



**IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR SENYAWA PREKURSOR PEMBENTUK
AKRILAMIDA DALAM MAKANAN**

Oleh

Oktaf Rina

**Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Lampung
Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian, Politeknik Negeri Lampung
Email : oktafrina@polinela.ac.id**

Abstract

This study aims to examine the presence of acrylamide precursors in food processed at high temperatures. Acrylamide compounds in foods containing the amino acid asparagine and reducing sugars processed at high temperatures have the potential to contain high levels of acrylamide. The beginning of research was carried out to determine the precursor content in the raw material then analyzed the amount of acrylamide with HPLC-RP LC-6A Shimadzu with C18 column and sterile aquabidest as mobile phase. Optimization conditions were achieved with a column temperature of 35°C, a wavelength of 254 nm and a flow rate of 0.8 mL / minute. The retention time of acrylamide was observed at 3.8 minutes. The food samples tested were banana chips. The results showed that banana chips with a moisture content of 7.74% (w / w) ± 0.01 contained acrylamide 115.5 to 565 µg / kg. Acrylamide levels are influenced by the number of precursors, temperature and duration of food processing.

Keywords : Asparagin, Gula Reduksi, Akrilamida & HPLC-RP

PENDAHULUAN

Senyawa akrilamida termasuk senyawa yang berbahaya bagi tubuh makhluk hidup. Adanya senyawa ini dalam tubuh manusia dapat berasal dari air yang terkontaminasi oleh zat ini atau berasal dari kemasan makanan yang terbuat dari plastik. Senyawa diduga bersifat karsinogenik dan mutagenik (Otles and Serkan, 2004; Zhang&Ying, 2007). Akrilamida dalam makanan ditemukan oleh ilmuwan Swedia tahun 2002 pada makanan yang berbahan dasar pati seperti produk olahan kentang (Brathen *et al.*, 2005; Gokmen *et al.*, 2006; Morales *et al.*, 2008; Pedreschi *et al.*, 2005; Romani *et al.*, 2009). Jaminan keamanan pangan diperlukan oleh konsumen bahkan telah dipublikasi juga data jumlah akrilamida dalam makanan di beberapa negara (Abong & Kabira (2015); Borda & Alexe (2011); Keramat *et al.*, (2011); Zyzak *et al.*, (2003)). Indonesia juga kaya akan makanan khas di tiap daerah. Jenis makanan cukup bervariasi dan diolah berdasarkan bahan baku. Teknik pengolahan yang sederhana, baik melalui proses penggorengan maupun pada pemasakan dengan

suhu tinggi seperti dibakar atau dipanggang. Jumlah akrilamida dalam makanan akan bervariasi dan dipengaruhi oleh jenis bahan pangan, komposisi dan matriks bahan pangan, nilai aw, daerah permukaan kontak panas, variasi kondisi proses pemasakan seperti waktu dan suhu pemasakan serta cara atau metoda pemasakan (Vivanti *et al.*, 2006).

Akrilamida merupakan senyawa neurotoksik dan berpotensi sebagai karsinogen bagi manusia (Zhang&Ying, 2007). Pembentukan senyawa ini pada bahan pangan juga terjadi karena reaksi Maillard yaitu reaksi antara asam amino dengan senyawa gula pereduksi seperti glukosa dan fruktosa yang terjadi pada suhu tinggi (Granda *et al.*, 2005; Otles and Serkan, 2004; Zyzak, 2003). Selain itu, senyawa akrilamida merupakan salah satu senyawa toksik yang ada pada bahan pangan yang digoreng terutama pada bahan yang berbasis pati contohnya kentang, gandum, jagung dan beras yang diolah dengan temperatur tinggi seperti digoreng, dibakar dan dipanggang



(Keramat *et al.*, 2011; Morales *et al.*, 2008; Zhang & Zhang, 2007).

