

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Daging

Daging adalah salah satu bahan makanan yang mempunyai kandungan protein, lemak dan air. Daging juga merupakan bahan makanan yang penting dalam memenuhi kebutuhan gizi, selain mutu proteinnya yang tinggi, pada daging terdapat pula kandungan asam amino esensial yang lengkap dan seimbang (Anonim, 2008).

Proses pengolahan daging dari bahan mentah menjadi sate dapat merusak kadar dan komposisi zat gizi yang terkandung pada daging tersebut. Lemak, mineral dan vitamin adalah zat gizi yang mudah rusak ketika dipanaskan atau dibakar (Sugimura *et al*, 1992). Raharjo (2004) Kerusakan selama proses pengolahan akan mempengaruhi nilai gizi dan mutu dari daging yang diolah. Kelemahan pembakaran secara langsung yaitu terdepositnya tar pada bahan makanan yang dapat membahayakan bagi kesehatan (Arizona *et al*, 2011). Proses pembakaran secara berulang-ulang pada suhu tinggi dan waktu yang cukup lama akan menghasilkan senyawa-senyawa radikal bebas yang membahayakan bagi kesehatan (Hermanto *et al*, 2008).

Menurut beberapa hasil penelitian proses pembakaran makanan yang kaya lemak dan protein dapat menghasilkan senyawa sampingan yang membahayakan kesehatan. Penyakit kanker, diabetes, katarak, arteriosklerosis, gagal ginjal dan penuaan dini merupakan akibat dari radikal bebas yang dikonsumsi dalam jumlah kecil dan sering. Efek sampingnya terhadap kesehatan muncul setelah tahunan dan bersifat terakumulasi (Supari, 1996).

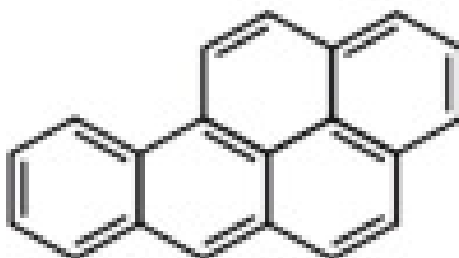
Sate merupakan makanan tradisional yang disukai banyak orang dari semua lapisan umur, status sosial dan suku. Sate yang disukai banyak orang tersebut tidak terlepas dari bahaya radikal bebas dan senyawa *benzo(a)pyrene* yang dihasilkan dari efek samping selama proses pengolahan daging menjadi sate. *Benzo(a)pyrene* merupakan salah satu senyawa yang terbentuk dari

pengolahan makanan dengan proses pengasapan dan pembakaran yang menggunakan arang tempurung kelapa. Secara tidak langsung *benzo(a)pyrene* bersifat karsinogenik. Amin heterosiklik merupakan karsinogen yang dihasilkan dari pembakaran atau pemanggangan yang berasal dari reaksi pirolisis asam amino triptopan, lisin, glutamate, fenilalanin dan ornitin (Sugimura *et al*, 1992).

#### B. *Benzo(a)pyrene*

*Benzo(a)pyrene* merupakan salah satu senyawa berbahaya yang terbentuk dari pengasapan arang tempurung kelapa secara langsung dan masuk kedalam makanan yang diolah melalui pembakaran suatu zat tanpa adanya oksigen (*pirolisis*) sehingga arang tempurung kelapa tersebut terurai dan menghasilkan karbon hidrogen dan asap (Ratnawati dan Hartanto, 2010). *Benzo(a)pyrene* dalam keadaan murni berbentuk Kristal (bubuk), berwarna kuning dengan titik didih 312°C dan titik cair 179°C dengan berat molekul 252. *Benzo(a)pyrene* tidak larut dalam air, sedikit larut dalam alkohol, larut dalam benzene, toluene dan xilem (Jaya *et al*, 1997; Zuraida, 2008).

*Benzo(a)pyrene* bukan termasuk senyawa tunggal dengan nama lain *benzo(d,e,f)chrysene*, *3,4 benzophyrene*, dan *3,4 benzylpirene*, dengan rumus molekul C<sub>20</sub>H<sub>12</sub> (Anonim, 2008).



Gambar 1. Struktur *Benzo(a)pyrene* (Anyakora *et al*, 2008).

Secara kimia *benzo(a)pyrene* terbentuk dalam asap hasil pembakaran tidak sempurna yang disebut *Polisiklik Aromatik Hidrokarbon* (PAH) (Mariani *et al*, 2008). *Hidrokarbon Aromatik Polisiklik* (PAH) merupakan

bahan pencemar dari efek samping selama proses pembakaran senyawa organik, bersifat racun yang dapat menyebabkan kanker (*carcinogenic*) dan mutasi (*mutagenic*) sehingga perlu diperhatikan meskipun jumlah yang diemisikan ke lingkungan udara relatif sedikit dibandingkan dengan polutan lainnya seperti CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub> dan CO (Yan *et al*, 2004).

