

Review : Analisis Asam Lemak Trans Pada Cokelat

ARTIKEL ILMIAH

Laporan Tugas Akhir

Tia Nathania Febrianti

11171152



Universitas Bhakti Kencana

Fakultas Farmasi

Program Strata I Farmasi

Bandung

2021

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

Review : Analisis Asam Lemak Trans Pada Cokelat

ARTIKEL ILMIAH

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

Tia Nathania Febrianti

11171152

Bandung, 17 Juli 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Anne Yuliantini, M.Si.)

NIDN. 0411059101



(Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si.)

NIDN. 0424117601

ABSTRAK

Review : Analisis Asam Lemak Trans Pada Cokelat

Oleh :

Tia Nathania Febrianti

11171152

Penggunaan lemak kakao dalam pembuatan produk cokelat akhir-akhir ini telah tergantikan dengan penggunaan minyak nabati terhidrogenasi parsial. Minyak nabati ini dapat meningkatkan kandungan lemak trans pada cokelat, sehingga menimbulkan efek negatif bagi kesehatan. Adanya efek negatif yang ditimbulkan, sehingga analisis pada lemak trans ini perlu dilakukan menggunakan beberapa metode yang dapat digunakan, diantaranya FTIR, KCKT dan kromatografi gas. Dari tiga metode yang di gunakan, setiap metode memiliki kelebihan dan kekurangan. Namun, dari parameter validasi setiap metode, penggunaan metode kromatografi gas lebih direkomendasikan dalam menganalisis asam lemak trans, karena dapat mengidentifikasi jenis dari asam lemak yang terkandung, serta memiliki tingkat keakuratan yang tinggi dan memberikan resolusi hasil yang baik. Dari pengkajian terhadap 9 jurnal, menunjukkan hasil masih adanya sampel cokelat yang melebihi persyaratan yang ditentukan oleh BPOM (2016) yaitu jika diklaim mengandung rendah asam lemak trans maka tidak lebih dari 1,5g/ 100g bentuk padatan dan 0,75 g / 100 mL bentuk cairnya, dan menurut FDA (*Food and Drug Administration's*) tidak lebih dari 1%.

Kata Kunci : Asam lemak trans, Cokelat, FTIR, KCKT, Kromatografi Gas

ABSTRACT

Review : Analysis of Trans Fatty Acids in Chocolate

By :

Tia Nathania Febrianti

11171152

The use of cocoa butter in chocolate production has recently been replaced by partially hydrogenated vegetable oils. This vegetable oil can increase the trans fatty acids content in chocolate, causing negative health effects. There are negative effects, so the analysis of trans fats needs to be done using several methods that can be used, including FTIR, KCKT, and gas chromatography. Each of the three methods used has advantages and disadvantages. However, from the validation parameters of each method, the use of the gas chromatography method is more recommended in analyzing trans fatty acids because it can identify the type of fatty acids contained and has a high level of accuracy, and provides good resolution of results. From an assessment of 9 journals, the results show that there are still chocolate samples that exceed the requirements determined by BPOM (2016), namely if it is claimed to contain low trans-fatty acids, then no more than 1.5g/100g in solid form and 0.75g/100g in liquid form, or according to FDA (Food and Drug Administration) not more than 1%.

Keywords: Trans Fatty Acid, Chocolate, FTIR, KCKT, Gas Chromatography

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus oleh karena anugerah-Nya, kasih setia-Nya, dan penyertaan-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini guna memenuhi salah satu persyaratan untuk mencapai Gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana, yang berjudul : “**REVIEW : ANALISIS ASAM LEMAK TRANS PADA COKELAT**”

Kelancaran penulisan skripsi ini tidak lepas dari dukungan, arahan, masukkan dan kerja sama dari berbagai pihak, baik dari tahap awal penulisan hingga terselesaikannya penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang setulusnya kepada:

1. Bapak Dr. Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt selaku Rektor Universitas Bhakti Kencana
2. Ibu Dr. Apt. Patonah, M.Si. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana
3. Bapak Apt. Aris Suhardiman, M.Si selaku Kepala Prodi Sarjana Farmasi Universitas Bhakti Kencana
4. Ibu Anne Yuliantini, M.Si selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si. selaku dosen pembimbing serta yang telah menyempatkan waktunya untuk meberikan bimbingan dan arahan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik
5. Ibu Idar, M.Si selaku dosen wali yang telah banyak membantu dan memberikan motivasi
6. Segenap Dosen dan Staff Universitas Bhakti Kencana atas segala ilmu dan bimbingan yang diberikan selama perkuliahan
7. Kedua orang tua tercinta, Bapak Benyamin Dawi dan Ibu Selvia, abang Timmie Siswandi, dan adik Gloria Febriana yang selalu memberikan motivasi, nasehat serta selalu mendoakan
8. Seluruh rekan seperjuangan Program Studi Strata I Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Angkatan 2017, teman-teman satu bimbingan, terutama keluarga besar FA4 yang selalu memberikan dukungan dalam penulisan skripsi ini

9. Teman-teman belajar, Zulfy, Via, Wafa, Husnul, Nursifa, Camelia, Chresna, Fachrudin, Angga, Ryan, Fauzi, dan Rama yang selalu menjadi pendengar yang baik
10. Seluruh pihak yang memberikan dukungan baik moral dan material, arahan dan nasihat kepada penulis, yang tidak dapat disebutkan satu per satu
11. *Last but not least*, terima kasih kepada diri sendiri yang mau dan mampu berjuang, berkerja keras, dan percaya bahwa mampu bertahan disegala situasi dan mampu melewati rintangan dari awal perkuliahan hingga terselesaikannya penulisan skripsi ini. Kamu hebat.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan pengetahuan dan manfaat khusus bagi penulis dan bagi semua kalangan yang membacanya.

Bandung, 16 Agustus 2021

Tia Nathania Febrianti

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian	2
1.4. Hipotesis Penelitian	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Cokelat	4
2.2 Lemak Kakao	5
2.3 Asam Lemak Trans	6
2.4 Analisis Asam Lemak Trans	8
2.5 FTIR	8
2.5.1 Prinsip Dasar FTIR	8
2.5.2 Instrumentasi	9
2.6 Kromatografi Gas	10
2.6.1 Prinsip Dasar Kromatografi Gas	11
2.6.2 Instrumentasi	11
2.7 KCKT	13
2.7.1 Prinsip Dasar KCKT	13
2.7.2 Instrumentasi	13
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	16
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	18
BAB V. HASIL ARTIKEL ILMIAH LITERATUR DAN PEMBAHASAN	19
5.1 Hasil Kajian Literatur Review	19
5.2 Pembahasan	22

5.2.1 FTIR.....	23
5.2.2 Kromatografi Gas	24
5.2.3 KCKT.....	26
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN.....	29
DAFTAR PUSTAKA	30

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Klasifikasi Botanis Tanaman Cokelat	4
Tabel III.1 Kriteria Literatur Jurnal	16
Tabel V. 1 Ringkasan Jurnal Metode FTIR	19
Tabel V. 2 Ringkasan Jurnal Metode Kromatografi Gas	20
Tabel V. 3 Ringkasan Jurnal Metode KCKT	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Cokelat.....	4
Gambar 2.2 Struktur Asam Lemak Cis dan Trans	7
Gambar 2.3 Proses Analisis Sampel dengan FTIR	10
Gambar 2.4 Diagram Skema Kromatografi Gas	13
Gambar 2.5 Proses Analisis Sampel dengan KCKT	15

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Format Surat Pernyataan Bebas Plagiasi	34
Lampiran 2. Format Surat Persetujuan Untuk Dipublikasi Dimedia Online	35
Lampiran 3. Letter of Submission (LoS)	36

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
FAME	Fatty Acid Metil Ester
FTIR	Fourier Transform InfraRed
GC	Gas Chromatography
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HDL	High-Density Lipoprotein
LCAT	Lecithin-Cholesterol Acyltransferase
LDL	Low-Density Lipoprotein
PHVO	Partially Hydrogenated Vegetable Oil
SFA	Saturated Fatty Acid
TFA	Trans Fatty Acid

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Cokelat menjadi salah satu produk yang banyak dikonsumsi di seluruh dunia, dan pasarnya telah berkembang pesat dalam beberapa tahun terakhir. Dalam industri makanan maupun minuman, produk cokelat banyak dikembangkan sebagai produk jadi ataupun produk setengah jadi serta mempunyai nilai ekonomis yang berasal dari olahan biji kakao. Dari biji cokelat yang diolah dapat menghasilkan beraneka ragam jenis cokelat, seperti cokelat bubuk, permen cokelat, *cocoa butter*, gula, susu, cokelat hitam, cokelat susu, serta cokelat putih. Cokelat pahit (*dark chocolate*) merupakan cokelat alami dan jenis cokelat yang banyak ditemukan pada produk cokelat batang yang mengandung 43% padatan cokelat (Kementerian Pertanian, 2019; Wulandari, 2006).

Cokelat yang dikonsumsi dalam bentuk olahan di Indonesia dibagi menjadi cokelat instan dan cokelat bubuk. Konsumsi cokelat instan di Indonesia berdasarkan hasil survei nasional dari Badan Pusat Statistik, pada tahun 2015 sebesar 34,50 g / kapita dan 35,91 g / kapita pada tahun 2016, dan konsumsi kakao bubuk sebesar 28,89 g /kapita pada tahun 2015 dan 30,78 g /kapita pada 2016. Selama periode 2008-2017, konsumsi cokelat instan meningkat lebih banyak dibandingkan konsumsi cokelat bubuk (Kementerian Pertanian, 2019).

Meningkatnya konsumsi produk cokelat pada masyarakat dikarenakan cokelat memiliki rasa khas yang sangat lezat dan menarik. Penggunaan *cocoa butter* sebagai bahan utama dalam pembuatan produk cokelat, mengakibatkan harga cokelat menjadi cukup mahal. Lemak cokelat termasuk lemak nabati dengan kandungan lemak yang tinggi. Lemak merupakan fase utama dari cokelat, sehingga perlu diketahui kandungan lemak yang terdapat pada produk cokelat. Kandungan lemak pada produk akhir tergantung pada bahan baku yang akan digunakan, serta proses pengolahan juga dapat mengakibatkan perubahan (peningkatan atau penurunan) pada kandungan lemak (Ristanti et al., 2016).