Senyawa akrilamida merupakan salah satu senyawa toksik yang ada pada bahan pangan yang digoreng terutama pada bahan yang berbasis pati contohnya kentang, gandum, jagung dan beras (Granda *et al.*, 2005; Zhang&Ying, 2007). Pembentukan senyawa ini pada bahan pangan juga terjadi karena reaksi Maillard yaitu reaksi antara asam amino dengan senyawa gula pereduksi seperti glukosa dan fruktosa yang terjadi pada suhu tinggi. Gula pereduksi merupakan senyawa karbohidrat yang memiliki gugus fungsi aldehida sehingga dapat mereduksi senyawa lain. Contoh beberapa gula pereduksi adalah glukosa, fruktosa dan galaktosa. Selain itu, disakarida juga akan menghasilkan monosakarida pereduksi seperti laktosa dan maltosa. Sedangkan asam amino yang lebih berpotensi untuk membentuk senyawa akrilamida adalah asparagin karena reaksi dekarboksilasi dari senyawa asparagin lebih cepat membentuk senyawa akrilamida. Ada 2 (dua) cara untuk mengurangi kadar akrilamida dalam bahan makanan yaitu melalui penurunan jumlah prekursor dan menurunkan suhu saat pemasakan (Pedreschi *et al.*, 2005; Romani *et al.*, 2009). Penelitian ini bertujuan menguji keberadaan prekursor pembentuk senyawa akrilamida dalam bahan pangan yang diolah pada suhu tinggi. Jenis senyawa gula pereduksi dan jenis asam amino menjadi faktor yang mempengaruhi jumlah senyawa akrilamida yang terbentuk.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat gelas untuk pembuatan larutan analisis, cawan pemanas, Oven UF55 Memmert, neraca analitik Kern ABJ, shaker, HLPC LC-6A Shimadzu. Bahan : glukosa monohidrat (Merck), asparagin (Merck), akrilamida p.a. (Merck), asetonitril (Merck), kloroform, akuabides steril (Ikafarmindo).

Pelaksanaan penelitian

a. Penentuan kadar protein

Sampel ditimbang sebanyak 0.2 g kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 ml lalu ditambahkan 2 g K₂SO₄, 40 mg HgO dan 2.5 ml H₂SO₄ pekat. Setelah itu campuran dalam labu tersebut didestruksi selama 30 menit sampai warna larutan menjadi hijau jernih dan dibiarkan sampai dingin. Hasil destruksi didistilasi. Destilat ditampung dalam erlenmeyer yang telah berisi HCl dan indikator fenol phtalein lalu dititrasi dengan HCl 0.02 N. Titrasi dilakukan juga untuk larutan blanko yang berisi akuades. Kadar nitrogen dihitung berdasarkan persamaan :

$$\text{Kadar N(\%)} = \frac{(V_{\text{HCl Sampel}} - V_{\text{HCl blanko}}) \times N_{\text{HCl}} \times 4,0067}{\text{mg sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar protein (\%)} = 6.25 \times \% \text{ N}$$

b. Penentuan kadar gula pereduksi

Sebanyak 2 – 5 g sampel pisang ambon mentah yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam gelas beaker 250 ml lalu ditambahkan 100 ml akuades dan 25 ml larutan Luff Schoorl. Beberapa butir batu didih dimasukkan ke dalam erlenmeyer-erlenmeyer tersebut dan dipanaskan selama 10 menit lalu didinginkan. Setelah dingin, campuran dalam erlenmeyer tadi ditambahkan 15 ml KI 20% dan 25 ml H₂SO₄ 26.5% dengan hati-hati. Yodium yang dibebaskan dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0.1 N memakai indikator pati 1% sebanyak 2-3 ml. Titrasi diakhiri setelah hilangnya warna ungu kebiruan. Blanko dibuat dengan cara : sebanyak 25 ml larutan Luff Schoorl ditambah 25 ml akuades. Selisih volume titran pada titrasi blanko dan titrasi larutan sampel dikonversikan dengan nilai pada Tabel 1 dan akan diperoleh jumlah (mg) glukosa, fruktosa dan gula invert dalam sampel bahan pisang ambon. Perhitungan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar gula pereduksi} = \frac{\text{jumlah glukosa, fruktosa, gula invert (mg)} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{Berat Sampel (mg)}} \times 100\%$$