*Benzo(a)pyrene* merupakan salah satu senyawa PAH yang dikategorikan sebagai senyawa genetik karsinogen, studi secara *in vivo* menunjukkan bahwa pada semua hewan uji terbukti *benzo(a)pyrene* dapat menyebabkan tumor dan dapat masuk melalui pernapasan, makanan, dan kontak pada permukaan kulit. Pada hewan uji (tikus) yang mengkonsumsi *benzo(a)pyrene* dengan dosis 120 ppm/kg berat badan dengan lama konsumsi selama 14 hari dapat menyebabkan kematian (Elisabeth dan Jenny, 2000).

PAH merupakan kelompok senyawa yang mempunyai berat molekul besar, berbentuk datar dan mempunyai struktur cincin aromatik dua atau lebih dengan struktur dasar atom karbon dan hidrogen (Lukitaningsih *et al*, 2001; Rosnia dan Damayanti, 2011). *Environmental Protection Agency* (EPA) dari 100 jenis *benzo(a)pyrene* ditetapkan 16 jenis *benzo(a)pyrene* yang berbahaya. Ke-16 jenis *benzo(a)pyrene* tersebut adalah *aseneftena*, *benzo(a)antrasena*, *benzo(a)pirena*, *benzo(b)fluorantena*, *benzo(k)fluorantena*, *benzo (g,h,i)perilena*, *krisena*, *fluorantena*, *fluorena*, *indeno(1,2,3-cd)pirena*, *naftalena*, *fanantrena*, dan *pirena*. *Benzo(a)pyrene* adalah komponen yang paling toksik dari 16 jenis tersebut, jadi batas maksimum dalam makanan tidak boleh lebih dari 10 ppb (Lukitaningsih *et al*, 2001).

Pada masyarakat umum, jalur utama paparan PAH berasal dari makanan dan udara yang dihirup. PAH masuk ke lingkungan selama pembakaran tidak sempurna (*pirolisis*) bahan organik selama proses industri, kegiatan manusia lain, juga dapat terbentuk dalam proses alam seperti karbonasi. Senyawa PAH yang dihasilkan dari sejumlah lingkungan dikelompokkan menjadi 10 kategori yaitu (1) pembakaran sampah, (2) pengolahan batu bara, (3) minyak mentah, (4) minyak bumi, (5) gas alam, (6)

produksi aluminium, (7) besi dan baja, (8) kebakaran kayu, (9) kendaraan bermotor knalpot dan digunakan pelumas oli bermotor, (10) pemanasan di pembangkit listrik dan tempat tinggal seperti minyak, gas, kompor arang, berbahan bakar dan kompor kayu (FSAI, 2009).

Pada studi epidemiologi polusi udara positif terkait dengan kematian akibat kanker paru-paru dan penyakit *cardiopulmonary*. Proses pembakaran yang menghasilkan asap merupakan sumber utama dari polusi udara dan debu bagi masalah kesehatan. Asap hasil pembakaran tersebut mengandung PAH yang merupakan salah satu senyawa berbahaya yang terbentuk selama proses pembakaran (Richter *et al*, 2000). Menurut *Food Safety Authority of Ireland* (2009) studi toksikologi individu PAH pada hewan, terutama *benzo(a)pyrene* telah menunjukkan berbagai efek toksikologi seperti efek hematologis, reproduksi, perkembangan toksisitas dan *immunotoxicity*. Sejumlah PAH telah menunjukkan efek karsinogenik pada hewan percobaan, *genotoxicity* dan mutagenesis *in vitro* dan *in vivo* telah menyimpulkan bahwa *benzo(a)pyrene* adalah penyebab kanker pada manusia.

### C. Kromatografi Gas Spektroskopi Massa (KGSM)

#### 1. Dasar Kerja Kromatografi Gas (KG)

Kromatografi merupakan cara pemisahan yang mendasarkan partisi cuplikan antara fase gerak dan fase diam. Fase gerak pada kromatografi gas adalah gas. Dasar kerja kromatografi gas adalah dengan menginjeksikan cuplikan kedalam injektor, aliran gas pengangkut akan membawa cuplikan yang telah teruapkan masuk ke dalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen dari cuplikan, kemudian komponen-komponen yang terpisah dideteksi oleh detektor, dan sinyal dalam bentuk puncak akan dihasilkan oleh pencatat (Sastrohamidjojo, 1985).

Komponen sistem kromatografi gas terdiri dari:

##### a. Gas pembawa

Gas pembawa berfungsi sebagai pembawa komponen-komponen campuran yang akan atau sudah dipisahkan. Gas yang digunakan harus

bersifat inert (tidak bereaksi) dengan cuplikan ataupun fase diam, murni, dan dapat disimpan dalam tangki bertekanan tinggi. Gas pembawa yang biasa digunakan yaitu gas nitrogen, helium, hidrogen, atau campuran metana dan argon.

b. Ruang suntik sampel

Ruang suntik sampel berfungsi menghantarkan sampel atau cuplikan kedalam aliran gas pembawa. Ruang suntik harus dipanaskan terpisah dari kolom dengan suhu lebih tinggi dari suhu kolom maksimum, sehingga setelah disuntikkan sampel akan menguap.

c. Kolom

Kolom berfungsi sebagai tempat proses pemisahan komponen-komponen dari cuplikan, karena didalamnya terdapat fase diam. Terdapat dua kolom pada kromatografi gas yaitu kolom kemas (*packing column*) dan kolom kapiler (*capillary column*). Kolom kemas fase diamnya hanya dapat dilapiskan pada penyangga, sedangkan kolom kapiler fase diamnya dilapiskan pada dinding kolom atau bahkan dapat bercampur dengan sedikit penyangga lembam yang sangat halus.

d. Detektor

Detektor merupakan sensor elektronik yang dapat mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen didalamnya menjadi sinyal elektronik. Sinyal elektronik dapat menyajikan kromatogram berupa deretan luas puncak terhadap waktu. Puncak area kromatogram pada waktu tambat tertentu digunakan sebagai data kualitatif dan luas puncak pada kromatogram dapat digunakan sebagai data kuantitatif (Gandjar dan Rohman, 2009).

Sinyal listrik dari detektor melewati penguap sinyal atau elektrometer dihubungkan dengan sebuah alat perekam otomatis. Hasil rekaman berupa kurva sinyal terhadap waktu disebut kromatogram, yang digunakan untuk menentukan identitas dan kadar zat (Depkes RI, 1995).

Keuntungan-keuntungan dari kromatografi gas antara lain:

- a. Kecepatan, gas merupakan fase bergerak sangat cepat mengadakan kesetimbangan fase gerak dan fase diam, kecepatan gas yang tinggi juga dapat digunakan hingga waktu pemisahan yang sangat cepat.
- b. Sederhana, alat kromatografi gas relatif mudah dioperasikan.
- c. Sensitif, alat yang sederhana dapat mendeteksi konsentrasi dalam ukuran 0,01% (100 ppm). Alat-alat kromatografi gas yang lebih rumit dapat mendeteksi senyawa yang konsentrasinya hanya beberapa ppm.
- d. Pemisahan, dengan kromatografi gas memungkinkan untuk memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, dimana hal ini tidak dapat dipisahkan dengan cara-cara yang lain (Sastrohamidjojo, 1985).

## 2. *Mass Spectrometry*

*Mass spectrometry* (MS) merupakan suatu metode teknik analisis berdasarkan analisis pemisahan berkas ion-ion yang sesuai dengan perbandingan massa dengan muatan dan pengukuran intensitas dari berkas ion-ion tersebut. Dengan *mass spectrometry*, molekul-molekul organik ditembakkan dengan berkas elektron dan diubah menjadi muatan ion-ion bermuatan positif yang bertenaga tinggi, yang dapat dipecah-pecah menjadi ion-ion yang lebih kecil (Sastrohamidjojo, 2001).

## 3. Validasi Metode Analisis

Menurut ISO SNI/IEC (2008) validasi merupakan konfirmasi melalui pengujian dan penyidikan untuk bukti objektif bahwa tujuan tersebut memenuhi persyaratan tertentu. Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya.

Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis diuraikan dan didefinisikan sebagaimana cara penentuannya (Harmita, 2004).

a. Kecermatan (*Recovery*)

*Recovery* adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya. *Recovery* dinyatakan sebagai persen perolehan kembali analit yang ditambahkan.

*Recovery* ditentukan dengan dua cara yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau penambahan baku (*standard addition method*). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni (senyawa pembanding) ditambah ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (*placebo*) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya). Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. *Recovery* dapat ditentukan dengan cara membuat sampel *placebo* (ekseprien obat, cair biologis) kemudian ditambahkan analit dengan konsentrasi tertentu (biasanya 80% sampai 120% dari kadar analit yang diperkirakan), kemudian dianalisis dengan metode yang akan divalidasi (Harmita, 2004).

Metode adisi dapat dilakukan dengan menambahkan sejumlah analit dengan konsentrasi tertentu pada sampel yang diperiksa dan dianalisis. Persen *recovery* ditentukan dengan menentukan berapa persen analit yang ditambahkan tadi dapat ditemukan. Persen *recovery* seharusnya tidak melebihi nilai presisi RSD (*Relative Standard Deviation*) (Harmita, 2004).

b. Keseksamaan (*precision*)

Keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Kriteria seksama diberikan jika metode memberikan simpangan baku relative atau koefisien variasi 2% atau kurang. Metode presisi adalah fungsi penetapan kadar pada rentang yang dapat diterima (Harmita, 2004).

c. Selektivitas (*spesifitas*)

Selektivitas atau spesifitas suatu metode adalah kemampuannya yang hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel (Harmita, 2004).

d. Linearitas dan Rentang

Linearitas adalah kemampuan metode yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisien korelasi  $r$  pada analisis regresi linear  $Y = bx + a$ , dengan  $a$  ialah intersep,  $b$  ialah kemiringan garis dengan koefisien korelasi 0,9995 (Harmita, 2004).

e. Batas Deteksi dan Batas Kuantitasi

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas kuantitasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama. Batas deteksi dan batas kuantitasi dapat

dihitung secara statistik melalui garis regresi linear dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai  $b$  pada persamaan garis linear  $Y=bx+a$ , sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ( $S_{y/x}$ ) (Harmita, 2004).

