

POTENTIAL PRESENCE OF ACRYLAMIDE COMPOUNDS IN FOOD

POTENSI KEBERADAAN SENYAWA AKRILAMIDA DALAM MAKANAN

Oktaf Rina^{1*}, Abdi Dharma², Afrizal²

¹Politeknik Negeri Lampung. Email : oktafrina@polinela.ac.id

²Universitas Andalas

ABSTRACT

This of the study was to examine the potential presence of acrylamide compounds in foods containing the amino acid asparagine and reducing sugars that are processed at high temperatures. The initial research was carried out to determine the levels of precursors in the raw material and then analyzed the amount of acrylamide using HPLC-RP LC-6A Shimadzu with a C18 column and sterile aqueous mobile phase. The optimization condition of the instrument was achieved with a column temperature of 35°C, a wavelength of 254 nm and a flow rate of 0.8 mL/min. The retention time of acrylamide was observed at 3.8 min. The food sample tested was 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 content is influenced by the amount of precursor, temperature and duration of food processing.

Keywords : asparagine, reducing sugar, acrylamide, HPLC

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi keberadaan senyawa akrilamida dalam makanan yang mengandung asam amino asparagin dan gula reduksi yang diolah pada suhu tinggi. Penelitian awal dilakukan penentuan kadar prekursor dalam bahan baku dan kemudian dianalisis jumlah akrilamida dengan HPLC-RP LC-6A Shimadzu dengan kolom C18 dan fase gerak akuabides steril. Kondisi optimasi alat dicapai dengan suhu kolom 35°C, panjang gelombang 254 nm dan laju alir 0,8 mL/menit. Waktu retensi akrilamida diamati pada 3,8 menit. Sampel makanan yang diuji adalah keripik pisang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keripik pisang dengan kadar air 7,74%(b/b) ± 0,01 mengandung akrilamida 115,5 s.d 565 µg/kg. Kadar akrilamida dipengaruhi oleh jumlah prekursor, suhu dan lama pengolahan makanan.

Kata kunci : asparagin, gula reduksi, akrilamida, HPLC

PENDAHULUAN

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. Senyawa akrilamida diduga bersifat karsinogenik dan mutagenik (Otlés and Serkan, 2004; Zhang&Ying, 2007). Senyawa ini berbahaya bagi tubuh makhluk hidup.

Adanya akrilamida dalam tubuh manusia dapat berasal dari air yang terkontaminasi oleh zat ini atau berasal dari kemasan makanan yang terbuat dari

plastik. 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). 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; Otlés and Serkan, 2004; Zyzak, 2003). Penelitian ini bertujuan menguji potensi pembentukan senyawa akrilamida dalam matrik bahan pangan seperti keripik pisang ambon yang diolah pada suhu tinggi.

Metode Penelitian

Alat dan bahan

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

Penentuan kadar protein

Sampel ditimbang sebanyak 0.2 g kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjedahl 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 rumus

$$KadarN(\%) = \frac{(V \text{ HCl Sampel} - V \text{ HCl blanko}) \times N \text{ HCl} \times 14,0067}{mg \text{ sampel}} \times 100\%$$

Kadar protein (%) = 6.25 x % N

Tabel 1. Penentuan jumlah gula pereduksi dengan metoda Luff School

| Selisih volume(ml) Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N | Jumlah glukosa,fruktosa, gula invert C ₆ H ₁₂ O ₆ (mg) | | Selisih volume(ml) Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 N | Jumlah glukosa, fruktosa, gula invert C ₆ H ₁₂ 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

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 School. 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 School 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.

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.

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 H₃PO₄ 10%. Diklorometan diuapkan di atas penangas air pada suhu 70°C dan cairan yang tersisa dipindahkan ke dalam labu 10 ml kemudian ditambahkan H₃PO₄ 10% sampai tanda

batas dan disaring. Filtrat diambil 1.0 ml dan dimasukkan dalam labu 25.0 ml kemudian ditambahkan dengan H₃PO₄ 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.

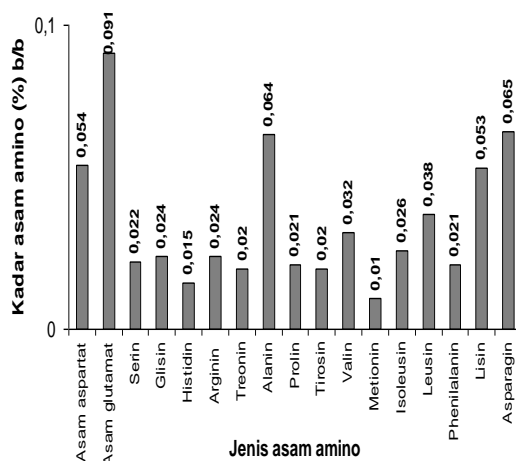
Hasil dan Pembahasan**Kadar protein dalam bahan baku**

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

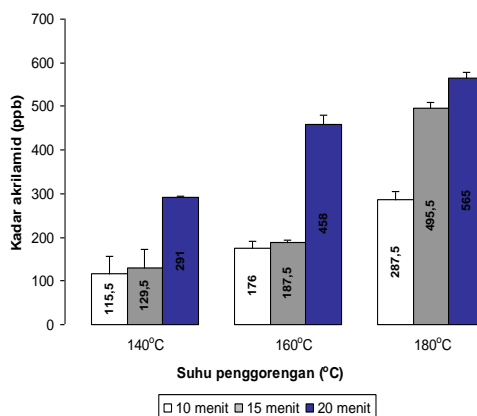
| | Pisang ambon mentah(%) | Pisang ambon matang(%) |
|---------|------------------------|------------------------|
| Air | 73.5 ± 0.1 | 74,7 ± 0.5 |
| Protein | 1.51 ± 0.04 | 0.76 ± 0.01 |

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.

Kesimpulan

Hasil penelitian menyimpulkan bahwa bahan baku yang mengandung gula pereduksi dan asam amino akan berpotensi mengandung senyawa akrilamida dalam keripik pisang jika diolah pada suhu tinggi (>160°C). Semakin tinggi suhu pengolahan dan semakin lama waktu pengolahan maka akan makin berpotensi mengandung akrilamida. Pengolahan dengan suhu 140°C sampai 180°C akan menghasilkan kadar akrilamida 115,5 sampai 565 µg/kg produk. Potensi terjadinya pola kenaikan seperti ini juga ada pada bahan pangan lain yang diolah pada suhu tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- 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.
- Friedman M., 2003, Chemistry, Biochemistry and Safety of Acrylamide, A review., *J Agric. Food Chem* 51: 4504-4526.
- Granda C, Rosana GM, Elena CP., 2005, Effect of Raw Potato Composition on Acrylamide Formation in Potato Chips, *J Food Science* 70: 519-525.
- Kim CT, Eun SH, Hyong JL., 2005, Reducing Acrylamide in Fried Snack Products by Adding Amino Acids, *J Food Science* 70 : 354-358.
- Otles S, Serkan O., 2004, Acrylamide in Food (Chemical Structure of Acrylamide), *J Electronic Environmental, Agricultural and Food Savety* 3 : 723-730.
- 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.
- Rina O., 2021, Identifikasi dan Penetapan Kadar Senyawa Prekursor Pembentuk Akrilamida dalam Makanan, *Jurnal Media Bina Ilmiah*, Vol.15 No.6.
- 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.
- Williams JSE., 2005, Influence of Variety and Processing Conditions on Acrylamide Levels in Fried Potato Crips, *Food Chem* 90: 875-881.
- 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.
- Zyzak DV *et al.* , 2003, Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods, *J Agric. Food Chem* 51: 4782-4787.