Tabel 1. Penentuan jumlah gula pereduksi dengan metoda Luff Schoorl

Selisih volume (ml) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N	Jumlah glukosa, fruktosa, gula invert $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (mg)		Selisih volume (ml) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N	Jumlah glukosa, fruktosa, gula invert $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (mg)	
		Δ			Δ
1.0	2.4	2.4	13.0	33.0	2.7
2.0	4.8	2.4	14.0	35.7	2.8
3.0	7.2	2.5	15.0	38.5	2.8
4.0	9.7	2.5	16.0	41.3	2.9
5.0	12.2	2.5	17.0	44.2	2.9
6.0	14.7	2.5	18.0	47.3	2.9
7.0	17.2	2.6	19.0	50.0	3.0
8.0	19.8	2.6	20.0	53.0	3.0
9.0	22.4	2.6	21.0	56.0	3.1
10.0	25.0	2.6	22.0	59.1	3.1
11.0	27.6	2.7	23.0	62.2	-
12.0	30.3	2.7	24.0	-	-

Keterangan : nilai Δ adalah faktor yang dikalikan dengan bilangan desimal selisih volume titran

c. Penentuan asparagin

Asam amino asparagin ditentukan dengan HPLC sistem Reversed-Phase, kolom C18 dengan fase gerak asetonitril : kalium fosfat 0.03 M (20:80) dengan sistem elusi gradien. Kecepatan alir yang digunakan adalah 0.5 ml/menit dengan suhu kolom 30°C. Sampel hasil hidrolisis diinjeksikan sebanyak 20 µl ke dalam kolom. Detektor yang digunakan adalah detektor UV pada panjang gelombang 190 nm. Larutan asam amino asparagin p.a. digunakan sebagai larutan standar. Asparagin standar dilarutkan dalam pelarut asetonitril : kalium fosfat (20:80). Konsentrasi larutan standar yang dibuat adalah 10 – 100 µM. Kondisi penginjeksian larutan standar ke dalam alat sama dengan larutan sampel. Waktu retensi larutan standar berada pada 5.82 - 5.88 menit. Kurva kalibrasi larutan standar dan regresi linier digunakan untuk menentukan konsentrasi asam amino asparagin di dalam sampel pisang ambon.

d. Penentuan kadar akrilamida

Sampel keripik pisang yang sudah mengalami perlakuan proses pengolahan dianalisis kandungan akrilamidnya dengan alat HPLC. Sebelumnya, senyawa akrilamid dalam keripik pisang ambon hasil perlakuan diisolasi dengan cara : 20 gram sampel dilarutkan dalam 25 ml diklorometan, dihomogenkan selama 30 menit. Larutan disaring dan filtrat ditambahkan dengan 10 ml H_3PO_4 10%. Diklorometan diuapkan di atas penangas air pada suhu 70°C dan cairan yang tersisa dipindahkan ke dalam labu 10 ml kemudian ditambahkan H_3PO_4 10% sampai tanda batas dan disaring. Filtrat diambil 1.0 ml dan dimasukkan dalam labu 25.0 ml kemudian ditambahkan dengan H_3PO_4 10% sampai tanda batas. Kemudian sampel disaring dengan kertas Whatman 40. Sampel diinjeksikan sebanyak 20 µl ke dalam kolom HPLC dan dicatat luas puncaknya pada kromatogram. HPLC yang digunakan adalah HPLC dengan kolom C18 (25 cm x 4.6 mm x 5 mm, Supelco), sistem Reversed Phase (RP-HPLC) yang menggunakan fase diam non polar dan fase Bergeraknya adalah campuran pelarut yaitu akuabides. Detektor yang digunakan adalah UV-Vis SPD-6AP (Shimadzu) panjang gelombang 254 nm, pompa LC-6A (Shimadzu). Kecepatan alir 0,8 ml/menit dengan volume injeksi 20 µl. Waktu retensi akrilamida berada pada angka 3.9 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar protein dalam bahan baku

Prekursor pembentuk akrilamida adalah karbohidrat yang bereaksi dengan asam amino selama proses pengolahan makanan terutama pada suhu tinggi penggorengan dan pemanggangan (Friedman 2003; Zhang & Ying 2007). Friedman (2003) menjelaskan pembentukan akrilamida melalui reaksi asam amino asparagin dengan gugus hidroksil pada senyawa gula pereduksi dan kemudian terjadi reaksi penataan ulang yang disertai pelepasan gugus karboksil.

