

Penentuan Kadar Antioksidan *tertiary butyl Hydroquinone* pada Minyak Goreng Curah dengan Menggunakan Metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Lisna Gianti ^{1*)}

Akademik Farmasi YPF

*)Email: Lisna.gianti@akfarypf.ac.id

Info Artikel

Sejarah Artikel :

Diterima : 27 Juni 2023

Disetujui : 19 Juli 2023

Dipublikasikan : 31 Juli 2023

Kata Kunci:

TBHQ, KCKT, minyak kelapa sawit

Keywords:

TBHQ, HPLC and Palm oil

Abstrak

Latar belakang: TBHQ adalah antioksidan sintetis, yaitu digunakan untuk menstabilkan makanan yang mengandung lemak dan minyak nabati. Pemakaian antioksidan sintetis masih diperbolehkan sepanjang pemakaiannya sesuai dengan dosis yang diperbolehkan. Jika digunakan melebihi dari batas maksimum penggunaan antioksidan sintetis memiliki efek toksik yaitu kerusakan hati dan kanker. **Tujuan:** penelitian ini adalah untuk menentukan kadar TBHQ pada minyak kelapa sawit. **Metode:** Teknik sampling yang digunakan secara acak di pasar sekitar Bandung dengan 3 waktu pengambilan yang berbeda. Sampel yang di uji sebanyak 6 minyak goreng di toko yang berbeda. Selanjutnya untuk pengujian menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) dengan detektor UV pada panjang gelombang 280 nm. TBHQ diekstraksi dengan menggunakan etil asetat dan air suling. Kondisi KCKT yang digunakan yaitu fase diam kolom C-18, fase gerak methanol : asetonitril : asam asetat 1% (70: 10: 20) dan laju alir 1 menit/ml. Uji linieritas menghasilkan koefisien korelasi 0,996. **Hasil :** Hasil uji perolehan kembali berdasarkan metode penambahan standar sebesar 16-75%. Simpangan baku relatife pada uji presisi sebesar 17,36%. Batas deteksi dan batas kuantitasi sebesar 0,3465 ppm dan 1,155 ppm. Hasil uji dari 6 sampel minyak yang berasal dari pasar sekitar Bandung menghasilkan bahwa sampel ke 1, 2, 3 dan 6 tidak terdeteksi mengandung TBHQ sedangkan sampel 4 dan 5 terdeteksi mengandung TBHQ sebesar 1,168 ppm dan 0,36 ppm. **Kesimpulan dan saran:** minyak curah tersebut aman untuk dikonsumsi karena tidak melebihi batas maksimum dan saran penelitian perlu pembaharuan metode.

Abstract

Background: TBHQ is a synthetic antioxidant, which is used to stabilize foods containing vegetable fats and oils. The use of synthetic antioxidants is still permitted as long as their use is in accordance with the permissible dosage. If used in excess of the maximum use of synthetic antioxidants have toxic effects, liver damage and cancer. **Objectives:** this research was to determine the level of TBHQ in palm oil. **Methods:** The sampling technique used is random in markets around Bandung with 3 different sampling times. The samples tested were 6 palm oils in different shops. And then for testing using high performance liquid chromatography (HPLC) with a UV detector at a wavelength of 280 nm. TBHQ was extracted using ethyl acetate and distilled water. The HPLC conditions used were the stationary phase column C-18, the mobile phase methanol : acetonitrile : acetic acid 1% (70: 10: 20) and a flow rate of 1 minute/ml. The linearity test produces a correlation coefficient of 0,996. **Results:** The recovery test results based on the standard addition method were 16-75%. The relative standard deviation in the precision test is 17,36%. Limits of detection and

quantitation limits of 0,3465 ppm and 1,155 ppm. Test results from 6 palm oil samples from markets around Bandung, resulted that samples 1, 2, 3 and 6 were not detected to contain TBHQ while samples 4 and 5 were detected to contain TBHQ of 1.168 ppm and 0.36 ppm. **Conclusions and suggestions:** This palm oil is safe for consumption because it does not exceed the maximum limit and research suggestions need to be updated on methods.

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elaeis guinensis* Jack) berasal dari Nigeria dan Afrika Barat, tetapi ada juga yang menyatakan bahwa kelapa sawit berasal dari Amerika Selatan yaitu Brazil dibandingkan dengan Afrika. Pada kenyataannya tanaman kelapa sawit hidup subur di luar daerah asalnya, seperti Malaysia, Indonesia, Thailand, dan Papua Nugini (Pahan, 2006). Minyak kelapa sawit adalah minyak yang diperoleh dari proses ekstraksi daging buah kelapa sawit, berdasarkan kandungan asam lemak digolongkan ke dalam minyak asam laurat, karena kandungan asam lauratnya paling besar jika dibandingkan dengan asam lemak lainnya (Buana, et al., 2003).

Antioksidan adalah senyawa yang mampu mencegah ketengikan oksidatif dari lemak. Antioksi dalam industri makanan mempunyai berbagai macam kegunaan diantaranya dapat memperpanjang umur simpan dari bahan pangan, mengurangi kehilangan nutrisi seperti vitamin yang larut dalam minyak (Srinivasan, 2014). Antioksidan alami memiliki beberapa kekurangan yaitu mahal karena memerlukan proses pemurnian. Pemakaian antioksidan sintetis masih diperbolehkan sepanjang pemakaiannya sesuai dengan dosis yang diperbolehkan (Young, 2001).

Antioksidan sintetis penggunaannya yang praktis dan biaya relatif murah. Antioksidan yang cukup meluas penggunaannya diseluruh dunia antara lain BHA, BHT, TBHQ, tokoferol dan propil galat. Jumlah BHT, BHA dan TBHQ yang diperbolehkan untuk lemak dan minyak makan maksimum 200 ppm² (Menkes RI, 2012).

Berdasarkan uraian diatas maka pada penelitian kali ini akan dilakukan analisis kadar antioksidan TBHQ didalam minyak kelapa yang beredar dipasar Bandung, sehingga diketahui kadar kandungan TBHQ dalam minyak kelapa.

METODE

Tahapan penelitian yang akan dilakukan adalah pemilihan sampel, preparasi sampel, penyiapan alat serta pengujian kesesuaian sistem KCKT, penyiapan larutan baku, verifikasi metode KCKT dan penetapan kadar TBHQ. Pengambilan sampel dengan cara diambil beberapa minyak goreng curah dari tempat yang berbeda di pasar sekitar Bandung dengan 3 waktu pengambilan yang berbeda kemudian sampel yang diperoleh ditampung dan selanjutnya diproses.

Preparasi sampel

Sampel minyak sebanyak 5 ml diekstraksi dengan campuran 15 ml etil asetat dan 5 ml air suling, kemudian lapisan etil asetat dikumpulkan. Proses ekstraksi tersebut diulang sebanyak tiga kali. Selanjutnya lapisan etil asetat ditambahkan dengan natrium sulfat untuk menyerap air suling yang masih tersisa, selanjutnya lapisan etil asetat disaring dengan kertas saring kemudian diuapkan lalu dilarutkan dengan fase gerak hingga 10 ml setelah itu disaring dengan menggunakan membran filter. Hasil yang diperoleh disuntikkan ke KCKT sebanyak 20 μ L dengan detektor sinar UV panjang gelombang 280 nm.

Penyiapan larutan baku

TBHQ ditimbang sebanyak 50 mg kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL selanjutnya dilarutkan dengan metanol hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

Pembuatan Kurva Baku

Larutan baku TBHQ 1000 ppm yang telah dibuat sebelumnya diencerkan menjadi 100 ppm yaitu dengan cara mengambil 2,5 ml larutan standar, kemudian dilarutkan dalam labu ukur 25 ml dengan methanol. Larutan stok diambil sebanyak 0,05 mL; 0,5 mL; 0,8 mL; 1,2 mL; 1,8 mL dan 2,5 mL, kemudian masing-masing dilarutkan dalam labu ukur 10 ml dengan fase gerak (metanol: natrium sulfat: asam asetat) sehingga diperoleh konsentrasi 0.5 ppm; 5 ppm; 8 ppm; 12 ppm; 18 ppm; 25 ppm kemudian disuntikkan ke KCKT.

