

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bayi yang baru lahir membutuhkan asupan nutrisi yang tepat untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan optimal. Air Susu Ibu (ASI) merupakan sumber gizi utama yang sangat penting bagi bayi, terutama pada 6 bulan pertama kehidupan. Namun ketika bayi mencapai usia 6 bulan, umumnya mereka mulai diperkenalkan pada makanan padat selain ASI atau bisa disebut Makanan Pendamping ASI (MPASI). Berdasarkan WHO (2016) MPASI optimal diberikan kepada balita mulai dari usia enam bulan setelah sebelumnya telah mendapatkan ASI eksklusif. MPASI dirancang untuk menyediakan nutrisi tambahan yang diperlukan bayi setelah usia 6 bulan, ASI saja tidak lagi cukup untuk memenuhi kebutuhan gizi bayi. Namun MPASI tidak dibuat tanpa adanya aturan karena dalam penyusunan MPASI harus memastikan bahwa makanan tersebut dapat memenuhi nilai gizi bayi yang sedang berkembang. Pemilihan jenis makanan yang tepat pada periode ini dapat memberikan dampak besar pada pertumbuhan dan perkembangan anak. MPASI yang bergizi harus kaya akan protein, vitamin, mineral, dan energi untuk mendukung tumbuh kembang bayi yang pesat di tahap ini.

Biskuit bayi merupakan salah satu bentuk MPASI yang cukup populer karena teksturnya yang sesuai untuk bayi, daya simpannya tinggi, serta mudah dikonsumsi. Biskuit bayi umumnya terbuat dari tepung terigu sebagai sumber karbohidrat dengan tambahan nutrisi makro dan mikro lainnya (Kristianto, 2022). Berdasarkan data label gizi Fatsecret Indonesia (2024) dari beberapa produk biskuit bayi komersial di Indonesia, kandungan protein per sajian sekitar 25–30 gram biskuit, umumnya hanya berkisar antara 1 hingga 2 gram protein, yang belum mencukupi kebutuhan protein harian bayi. Berdasarkan WHO (2003), bayi berusia 6–12 bulan membutuhkan sekitar 1,2 gram protein per kilogram berat badan per hari. Banyak biskuit bayi yang beredar di pasaran masih menggunakan bahan dasar tepung sereal yang relatif rendah protein (Puspitasari et al., 2020). Kekurangan asupan protein pada masa ini dapat menyebabkan pertumbuhan terhambat (stunting), penurunan fungsi kekebalan tubuh, serta gangguan perkembangan otak. Biskuit bayi harus mengandung protein yang cukup untuk mendukung pertumbuhan dan pemeliharaan sel tubuh bayi sehingga diperlukan sumber protein nabati, hewani atau keduanya dalam produksi biskuit bayi. Berdasarkan SNI (2005) persyaratan mutu pembuatan biskuit bayi adalah mengandung kadar gizi protein yang tidak kurang dari 6 g/100 g dengan energi minimal 400 kkal/100 g. Protein berfungsi dalam membentuk jaringan baru dimasa perkembangan dan pertumbuhan tubuh, melihara serta mengganti jaringan yang telah rusak (Sundari dan in et al., 2023).



er yang melimpah dengan kandungan protein, mineral, dan vitamin. h satu sumber protein hewani yang memiliki nilai gizi tinggi dan tubuh manusia. Salah satu jenis ikan yang memiliki potensi besar j. Pada tahun 2014, total produksi ikan bandeng tercatat sekitar i meningkat menjadi 155.761 ton. Pada tahun 2016 menunjukkan

pertumbuhan sekitar 25% dalam dua tahun (Pemerintah Provinsi Sulawesi Selatan, 2016). Pada tahun 2022, dengan produksi sebesar 206.084 ton. Angka tersebut mewakili lebih dari seperempat produksi bandeng nasional menjadikan Sulawesi Selatan sebagai penyumbang utama (Persagi Sulawesi Selatan, 2022). Ikan bandeng (*Chanos chanos*) menjadi salah satu komoditas budidaya unggulan yang memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku dalam produk olahan MPASI (Fitri et al., 2016). Berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP, 2022), ikan bandeng memiliki kandungan protein sebesar 20–22%, sehingga berpotensi sebagai bahan fortifikasi dalam makanan bayi. Penelitian oleh Maksum (2022) menunjukkan bahwa konsentrat protein ikan bandeng memiliki kadar protein yang sangat tinggi, mencapai 90,12%, yang lebih tinggi dibandingkan dengan tepung ikan biasa yang hanya sekitar 70,17%. Selain itu, ikan bandeng juga memiliki kandungan asam amino esensial yang lengkap, menjadikannya sumber protein yang berkualitas tinggi.

Salah satu inovasi dan kreasi dalam produk perikanan adalah pengembangan konsentrat protein ikan (KPI) sebagai cara untuk meningkatkan nilai gizi, KPI adalah produk yang sudah dipisahkan dari lemak dan air sehingga kandungan proteinnya lebih pekat dari bahan bakunya (Dewita dan Syahrul 2012; Loppies *et al* 2021). Pengolahan ikan bandeng menjadi konsentrat protein dapat meningkatkan kandungan protein dalam produk akhir tanpa mengganggu tekstur dan cita rasa produk (Suryaningrum et al., 2021). Fortifikasi adalah proses penambahan mikronutrien atau bahan gizi lainnya ke dalam makanan untuk meningkatkan nilai gizinya. Dalam konteks ini, fortifikasi biskuit bayi dengan konsentrat protein ikan bandeng diharapkan dapat meningkatkan kandungan protein dalam biskuit yang pada gilirannya dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangan bayi.

1.2 Tujuan Penelitian dan Manfaat

Tujuan dari penelitian ini untuk memformulasikan biskuit bayi dengan fortifikasi konsentrat protein ikan bandeng (*Chanos chanos*) sebagai MPASI, serta menganalisa mutu kimia dari produk biskuit yang dihasilkan guna menentukan formulasi terbaik berdasarkan kandungan gizi

Manfaat dari penelitian ini untuk menghasilkan makanan alternatif pendamping ASI (MPASI) yang kaya protein dan nutrisi untuk pertumbuhan anak.



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Maret 2025. Ikan bandeng dibeli dari pasar tradisional Daya, Makassar, Sulawesi Selatan. Preparasi ikan bandeng, pembuatan KPI bandeng dan pembuatan biskuit bayi dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Uji mutu KPI dan biskuit dilakukan di Laboratorium Kimia Pakan Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Hasanuddin.

2.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1. dan Tabel 2.

Tabel 1. Alat yang digunakan pada penelitian

No.	Nama	Kegunaan
1.	Kain saring	Menyaring daging ikan.
2.	Alat Press	Mengeluarkan kelebihan air dari daging ikan
3.	Oven	Mengeringkan daging ikan dan memanggang biskuit
4.	Blender	Menghaluskan daging ikan
5.	Panci kukus	Mengukus daging ikan
6.	Pisau	Menyiangi ikan dan memotong bahan yang digunakan
7.	Timbangan	Menimbang bahan-bahan yang digunakan
8.	Gelas ukur	Mengukur jumlah cairan yang digunakan
9.	Wadah	Tempat penyimpan bahan-bahan
10.	Mixer	Untuk mencampur bahan-bahan
11.	Spatula	Mengaduk bahan agar termcampur rata
12.	Baking paper	Mencegah adonan lengket pada loyang

Tabel 2. Bahan yang digunakan pada penelitian

No.	Nama	Kegunaan
1.	Ikan bandeng	Untuk pembuatan Konsentrat Protein Ikan (KPI)
2.	Tepung terigu protein rendah	bahan pembuatan biskuit
3.	Kuning telur	Pengikat bahan-bahan
4.	Susu bubuk	bahan pembuatan biskuit
		Pelembut adonan
		Pemanis
		Pengembang adonan



2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian ekperimental laboratorium untuk mengetahui formulasi terbaik biskuit bayi dengan fortifikasi KPI bandeng berdasarkan analisis proksimat. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan penambahan konsentrasi KPI bandeng yaitu (A 5%, B 10%, C 15%). Dilakukan pengujian laboratorium, data laboratorium dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA). Apabila hasil analisis menunjukkan berpengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji Tukey.

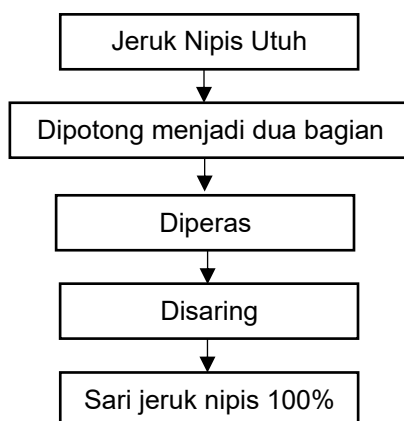
2.4 Metode Pengumpulan Data

2.4.1 Preparasi Sampel Pembuatan Konsentrat Protein Ikan

Pengumpulan sampel ikan bandeng dengan metode *purposive sampling*, yaitu dilakukan dengan cara membeli ikan bandeng secara langsung dari pedagang di pasar tradisional Daya. Terdapat 2 pedagang ikan bandeng di pasar tradisional Daya dari petambak yang sama berasal dari Pangkep. Pada saat sampel tiba di Laboratorium, ikan bandeng dikeluarkan dari *coolbox* lalu dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan lendir dan kotoran yang menempel pada tubuh ikan. Ikan bandeng difillet kemudian daging dilepaskan dari kulit, daging merah dipisahkan dari daging putih. Selanjutnya daging putih dicuci dengan air mengalir.

2.4.2 Pembuatan Konsentrat Protein Ikan Bandeng

Pembuatan KPI bandeng dalam penelitian ini mengacu pada penelitian Tonda (2023) yang dimodifikasi, terutama pada perlakuan ikan sebelum pengeringan, yaitu penggunaan sari jeruk nipis untuk mengurangi bau amis (Melita, 2023). Terlebih dahulu membuat sari jeruk Sebelum membuat KPI bandeng. Proses pembuatan ekstrak jeruk nipis dapat dilihat pada Gambar 1.

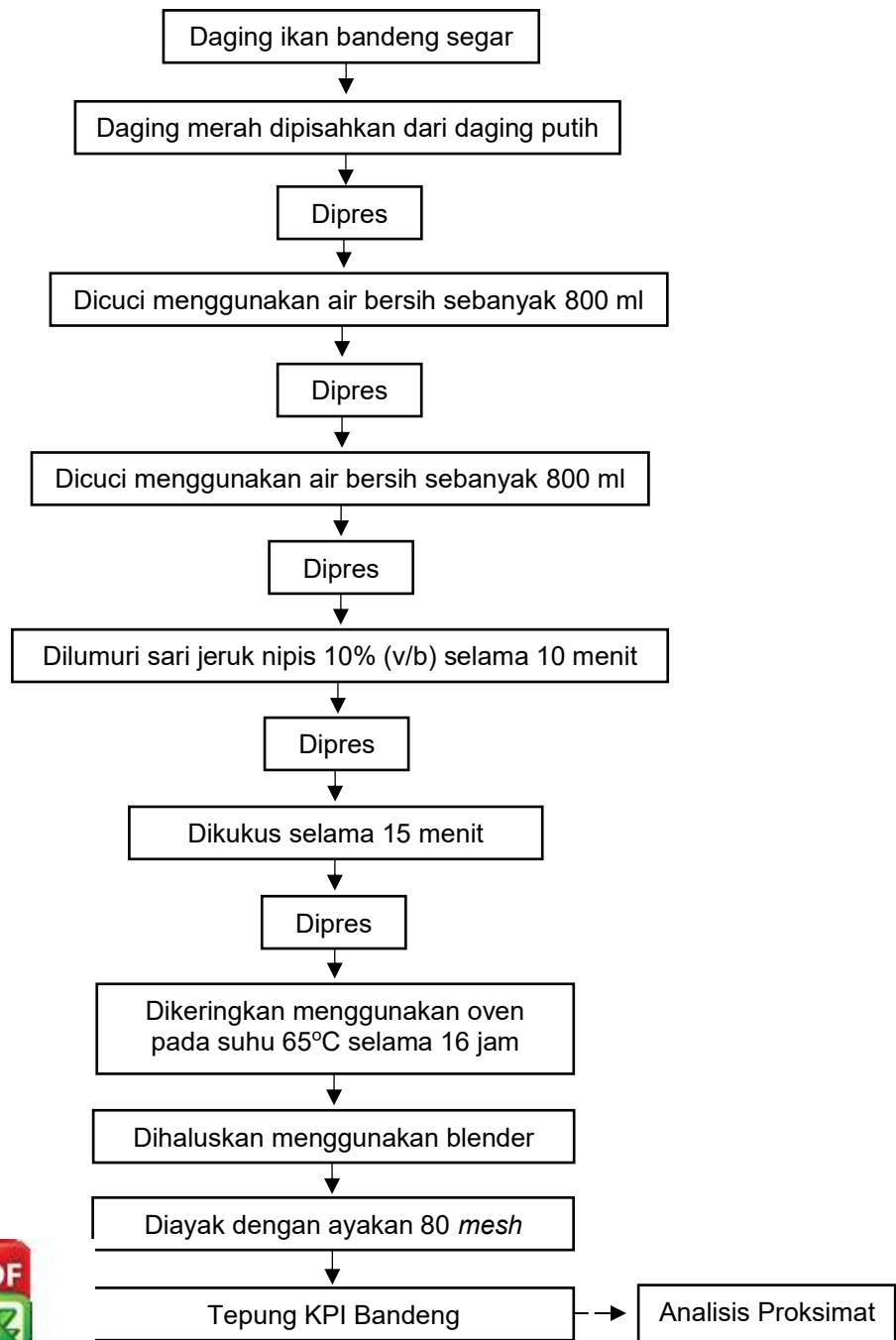


Gambar 1. Diagram alir pembuatan sari jeruk nipis
(Sumber: Melita, 2023)



otong menjadi 2 bagian, bagian jeruk nipis yang telah dipotong menggunakan alat pemeras jeruk dan hasil perasan disaring an halus untuk memisahkan ampas dan biji dari cairan. Cairan yang akan sari jeruk nipis murni (100%) dan siap digunakan. Setelah

pembuatan sari jeruk nipis dilanjutkan dengan pembuatan KPI bandeng. Pembuatan KPI bandeng dapat dilihat pada Gambar 2.



Pembuatan KPI bandeng diawali dengan ikan bandeng disiangi dihilangkan kepala, tulang, sirip. Daging ikan bandeng dipisahkan antara bagian daging merah dan daging putih. Daging putih yang telah dipisahkan kemudian dipres untuk mengurangi kandungan air. Daging dipres kembali setelah dicuci menggunakan 800 ml air bersih. Proses pencucian dan pemerasan diulangi satu kali lagi menggunakan 800 ml air bersih. Daging yang telah bersih kemudian dilumuri dengan sari jeruk nipis 10% (v/b) dan didiamkan selama 10 menit. Setelah itu, daging dipres kembali untuk menghilangkan kelebihan cairan. Daging dikukus selama 15 menit. Setelah dikukus, daging dipres lagi untuk mengurangi kadar air. Daging dikeringkan menggunakan oven pada suhu 65°C selama 16 jam. Daging kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi bubuk. Bubuk hasil penghalusan diayak menggunakan ayakan ukuran 80 mesh. Hasil akhir berupa tepung KPI bandeng siap digunakan dan dapat dianalisis kandungan nutrisinya melalui Analisis Proksimat.

2.4.3 Pembuatan Biskuit Bayi

Biskuit bayi adalah makanan ringan yang dirancang khusus untuk bayi dan anak kecil yang memiliki persyarat kandungan pada biskuit bayi. Komposisi kandungan biskuit bayi mengacu pada SNI 01-7111.2-2005 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 3. Komposisi Kandungan Biskuit Bayi MPASI per 100 g

Zat Gizi	Satuan	Kadar (100 gram)
Air	g	Maksimum 5 %
Abu	g	Maksimum 3,5 %
Kepadatan energi	kcal	Minimum 400
Protein	g	Minimum 6
Karbohidrat	g	Minimum 30
Gula (gula sederhana)	g	Maksimum 45
Serat	g	Maksimum 5
Lemak	g	6 – 18
Vitamin A	RE	250 - 700
Vitamin D	mg/kkal	0,75 – 2,5
Natrium (Na)	mg/kkal	Maksimum 100
Kalsium (Ca)	mg/ kkal	Minimum 50
Zat Besi	mg/kkal	Minimum 1,25
Seng	mg/kkal	Minimum 0,6

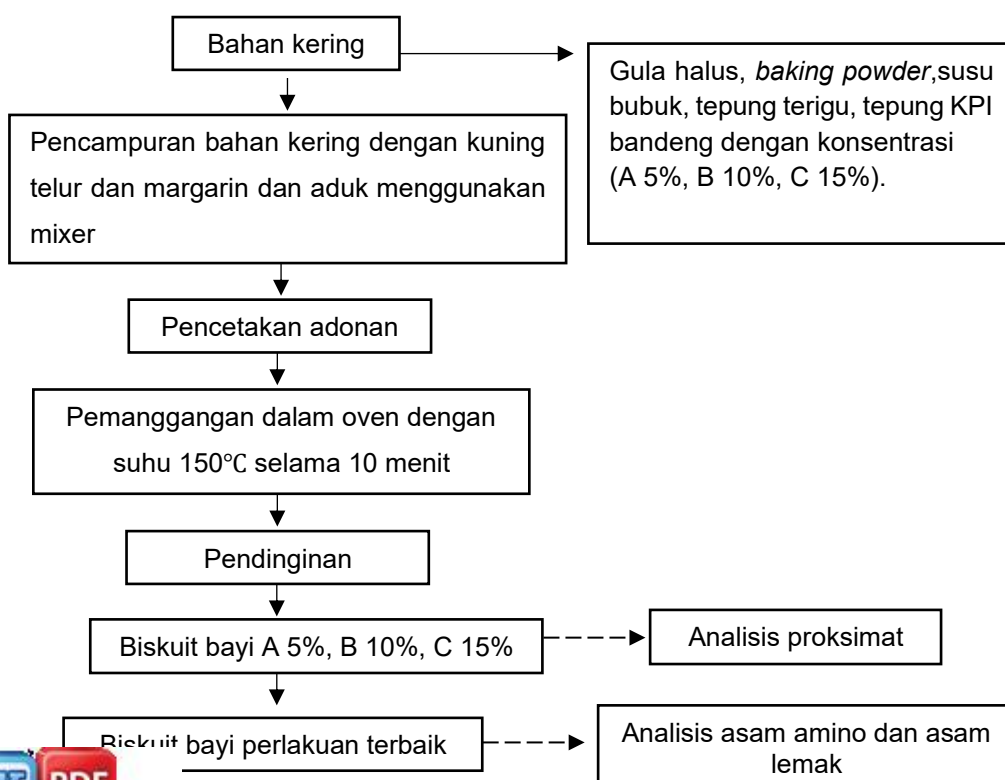
Sumber: SNI 01-7111.2-2005. Makanan Pendamping ASI (MP-ASI) Bagian 2 : Biskuit



uit bayi mangacu pada penelitian (Eva dkk.,2019) yang dimodifikasi an, diawali dengan pencampuran bahan kering termasuk variasi nudian penambahan kuning telur dan margarin sebagaimana yang el 4. Pembuatan biskuit bayi dengan variasi penambahan tepung

Tabel 4. Formulasi pembuatan biskuit bayi dengan variasi penambahan tepung KPI bandeng

Bahan	Taraf perlakuan (Rasio tepung terigu : tepung KPI bandeng (b/b))		
	A	B	C
Tepung Terigu	95	90	85
Tepung KPI bandeng	5	10	15
Gula halus	20	20	20
<i>Baking powder</i>	10	10	10
Susu bubuk	25	25	25
Margarin	35	35	35
Kuning telur	15	15	15
Total	205	205	205



gambar 3. Diagram alir pembuatan biskuit bayi

ing, yaitu: gula halus, baking powder, susu bubuk, tepung terigu, indeng. Tepung KPI bandeng digunakan dengan tiga variasi 10%, C 15%). Campurkan seluruh bahan kering tersebut dengan garin, kemudian aduk menggunakan mixer hingga adonan merata.



Adonan dicetak sesuai bentuk yang diinginkan. Panggang adonan dalam oven pada suhu 150°C selama 10 menit. Setelah matang, biskuit didinginkan pada suhu ruang. Hasil akhir berupa biskuit bayi dengan tiga perlakuan yaitu biskuit bayi A 5%, B 10% dan C 15% KPI bandeng. Semua biskuit hasil perlakuan dilakukan analisis proksimat untuk mengetahui kandungan gizi dasarnya. Biskuit dengan perlakuan terbaik (berdasarkan hasil analisis) kemudian diuji lebih lanjut untuk analisis asam amino dan asam lemak.

2.5 Pengamatan dan Pengukuran

Pengamatan dan pengukuran pada pembuatan biskuit bayi yaitu perhitungan rendemen KPI, analisis proksimat, asam amino, asam lemak dan perhitungan takaran saji tanpa memperhitungkan daya cerna.

2.5.1 Perhitungan Rendemen

$$\% \text{ Rendemen KPI} = \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100$$

2.5.2 Analisis Komposisi Proksimat (AOAC, 2005 ; SNI 01-2891-1992)

Uji Proksimat meliputi protein, karbohidrat, lemak, mineral, uji kadar air, kadar abu dan uji kadar serat.

Uji kadar air. Terlebih dahulu cawan porselin dikeringkan selama kira-kira 1 jam dalam oven pada suhu 105°C, kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan timbang untuk mengetahui berat konstan. Setelah itu sampel dimasukkan dalam cawan kemudian ditimbang dengan teliti sekitar 1 g lalu dimasukkan dalam oven dengan suhu yang telah diatur mencapai 105°C, selama 8 jam. Selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 30 menit, lalu ditimbang hingga berat konstan. Kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{C - A}{B - A} \times 100$$

Keterangan: A = berat cawan porselin (g)

B = berat cawan sampel dan sebelum dikeringkan (g)

C = berat cawan sampel dan setelah dikeringkan (g)

Uji kadar protein. Prosedur analisis protein dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 0,5 g dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL dan ditambahkan 1 g campuran selenium serta 25 mL H₂SO₄ pekat selanjutnya didestruksi hingga menjadi jernih, destruksi dilanjutkan hingga 10 menit. Setelah larutan dingin, lalu diencerkan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan bilas dengan air suling. Larutan diambil masukkan kedalam labu destilasi dan ditambahkan 5 mL larutan NaOH 0 mL. Siapkan labu penampung yang terdiri dari 10 mL H₃BO₃ 2% etes larutan indikator campuran dalam erlenmeyer 100 mL. Bilas an air suling, kemudian sampel dititrasi dengan HCL 0,01 N sampai erlenmeyer berubah menjadi merah muda yang tidak hilang dalam k, volume titrasi dicatat. Perhitungan kadar protein menggunakan



$$\text{Nitrogen (\%)} = \frac{(V1 - V2) \times N \times 14 \times Fp \times Fk}{W} \times 100$$

Keterangan: V1 = ml HCl untuk titrasi contoh

V2 = ml HCL untuk tirtrasi blanko

N = normalitas HCl standar yang digunakan

14 = berat atom nitrogen

Fp = faktor pengenceran

Fk = faktor konversi untuk protein ikan 5,6 (Marioti et al., 2008)

W = berat sampel

Uji kadar lemak. Sampel ditimbang 1 g lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berskala 10 ml. kemudian ditambahkan larutan kloroform hingga mencapai skala. Tabung yang berisi sampel ditutup rapat kemudian dikocok dan dibiarkan bermalam. Campuran disaring menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung dalam tabung reaksi, setelah itu filtrat diambil menggunakan pipet volume 5 ml dan dimasukkan dalam cawan porselen kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 8 jam, lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Perhitungan kadar lemak menggunakan rumus

$$\% \text{ Kadar lemak} = \frac{(A - B) \times 100}{C}$$

Keterangan: A = berat cawan dan sampel kering (g)

B = berat cawan kosong (g)

C = berat labu lemak sampel setelah oven (g)

Uji kadar serat. Sampel ditimbang sebanyak 0,5 g lalu dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 30 ml H₂SO₄ 0,3 N dan direfluks selama 30 menit. Kemudian ditambahkan 15 ml larutan NaOH 1,5 N kemudian direfluks kembali selama 30 menit, lalu disaring menggunakan *sintered glass* dengan menggunakan pompa vakum. Kemudian dicuci dengan 50 ml air panas, 50 ml H₂SO₄ 0,3 N, dan 50 ml alcohol. Selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 150°C selama 8 jam, lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Setelah itu dimasukkan dalam tanur selama 3 jam, lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit kemudian ditimbang. Perhitungan kadar serat menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kadar serat} = \frac{C - A}{B - A} \times 100$$



A = berat cawan kosong (g)

3 = berat cawan dan sampel sebelum dikeringkan (g)

C = berat cawan dan sampel setelah dikeringkan (g)

Uji kadar karbohidrat. Kadar karbohidrat dihitung merupakan selisih dari persentase kadar abu, protein, lemak, dan serat dalam sampel dengan persentase total (100). Kadar karbohidrat dihitung dengan rumus:

$$\text{Karbohidrat (\%)} = 100 - (\% \text{air} + \% \text{abu} + \% \text{protein} + \% \text{lemak})$$

Uji kadar abu. Terlebih dahulu cawan porselin dikeringkan selama 1 jam dalam oven pada suhu 105°C. kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Sampel yang telah dihomogenkan kemudian ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan dalam cawan porselin, kemudian dilakukan pengabuan menggunakan tanur pada suhu 600°C selama 3 jam sampai sempurna menjadi abu. Selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Perhitungan kadar abu menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{C - A}{B - A} \times 100$$

Keterangan: A = berat cawan porselin (g)

B = berat cawan sampel dan sebelum dikeringkan (g)

C = berat cawan sampel dan setelah dikeringkan (g)

2.5.3 Perhitungan Jumlah Energi (Mervina, 2012)

Jumlah energi dapat dihitung dengan mengkonfersikan kandungan kimia (kadar karbohidrat, kadar protein, dan kadar lemak) biskuit dengan faktor konfersi masing-masing kandungan. Karbohidrat dan protein memiliki faktor konfersi sebesar 4 kkal/g, sedangkan faktor konfersi lemak adalah 9 kkal/g. Hasil konversi dijumlah dan hasil penjumlahan tersebut merupakan kandungan energi dari biskuit. Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut.

$$\text{Jumlah Energi/100gram} = (4 \times A) + (4 \times B) + (9 \times C)$$

Keterangan: A = kadar karbohidrat

B = kadar protein

C = kadar lemak

2.5.4 Perhitungan Takaran Saji Tanpa Memperhitungkan Daya Cerna (Mervina, 2012)

$$X = \frac{A}{B} \times 100$$

Keterangan : X= Jumlah biskuit yang dikonsumsi

A= Protein yang harus dipenuhi

B= Protein/ 100 g biskuit



2.5.5 Analisis Asam Amino HPLC (AOAC, 1995 ; IK.LP-04.7-LT-1.0)

Analisis komposisi asam amino dilakukan dengan menggunakan HPLC. Analisis asam amino terdiri atas 4 tahap yaitu: tahap pembuatan hidrolisat protein, tahap pengeringan, tahap derivatisasi, dan tahap injeksi serta analisis asam amino.

(1) Tahap pembuatan hidrolisat protein. Sampel ditimbang sebanyak 3 mg dan dihancurkan. Sampel yang telah hancur dihidrolisat asam menggunakan HCl 6 N sebanyak 1 ml yang kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 24 jam. Pemanasan dalam oven dilakukan untuk menghilangkan gas atau udara yang ada pada sampel agar tidak mengganggu kromatogram yang dihasilkan. Selain itu, pemanasan dilakukan untuk mempercepat reaksi hidrosis.

(2) Tahap pengeringan, sampel yang telah dihidrolisis pada suhu ruang dipindahkan isinya ke dalam evaporator 50 ml, dibilas dengan 2 ml HCl 0,01N dan cairan bilasan dimasukkan ke dalam labu evaporator. Proses ini diulangi hingga 2-3 kali. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan rotary evaporator selama 15-30 menit. Sampel yang sudah kering ditambah dengan 5 ml HCl 0,01 N kemudian disaring dengan kertas saring milipore.

(3) Tahap derivatisasi, larutan derivatisasi sebanyak 30 µl ditambahkan pada hasil pengeringan, larutan derivatisasi dibuat dari larutan buffer kalium borat dengan sampel 1:1 kemudian dicampurkan dengan larutan Ortoftalaldehida (OPA) dengan perbandingan 5:1 dengan sampel, selanjutnya campuran tersebut disaring menggunakan kertas saring Whatman.

(4) Tahap injeksi ke HPLC, hasil saringan sebanyak 5 µl diinjeksikan ke dalam HPLC. Pemisahan semua asam amino ditunggu sampai selesai. Waktu yang diperlukan sekitar 25 menit. Perhitungan konsentrasi asam amino yang ada pada bahan dilakukan dengan pembuatan kromatogram standar dengan menggunakan asam amino yang telah siap pakai yang mengalami perlakuan yang sama dengan sampel. Kandungan asam amino dalam bahan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Asam amino} = \frac{\text{Luas area sampel} \times C \times F_p \times \text{BM} \times 100}{\text{Luas area standar} \times \text{bobot sampel}}$$

2.5.5 Analisis Komponen Asam Lemak GCMS (AOAC, 2012)

Analisis asam lemak menggunakan GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) adalah metode yang umum dipakai untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi jenis asam lemak dalam suatu sampel. Asam lemak biasanya tidak volatil secara langsung,



menjadi bentuk metil ester terlebih dahulu (FAMES – Fatty Acid methyl esters). Analisis asam lemak terdapat 3 tahap yaitu persiapan sampel, analisis data.

a) yang pertama ialah ekstraksi lemak, sampel (misalnya minyak, susu) diekstraksi menggunakan pelarut organik seperti 1). Metode ekstraksi yang umum digunakan metode bligh and dyer

atau folch. Kemudian metilasi asam lemak, proses ini mengubah asam lemak bebas atau trigliserida menjadi FAMES, reagen yang sering digunakan borohidrat metanolik (untuk asam lemak bebas) dan HCl metanolik atau NaOH metanolik (untuk trigliserida), reaksi biasanya dilakukan pada suhu 60–80°C selama 30–60 menit.

(2) Analisis GC-MS yaitu Kondisi Kromatografi Gas (GC) pada kolom (Silika kapiler non-polar) seperti DB-5, HP-5MS dan carrier gas yaitu helium. Pada program suhu awal: 50–70°C, tahan beberapa menit, lalu naik secara bertahap hingga 250–300°C sehingga total waktu: 30–60 menit. Deteksi mass spectrometry (MS), mode deteksi scan atau Selected Ion Monitoring (SIM), pada ionisasi Electron Impact (EI) 70 eV. Sehingga data yang dihasilkan ialah spektrum massa dari setiap puncak digunakan untuk identifikasi asam lemak.

(3) Interpretasi data, bandingkan waktu retensi dan spektrum massa dengan standar FAMES komersial (misalnya, C16:0, C18:1, C18:2, dll), gunakan pustaka (seperti NIST) atau perangkat lunak GC-MS untuk pencocokan spektra. Kuantifikasi dilakukan berdasarkan luas area puncak menggunakan standar internal.