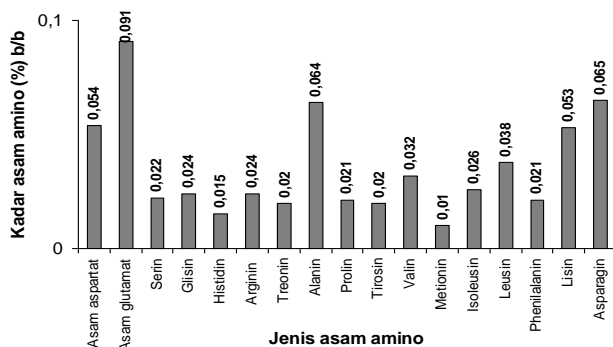


Tabel 2. Hasil analisis kadar air dan protein dari bahan baku pisang ambon

Komponen	Pisang ambon mentah(%)	Pisang ambon matang(%)
Air	73.5 ± 0.1	74,7 ± 0.5
Protein	1.51 ± 0.04	0.76 ± 0.01

Grandra *et al.* (2005) menyatakan bahwa komponen asam amino menjadi faktor utama dalam pembentukan akrilamida. Hasil pengujian asam amino (Gambar 1) menunjukkan bahwa pisang ambon memiliki asam amino asparagin sebesar 0.065% (b/b). Adanya asam amino asparagin dalam pisang ambon mentah mendukung dugaan bahwa keripik pisang ambon berpotensi mengandung akrilamida jika diolah pada suhu tinggi seperti penggorengan. Zyzak *et al.* (2003) juga menjelaskan bahwa pada saat pemanasan campuran dekstrosa dan asam amino maka asparagin merupakan asam amino yang berpotensi sekali membentuk akrilamida jika dibandingkan dengan asam amino lain.

Gambar 1. Profil asam amino dalam pisang ambon

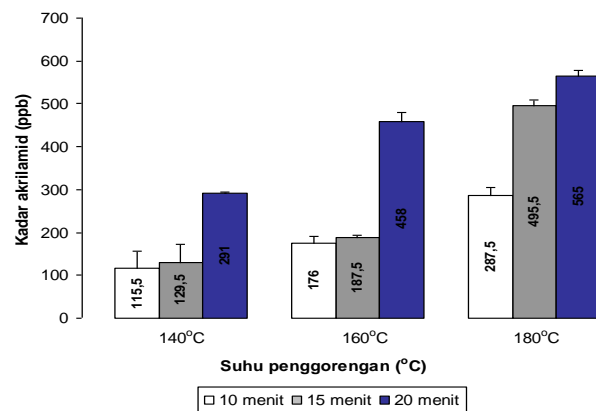


Akrilamida merupakan hasil reaksi senyawa kimia yang ada dalam bahan makanan karena proses pemanasan. Mekanisme reaksi pembentukan akrilamida cukup kompleks namun dapat diamati dari pembentukan senyawa melanoidin yang mengakibatkan terjadinya perubahan warna kuning sampai coklat dan memberikan rasa pahit serta citarasa yang khas pada bahan makanan. Perubahan warna produk keripik kentang menunjukkan adanya hubungan dengan jumlah senyawa akrilamida di dalamnya.

Prekursor pembentuk senyawa akrilamida dalam bahan pangan adalah asam amino terutama asparagin, yang bereaksi dengan gula pereduksi dalam kondisi suhu tinggi. Pemanasan pada suhu 180°C selama 30 menit akan menghasilkan 368 µmol akrilamid/mol asparagin (Zhang&Ying. 2007).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu menggoreng keripik pisang ambon maka jumlah akrilamida yang terbentuk juga semakin meningkat (Gambar 2). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Williams (2005) yang menjelaskan bahwa jumlah akrilamid dalam keripik kentang akan semakin tinggi jika suhu meningkat dan semakin lama waktu penggorengan.

