

PENETAPAN KADAR BENZO(A)PIREN PADA DAGING BABI BAKAR DENGAN MENGGUNAKAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY* (HPLC)

Alfin Syahrin M. Ruslan¹⁾, Sri Sudewi¹⁾, Henki Rotinsulu¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Benzo(a)pyrene (BAP) is a prototype compound of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). BAP and other PAH produced primarily by the incomplete combustion or pyrolysis of organic materials in the environment. The purpose of this study was to determine the benzo(a)pyrene compound during the treatment and time of processing as well as the decreasing levels of benzo(a)pyrene in roasted pork wrapped with banana leaves and aluminium foil which done by High Liquid Performance Chromatography (HPLC) analytical methods. HPLC analysis used in assay of the benzo(a)pyrene assay was done with a mixture of acetonitrile mobile phase : distilled water (90:10 and 85:15) with a flow rate of 1.0 and 1.5 mL/min. Result of the research on the levels of benzo(a)pyrene in roasted pork without wrapping with 30, 45, 60 minutes were 6.588; 8.432; 26488 µg/L, respectively. The content of compound of benzo(a)pyrene in roasted pork wrapped in banana leaves with 30, 45 and 60 minutes were 6.016; 7.068 and 7.159 µg/L respectively. The levels of benzo(a)pyrene compound in grilled pork wrapped with aluminum foil grilled in 30, 45 and 60 minutes were 0.470; 0.817 and 7.015 µg/L, respectively. Decreasing levels of benzo(a)pyrene in the group of wrapping with banana leaves with parameters of 30, 45, and 60 minutes have decreased the levels of 8, 16, and 72 %, then the group of wrapping aluminum foil have decreased the benzo(a)pyrene with parameter 30, 45, and 60 minutes were 92, 90 and 73 %. Benzo(a)pyrene compound for roasted pork wrapped in aluminum foil could reduce the levels of benzo(a)pyrene more than the roasted pork wrapped with banana leaves.

Keywords : *Benzo(a)pyrene, grilled pork chops, HPLC analysis*

ABSTRAK

Benzo(a)piren (BaP) merupakan senyawa prototipe polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH). BaP dan PAH lainnya diproduksi terutama oleh pembakaran tidak sempurna atau pirolisis bahan organik di lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa benzo(a)piren pada perlakuan dan waktu pengolahan serta mengetahui penurunan kadar benzo(a)piren pada daging babi bakar yang dibungkus daun pisang dan aluminium foil dilakukan dengan metode analisis *High Liquid Performace Cromatography* (HPLC) yang digunakan dalam penetapan kadar Benzo(a)piren pada daging babi bakar dengan variable waktu pengolahan. Optimasi penetapan kadar benzo(a)piren dilakukan dengan kombinasi Fase gerak Asetonitril : Aquades (90:10) dan (85:15) dengan laju alir 1,0 dan 1,5 mL/menit. Hasil penelitian yang dilakukan kadar benzo(a)piren dalam daging babi bakar tanpa pembungkusan dengan waktu 30, 45 dan 60 menit yaitu 6,588; 8,432 dan 26,488 µg/L. Kadar senyawa benzo(a)piren dalam daging babi bakar yang dibungkus menggunakan daun pisang dengan waktu 30, 45 dan 60 menit yaitu 6.016; 7,068 dan 7,159 µg/L. Kemudian untuk kadar senyawa benzo(a)piren pada daging babi bakar yang dibungkus menggunakan *alluminium foil* dengan waktu 30, 45 dan 60 menit yaitu 0,470; 0,817 dan 7,015 µg/L. Penurunan kadar benzo(a)piren pada kelompok pembungkusan daun pisang dengan parameter waktu 30, 45, dan 60 menit memiliki penurunan kadar sebesar 8, 16, dan 72%, kemudian kelompok pembungkusan *alluminium foil* penurunan kadar benzo(a)piren dengan parameter waktu 30, 45, dan 60 menit sebesar 92, 90, dan 73%. Kandungan senyawa Benzo(a)piren dengan perlakuan yang dibungkus dengan aluminium foil dapat menurunkan kadar Benzo(a)piren lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan yang di bungkus daun pisang.

Kata Kunci : Benzo(a)piren, daging babi bakar, HPLC

PENDAHULUAN

Manusia membutuhkan makanan yang sehat dan bergizi untuk menjalankan aktivitas sehari-hari. Salah satu makanan yang paling digemari oleh masyarakat umum yaitu daging olahan. Daging merupakan bahan pangan yang penting dalam memenuhi kebutuhan gizi. Selain mutu proteinnya tinggi, pada daging terdapat pula kandungan asam amino esensial yang lengkap dan seimbang.

Daging didefinisikan sebagai semua jaringan hewan dan semua produk hasil pengolahan jaringan-jaringan yang sesuai untuk dimakan serta tidak menimbulkan gangguan kesehatan bagi yang memakannya (Soeparno, 2005). Daging sebagai jaringan hewan yang dapat digunakan sebagai makanan, sering pula diperluas dengan memasukkan organ-organ seperti hati dan ginjal, otot dan jaringan lain yang dapat dimakan disamping urat daging.

Daging babi diproses dengan cara dibakar menggunakan arang, batok kelapa maupun menggunakan pemanggang dengan bahan bakar gas. Pembakaran dilakukan secara manual menggunakan kipas tangan dengan tingkat kematangan berdasarkan perasaan atau pengalaman dalam membakar sate. Daging babi dibakar dengan suhu yang tinggi, sehingga dapat mempengaruhi sifat fisik dan kimia daging babi tersebut.

Daging yang dibakar diduga memiliki cemaran kimia yaitu zat karsinogenik karena proses pembakaran pada suhu tinggi, yaitu akan membentuk kelompok senyawa polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH). Komponen PAH merupakan kelompok senyawa yang terbentuk akibat pembakaran yang tidak sempurna dari zat-zat anorganik seperti arang, minyak dan gas serta zat organik seperti tembakau. Dalam daging yang dipanggang, PAH terbentuk saat lemak

daging menetes di atas arang, kemudian menyatu dalam asap dan menempel pada daging. Komponen PAH terutama benzo(a)piren (BaP) merupakan jenis PAH yang memiliki tingkat karsinogenik tinggi dan digunakan sebagai indikator adanya kelompok PAH

Benzo(a)piren adalah senyawa prototipe polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH). BAP dan PAH lainnya diproduksi terutama oleh pembakaran tidak sempurna atau pirolisis bahan organik di lingkungan (IARC, 1983).

Beberapa upaya untuk menurunkan kadar senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik dalam makanan panggang telah dilakukan seperti proses pemanasan sebelum pemanggangan, pembungkusan makanan saat pemanggangan (Farhadian dkk., 2011) selain itu penggunaan plastik LDPE untuk menyerap senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik (Chen dan Chen, 2005). Hal tersebut dimaksudkan untuk menghindari adanya kontak langsung makanan serta mengurangi waktu kontak dengan sumber panas.

Berdasarkan uraian di atas, maka mendorong penulis untuk melakukan penelitian mengenai penetapan kadar benzo(a)piren yang terkandung dalam daging babi bakar menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Dimana penulis memfokuskan parometer dengan perlakuan menggunakan pembungkus dan tanpa pembungkusan, serta waktu pengolahan yang diharapkan dapat meminimalisir kadar benzo(a)piren pada daging babi bakar.

BAHAN DAN CARA KERJA

Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat instrument HPLC, alat-alat gelas, timbangan analitik, lemari

penndingin, sentrifugasi, rotary evaporator, mikrofilter.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daging babi mentah , daging babi bakar, daun pisang, alluminium foil, Aquades , benzo(a)piren (pa), asetonitril (pa), methanol (grade HPLC), Na₂SO₄ Anhidrat, etil asetat.

CARA KERJA

Pengambilan Sampel

Sampel daging babi mentah diambil dari *Supermarket* di kota Manado. Sampel daging babi bakar diambil dari tiga Rumah Makan di kota Manado. Total sampel 12 yang terdiri dari 9 daging babi mentah dan 3 daging babi bakar.

Pembuatan Larutan Standar

a. Stok standar larutan 1

Larutkan 2,5 mg benzo(a)piren dalam 50 mL asetonitril dalam 50 mL labu takar dan encerkan sampai tanda dengan asetonitril. Konsentrasi akhir benzo(a)piren 50 mg/L.

b. Stok standar larutan 2

Tambahkan 1 mL stok larutan standar 1 ke dalam 50 mL labu takar dan encerkan samapai tanda dengan asetonitril. Konsentrasi akhir benzoapiren menjadi 1 mg/L.

c. Stok standar larutan 3

Tambahkan 1 mL stok larutan standar 2 ke dalam 50 mL labu takar dan encerkan sampai tanda dengan asetonitril. Konsentrasi akhir benzoapiren menjadi 20 µg/L.

Optimasi Fase Gerak dan Laju Alir

Larutan Standar Benzoapiren pada konsentrasi 20 µg/L diinjeksikan sebanyak 20 µL pada komposisi fase gerak Asetonitril : Aquades pada perbandingan (90:10) dan (85:15) dengan perbandingan fase gerak terpilih laju alir 1.0 dan 1,5 mL/menit dan deteksi pada panjang gelombang 254 nm.

Perlakuan Sampel

a. Penyiapan sampel

Sampel daging babi mentah dibersihkan, kemudian diberi perlakuan yaitu bagian I daging dibakar tanpa pembungkusan, bagian II daging babi dibakar dengan menggunakan daun pisang, bagian III daging babi dibakar menggunakan alluminium foil. Pada masing-masing bagian ikan, dibakar dalam waktu 30, 45, dan 60 menit. Setelah itu, sampel daging babi bakar diblender hingga halus kemudian dikeringkan dalam oven 100 °C hingga kandungan air habis (Lukitaningsih dkk, 2001).

b. Ekstraksi sampel

Masukkan 2 g Na₂SO₄ Anhidrat dan 2 g sampel ke dalam 50 mL tabung centrifuge kemudian tambahkan 20 mL etil asetat. Campurkan selama 1 menit untuk mengekstrak, kemudian sentrifugasi ekstrak selama 2 menit pada 8000 rpm, ambil supernatant. Kemudian tambahkan 20 mL etil asetat ke residu dan ekstrak kedua kalinya dengan cara yang sama.

Supernatant I dan II (masing-masing 20 mL) dievaporasi pada suhu 55⁰C takar dan encerkan sampai tanda batas dengan etil asetat. Sebelum diinjeksi larutan disaring terlebih dahulu dengan penyaring 0.45 µm.

Penetapan Kadar Sampel

Sampel disuntikkan ke dalam HPLC pada kondisi yang sudah di optimasi (Fase gerak (asetonitril : aquades), laju alir (1,0 dan 1,5 mL/menit).

Analisis Data

Dibuat kurva kalibrasi dengan persamaan garis linier ($y=a+bx$). Dengan memasukkan konsentrasi sampel dan luas area. Masing-masing sampel mempunyai luas daerah pada retensi time terpilih kedalam persamaan garis linier sehingga diperoleh konsentrasinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Fase Gerak dan Laju Alir

Penetapan kadar Benzo(a)piren dilakukan pada kondisi optimum yang terpilih dengan *High Performace Liquid Cromatography* menggunakan kolom *symmetry* (C18) dengan dua kondisi, pertama kecepatan alir 1,0 mL/menit, panjang gelombang 254 nm dan volume penyuntikan 20 µL. Komposisi fase gerak semula terdiri dari Asetonitril : Aquades (90:10) . Pada komposisi ini, waktu retensi Benzo(a)piren yaitu 10,048 menit. Dimana hasil dari kondisi pertama menunjukkan plat teoritis (N) 13983,275 , HETP 0,0010, faktor kapasitasnya 7,0384 dan asimetri atau faktor pengekorannya 1,0000. Kemudian dilakukan modifikasi fase gerak yaitu komposisi kedua Asetonitril : Aquades (85 : 15) waktu retensi benzo(a)piren yaitu 8,580 menit dengan menggunakan laju alir 1,5 mL/menit. Pada kondisi kedua dihasilkan kondisi kromatogram yang sangat berdekatan, hasil plat teoritisnya (N) 1631,8764, HETP 0,0091 , faktor kapasitasnya 4,5498 dan asimetrinya 0,7500.

Dari hasil kedua metode tersebut, dipilihlah metode pertama yaitu

menggunakan komposisi fase gerak Asetonitril : Aquades (90:10) dan kecepatan alir 1,0 mL/menit. Metode ini dipilih karena menghasilkan plat teoritis yang lebih banyak dari pada komposisi fase gerak yang lain, HETP (*Height Equivalent Theoretical Plate*) yang lebih kecil.

Penetapan Kadar Benzo(a)piren

Penetapan kadar Benzo(a)piren dilakukan dengan menggunakan 12 sampel dan 3 sampel diambil dari rumah makan di Kota Manado dan 9 sampel diberi perlakuan dan waktu pengolahan. Sampel kelompok pertama adalah daging babi yang dibakar langsung menggunakan arang tanpa dibungkus, sampel kelompok kedua adalah daging babi yang terlebih dahulu dibungkus dengan menggunakan daun pisang lalu dibakar menggunakan arang, sampel kelompok ketiga adalah daging babi yang terlebih dahulu dibungkus dengan menggunakan alumunium foil lalu dibakar menggunakan arang. Dengan menggunakan parameter waktu 30, 45 dan 60 menit untuk masing-masing perlakuan. Hasil data penetapan kadar Benzo(a)piren dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penetapan kadar Benzo(a)piren dalam Sampel daging babi Bakar yang diberi perlakuan

Sampel daging babi bakar	Parameter Waktu (Menit)	Luas Puncak (mV)	Rata-rata Waktu retensi (menit)	Kadar Terukur (µg/L)
Kelompok 1	30	152615	10,619	6,588
	45	194922	10,224	8,432
	60	611332	10,619	26,488
Kelompok 2	30	130460	9,652	6,016
	45	163689	9,169	7,068
	60	165798	8,981	7,159
Kelompok 3	30	11649	10,549	0,470
	45	19599	11,328	0,817
	60	162465	9,066	7,015

Keterangan : Kelompok 1: Tanpa pembungkusan; Kelompok 2: Dibungkus dengan daun pisang; Kelompok 3: Dibungkus dengan alumunium foil.

Tabel 2. Hasil Penetapan kadar Benzo(a)piren dalam Sampel daging babi Bakar yang beredar di rumah makan Kota Manado

Sampel daging babi Bakar Rumah Makan Kota Manado	Luas Puncak (mV)	Rata-rata Waktu retensi (menit)	Kadar Terukur (µg/L)
O	418459	11,306	18,121
P	410416	10,436	17,772
Q	650195	10,512	28,175

Pada penetapan kadar Benzo(a)piren pada daging babi bakar, penelitian ini dilakukan dengan tiga kelompok, kelompok pertama tanpa pembungkus, kelompok kedua menggunakan daun pisang, dan kelompok ketiga menggunakan Alumunium foil. Dengan waktu pembakaran 30, 45, dan 60 menit. Kelompok pertama (tanpa pembungkus) dengan waktu 30, 45, dan 60 menit yaitu 6,588; 8,432, dan 26,488 µg/L, dan pada daging babi bakar kelompok kedua (dibungkus menggunakan daun pisang) dengan waktu pembakaran 30, 45, dan 60 menit yaitu 6,016; 7,068, dan 7,159 µg/L. Untuk kelompok ketiga (dibungkus menggunakan alumunium foil) dengan waktu pembakaran 30, 45, dan 60 menit yaitu 0,470; 0,817 dan 7,015 µg/L. Selanjutnya untuk kadar benzo(a)piren pada daging babi bakar yang ada dirumah makan O, P, dan Q yang ada di Kota Manado yaitu 18,121; 17,722 dan 28,175 µg/L.

Pada hasil penelitian penurunan kadar benzo(a)piren pada kelompok pembungkusan daun pisang dengan parameter waktu 30, 45, dan 60 menit

memiliki penurunan kadar sebesar 8, 16, dan 72%, kemudian kelompok pembungkusan alumunium foil penurunan kadar benzo(a)piren dengan parameter waktu 30, 45, dan 60 menit sebesar 92, 90, dan 73%. Penelitian yang dilakukan Farhadian (2010) yang menghasilkan penurunan kadar BaP dengan menggunakan daun pisang 32-100% dan alumunium foil sebesar 34-100%.

Kandungan senyawa benzo(a)piren dengan perlakuan yang dibungkus alumunium foil dapat menurunkan kadar benzo(a)piren. Hal ini disebabkan karena alumunium foil senyawa an organik yang sukar terbakar sehingga dapat meminimalisir kadar benzo(a)piren. Umumnya Aluminium murni yang dijual dipasaran adalah Aluminium murni 99%, misalnya Aluminium Foil. Kandungan alumunium ini dapat melindungi sampel dari kontak langsung dengan api. Hal ini juga sampel dengan kelompok tiga benar-benar tidak mengalami kontak dengan sumber api, dan sampel menerima panas secara merata dan tidak berlebihan (< 300 °C).

Tabel 3. Hasil Penurunan kadar benzo(a)piren

Sampel daging babi bakar	Parameter Waktu (Menit)	Penurunan Kadar
Kelompok 2	30	8%
	45	16%
	60	72%
Kelompok 3	30	92%
	45	90%
	60	73%

Keterangan : Kelompok 2: Dibungkus dengan daun pisang; Kelompok 3: Dibungkus dengan alumunium foil.

Pembungkusan menggunakan aluminium foil menghasilkan daging babi bakar dengan aroma yang kurang nikmat dibandingkan kelompok dua daging babi bakar menggunakan daun pisang, Hal ini disebabkan karena daun pisang termaksud senyawa organic yang memiliki banyak atom C.

Kandungan benzo(a)piren yang terdapat dalam sampel kelompok pertama dan pada sampel daging babi bakar rumah makan O, P, dan Q melebihi batas yang dianjurkan oleh *The Joint FOA/WHO Expert Committee on Food Additivies* (JEFTA) yaitu 10 µg/kg atau 10 ppb. Besarnya kandungan benzo(a)piren disebabkan karena proses pembakaran yang terlalu lama dan jarak pembakaran antara daging dan api yang terlalu dekat. Waktu, suhu dan jarak pembakaran merupakan variabel yang sangat berpengaruh pada pembentukan senyawa HAP selama proses pembakaran.

Kandungan senyawa benzo(a)piren yang tinggi disebabkan karena adanya kontak langsung antara daging dengan api/sumber panas sehingga meningkatkan terjadinya reaksi pirolisis lemak dan peluang terbentuknya senyawa PAH termasuk benzo(a)piren. Kandungan senyawa Benzo(a)piren pada daging babi bakar. kelompok kedua dan ketiga kandungan Benzo(a)piren menurun. Hal ini disebabkan karena dengan menggunakan pembungkus, daging babi tidak kontak langsung dengan api. Sehingga peluang terjadinya pirolisis lebih kecil.

KESIMPULAN

1. Perlakuan dan variable waktu pengolahan dapat meminimalisir kadar senyawa benzo(a)piren dalam daging babi bakar.
2. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan kadar benzo(a)piren dalam daging babi bakar bakar tanpa pembungkusan dengan waktu 30, 45 dan 60 menit yaitu 6,588; 8,432 dan 26,488 µg/L. Kadar senyawa benzo(a)piren dalam daging babi bakar yang dibungkus menggunakan daun pisang dengan waktu 30, 45 dan 60 menit yaitu 6,016; 7,068 dan 7,159 µg/L. Kemudian untuk kadar senyawa benzo(a)piren pada daging babi bakar yang dibungkus menggunakan *alluminium foil* dengan waktu 30, 45 dan 60 menit yaitu 0,470; 0,817 dan 7,015 µg/L. Serta untuk kadar benzo(a)piren pada daging babi bakar bakar dirumah makan O, P, dan Q yaitu 18,121; 17,722 dan 28,175 µg/L.
3. Kandungan senyawa Benzo(a)piren dengan perlakuan yang dibungkus dengan alumunium foil dapat menurunkan kadar Benzo(a)piren lebih banyak dibanding dengan perlakuan yang di bungkus daun pisang.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, J., and Chen, S. 2005. Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Low Density Polyethylene from

Liquid Model and Roasted Meat.
Food Chemistry., **90**: 461-469.

Farhadian, A. 2010. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Grilled Beef and Chicken and Their Reduction Through Various Treatments*, Tesis diterbitkan, Faculty Food Science and Technology Scope, Universiti Putra Malaysia.

Farhadian, A., Jinap S., Hanifah H.N., and Zaidul I.S. 2011. Effects of Meat Preheating and Wrapping on The Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Charcoal-grilled Meat, *Food Chemistry*. **124**: 141-146

Gandjar, G.I., Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.

IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum. (1983). *Polynuclear Aromatic Com- pounds*, **32**: 211

Lukitaningsih, E., Sudarmanto, A., dan Noegrohati, S., 2001, *Analisis Kandungan Senyawa Hidrokarbon Polisiklik Aromatik dalam Daging Olahan*. Majalah Farmasi Indonesia, **12(3)**: 103-108.

Soeparno, 2005. *Ilmu dan Teknologi Daging*. UGM. Yogyakarta

WHO,1998. Environmental Health Criteria 202. *Selected Non-heterocyclic PAHs*. Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc202.htm>.