Selain karakteristik rasa, beberapa bukti menunjukkan bahwa asupan cokelat mungkin terkait dengan kesehatan yang baik, terutama karena banyaknya antioksidan dalam kakao, yang mengurangi risiko penyakit jantung koroner dan stroke. Namun, adanya bahan lain (seperti lemak atau gula) dapat menimbulkan kekhawatiran. Dalam sepuluh tahun terakhir, mentega kakao dalam cokelat sebagian besar telah diganti dengan minyak nabati yang terhidrogenasi parsial (PHVO), menghasilkan

konsentrasi asam lemak trans (TFA) yang cukup tinggi dalam produk cokelat, yang mungkin memiliki efek kesehatan yang berbahaya bagi kesehatan manusia, dan meningkatkan resiko penyakit kardiovaskular (Amorim et al., 2020).

Trans Fatty Aci, merupakan lemak tak jenuh, dihasilkan dari penggunaan minyak alami dan selama pemrosesan. *Trans fatty acid* juga ada yang berasal dari sumber alami seperti daging, susu, yang dihasilkan dari bakterisida pada ruminansia. Efek buruk yang ditimbulkan oleh *trans fatty acid* terhadap kesehatan seperti penurunan kadar HDL, peningkatan kolesterol LDL, serta perkembangan penyakit kardiovaskular (Aronis et al., 2012; Bendsen et al., 2011). *Food and Drug Administration's* (FDA) menetapkan batas maksimum dari asam lemak trans, yaitu tidak lebih dari 1%. Dan menurut BPOM, kandungan zat gizi pada makanan jika dianggap mengandung rendah asam lemak, maka pada bentuk padat kurang dari 1,5 g /100 g atau 0,75 g/ 100 mL pada bentuk cair (BPOM, 2016).

Adanya asam lemak trans pada makanan akan menimbulkan dampak negatif untuk kesehatan. Sehingga, dilakukan analisis profil lemak trans ini untuk mengidentifikasi keberadaannya serta jenis-jenis dari lemak trans yang terkandung dalam produk cokelat menggunakan analisis kromatografi gas, FTIR dan KCKT.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas, maka disusun rumusan masalah penelitian sebagai berikut:

- a. Apakah kandungan asam lemak trans pada produk cokelat melebihi batas yang dipersyaratkan?
- b. Metode apa saja yang bisa digunakan untuk menganalisis asam lemak trans?

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

- a. Mengetahui kadar asam lemak trans pada produk cokelat berada dalam batas kadar yang dipersyaratkan
- b. Mengetahui metode yang bisa digunakan dalam penentuan asam lemak trans

1.4. Hipotesis Penelitian

Rumusan masalah : apakah asam lemak trans pada produk cokelat melebihi kadar yang diperbolehkan berdasarkan persyaratan?

H0 : Asam lemak trans pada produk cokelat melebihi batas kadar yang dipersyaratkan

H1 : Asam lemak trans pada produk cokelat berada dalam batas kadar yang dipersyaratkan

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cokelat

Cokelat merupakan salah satu produk olahan kakao (*Theobroma Cacao* L.). Pada saat ini, Indonesia menjadi produsen terbesar urutan ketiga di dunia sebagai produsen kakao setelah Pantai Gading dan Ghana. Namun pengolahan biji kakao sebagai bahan baku masih sangat sedikit, baik sebagai bahan baku produk lemak, bubuk, pasta cokelat maupun cokelat batangan. Kakao merupakan jenis tumbuhan yang termasuk dalam kelompok tumbuhan Califloris. Dengan kata lain, kakao yaitu tanaman yang menumbuhkan bunga dari batang dan cabang. Dari biji kakao dihasilkan produk olahan yang dikenal sebagai cokelat.



Gambar 2.1 Tanaman Cokelat (Sumber: Google)

Menurut Tjitrosoepomo (1988) sistematis menurut klasifikasi botanis dari tanaman cokelat sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 1988)

Tabel II.1 Klasifikasi Botanis Tanaman Cokelat

Divisio	:	spermatophyta
Klas	:	Dicotyledon
Ordo	:	Malvales
Famili	:	Sterculiceae
Genus	:	Theobroma
Spesies	:	<i>Theobroma cacao.</i>

Komposisi bahan dalam pembuatan cokelat sangat beragam, setiap industri cokelat memiliki proporsi bahan yang berbeda. Setiap perbandingan menghasilkan rasa, warna dan tekstur berbeda. Secara umum, ada tiga jenis cokelat: cokelat hitam, cokelat susu, dan cokelat putih (*white chocolate*). Berdasarkan komposisi bahannya, tiga jenis cokelat ini dibedakan menjadi cokelat, gula dan bahan tambahan lainnya. Pada cokelat terdapat kandungan alkaloid seperti theobromine, phenethylamine dan anandamide, yang mempunyai efek fisiologis pada tubuh manusia. Komponen tersebut biasanya berkaitan dengan tingkat serotonin di otak. Senyawa fenetilamina dalam cokelat merupakan senyawa yang merangsang peningkatan triptofan ke dalam otak. Triptofan merupakan asam amino yang dapat meningkatkan kadar serotonin. Kadar serotonin yang tinggi bisa membuat merasa senang dan bahagia (Marpaung & Putri, 2019). Cita rasa khas yang dimiliki oleh coklat yaitu perpaduan antara rasa manis dan pahit menjadi salah satu daya tarik dari produk cokelat ini. Cita rasa ini merupakan faktor penting dari produk cokelat. Kompleksitas dari citarasa cokelat berasal dari komponen-komponen yang terdapat pada cokelat. Komposisi pada cokelat di seluruh dunia berbeda-beda tergantung persyaratan mutu produk cokelat yang telah diatur pada masing-masing negara (Albuquerque et al., 2017; Dias et al., 2015).