Gambar 2. Pengaruh suhu dan waktu penggorengan terhadap pembentukan akrilamida



Brathen dan Svein (2005) menunjukkan adanya titik maksimal yang dapat menyebabkan pembentukan akrilamida paling banyak. Menurunnya akrilamida dikarenakan terjadinya reaksi lanjut dan degradasi senyawa akrilamida yang diikuti dengan pembentukan melanoidin yang memberikan warna kehitaman pada produk. Pembentukan warna selama pemanasan makanan dapat meningkat dengan adanya pemanasan yang lebih tinggi karena terjadi juga reaksi karamelisasi terhadap komponen gula dalam bahan pangan. Pedreschi *et al.* (2005) menyatakan mekanisme reaksi pembentukan akrilamida cukup kompleks namun dapat diamati dari pembentukan senyawa melanoidin yang



mengakibatkan terjadinya perubahan warna kuning sampai coklat dan memberikan rasa pahit serta citarasa yang khas pada bahan makanan. Fenomena yang serupa terlihat pada hasil penelitian. Pada penelitian ini, perlakuan 140°C selama 10 menit dipilih untuk pengujian lebih lanjut karena menghasilkan produk dengan warna yang lebih baik selain mengandung akrilamida yang relatif lebih rendah.

Pemberian suhu penggorengan yang lebih tinggi menyebabkan terbentuknya akrilamida lebih banyak. Hal ini nampak pada jumlah akrilamida dalam keripik pisang ambon dengan perlakuan suhu 180°C selama 10 menit, yang lebih tinggi dari suhu 140°C selama 10 menit. Penggunaan suhu yang rendah selama penggorengan (dibawah 160°C) dapat menurunkan jumlah akrilamida yang terbentuk (Pedreschi *et al.* 2005). Akan tetapi, Romani *et al.* (2009) menyatakan bahwa kualitas karakteristik produk hasil penggorengan pada suhu rendah seperti tekstur, warna, aroma dan kandungan minyak produk jadi menurun sehingga penerimaan produk oleh konsumen menjadi berkurang.

PENUTUP

Kesimpulan

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa bahan baku yang mengandung gula pereduksi dan asam amino akan berpotensi mengandung senyawa akrilamida jika diolah pada suhu tinggi (>160°C). Tingkat kematangan buah pisang akan mempengaruhi jumlah prekursor pembentuk senyawa akrilamida. Semakin tinggi suhu pengolahan dan semakin lama waktu pengolahan maka produk makanan akan makin berpotensi mengandung akrilamida. Pengolahan dengan suhu 140°C sampai 180°C akan menghasilkan kadar akrilamida 115,5 sampai 565 µg/kg produk.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Brathen E, Svein HK, 2005, Effect of Temperature and Time on The Formation of Acrylamide in Starch-Based and Cereal Model Systems, Flat Breads and Bread, *Food Chemistry* 92: 693-700.
- [2] Brathen E, Agnieszka K, Svein HK, Trude W., 2005, Addition of Glycine Reduces the Content of Acrylamide in Cereal and Potato Products, *J Agric. Food Chem* 53: 3259-3264.
- [3] Friedman M., 2003, Chemistry, Biochemistry and Safety of Acrylamide, A review., *J Agric. Food Chem* 51: 4504-4526.
- [4] Granda C, Rosana GM, Elena CP., 2005, Effect of Raw Potato Composition on Acrylamide Formation in Potato Chips, *J Food Science* 70: 519-525.
- [5] Kim CT, Eun SH, Hyong JL., 2005, Reducing Acrylamide in Fried Snack Products by Adding Amino Acids, *J Food Science* 70 : 354-358.
- [6] Otles S, Serkan O., 2004, Acrylamide in Food (Chemical Structure of Acrylamide), *J Electronic Environmental, Agricultural and Food Savety* 3 : 723-730.
- [7] Pedreschi F, Pedro M, Karl K, Kit G., 2005, Color Changes and Acrylamide Formation in Fried Potato Slices, *J Food Research International* 38: 1-9.
- [8] Romani S, Bacchiocca M, Rocculi P, Rossa MD., 2009, Influence of Frying Conditions on Acrylamide Content and Other Quality Characteristics of French Fries, *J Food Composition and Analysis* 30. 1-7.
- [9] Williams JSE., 2005, Influence of Variety and Processing Conditions on Acrylamide Levels in Fried Potato Crips, *Food Chem* 90: 875-881.
- [10] Zhang Yu, Ying Z., 2007, Formation and Reduction of Acrylamide in Maillard Reaction : A Review Based on The Current State of Knowledge, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47: 521-543.
- [11] Zyzak DV *et al.* , 2003, Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods, *J Agric. Food Chem* 51: 4782-4787.



HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN