

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kemajuan ilmu dan teknologi berkembang dengan pesat diberbagai bidang termasuk dalam bidang pangan. Kemajuan teknologi ini dapat berakibat positif maupun negatif bagi masyarakat. Dampak positif tersebut dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas pangan sehingga gizi masyarakat lebih baik, sedangkan dampak negatif adanya kemajuan teknologi ini yaitu penggunaan bahan tambahan pangan yang berbahaya bagi kesehatan. Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI N0. 772/Menkes/Per/IX/88 No. 1168/Menkes/PER/X/1999 pengertian bahan tambahan pangan secara umum yaitu bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan biasanya bukan merupakan komponen khas makanan, mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk maksud teknologi pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, pengemasan, dan penyimpanan. Oleh karena itu ilmu kimia sangat bermanfaat untuk mengontrol teknologi tersebut.

Praktik Kerja Lapangan memberikan kesempatan kepada mahasiswa analisis kimia untuk memperoleh pengetahuan dan wawasan tentang aplikasi ilmu kimia di dunia lapangan kerja, sehingga mahasiswa dapat menerapkan ilmu yang telah diperoleh di bangku kuliah.

Monosodium Glutamat (MSG) adalah garam natrium sodium dari asam glutamat, suatu asam amino yang terdapat dalam semua jenis protein berfungsi sebagai penyedap rasa dalam makanan. MSG yang diproduksi belum tentu kualitasnya baik karena kemungkinan terdapat senyawa yang tidak dikehendaki. Hal ini menyebabkan proses hasil MSG tidak maksimum. Contoh senyawa yang tidak dikehendaki dalam MSG yaitu γ Amino Butyric Acid (γ ABA) dan *Pyroglutamic Acid* (PCA), apabila kandungan γ ABA dan PCA tinggi maka rendemen atau MSG yang dihasilkan semakin sedikit. Senyawa γ ABA penting untuk metabolisme otak, namun terlalu banyak γ ABA menyebabkan kecemasan meningkat dan kesemutan. Sedangkan PCA dapat menguatkan otak terhadap stres

dan meningkatkan fungsi kognitif, namun efek sampingnya dapat menyebabkan sakit kepala dan masalah pencernaan. Oleh karena itu dilakukan analisis γ ABA dan PCA menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, pada analisis γ ABA didestruksi dengan mengatur pH-nya 3,2 selanjutnya dianalisis menggunakan detektor fluoresensi. Sedangkan pada analisis PCA didestruksi dengan menggunakan larutan HCl dan aseton, selanjutnya dideteksi menggunakan detektor UV. Standar kandungan γ ABA dan PCA dalam MSG ditentukan oleh PT. Ajinomoto Indonesia, dengan adanya standar tersebut maka produk MSG akan terjamin dan layak untuk dipasarkan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa kandungan γ ABA dan PCA pada produk MSG?
2. Apakah kualitas produk MSG sesuai dengan Standar Operasional Prosedur PT. Ajinomoto Indonesia?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui kandungan γ ABA dan PCA pada produk MSG.
2. Mengetahui kualitas produk MSG sesuai dengan Standar Operasional Prosedur PT. Ajinomoto Indonesia.

1.4 Manfaat

1.4.1 Bagi Perguruan Tinggi

Sebagai tambahan referensi khususnya mengenai perkembangan industri di Indonesia dalam hal analisis dengan teknologi yang modern serta dapat digunakan oleh pihak-pihak yang membutuhkan.

1.4.2 Bagi Perusahaan

Hasil analisis dan penelitian yang dilakukan selama Praktik Kerja Lapangan (PKL) dapat menjadi bahan masukan bagi perusahaan untuk menentukan kebijakan perusahaan di masa yang akan datang.

1.4.3 Bagi Mahasiswa

1. Sebagai bekal pengalaman untuk terjun ke dunia kerja.
2. Mengembangkan wawasan, melakukan praktik secara langsung dan mengaplikasikan ilmu yang dimiliki.
3. Mengetahui masalah yang ada dalam dunia kerja.

BAB II

DASAR TEORI

2.1 Profil PT. Ajinomoto Indonesia

2.1.1 Sejarah PT. Ajinomoto Indonesia

Berawal dari sebuah penemuan besar di Jepang, Dr. Kikunae Ikeda pada tahun 1908 menemukan sumber rasa gurih dari kaldu rumput laut (Kombu). Rasa gurih tersebut dinamakan Umami. Setahun kemudian, diproduksi bumbu masakan yang menjadi sumber rasa Umami dengan merek AJI-NO-MOTO®. Sampai saat ini, AJI-NO-MOTO® telah digunakan luas di hampir 100 wilayah dan negara selama 100 tahun.

Pendirian PT. Ajinomoto Indonesia :

Tahun 1969 : Pembangunan pabrik Mojokerto PT. Ajinomoto Indonesia

Tahun 1970 : Pabrik Mojokerto PT. Ajinomoto Indonesia mulai beroperasi

Tahun 1987 : Pembangunan pabrik Mojokerto PT. Ajinex International

Tahun 1989 : Pabrik Mojokerto PT. Ajinex International mulai beroperasi

Tahun 1994 : Pembangunan pabrik Bekasi PT. Ajinomoto Calpis Beverage
Indonesia

Tahun 1995 : Pabrik Bekasi PT. Ajinomoto Calpis Beverage Indonesia mulai
beroperasi

Tahun 2011 : Pembangunan pabrik Karawang PT. Ajinomoto Indonesia

Struktur Organisasi PT. Ajinomoto Indonesia (Lampiran 1).

2.1.2 Lokasi PT. Ajinomoto Indonesia

PT. Ajinomoto Indonesia, Mojokerto Factory terletak di jalan raya Mlirip, Jetis, Mojokerto dengan luas wilayah ± 35 Ha. Kawasan Industri Mojokerto dipilih sebagai lokasi PT. Ajinomoto Indonesia, Mojokerto Factory didukung oleh beberapa faktor antara lain:

- a. Kemudahan memperoleh bahan baku (tetes tebu) karena dekat dengan pabrik - pabrik gula.

- b. Dekat dengan sungai sehingga memudahkan pemanfaatan air sungai sebagai pendingin dan penggerak mesin produksi.
- c. Tersedia banyak sumber daya manusia.
- d. Dekat dengan pelabuhan sehingga memudahkan proses distribusi.
- e. Kepadatan industri masih kurang dan lahan yang masih memadai.

2.1.3 Filosofi PT. Ajinomoto Indonesia

Menciptakan kehidupan yang lebih baik secara global dengan memberikan kontribusi bagi kemajuan yang berarti dalam bidang Makanan dan Kesehatan serta berkarya bagi kehidupan.

2.1.4 Visi dan Misi PT. Ajinomoto Indonesia

Ingin menjadi basis kekuatan Grup Ajinomoto untuk memanfaatkan kesempatan bisnis di pasar Islam dengan menciptakan produk - produk / bisnis yang unik dalam bidang makanan (utamanya difokuskan pada segmen bumbu masak) yang dapat merealisasikan filosofi "Eat Well Live Well", sehingga bisnis akan membuat lingkungan di bumi lebih terpelihara.

2.1.5 Instalasi Laboratorium

Laboratorium QC PT. Ajinomoto Indonesia terdiri dari empat laboratorium antara lain :

a. Laboratorium Organoleptik

Laboratorium organoleptik bertugas melakukan pengujian sensori terhadap produk.

b. Laboratorium Fisika

Laboratorium fisika bertugas untuk melakukan pengujian seperti analisis gravimetrik, kolorimetri, *dimension*, *weight*, dan *performance* terhadap bahan-bahan baku dan produk.

c. Laboratorium Kimia

Laboratorium kimia bertugas untuk melakukan pengujian seperti analisis enzimatik, AAS, HPLC, Spektrometri, volumetri, ekstraksi, dan polarisasi terhadap bahan-bahan baku dan produk.

d. Laboratorium Mikrobiologi

Laboratorium mikrobiologi bertugas untuk melakukan pengujian seperti analisis *TPC*, *E. Coli*, *Coliform*, *An Aerob*, *Yeast & Mold*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, dan *Heat Resistant* terhadap bahan-bahan baku dan produk.

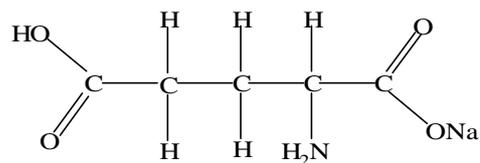
PT. Ajinomoto Indonesia telah memperoleh sertifikat ISO 9001 dibidang Sistem Manajemen Mutu, sertifikat ISO 14001 dibidang Sistem Manajemen Lingkungan, sertifikat ISO 18001 dibidang Sistem Manajemen Kesehatan dan Keselamatan Kerja, sertifikat ISO 22000 dibidang Sistem Manajemen Keamanan Pangan, JECFA, Uni Eropa, USFDA-Amerika, OHSAS, ASQUA, Peraturan Menteri Kesehatan Indonesia dan sertifikat Halal dari Majelis Ulama Indonesia. Perolehan sertifikat ini menunjukkan bahwa sistem manajemen mutu yang diberlakukan dalam pengolahan produk-produk PT. Ajinomoto Indonesia telah sesuai dengan standar internasional. Perolehan sertifikat ini sangat penting untuk meningkatkan kepercayaan masyarakat terhadap produk-produk PT. Ajinomoto Indonesia.

2.2 Monosodium Glutamat (MSG)

Flavor atau citarasa mempunyai konsep yang sangat kompleks, sebab *flavor* merupakan kombinasi dari rasa, sentuhan, bau, dan perasaan pada sel reseptor dari lapisan mukosa dalam dinding mulut dan hidung. Istilah pembangkit rasa (*flavor enhancer*) digunakan bagi bahan-bahan yang dapat meningkatkan rasa enak atau menekan rasa yang tidak diinginkan dari suatu bahan makanan. Sedangkan bahan itu sendiri tidak atau sedikit mempunyai citarasa, misalnya penambahan asam L- glutamat pada daging atau sup, akan menimbulkan citarasa

lain yang lebih nikmat daripada citarasa asam amino itu sendiri (Winarno dan Sulistyowati,1994).

Salah satu jenis bahan penyedap rasa adalah monosodium glutamat. Monosodium glutamat (MSG) adalah kristal putih yang merupakan turunan kimia *L-Glutamic acid monosodium salt*, yang berarti garam natrium dari asam glutamat (sodium glutamat). Sedangkan ikatan aslinya adalah asam glutamat yang dapat mengikat dua ion positif, karena unsur Na hanya memiliki satu valensi dan masih ada satu unsur asam maka disebut monosodium glutamat (MSG) dengan komposisi Na 12 %, glutamat 78 %, dan air 10 %. Rumus kimia MSG adalah $C_5H_8NNaO_4$ dan rumus struktur dari MSG menurut Winarno (1989) sebagai berikut:

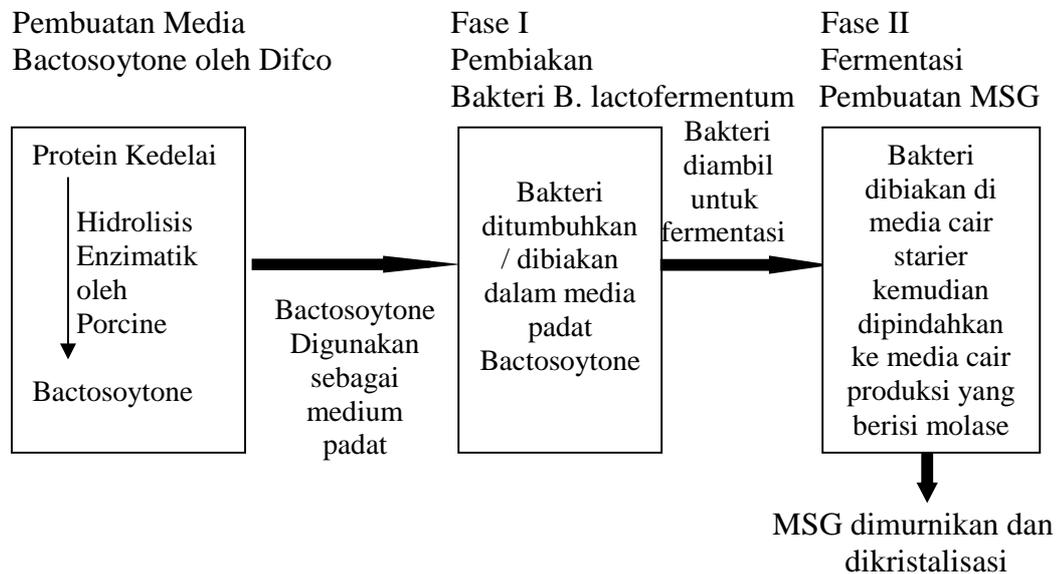


Gambar 1. Struktur Monosodium Glutamat

Menurut beberapa pendapat tentang mekanisme kerja MSG sebagai *flavor intensifier*, yaitu dapat menyedapkan rasa daging karena adanya hidrolisis protein dalam mulut, dapat meningkatkan cita rasa dengan mengurangi rasa yang tidak diinginkan, seperti rasa bawang putih yang tajam, rasa sayuran mentah, dan rasa pahit dari sayuran. Peranan lain, yaitu meningkatkan rasa asin atau memperbaiki keseimbangan cita rasa lebih sensitif sehingga dapat merasakan lebih baik. Asam glutamat efektif sebagai penyedap pada pH antara 3,5 – 7,2 yaitu pH pangan pada umumnya. Jenis pangan berlemak atau berminyak dan mempunyai viskositas tinggi penggunaan asam glutamat kurang efektif (Cahyadi, 2009).

Secara alami asam glutamat terdapat pada makanan berprotein tinggi, seperti dalam tepung gandum, kedelai, jagung, dan lain-lain. Pemisahan asam glutamat dapat dilakukan dengan hidrolisis menggunakan asam klorida sampai pH 3,2; selanjutnya dilakukan netralisasi dengan penambahan natrium hidroksida atau natrium karbonat, dekolorisasi, dan kristalisasi, hasilnya merupakan garam monosodium glutamat (MSG).

2.2.1 Proses Pembuatan MSG



Monosodium Glutamat (MSG) dibuat melalui proses fermentasi dari tetes tebu (*molase*). Fermentasi yang terjadi adalah fermentasi aerob, yaitu fermentasi yang membutuhkan adanya oksigen. Fermentasi aerob dapat menghasilkan asam asetat, asam glutamat dan dihidroksi aseton. (Judoamidjojo, dkk., 1992).

Bakteri yang digunakan dalam pembuatan MSG yaitu *Brevibacterium lactofermentum* atau *Corynebacterium glutamicum*. Sebelum bakteri tersebut digunakan untuk proses fermentasi pembuatan MSG, bakteri tersebut harus diperbanyak terlebih dahulu dalam suatu media yang disebut dengan *bactosoytone*. Proses ini dikenal sebagai proses pembiakan bakteri. Setelah bakteri tersebut tumbuh dan berkembangbiak, kemudian diambil untuk proses fermentasi pembuatan MSG.

Bactosoytone sebagai media pertumbuhan bakteri dibuat dengan cara hidrolisis enzimatik dari protein kedelai (*soyprotein*). Protein kedelai dipecah dengan bantuan enzim sehingga menghasilkan peptida rantai pendek (pepton) yang dinamakan *bactosoytone*. Enzim yang dipakai pada proses hidrolisis ini disebut *porcine*, enzim ini berasal dari pankreas babi. Enzim *porcine* yang digunakan dalam proses pembuatan media *bactosoytone* ini hanya berfungsi sebagai katalis, artinya enzim tersebut hanya mempengaruhi kecepatan reaksi

hidrolisis dari protein kedelai menjadi *bactosoytone* tanpa ikut masuk ke dalam struktur molekul *bactosoytone* enzim tersebut. Jadi Bactosoytone yang diproduksi dari proses hidrolisis-enzimatik itu bebas dari unsur-unsur babi.

Setelah tetes tebu difermentasi dengan bakteri yang diambil dari *bactosoytone*, lalu akan menjadi asam glutamat cair. Asam glutamat cair ini selanjutnya ditambah dengan NaOH atau Na₂CO₃, kemudian akan berubah menjadi MSG. MSG yang dihasilkan masih berupa cairan yang berwarna keruh, maka dilakukan proses dekolorisasi atau penghilangan warna dengan arang aktif.

Arang (karbon) aktif dibuat dari bahan organik yang dapat dikarbonisasi, misalnya kayu, humus, batubara dan tempurung kelapa. Karbon digunakan untuk menghilangkan warna maupun untuk menjernihkan dan memperbaiki rasa cairan. Dari segi bentuknya, karbon aktif terdiri dari karbon cetak, karbon bongkahan dan karbon serbuk (Bernasconi, dkk., 1995).

Setelah warna cairan MSG menjadi jernih proses selanjutnya adalah kristalisasi. Kristalisasi adalah pemisahan bahan padat berbentuk kristal dari suatu larutan atau suatu lelehan. Pembentukan inti merupakan langkah pertama dalam kristalisasi. Inti kristal dihasilkan dengan cara memperkecil kristal-kristal yang ada ke dalam larutan lewat jenuh. Semakin banyak inti kristal yang terbentuk, semakin halus butir-butir hasil kristalisasi (kristalisat). Kristalisasi tidak menghasilkan produk akhir yang langsung dapat digunakan, kristal-kristal yang terbentuk masih harus dipisahkan dari larutan dengan cara penyaringan (Bernasconi, dkk., 1995).

Kristal-kristal dari proses kristalisasi dikeringkan dengan menggunakan sabuk berjalan. Sabuk berjalan menerobos suatu rumah yang menyerupai terowongan. Dengan bantuan ventilasi, udara dihembuskan dari atas dan akan menerobos kristal yang dikeringkan. Secara terus-menerus kristal yang telah dikeringkan akan terlempar keluar di ujung lain dari sabuk pengangkut. Kecepatan gerak sabuk tergantung pada kualitas bahan yang diinginkan. (Bernasconi, dkk., 1995).

Produk MSG yang baik yaitu memenuhi spesifikasi yang telah ditetapkan oleh SNI sesuai dengan SNI 01-0219-1987 mengenai Monosodium Glutamat (MSG). Spesifikasi tersebut dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Baku Mutu Monosodium Glutamat (MSG)

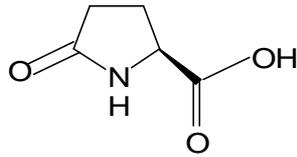
Spesifikasi	Standar SNI
Uji kualitatif	Hanya ada satu spot biru dari larutan contoh dan nilai Rf dari contoh dan larutan standar harus sama.
Kadar monosodium glutamat monohidrat	Minimum 99%
Putaran optic	+24,8 - +25,3
Keasaman larutan (pH)	6,8 - 7,2
Chlorida	Maksimum 0,2%
Susut pengeringan	Maksimum 0,5%
Arsen (As)	Maksimum 2 ppm
Timbal (Pb)	Maksimum 5 ppm
Logam-logam berat	Maksimum 20 ppm

(Sumber : SNI 01-0219-1987)

Penggunaan MSG sebagai bahan tambahan pangan tidak ada batasan karena badan-badan ilmiah dan pengawasan makanan yaitu Komite gabungan ahli bahan tambahan pangan (JECFA) menempatkan MSG pada kategori paling aman, yaitu batasan asupan harian tidak terspesifikasi atau "*Acceptable Daily Intake (ADI) not specified*". Namun demikian, MSG adalah bahan yang mengatur sendiri dosis penggunaannya. Ketika dosis optimum sudah tercapai, penambahan lebih lanjut hanya sedikit atau sama sekali tidak meningkatkan cita rasa makanan. Bahkan, penambahan MSG yang terlalu banyak dapat menyebabkan berkurangnya rasa enak makanan dan pemborosan biaya.

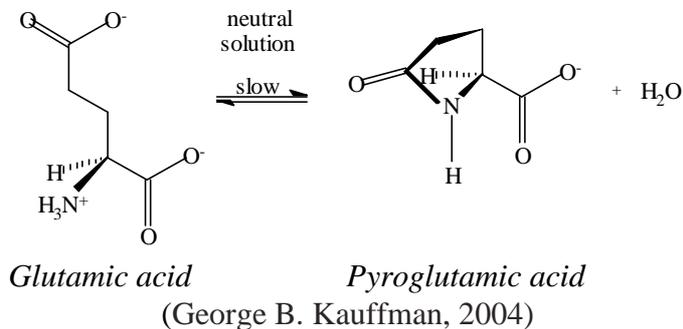
2.3 *Pyroglutamic Acid (PCA)*

Pyroglutamic Acid (PCA) juga dikenal sebagai *5-oxoproline*, *pidolic acid*, *pyrrolidone carboxylic acid* atau *pyroglutamate* adalah turunan asam amino dimana gugus amino bebas dari asam glutamat siklis untuk membentuk sebuah laktam. Rumus kimia dari *pyroglutamic acid* adalah $C_5H_7NO_3$ dengan struktur kimia sebagai berikut:



Gambar 2. Struktur *Pyroglutamic Acid*

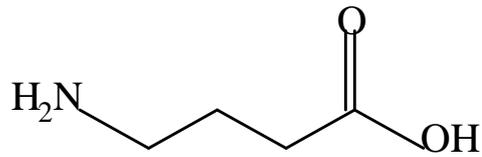
Pyroglutamic Acid (PCA) dibentuk dengan siklisasi asam glutamat atau glutamin untuk membentuk ikatan amida antara kelompok α -amino dan kelompok δ -karboksil dengan reaksi sebagai berikut:



PCA ditemukan pada protein alami dan peptida. Selain itu, PCA bisa dibentuk dengan siklisasi amino-terminal residu glutamin selama isolasi protein, proteolisis dan pemisahan peptida, dan atau sekuensing protein (Crimmins, dkk., 1988). Terbentuknya PCA ini akibat terjadinya dehidrasi MSG pada panas tinggi dan kondisi asam. Senyawa PCA dalam MSG dapat menguatkan otak terhadap stres dan meningkatkan fungsi kognitif, namun efek sampingnya dapat menyebabkan sakit kepala dan masalah pencernaan. Analisis kandungan PCA dalam MSG ini dilakukan berdasarkan Standar Operasional Prosedur (SOP) yang telah ditentukan oleh PT. Ajinomoto Indonesia dengan batas maksimum yang diizinkan yaitu 0,2 %.

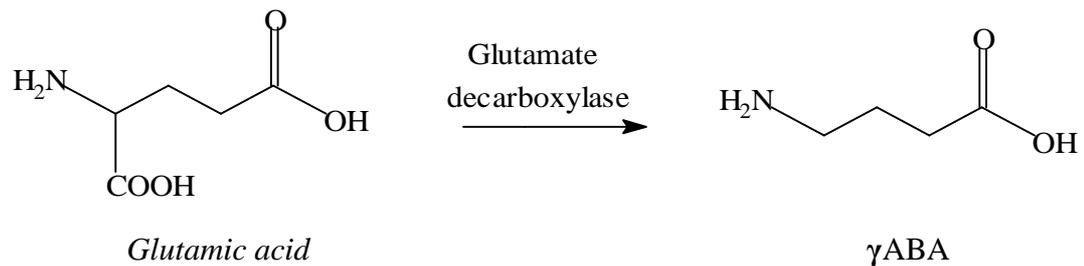
2.4 γ Amino Butyric Acid (γ ABA)

γ amino butyric acid (γ ABA) adalah asam amino yang bertindak sebagai neurotransmitter dalam sistem saraf pusat dengan rumus kimia C₄H₉NO₂ dan struktur kimia sebagai berikut:



Gambar 3. Struktur γ Amino Butryc Acid

γ ABA disintesis oleh reaksi dekarboksilase dari glutamat dengan *enzyme glutamate decarboxylase* (GAD) yang secara luas didistribusikan diantara hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme, termasuk *Lactic Acid Bacteria* (LAB) (Ueno, 2000). Produksi γ ABA di LAB bergantung pada GAD dan diinduksi ketika pH menjadi asam. Beberapa LAB mampu bertahan dalam kondisi asam kuat karena adanya GAD aktif yang memanfaatkan proton intrasellular untuk membuat tahan asam LAB. GAD terisolasi dari LAB menunjukkan pH optimum sekitar pH 4 - 5. Reaksi pembentukan γ ABA sebagai berikut:



γ ABA memiliki aktivitas neurotransmisi, antihipertensi, dan kegiatan relaksasi yang bermanfaat bagi kesehatan manusia (Wible, dkk., 1989). γ ABA penting untuk metabolisme otak, membantu dalam fungsi otak yang tepat. γ ABA dibentuk dalam tubuh dari asam amino lain yaitu asam glutamat. Fungsinya adalah untuk mengurangi aktivitas neuron dan menghambat sel-sel saraf. Terlalu banyak γ ABA dapat menyebabkan kecemasan meningkat, sesak napas, mati rasa disekitar mulut, dan kesemutan pada ekstremitas. Analisis kandungan γ ABA dalam MSG ini dilakukan berdasarkan Standar Operasional Prosedur (SOP) yang telah ditentukan oleh PT. Ajinomoto Indonesia dengan tidak diizinkan terdapat γ ABA dalam produk MSG.

2.5 Kromatografi

Kromatografi pada dasarnya adalah pemisahan komponen-komponen dalam sampel dengan cara mengalirkan sampel melewati suatu kolom. Sampel dibawa oleh fase gerak (*mobile phase*) yang dalam hal ini berupa cairan. Sementara kolom berisi suatu bahan yang disebut fase diam (*stationary phase*) yang berfungsi memisahkan komponen sampel. Kromatografi terdiri dari empat jenis yaitu kromatografi adsorpsi, kromatografi partisi, kromatografi penukar ion, dan kromatografi eksklusi.

2.5.1 Kromatografi Adsorpsi

Pemisahan kromatografi adsorpsi biasanya menggunakan fase normal dengan menggunakan fase diam silika gel dan alumina, meskipun demikian sekitar 90 % kromatografi ini memakai silika gel sebagai fase diamnya. Pada silika dan alumina terdapat gugus hidroksi yang akan berinteraksi dengan solut. Gugus silanol pada silika mempunyai reaktifitas yang berbeda, karenanya solut dapat terikat secara kuat sehingga dapat menyebabkan puncak yang berekor (*tailling*). Fase gerak yang digunakan untuk fase diam silika atau alumina berupa pelarut non polar yang ditambah dengan pelarut polar seperti air atau alkohol rantai pendek untuk meningkatkan kemampuan elusinya sehingga tidak timbul pengekor puncak, misalnya n-heksan ditambah dengan metanol (Rohman, 2007).

2.5.2 Kromatografi Partisi

Tenik ini tergantung pada partisi larutan diantara dua pelarut yang tidak dapat bercampur, salah satu diantaranya bertindak sebagai fase diam dan yang lainnya sebagai fase gerak (Putra, 2007). Pada keadaan awal dari kromatografi cair (LSC), fase diamnya dibuat dengan cara yang sama seperti pendukung pada kromatografi gas (GC). Fase diam (polar atau nonpolar) dilapisi pada suatu pendukung inert dan dimasukkan ke dalam sebuah kolom kemudian fase gerak dilewatkan melalui kolom. Bentuk kromatografi partisi ini disebut kromatografi cair cair (LCC).

2.5.3 Kromatografi Penukar Ion

KCKT penukar ion menggunakan fase diam yang dapat menukar kation atau anion dengan suatu fase gerak. Ada banyak penukar ion yang beredar dipasaran, meskipun demikian yang paling luas penggunaannya adalah polistiren resin. Kebanyakan pemisahan kromatografi ion dilakukan dengan menggunakan media air karena sifat ionisasinya. Dalam beberapa hal digunakan pelarut campuran misalnya air-alkohol dan juga pelarut organik. Kromatografi penukar ion dengan fase gerak air, retensi puncak dipengaruhi oleh kadar garam total atau kekuatan ionik serta oleh pH fase gerak. Kenaikan kadar garam dalam fase gerak menurunkan retensi solut. Hal ini disebabkan oleh penurunan kemampuan ion sampel bersaing dengan ion fase gerak untuk gugus penukar ion pada resin (Rohman, 2007).

2.5.4 Kromatografi Eksklusi

Fase diam yang digunakan dapat berupa silika atau polimer yang bersifat porus sehingga solut dapat melewati porus (lewat diantara partikel), atau berdifusi lewat fase diam. Molekul solut yang mempunyai berat molekul yang jauh lebih besar, akan terelusi lebih dahulu, kemudian molekul-molekul yang ukuran medium dan terakhir adalah molekul yang jauh lebih kecil. Hal ini disebabkan solut dengan berat molekul yang besar tidak melewati poros, akan tetapi lewat diantara partikel fase diam. Dengan demikian dalam pemisahan dengan eksklusi ukuran ini terjadi interaksi kimia antara solut dan fase diam seperti kromatografi yang lain (Rohman, 2007).

2.6 Teknik Pemisahan Kromatografi

Teknik pemisahan kromatografi terdiri dari beberapa teknik diantaranya:

a. Kromatografi Kertas

Mekanisme pemisahan dengan kromatografi kertas prinsipnya sama dengan mekanisme pada kromatografi kolom. Adsorben dalam kromatografi kertas adalah kertas saring, yakni selulosa. Sampel yang akan dianalisis ditotolkan ke ujung kertas yang kemudian digantung dalam wadah, kemudian dasar kertas

saring dicelupkan kedalam pelarut yang mengisi dasar wadah. Air, etanol, asam asetat atau campuran zat-zat ini dapat digunakan sebagai pelarut. Kromatografi kertas diterapkan untuk analisis campuran asam amino.

b. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan salah satu analisis kualitatif dari suatu sampel yang ingin dideteksi dengan memisahkan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran. Prinsip kerjanya memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan. Teknik ini biasanya menggunakan fase diam dari bentuk plat silika dan fase geraknya disesuaikan dengan jenis sampel yang dipisahkan (Skoog, dkk., 1996).

c. Kromatografi Kolom

Pelarut (fase gerak) dibiarkan mengalir melalui kolom karena aliran yang disebabkan oleh gaya berat atau didorong dengan tekanan. Pita, senyawa linarut bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah dan dikumpulkan berupa fraksi ketika keluar dari alas kolom (Roy, dkk., 1991). Kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam jumlah yang banyak berdasarkan adsorpsi dan partisi. Kemasan adsorben yang sering digunakan adalah silika gel G-60, kieselgur, dan Al_2O_3 .

d. Kromatografi Gas (GC)

Kromatografi Gas adalah teknik pemisahan dari campuran zat yang menguap ke dalam aliran gas pembawa yang mengalir melewati kolom dan dipisahkan, hasil pemisahan keluar dari kolom untuk dideteksi pada rekorder. Waktu yang diperoleh dari masing-masing komponen yang timbul menunjukkan waktu retensi dengan luas area yang dihasilkan sebanding jumlah yang terkandung, adanya parameter ini kromatografi gas dapat menetapkan kualitatif dan kuantitatif. Metode ini sangat baik untuk analisis senyawa organik yang mudah menguap seperti hidrokarbon dan ester.

e. **Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)**

Ciri teknik ini adalah penggunaan tekanan tinggi untuk mengirin fase gerak ke dalam kolom dengan memberikan tekanan tinggi, laju dan efisiensi pemisahan dapat ditingkatkan dengan besar (Veronika, 1999). Kegunaan umum KCKT yaitu untuk analisis senyawa-senyawa yang tidak mudah menguap misalnya analisis kadar asam-asam amino, asam-asam nukleat, senyawa aktif obat, dan lain-lain.

2.7 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. Hal ini karena didukung oleh kemajuan dalam teknologi kolom, sistem pompa tekanan tinggi, dan detektor yang sangat sensitif dan beragam. KCKT mampu menganalisa berbagai cuplikan secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal maupun campuran (Ditjen POM, 1995).

Pemisahan dengan KCKT dapat dilakukan baik pada fase normal atau fase terbalik menggunakan fase diam silika atau silika fase terikat. Namun, kebanyakan KCKT menggunakan fase terbalik untuk analisis solut. KCKT fase terbalik menggunakan pelarut yang kurang toksik (air dan pelarut-pelarut yang dapat campur dengan air) sehingga mengurangi polusi lingkungan (Rohman, 2007).

2.7.1 Prinsip Kerja KCKT

Prinsip kerja KCKT adalah dengan bantuan pompa fase gerak cair dialirkan melalui kolom ke detektor. Cuplikan dimasukkan ke dalam aliran fase gerak dengan cara penyuntikan. Pemisahan komponen-komponen campuran yang terjadi di dalam kolom karena perbedaan kekuatan interaksi antara solut-solut terhadap fase diam (Hendayana, 2006).

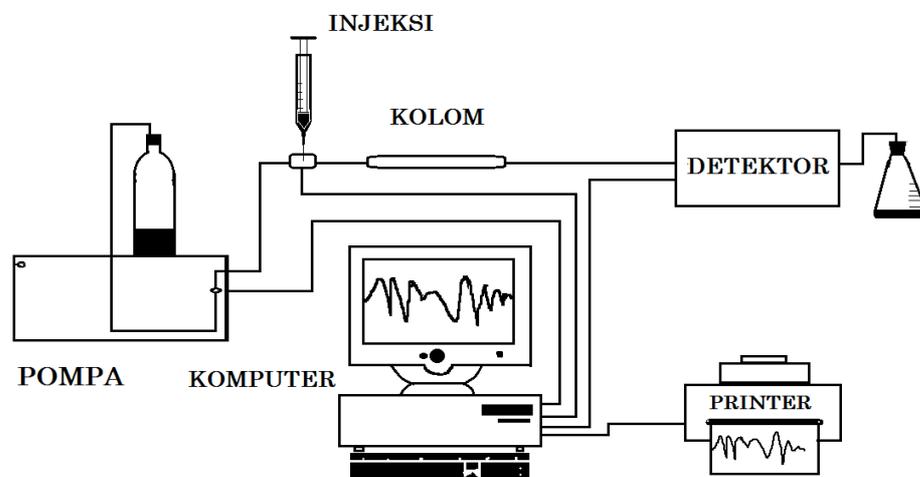
2.7.2 Kelebihan KCKT

Instrumen KCKT memiliki kelebihan untuk analisis, kelebihan KCKT antara lain :

1. Dapat dilaksanakan pada suhu kamar.
2. Detektor KCKT dapat bervariasi.
3. Pelarut pengembang yang dapat dipakai berulang kali, demikian juga dengan kolomnya.
4. Ketepatan dan ketelitiannya yang relatif tinggi (Mulja, 1995).

Keterbatasan metode KCKT adalah untuk identifikasi senyawa, kecuali jika KCKT dihubungkan dengan spektrometer massa (MS). Keterbatasan lainnya adalah jika sampelnya sangat kompleks, maka resolusi yang baik sulit diperoleh (Munson, 1991).

2.7.3 Instrumentasi KCKT



Gambar 4. Diagram Alat KCKT

(Sumber : Hendayana, 2006)

Keterangan :

1. Fase Gerak

Fase gerak KCKT adalah berupa zat cair dan disebut juga eluen atau pelarut. Fase gerak berfungsi membawa komponen-komponen campuran menuju

detektor dan dapat berinteraksi dengan solut-solut. Persyaratan fase gerak untuk KCKT antara lain :

- a. Zat cair harus bertindak sebagai pelarut yang baik untuk cuplikan yang akan dianalisa.
- b. Zat cair harus murni sekali untuk menghindarkan masuknya kotoran yang dapat mengganggu interpretasi kromatogram.
- c. Zat cair harus jernih sekali untuk menghindarkan penyumbatan pada kolom.
- d. Zat cair harus mudah diperoleh, murah, tidak mudah terbakar, dan tidak beracun.
- e. Zat cair tidak kental dan sesuai dengan detektor (Hendayana, 2006).

2. Pompa

Pompa berfungsi untuk mengalirkan fase gerak cair melalui kolom yang berisi serbuk halus. Pompa yang dapat digunakan dalam KCKT harus memenuhi persyaratan menghasilkan tekanan sampai 600 psi (pons/in^2), keluaran bebas pulsa, kecepatan alir berkisar antara 0,1 – 10 mL/menit, dan bahan tahan korosi (Hendayana, 2006).

3. Injektor

Injektor merupakan tempat untuk memasukkkan sampel ke kolom. Waktu yang dibutuhkan oleh senyawa untuk bergerak melalui kolom menuju detektor disebut sebagai waktu retensi. Waktu retensi diukur berdasarkan waktu dimana sampel diinjeksikan sampai sampel menunjukkan ketinggian puncak yang maksimum dari senyawa itu.

4. Kolom

Kolom merupakan bagian yang sangat penting sebab separasi komponen-komponen sampel akan terjadi di dalam kolom. Oleh sebab itu harus diperhatikan dengan seksama tiga hal berikut:

- a. Pemilihan kolom yang sesuai.
- b. Pemeliharaan kolom.
- c. Uji terhadap spesifikasi kolom (walaupun kolom tersebut merupakan kolom yang siap pakai) (Mulja, 1995).

5. Detektor

Suatu detektor dibutuhkan untuk mendeteksi adanya komponen sampel dalam aliran yang keluar dari kolom. Detektor yang digunakan harus memenuhi persyaratan cukup sensitif, stabilitas dan keterulangan tinggi, respon linear terhadap solut, waktu respon pendek sehingga tidak bergantung kecepatan alir, realibilitas tinggi dan mudah digunakan, serta tidak merusak cuplikan. Detektor pada KCKT ada 4 macam antara lain :

a. Detektor UV

Prinsip kerja detektor ini adalah spektrofotometri absorpsi. Sampel yang dianalisis harus menyerap sinar UV. Detektor ini sifatnya spesifik, artinya hanya dapat digunakan untuk zat-zat yang menyerap sinar UV. Panjang gelombang sinar UV yang biasa digunakan adalah 254 nm. Detektor ini biasanya digunakan untuk analisis senyawa dalam obat-obatan.

b. Detektor Fluoresensi

Prinsip kerja detektor ini sampel dikenai sinar UV yang sesuai, maka zat ini akan berfluoresensi. Sinar yang dipancarkannya ditangkap dengan phototube. Intensitas sinar Fluoresensi ini akan sebanding dengan kadar sampel yang diamati. Detektor ini lebih sensitif daripada detektor UV. Pemakaian sumber sinar laser akan memberikan sensitivitas yang sangat tinggi. Untuk zat yang tidak berfluoresensi dapat dilakukan derivitisasi yang menghasilkan zat yang dapat berfluoresensi. Derivatisasi sering dilakukan terhadap asam amino.

c. Detektor Indeks Refraktif

Detektor ini bekerja atas dasar perbedaan indeks refraktif sampel dengan solvent. Semua larutan suatu zat mempunyai indeks bias yang spesifik, oleh karena itu detektor ini dapat digunakan untuk hampir semua zat. Detektor ini biasanya digunakan untuk analisis karbohidrat.

d. Detektor Konduktivitas

Detektor jenis konduktivitas biasanya digunakan untuk mendeteksi solut-solut yang berupa sampel ion, contoh kation: K^+ , Ca^+ , Na^+ , dan

lain - lain, sedangkan anion seperti SO_4^{2-} , NO_3^- , dan lain - lain, umumnya yang terdapat pada cairan infus.

6. Perekam data

Berfungsi untuk merekam hasil pengukuran dalam bentuk kromatogram dan data analisis.

Analisis kuantitatif γ ABA dan PCA dengan KCKT menggunakan metode regresi yaitu dengan menggunakan persamaan garis regresi yang didasarkan pada nilai luas area dan konsentrasi standar yang dibuat dalam berbagai konsentrasi, kemudian diplot menghasilkan suatu kurva yang disebut dengan kurva kalibrasi. Konsentrasi kandungan γ ABA dan PCA dapat dihitung berdasarkan kurva tersebut dengan persamaan regresi seperti berikut:

$$y = Ax + B$$

Keterangan :

A : Slope

B : Intersep

Y : Luas area sampel

x : Konsentrasi γ ABA & PCA (ppm)

BAB III

METODOLOGI

Analisis γ ABA dan PCA menggunakan bermacam-macam bahan kimia dan peralatan laboratorium.

3.1 Bahan

No.	Bahan	Industri
1.	Etanol pa.	<i>Merck</i>
2.	H ₃ PO ₄ pa.	<i>Merck</i>
3.	HCl pa.	<i>Merck</i>
4.	Aseton pa.	<i>Merck</i>
5.	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	<i>Merck</i>
6.	NaOH pa.	<i>Merck</i>
7.	NaOH 40 %	<i>Merck</i>
8.	<i>L-Pyrro Glutamic Acid</i>	<i>TCI</i>
9.	CH ₃ C ₆ H ₄ SO ₃ Na	<i>Trade Mark</i>
10.	H ₃ BO ₃	<i>Riedel-de Haen</i>
11.	OPA (C ₈ H ₆ O ₂)	<i>Fluka Chemika</i>
12.	<i>N-Acetyl-L-Cysteine</i> (C ₅ H ₉ NO ₃ S)	<i>Sigma Aldrich</i>
13.	<i>Gama Amino Butryc Acid</i>	<i>AWK 3953</i>
14.	Karbon aktif	
15.	Kertas saring Whatman 42	
16.	Akuades	

3.2 Alat

1. Neraca *Mettler Toledo MS*
2. Peralatan gelas laboratorium *Pyrex*
3. Stirer *R-Labinco L-46*
4. Dispenser *Calibrex 520*
5. pH meter *TOA-DKK HM 30R*
6. Seperangkat alat KCKT *Perkin Elmer series 200*

3.3 Prosedur

3.3.1 Penentuan γ ABA dalam produk MSG

3.3.1.1 Pembuatan Eluen

Sebanyak 1,0 g natrium dihidrogen fosfat, 2,5 g *p-toluene sulfonic acid sodium salt*, dan 10 mL etanol dimasukkan dalam labu takar 500 mL kemudian dilarutkan dengan 300 mL akuades dan dihomogenkan. Larutan ditambahkan akuades hingga tanda batas dan digojog kembali. Larutan ditempatkan pada pH meter, diatur pH-nya hingga 3,9 dan difiltrasi menggunakan kertas saring whatman 0,45 μ m.

3.3.1.2 Pembuatan Larutan Pewarna

Sebanyak 9,3 g asam borat dan 6,1 g NaOH dimasukkan dalam labu takar 500 mL kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan digojog hingga homogen (Larutan I).

Sebanyak 0,1 g OPA ditambahkan 3 mL etanol dan diaduk hingga homogen. Ditambahkan 1,0 g N-Ac-L-Cys, kemudian larutan ini dituangkan ke dalam Larutan I. Larutan dihomogenkan kemudian difiltrasi menggunakan kertas saring whatman 0,45 μ m.

3.3.1.3 Pembuatan Larutan Induk γ ABA 2000 ppm

Sebanyak 200 mg γ ABA dilarutkan dengan 50 mL akuades kemudian diaduk hingga homogen. Larutan ditambahkan akuades hingga tanda batas dan digojog. Difiltrasi menggunakan kertas saring whatman 0,45 μ m.

3.3.1.4 Pembuatan Larutan Standar γ ABA

Sebanyak 5 mL larutan induk γ ABA 2000 ppm dimasukkan dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades hingga tanda batas, digojog hingga homogen. Larutan diambil 1 mL, 2 mL, dan 3 mL kemudian masing-masing dimasukkan dalam labu takar 100 mL untuk membuat larutan standar 1 ppm, 2 ppm, dan 3 ppm. Larutan ditambahkan \pm 50 mL akuades kemudian digojog hingga homogen. Larutan ditempatkan pada pH meter kemudian diatur pH - nya

3,2 menggunakan larutan HCl 1:1 atau NaOH 40%. Larutan didiamkan selama 1 - 1,5 jam, ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan digojog kemudian difiltrasi menggunakan whatman 42 rangkap.

3.3.1.5 Preparasi Sampel

Sebanyak 10 g sampel MSG dilarutkan dengan \pm 50 mL akuades dalam labu takar 100 mL kemudian diaduk hingga homogen. Larutan ditempatkan pada pH meter kemudian diatur pH - nya 3,2 menggunakan larutan HCl 1:1 atau NaOH 40%. Larutan didiamkan selama 1 - 1,5 jam, ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan digojog kemudian difiltrasi menggunakan whatman 42 rangkap.

Sampel yang telah siap dipipet 5 mL diencerkan menjadi 100 mL, digojog hingga homogen. Larutan diencerkan kembali dengan diambil 5 mL ditambahkan akuades hingga 50 mL kemudian digojog hingga homogen.

3.3.1.6 Penentuan γ ABA dengan KCKT

Larutan standar γ ABA 1 ppm, 2 ppm, dan 3 ppm serta sampel yang telah siap masing-masing diinjeksikan ke kolom KCKT dengan volume 20 μ L, sehingga diperoleh data waktu retensi dan luas area.

3.3.2 Penentuan PCA dalam produk MSG

3.3.2.1 Pembuatan Larutan Asam Fosfat 1%

Sebanyak 5 mL asam fosfat dimasukkan dalam labu takar 500 mL, ditambahkan akuades hingga tanda batas. Larutan difiltrasi 0,45 μ m dan dihilangkan gelembung udaranya.

3.3.2.2 Pembuatan Larutan Induk *L-Pyrro Glutamic Acid* 2000 ppm

Sebanyak 0,2 g *L-Pyrro Glutamic Acid* dilarutkan dengan \pm 50 mL akuades dan ditambahkan 5 mL HCl. Larutan dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL. Ditambahkan akuades hingga tanda batas, kemudian digojog hingga homogen.

3.3.2.3 Pembuatan Larutan Standar *L-Pyrro Glutamic Acid*

Sebanyak 25 mL larutan induk *L-Pyrro Glutamic Acid* 2000 ppm dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, ditambahkan 5 mL HCl dan akuades hingga tanda batas. Digojog hingga homogen.

Larutan tersebut dipipet 1 mL, 2 mL, 4 mL, dan 8 mL. Masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL. Ditambahkan 5 mL HCl, 6 mL aseton dan akuades hingga tanda batas. Larutan digojog hingga homogen, kemudian disaring menggunakan kertas saring whatman 42 yang telah ditambahkan \pm 1 g karbon aktif. Larutan siap digunakan.

3.3.2.4 Preparasi Sampel

Sebanyak 10 g sampel MSG dimasukkan dalam labu takar 100 mL, ditambahkan \pm 50 mL akuades kemudian diaduk hingga homogen. Ditambahkan 10 mL HCl dan akuades hingga tanda batas, kemudian digojog hingga homogen. Larutan dipipet sebanyak 25 mL dimasukkan dalam labu takar 50 mL, ditambahkan 2,5 mL HCl, 3 mL aseton dan akuades hingga tanda batas. Larutan digojog hingga homogen dan difiltrasi dengan penambahan karbon aktif di atas kertas saring. Larutan siap digunakan.

3.3.2.5 Penentuan PCA dengan KCKT

Larutan standar *L-Pyrro Glutamic Acid* 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 40 ppm serta sampel yang telah siap masing-masing diinjeksikan ke kolom KCKT dengan volume 20 μ L, sehingga diperoleh data waktu retensi dan luas area.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

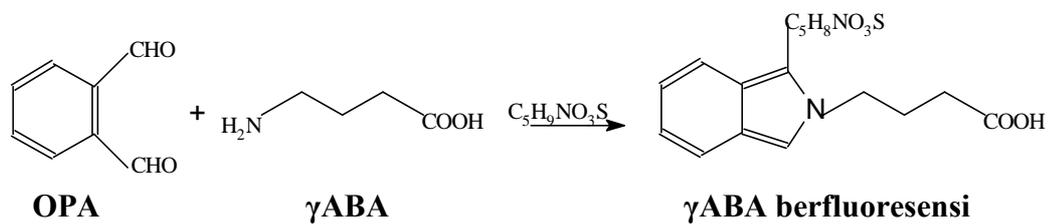
Kandungan senyawa dalam suatu produk harus diketahui secara pasti maka dilakukannya analisis terhadap suatu produk dengan metode yang sesuai. Produk MSG di PT. Ajinomoto Indonesia terdiri dari berbagai macam ukuran antara lain :

- LC : Large Crystal yaitu kristal MSG yang lolos 30 mesh.
- RC : Regular Crystal yaitu kristal MSG yang lolos 40 mesh.
- FC : Fine Crystal yaitu kristal MSG yang lolos 100 mesh.

Perbedaan ukuran ini berarti berbeda juga proses dalam produksinya. Oleh karena itu, setiap produk harus diuji supaya terjamin kualitasnya. Praktik Kerja Lapangan ini dilakukan analisis γ ABA dan PCA pada produk MSG.

4.1. Analisis γ ABA Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Prinsip penentuan γ ABA dengan KCKT yaitu dengan memanfaatkan reaksi prakolom gugus amino dengan pereaksi o-ftalaldehida (OPA) sehingga akan membentuk suatu derivat asam amino yang dapat mengalami fluoresensi. OPA akan bereaksi dengan asam amino didalam suasana basa membentuk senyawa yang dapat berfluoresensi sehingga deteksinya menggunakan detektor fluoresensi. Reaksi yang terjadi sebagai berikut:



Gambar 5. Reaksi γ ABA dengan OPA

(Sumber : Rediatning, Kartini, 1987)

Teknik analisis γ ABA yang sangat baik adalah menggunakan teknik analisis KCKT salah satunya dengan kromatografi partisi, yaitu jenis kromatografi

yang pemisahannya didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran. Fasa diam yang digunakan adalah kolom silika yang bersifat polar dan fasa gerakanya bersifat non polar. Jenis pemisahan ini disebut dengan kromatografi fasa normal. Senyawa yang non polar akan keluar terlebih dahulu sehingga memiliki waktu retensi yang relatif kecil sedangkan senyawa polar akan ditahan lebih lama oleh fasa diamnya.

Sistem pemisahan yang digunakan adalah sistem kromatografi dengan elusi isokratik yang berarti selama proses pemisahan komposisi fasa gerakanya tidak berubah sampai sampel terelusi dari kolom. Hal ini bertujuan untuk memperoleh hasil pemisahan yang baik. Eluen yang digunakan untuk pemisahan adalah eluen campuran dari $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$, $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$, dan etanol yang dilarutkan dalam akuades sehingga bersifat sedikit polar. Kolom kromatografi yang digunakan dengan bahan pengisi kolom silika sebagai fasa diamnya yang bersifat polar.

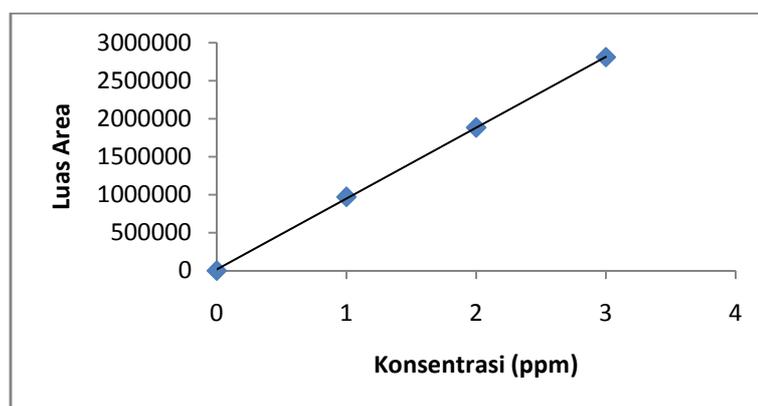
Pendeteksian adanya senyawa γ ABA menggunakan detektor fluoresensi sehingga memerlukan larutan pewarna yaitu OPA. Pereaksi OPA akan bereaksi dengan γ ABA dalam suasana basa dan dapat berikatan dengan gugus NH_2 apabila ditambahkan *N-acetyl-L-cysteine*.

Penentuan kandungan γ ABA ini menggunakan metode kurva kalibrasi maka larutan standar γ ABA dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu 1 ppm, 2 ppm, dan 3 ppm. Larutan standar dan sampel yang dianalisa dilakukan preparasi terlebih dahulu dengan mengatur pH-nya menjadi 3,2 karena pH tersebut merupakan titik isoelektrik pertumbuhan γ ABA. Larutan tersebut kemudian dilakukan pendiaman selama 1,5 jam yang bertujuan untuk proses pengasaman sehingga γ ABA akan pecah dari ikatan molekulnya. Hasil setelah pendiaman larutan berubah warna menjadi kuning keemasan yang menandakan molekul telah pecah sehingga membentuk kristal MSG yang berarti kandungan asam glutamat dalam sampel tinggi. Sampel dan larutan standar difiltrasi $0,45 \mu\text{m}$ supaya tidak terdapat zat pengotor yang menyumbat kolom saat proses pemisahan. Hasil pengukuran larutan standar γ ABA dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Larutan Standar γ ABA

Konsentrasi (ppm)	Luas Area
0	0
1,0	970269,42
2,0	1881370,50
3,0	2806473,00

Hasil pengukuran larutan standar tersebut puncak γ ABA muncul pada waktu retensi 4,150. Waktu retensi merupakan waktu yang dibutuhkan oleh senyawa untuk bergerak melalui kolom menuju detektor. Waktu retensi diukur berdasarkan waktu ketika sampel diinjeksikan sampai sampel menunjukkan ketinggian puncak yang maksimum dari senyawa itu. Hubungan antara luas area versus konsentrasi tersebut dapat dibuat kurva seperti gambar 6.

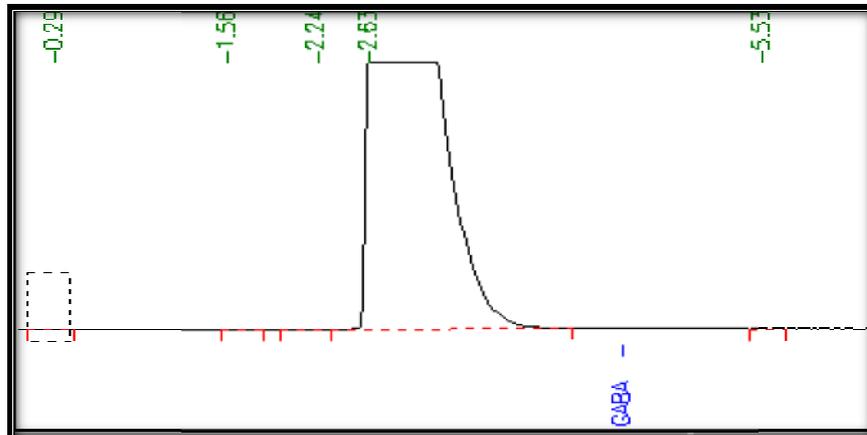


Gambar 6. Kurva Kalibrasi Larutan Standar γ ABA

Gambar 6 adalah kurva kalibrasi larutan standar γ ABA, dari kurva tersebut menunjukkan bahwa hubungan antara luas area dengan konsentrasi berbanding lurus yang berarti semakin besar konsentrasi larutan γ ABA maka semakin besar juga luas areanya. Hasil dari kurva diperoleh persamaan garis linear $y = 933052x + 14950$ dengan slope 933052, sedangkan intersep 14950 dan koefisien korelasi sebesar 0,9998. Analisis γ ABA dalam produk MSG telah dilakukan dengan baik dan teliti sehingga hasil yang diperoleh akurat.

Tahapan selanjutnya dilakukan pengukuran luas area pada masing-masing sampel sehingga dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi γ ABA dalam

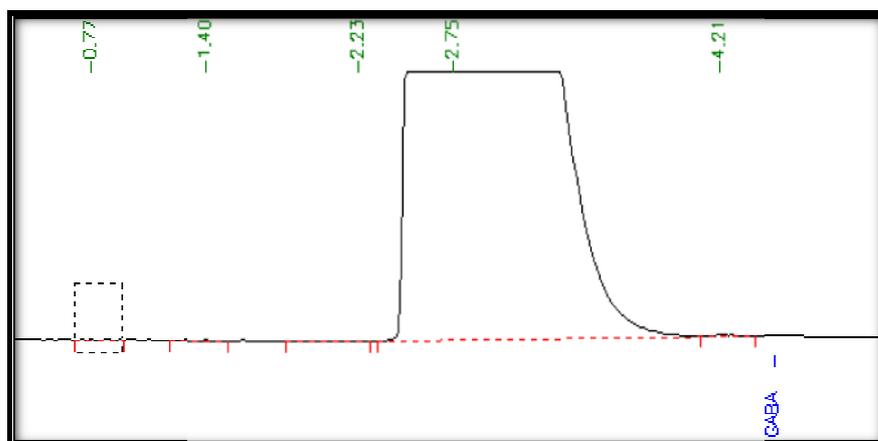
MSG. Hasil pengukuran sampel berbeda-beda yang dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 7. Hasil Kromatogram γ ABA pada MSG kode sampel LC

Gambar 7 merupakan hasil analisis MSG dengan kode sampel LC yang menunjukkan bahwa puncak dari γ ABA pada waktu retensi 4,3 tidak muncul yang berarti γ ABA tidak terdapat dalam produk MSG. Puncak yang muncul pada waktu retensi 2,63 dari kromatogram tersebut menunjukkan asam glutamat karena senyawa utama yang terkandung dalam MSG yaitu asam glutamat sehingga konsentrasi asam glutamat dalam MSG tinggi yang menyebabkan puncaknya tumpul.

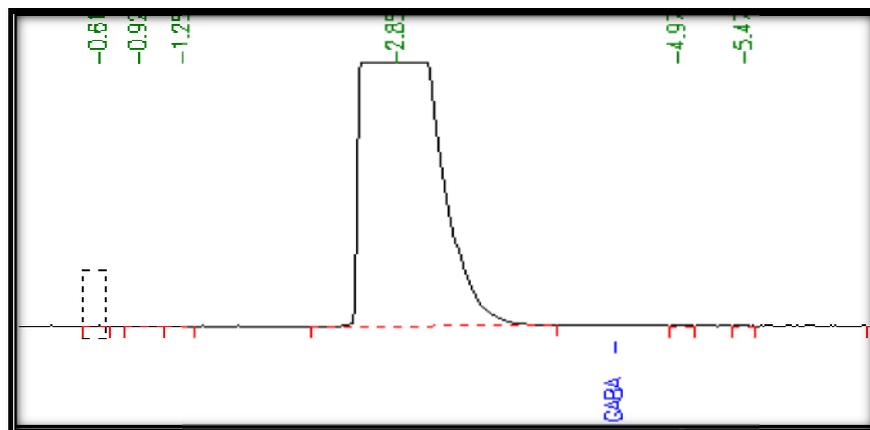
Sampel yang selanjutnya dianalisis yaitu MSG kode sampel RC dengan hasil kromatogram seperti gambar 8.



Gambar 8. Hasil Kromatogram γ ABA pada MSG kode sampel RC

Gambar 8 merupakan hasil analisis MSG dengan kode sampel RC yang menunjukkan bahwa γ ABA tidak terdapat dalam produk yang ditunjukkan dengan tidak munculnya puncak dari γ ABA pada waktu retensi 4,3. Sedangkan puncak yang muncul pada waktu retensi 2,6 menunjukkan asam glutamat karena merupakan senyawa utama yang terkandung dalam MSG, untuk memperoleh puncak yang baik maka MSG perlu diencerkan.

Selanjutnya dilakukan analisis pada MSG dengan kode sampel FC yang diperoleh hasil seperti gambar 9.



Gambar 9. Hasil Kromatogram γ ABA pada MSG kode sampel FC

Hasil gambar 9 tersebut menunjukkan bahwa γ ABA tidak terdapat dalam produk yang ditunjukkan dengan tidak munculnya puncak dari γ ABA pada waktu retensi 4,3. Puncak yang muncul pada waktu retensi 2,8 menunjukkan asam glutamat karena senyawa utama yang terkandung dalam MSG dengan konsentrasi yang tinggi, sehingga untuk memperoleh kromatogram yang baik dalam analisis γ ABA perlu dilakukan pengenceran.

Hasil kromatogram ketiga sampel menunjukkan bahwa pada waktu retensi 4,3 puncak γ ABA tidak muncul yang berarti sampel tidak mengandung γ ABA. Hasil tersebut memenuhi standar yang ditetapkan oleh PT. Ajinomoto Indonesia yaitu tidak boleh ada dalam produk MSG. Senyawa γ ABA ini tidak dikehendaki dalam MSG karena menyebabkan kecemasan meningkat dan kesemutan. Hasil analisis yang diperoleh maka produk MSG PT. Ajinomoto Indonesia layak untuk dipasarkan dan dikonsumsi oleh masyarakat.

4.1. Analisis PCA Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

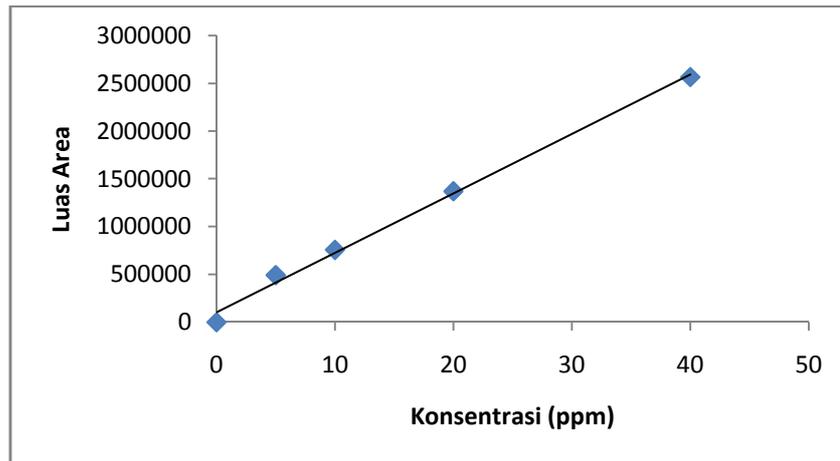
Prinsip penentuan PCA dengan KCKT berdasarkan perbedaan kepolaran analit dengan menggunakan fase terbalik yaitu fase gerak polar dan fase diam non polar. Fase gerak atau eluen yang digunakan yaitu larutan asam fosfat 1 %, sedangkan fase diamnya menggunakan kolom yang berisi *Octa Decyl Silane* (ODS). Penentuan PCA ini juga menggunakan kurva kalibrasi sehingga larutan standar *L-Pyroglutamic Acid* dibuat dengan berbagai konsentrasi yaitu 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, dan 40 ppm sehingga hasil luas area yang diperoleh dapat digunakan untuk membuat kurva kalibrasi standar.

Pembuatan larutan *L-Pyroglutamic Acid* dan preparasi sampel menggunakan pelarut aseton pa. dan HCl pa. sehingga dapat larut sempurna. Kedua larutan ini difiltrasi menggunakan kertas saring whatman 42 supaya tidak ada zat yang menyumbat dalam kolom. Saat filtrasi digunakan juga karbon aktif yang bertujuan untuk menyerap warna dan kotoran dalam larutan. Larutan standar dan sampel diinjeksikan ke kolom secara bergantian sebanyak 20 μ L, saat injeksi tidak boleh ada gelembung udaranya yang dapat mengakibatkan hasil kromatogramnya tidak baik. Pemisahan ini dilakukan pada suhu kolom 40°C, suhu sangat penting supaya *real time*-nya dapat stabil. Larutan standar dan sampel yang telah berinteraksi dan keluar dari kolom terdeteksi oleh detektor. Detektor yang digunakan pada analisis ini adalah detektor UV. Detektor UV digunakan untuk senyawa yang mempunyai respon terhadap sinar UV, yaitu karena adanya gugus kromofor pada analit dan senyawa PCA ini merupakan senyawa organik yang memiliki gugus kromofor. Hasil pengukuran larutan standar PCA dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis Larutan Standar PCA

Konsentrasi (ppm)	Luas Area
0	0
5	491941,50
10	756360,00
20	1369423,50
40	2563611,00

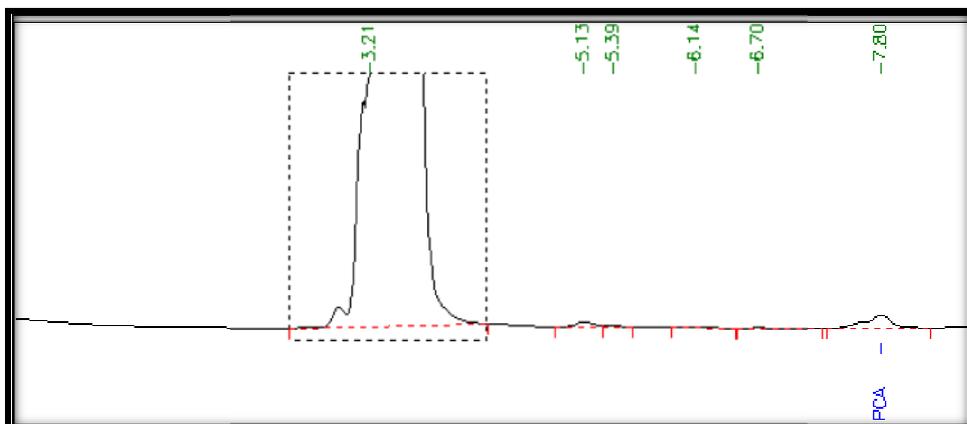
Hasil pengukuran larutan standar tersebut puncak PCA muncul pada waktu retensi 7,810. Hasil tersebut dapat dilihat bahwa luas area berbanding lurus dengan konsentrasi larutan yaitu semakin tinggi konsentrasi larutan standar maka semakin besar juga luas areanya. Hubungan antara luas area versus konsentrasi tersebut dapat dibuat kurva seperti gambar 10.



Gambar 10. Kurva Kalibrasi Larutan Standar PCA

Pada gambar 10 karena konsentrasi dan luas area berbanding lurus maka dapat dibuat persamaan garis linear dan diperoleh $y = 62236x + 102725$ dengan slope 62236, intersep 102725 dan koefisien korelasi sebesar 0,9951. Hasil ini berarti analisis telah dilakukan dengan baik dan teliti sehingga hasil yang diperoleh akurat.

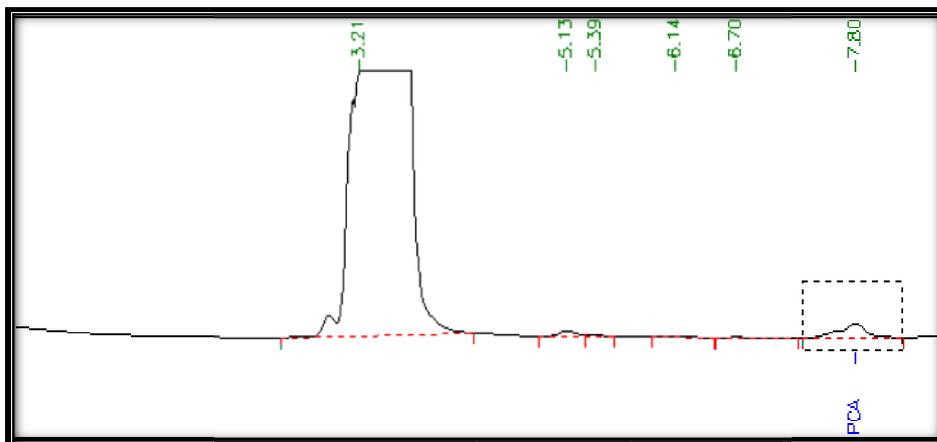
Tahapan selanjutnya dilakukan pengukuran pada masing-masing sampel, hasil pengukuran pada sampel ditunjukkan oleh gambar berikut:



Gambar 11. Hasil Kromatogram PCA pada MSG kode sampel LC

Gambar 11 menunjukkan bahwa pada waktu retensi 3,21 terbentuk puncak dari asam glutamat karena merupakan komponen utama dalam MSG, sedangkan senyawa PCA terdeteksi pada waktu retensi 7,803 dengan luas area 831072, sehingga dapat diketahui konsentrasi PCA dalam produk MSG dengan kode sampel LC sebesar 0,02 %.

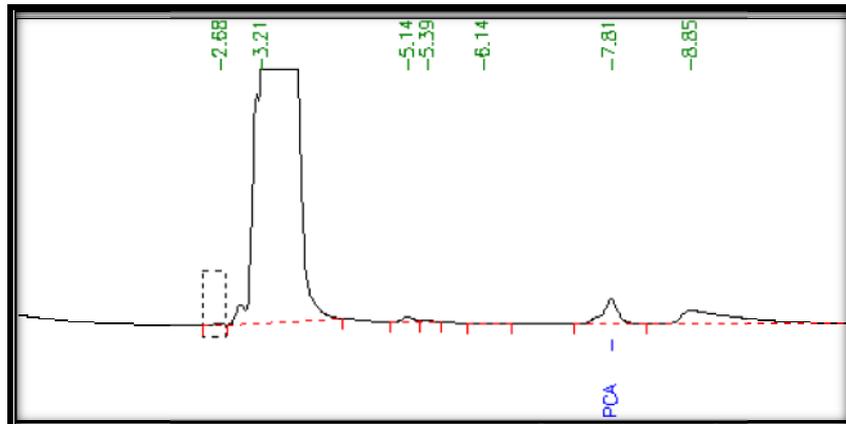
Sampel yang selanjutnya dianalisis yaitu MSG kode sampel RC dengan hasil kromatogram seperti gambar 12.



Gambar 12. Hasil Kromatogram PCA pada MSG kode sampel RC

Hasil kromatogram gambar 12 menunjukkan bahwa senyawa PCA terdeteksi pada waktu retensi 7,803 dengan luas area 831072, sehingga diperoleh konsentrasi PCA dalam produk MSG dengan kode sampel LC sebesar 0,02 %. Sedangkan pada waktu retensi 3,21 terbentuk puncak tumpul yang menunjukkan asam glutamat. Kromatogram ini tumpul karena konsentrasi asam glutamat dalam MSG tinggi sehingga untuk memperoleh kromatogram yang baik diperlukan pengenceran, namun apabila diencerkan senyawa PCA tidak dapat terdeteksi.

Selanjutnya dilakukan analisis sampel MSG FC dengan hasil kromatogram seperti gambar 13.



Gambar 13. Hasil Kromatogram PCA pada MSG kode sampel FC

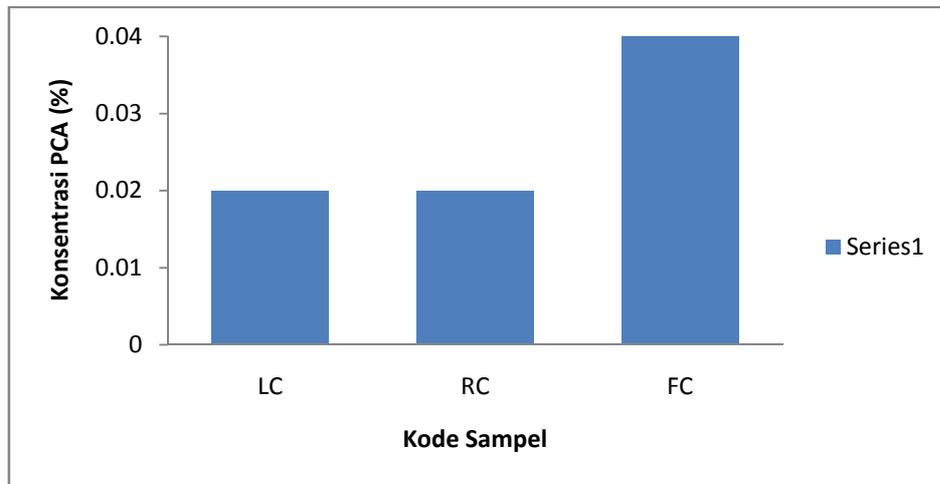
Gambar 13 menunjukkan bahwa pada waktu retensi 3,21 muncul puncak dari asam glutamat karena merupakan komponen utama dari MSG sehingga konsentrasinya tinggi yang menyebabkan puncaknya tidak runcing. Sedangkan senyawa PCA terdeteksi pada waktu retensi 7,809 dengan luas area 1387242,58 sehingga konsentrasi PCA dalam MSG dengan kode sampel FC sebesar 0,04 %.

Hasil ketiga kromatogram dapat dilihat bahwa senyawa PCA terpisah dengan waktu retensi dan luas area yang berbeda-beda. Hasil pengukuran PCA dalam masing-masing sampel dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengukuran PCA pada Sampel MSG

Kode Sampel	Waktu Retensi	Luas Area	Konsentrasi PCA (%)
LC	7,803	831072,00	0,02 %
RC	7,803	831072,00	0,02 %
FC	7,809	1387242,58	0,04 %

Hasil tersebut dapat dibuat grafik batang hubungan antara konsentrasi PCA dengan kode sampel sehingga dapat lebih jelas mengetahui perbedaan kandungan PCA dalam sampel sesuai gambar 14.



Gambar 14. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi PCA Versus Kode Sampel

Gambar 14 menunjukkan bahwa konsentrasi PCA pada ketiga sampel berbeda-beda. Konsentrasi PCA pada kode sampel LC dan RC sama yaitu sebesar 0,02 %, sedangkan kode sampel FC sebesar 0,04 %. Namun, seharusnya hasil yang diperoleh sama karena terbentuknya PCA disebabkan oleh dehidrasi MSG pada panas tinggi dan kondisi asam saat proses fermentasi. Perbedaan hasil pada produk FC kemungkinan disebabkan larutan sampel telah terkontaminasi sehingga hasil analisis yang diperoleh tidak akurat. Terdapatnya PCA dalam MSG menguatkan otak terhadap stres dan meningkatkan fungsi kognitif, namun efek sampingnya dapat menyebabkan sakit kepala dan masalah pencernaan. Namun, hasil tersebut memenuhi standar yang ditetapkan oleh PT. Ajinomoto Indonesia yaitu $\leq 0,2\%$ yang berarti produk MSG dari PT. Ajinomoto Indonesia diperbolehkan untuk dipasarkan dan dikonsumsi oleh masyarakat.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan :

1. Kandungan γ ABA pada produk MSG dengan kode sampel LC, RC, dan FC masing-masing tidak ada, sedangkan kandungan PCA pada produk MSG dengan kode sampel LC, RC dan FC masing-masing sebesar 0,02 %, 0,02 % dan 0,04 %.
2. Hasil kandungan γ ABA dan PCA dalam sampel MSG jika dibandingkan dengan standar yang ditetapkan oleh PT. Ajinomoto Indonesia maka dapat diketahui bahwa kualitas sampel MSG baik dan memenuhi standar sehingga sampel tersebut layak dipasarkan dan dikonsumsi.

V.2 Saran

Metode analisis γ ABA dan PCA sebaiknya dilakukan spiking terlebih dahulu.

DAFTAR PUSTAKA

- Bernasconi, G., Gerster H., Stauble H., dan Schneiter E. (1995). *Teknologi Kimia Bagian 2*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.
- Cahyadi, W. (2009). *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Crimmins, D.L., McCourt, D.W., and Schwartz, B.D. (1988). *Facile analysis and purification of deblocked N-terminal pyroglutamyl peptides with a strong cation-exchange sulfoethyl aspartamide column*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 156:910-916.
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. (1995). *Farmakope Indonesia (edisi keempat)*. Jakarta: Departemen Kesehatan R.I.
- Hendayana, S. (2006). *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT. Remaja Rosdakarya.
- Judoamidjojo, M., Abdul. D dan Gumbira. E.S. (1992). *Teknologi Fermentasi*. Jakarta Utara: CV. Rajawali.
- Kauffman, George B. (2004). *The Monosodium Glutamate Story: The Commercial Production of MSG and Other Amino Acids*. *Journal of Chemical Education*, III, 347-355.
- Mulja, M., Suharman. (1995). *Analisis Instrumental*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Munson, J.W. (1991). *Analisis Farmasi Metode Modern*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Putra, E.D.L. (2007). *Dasar-dasar Kromatografi Gas & Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Medan: Fakultas Farmasi USU.
- Rediatning, W.S., Kartini, N.H. (1987). *Analisis Asam Amino dengan Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi secara Derivatisasi Prakolom dan Pascakolom*. *Proceedings ITB*, 20, 41-59.
- Rohman, A., Ibnu, G.G. (2007). *Metode Kromatografi Untuk Analisis Makanan*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Roy, J. Gritter, James M. Bobbit, and Arthur E.S., (1991). *Pengantar Kromatografi*. Bandung: Penerbit ITB.

Skoog, D.A., West DM, and Holler FJ. (1996). *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 7th edition. New York: Saunders College Publishing.

SNI 01-0219-1987 tentang *Monosodium Glutamat Monihidrat*.

Ueno, H. (2000). Enzymatic and structural aspects on glutamate decarboxylase. *Jurnal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 10, 67-79.

Veronika, R., Meyer, John Wiley & Sons. (1999). *Practical High Performance Liquid Chromatography*. 3 (ed). ISBN 0-471-98373-X.

Wible, J.H., Jr., DiMicco, J.A., and Luft, F.C. (1989). *Hypothalamic GABA and sympathetic regulation in spontaneously hypertensive rats*. *Hypertension* 14, 623- 628.

Winarno. (1989). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia.

Winarno, F.G. dan Sulistyowati T.R. (1994). *Bahan Tambahan untuk Makanan dan Kontaminan*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.