

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hasil Penelitian Terdahulu

Penelitian ini merujuk pada beberapa penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Rahmania (2014) melakukan analisis lemak tikus dalam bakso sapi menggunakan metode Spektroskopi inframerah yang di kombinasikan dengan kemometrika. Klasifikasi lemak sapi dan lemak tikus pada bakso dilakukan dengan PCA. Berdasarkan hasil tersebut metode spektroskopi inframerah yang dikombinasikan dengan kemometrika mampu mengidentifikasi adanya daging tikus pada bakso sapi secara kualitatif dan kuantitatif.

Widiyanti (2015) dalam penelitiannya mengenai deteksi daging tikus pada bakso dari warung makan dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) membuktikan bahwa satu dari lima sampel bakso warung makan terdeteksi adanya daging tikus dengan ukuran pita hasil PCR bakso tersebut sesuai dengan pita hasil PCR daging tikus *Rattus norvegicus* yaitu di 96 bp. Dalam penelitiannya bahan yang digunakan adalah bakso sampel referensi tikus (*Rattus norvegicus*) sebagai kontrol positif, produk pangan olahan berupa bakso daging pasaran dan satu daging sapi.

Utami *et al* (2018) melakukan analisis asam lemak dari lemak tikus menggunakan GC-MS. Berdasarkan hasil analisis tersebut menunjukkan komponen utama dari lemak tikus yaitu asam 9-oktadekenoat; asam 9 heksadekanoat; asam 9,12-oktadekadienoat; asam oktadekanoat; asam heksadekanoat; asam tetradekanoat dan metil arakhidonat. Komponen utama adalah asam lemak rantai panjang dari 15 sampai 21 atom karbon (terutama C17 dan C19).

Sinlae *et al* (2015) melakukan penelitian mengenai karakteristik protein dan asam amino daging sapi Bali dan wagyu pada penyimpanan suhu dingin 4 °C. Penelitian tersebut menggunakan rancangan acak pola faktorial dan pita protein dianalisis menggunakan metode SDS-PAGE, sedangkan jenis asam amino

dianalisis dengan metode HPLC. Data yang dihasilkan menunjukkan lama penyimpanan berpengaruh terhadap kemunculan pita protein daging sapi dan wagyu setelah penyimpanan dan terjadi penurunan konsentrasi asam amino. Sapi bali dan wagyu memperlihatkan adanya perbedaan karakteristik protein serta adanya perbedaan yang nyata dari asam amino fenilalanin pada daging sapi wagyu dibandingkan dengan sapi bali serta penyimpanan pada suhu 4 °C memperlihatkan pengaruh yang nyata terhadap penurunan asam amino histidine, fenilalanin dan isoleusin pada daging bali dan wagyu.

Hermiastuti (2013) melakukan analisis kadar protein dan identifikasi asam amino pada ikan patin. Penelitian tersebut menganalisis kandungan protein menggunakan metode Kjeldahl dan identifikasi jenis asam amino menggunakan alat LC-MS. Analisis LC-MS menunjukkan bahwa jenis asam amino penyusun protein ikan patin yang diberi perlakuan variasi pakan hampir sama. Terdapat 13 asam amino penyusun protein pada ikan patin yang diberi pakan pellet dengan asam amino dominan adalah asparagin sedangkan ikan patin yang diberi pakan pellet dan tambahan *Azolla pinnata* mengandung 14 jenis asam amino dan kandungan asam amino yang dominan adalah asparagin. Sementara itu ikan patin yang diberi pakan pellet dicampur dengan probiotik mengandung 13 jenis asam amino dan asam glutamat dalam asam amino yang dominan

B. Landasan Teori

1. Tikus

Tikus adalah hewan yang sering membawa berbagai macam patogen yang dapat ditularkan kepada manusia, yaitu di antaranya *yersiniosis*, *leptospirosis*, *salmonellosis* dan *lymphochyitis choriomeningitis* Tikus juga merupakan salah satu hama utama pada kegiatan pertanian yang menimbulkan kerusakan mulai dari lapangan sampai ke tempat penyimpanan (Meehan, 1984).