Validasi Metode

1) Linieritas

Disiapkan larutan baku TBHQ dengan tingkat konsentrasi yang berbeda yaitu 0.5 ppm, 5 ppm, 8 ppm, 12 ppm, 18 ppm dan 25 ppm dengan cara pengujian sama dengan kurva baku kemudian disuntikkan ke KCKT

2) Akurasi

Sampel minyak yang akan diekstraksi ditambahkan standar TBHQ konsentrasi 0.5 ppm; 12 ppm dan 25 ppm kemudian diekstraksi menggunakan prosedur yang sama dengan ekstraksi sampel selanjutnya disuntikkan ke KCKT penyuntikan diulang sebanyak 3 kali.

3) Presisi

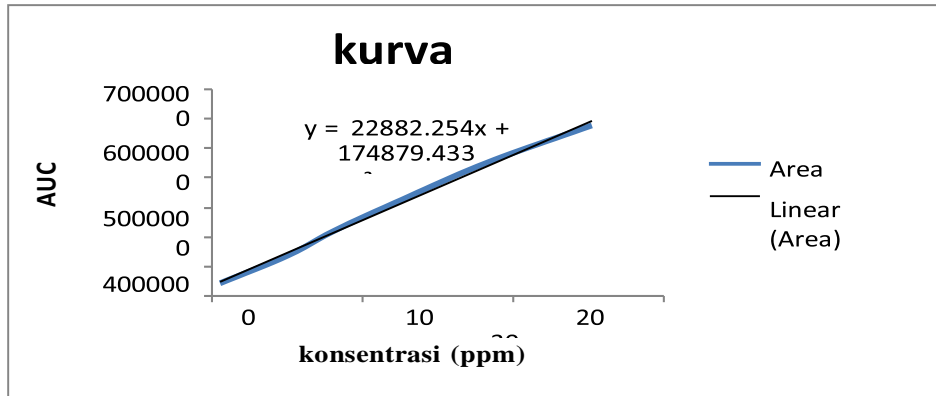
Prosedur yang digunakan sama dengan akurasi tetapi untuk presisi ekstraksi dan pengukuran diulang sebanyak 3 kali.

Penentuan kadar TBHQ didalam sampel

Sampel yang sudah dipreparasi disaring dengan menggunakan nylon filter acrodisk 25 mm x 0,45 μ m. setelah didapat larutan uji, analisis dengan KCKT UV pada panjang gelombang 280 nm dengan menyuntikan ke dalam alat KCKT tersebut. Penetapan kadar untuk setiap sampel dilakukan duplo. Kromatografi cair kinerja tinggi yang digunakan adalah KCKT agilent 1220 infinity LC dengan kondisi analisis kromatografi sesuai dengan hasil optimasi. Laju alir yang digunakan 1 ml/menit dan menggunakan kolom C-18.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan membuat 6 konsentrasi yaitu 0,5; 5; 8; 12; 18; dan 25 ppm dari larutan TBHQ kemudian diukur menggunakan KCKT. TBHQ memiliki gugus kromofor, yaitu cincin aromatik dan gugus auksokrom golongan anion yaitu -OH sehingga dapat dideteksi menggunakan detektor UV pada panjang gelombang 280 nm. Dari data yang diperoleh dapat dibuat hubungan antara konsentrasi dengan luas area (AUC) sehingga diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan garis $y = 228828,254x + 174879,433$. Hasilnya dapat dilihat pada grafik 1.



Gambar 1. Kurva kalibrasi antara konsentrasi standar TBHQ dengan luas area (AUC)

Linieritas suatu metode merupakan ukuran seberapa baik kurva kalibrasi yang menghubungkan antara respon (y) dengan konsentrasi (x), dari data kurvakalibrasi didapat persamaan $y = 228828,254x + 174879,433$ dan dari persamaan tersebut slope yang diperoleh adalah 228828,25 dan r yang diperoleh 0,998 setelah dilakukan perhitungan didapat $S_{y/x} = 0,1155$ dan $V_{x0} = 1,012\%$. V_{x0} yang dipersyaratkan $< 2\%$ sehingga data yang diperoleh sesuai dengan persyaratan.

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima sebagai nilai sebenarnya ataupun nilai rujukan dan nilai akurasi juga dapat dijadikan sebagai petunjuk kesalahan sistematis. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hubungan antara konsentrasi terhadap keseksamaan

| Ekstraksi | C (ppm) | Rata-rata luas Area | Rata-rata kadar hasil hitung | Rata %perolehan kembali |
|-----------|---------|---------------------|------------------------------|-------------------------|
| 1 | 0,5 | 191473 | 0,0725 | 14,5% |
| | 12 | 1809874,333 | 7,14 | 59,53% |
| | 25 | 4058833,333 | 16,97 | 67,88% |
| 2 | 0,5 | 202118,6667 | 0,118 | 27,6% |
| | 12 | 2053059 | 8,20 | 68,08% |
| | 25 | 5049563 | 21,30 | 85,22% |

| | | | | |
|---|-----|-------------|--------|--------|
| | 0,5 | 184564,6667 | 0,0422 | 8,45% |
| 3 | 12 | 2582118,333 | 10,52 | 87,66% |
| | 25 | 4327203,333 | 18,12 | 72,50% |

Berdasarkan tabel 1 hasil hubungan antara konsentrasi terhadap diperoleh nilai presisi pada setiap konsentrasi dan hasil persen presisi yang didapat setelah dirata-ratakan untuk konsentrasi 0,5 ppm, 12 ppm dan 25 ppm adalah 16,85%, 71,75% dan 75,2%.

KCKT tidak dapat mendeteksi keberadaan TBHQ karena hasil yang diperoleh 0,3465 ppm dan batas kuantifikasi yang diperoleh 1,155 ppm disebabkan karena sinyal yang dihasilkan oleh KCKT sangat rendah dan tidak terbaca sebagai sinyal TBHQ. Hasil kadar TBHQ pada sampel dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil kadar TBHQ pada sampel

| Sampel | Pengambilan | Luas Area | Kadar Hasil Hitung (µg/L) |
|--------|-------------|-----------|---------------------------|
| 4 | 1 | 412839 | 1,034 |
| | 2 | 501039 | 1,42 |
| | 3 | 415622 | 1,052 |
| | Rata-Rata | | 1,168 |
| 5 | 1 | 263760 | 0,388 |
| | 2 | 239012 | 0,280 |
| | 3 | 280559 | 0,461 |
| | Rata-Rata | | 0,36 |

KESIMPULAN

Kadar TBHQ dapat ditentukan dengan kromatografi cair kinerja tinggi menggunakan kolom C-18, detektor UV dengan panjang gelombang 280 nm, dan fase gerak yang digunakan adalah methanol, asetonitril dan asam asetat 1%. Hasil kadar TBHQ didalam minyak dapat dideteksi tetapi tidak terkuantifikasi. Rata-rata kadar hasil hitung untuk sampel 4 dan 5 adalah 1,168 dan 0,36 µg/L. Maka dapat disimpulkan bahwa minyak curah tersebut aman untuk dikonsumsi karena batas penggunaannya tidak melebihi batas maksimum.

REFERENSI

- Buana L., D Siahaan, dan S Adiputra. 2003. Kultur Teknis Kelapa Sawit. Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Medan. 215 hal.
- David G, dan watson. 2009. Analisis Farmasi, Edisi 2. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Gandjar dan Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

- Menkes RI. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 033 Tahun Tahun. 2012
Tentang Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: Kemenkes RI;2012
- Pahan Iyung. 2006, Panduan Lengkap Kelapa Sawit, Medan
- Ramdhoni, A. Nawansih, O. Nuraini, F., 2009. Pengaruh Pasteurisasi Dan Lama Simpan Terhadap Sifat Fisik, Kimia, Mikrobiologis Dan Organoleptik Santan Kental
- Rohman, Abdul.2009. Kromatografi Untuk Analisis Obat. Yogyakarta : Graha ilmu
- Srinivasan, K. (2014). *Antioxidant Potential of Spices and Their Active Constituents. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(3), 352–372.
- Winarno F.G. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Bogor: M-Brio Press.
- Young, I. S. (2001). *Antioxidants in health and disease. Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176–186.