya. Seperti jumlah kandungan kafein dalam sampel minuman dapat diukur dengan HPLC berdasarkan afinitas kafein terhadap fase diam pada kolom yang digunakan.



High Performance Liquid Chromatography (HPLC)



Gambar 8.3 Komponen dan Skema Kerja HPLC

Injeksikan sampel melalui injektor (3) sampel akan dibawa oleh fase gerak (1) melewati fase diam pada kolom (5), hasilnya dibaca oleh detektor (6) dan selanjutnya ditampilkan pada pengolah data (7) sebagai kromatogram. HPLC menggunakan pompa bertekanan tinggi (2) untuk mengalirkan fase gerak menuju fase diam pada kolom. Hal ini berbeda dengan kromatografi kolom tradisional yang memanfaatkan gravitasi agar fase gerak dapat melalui fase diam, (ADVISAINS INFO)

Komponen HPLC

1. Fase Gerak

Fase gerak pada HPLC berupa pelarut dengan kemurnian sangat tinggi. pelarut khusus sesuai standard untuk HPLC untuk hasil yang lebih akurat. Reservoir pelarut berupa wadah penyimpanan fase gerak, berupa botol kaca dengan selang penghubung.

Pompa dengan tekanan tinggi, Injektor, sampel, kolom HPLC, detektor dan pengolahan data

2. Prosedur Analisis Vitamin A pada Minyak ikan

Kedalam sebuah tabung reaksi ditambahkan 0,5 ml larutan minyak ikan dan kloroform dengan perbandingan 1:10. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 2-3 ml reagen Carr-Price (25% $SbCl_3$ dalam kloroform). Perhatikan warna biru yang terbentuk. Intensitas warna biru diukur dengan alat spektrofotometer pada Panjang gelombang 620 nm.

C. Analisis Vitamin D

Vitamin D termasuk golongan senyawa steroid. Vitamin D3 (kolekalsiferol) dan vitamin D2 (ergokalsiferol). Vitamin D berperan pada proses pembentukan tulang, vitamin D membantu absorpsi kalsium. Defisiensi dari vitamin Menyebabkan gangguan metabolisme kalsium dan fosfor sehingga pembentukan tulang mengalami gangguan. Kekurangan vitamin D pada anak anak dapat menyebabkan pembengkokan tulang (bambu fraktur). Pada orang dewasa defisiensi vitamin D menyebabkan tulang keropos atau osteoporosis. Pembentukan vitamin D3 (kolekalsiferol) pada kulit manusia dan hewan dengan bantuan sinar ultraviolet dari matahari dengan precursor 7-dehidroksi kolesterol. Bagi anak yang cukup mendapatkan sinar matahari pagi, maka tidak akan mengalami kekurangan vitamin D. Sumber vitamin D3 adalah minyak hati ikan.

Vitamin D3 yang diubah oleh ginjal menjadi 1.25 dihidroksi kalsiferol merupakan bentuk aktif. Bentuk aktif dari vitamin D bekerja di usus, tulang dan tubuli ginjal. Ketiganya jaringan ini berkoordinasi dengan baik. Vitamin ini dianggap

sebagai hormon atau pembawa pesan kimia yang disintesis oleh suatu organ dalam mengatur aktivitas biologi di jaringan lain. Selain itu vitamin D juga berperan dalam meregulasi proliferasi dan diferensiasi gen, asupan yang lebih tinggi dari yang dibutuhkan dapat mempertahankan homeostasis kalsium dan menurunkan resiko resistensi insulin, obesitas dan sindrom metabolik serta kanker. Defisiensi vitamin D dapat menyebabkan rakitis pada anak dan osteomalasia pada orang dewasa. Vitamin juga berperan mengendalikan sistem sel imun seperti makrofag, limfosit, neutrofil, dan sel dendritik. menjaga keseimbangan respons imun dalam meningkatkan respons anti-inflamasi, mengurangi risiko dan perkembangan infeksi, keparahan serta mengurangi komplikasi badai sitokin akibat virus COVID-19 sehingga dapat menurunkan morbiditas dan mortalitas akibat infeksi COVID-19.

Analisis Vitamin D Secara Kualitatif

Analisis vitamin D dapat dilakukan dengan menggunakan reagen *Carr-Price*.

Pada prinsipnya Vitamin D direaksikan dengan reagen *Carr-Price* akan membentuk larutan berwarna kuning-jingga. Cara ini juga bisa digunakan untuk analisis kuantitatif atau penentuan kadar vitamin D dengan metode fotometri dengan alat spektrofotometer. Pada dasarnya vitamin D tahan terhadap oksidasi, sedangkan vitamin A mudah teroksidasi dengan penambahan H_2O_2 .

Prosedur

Kedalam sebuah tabung reaksi dimasukan 1ml minyak ikan (vitamin A dan D) dan selanjutnya ditambahkan 1 ml H_2O_2 5%, campurkan selama 1 menit, dan panaskan secara perlahan, jangan sampai mendidih hingga tidak ada gelembung keluar. Selanjutnya dinginkan dengan beaker yg berisi air dingin atau dengan air kran. Setelah dingin tambahkan beberapa tetes reagen *Carr-Price*. Perhatikan warna kuning-jingga yang terbentuk. Kadar vitamin D dapat diukur dengan alat spektrofotometer.

D. Analisis Vitamin E

Vitamin E (Alfa tokoferol) bersifat antioksidan dan dapat melindungi kulit terhadap kerusakan akibat oksidan. Ada tiga macam vitamin E yaitu alfa, beta dan gama tokoferol, ketiga jenis vitamin E ini, yang paling utama adalah alfa tokoferol. Vitamin E dapat melindungi sel dan jaringan dari kerusakan akibat oksidasi yang berlebihan, mencegah penuaan, mencegah terbentuknya lipofuchsin yaitu pigmen penuaan (aging process) yang muncul sebagai bintik-bintik coklat pada kulit.⁸

Vitamin E berperan pada kesuburan Wanita dan pria, Kesehatan kulit dan kekuatan otot dan mencegah penyakit degeneratif secara dini. Defisiensi vitamin E dapat menyebabkan kemandulan, kulit bersisik dan kelemahan otot. Selain itu vitamin E berperan pada proses penuaan dengan jalan melindungi degenerasi sel. Berdasarkan Studi terdahulu oleh Simin Meydani, PhD. di Boston, vitamin E terbukti dapat meningkatkan respons imun pada penduduk lanjut usia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vitamin E pada dosis 200 mg per hari secara signifikan dapat meningkatkan sistem imun tubuh dibandingkan dengan plasebo.⁹

Analisis vitamin E secara kuantitatif Vitamin E dengan metode spektrofotometri dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Kadar vitamin E juga dapat ditentukan dengan beberapa metode kromatografi, diantaranya dengan alat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Gas (KG). Kelebihan metode KCKT dibandingkan kromatografi yang lain adalah, kolom KCKT dapat digunakan berulang kali, resolusi yang jauh lebih tinggi, tidak terlalu tergantung pada kemampuan operator, waktu analisisnya cepat dan cara kerjanya relatif sederhana, selain itu KCKT juga dapat menganalisis senyawa yang tidak mudah menguap dan termolabil (Ekasari 2008).

Contoh Analisis alfa tokoferol dari minyak biji kelor dengan metode KCKT, penelitian Putri Amelia tahun 2014

Sampel minyak biji kelor ditimbang sebanyak 0,25 gram dan larutkan dengan 10 ml etanol dalam labu ukur 25 ml, lalu dicukupkan volumenya hingga 25 mL menggunakan etanol:THF (1:1). Selanjutnya Sampel dimasukkan ke dalam vial, kemudian injeksikan sebanyak 20.0 μ L ke alat KCKT dengan fase gerak methanol pada panjang gelombang 280 nm, laju alir 1.0 mL/menit, lalu dicatat luas puncaknya. Percobaan diulang sebanyak dua kali.

Analisis Kandungan Minyak Biji Kelor Dengan GCMS.

Timbang sebanyak 0.5 g minyak dilarutkan dengan 5 ml Etil asetat, lalu diinjeksikan ke alat kromatografi gas. Parameter pengujian GCMS mengacu pada penelitian Nassir, et al. (2010).

Hasil uji statistik dengan uji pearson dan juga uji spearman menunjukkan hubungan yang tidak signifikan antara kadar α -tokoferol yang dihasilkan dengan proses perolehan minyak maupun dengan perbandingan suhu ($p \geq 0,05$).

E. Analisis Vitamin K

Vitamin K merupakan senyawa quinon, terdiri dari 3 jenis yaitu K1, K2 dan K3. K1 dari tumbuh tumbuhan, K2 dari daging dan ikan dan K3 berasal dari bakteri. Vitamin K berperan dalam sintesis prothrombin di hepar. Vitamin K tidak disintesis dalam tubuh, tetapi diperoleh dari makanan dan flora usus. Defisiensi vitamin dapat menyebabkan perdarahan, seperti pada gangguan penyerapan lemak di usus menyebabkan vitamin K berkurang.

Analisis Kuantitatif Vitamin K Dengan Metode KCKT

Analisis vitamin K dengan metode KCKT menggunakan fase terbalik dengan fase diam kolom C-18 dan deteksi fluoresensi. Fase diam yang digunakan diisi dengan bubuk seng. Fase gerak adalah pelarut metanol dan diklorometana yang mengandung seng klorida, natrium asetat dan asam asetat. Ekstraksi sampel dengan menggunakan pelarut n-heksana. Untuk pencucian residu digunakan campuran metanol

dan air. Selanjutnya dipisahkan lapisan atas n-heksana dan divacum untuk penguapan. Residu dilarutkan dengan eluen dan diinjeksikan ke dalam KCKT untuk dilakukan analisis. Larutan standar internal yang digunakan dalam analisis vitamin K yaitu 2,3-dihidrofilokuinon dalam pelarut etanol. Menurut Jakob dan Elmadfa (2000),

Metode KCKT dalam penentuan kadar vitamin yang larut dalam lemak (A, D, E, K) mempunyai beberapa kelebihan, antara lain: analisis yang cepat, efisiensi dan spesifitas yang tinggi, karena tidak membutuhkan pereaksi yang banyak serta langkah kerja yang terlalu rumit dibandingkan dengan penggunaan metode lain seperti spektrofotometrik dan fluorometrik yang memiliki efisiensi dan spesifitas rendah

DAFTAR PUSTAKA

- Bleizgys A.2020 ,”Vitamin D and COVID-19: It is time to act. Int J Clin Pract (September):1-9.
- Mitchell BL, Ulrich CM,McTiernan A.2003,” Supplementation with vitamins or minerals and immune functions: can the elderly benefit?. Nutrition Research;23: 1117-1139.
- Murdaca G, Pioggia G, Negrini S,2020,” Vitamin D and covid-19: An update on evidence and potential therapeutic implications. Clin Mol Allergy ;18(1):1-8. <https://doi.org/10.1186/s12948-020-00139-0>
- Sukarno, Slamet K,FerifLHanifahN, 2011 ,”The Development and Validation of Method Analysis for Vitamin A Determination in Palm Oil by High Performance Liquid Chromatography,”Scientific Repository, Agriculture Tecnology,IPB University.
- Robert K.M ,Daryl K G, Peter A M, Victor W R, 2015, Harper’s Illustrated Biochemistry,” 30 ed
- Robert K.M ,Daryl K G, Peter A M, Victor W R, 2002,ed 25 ,”Biokimia Harper”, alih bahasa Andry Hartono,editor Tiara M.N.Sikumbang, penerbit Buku Kedokteran EGC,Jakarta 10042.
- Voet.D.J Voet,J G& Pratt C W,2008,” Principle of Biochemistry.3 ed,s .I:John Wiley & Sons,Inc
- Xu Y, Baylink DJ, Chen CS, Reeves ME, Xiao J, Lacy C, et al,2020,” The importance of vitamin D metabolism as a potential prophylactic, immunoregulatory and neuroprotective treatment for COVID-19. J Transl Med.;18(1):1-12.
- Zulbadar Panil,2002,” Memahami Teori dan Praktik Biokimia Dasar Medis, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Fakultas kedokteran Universitas Andalas.

Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al,2020," A novel coronavirus from patients with pneumonia in China 2019,". N Engl J Med. 2020;382(8):727-33.

BAB 9

ANALISIS KOMPONEN BIOAKTIF

Ahmad Hisbullah Amrinanto, S.Gz., M.Si.

A. Pendahuluan

Komponen bioaktif dalam makanan adalah senyawa yang berasal dari makanan dalam jumlah kecil namun memiliki efek signifikan pada kesehatan manusia (Kris-Etherton et al., 2002; Bansal et al., 2022). Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan dalam berbagai makanan, termasuk buah-buahan, sayuran, biji-bijian, dan produk susu. Senyawa ini bermanfaat bagi kesehatan karena kemampuannya mengatur dan memodulasi satu atau lebih proses dan fungsi metabolik penting (Galanakis, 2017). Penelitian dalam beberapa tahun terakhir telah mengungkapkan banyak manfaat kesehatan dari komponen bioaktif, mulai dari sifat antioksidan hingga perlindungan terhadap penyakit kronis. Selain penelitian-penelitian terkait komponen bioaktif yang terus berkembang, peningkatan kesadaran masyarakat tentang pengaruh diet terhadap kesehatan dan kesejahteraan individu membuat masyarakat sebagai konsumen lebih peduli terhadap makanan yang mereka konsumsi (Mollet & Rowland, 2002; Day et al., 2009).

Beragam penyakit kronis seperti obesitas, diabetes, sindrom metabolik, dan kanker berkembang akibat berbagai faktor lingkungan, jenis pola makan tertentu (tinggi lemak, gula, dan garam), serta kebiasaan hidup seperti kurangnya aktivitas fisik (Moebus & Stang, 2007; Shahidi, 2009). Dengan mulai sadarnya kemungkinan timbulnya penyakit kronis, masyarakat

mulai menginginkan makanan yang mengandung komponen penunjang kesehatan selain hanya menyediakan zat gizi dasar (Bech-Larsen & Scholderer, 2007). Seiring dengan meningkatnya permintaan masyarakat, industri makanan kini juga memberikan inovasi makanan tidak hanya yang mengandung zat gizi dasar namun juga memfokuskan pada makanan yang mengandung komponen sebagai penunjang kesehatan termasuk komponen bioaktif (Day et al., 2009; Shahidi, 2009). Oleh karena itu, semakin banyak industri yang terlibat dalam ekstraksi komponen bioaktif alami sehingga senyawa ini dapat digunakan sebagai aditif dalam pengolahan makanan, yang akan melayani kedua tujuan, yaitu kemajuan teknologi dalam pengolahan dan manfaat kesehatan bagi konsumen (Galanakis et al., 2013).

B. Jenis Komponen Bioaktif dan Manfaatnya Bagi Kesehatan

Umumnya, komponen bioaktif yang ada secara alami ditambahkan ke dalam produk makanan untuk meningkatkan kandungan zat gizi dan manfaat yang mendukung kesehatan. Komponen bioaktif dalam makanan ini memiliki potensi untuk menyeimbangkan proses metabolisme penting dalam tubuh manusia antara lain penangkalan radikal bebas, penghambatan atau induksi ekspresi gen, serta fungsi reseptor dan enzim (Correia et al., 2011). Aktivitas biologis seperti antimikroba, anti karsinogenik, anti alergi, antioksidan, dan antiinflamasi yang ditunjukkan oleh senyawa-senyawa ini menambah pentingnya komponen bioaktif dalam konsumsi makanan harian (Parvathy et al., 2009). Beberapa jenis komponen bioaktif antara lain:

1. Polifenol

Polifenol adalah senyawa alami yang diproduksi oleh tanaman, memiliki karakteristik kimia yang mirip dengan senyawa fenolik, dan terkenal karena sifat antioksidannya yang kuat. Polifenol umumnya ditemukan dalam buah-buahan, sayuran, teh hijau, dan biji-bijian. Senyawa ini termasuk dalam kelompok fenolik yang ditandai dengan adanya minimal dua cincin fenil dan satu atau lebih gugus hidroksil. Beberapa jenis polifenol yang terdapat pada

makanan yaitu flavonoid, quercetin, dan catechin (Kris-Etherton et al., 2002; Liu, 2003; Manach et al., 2004). Secara umum, polifenol memiliki manfaat bagi kesehatan sebagai berikut.

a. Antioksidan

Polifenol melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas

b. Anti-inflamasi

Banyak polifenol memiliki sifat anti-inflamasi yang dapat mengurangi risiko penyakit kronis seperti artritis dan penyakit jantung.

c. Kesehatan Jantung

Polifenol dapat membantu menurunkan tekanan darah, meningkatkan fungsi pembuluh darah, dan mengurangi risiko penyakit jantung.

d. Antikanker

Beberapa polifenol memiliki efek antikanker dengan mencegah pertumbuhan sel kanker dan mendukung apoptosis (kematian sel terprogram).

e. Kesehatan Otak

Polifenol dapat membantu melindungi fungsi kognitif dan mengurangi risiko penyakit neurodegeneratif seperti Alzheimer.

f. Pengaturan Gula Darah

Polifenol dapat membantu mengatur kadar gula darah, yang penting untuk mencegah diabetes tipe 2.

2. Karotenoid

Karotenoid adalah pigmen alami yang ditemukan dalam banyak buah dan sayuran, memberikan warna kuning, oranye, dan merah. Selain berfungsi sebagai antioksidan, beberapa karotenoid dapat diubah menjadi vitamin A dalam tubuh, yang penting untuk kesehatan mata, sistem kekebalan, dan pertumbuhan sel. Berikut adalah beberapa contoh utama senyawa karotenoid, termasuk sumber alami dan manfaat kesehatannya. Beberapa jenis karotenoid dalam makanan seperti β -karoten, lutein, dan likopen (Stahl & Sies,

2005; Rao & Rao, 2007; Britton et al., 2009). Karotenoid juga memiliki manfaat antara lain:

a. Antioksidan

Karotenoid melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas, yang dapat menyebabkan penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung.

b. Kesehatan Mata

Karotenoid seperti lutein dan zeaxanthin penting untuk melindungi mata dari degenerasi makula terkait usia dan katarak.

c. Kesehatan Jantung

Karotenoid dapat membantu menurunkan tekanan darah, meningkatkan profil lipid, dan melindungi dari kerusakan oksidatif yang dapat menyebabkan penyakit jantung.

d. Pencegahan Kanker

Beberapa karotenoid, terutama lycopene, telah terbukti mengurangi risiko beberapa jenis kanker, termasuk kanker prostat dan kanker paru-paru.

e. Kesehatan Kulit

Karotenoid dapat melindungi kulit dari kerusakan akibat sinar UV dan menjaga kesehatan kulit secara umum.

3. Alkaloid

Alkaloid adalah kelompok besar senyawa organik yang mengandung nitrogen dan sebagian besar bersifat basa. Mereka ditemukan dalam berbagai tumbuhan dan dikenal karena efek farmakologisnya, termasuk sifat analgesik, antimalaria, dan stimulasi sistem saraf pusat. Contoh alkaloid terkenal termasuk kafein, morfin, dan nikotin (Dewick, 2009; Brunton et al., 2011). Serupa dengan komponen bioaktif lainnya, alkaloid juga memiliki manfaat bagi kesehatan.

- a. Analgesik dan Antiinflamasi
Alkaloid seperti morfin sangat efektif dalam menghilangkan rasa sakit.
- b. Stimulan
Kafein dan nikotin meningkatkan kewaspadaan dan konsentrasi.
- c. Terapi Penyakit
Berberine digunakan untuk mengobati diabetes dan infeksi, kuinina untuk malaria.

Selain manfaat, alkaloid juga memiliki risiko efek samping yaitu:

- a. Kecanduan
Nikotin, morfina, dan kokain memiliki potensi kecanduan yang tinggi.
- b. Toksisitas
Strychnine dan atropin dapat sangat toksik dan berbahaya jika dikonsumsi dalam dosis yang tidak tepat.
- c. Efek Samping
Banyak alkaloid memiliki efek samping yang serius, termasuk mual, muntah, kejang, dan bahkan kematian jika tidak digunakan dengan benar.

4. Saponin

Saponin adalah kelompok senyawa glikosida yang ditemukan di banyak tanaman. Mereka dikenal karena sifat detergen mereka, yang memungkinkan mereka membentuk busa saat dikocok dengan air. Saponin memiliki berbagai manfaat kesehatan, termasuk sifat antimikroba, antikanker, dan menurunkan kolesterol. Saponin banyak terkandung dalam kacang-kacangan. Beberapa contoh utama senyawa saponin yaitu diosgenin, ginsenosides, dan soyasaponins. Beberapa manfaat saponin dalam makanan yaitu:

- a. Menurunkan Kolesterol
Saponin dapat mengikat asam empedu dan kolesterol di usus, sehingga mencegah penyerapannya dan membantu menurunkan kadar kolesterol darah.

b. Antikanker

Beberapa saponin memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel kanker dan mendorong apoptosis (kematian sel terprogram).

c. Antimikroba dan Anti Jamur

Saponin memiliki sifat antimikroba yang dapat melawan bakteri, virus, dan jamur, menjadikannya efektif dalam meningkatkan kekebalan tubuh dan mencegah infeksi.

d. Anti-inflamasi

Saponin memiliki sifat anti-inflamasi yang dapat membantu mengurangi peradangan dalam tubuh dan mendukung pengobatan kondisi seperti artritis.

e. Ekspektoran

Saponin membantu mencairkan dahak di saluran pernapasan, memudahkan pengeluarannya, yang berguna dalam pengobatan batuk dan bronkitis.

f. Antioksidan

Saponin memiliki kemampuan antioksidan yang membantu melawan radikal bebas dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif.

5. Glukosinolat

Glukosinolat adalah senyawa sulfur yang ditemukan secara alami dalam tanaman Brassicaceae (kubis-kubisan), seperti brokoli, kubis, kailan, dan sawi. Beberapa contoh senyawa glukosinolat yaitu glukorafanin, glukobrasisin, dan glukonapin. Mereka dikenal karena memberikan rasa pedas pada beberapa sayuran tersebut dan memiliki berbagai manfaat kesehatan (Traka & Mithen, 2009; Barba et al., 2016).

a. Anti-kanker

Senyawa glukosinolat telah terbukti memiliki sifat anti-kanker yang kuat, membantu melawan pertumbuhan sel kanker dan menghambat pembentukan tumor.

b. Antioksidan

Glukosinolat melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas, membantu mencegah penyakit kronis seperti kanker, penyakit jantung, dan penuaan dini.

c. Detoksifikasi

Beberapa glukosinolat membantu dalam detoksifikasi tubuh, membantu mengeluarkan senyawa berbahaya dan zat-zat kimia yang masuk ke dalam tubuh.

d. Menurunkan Risiko Penyakit Jantung

Glukosinolat dapat membantu menurunkan risiko penyakit jantung dengan mengurangi peradangan dan memperbaiki fungsi pembuluh darah.

e. Menstimulasi Sistem Kekebalan Tubuh

Beberapa glukosinolat memiliki efek stimulasi pada sistem kekebalan tubuh, membantu tubuh untuk melawan infeksi dan penyakit.

C. Ekstraksi Komponen Bioaktif

Ekstraksi merupakan tahap awal yang sangat penting dalam analisis komponen bioaktif. Proses ini berfungsi untuk memisahkan senyawa-senyawa bioaktif dari matriks kompleks seperti tanaman, hewan, atau mikroorganisme, sehingga memungkinkan analisis yang lebih akurat dan efektif (Varma, 2016). Ekstraksi menjadi langkah yang krusial dalam analisis komponen bioaktif (Khoddami et al., 2013; Altemimi et al., 2017). Beberapa hal yang menjadi alasan tahapan ini menjadi penting sebagai berikut.

1. Isolasi Senyawa Target

Ekstraksi memungkinkan isolasi komponen bioaktif dari matriks kompleks. Banyak komponen bioaktif hadir dalam jumlah kecil dan tersebar dalam matriks yang kompleks. Ekstraksi membantu dalam memisahkan senyawa ini sehingga dapat dianalisis lebih lanjut tanpa gangguan dari komponen lain yang tidak diinginkan.

2. Konsentrasi Komponen Bioaktif

Banyak komponen bioaktif ditemukan dalam konsentrasi yang sangat rendah di alam. Proses ekstraksi dapat mengonsentrasikan senyawa ini sehingga mempermudah proses identifikasi dan kuantifikasi dalam analisis selanjutnya. Misalnya, dalam penelitian terhadap tanaman obat, ekstraksi dapat membantu meningkatkan konsentrasi komponen aktif untuk studi farmakologis.

3. Peningkatan Sensitivitas dan Spesifisitas

Dengan mengisolasi senyawa target, ekstraksi dapat meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas metode analisis seperti kromatografi atau spektrometri massa. Hal ini penting untuk mendapatkan hasil yang akurat dan reproduktif, terutama ketika bekerja dengan sampel yang kompleks dan bervariasi.

4. Penghilangan Pengotor

Ekstraksi membantu menghilangkan pengotor yang dapat mengganggu analisis atau merusak peralatan analitik. Misalnya, dalam analisis komponen bioaktif dari tanaman, ekstraksi dapat menghilangkan senyawa-senyawa seperti klorofil dan lipid yang dapat mengganggu analisis senyawa target.

5. Preparasi untuk Analisis Lebih Lanjut

Setelah diekstraksi, komponen bioaktif dapat diuji lebih lanjut menggunakan berbagai teknik analitik dan bioassay untuk menentukan aktivitas biologis dan potensinya sebagai kandidat obat. Misalnya, setelah ekstraksi, senyawa dapat dianalisis menggunakan HPLC, GC-MS, atau NMR untuk menentukan struktur dan konsentrasi.

6. Standarisasi

Dalam penelitian dan industri, ekstraksi memungkinkan standarisasi sampel sehingga hasil analisis menjadi lebih konsisten dan dapat dibandingkan.

7. Keamanan dan Stabilitas

Ekstraksi dapat memindahkan senyawa komponen dari lingkungan yang tidak stabil ke bentuk yang lebih stabil, sehingga mencegah degradasi selama penyimpanan dan analisis. Ini penting untuk memastikan bahwa komponen bioaktif tetap utuh dan tidak terdegradasi sebelum analisis.

Ekstraksi melibatkan penggunaan bahan mentah yang akan dianalisis dan pelarut yang tepat untuk memastikan komponen bioaktif yang diinginkan larut sepenuhnya dalam pelarut tersebut, sementara komponen lainnya seperti sel dan jaringan (senyawa inert lainnya) tetap tidak larut (Bansal et al., 2022). Proses ekstraksi ini dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti suhu, sifat pelarut, tekanan, serta jenis dan bagian dari bahan mentah (tumbuhan, hewan, mikroba, dll.) (Khoddami et al., 2013). Ada berbagai teknik khusus untuk mengekstraksi setiap jenis senyawa bioaktif. Secara umum, teknik-teknik ekstraksi ini dibagi menjadi dua kategori utama, yaitu konvensional seperti maserasi, hidrodistilasi, dan ekstraksi Soxhlet dan non konvensional contohnya *pulse electric field*, ekstraksi pelarut, dan cairan bertekanan (Azeez et al., 2017).

8. Maserasi

Dalam bejana tertutup, bahan yang telah digiling (diperlakukan secara fisik) direndam dalam pelarut yang sesuai untuk ekstraksi senyawa bioaktif. Larutan (yang mengandung senyawa bioaktif dan pelarut) dipisahkan sementara ampas yang tersisa diperas untuk mengekstraksi sisa larutan (Azeez et al., 2017).

9. Hidrodistilasi

Bahan yang ditargetkan dikemas dengan air mendidih atau disuntikkan dengan uap sehingga air dapat digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi senyawa bioaktif. Ini melibatkan difusi, hidrolisis, dan dekomposisi oleh panas menggunakan air (Silva et al., 2005).

10. Ekstraksi Soxhlet

Bahan mentah yang telah dikeringkan bersama dengan pelarut khusus mengalami pemanasan dan kondensasi berulang dalam unit distilasi hingga ekstraksi senyawa bioaktif yang lengkap tercapai. Ini memastikan ekstraksi senyawa yang ditargetkan ke dalam pelarut, yang kemudian dikumpulkan dalam labu distilasi (Azeez et al., 2017).

11. *Pulse Electric Field*

Memaparkan bahan mentah pada medan listrik sedang (500 dan 1000 V/cm) selama 10-20 detik meningkatkan permeabilitas sel. Paparan medan listrik denyut merusak membran sel (bahan mentah), yang meningkatkan efisiensi ekstraksi (Fincan & Dejmek, 2002).

12. Ekstraksi Pelarut

Berbagai pelarut seperti metanol, aseton, eter, etanol, dan heksana digunakan untuk ekstraksi selektif komponen bioaktif polar dan nonpolar (Plaza et al., 2010).

13. Cairan Bertekanan

Jenis ekstraksi ini dilakukan pada suhu tinggi (50–200 °C) dan tekanan tinggi (1450–2175 psi) untuk menurunkan polaritas pelarut. Suhu dapat digunakan untuk menyesuaikan polaritas pelarut dengan senyawa yang ditargetkan. Tekanan akan mendorong pelarut ke dalam matriks bahan mentah (Dunford et al., 2010; Miron et al., 2011).

D. Analisis Komponen Bioaktif

Analisis komponen bioaktif melibatkan serangkaian langkah mulai dari persiapan sampel hingga identifikasi dan kuantifikasi senyawa bioaktif sebagai berikut (Wilson & Walker, 2010; Hofmann & Clokie, 2018).

1. Persiapan Sampel

Pada tahap persiapan, bahan yang akan dijadikan sampel dilakukan beberapa perlakuan. Setelah bahan dikumpulkan, kemudian dilakukan pengeringan dan penggilingan (jika diperlukan) pada bahan tersebut. Pengeringan dan penggilingan bahan menjadi serbuk untuk

memudahkan ekstraksi. Kemudian langkah berikutnya yaitu *pretreatment* seperti pengeringan beku atau penggunaan enzim untuk meningkatkan ketersediaan senyawa bioaktif.

2. Ekstraksi

Salah satu hal yang penting pada tahap ekstraksi adalah pemilihan pelarut. Pelarut yang digunakan untuk setiap bahan pangan berbeda-beda sesuai berdasarkan polaritas senyawa bioaktif yang diinginkan misalnya, metanol, etanol, heksana. Pada ekstraksi terdapat berbagai metode yang bisa digunakan antara lain maserasi, ekstraksi Soxhlet, hidrodistilasi, ekstraksi pelarut dan cairan bertekanan.

3. Permurnian dan Pemisahan

Tahapan ini bertujuan untuk memisahkan ekstrak dari ampas padat dengan menggunakan filtrasi. Jika perlu, pekatkan ekstrak dengan evaporasi atau menggunakan *rotary evaporator*.

4. Identifikasi Senyawa

Identifikasi komponen bioaktif dalam bahan pangan yang sudah diekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain:

- a. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC): HPLC adalah metode analisis yang sangat umum digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengukur komponen bioaktif dalam sampel. Teknik ini memanfaatkan kolom kromatografi dan pelarut yang sesuai untuk memisahkan komponen berdasarkan sifat kimianya.
- b. Kromatografi Gas (GC): GC digunakan untuk analisis komponen bioaktif yang mudah menguap. Teknik ini memisahkan komponen berdasarkan volatilitas dan interaksi dengan fase diam di dalam kolom gas.
- c. Spektroskopi Massa (MS) MS adalah teknik yang digunakan untuk menentukan massa molekul dan struktur kimia komponen bioaktif. MS sering

dikombinasikan dengan HPLC (LC-MS) atau GC (GC-MS) untuk analisis yang lebih akurat.

- d. Spektroskopi NMR (Nuclear Magnetic Resonance) NMR digunakan untuk menentukan struktur dan interaksi molekul komponen bioaktif. Teknik ini memanfaatkan medan magnet kuat untuk mengamati perilaku inti atom dalam molekul.
- e. Enzimatis dan Bioassay: Teknik enzimatis dan bioassay digunakan untuk menentukan aktivitas biologis komponen bioaktif, seperti aktivitas antioksidan, antiinflamasi, atau antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(4). <https://doi.org/10.3390/plants6040042>
- Azeez, S., Narayana, C. K., & Oberoi, H. S. (2017). Extraction and Utilisation of Bioactive Compounds from agricultural Waste. In *Utilisation of Bioactive Compounds from Agricultural and Food Production Waste*. CRC Press.
- Bansal, M., Poonia, A., Kolluri, S. R. P., & Vasundhara. (2022). Introduction on Bioactive Compounds, Sources and their Potential Applications. In Thakur, M., Belwal, T. (eds) *Bioactive Components* (Nomor February, hal. 1-609). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-981-19-2366-1>
- Barba, F. J., Nikmaram, N., Roohinejad, S., Khelfa, A., Zhu, Z., & Koubaa, M. (2016). Bioavailability of Glucosinolates and Their Breakdown Products: Impact of Processing. *Frontiers in Nutrition*, 3(August), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fnut.2016.00024>
- Bech-Larsen, T., & Scholderer, J. (2007). Functional foods in Europe: consumer research, market experiences and regulatory aspects. *Trends in Food Science and Technology*, 18(4), 231-234. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.12.006>
- Britton, G., Pfander, H., & Liaaen-Jensen, S. (2009). *Carotenoids Volume 5: Nutrition and Health*. Birkhäuser.
- Brunton, L. L., Chabner, B. A., & Knollmann, B. C. (2011). *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics* (12th ed.). McGraw-Hill.
- Correia, R. T., Borges, K. C., Medeiros, M. F., & Genovese, M. I. (2011). Bioactive compounds and phenolic-linked functionality of powdered tropical fruit residues. *Food*

Science and Technology International, 18(6), 539–547.
<https://doi.org/10.1177/1082013211433077>

Day, L., Seymour, R. B., Pitts, K. F., Konczak, I., & Lundin, L. (2009). Incorporation of functional ingredients into foods. *Trends in Food Science and Technology*, 20(9), 388–395.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.05.002>

Dewick, P. M. (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach* (3rd ed.). John Wiley & Sons.

Dunford, N. T., Irmak, S., & Jonnala, R. (2010). Pressurised solvent extraction of policosanol from wheat straw, germ and bran. *Food Chemistry*, 119(3), 1246–1249.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.039>

Fincan, M., & Dejmek, P. (2002). In situ visualization of the effect of a pulsed electric field on plant tissue. *Journal of Food Engineering*, 55(3), 223–230. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00079-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00079-1)

Galanakis, C. M. (2017). Introduction. In *Nutraceutical and Functional Food Components: Effects of Innovative Processing Techniques*. Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805257-0.00001-6>

Galanakis, C. M., Markouli, E., & Gekas, V. (2013). Recovery and fractionation of different phenolic classes from winery sludge using ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 107, 245–251. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.01.034>

Hofmann, A., & Clokie, S. (2018). *Wilson and Walker's Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press.

Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328–2375. <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>

Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griel, A. E., & Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the

- prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*, 113(9 SUPPL. 2), 71–88.
[https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(01\)00995-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(01)00995-0)
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3 SUPPL.), 6–9.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/78.3.517s>
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
- Miron, T. L., Plaza, M., Bahrim, G., Ibáñez, E., & Herrero, M. (2011). Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants. *Journal of Chromatography A*, 1218(30), 4918–4927.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.11.055>
- Moebus, S., & Stang, A. (2007). Das metabolisches syndrom - Ein umstrittenes diagnostisches konzept. *Herz*, 32(7), 529–540.
<https://doi.org/10.1007/s00059-007-3025-9>
- Mollet, B., & Rowland, I. (2002). Functional foods: At the frontier between food and pharma. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(5), 483–485.
[https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00375-0](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00375-0)
- Parvathy, K. S., Negi, P. S., & Srinivas, P. (2009). Antioxidant, antimutagenic and antibacterial activities of curcumin- β -diglucoside. *Food Chemistry*, 115(1), 265–271.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.036>
- Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., García-Blairsy Reina, G., Herrero, M., Señoráns, F. J., & Ibáñez, E. (2010). Screening for bioactive compounds from algae. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 450–455.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.03.016>

- Rao, A. V., & Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 55(3), 207-216. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.01.012>
- Shahidi, F. (2009). Nutraceuticals and functional foods: Whole versus processed foods. *Trends in Food Science and Technology*, 20(9), 376-387. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.08.004>
- Silva, L. V., Nelson, D. L., Drummond, M. F. B., Dufossé, L., & Glória, M. B. A. (2005). Comparison of hydrodistillation methods for the deodorization of turmeric. *Food Research International*, 38(8-9), 1087-1096. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2005.02.025>
- Stahl, W., & Sies, H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1740(2), 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2004.12.006>
- Traka, M., & Mithen, R. (2009). Glucosinolates, isothiocyanates and human health. *Phytochemistry Reviews*, 8(1), 269-282. <https://doi.org/10.1007/s11101-008-9103-7>
- Varma, N. (2016). Phytoconstituents and their mode of extractions: An overview. *Research Journal of Chemical and Environmental Sciences*, 4(2), 8-15.
- Wilson, K., & Walker, J. (2010). Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology. In Cambridge University Press. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822654-4.00007-5>

BAB 10 | ANALISIS BAHAN PENYEGAR

Dody Handito, S.T.P., M.P.

A. Pendahuluan

Bahan penyegar makanan dan minuman telah menjadi bagian integral dari budaya konsumsi global. Produk-produk seperti jus buah, minuman berenergi, teh, kopi, es krim, dan berbagai jenis makanan penutup tidak hanya menawarkan kenikmatan rasa, tetapi juga menyegarkan tubuh dan pikiran. Dengan meningkatnya permintaan konsumen untuk produk-produk yang tidak hanya lezat tetapi juga sehat, analisis mendalam mengenai bahan penyegar menjadi sangat penting (Popkin dan Hawkes, 2016).

Di era modern ini, preferensi konsumen terhadap bahan penyegar mengalami perubahan signifikan. Kesadaran akan pentingnya kesehatan dan keberlanjutan lingkungan telah mendorong inovasi dalam formulasi dan produksi bahan penyegar. Konsumen semakin tertarik pada produk yang alami, rendah kalori, dan ramah lingkungan. Hal ini menantang industri makanan dan minuman untuk terus beradaptasi dan berinovasi dalam memenuhi tuntutan pasar yang dinamis. Selain itu, dengan perkembangan teknologi pengolahan, metode pembuatan bahan penyegar pun mengalami transformasi (Küster-Boluda dan Vidal-Capilla, 2017).

Teknologi pengolahan modern seperti pasteurisasi, sterilisasi, dan teknik aseptik telah meningkatkan kualitas dan keamanan produk bahan penyegar. Namun, penggunaan bahan tambahan kimia dalam proses ini menimbulkan pertanyaan

tentang dampak jangka panjang terhadap kesehatan konsumen. Inovasi dalam teknologi pengolahan terus berkembang untuk menghasilkan produk yang lebih sehat dan aman (Ribani dkk., 2009).

Manfaat kesehatan dari bahan penyegar sangat bervariasi tergantung pada jenis dan komposisinya. Misalnya, minuman teh dan kopi dikenal karena kandungan antioksidan dan kafeinnya yang dapat meningkatkan konsentrasi dan metabolisme. Sedangkan jus buah mengandung vitamin dan mineral yang sangat dibutuhkan bagi kesehatan tubuh. Di sisi lain, konsumsi berlebihan dari bahan penyegar tertentu, seperti minuman berenergi dengan kandungan gula dan kafein tinggi, dapat menimbulkan risiko kesehatan seperti obesitas dan gangguan jantung (Popkin dan Hawkes, 2016).

B. Tujuan Analisis Bahan Penyegar

Analisis bahan penyegar makanan dan minuman memiliki beberapa tujuan utama yang berkaitan dengan komposisi kimia, manfaat kesehatan, teknologi pengolahan, preferensi konsumen serta dampak lingkungan. Berikut ini adalah tujuan-tujuan utama dari analisis tersebut:

1. Mengetahui Komposisi Kimia

Tujuan pertama dari analisis bahan penyegar adalah untuk mengetahui komposisi kimia dari berbagai produk tersebut. Ini melibatkan identifikasi komponen utama seperti air, gula, asam organik, kafein, vitamin, mineral, dan senyawa volatil yang memberikan aroma dan rasa khas (Ribani dkk., 2009). Dengan memahami komposisi kimia, kita dapat menilai kualitas dan keamanan produk.

2. Mengevaluasi Manfaat Kesehatan

Tujuan kedua adalah untuk mengevaluasi manfaat kesehatan dari bahan penyegar. Produk-produk seperti teh dan kopi dikenal karena kandungan antioksidan dan kafeinnya yang dapat meningkatkan konsentrasi dan metabolisme (Reilly dan Waterhouse, 2009; Teoh dan Latiff, 2016). Jus buah diketahui memiliki zat gizi vitamin dan

mineral yang sangat bermanfaat untuk kesehatan tubuh. Evaluasi ini juga mencakup potensi risiko kesehatan dari konsumsi berlebihan, seperti obesitas dan gangguan kardiovaskuler akibat kandungan gula dan kafein yang tinggi (Miller dan Perez, 2014; Steele dkk., 2016).

3. Mengkaji Teknologi Pengolahan

Tujuan ketiga adalah untuk mengkaji teknologi pengolahan yang digunakan dalam produksi bahan penyegar. Teknologi seperti pasteurisasi, sterilisasi, dan teknik aseptik telah meningkatkan kualitas dan keamanan produk, meskipun masih ada tantangan terkait penggunaan bahan tambahan kimia dan dampaknya terhadap kesehatan jangka panjang (Ribani dkk., 2009).

4. Menganalisis Preferensi Konsumen

Tujuan keempat adalah untuk menganalisis preferensi konsumen terhadap bahan penyegar. Konsumen semakin tertarik pada produk yang alami, rendah kalori, dan diproduksi dengan cara yang ramah lingkungan. Pemahaman tentang preferensi ini penting bagi industri untuk beradaptasi dan berinovasi dalam memenuhi tuntutan pasar yang dinamis (Varela dan Ares, 2012; Küster-Boluda dan Vidal-Capilla, 2017).

5. Menilai Dampak Lingkungan

Tujuan kelima adalah untuk menilai dampak lingkungan dari produksi dan konsumsi bahan penyegar ini yang mencakup penggunaan sumber daya alam, produksi limbah, dan upaya daur ulang dalam industri minuman. Upaya untuk mengurangi jejak karbon dan meningkatkan keberlanjutan produk sangat penting dalam konteks perubahan iklim dan degradasi lingkungan (Popkin dan Hawkes, 2016).

C. Klasifikasi Jenis-Jenis Bahan Penyegar

Bahan penyegar makanan dan minuman mempunyai peran penting dalam kehidupan sehari-hari. Produk-produk ini tidak hanya menawarkan rasa segar dan kenikmatan, tetapi juga berbagai manfaat kesehatan. Dengan perkembangan teknologi

dan peningkatan kesadaran kesehatan, berbagai jenis bahan penyegar kini tersedia di pasar, masing-masing dengan karakteristik dan manfaatnya yang unik.

1. Berdasarkan Sumber Utama

- a. Buah-buahan: Bahan penyegar dari buah-buahan seperti jus jeruk, jus apel, dan *smoothies*. Buah-buahan mengandung zat gizi mineral, vitamin, dan antioksidan yang berperan penting bagi kesehatan tubuh (Ribani dkk., 2009).
- b. Tanaman dan herbal: Bahan penyegar dari tanaman dan herbal seperti teh hijau, teh chamomile, dan infus herbal. Teh dan herbal memiliki berbagai senyawa bioaktif seperti polifenol yang bermanfaat bagi kesehatan (Teoh dan Latiff, 2016).
- c. Biji-bijian: Bahan penyegar dari biji-bijian seperti kopi dan minuman berbasis kacang kedelai. Kopi dikenal karena kandungan kafeinnya yang dapat meningkatkan kewaspadaan dan energi (Reilly dan Waterhouse, 2009).
- d. Susu dan produk olahannya: Bahan penyegar seperti es krim, yogurt, dan *milkshake* yang berbasis susu. Produk ini mengandung mineral kalsium, vitamin D, dan protein yang dapat menyehatkan tulang (Steele dkk., 2016).

2. Berdasarkan Metode Pengolahan

- a. Segar: Produk yang tidak mengalami proses pengolahan yang signifikan, seperti jus buah segar dan air kelapa. Produk segar ini mempertahankan nutrisi alaminya (Ribani dkk., 2009).
- b. Dikemas: Produk yang mengalami pengolahan dan pengemasan untuk meningkatkan umur simpan, seperti jus kaleng, teh botol, dan minuman berenergi. Pengemasan ini melibatkan pasteurisasi atau sterilisasi untuk menjaga keamanan produk (Teoh dan Latiff, 2016).
- c. Fermentasi: Produk yang dihasilkan melalui proses fermentasi, seperti kefir, kombucha, dan yogurt. Fermentasi meningkatkan kandungan probiotik yang baik

untuk kesehatan pencernaan (Reilly dan Waterhouse, 2009).

3. Berdasarkan Komposisi Nutrisi

- a. Tinggi gula: Bahan penyegar dengan kadar gula tinggi seperti soda, jus buah manis, dan minuman berenergi. Konsumsi gula yang tinggi dapat mengakibatkan penyakit diabetes dan obesitas (Steele dkk., 2016).
- b. Rendah kalori: Minuman yang menggunakan pemanis buatan atau pemanis alami rendah kalori seperti minuman diet dan air mineral berperisa. Ini cocok untuk mereka yang ingin mengatur asupan kalornya (Miller dan Perez, 2014).
- c. Kaya protein: Bahan penyegar yang mengandung protein tinggi seperti *smoothies* protein, *milkshake*, dan minuman berbasis kacang. Protein penting untuk perbaikan dan pertumbuhan otot (Ribani dkk., 2009).

4. Berdasarkan Fungsi Kesehatan

- a. Hidratasi: Minuman seperti air mineral, air kelapa, dan minuman elektrolit yang bertujuan untuk menghidrasi tubuh dengan cepat (Teoh dan Latiff, 2016).
- b. Energi: Minuman berenergi dan kopi yang mengandung kafein untuk meningkatkan energi dan kewaspadaan (Reilly dan Waterhouse, 2009).
- c. Relaksasi: Teh herbal seperti chamomile dan lavender yang diketahui dapat memberikan efek menenangkan dan menurunkan tingkat stres (Teoh dan Latiff, 2016).

D. Fungsi Utama Bahan Penyegar

Bahan penyegar berperan sangat penting dalam industri pangan, tidak hanya untuk meningkatkan rasa dan aroma, tetapi juga untuk memberikan nilai tambah dalam hal kesehatan dan daya tarik konsumen. Beberapa fungsi utama bahan penyegar di antaranya:

1. Meningkatkan Rasa Dan Aroma

Bahan penyegar digunakan untuk meningkatkan rasa dan aroma produk makanan dan minuman, misalnya ekstrak buah-buahan seperti jeruk, mangga, dan markisa digunakan dalam pembuatan minuman jus untuk memberikan rasa buah yang alami dan aroma yang segar.

- a. Kopi, memberikan rasa pahit dan aroma khas yang disukai banyak konsumen. Kandungan senyawa volatil seperti *furfuryl mercaptan* dan *2-furfurylthiol* berkontribusi pada aroma khas kopi.
- b. Teh, mengandung senyawa seperti *theaflavin* dan *thearubigin* yang memberikan rasa sepat dan aroma khas. Variasi produk teh, yaitu teh hijau dan teh hitam mempunyai profil rasa yang berbeda yang dihasilkan oleh proses pengolahan yang berbeda.
- c. Minuman berkarbonasi, memberikan rasa manis dan asam dari gula dan asam karbonat memberikan sensasi yang menyegarkan. Penambahan perasa buah dan vanila juga meningkatkan daya tarik produk.

2. Menyediakan Nutrisi

Beberapa bahan penyegar juga berperan sebagai sumber nutrisi penting. Contohnya jus dari buah-buahan yang mengandung zat gizi mikro (vitamin dan mineral) yang bermanfaat untuk kesehatan. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa jus buah dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap asupan vitamin C dan antioksidan dalam diet sehari-hari.

3. Bahan Fungsional

- a. Probiotik dalam minuman fermentasi: Minuman seperti kombucha mengandung probiotik yang bermanfaat untuk kesehatan saluran pencernaan.
- b. Fortifikasi dengan vitamin dan mineral: Banyak minuman penyegar sekarang diperkaya dengan vitamin dan mineral untuk meningkatkan nilai gizi produk seperti jus jeruk yang difortifikasi dengan kalsium.

- c. Adaptogen dalam minuman fungsional: Adaptogen seperti ginseng dan ashwagandha ditambahkan ke dalam beberapa minuman untuk membantu tubuh mengatasi stres dan meningkatkan kesejahteraan secara keseluruhan.

4. Memberikan Efek Stimulasi

Kopi adalah contoh yang baik dari bahan penyegar yang memberikan efek stimulasi melalui kandungan kafeinnya. Kafein dalam kopi tidak hanya meningkatkan kewaspadaan, tetapi juga memberikan dorongan energi yang dibutuhkan untuk aktivitas sehari-hari.

5. Memberikan Manfaat Kesehatan Tambahan

Bahan penyegar tertentu juga dikenal memiliki manfaat kesehatan tambahan. Teh hijau kaya akan polifenol dan antioksidan yang memiliki efek protektif terhadap kesehatan jantung dan menurunkan risiko penyakit degeneratif.

- a. Kopi, mengandung senyawa asam klorogenat yang bersifat antioksidan untuk melawan radikal bebas. Konsumsi kopi dihubungkan juga dengan menurunnya risiko beberapa penyakit kronis seperti diabetes tipe 2 dan penyakit Parkinson.
- b. Teh, mengandung senyawa polifenol yang bersifat antioksidan dan antiinflamasi. Teh hijau dikenal karena manfaat kesehatannya, yaitu dapat menurunkan risiko penyakit jantung dan meningkatkan fungsi otak.
- c. Minuman energi, biasanya mengandung kafein dan vitamin B kompleks yang dapat meningkatkan energi dan fokus mental dalam jangka pendek.

E. Karakteristik Fisik dari Bahan Penyegar

1. Karakteristik Fisik Kopi

Tiga lapisan yang membentuk buah kopi adalah lapisan kulit internal (*endoscarp*), lapisan daging (*mesocarp*), dan lapisan kulit luar (*exocarp*). Karakteristik fisik biji kopi, termasuk warna, penurunan berat, kadar air, tekstur, dan

kepadatan, dapat digunakan untuk menentukan tingkat sangrai. Persamaan kinetik dapat digunakan untuk memprediksi penurunan kekerasan dan kepadatan, sedangkan penurunan nilai menunjukkan perubahan warna. Temuan penelitian menunjukkan bahwa variasi dalam karakteristik mekanik dan fisik kopi dipengaruhi oleh suhu saat dipanggang. Untuk biji kopi yang dipanggang dengan baik, dianjurkan memanggang pada suhu 200 °C selama 12 menit dengan suhu minimum 180 °C.



Gambar 10.1 Bahan Penyegar (Kopi)

2. Karakteristik Fisik Teh

Sebelum adanya pengembangan teknik untuk mengevaluasi kualitas fisik, maka kualitas fisik teh dinilai dengan cara sensori. Karakteristik ini termasuk bentuk, kepadatan, ukuran partikel, warna (air diseduh, teh kering), kerapuhan, kekeringan, dan lain-lain. Ciri-ciri kualitas fisik tertentu saat ini dapat diidentifikasi dengan menggunakan teknik dan alat analisis fisik tertentu yang memberikan hasil kuantitatif lebih baik. Alat Chromameter dapat digunakan untuk mengukur warna teh yang dinyatakan sebagai jumlah total warna atau persen absorpsi cahaya tampak pada panjang gelombang tertentu.



Gambar 10.2 Bahan Penyegar (Teh)

3. Karakteristik Fisik Cokelat (Kakao)

Kadar air biji kakao merupakan karakteristik fisik yang sangat mempengaruhi rendemen (*yield*), daya tahan biji kakao terhadap kerusakan terutama saat penyimpanan dan transportasi. Kadar air biji kakao yang tinggi sangat rentan terhadap serangan jamur dan serangga sehingga sangat tidak disukai oleh konsumen karena cenderung menurunkan *flavor* dan aroma yang tidak dapat diperbaiki pada proses selanjutnya. Standar mutu kadar air biji kakao untuk ekspor adalah 6 - 7 %. Jika kadar air terlalu tinggi, maka biji kakao tidak dapat disimpan dalam waktu lama, sedangkan jika kadar air terlalu rendah, maka biji kakao cenderung menjadi rapuh.

Ukuran biji kakao menentukan jumlah lemaknya. Semakin besar biji kakao, maka semakin tinggi lemak di dalam biji. Ukuran biji kakao adalah jumlah biji (*beans account*) dalam 100 g bahan uji yang diambil secara acak pada kadar air 6 - 7 %. Ukuran biji rata-rata yang memenuhi standar mutu ekspor adalah antara 1,0 - 1,2 g atau 85 - 100 biji per 100 g. Beberapa faktor yang mempengaruhi ukuran biji kakao kering adalah jenis bahan tanaman, keadaan kebun (curah hujan) selama perkembangan buah, perlakuan agronomis dan teknik pengolahan.

Bagian biji kakao adalah keping biji (*nib*) yang dilapisi oleh kulit (*shell*). Kadar kulit dapat diketahui dari perbandingan berat kulit dan berat total biji kakao (kulit + keping) pada kadar air 6 - 7 %. Standar umum dari kadar kulit biji kakao, yaitu antara 11 - 13 %. Akan tetapi, kadar kulit itu ditentukan oleh permintaan konsumen. Sebagian konsumen bersedia membeli biji kakao yang kadar kulitnya di atas standar tersebut. Jika kadar kulit lebih tinggi dari ketentuan, maka konsumen akan memperhitungkan koreksi harga, karena seperti ukuran biji, kadar kulit mempengaruhi hasil lemak. Biji kakao dengan kadar kulit terlalu tinggi cenderung lebih kuat ditumpuk sehingga dapat disimpan lebih lama. Sedangkan kadar kulit terlalu rendah akan menyebabkan kerugian bagi penjual (eksportir) biji kakao karena kehilangan bobotnya. Kadar kulit biji kakao dipengaruhi oleh jenis bahan tanaman dan cara pengolahan (fermentasi dan pencucian).



Gambar 10.3 Bahan Penyegar (Kakao)

F. Metode Analisis Bahan Penyegar

Metode analisis bahan penyegar memainkan peran penting dalam memastikan kualitas, keamanan, dan kepatuhan terhadap regulasi produk makanan dan minuman. Di dalam hal ini, kita akan menjelajahi berbagai metode analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi, mengukur, dan mengevaluasi bahan penyegar. Pemahaman yang mendalam tentang metode-metode ini penting untuk industri dalam

memastikan produk yang dihasilkan memenuhi standar yang diharapkan.

Berikut ini dijelaskan beberapa metode analisis yang digunakan untuk menganalisis bahan penyegar dalam industri pangan:

1. Analisis Proksimat

Analisis proksimat adalah metode standar yang digunakan untuk menentukan komposisi nutrisi dasar dari bahan makanan dan minuman. Di dalam industri makanan dan minuman, analisis proksimat sangat penting untuk memastikan kualitas dan nilai gizi dari bahan penyegar yang digunakan.

- a. Penentuan kadar air: Metode ini melibatkan penghilangan air dari sampel menggunakan oven pada suhu tertentu.
- b. Penentuan kadar abu: Sampel dibakar pada suhu tinggi untuk mengukur sisa abu setelah pembakaran lengkap.
- c. Penentuan kadar protein: Metode Kjeldahl digunakan untuk mengukur jumlah nitrogen total yang kemudian diubah menjadi jumlah protein dengan faktor konversi yang tepat.
- d. Penentuan kadar lemak: Metode Soxhlet digunakan untuk mengekstraksi lemak dari sampel menggunakan pelarut organik seperti heksana.
- e. Penentuan kadar karbohidrat: Metode ini melibatkan pengukuran total karbohidrat setelah penghilangan komponen lain seperti protein, lemak, dan serat.

Signifikansi analisis proksimat pada industri pangan antara lain adalah:

- a. Kualitas produk: Menentukan komposisi kimia yang akurat memastikan bahwa produk memenuhi standar kualitas yang diharapkan.
- b. Stabilitas produk: Memahami kadar air, lemak, dan komponen lain membantu dalam mengatur stabilitas produk selama penyimpanan dan distribusi.

- c. Regulasi: Penting untuk mematuhi regulasi keamanan pangan dengan memastikan bahwa bahan penyegar tidak mengandung kontaminan berbahaya dalam konsentrasi yang tinggi.

2. Analisis Komponen Aktif

Analisis komponen aktif dalam bahan penyegar merupakan aspek yang penting dalam industri pangan untuk memastikan bahwa produk pangan tidak hanya memiliki karakteristik organoleptik yang diinginkan, tetapi juga memberikan nilai tambah dalam hal gizi, kesehatan, dan stabilitas produk.

Analisis komponen aktif bertujuan untuk mengidentifikasi, mengukur, dan memahami senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam bahan penyegar. Senyawa-senyawa ini dapat berupa vitamin, mineral, antioksidan, pigmen, asam amino, atau senyawa bioaktif lainnya yang memberikan manfaat tambahan bagi kesehatan atau karakteristik produk.

Berikut beberapa teknik analisis yang umum digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur komponen aktif dalam bahan penyegar:

- a. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) digunakan untuk pemisahan dan pengukuran senyawa aktif seperti vitamin, antioksidan, dan senyawa lain yang penting untuk kualitas produk.
- b. Kromatografi Gas (GC) berguna untuk analisis senyawa volatil seperti ester, aldehida, dan alkohol yang memberikan kontribusi pada aroma dan rasa produk.
- c. Spektrofotometri termasuk spektrofotometri UV-Vis untuk mengukur absorbansi pada panjang gelombang tertentu, sering digunakan untuk mengukur konsentrasi senyawa tertentu dalam bahan penyegar.
- d. Spektrometri massa digunakan untuk identifikasi senyawa berdasarkan rasio massa terhadap muatan, sering digunakan dalam penelitian keberadaan senyawa bioaktif dalam bahan penyegar.

3. Analisis Sensori

Analisis sensori adalah metode evaluasi yang menggunakan indra manusia (penglihatan, penciuman, perasa, pendengaran, dan perabaan) untuk menilai sifat-sifat organoleptik dari produk makanan dan minuman. Di dalam konteks bahan penyegar, analisis sensori berfungsi untuk mengevaluasi kualitas produk berdasarkan preferensi konsumen, memastikan konsistensi produk, dan membantu dalam pengembangan produk baru (Stone dan Sidel, 2004).

Komponen analisis sensori terdiri dari beberapa atribut mutu, yaitu:

- a. Rasa (*taste*) adalah salah satu aspek utama dalam penilaian bahan penyegar. Rasa dasar seperti pahit, manis, asam, asin, dan umami dievaluasi untuk menentukan penerimaan konsumen (Meilgaard dkk., 2007).
- b. Aroma (*aroma*) merupakan komponen penting yang mempengaruhi persepsi keseluruhan terhadap bahan penyegar. Evaluasi aroma dilakukan melalui penciuman langsung atau melalui analisis deskriptif yang lebih mendetail (Drake, 2007).
- c. Warna (*color*) mempengaruhi persepsi konsumen terhadap kesegaran dan kualitas produk. Penilaian warna biasanya dilakukan secara visual menggunakan panelis atau alat pengukur warna (Francis, 1995).
- d. Tekstur (*texture*) penting terutama untuk produk makanan padat atau semi-padat. Tekstur dievaluasi berdasarkan kekentalan, kekenyalan, dan kelembutan produk (Bourne, 2002).
- e. *Aftertaste* atau rasa sisa setelah konsumsi juga penting dalam penilaian bahan penyegar, terutama untuk minuman seperti kopi dan teh yang memiliki profil rasa kompleks (Clarke, 1986).

Metode analisis sensori meliputi beberapa hal sebagai berikut:

- a. *Hedonic Test*: Tes hedonik digunakan untuk mengevaluasi tingkat kesukaan konsumen terhadap produk. Panelis diminta untuk menilai produk berdasarkan skala kesukaan (Lawless dan Heymann, 2010).
- b. *Descriptive Analysis*: Analisis deskriptif digunakan untuk menggambarkan profil sensori produk secara rinci. Panelis terlatih menggambarkan intensitas dan kualitas atribut sensori (Stone dkk., 2012).
- c. *Discrimination Test*: Tes diskriminasi seperti *Triangle Test* atau *Duo-Trio Test* untuk menentukan adanya perbedaan sensori yang signifikan antara dua atau lebih sampel (Meilgaard dkk., 2007).
- d. *Paired Comparison Test*: Tes ini membandingkan dua sampel secara langsung untuk menentukan preferensi atau perbedaan dalam satu atribut tertentu (Lawless dan Heymann, 2010).

G. Inovasi dalam Teknologi Analisis Bahan Penyegar

Inovasi teknologi dalam analisis bahan penyegar terus berkembang seiring dengan kebutuhan industri makanan dan minuman untuk memastikan kualitas, keamanan, dan efektivitas produk. Teknologi analisis yang canggih memungkinkan pengukuran yang lebih akurat dan efisien dari komponen-komponen penting dalam bahan penyegar.

1. Inovasi dalam Spektroskopi

Spektroskopi merupakan salah satu teknologi analisis yang paling banyak dimanfaatkan untuk evaluasi bahan penyegar. Inovasi dalam spektroskopi, seperti *Near-Infrared Spectroscopy* (NIRS) dan *Raman Spectroscopy*, telah meningkatkan kemampuan untuk menganalisis komposisi kimia secara non-destruktif.

- a. *Near-Infrared Spectroscopy* (NIRS) digunakan untuk mengukur komponen kimia seperti kadar air, gula, dan asam organik dalam buah dan jus. Teknologi ini cepat dan

tidak merusak sampel, memungkinkan analisis secara *real-time* selama produksi (Beghi dkk., 2017).

- b. *Raman Spectroscopy* memberikan informasi tentang struktur molekuler bahan penyegar, membantu dalam identifikasi senyawa bioaktif dan kontaminan. Inovasi terbaru telah meningkatkan sensitivitas dan kecepatan analisis (Ellis dan Goodacre, 2006).

2. Inovasi dalam Kromatografi

Kromatografi merupakan metode analisis yang esensial dalam pemisahan dan identifikasi komponen kimia dalam bahan penyegar. Inovasi dalam teknologi kromatografi telah meningkatkan resolusi, kecepatan, dan sensitivitas analisis.

- a. *Ultra-High-Performance Liquid Chromatography* (UHPLC) menawarkan kecepatan analisis yang lebih tinggi dan resolusi yang lebih baik dibandingkan HPLC konvensional. Teknologi ini sangat efektif untuk menganalisis kandungan vitamin, polifenol, dan senyawa bioaktif lainnya dalam minuman (Dong, 2006).
- b. *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk menganalisis senyawa volatil dalam bahan penyegar seperti minyak esensial dan aroma. Inovasi dalam detektor dan kolom kromatografi telah meningkatkan kemampuan identifikasi senyawa dengan sensitivitas tinggi (Smith, 2004).

3. Inovasi dalam Analisis Molekuler

Teknik analisis molekuler telah mengalami kemajuan signifikan, memungkinkan deteksi yang lebih spesifik dan sensitif terhadap mikroorganisme dan komponen genetik dalam bahan penyegar.

- a. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan variasinya seperti *Real-Time* PCR digunakan untuk mendeteksi keberadaan mikroorganisme patogen dalam minuman. Teknologi ini memungkinkan deteksi yang cepat dan akurat (Logan dkk., 2009).

- b. *Next-Generation Sequencing* (NGS) digunakan untuk analisis mikrobioma dalam minuman fermentasi seperti kombucha dan kefir, memberikan wawasan mendalam tentang komunitas mikroba dan interaksinya (Shokralla dkk., 2012).

4. Inovasi dalam Analisis Sensori

Inovasi dalam analisis sensori telah memperkenalkan teknologi baru yang meningkatkan obyektivitas dan *reproducibility* dalam evaluasi kualitas organoleptik bahan penyegar.

- a. *Electronic Nose (E-nose)* digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi aroma dan bau secara obyektif. Teknologi ini menggunakan sensor gas untuk mengukur profil aroma secara konsisten (Ampuero dan Bosset, 2003).
- b. *Electronic Tongue (E-tongue)* digunakan untuk mengevaluasi rasa dengan sensor yang meniru reseptor rasa manusia. Teknologi ini membantu dalam pengembangan produk dengan profil rasa yang diinginkan (Winqvist, 2008).

DAFTAR PUSTAKA

- Ampuero, S., and Bosset, J. O. (2003). The electronic nose applied to dairy products: a review. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 94(1), 1-12.
- Beghi, R., Giovenzana, V., and Guidetti, R. (2017). Rapid monitoring of sugar content in apple fruits using a novel NIR handheld device. *Biosystems Engineering*, 151, 52-59.
- Bourne, M. C. (2002). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press.
- Clarke, R. J. (1986). *Coffee: Volume 1: Chemistry*. Springer Science & Business Media.
- Dong, M. W. (2006). *Modern HPLC for Practicing Scientists*. Hoboken: John Wiley & Sons.
- Drake, M. A. (2007). Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 4925-4937.
- Ellis, D. I., and Goodacre, R. (2006). Metabolomics-assisted synthetic biology. *Current Opinion in Biotechnology*, 22(5), 648-654.
- Francis, F. J. (1995). Quality as Influenced by Color. In A. A. Kader (Ed.), *Postharvest Technology of Horticultural Crops* (pp. 1-6). University of California, Agriculture and Natural Resources.
- Küster-Boluda, I., and Vidal-Capilla, I. (2017). The use of eco-labels in the tourism industry: Results from a content analysis in search engines. *International Journal of Tourism Research*, 19(3), 280-290.
- Lawless, H. T., and Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. Springer Science & Business Media.
- Logan, J., Edwards, K., and Saunders, N. (2009). *Real-time PCR: Current technology and applications*. Caister Academic Press.

- Meilgaard, M. C., Civille, G. V., and Carr, B. T. (2007). *Sensory Evaluation Techniques*. CRC Press.
- Miller, P. E., and Perez, V. (2014). Low-calorie sweeteners and body weight and composition: a meta-analysis of randomized controlled trials and prospective cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 100(3), 765-777.
- Popkin, B. M., and Hawkes, C. (2016). Sweetening of the global diet, particularly beverages: patterns, trends, and policy responses. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 4(2), 174-186.
- Reilly, T., and Waterhouse, J. (2009). Sports performance: effects of time of day. *Encyclopedia of Neuroscience*, 9, 885-893.
- Ribani, R. H., Bott, R., and Borges, G. R. (2009). Food analysis by HPLC: an overview of the use of this technique in the analysis of fruits and vegetable juices. *Journal of Chromatographic Science*, 47(7), 600-610.
- Shokralla, S., Spall, J. L., Gibson, J. F., and Hajibabaei, M. (2012). Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Molecular Ecology*, 21(8), 1794-1805.
- Smith, R. M. (2004). *Understanding Mass Spectra: A Basic Approach*. Hoboken: John Wiley & Sons.
- Steele, E. M., Baraldi, L. G., Louzada, M. L. D. C., Moubarac, J. C., Mozaffarian, D., and Monteiro, C. A. (2016). Ultra-processed foods and added sugars in the US diet: evidence from a nationally representative cross-sectional study. *BMJ Open*, 6(3), e009892.
- Stone, H., and Sidel, J. L. (2004). *Sensory Evaluation Practices*. Academic Press.
- Stone, H., Bleibaum, R., and Thomas, H. A. (2012). *Sensory Evaluation Practices*. Academic Press.

- Teoh, S. L., and Latiff, A. A. (2016). The effects of herbal teas on human health. *Functional Foods in Health and Disease*, 6(2), 73-87.
- Varela, P., and Ares, G. (2012). Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. *Food Research International*, 48(2), 893-908.
- Winqvist, F. (2008). Voltammetric electronic tongues, basic principles and applications. *Microchimica Acta*, 163(1-2), 3-10.

BAB 11 | ANALISIS BAHAN TAMBAHAN PANGAN

Marius Agung Sasmita Jati, S.Si, M.Sc.

A. Pendahuluan

1. Pengertian Bahan Tambahan Pangan

Bahan Tambahan Pangan (BTP) adalah zat non gizi yang ditambahkan ke dalam makanan yang berfungsi mempertahankan atau meningkatkan keamanan, kesegaran, cita-rasa, tekstur atau kemantapan, atau estetika dari produk. BTP berasal dari bahan alami dari alam (dapat berupa isolasi senyawa) maupun sintetik (buatan manusia dari hasil penemuan). Menurut (BPOM RI 2019) Bahan Tambahan pangan adalah bahan dasar non gizi yang dapat berupa Pangan segar ataupun Pangan Olahan yang dapat digunakan untuk memproduksi Pangan. Dalam konsumsi sehari-hari BTP seringkali digunakan oleh masyarakat untuk membantu mengolah makanan baik berupa jajanan maupun makanan atau minuman dalam kemasan. Pada faktanya, ada sebagian masyarakat tidak mengetahui dan tidak mengenali mengenai BTP yang telah dilarang. Hal ini menjadi perhatian utama dalam penyampaian ini. Tentunya ada konsekuensi kesehatan yang harus diambil jika menggunakan BTP yang berlebih atau yang dilarang. Disisi lain tentunya menguntungkan karena bersifat mengawetkan makanan. Penggunaan BTP harus bijak dengan mempertimbangkan aspek kesehatan beserta aspek kerugian kesehatan yang didapat.

Pengertian BTP di setiap negara dapat mempunyai arti yang beragam berdasarkan temuan dari kerugian kesehatan yang dihasilkan, meskipun demikian BTP tetap selalu ada untuk jenis makanan kemasan yang diproduksi secara massal dan untuk jangka waktu tertentu. Penggunaan BTP di dalam pengolahan pangan secara umum ditujukan untuk :

- a. Menghambat pertumbuhan bakteri atau mikroorganisme lain yang merugikan untuk kesehatan manusia
- b. Memperpanjang masa simpan
- c. Meningkatkan nilai estetika pangan dan minuman
- d. Mempertahankan nilai gizi pangan dan minuman

B. Pentingnya Pengetahuan Bahan Tambahan Pangan

Pengetahuan mengenai BTP sangat penting untuk menjamin keamanan pangan, mematuhi regulasi, dan memenuhi harapan konsumen. Penggunaan BTP yang tidak tepat dapat menimbulkan risiko kesehatan serius. Penelitian mengenai pengetahuan penggunaan BTP banyak ditemukan pada populasi dan sampel yaitu secara dominan terbanyak di sekolah-sekolah dalam bentuk bahan tambahan pada jajanan sekolah, hal ini dapat menjadikan potensi penyalahgunaan BTP-BTP yang berbahaya dan sudah dilarang peredarannya secara global (Khairi, Juwitaningtyas, and Narwanti 2020). Melalui studi penelitian tersebut dapat dilihat bahwa tingkat pengetahuan dari pedagang/produsen jajanan sekolah ataupun makanan ringan di lingkungan sekolah berperan penting dalam dalam peredaran BTP baik BTP yang diizinkan dengan kadar tertentu atau BTP yang sudah dilarang sama sekali. Adanya temuan zat BTP di dalam suatu makanan di Bandar Lampung yang melebihi standar kadar yang diizinkan dan dihasilkan penelitian berupa terdapat hubungan antara tingkat pendidikan responden terhadap keputusan membeli saos. Hal ini membuktikan bahwa adanya ketidaktahuan dalam mengenali BTP yang kemungkinan ada dalam setiap bahan pelengkap makanan dan minuman (Noviyantini et al. 2019). Untuk itu masyarakat diharapkan dapat mengetahui bagaimana analisis

BTP secara sederhana dilakukan agar dapat menjaga kesehatan diri sendiri.

C. Tujuan Buku Telaah

Buku ini bertujuan untuk memberikan pandangan menyeluruh mengenai jenis, peraturan, metodologi analisis, dan perkembangan terkini dalam bidang bahan tambahan pangan. Diharapkan dapat menjadi panduan bagi masyarakat umum maupun pelajar dan mahasiswa.

D. Klasifikasi Bahan Tambahan Pangan

1. Pengawet

Pengawet digunakan untuk mencegah atau memperlambat pertumbuhan mikroba yang dapat membusukkan atau merusak makanan, seperti natrium benzoat dan kalium sorbat. Dalam hal ini yang dapat mengganggu proses fermentasi, pengasaman, dan dekomposisi dari makanan (India 2012). Pengawet terbagi menjadi 3 Golongan yaitu

a. Pengawet Alami

Diantaranya garam dapur, gula pasir, Dekstrosa, bumbu atau rempah, minyak nabati esensial

b. Pengawet Buatan yang Bersifat Anorganik

Diantaranya garam sulfit, hidrogen peroksida, garam nitrat dan garam nitrit terutama dari golongan alkali IA

c. Pengawet Buatan yang Bersifat Organik

Diantaranya asam sorbat dan garamnya, asam propionat dan garamnya, asam benzoat dan garamnya, asam asetat dan beberapa senyawa epoksida

Pengawet buatan yang diijinkan tetap harus mematuhi dosis dalam penggunaannya. Dosis yang diperbolehkan beredar adalah dosis dari penetapan dosis aturan internasional. Beberapa zat pengawet yang diizinkan dan dipatuhi dosisnya yaitu: Natrium benzoat, Propionat, Nitrit, sorbat, sulfit. Beberapa pengawet yang

sudah dilarang dari peredarannya yaitu : formalin, boraks, asam borat

2. Pemanis

Pada dasarnya pemanis memberikan rasa manis tanpa kalori tinggi. Terdapat 2 jenis pemanis yang beredar yaitu pemanis dari bahan alami dan pemanis sintetik atau buatan. Contoh pemanis buatan yaitu: sorbitol, madu, Manitol, gula kelapa, Isomalt, Glikosida steviol, sirup yakon dan Maltitol, Silitol. Akan tetapi yang menjadi perhatian utama dari BTP itu sendiri adalah pemanis buatan. Pemanis buatan ini pada awal mulanya ditujukan kepada orang yang mengalami gangguan metabolisme karbohidrat yaitu penderita diabetes melitus. Namun saat ini digunakan sebagai BTP. Penyalahgunaan ini beralasan bahwa :

- a. Harga jauh lebih mudah
- b. Diperlukan komposisi yang sedikit untuk memberikan rasa yang jauh lebih manis
- c. Dikonsumsi penderita gangguan metabolisme glukosa selain diabetes melitus

Contoh dari pemanis buatan yaitu Sakarin, Sukralosa, Neotam, Sorbitol, Kalium Asesulfam, Aspartam. Untuk anak-anak tidak diperbolehkan mengkonsumsi pemanis buatan karena anak-anak membutuhkan kalori dari karbohidrat yakni monosakarida yang tinggi (glukosa) untuk menunjang aktivitas gerak tubuhnya seperti halnya glukosa, yang justru pemanis buatan juga terdapat efek sampingnya jika terlalu banyak dikonsumsi. Siklamat merupakan salah satu pemanis BTP yang sudah dilarang penggunaannya karena bersifat karsinogenik yang telah dilaporkan FDA dan BPOM (BPOM RI 2019).

Pemanis buatan yang dilarang beredar di seluruh dunia diduga bersifat karsinogenik (dapat menyebabkan kanker pada beberapa jaringan/ organ yaitu dulcin (p-ethoxyphenylurea). Dulcin awalnya sebagai pengganti glukosa sebelum penemuan sakarin, mulai tahun 1950 banyak laporan mengenai dulcin yang mengakibatkan

kanker dan bersifat toksik. Hingga sekarang pemberlakuan larangan terhadap dulcin masih berlangsung.

3. Pewarna

Pewarna ditambahkan untuk meningkatkan atau mengubah warna makanan. Pewarna bisa alami seperti kurkumin, atau sintetis seperti tartrazin. Pewarna memang ditujukan untuk memperindah estetika dari makanan. Pewarna sudah digunakan sejak lama dan dibagi dalam 2 kelas besar yaitu pewarna alami dan pewarna sintetis (Wisnu Cahyadi 2008). Pewarna sintetis dan alami mempunyai perbedaan, diantaranya :

- a. Terkadang memberikan aroma dan cita rasa tambahan yang tidak dikehendaki
- b. Senyawanya mudah terdegradasi
- c. Homogenitas pigmen kurang
- d. Pilihan warna yang terbatas
- e. Kadar pigmen rendah

Pada tabel 11.1 berikut ditunjukkan beberapa sifat dan warna dari pewarna alami yang mudah diamati sampai saat ini :

Tabel 11.1 Pigmen, Warna Dan Asal Dari Pewarna Alami
(Koswara 2009)

Nama Pigmen	Warna	Asal
Antosianin	Orange hingga merah	Tumbuhan
Flavonoid	Tak berwarna hingga kuning	Tumbuhan
Beta-antosianin	Tak berwarna	Tumbuhan
Tanin	Tak berwarna hingga kuning	Tumbuhan
Betalian	Kuning hingga merah	Tumbuhan
Kuinon	Kuning hingga hitam	Tumbuhan, bakteri, alga
Xanton	Kuning muda hingga kuning tua	Tumbuhan

Nama Pigmen	Warna	Asal
Karotenoid	Tak Berwarna hingga kuning merah	Lemak hewani
Klorofil	Hijau hingga coklat	Tumbuhan
Heme	Merah hingga coklat	Hewani

Adapun penggunaan senyawa pewarna sintetik sebagai BTP yang diperbolehkan atau dikenal sebagai certified colour atau permitted colour. Zat-zat tersebut harus mengalami pengujian dalam penggunaannya seperti halnya pengujian kimia, biokimia, toksikologi dan fisika. Di Indonesia penggunaan zat pewarna sintetik tersebut mengacu pada Permenkes nomor 33 tahun 2012 yang memuat pembagian BTP sebanyak 27 jenis termasuk pengawet, pemanis, perasa, pewarna, antioksidan, dan lainnya.

Untuk bahan pewarna sintetik yang masih diperbolehkan dengan kandungan tertentu menurut (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia 2012) terdapat 11 Pewarna sintetik yang diperbolehkan oleh Pemerintah Indonesia.

Sedangkan untuk pewarna yang dilarang dalam konsentrasi sekecil apapun yaitu:

- a. *Metanol Yellow* (kuning metanol)
- b. Auramin
- c. Rhodamin B

4. Penyedap Rasa (*Flavour Enhancer*)

Penyedap rasa yang beredar luas di Indonesia yaitu monosodium glutamat (MSG) digunakan untuk penguat rasa gurih yang sebenarnya sudah ada di dalam pangan olahan. Penyedap rasa ditambahkan dalam produk makanan agar dapat mempertegas rasa manis, asam, dan sebagainya. Cita rasa yang lain yaitu Umami (gurih dan lezat). Rasa umami ini berfungsi sebagai indikator kandungan protein dalam makanan, berkontribusi pada kelezatan makanan. Terdapat Beberapa senyawa memberikan kontribusi rasa umami yaitu

asam amino, purin nukleotida, asam organik, beberapa peptida, dan komponen lain (Perdani et al. 2022).

Berikut ini adalah jenis Bahan Tambah Pangan (BTP) penyedap rasa yang diizinkan peredarannya oleh BPOM dan memiliki batasan konsumsi harian:

- a. Asam amino L-glutamat dan garam-garamnya terutama dari golongan IA
- b. Asam guanilat dan garam-garamnya dari hasil reaksi dengan asam terutama dari golongan IA
- c. Asam inosinat dan garam-garamnya dari hasil reaksi dengan asam terutama dari golongan IA
- d. Garam-garam dari hasil reaksi asam dengan 5'-ribonukleotida terutama dari golongan IA

Mengonsumsi asam-L-glutamat terlalu banyak menimbulkan Chinese restaurant syndrome dengan gejala keluhan kesulitan berbicara, ketidakmampuan menelan ludah, dan meludah terus menerus, menolak meminum air dan takut seperti pasien hidrofobik (Bawaskar, Bawaskar, and Bawaskar 2017). Untuk gejala umum bagi orang yang mengonsumsi berlebihan dari penyedap rasa ini yaitu pusing, mual, muntah dan kejang perut (Wisnu Cahyadi 2008).

5. Emulsifier, Stabilizer dan Agen Pengental

BTP ini berfungsi sebagai memperbaiki tekstur dan konsistensi pangan olahan selain itu untuk menegaskan emulsi dari lemak dan air sehingga didapatkan produk makanan yang stabil, antara air dan lemak tidak terpisah serta tidak mudah meleleh. Adonan yang didapatkan berupa tekstur yang solid dan kompak (Subiyono 2018) Contohnya adalah : Agar-agar, alginat, dekstrin, gelatin, gum, pektin, CMC, lesitin dan karagenan.

Pada bahan pengemulsi, memiliki jenis seperti dispersi, pelarutan, suspensi, buih, aerosol, makro emulsi; ada beberapa golongan diantaranya yaitu trigliserida, fosfolipida, ester propilin glikol, quillail. Pengemulsi sendiri mempunyai sifat sebagai hidrofilik atau hidrofobik

tergantung dari gugus fungsi yang dipunyai (Wisnu Cahyadi 2008).

Secara umum agen pengental dan agen gel yang larut dalam air, yang bersifat hidrofil disebut sebagai GOM yang mana berfungsi untuk mengubah struktur makanan dan juga sifat fisika dari makanan. GOM disebut sebagai pengental, pembentuk gel dan pelapis tipis dan hal lain yang berhubungan dengan sifat fisika pangan. GOM mempunyai 3 golongan yaitu alami, termodifikasi dan sintetik.

6. Antioksidan

Antioksidan seperti asam askorbat dan tokoferol digunakan untuk mencegah oksidasi yang dapat merusak makanan. Antioksidan ini biasanya diberikan pada olahan pangan yang tidak awet atau mudah tengik. Ketengikan ini disebabkan oleh adanya oksidasi lemak dan produk mengandung lemak tak jenuh. Contoh antioksidan alami yang aman yaitu asam askorbat, selain itu ada beberapa antioksidan buatan yang lain yaitu BHA (*Butylated Hydroxyanisole*), BHT (*Butylated Hydroxytoluene*), *Propyl Gallate*, dan *Tocopherol*.

E. Regulasi dan Keamanan Bahan Tambahan Pangan

Badan pengawas seperti FDA (AS), EFSA (Eropa), merupakan badan pengawas dan regulasi berskala internasional dan BPOM merupakan suatu badan yang memantau peredaran obat dan makanan yang layak atau tidak yang berskala nasional di Indonesia. BPOM bertugas untuk mengatur penggunaan BTP melalui penilaian keamanan yang ketat. BPOM menetapkan standar dan batas konsumsi maksimum penggunaan BTP dalam makanan dan minuman yang berdasar pada peraturan internasional, sehingga masyarakat di Indonesia tidak menyalahgunakan dan paham mengenai bahaya dari BTP yang diizinkan dan dilarang oleh BPOM

F. Penakaran untuk Keamanan BTP

Penakaran menggunakan beberapa sampel dari BTP yang berbentuk bubuk untuk skala rumah tangga terkadang menemui hambatan dalam menemukan alat ukur yang praktis dan mudah serta cepat dalam mencampurkannya dalam adonan makanan. Dipilihlah sendok sebagai alat takaran yang mempermudah dalam pengambilan BTP. Sendok tersebut (Pedoman BPOM 2012) adalah:

1. Sendok Makan

Dimensi diameter tengah cekungan dengan rentang 5,0 cm hingga 5,9 cm, diameter tengah lebar 3,2 cm hingga 4,6 cm dan dalaman cekungan 0,5 cm hingga 0,8 cm

2. Sendok teh

Dimensi diameter tengah cekungan dengan rentang 3,9 hingga 4,6 cm, diameter tengah lebar 2,6 cm hingga 2,9 cm dan dalaman cekungan 0,3 cm hingga 0,6 cm

Bobot rata-rata untuk penakaran sendok makan dengan BTP bentuk padatan berupa serbuk, kristal dan granul ditunjukkan pada Tabel 11.2

Tabel 11.2 Perkiraan Takaran Antara Sendok Makan Dan Sendok Teh
(Pedoman BPOM 2012)

No	Golongan BTP*	Bobot BTP untuk Ukuran Sendok	
		1 Sendok Makan (Peres)	1 Sendok Teh (Peres)
1	Pengawet	5 g	2 g
2	Pewarna	7 g	3 g

* Tabel ini hanya berlaku untuk jenis BTP yang berbentuk bubuk (serbuk, butiran, granut dan kristal)

G. Labeling dan Informasi Konsumen

Produsen diwajibkan mencantumkan informasi tentang BTP pada label produk yang dapat berupa gambar, tulisan atau kombinasinya untuk kemudian dimasukkan ke dalam kemasan atau ditempelkan pada kemasannya. Hal ini merupakan kewajiban semua produsen yang telah termuat pada PP nomor

69 tahun 1999 (tentang kewajiban produsen dalam pelabelan dan iklan pangan dalam media massa). Suatu Label pangan yang tertera pada kemasan produk harus memuat diantara lain (Istana UKM 2014) yaitu

1. Nama produk yang dipasarkan (UU nomor 18 tahun 2012 pasal 97)
2. Komposisi bahan-bahan utama dan tambahan yang digunakan (PP nomor 69 tahun 1999 pada pasal 19 dan 20)
3. Berat bersih/ netto (PP nomor 69 tahun 1999 pasal 23,24 dan 25)
4. Alamat produsen (PP nomor 69 tahun 1999 pasal 26)
5. Informasi HALAL (diatur dalam UU Pangan nomor 18 tahun 2012, pasal 97 dan 101)
6. Tanggal produksi dari produk (diatur dalam PP nomor 69 tahun 1999, pasal 31)
7. Tanggal kadaluarsa (diatur dalam PP nomor 69 tahun 1999, pasal 27)
8. Nomor izin edar (PP nomor 28 tahun 2004 pasal 44)
9. Dan beberapa ketetapan dan ketentuan lain yang wajib dipenuhi oleh produsen dalam ketentuan label pangan (diatur juga dalam PerKa Badan POM HK.03.1.5.12.11.09955 TAHUN 2011, lihat Lampiran 3)

H. Kesimpulan dan Rekomendasi

Kesimpulan Utama dari Telaah

BTP adalah komponen penting dalam industri makanan modern, namun penggunaannya harus diawasi secara ketat untuk menjamin keamanan konsumen.

Rekomendasi untuk Industri dan Regulator

Industri harus terus berinovasi dalam pengembangan BTP yang aman dan efektif, sementara regulator harus memastikan kepatuhan terhadap standar keamanan.

Buku telaah ini diharapkan dapat memberikan wawasan yang mendalam dan komprehensif mengenai analisis bahan tambahan pangan, serta mendorong praktik yang lebih baik dalam penggunaannya di industri makanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Bawaskar, Himmatrao Saluba, Pramodini Himmatrao Bawaskar, and Parag Himmatrao Bawaskar. 2017. "Chinese Restaurant Syndrome." *Indian Journal of Critical Care Medicine* 21(1): 49-50.
- BPOM RI. 2019. "Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia." In Nomor 11 Tahun 2019.
- India, Ministry of Health and Family Welfare Government of. 2012. *Manual of Methods of Analysis of Foods Manual of Methods of Analysis of Foods Pesticide Residues.*
- Istana UKM. 2014. "Penerapan Label Pangan."
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2012. "Permenkes No 33 Tahun 2012." *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia: 37-39.*
- Khairi, Amalya Nurul, Titisari Juwitaningtyas, and Iin Nurul Narwanti. 2020. "Analisis Penggunaan Bahan Tambahan Pangan (BTP) Ibu Rumah Tangga Di Yogyakarta Dalam Aspek Perilaku, Sikap, Dan Pengetahuan." *Journal of Halal Science and Research* 1(1): 21-29.
- Koswara, Sutrisno. 2009. *Pewarna Alami: Produksi Dan Penggunaannya.* e-BookPangan.com.
- Noviyantini, D, P Dhyani, Swamilaksita, and P Ronitawati. 2019. "Analisis Bahan Tambahan Pangan, Hubungan Karakteristik Sosial Ekonomi, Pengetahuan Dan Daya Terima Terhadap Keputusan Pembelian Saus Sambal Kemasan Dwi Noviyantini, * Prita Dhyani Swamilaksita, Putri Ronitawati. Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Ilmu." *Program Studi Ilmu Gizi: 11-23.*
- Pedoman BPOM. 2012. "Pedoman Informasi Dan Pembacaan Standar Bahan Tambahan Pangan Untuk Industri Pangan Siap Saji Dan Industri Rumah Tangga Pangan." *Bpom RI (23): 62-83.*

https://standarpangan.pom.go.id/dokumen/pedoman/Buku_Pedoman_PJAS_untuk_BTP.pdf.

Perdani, Claudia, Ruli Retno Mawarni, Liayati Mahmudah, and Setiyo Gunawan. 2022. "Prinsip-Prinsip Bahan Tambahan Pangan Yang Memenuhi Syarat Halal: Alternatif Penyedap Rasa Untuk Industri Makanan Halal." *Halal Research Journal* 2(2): 96-111.

Subiyono, Joko. 2018. "Bahan Tambahan Pangan Dan Bahan Berbahaya Pada Pangan." *Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Semarang*: 41-43.
<http://dishanpan.jatengprov.go.id/files/89595838BTPDANRESIDUPESTISIDA.pdf>.

Wisnu Cahyadi. 2008. *Analisis Dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bina Aksara.

TENTANG PENULIS



Suherman, M.Si lahir di Buhung Lantang, pada 30 Desember 1991. Pria yang kerap menggunakan nama pena Suherman Rate ini adalah anak pertama dari dua bersaudara dan lahir dari pasangan Sudirman (ayah) dan Mardiana (ibu). Tahun 2018, telah menyelesaikan pendidikan Magister pada Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, sejak 2019 mengabdikan diri menjadi pendidik di salah satu perguruan tinggi swasta. Semasa Mahasiswa aktif dalam organisasi daerah Kabupaten Bulukumba dan Organisasi Pergerakan mahasiswa Islam Indonesia.



Rita Maliza, Ph.D: Lahir di Tembilahan, Indragiri Hilir, Riau, pada tanggal 19 September 1984. Menyelesaikan studi S1 di jurusan kimia, FMIPA Universitas Andalas (Unand) pada tahun 2007. Pada tahun 2011 penulis berhasil menyelesaikan studi S2 dengan predikat Summa Cum Laude pada Program Pascasarjana, Unand. Tahun 2012 penulis mendapatkan beasiswa dari DAAD (IGN-TTRC) untuk mengikuti program Student Exchange di Departement of Biochemistry, Kassel University, Germany. Pada tahun 2013 penulis melanjutkan studi S3 dalam bidang Human Biology melalui beasiswa Hashiya Scholarship Foundation dan Murayama Foundation di Departement of Histology and Cell Biology, Graduate School of Medicine, Jichi Medical University, Japan. Penulis mengabdikan sebagai staf pengajar di Departemen Biologi, Unand, sejak tahun 2022. Fokus riset pada bidang kajian Molecular Endocrinology. Penulis adalah salah satu pemenang Writhingthon Kemenristek Dikti 2018 dari Indonesia untuk Citarum Harum. Pada tahun 2022 penulis juga menulis buku referensi dengan judul

Pharmacogenomic: toward precision medicine. Alamat: Laboratorium Struktur & Perkembangan Hewan, Jurusan Biologi FMIPA UNAND, Padang 25163.

Email: ritamaliza@sci.unand.ac.id



Dr. Fathma Syahbanu, S.TP lahir di Tangerang, pada 8 September 1993 sebagai anak pertama dari dua bersaudara dari Bapak Suryadi dan Ibu Dewi Sari. Pendidikan sarjana ditempuh di Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, lulus pada tahun 2015. Pada tahun yang sama, penulis diterima pada Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana IPB dengan Beasiswa Pendidikan Magister menuju Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU) dari Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi. Saat ini, Penulis merupakan seorang dosen pada Program Studi Gizi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Singaperbangsa Karawang. Mata kuliah yang diajarkan oleh Penulis antara lain: Biokimia Gizi Dasar, Metabolisme Zat Gizi Mikro, Kimia, Teknologi Pangan dan Gizi, Analisis Zat Gizi, Dasar-Dasar Kuliner, Hygiene dan Sanitasi Makanan, serta Keamanan Pangan.



Atep Dian Supardan, S.Si., M.Si. merupakan anak ke lima dari tujuh bersaudara yang dilahirkan pada tanggal 3 Januari 1981, di Pangalengan Kabupaten Bandung Jawa Barat. Penulis menyelesaikan pendidikan sarjana (2004) dan master (2013) di jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Penulis bekerja sebagai dosen di program studi Analisis Kimia Sekolah Vokasi Institut Pertanian Bogor dan saat ini mengampu beberapa mata kuliah antara lain Spektroskopi, Kromatografi, elektroanalitik, identifikasi spektrum senyawa organik, pengoperasian dan pemeliharaan alat,

kimia koloid dan permukaan, dan etika profesi analisis kimia. Penulis juga terlibat aktif sebagai konselor bagi mahasiswa di Sekolah Vokasi IPB dan tergabung dalam Asosiasi Profesional konselor Indonesia, yang secara aktif menggunakan grafologi dan hipnoterapi untuk membantu mahasiswa yang memerlukan bantuan.



dr. Rauza Sukma Rita, Ph.D, merupakan dosen tetap Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat. Penulis merupakan anak dari pasangan Asrizal Jarat (ayah) dan Yurnita, Amd.Keb (Ibu). Setelah tamat Dokter Umum di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, (2009), penulis melanjutkan S3 bidang Medicine di Jichi Medical University, Jepang (2011 sampai 2015). Penulis aktif menulis buku dan artikel di berbagai jurnal nasional dan internasional.



Dr. Dessy Arisanty, M.Sc lahir di Padang, pada 12 Januari 1979. Ia tercatat sebagai lulusan Sarjana FMIPA Universitas Andalas, jenjang Master (S2) di Biomedical Department of Medical Faculty and Health Sciences Universiti Putra Malaysia dibidang Medical Biochemistry. Selanjutnya studi Doktor pada Program Doktor Ilmu Biomedis dengan kajian Molecular Cancer of Epigenetic. Wanita yang kerap disapa Dessy ini adalah anak dari pasangan Anwar Manan (ayah) dan Dasmiaty (ibu). Penulis sebagai staf pengajar di Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas (UNAND). Dan saat menulis ini, penulis menjabat sebagai Ketua Program Studi Ilmu Biomedis Program Sarjana, Fakultas Kedokteran UNAND. Penulis bukanlah orang baru di dunia Pendidikan. Berbagai kegiatan ilmiah dan banyak artikel yang sudah dipublikasikan. Penghargaan yang pernah diraih adalah sebagai lulusan terbaik

Fakultas MIPA, Medali Perak pada ITEX exhibition Malaysia. Medali emas pada Innovation Technology 2023.



Apt Tri Minarsih, S.Si, M.Sc. lahir di Kota Pekalongan, pada tanggal 8 September 1975.

Wanita yang kerap disapa Tri ini menyelesaikan studi S1 di Universitas Surabaya, dan studi profesi dan S2 di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Ia adalah anak dari pasangan alm Satriyo dan alm Siti Aminah.

Tri Minarsih merupakan dosen dengan bidang keahlian analisis Farmasi, telah melakukan penelitian di bidang analisis.



Prof. Dr Eti Yerizel, MS., lahir di Batusangkar 1 Januari 1959 sebagai anak keempat dari 8 bersaudara dari Bapak Almanar dan Ibu Hj.Nurma. Pekerjaan sebagai dosen tetap pada Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas sejak tahun 1987 sampai sekarang. Dosen tidak tetap di beberapa Universitas lainnya. Pendidikan

sarjana (S-1) pada Jurusan Kimia FMIPA Unand, pendidikan Magister (S-2) pada Jurusan Kimia Institut Teknologi Bandung (ITB). Pendidikan Doktor (S-3) pada Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang. Pada tanggal 1 Mei tahun 2017 mendapat jabatan akademik Guru Besar dalam bidang ilmu Biokimia. Berbagai penelitian dan pengabdian telah dilakukan dalam bidang Biokimia, Biomedik dan Biologi molekuler yang di publikasi pada jurnal nasional dan internasional. Aktif mengadakan pelatihan dan workshop nasional dan mengikuti workshop internasional di Jepang, Singapore, Malaysia dan Thailand. Pernah sebagai Ketua Bagian Biokimia FK Unand se.lama dua periode. Sebagai Ketua Perhimpunan Biokimia dan Biologi molekuler Indonesia (PBBMI) Cabang Padang, Sebagai Ketua Unit Penelitian dan Kegiatan Ilmiah (UPKI) FK UNAND, anggota

Perkeni Padang dan pernah sebagai anggota Himpunan Kimia Indonesia (HKI).



Ahmad Hisbullah Amrinanto, S.Gz, M.Si lahir di Pringsewu, pada 29 November 1992. Ia tercatat sebagai lulusan Program Sarjana dan Magister dari IPB University. Pria yang kerap disapa Ahmad ini adalah anak dari pasangan Amrin Kiyono (ayah) dan Supartinah (ibu). Saat ini penulis bekerja sebagai dosen tetap yang aktif mengajar, meneliti, dan membimbing mahasiswa pada Program Studi S1 Gizi STIKes Bogor Husada. Penulis juga aktif dalam kegiatan organisasi profesi gizi dan pangan yaitu PERGIZI PANGAN Indonesia. Selain itu, penulis juga tercatat menjadi tim pakar auditor stunting Kabupaten Bogor tahun 2022-2024. Penulis juga sering menjadi narasumber kegiatan gizi dan kesehatan.



Dody Handito, S.T.P., M.P. lahir di Malang pada tanggal 24 Mei 1974. Ia adalah lulusan S1 Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada (UGM) tahun 1999 dan S2 Ilmu dan Teknologi Pangan UGM (2005). Sejak tahun 2008 menjadi dosen Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri (FATEPA) Universitas Mataram (UNRAM) dan mengajar mata kuliah antara lain Analisis Pangan, Gizi Pangan, Evaluasi Gizi dalam Pengolahan Pangan, Pangan Fungsional. Beberapa hasil penelitian dan pengabdian kepada masyarakatnya telah dipublikasikan melalui prosiding dan jurnal ilmiah terakreditasi nasional dan internasional. Ia telah menulis beberapa buku ajar, yaitu Analisis Pangan, Pangan Fungsional, Gizi Pangan, dan Evaluasi Gizi dalam Pengolahan Pangan serta book chapter Ensiklopedia Produk Pangan Indonesia Jilid 2.



Marius Agung Sasmita Jati, S.Si, M.Sc.

lahir di Magelang, pada 22 Februari 1985. Pendidikan S1 diperoleh di Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Pendidikan S2 berkonsentrasi pada Prodi Ilmu Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Mempunyai keahlian dalam bidang Kimia Analitik dan Spektrometri. Menjadi Dosen tetap pada STIKES Wira Husada Yogyakarta dari tahun 2015 hingga 2023 dan sekarang menjadi dosen tetap di Politeknik Kesehatan TNI AU Adisutjipto Yogyakarta.