Tikus cenderung untuk memilih makanan biji-bijian (serealia) seperti : padi, jagung, dan gandum. Kebutuhan pakan bagi seekor tikus setiap harinya kurang lebih 10% dari bobot tubuhnya jika pakan tersebut berupa pakan kering. Hal ini dapat pula ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah. Kebutuhan minum seekor tikus setiap harinya kira-kira 15 - 30 ml air (Priyambodo, 1995)

1.1. Tikus Putih

Menurut Jasin (1984), klasifikasi Tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah :

Sub kingdom	: Metazoa
Pylum	: Chordata
Sub phylum	: Vertebrata
Super class	: Tetrapoda
Classis	: Mammalia
Sub classis	: Theria
Infa classis	: Eutheria
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Menurut Departemen Kesehatan (2011), morfologi *Rattus norvegicus* memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dan badan besar dengan panjang 18-25cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil

dan tidak lebih dari 20-23 mm. Temperatur 19°C hingga 23°C dengan kelembaban 40-70% merupakan temperatur yang cocok untuk habitat tikus yang juga tergolong dalam hewan nokturnal (Wolfenshon dan Lloyd, 2013).

1.2. Tikus Hitam

Berikut adalah urutan taksonomi tikus rumah menurut Baker *et al* (1976) yaitu sebagai berikut:

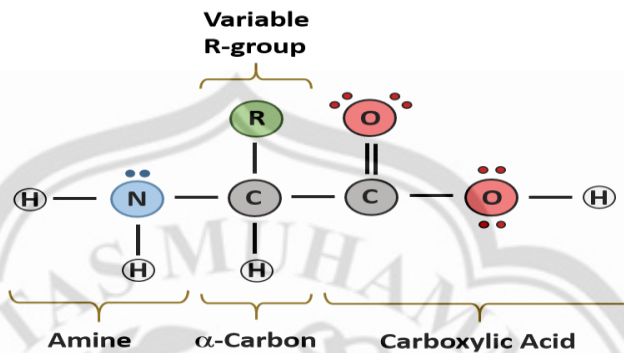
Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: Tikus rumah (<i>Rattus rattus diardi</i>) Tikus sawah (<i>Rattus argentiventer</i>)

Bagian punggung tikus sawah berwarna cokelat muda bercak hitam, perut dan dada berwarna putih, panjang kepala dengan badan 130-210 mm, panjang ekor 120-200 mm dan tungkai 34-43 mm. Jumlah puting susu betina 12 buah, 3 pasang di dada dan 3 pasang diperut. Kepadatan populasi tikus berkaitan dengan fase pertumbuhan tanaman padi (Departemen Pertanian Jakarta, 2006).

2. Asam amino

Asam amino merupakan komponen penyusun protein yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Sifat dan kualitas protein dipengaruhi oleh jenis, jumlah dan susunan asam amino yang membentuknya. Awal pembentukan protein hanya tersusun dari 20 asam amino yang diketahui terdapat dalam tubuh dan dalam protein daging. Asam amino ini dikenal sebagai asam amino dasar atau asam amino baku. Struktur asam amino secara umum adalah satu atom C yang mengikat empat gugus, yaitu gugus amina (NH₂), gugus karboksil (COOH), atom hidrogen (H), dan satu gugus sisa (R

dari Residu) atau disebut juga gugus rantai samping yang membedakan satu asam amino dengan asam amino lainnya (Winarno 2008). Struktur asam amino dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Struktur umum asam amino (Western, 2018)

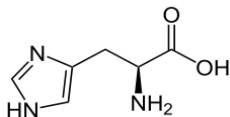
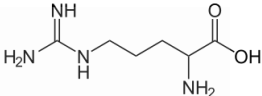
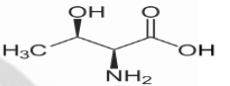
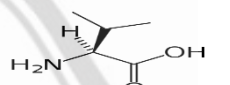

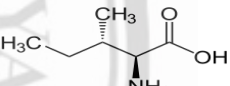


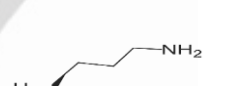
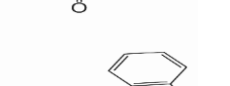
Asam amino memiliki atom C pusat yang mengikat empat gugus yang berbeda maka asam amino memiliki dua konfigurasi yaitu konfigurasi D dan konfigurasi L. Molekul asam amino mempunyai konfigurasi L apabila gugus –NH₂ terdapat di sebelah kiri atom karbon α dan bila posisi gugus NH₂ di sebelah kanan, maka molekul asam amino disebut asam amino konfigurasi D (Lehninger, 2004). Asam amino biasanya larut dalam air dan tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti eter, aseton, dan kloroform (Sitompul, 2004).

