

Analisis Kandungan Akrilamida Dalam Pisang Goreng Yang Beredar di Kota Manado Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Debora Tandi, Fatimawali, Frenly Wehantouw
Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT

Abstrak

Akrilamida dapat dihasilkan akibat pemanasan pada suhu tinggi (lebih dari 120⁰C) dalam makanan dengan kandungan karbohidrat tinggi. Akrilamida telah diklasifikasikan sebagai senyawa yang menyebabkan kanker atau berpotensi sebagai karsinogenik pada manusia. Makanan ringan yang sangat digemari oleh semua kalangan salah satunya adalah gorengan. Tujuan penelitian ini untuk mengidentifikasi kadar akrilamida dalam pisang goreng yang beredar di kota Manado menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Sampel yang diidentifikasi berasal dari 12 tempat penjualan di 6 kecamatan Kota Manado. Pada penelitian ini kadar akrilamida dianalisis dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi menggunakan kolom Shim-Pack VP-ODS (4,6 x 250 nm), perbandingan fase gerak asetonitril dan asam fosfat 11,45 mM (5:95), laju alir 1 ml/menit dan pada panjang gelombang 210 nm. Hasil penelitian menunjukkan akrilamida terdapat dalam pisang goreng dengan waktu rambat sebesar ±4,284 menit. Kadar akrilamida yang terkandung dalam pisang goreng yang beredar di kota Manado yaitu 39,65 – 1789,52 µg/kg. Akrilamida yang terdapat dalam pisang goreng masih berada di bawah dosis letal (LD₅₀).

Kata kunci : Akrilamida, Pisang Goreng, KCKT, Manado

Abstract

Acrylamide can be formed as a consequence of heating at high temperature (more than 120⁰C) in food contains high of carbohydrate. Acrylamide was classified as carcinogenic compound to human being. Junk food which mostly eaten by people is fries. The objective of this research is to identify acrylamide in banana fries marketed in Manado city using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Samples were taken from 12 places, by 6 sub district Manado City. Acrylamide were analyzed by HPLC using Shim-Pack VP-ODS (4,6 x 250 nm) column, comparison of mobile phase acetonitrile and phosphate acid 11,45 mM (5:95), flow rate 1 ml/minute and at wave length 210 nm. The result shows that Acrylamide contains in banana fries with retention time ±4,284 minutes. Acrylamide contained in banana fries which marketed in Manado City were 39,65 – 1789,52 µg/kg. Acrylamide level in banana fries is at under lethal dose (LD₅₀)

Keywords : Acrylamide, banana fries, HPLC, Manado

PENDAHULUAN

Gorengan merupakan makanan ringan yang sangat digemari oleh semua kalangan, seperti kentang, pisang, ubi,

tempe dan tahu goreng. Makanan yang digoreng atau populer disebut gorengan, ternyata bukan hanya meningkatkan

kadar kolesterol darah serta menyebabkan terjadinya peningkatan resiko terkena stroke dan penyakit jantung koroner. Makanan gorengan juga menghasilkan zat pemicu kanker (karsinogenik). Hal ini sangat mengkhawatirkan karena dengan harga yang terjangkau gorengan menjadi pilihan banyak masyarakat (Anonim, 2006).

Akrilamida (sinonim : 2-propenamida, etilen karboksiamida, akrilik amida, asam propeonik amida, vinil amida) adalah senyawa kimia yang biasa digunakan dalam kehidupan sehari-hari, untuk memproduksi plastik dan bahan pewarna. Zat ini juga biasanya digunakan dalam pengolahan dan penjernihan air minum (BPOM, 2004).

Akrilamida dapat dihasilkan akibat pemanasan pada suhu tinggi (lebih dari 120⁰C) dalam makanan dengan

Tujuan penelitian ini adalah menetapkan kadar akrilamida yang terdapat dalam pisang goreng menggunakan KCKT.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat KCKT, kolom Shim-Pack VP-ODS (4,6 x 250 mm), syringe 100 µl, laboratory shaker, pompa vakum, hot plate, sentrifugator, timbangan analitik, Sonifikator, alat destilasi, alat-alat gelas dan alat-alat untuk mereaksikan zat (*pyrex*).

Bahan

Bahan yang digunakan merupakan kualitas p.a (*pro analysis*) antara lain diklorometan, asetonitril, etanol, asam fosfat 85%, akrilamida dan *aquabidest*, penyaring membrane Whatman Cellulose Nitrate 0,45 µm, penyaring membran Whatman Cellulose Nitrate 0,2 µm.

Pembuatan Fase Gerak

Pembuatan Fase gerak mengikuti Dewi (2010) yang sedikit dimodifikasi.

kandungan karbohidrat tinggi. Akrilamida yang terdapat dalam makanan bukan karena cemaran dari luar, tetapi disebabkan pemanasan asam amino dan gula yang terdapat dalam makanan pada suhu tinggi (Anonim, 2005; Harahap, 2005).

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan hewan tikus, akrilamida diketahui berpotensi menyebabkan kerusakan sel-sel saraf, gangguan reproduksi, dan pemberian dalam jangka panjang dapat menyebabkan tumor (Rohdiana, 2004). Analisis akrilamida dalam makanan dapat menggunakan berbagai metode seperti kromatografi gas, spektrometri massa, kromatografi cair-spektrometri massa tandem dan kromatografi cair kinerja tinggi (Harahap, 2006).

Fase gerak terdiri dari larutan asam fosfat 11, 45 mM dan asetonitril. Larutan asam fosfat 11,45 mM dibuat dari asam fosfat 85% b/v, sebanyak 12 ml larutan asam fosfat diambil kemudian ditambahkan *aquabidest* hingga garis tanda pada labu ukur 100 ml (larutan I) setelah itu diambil 11 ml larutan I dan ditambahkan *aquabidest* hingga garis tanda pada labu ukur 1000 ml. Sebanyak 95 ml larutan Asam Fosfat 11,45 mM ditambahkan pada 5 ml larutan asetonitril. Larutan dicampur hingga homogen kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman ukuran 0,45 µm dan diawaudarakan selama ± 20 menit menggunakan sonifikator. Larutan ini kemudian disebut sebagai pelarut.

Pembuatan Larutan Sampel (Dewi, 2010)

Sebanyak 10 g sampel ditimbang kemudian ditambahkan 60 ml diklorometan dan 3 ml etanol. Larutan tersebut lalu dikocok dengan menggunakan alat *laboratory shaker*

selama 120 menit, hasil yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring Whatman, kemudian ampas dibilas dengan 5 ml diklorometan sebanyak 2 kali. Selanjutnya filtrat ditambahkan 25 ml pelarut dan didestilasi hingga diklorometan habis. Hasil destilat kemudian disentrifugasi pada 16000 rpm selama 15 menit, kemudian disaring. Larutan ini disebut sebagai larutan sampel.

a. Analisis Kualitatif (Dewi, 2010)

Analisis kualitatif akrilamida dilakukan dengan membandingkan waktu tambat yang sama (identik) dari kromatogram larutan sampel dengan kromatogram larutan baku pembanding akrilamida pada kondisi KCKT yang sama.

b. Analisis Kuantitatif (Dewi, 2010)

Sebanyak 1 ml; 1,5 ml; 2,5 ml larutan induk baku III (13,5 µg/ml) masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Sebanyak 1,5 ml larutan induk baku III (13,5 µg/ml) dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml. Satu mililiter larutan baku induk III (13,5 µg/ml) dimasukkan ke dalam labu ukur 20 ml. Selanjutnya sebanyak 1 dan 2 ml larutan induk baku III (13,5 µg/ml) dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml dan diencerkan dengan pelarut sampai garis tanda. Lalu dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi

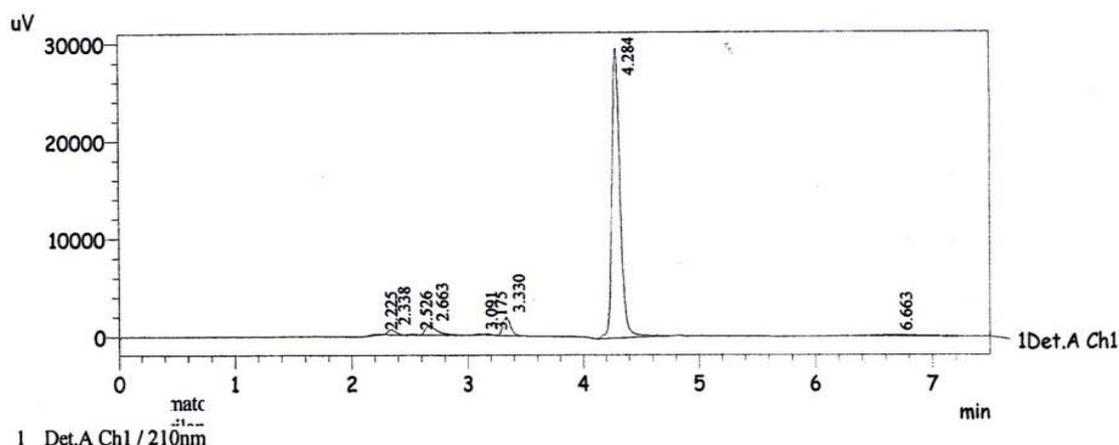
0,135; 0,2025; 0,3375; 0,405; 0,54; 0,675; 1,08 µg/ml. Masing-masing larutan tersebut disaring melalui penyaring *membrane Cellulosa nitrate* 0,2 µm, kemudian diawadarakan selama ±20 menit. Setelah itu, filtrat larutan baku pembanding disuntikkan sebanyak 100 µl ke dalam sistem KCKT. Kromatogram direkam dan dibuat kurva kalibrasi antara luas puncak dengan konsentrasi.

Larutan sampel yang telah disiapkan disaring melalui penyaring *membrane cellulose*, kemudian diawadarakan selama ±20 menit. Sebanyak 100 µl disuntikkan ke dalam sistem KCKT dengan fase gerak larutan asam fosfat 11,45 mM dan asetonitril. Kromatogram direkam dan dicatat luas puncak.

Hasil dan Pembahasan

Optimasi Kondisi Alat Kromatografi

Kromatogram hasil analisis akrilamida menggunakan fase gerak dengan komposisi asam fosfat 11,45 mM : asetonitril (95 : 5) dengan panjang gelombang 210 nM dan laju alir 1 ml/menit. Kondisi optimal ini digunakan untuk menganalisis kandungan akrilamida dalam pisang goreng karena memberikan hasil kromatogram yang baik. Fase gerak yang digunakan meminimalkan intervensi dari zat-zat lain dalam sampel. Kromatogram dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram Hasil Penyuntikan Larutan Akrilamida Baku dengan Komposisi Fase Gerak Asam Fosfat 11,45 mM : Asetonitril (95 : 5); panjang gelombang 210 nm dan Laju Alir 1,0 ml/menit.

Analisis Kualitatif Akrilamida

Identifikasi kandungan Akrilamida diperoleh dari larutan sampel yang disuntikan secara KCKT dengan kolom Shim-pack VP-ODS (4,6 X 250 mm), perbandingan fase gerak asam fosfat

11,45 mM : asetonitril (95 : 5), volume penyuntikan 100 μ L, laju alir (*flow rate*) 1,0 ml/menit, *detector* UV-Vis pada panjang gelombang 210 nm ini menghasilkan waktu tambat sampel seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Waktu Tambat setiap sampel Menggunakan KCKT

No Sampel	Waktu Tambat			SD
	I	II	Rata-Rata	
1	4,239	4,224	4,2315	0,015
2	4,228	4,249	4,2385	0,021
3	4,242	4,253	4,2475	0,011
4	4,227	4,233	4,23	0,06
5	4,263	4,294	4,2785	0,031
6	4,259	4,264	4,2615	0,005
7	4,266	4,256	4,261	0,01
8	4,254	4,367	4,3105	0,113
9	4,246	4,251	4,2485	0,005
10	4,232	4,237	4,2345	0,005
11	4,240	4,253	4,2465	0,013
12	4,245	4,241	4,243	0,004

Keterangan : Data diperoleh dari dua kali ulangan pengujian, dilengkapi dengan Standar Deviasi

Waktu tambat yang diperoleh tidak berselisih jauh satu dengan lainnya. Waktu tambat yang dihasilkan oleh

larutan baku Akrilamida dengan konsentrasi 1,08 μ g/ml yaitu 4,284 menit. Waktu tambat yang diperoleh setiap

larutan sampel berdekatan dengan waktu tambat larutan baku Akrilamida. Meskipun waktu tambat yang dihasilkan tidak sama persis namun puncak yang diamati dalam kromatogram sampel dapat diterima sebagai puncak akrilamida. Hasil ini menunjukkan bahwa jenis sampel pisang goreng teridentifikasi dengan kadar akrilamida.

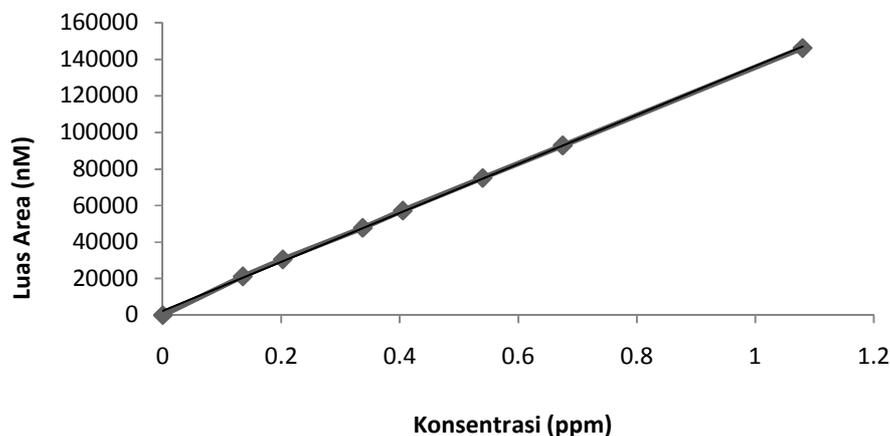
Analisis Kuantitatif Akrilamida

Analisis kadar akrilamida secara kuantitatif ditentukan menggunakan kurva kalibrasi akrilamida baku berdasarkan luas puncak. Kurva kalibrasi akrilamida baku dibuat dengan konsentrasi meningkat dimulai dari 0,135; 0,202; 0,3375; 0,405; 0,54; 0,675; dan 1,08 $\mu\text{g/ml}$. Luas puncak yang diperoleh dari akrilamida baku dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Luas Area Akrilamida Baku

No	Konsentrasi (ppm)	Area 210nm
1	0	0
2	0.135	21176
3	0.2025	30554
4	0.3375	47706
5	0.405	57183
6	0.54	75033
7	0.675	92815
8	1.08	146134

Data di atas digunakan untuk mendapatkan persamaan regresi, hubungan antara konsentrasi dan luas area. Setelah data dianalisa menggunakan regresi, diperoleh hubungan yang linear antara konsentrasi dan luas area dengan persamaan $Y = bx \pm a$. Kurva kalibrasi larutan baku akrilamida dapat dilihat pada Gambar 2 di bawah ini.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Akrilamida Baku

Kurva kalibrasi di atas memiliki nilai koefisien korelasi, $r = 0,9997$. Koefisien korelasi ini lebih baik jika dibandingkan dengan hasil yang diperoleh Christian

(1994) yaitu 0,99. Dari hasil perhitungan, diperoleh persamaan garis regresi $Y=133940,9244X + 2318,7975$.

Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan kadar akrilamida dalam sampel pisang goreng. Kadar akrilamida

dalam pisang goreng dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Kadar Akrilamida dalam Pisang Goreng

No Sampel	Kadar Akrilamida ($\mu\text{g}/10\text{g sampel}$)*	Kadar Akrilamida ($\mu\text{g}/\text{kg sampel}$)
1	17,90 \pm 7,76	1789,52
2	0,40 \pm 0,40	39,65
3	0,74 \pm 1,38	74,01
4	1,42 \pm 1,65	141,58
5	4,41 \pm 0,10	441,42
6	-	-
7	1,64 \pm 0,80	163,69
8	2,99 \pm 4,33	299,42
9	-	-
10	1,76 \pm 1,89	176,31
11	1,02 \pm 0,01	101,84
12	10,37 \pm 0,59	1036,68

Keterangan : Data diperoleh dari dua kali ulangan pengujian, dilengkapi dengan Standar Deviasi

Tabel 3 menunjukkan kadar akrilamida tertinggi terdapat pada sampel no 1 sebesar 17,90 $\mu\text{g}/10\text{g}$ sampel dan sampel no 12 sebesar 10,37 $\mu\text{g}/10\text{g}$ sampel. Selanjutnya, kadar akrilamida terendah terdapat pada sampel no 2 sebesar 0,40 $\mu\text{g}/10\text{g}$ sampel. Sedangkan sampel yang tidak mengandung akrilamida dalam pisang goreng yaitu sampel no 6 dan sampel no 9. Kadar akrilamida yang bervariasi disebabkan oleh beberapa faktor, seperti lama pemanasan dan suhu. Pemanasan mempengaruhi pembentukan akrilamida dalam sampel. Sampel yang dalam perlakuan berada pada pemanasan yang tinggi menghasilkan akrilamida yang tinggi.

Pengamatan secara visual tidak dapat menunjukkan pisang goreng mengandung akrilamida. Semua sampel pisang goreng dalam pengolahannya menggunakan minyak jelantah (minyak yang berwarna

hitam karena pemakaian berulang kali) ini dapat mengganggu kesehatan. Pengamatan secara visual juga dilakukan setelah dilakukan perlakuan terhadap sampel. Sampel yang tidak mengandung akrilamida memiliki warna bening kekuning-kuningan. Warna ini juga merupakan warna dari semua sampel yang mengandung akrilamida. Dua belas sampel yang memiliki warna yang sangat kuning adalah sampel 10, sampel ini mengandung akrilamida, tetapi kadarnya tidak melewati batas yang ditentukan. Kadar akrilamida dalam sampel pisang goreng yang dianalisis masih berada pada kadar yang diperbolehkan yaitu 50-500mg/kg. Umumnya seseorang makan pisang goreng sekitar dua buah dan diperkirakan bahwa berat dua pisang goreng sekitar 200 gram, jadi kadar akrilamida yang dikonsumsi seseorang tiap harinya yaitu 435,544 $\mu\text{g}/200\text{ gram}$.

Meskipun kadar akrilamida dalam pisang goreng masih jauh dari nilai ambang batas yang diperbolehkan, akan tetapi asupan akrilamida dalam makanan yang dikonsumsi dapat terakumulasi di dalam tubuh dan dikhawatirkan dapat berdampak negatif terhadap kesehatan manusia. Akrilamida yang terakumulasi akan memicu terjadinya proses karsinogen karena terbentuknya glisidamida yang merupakan suatu epoksida yang bersifat genotoksik dan penyebab terjadinya kanker. Oleh karena itu konsumsi pisang goreng yang berlebih tetap harus dihindari untuk mencegah terjadinya akumulasi akrilamida di dalam tubuh.

Kesimpulan

Analisis kualitatif akrilamida menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menghasilkan waktu tambat $\pm 4,284$ yang diperoleh dari 12 sampel pisang goreng yang beredar di 6 kecamatan kota Manado, 10 sampel pisang goreng mengandung akrilamida dan 2 sampel pisang goreng tidak mengandung akrilamida. Kadar akrilamida dalam pisang goreng yang beredar di Kota Manado sebesar 39,65 – 1789,52 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Daftar Pustaka

- Anonim. 2005. Pembentukan Akrilamida dalam Makanan <http://catatankimia.com/catatan/pembentukan-akrilamida-dalam-makanan.html>. [15 Mei 2012]
- Anonim. 2006. Akrilamida, Bahaya Kelezatan <http://kesehatan.kompas.com/read/2009/08/13/09063542/akrilamida.bahaya.kelezatan>. [15 Mei 2012]
- BPOM. 2004. Akrilamida dalam Makanan : Dapatkah Menyebabkan Kanker. *Info POM* . Vol 5 No 6: Hal 6.
- Dewi, P.S. 2010. Penetapan Kadar Akrilamida Dalam Kentang Goreng Pada Restoran Cepat Saji di Kota Medan Secara KCKT. [Skripsi]. Fakultas Farmasi USU, Medan.
- Harahap, Y. 2005. Optimasi Penetapan Kadar Akrilamida yang Ditambahkan ke dalam Kripik Kentang Simulasi Secara KCKT. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II, No.3 : Hal 154-163
- Harahap, Y. 2006. Pembentukan Akrilamida dalam Makanan dan Analisisnya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. III. No.3 : Hal 107-116
- Rohdiana, D. 2004. Akrilamida dalam Makanan. <http://www.pikiranrakyat.Com/cetak/0904/02/Cakrawala/lainnya02.Htm>[18 Mei 2012]