Biji kakao juga mengandung 9% protein, 14% karbohidrat, dan 31% lemak. 9% protein yang terdapat pada biji kakao mengandung banyak fenilalanin, tirosin, dan asam amino triptofan. Meskipun cokelat tinggi lemak, tetapi relatif tidak mudah busuk, hal ini dikarenakan pada cokelat terkandung 6% polifenol yang dapat berperan sebagai antioksidan untuk mencegah ketengikan (Chan, 2012).

2.2 Lemak Kakao

Lemak cokelat biasanya disebut dengan *cocoa butter*. Menurut data base Nutrient Nasional Departemen Pertanian AS pada tahun 2010 Cokelat memiliki kandungan karbohidrat total 45% dan lemak 35%. Lemak pada cokelat ini berperan dalam menentukan kualitas pada produk akhir cokelat. *Cocoa butter* atau lebih dikenal dengan lemak cokelat adalah lemak terbaik untuk produk cokelat. *Cocoa butter* adalah lemak padat dengan titik leleh 32-35°C. Lemak kakao memiliki tekstur keras dan agak rapuh, jika dicampur dengan bahan lain warnanya tetap cerah dan padat pada suhu kamar (US Department of Agriculture, 2010). *Cocoa butter* adalah bahan bakunya yang berkontribusi penting pada sifat produk, tekstur serta rasa. Karakteristik

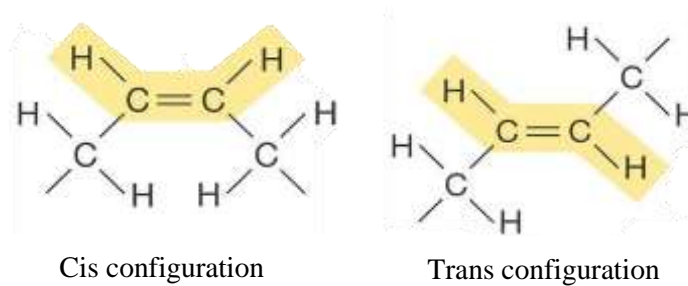
lemak kakao tergantung pada komposisi lemaknya. Pada umumnya pengolahan biji kakao tidak mempengaruhi kandungan *cocoa butter*, namun dipengaruhi oleh faktor-faktor berikut:

1. kematangan biji saat panen,
2. tempat tanaman tumbuh, dan
3. musim panen.

Kandungan lemak biasanya dinyatakan sebagai persentase dari berat kering keping biji. Lemak merupakan bahan yang paling mahal dalam biji kakao, sehingga konsumen menggunakan nilai tersebut sebagai dasar penentuan harga (Kementerian Pertanian, 2019). Umumnya titik leleh mentega kakao yang digunakan dalam produk cokelat mendekati suhu tubuh manusia, dan kekerasannya sangat kecil pada suhu kamar. (Dias et al., 2015)

2.3 Asam Lemak Trans

Asam lemak trans atau *Trans Fatty Acid* termasuk kedalam asam lemak tak jenuh, yang terbentuk karena konfigurasi geometrisnya, yang terdiri dari setidaknya satu ikatan rangkap dalam konfigurasi trans. Di alam, sebagian besar asam lemak memiliki atom hidrogen, dan atom karbon yang berada pada bidang molekul yang sama yang dikenal juga sebagai cis. Atom hidrogen yang terikat oleh ikatan rangkap pada sisi yang berlawanan dari suatu molekul disebut isomer trans. Titik leleh dari lemak trans lebih tinggi daripada asam lemak cis dan memiliki stabilitas oksidatif yang lebih baik. Contohnya pada asam lemak cis yaitu asam oleat (*cis-9*) memiliki titik leleh 16°C dan asam lemak trans misalnya asam elaidik (*trans-9*) dengan titik leleh 44°C. Asam lemak trans ini biasanya dihasilkan dari selama pemrosesan minyak, seperti hidrogenasi, penggorengan, dan pemanggangan (O'Brien, 2009). Asam lemak tak jenuh dibagi menjadi 2 bentuk, bentuk isomer cis dan bentuk trans. Lemak tak jenuh yang berasal dari alam biasanya terdapat dalam bentuk cis dan dalam jumlah kecil berbentuk trans.



Gambar 2.2 Struktur Asam Lemak Cis dan Trans

(Sumber: Google)

Asam lemak jenuh (SFA) termasuk dalam asam lemak yang tidak memiliki ikatan rangkap (tanpa ikatan rangkap). Umumnya, asam lemak jenis disebut sebagai asam lemak non esensial karena tidak dapat mensintesis sendiri. Fungsi utama asam lemak ini adalah untuk meningkatkan kadar kolesterol total. Contohnya asam palmitat dan stearat yang merupakan asam lemak jenuh berasal dari lemak hewan (Müller et al., 2003). Sebagian besar lemak dalam cokelat terdiri dari asam lemak jenuh (60%), terutama asam stearat. Asam stearat yaitu asam lemak netral yang dicerna secara perlahan oleh tubuh dan kurang diserap, sehingga tidak memicu kolesterol darah (Chan, 2012). Asam lemak trans juga ada yang berasal dari sumber alami, seperti daging dan susu, dan diproduksi oleh fungsida di dalam rumen. Asam lemak trans pada ruminansia secara alami berada dalam jumlah kecil, sehingga dapat ditemukan pada mentega, keju, telur, daging dan susu murni. Pada biji kakao, asam lemak trans dapat dihasilkan dari penyimpanan biji kakao pada tempat lembab dan kotor. (Mayes, 2003).

Tingginya kadar lemak trans umumnya terdapat pada makanan seperti gorengan, produk ruminansia, dan makanan olahan seperti cokelat dan kue (makanan yang terbuat dari margarin atau minyak terhidrogenasi). Saat menggoreng, lemak tak jenuh bentuk cis dapat diubah menjadi asam lemak tak jenuh trans (Mayes, 2003)

Peningkatan lemak trans identik dengan turunnya konsentrasi lemak bentuk *cis* dari asam lemak tak jenuh (asam oleat). Tingginya kadar lemak trans ini terutama yang ada pada makanan dapat berdampak negatif untuk kesehatan. Sebuah studi yang dilakukan oleh Lembaga Pengembangan Kesehatan di bawah Departemen Kesehatan Indonesia pada tahun 2005 menemukan bahwa perubahan gaya hidup meningkatkan kejadian dan kematian penyakit jantung koroner. Salah satunya memiliki kandungan lemak lebih dari 30%. Asam lemak trans memiliki efek negatif meningkatkan

kolesterol LDL dan cenderung menurunkan kolesterol HDL yang menyebabkan penyakit jantung di kemudian hari. Dalam proses pembuangan kolesterol dari jaringan dan lipoprotein, sejumlah besar asam lemak trans dapat menghambat aktivitas enzim LCAT (lesitin-kolesterol asil transferase) dan menghambat pembentukan HDL, yang mengakibatkan kelebihan kolesterol di hati (Tim Surkesnas, 2005).

2.4 Analisis Asam Lemak Trans

Penentuan kandungan dari asam lemak trans (TFA) yang ada pada pangan memerlukan metode analisis yang memadai. Pemilihan derivatisasi asam lemak (FA) merupakan langkah penting untuk mendapatkan hasil yang baik, khususnya dengan FA rantai pendek dan terkonjugasi (Juanéda et al., 2007)

Analisis asam lemak trans dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode analisis. Beberapa metode kromatografi gas dan spektrofotometri inframerah telah dikembangkan untuk menganalisis TFA dalam makanan, beberapa di antaranya telah divalidasi sebagai metode resmi setelah studi kolaboratif. Analisis lengkap FA total seringkali memerlukan penggunaan metode kromatografi cair kinerja tinggi pelengkap (Juanéda et al., 2007).

2.5 FTIR

Fourier Transform InfraRed (FTIR) adalah metode yang saat ini banyak digunakan. Teknik ini digunakan untuk mendapatkan spektrum infra merah dari sampel absorpsi, emisi, padatan, cairan dan gas. FTIR adalah metode identifikasi yang cepat, sederhana, mudah dan relatif murah. Namun, salah satu kesulitan dalam menafsirkan spektrum FTIR yaitu berubahnya intensitas dan pergeseran absorpsi, yang biasanya tidak terlihat, dan satu spektrum tumpang tindih dengan spektrum lainnya. Selain itu, metode ini juga memiliki keterbatasan yaitu kandungan setiap komponen asam lemak dalam sampel tidak dapat ditentukan. (Li et al., 2019)

2.5.1 Prinsip Dasar FTIR

Sistem optik dengan laser pada FTIR digunakan sebagai sumber pemancaran yang akan diinterferensi, sehingga sinyal pancaran yang diterima detektor berkualitas baik dan utuh. Prinsip kerjanya adalah radiasi infra merah melewati ruang sampel sehingga sebagian radiasi infra merah diserap oleh sampel dan ditransmisikan ke

seluruh permukaan sampel, yang kemudian akan melewati detektor inframerah dan sinyal yang diukur akan ditransfer ke komputer. (Ganzoury et al., 2015)

2.5.2 Instrumentasi

FTIR terdiri dari 5 bagian utama, yaitu (Ganzoury et al., 2015):

a. Sumber sinar

Terbuat dari filamen Nernst atau bola, dapat dipanaskan secara elektrik hingga 1000-1800°C.

b. Pencerminan/ Interferometer

Sebagai kombinasi dari semua peralatan atau regulator frekuensi infra merah yang dibangkitkan dari sumber pencahayaan. Interferometer tersusun dari 3 komponen yaitu lensa statis, lensa dinamis, dan beam splitter.

c. Daerah cuplikan

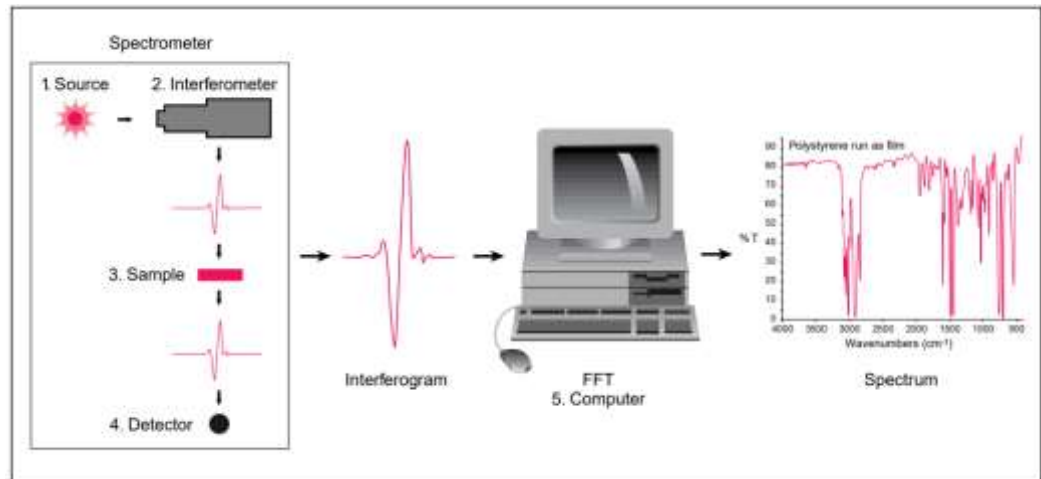
Sampel uji atau cuplikan yang ingin dianalisis baik dalam bentuk padatan, cairan, maupun gas, ditempatkan langsung di depan sumber radiasi IR.

d. Detektor

Digunakan untuk menangkap inframerah atau energi radiasi yang lewat karena panas yang dihasilkan.

e. Elektronik

Dari tegangan yang dihasilkan interferogram akan masuk melalui sampel yang digunakan dan akan ditangkap oleh detektor infra merah. Tegangan akan menciptakan sinyal paralel sebelum spektrofotometer mengirimkan interferogram ke data sistem. Sinyal ini kemudian diubah dari analog menjadi digital.



Gambar 2.3 Proses Analisis Sampel dengan FTIR

FTIR merupakan instrumen yang dapat dikembangkan karena sangat efisien, cepat dan sederhana. Namun, keterbatasan metode FTIR adalah tidak dapat digunakan untuk menentukan jenis atau komposisi dari asam lemak yang ada pada sampel uji. Sehingga dalam analisisnya, harus didukung dari hasil analisis pada kromatografi gas, untuk mengetahui komposisi asam lemak mana yang paling mempengaruhi sampel (Jaswir et al., 2003)

2.6 Kromatografi Gas

Kromatografi gas (GC) digunakan secara luas dalam analisis makanan. Aplikasi khas berkaitan dengan analisis kuantitatif dan atau analisis kualitatif komposisi makanan, produk alami, bahan tambahan makanan, maupun komponen rasa dan aroma. Makanan tertentu yang melibatkan aplikasi GC antara lain seperti karbohidrat, asam amino, lipid dan senyawa lipofilik yang menyertainya (Al-Bukhaiti et al., 2017).

Metode pemisahan menggunakan kromatografi gas merupakan teknik yang sering digunakan untuk analisis komposisi. Kromatografi gas digunakan untuk menganalisis komponen gas dan uap yang mudah menguap pada pengembangan awal. Kromatografi gas teknik analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi produk (dalam kondisi yang sangat terkontrol). Selain membandingkan sidik jari (program), juga harus langsung digabungkan dengan informasi spektrometer massa, seperti mengoreksi puncak pada kromatogram untuk identifikasi. Teknologi pemisahan berbasis sampel dapat dilakukan antara fase gerak (yang dapat berupa gas) sedangkan fase diam (cair atau padat). GC dapat digunakan dalam menganalisis sampel baik padat, sampel cair maupun gas. Sampel padat terlebih dahulu diekstraksi

menggunakan pelarut tertentu agar dapat diinjeksikan ke dalam kromatografi gas, dan sampel gas dapat langsung diambil dengan menggunakan spuit ke dalam udara. Selain itu, GC juga dapat digunakan dalam uji kemurnian zat tertentu, pemisahan zat campuran, atau mengidentifikasi senyawa. Menggunakan cairan standar yang efisien untuk berbagai senyawa, pemisahan ditentukan oleh kekuatan interaksi antara sampel dan cairan. (Al-Bukhaiti et al., 2017).

2.6.1 Prinsip Dasar Kromatografi Gas

Prinsip dari kromatografi gas adalah afinitas senyawa yang lebih besar untuk fase diam, senyawa akan lebih banyak dipertahankan oleh kolom dan lebih lama dari sebelumnya dielusi dan terdeteksi. Kolom kromatografi gas merupakan kolom tempat pemisahan komponen berlangsung harus ditambahkan sumber dan kendali aliran gas pembawa melalui kolom, sarana pemasukan sampel dan alat deteksi komponen saat mereka terelusi dari akhir kolom (Al-Bukhaiti et al., 2017).

2.6.2 Instrumentasi

Peralatan kromatografi gas terdiri dari bagian-bagian sebagai berikut :

a. Tabung gas pembawa

Tabung gas pembawa digunakan dalam membawa sampel ke kolom kromatografi. Gas pembawa adalah fase bergerak dan inert, yang tidak berinteraksi secara kimiawi dengan sampel, dan juga cocok untuk detektor yang digunakan untuk mengukur komponen sampel. Helium, nitrogen, argon, karbondioksida dan hidrogen merupakan gas yang umumnya seringkali digunakan. Helium dan argon mudah untuk digunakan. Walaupun mahal, gas pembawa jenis ini tidak mudah terbakar. H₂ merupakan gas pembawa yang mudah terbakar, dalam penggunaannya perlu berhati-hati. Terkadang karbon dioksida juga digunakan. Pilihan gas bergantung pada faktor-faktor seperti ketersediaan, kemurnian yang diperlukan, dan jenis detektor senyawa. (Gandjar, I.G; Rohman, 2007)

b. *Injection port* (tempat injeksi cuplikan)

Fungsi tempat injeksi sampel yaitu mengangkut sampel ke dalam aliran gas pembawa. Masukkan sampel menggunakan jarum suntik mikro dengan

jarum suntik. Injeksi sampel dapat dilakukan secara manual atau otomatis (Gandjar, I.G; Rohman, 2007)

c. Kolom

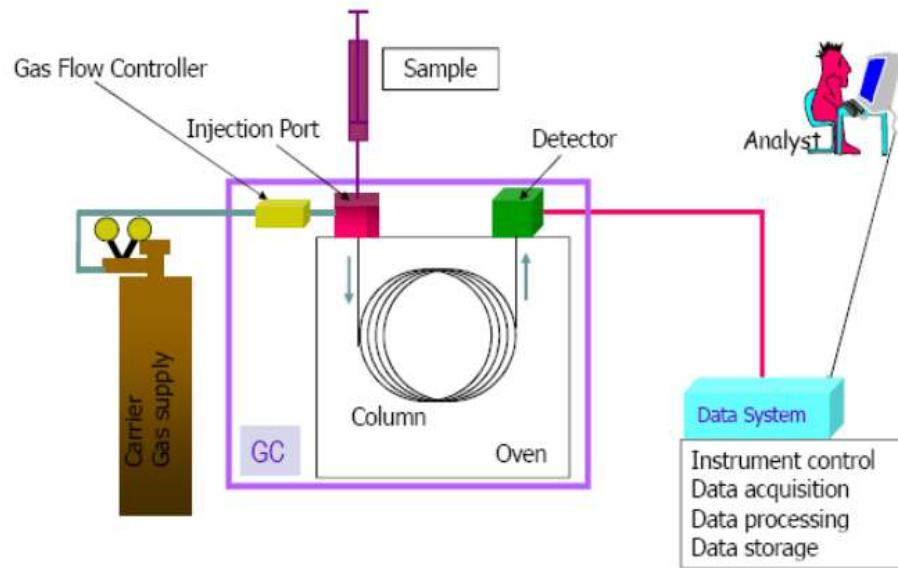
Proses pemisahan berlangsung pada fase diam atau pada kolom kromatografi. Sehingga kolom menjadi bagian inti dari kromatografi gas. Dalam kromatografi gas ada dua jenis kolom yaitu kolom terpaket (kolom kemas) dan kolom kapiler (Gandjar, I.G; Rohman, 2007)

d. Detektor

Detektor adalah perangkat yang ditempatkan pada ujung kolom kromatografi, yang melaluinya fase gerak keluar (gas pembawa) dan membawa komponen yang terpisah. Fungsi detektor yang terletak di ujung outlet kolom pemisah adalah untuk mengukur sejumlah kecil komponen terintegrasi dalam gas pembawa yang meninggalkan kolom pemisah (Gandjar, I.G; Rohman, 2007)

e. Rekorder (pencatat)

Recorder digunakan untuk mengubah sinyal dari detektor menjadi electrometer untuk memperkuatnya menjadi kromatogram. Hasil yang diperoleh dari kromatogram dianalisis baik secara kualitatif ataupun kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan dengan cara melakukan perbandingan antara waktu penahanan sampel dengan waktu penahanan sampel dari sampel standar. Sedangkan analisis kuantitatif dilakukan dengan perhitungan dari luas data yang diperoleh. Perekam menghasilkan kromatogram dimana pola yang terbentuk sesuai dengan keadaan sampel dan jenis detektor yang digunakan (Gandjar, I.G; Rohman, 2007).



Gambar 2.4 Diagram Skema Kromatografi Gas

2.7 KCKT

Kromatografi cair kinerja tinggi atau dikenal juga dengan kromatografi cair tekanan tinggi atau KCKT adalah metode yang umum digunakan dalam analisis biokimia untuk pemisahan dan identifikasi senyawa. Analisis dengan menggunakan metode KCKT terbatas dalam mengidentifikasi senyawa kecuali dihubungkan ke spektrometer massa (MS). Batasan lain yaitu untuk sampel yang kompleks, akan sulit untuk mendapatkan resolusi yang baik (Malviya R et al., 2014).

2.7.1 Prinsip Dasar KCKT

Prinsip KCKT yaitu pemisahan berdasarkan keluaran analit. Prinsip kerja dari alat KCKT adalah ketika sampel yang akan diuji disuntikkan/ injeksikan ke dalam kolom kromatografi, sampel terurai sesuai dengan perbedaan afinitas dan dipisahkan menjadi senyawa (objek analitik). Hasil yang dipisahkan dideteksi oleh detektor panjang gelombang tertentu (spektrometer ultraviolet, fluoresensi atau refraktometer), biasanya menggunakan integrator atau komputer pribadi yang terhubung ke komputer pribadi untuk ditampilkan yang terhubung dengan KCKT (Rohman, 2009).

2.7.2 Instrumentasi

Instrumen pada KCKT terbagi menjadi beberapa bagian, antara lain (Malviya R et al., 2014)

a. Wadah Fase Gerak dan Fase Gerak

Wadah fase gerak yang digunakan harus bersih dan juga lembam. Wadah biasanya menampung 1-2 liter pelarut fase gerak. Fase gerak atau eluat biasanya terdiri dari campuran pelarut larut yang bertindak sebagai eluen dan pemisahan. Untuk fasa normal (polaritas masih lebih kuat dari fasa gerak, kapasitas elusi akan meningkat dengan bertambahnya polaritas pelarut), dan untuk fasa sebaliknya (polaritas masih lebih lemah daripada fasa gerak), karena polaritas pelarut bertambah, Kapasitas elusi akan berkurang.

b. Pompa

Pompa yang sesuai untuk KCKT merupakan pompa yang sesuai dengan syarat untuk wadah pelarut, yaitu pompa harus inert pada fase gerak. Tujuan menggunakan pompa atau sistem pengiriman fase bergerak untuk memastikan bahwa proses pengiriman fase bergerak akurat, dapat direproduksi, konstan, dan tidak terganggu. Ada dua jenis pompa KCKT: pompa tekanan statis dan pompa fase gerak aliran konstan. Pompa fase gerak aliran konstan lebih umum digunakan daripada pompa tekanan statis.

c. Tempat penyuntikan sampel

Sampel larutan kemudian diinjeksi langsung ke fase gerak yang bersirkulasi di kolom di bawah tekanan menggunakan injektor baja tahan karat dan tembaga dengan cincin pengambilan sampel internal atau eksternal dan katup teflon.

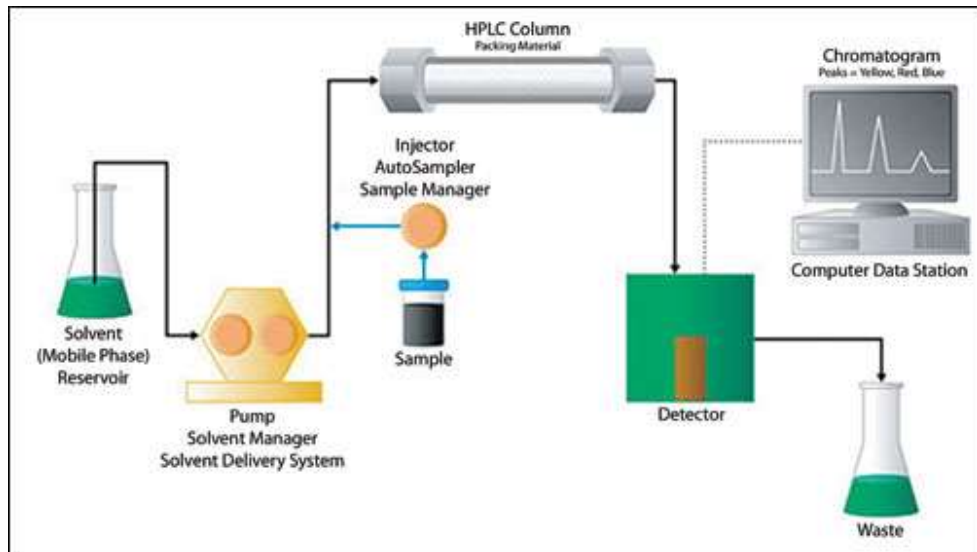
d. Kolom dan Fase diam

Kolom kromatografi adalah bagian dari KCKT dan memiliki fase diam yang mampu melakukan pemisahan target zat terlarut/analitik. Biasanya, fase diam KCKT adalah silika yang tidak dimodifikasi secara kimia atau polimer stirena dan divinilbenzena.

e. Detektor KCKT

Detektor dalam KCKT terbagi menjadi dua, yaitu detektor tujuan umum yang dapat digunakan untuk deteksi zat umum, baik yang bersifat spesifik

maupun tidak selektif dan detektor khusus, detektor ini hanya untuk deteksi analit secara spesifik dan selektif.



Gambar 2.5 Proses Analisis Sampel dengan KCKT

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

- A. Waktu Penelitian : November 2020 – April 2021
- B. Subyek Penelitian: Review analisis asam lemak trans pada coklat
- C. Metode Pengumpulan Data:

1. Rancangan Strategi Pencarian Literatur Review

Dalam penelitian ini, digunakan pendekatan tinjauan pustaka yang berfokus pada evaluasi temuan penelitian sebelumnya tentang lemak trans, yang terkandung dalam coklat yang akan direview. Review jurnal ini menggunakan metode pencarian literatur untuk mencari berbagai sumber, baik buku maupun jurnal yang berhubungan dengan topik penelitian, dimana pada setiap artikel dilengkapi dengan DOI, yang menggunakan pencarian baik berupa google scholar, Elsevier, PubMed, Portal Garuda ataupun sumber database lainnya untuk menjadi acuan sebagai bahan dasar penulisan tentang lemak trans pada coklat. Jurnal yang digunakan terpublikasi bertaraf nasional dan internasional dengan pencarian menggunakan kata kunci “analysis trans fatty acid in food”, “trans fatty acid in chocolate”, “analisis asam lemak trans”, dan “analisis asam lemak trans pada coklat”

2. Kriteria Literatur Review

Tabel III.1 Kriteria Literatur Jurnal

Data Based	Temuan	Literatur Terpilih
Elsevier	14	9
Google Scholar	29	21
Portal Garuda	3	3
PubMed	6	6
JUMLAH	52	39

- D. Bahan: database sumber pustaka (PubMed, Google Scholar, Portal Garuda, Elsevier), dan sumber pustaka primer berupa buku

- E. Analisis Data: data hasil penelitian diperoleh dengan mengkaji hasil penelitian dari jurnal atau artikel yang digunakan untuk mendapatkan informasi yang akan diolah