Bila ditinjau dari segi pembentukannya asam amino dibagi ke dalam dua golongan, yaitu asam amino eksogen dan asam amino endogen. Asam amino eksogen disebut juga asam amino esensial dan asam amino endogen disebut juga asam amino non-esensial (Winarno, 2008).

2.1. Asam amino esensial

Asam amino esensial adalah asam amino yang tidak dapat dibuat dalam tubuh dan harus diperoleh dari makanan sumber protein yang disebut juga asam amino eksogen (Winarno, 2008). Asam amino seringkali disebut dan dikenal sebagai zat pembangun yang merupakan hasil akhir dari metabolisme protein. Jenis-jenis asam amino esensial disajikan pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Jenis asam amino esensial

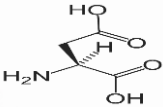
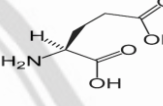
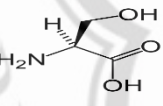
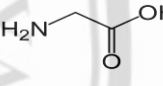
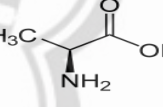
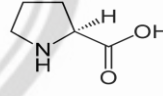
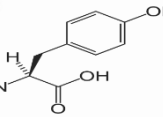
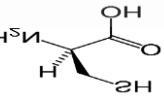
Asam amino	Singkatan tiga huruf	Berat molekul (g/mol)	Struktur
Histidin	His	155,2	
Arginin	Arg	174,5	
Treonin	Thr	119,1	
Valin	Val	117,1	
Metionin	Met	149,2	
Isoleusin	Ile	131,2	
Leusin	Leu	131,2	
Fenilalanin	Phe	165,2	
Lisin	Lys	146,2	
Triptofan	Trp	204,2	

Sumber : Ngili (2013) Lehninger (2004) dan Anonim (2017)

2.2 Asam amino non esensial

Asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat dibuat dalam tubuh disebut juga asam amino endogen (Winarno 2008). Beberapa asam amino non esensial dapat dilihat pada Tabel 2.2

Tabel 2.2 Jenis asam amino non esensial

Asam amino	Singkatan tiga huruf	Berat molekul (g/mol)	Struktur
Asam aspartat	Asp	133,1	
Asam glutamat	Glu	147,2	
Serin	Ser	105,1	
Glisin	Gly	75,0	
Alanin	Ala	89,0	
Prolin	Pro	115,1	
Tirosin	Tyr	181,1	
Sistin	Sis	120,1	

Sumber : Ngili (2013) Lehninger (2004) dan (Anonym 2017)

3. *Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry (LC-MS)*

Liquid Chromatograph - Mass Spectrometry (LC-MS) merupakan satu – satunya teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometer massa. Kelebihan dari teknologi LC-MS bisa meliputi :

1. Spesifisitas, hasil analisis didapatkan dari penggunaan spektrometer massa sebagai detektor.
2. Aplikasi yang luas dengan sistem praktis. Berbeda dengan GC-MS sebagai spektrometer massa “klasik”, penerapan LC-MS tidak hanya terbatas untuk senyawa volatile (biasanya dengan berat molekul di bawah 500 Da). Mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan sampel cukup sederhana tanpa adanya teknik derivatisasi.
3. Fleksibilitas, pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat.
4. Kaya informasi, sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan seleksi ion yang sangat cepat dengan banyak parameter (Michael, 2008)

Spektrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilah dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi mereka (m/z). Dua komponen kunci dalam proses ini adalah sumber ion yang akan menghasilkan ion, dan analisis massa yang menyeleksi ion. Sistem LC-MS umumnya menggunakan beberapa jenis sumber ion dan analisis massa yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa. Masing-masing sumber ion dan analisis massa memiliki kelebihan dan kekurangan sehingga harus disesuaikan dengan jenis informasi yang dibutuhkan (Agilent, 2001).

3.1 *Sumber Ion (Ion Source)*

Selama sepuluh tahun terakhir terjadi banyak kemajuan pada LC-MS dalam pengembangan sumber ion dan teknik untuk mengisolasi dan memisahkan ion molekul analit dari fase gerak. Sebelumnya LC-MS menggunakan sistem antar muka yang kurang baik dalam memisahkan

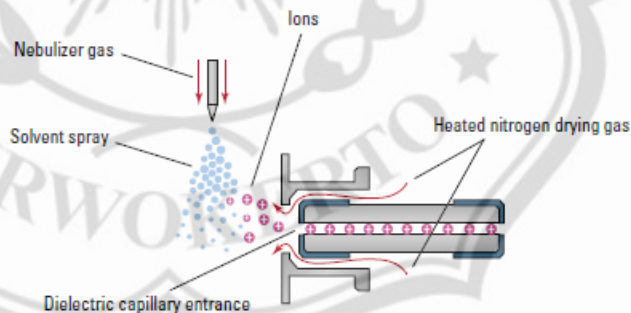
molekul fase gerak dari molekul analit. Molekul – molekul analit yang terionisasi dalam spektrometer massa berada pada kondisi vakum, peristiwa semacam ini sering terjadi pada ionisasi elektron tradisional. Teknik ini berhasil hanya untuk jumlah senyawa yang sangat terbatas (Agilent, 2001).

Pengenalan teknik ionisasi tekanan atmosfer (*atmospheric pressure ionization / API*) sangat memperluas jumlah senyawa yang dapat dianalisis dengan LC-MS. Pada teknik ionisasi tekanan atmosfer, molekul-molekul analit terionisasi terlebih dahulu pada tekanan atmosfer. Ion-ion analit tersebut kemudian secara mekanis dan elektrostatis terpisah dari inti molekul. Teknik ionisasi tekanan atmosfer umumnya meliputi :

1. Ionisasi electrospray (*electrospray ionization / ESI*),
2. Ionisasi kimia tekanan atmosfer (APCI),
3. Photo ionisasi tekanan atmosfer (APPI) (Agilent, 2001).

Dalam setiap pengukuran, sifat analit dan kondisi pemisahan memiliki electrospray, APCI, maupun APPI. Teknik yang paling efektif tidak selalu mudah untuk diprediksi (Agilent, 2001).

3.1.1 Ionisasi electrospray (*Electrospray Ionization / ESI*)



Gambar 2.2 Sumber Ionisasi Electrospray (Agilent, 2001)

Ionisasi electrospray bergantung pada pelarut yang digunakan untuk memungkinkan analit mampu mengion dengan baik sebelum mencapai spektrometer massa. Seperti pada Gambar 2.2 eluen LC disemprotkan bersamaan dengan gas nebulizer kedalam bidang elektrostatis pada tekanan atmosfer yang menyebabkan disosiasi

lebih lanjut molekul analit. Pada saat yang bersamaan gas yang dipanaskan menyebabkan menguapnya pelarut sehingga tetesan analit menyusut, konsentrasi muatan dalam tetesan meningkat. Keadaan akan memaksa ion untuk bermuatan melebihi kekuatan kohesif atau ion dikeluarkan kedalam fasa gas. Ion-ion tertarik akan melewati pipa kapiler pengambilan sampel yang selanjutnya akan di teruskan kedalam analisis massa (Agilent, 2001).

Elektrospray sangat berguna untuk menganalisa molekul besar seperti protein, peptide, dan oligonukleotida. Namun dapat juga menganalisis molekul kecil seperti benzodiazepine (Agilent, 2001).

3.1.2 Ionisasi Kimia Tekanan Atmosfer (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization / APCI*)

Dalam APCI, eluen disemprotkan melalui sebuah pemanas (umumnya bersuhu 250C – 400c), proses berlangsung pada tekanan atmosfer. Udara panas akan menguapkan cairan. Fase gas pelarut yang dihasilkan akan terionisasi oleh electron dari jarum korona. Ion-ion pelarut kemudian mentransfer muatan pada molekul analit melalui reaksi kimia (ionisasi kimia). Ion-ion analit melewati pipa kapiler pengambilan sampel yang dilanjutkan kedalam analisis massa (Agilent, 2001).

APCI berlaku untuk berbagai kutub dan molekul nonpolar. Karena melibatkan suhu tinggi, APCI kurang cocok dibandingkan dengan elektrospray untuk analisis biomolekul besar yang mungkin secara termal tidak stabil. APCI lebih sering digunakan pada kromatografi fase normal dibandingkan dengan sumber ion elektrospray karena analit yang biasanya nonpolar (Agilent, 2001).

3.1.3 Fotoionisasi Tekanan Atmosfer (*Atmospheric Pressure Photoionization / APPI*)

Photoionisasi tekanan atmosfer (APPI) untuk LC / MS merupakan teknik yang relative baru. Penguapan mengubah eluen LC menjadi fase gas. Sebuah lampu bermuatan menghasilkan foton dalam kisaran energi ionisasi yang kecil. Kisaran energi yang dipilih ialah energi yang mampu mengionisasi molekul analit banyak dan mungkin mampu meminimalkan ionisasi molekul pelarut. Ion-ion yang dihasilkan akan melewati pipa kapiler pengambilan sampel kedalam analisis massa (Agilent, 2001).

Hampir semua senyawa yang biasa dianalisis oleh APCI dapat dianalisis pula dengan APPI. Hal ini menunjukkan kemiripan di dalam dua aplikasi, yakni menganalisis senyawa yang sangat nonpolar dengan laju alir yang rendah (<100 ml/menit), dimana kesensitivitasan APCI terkadang berkurang (Agilent, 2001).

4. Analisis Masa (*Mass Analyzers*)

Meskipun dalam teori semua analisis massa dapat digunakan untuk LC-MS/MS, namun kenyataannya ada empat jenis analisis massa yang paling sering digunakan :

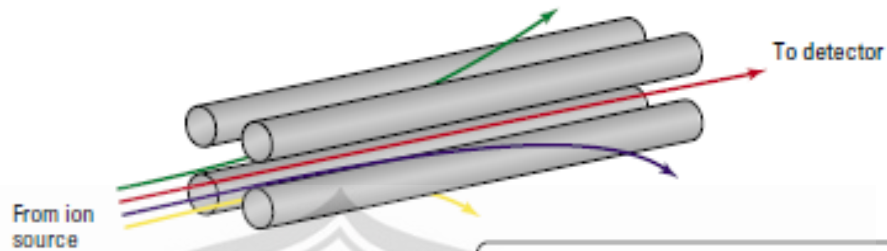
1. Quadrupole
2. *Time-of-flight*
3. Perangkap ion
4. *Fourier transform-ion cyclotron resonance* (FT-ICR)

Masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan tergantung pada persyaratan dari analisis yang akan digunakan (Agilent, 2001).

4.1 Quadrupole

Analisis massa quadrupole terdiri dari empat batang parallel diatur dalam persegi (lihat Gambar 2.3) kemudian ion analit diarahkan ke bagian tengah persegi. Tegangan yang dialirkan pada batang menghasilkan bidang elektromagnetik. Bidang ini menentukan rasio massa yang dapat melewati

filter pada waktu tertentu. Quadrupole cenderung merupakan analisis massa yang paling sederhana dan paling murah.



Gambar 2.3 Quadrupole (Agilent, 2001)

Analisis massa quadrupole dapat beroperasi dengan dua mode :

1. Memindai (scan) modus
2. Pemantauan ion terpilih (*selected ion monitoring* / SIM)

Dalam mode scan, analisis massa memantau berbagai rasio m/z . Modus SIM jauh lebih sensitive dibandingkan modus memindai tetapi memberikan informasi tentang fragmentasi ion yang lebih sedikit. Modus pindai biasanya digunakan untuk analisis kualitatif atau untuk kuantisasi ketika semua massa analit tidak diketahui sebelumnya. Modus SIM digunakan untuk kuantisasi dan pemantauan senyawa target (Agilent, 2001).

4.2 *Time-of-flight* (TOF)

Pada analisis massa *time-of-flight* (TOF), sebuah gaya elektromagnetik yang seragam diterapkan untuk semua ion pada waktu yang sama. Hal ini menyebabkan ion akan dipercepat menyusuri tabung penerbangan. Ion yang lebih ringan berjalan lebih cepat dan tiba pada detector paling awal, sehingga rasio fragmentasi ion m/z ditentukan oleh waktu kedatangan mereka. Analisis massa (TOF) memiliki kisaran massa yang luas dan sangat akurat pada pengukuran massa suatu senyawa (Agilent, 2001)

4.3 Perangkap Ion

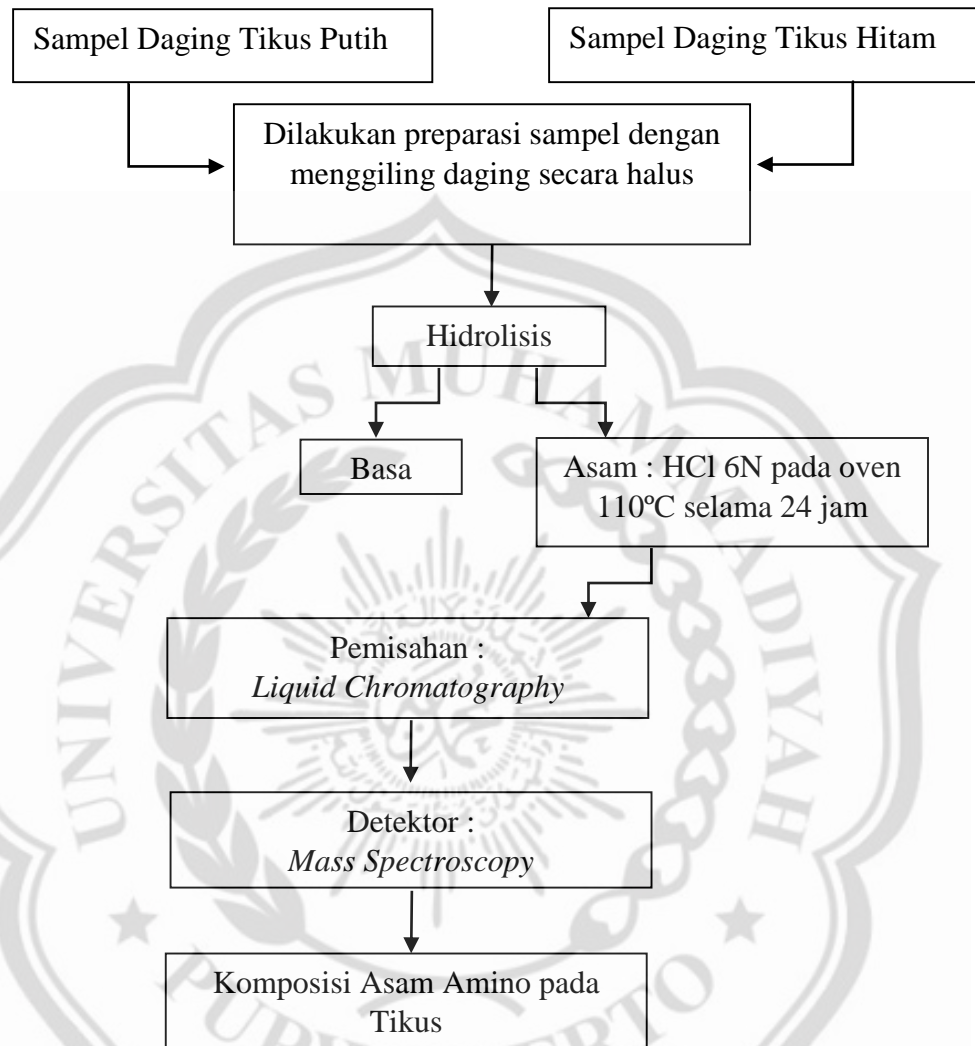
Analisis massa perangkap ion massa terdiri dari elektroda melingkar cincin dua penutup di kedua ujungnya yang bersama-sama membentuk sebuah ruang. Ion memasuki ruang dan terjebak oleh medan elektromagnetik. Bidang lain digunakan untuk mengeluarkan dengan

selektif dari dalam perangkat. Perangkat ion memiliki kelebihan dapat melakukan beberapa tahapan pengukuran spektrometer massa tanpa analisis massa tambahan (Agilent, 2001).

4.4 *Fourier transform-ion cyclotron resonance (FT-ICR)*

Analisis massa FT-ICR merupakan jenis lain dari analisis massa perangkat ion. Ion memasuki ruangan dan terjebak dalam lingkaran orbit oleh medan listrik dan medan magnet yang kuat. Ketika terjadi eksitasi oleh frekuensi radio (RF) pada medan listrik, ion menghasilkan arus yang bergantung pada waktu. Arus ini dikonversi oleh fourier menjadi frekuensi orbital dari ion yang sesuai dengan rasio muatan massa senyawa. Seperti perangkat ion, analisis massa FT-ICR dapat melakukan beberapa tahapan spektrometri massa tanpa analisis massa yang sangat baik. FT-ICR merupakan analisis massa termahal diantara yang lain (Agilent, 2001).

C. Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep