

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN TERHADAP KADAR
ASAM PALMITAT PADA KEJU YANG DIANALISIS
DENGAN METODE KROMATOGRAFI GAS –
SPEKTROSKOPI MASSA (KG-SM)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi

(S.Farm.)

Program Studi S-1 Farmasi

STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh:

LISA YUHANA

T1613206001

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

JULI 2019

SKRIPSI

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN TERHADAP KADAR
ASAM PALMITAT PADA KEJU YANG DIANALISIS
DENGAN KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROSKOPI
MASSA (KG-SM)**

Yang diajukan oleh:

LISA YUHANA

T1613206001

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



Afidatul Muadifah, M.Si
NIDN. 0708039102



Dhanang Prawira N., S. Farm., Apt
NIP. 15.87.01.02

SKRIPSI

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN TERHADAP KADAR
ASAM PALMITAT PADA KEJU YANG DIANALISIS
DENGAN METODE KROMATOGRAFI GAS –
SPEKTROSKOPI MASSA (KG-SM)**

Oleh:

LISA YUHANA

T1613206001

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji
Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal : 15 Juli 2019

Ketua penguji : Afidatul Muadifah S.Si., M.Si (.....)

Anggota penguji : 1. Dhanang Prawira N., S.Farm., Apt (.....)

2. Ana Amalia M. Farm., Apt (.....)

3. Rahma Diyan Martha S.Si., M.Sc (.....)

Mengetahui,

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami

NIDN. 07 050966 01

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, 15 Juli 2019

Penulis,

Lisa Yuhana

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabilalamin segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, nikmat, dan karunia-Nya sehingga peneliti dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Asam Palmitat Pada Keju Yang Dianalisis Dengan Metode Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (KG-SM)” sebagai persyaratan menyelesaikan pendidikan Sarjana I Farmasi di Stikes Karya Putra Bangsa dengan tepat waktu.

Tidak lupa peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada :

1. dr. Denok Sri Utami M.H selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. Dara Pranindya Tilarso, S.Farm., Apt. Selaku Kaprodi S1 Farmasi STIKes Karya putra Bangsa Tulungagung.
3. Afidatul Muadifah S.Si., M.Si. Selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi penelitian ini.
4. Dhanang Prawira Nugraha, S.Farm., Apt. Selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Pihak perpustakaan STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang memberi izin dalam menunjang penulisan skripsi penelitian ini.
6. Pihak laboratorium kimia STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung yang memberi izin dalam proses penelitian ini.
7. Pihak UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang bersedia membantu dalam proses analisis sampel.
8. Turmudi dan Munawaroh yang merupakan orang tua peneliti, terimakasih telah memberikan dukungan dan semangat kepada peneliti
9. Choirul Abidin, Muchtar Budiyanto dan istri selaku kakak dari peneliti yang selalu memberikan semangat kepada peneliti

10. Ayu, Yesi, Laila, Kartika, Voni, Riska, Rabia dan semua teman –
temanku yang telah memberikan semangat dan menemani selama
kuliah dan dalam pengerjaan skripsi peneliti

11. Semua pihak yang telah membantu

Kesempurnaan hanya milik Allah SWT, skripsi ini sangat jauh dari sempurna
sehingga membutuhkan kritik dan saran agar lebih baik dan lebih baik lagi.

Tulungagung, 15 Juli 2019

Penulis

Lisa Yuhana

Ku persembahkan untuk,

Ayah dan Ibu tercinta

Yang selalu ada dalam do'a ku

Choirul Abidin dan Muchtar Budiyanto tersayang,

Yeng memberiku semangat dan dukungan

Titanium dan Almamaterku...

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Keju	5
2.1.1 Jenis – Jenis Keju	5
2.1.2 Kandungan Gizi Keju	6
2.2 Asam Lemak Bebas	6
2.2.1 Klasifikasi Asam Lemak Bebas	7
2.3 Manfaat Asam Lemak Bebas	11
2.4 Kromatografi gas	13
2.4.1 Prinsip Kromatografi	13
2.4.2 Fase gerak kromatografi	14
2.4.3 Injektor Sampel	15
2.4.4 Kolom	16

2.4.5 Detektor	17
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	20
3.1 Bahan	20
3.2 Alat	20
3.3 Sampel.....	20
3.4 Variabel.....	20
3.4.1 Variabel bebas	20
3.4.2 Variabel Terikat	20
3.5 Metode Penelitian	21
3.5.1 Preparasi Sampel.....	21
3.5.2 Proses Esterifikasi Sampel	21
3.5.3 Analisa Kualitatif dan Kuantitatif Asam Palmitat	21
3.5.4.1 Pengujian Asam Palmitat Menggunakan Kromatografi Gas	22
3.5.4.2 Perhitungan Kadar Asam Palmitat.....	22
3.6 Analisis Data	22
3.6.1 Analisis Variansi Satu Arah (One Way Anova)	22
3.6.2 Uji Post Hoc.....	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Pengambilan Sampel Keju	24
4.2 Preparasi Sampel Asam Palmitat.....	24
4.3 Uji Kualitatif dan Kuantitatif Asam Palmitat	27
4.4 Uji Kualitatif dan Kuantitatif Asam Palmitat Menggunakan Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (KG-SM)	28
4.5 Analisis Kadar Asam Palmitat Menggunakan One Way Anova....	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	42

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
Tabel II.1 Nilai Gizi Keju Dalam 100 g.....	6
Tabel II.2 Contoh Gas Pembawa dan Detektor	14
Tabel II.3 Jenis – Jenis Detektor dan Jenis – Jenis Sampelnya.....	15
Tabel IV.1 Data Hasil Analisis Asam Palmitat Dengan KG-SM.....	34
Tabel IV.2 <i>Descriptives</i>	37
Tabel IV.3 Hasil Analisis <i>One Way Anova</i>	38
Tabel IV.4 Hasil Analisis <i>Tukey HSD</i>	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
2.1 Asam Palmitat.....	8
2.2 Asam Stearat.....	8
2.3 Asam Butirat.....	9
2.4 Asam Oleat.....	10
2.5 Asam Miristat.....	10
2.6 Asam Linoleat.....	11
2.7 Asam Linoleat Terkonjugasi.....	11
2.8 Kromatografi Gas.....	13
2.9 Injektor.....	15
2.10 Kolom Kapiler.....	16
2.11 Spektrofotometer Massa.....	19
4.1 Mekanisme Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Basa.....	26
4.2 Kromatogram KG Sampel Keju Penyimpanan 2 Bulan.....	28
4.3 Spektra Massa Standar Asam Palmitat.....	29
4.4 Spektra Massa Asam Palmitat Sampel Keju Penyimpanan 2 Bulan.....	29
4.5 Pola Fragmentasi Metil Palmitat Sampel Keju Penyimpanan 2 bulan.....	29
4.6 Kromatogram KG Sampel Keju Penyimpanan 4 Bulan.....	30
4.7 Spektra Massa Standar Asam Palmitat.....	31
4.8 Spektra Massa Asam Palmitat Sampel Keju Penyimpanan 4 Bulan.....	31
4.9 Pola Fragmentasi Metil Palmitat Sampel Keju Penyimpanan 2 bulan.....	31
4.10 Kromatogram KG sampel Keju Penyimpanan 7 Bulan.....	32
4.11 Spektra Massa Standar Asam Palmitat.....	33
4.12 Spektra Massa Asam Palmitat Sampel Keju Penyimpanan 7 Bulan.....	33
4.13 Pola Fragmentasi Metil Palmitat Sampel Keju Penyimpanan 7 bulan.....	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Rancangan Penelitian	47
2. Prosedur Kerja Analisis Sampel	48
3. Pembuatan Larutan	49
4. Analisis Kualitatif Senyawa Asam Palmitat.....	50
5. Analisis Kuantitatif Senyawa Asam Palmitat.....	59
6. Hasil analisis statistika	65
7. Dokumentasi Penelitian.....	67
8. Jadwal Penelitian	69

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN TERHADAP KADAR ASAM
PALMITAT PADA KEJU YANG DIANALISIS DENGAN METODE
KROMATOGRAFI GAS – SPEKTROSKOPI MASSA (KG-SM)**

Lisa Yuhana

Prodi S1 Farmasi

INTISARI

Keju merupakan salah satu produk pangan yang tidak asing lagi di masyarakat. Produk ini telah digunakan dalam berbagai makanan sebagai bahan dasar maupun sebagai bahan tambahan. Hal ini menyebabkan meningkatnya konsumsi keju di Indonesia. Salah satu kandungan asam lemak yang ada di dalam keju adalah asam palmitat yang memiliki manfaat penting dalam tubuh jika dikonsumsi sesuai dengan anjuran yang berlaku. Salah satunya dapat memperbaiki profil lemak darah dengan meningkatkan kadar HDL dalam darah. Banyaknya kadar asam palmitat dalam keju salah satunya dipengaruhi oleh waktu lama penyimpanan, dimana semakin lama penyimpanan keju yang dilakukan maka kadar asam palmitat didalamnya akan semakin tinggi. Penelitian ini dilakukan untuk menguji pengaruh lama penyimpanan terhadap kadar asam palmitat pada keju. Sampel diekstraksi menggunakan campuran kloroform:metanol (2:1 v/v) dan diesterifikasi dengan metanol menggunakan katalis basa KOH, selanjutnya Analisis kadar asam palmitat dilakukan dengan metode kromatografi gas – spektroskopi massa dan untuk mengetahui perbedaannya dianalisis menggunakan *one way anova*. 3 sampel yang di analisis yaitu keju dengan penyimpanan 2 bulan, 4 bulan dan 7 bulan memiliki kadar asam palmitat masing – masing yaitu 22,91%; 42,39% dan 43,57%. Berdasarkan analisis menggunakan *one way anova* ketiga sampel dinyatakan bahwa lama penyimpanan berpengaruh terhadap jumlah kadar asam palmitat pada keju.

Kata Kunci: asam palmitat, keju, kromatografi gas – Spektroskopi massa

THE EFFECT OF STORAGE TO PALMITAT ACID LEVELS OF CHEESE THAT ANALYSED WITH GAS CHROMATOGRAPHY – MASS SPECTROSCOPY (GC-MS)

Lisa Yuhana
S1 Pharmacy Study Program

ABSTRACT

Cheese is one of the food products that is no stranger to society. This product has been used in various foods as basic ingredients as well as additives. This has led to an increase in cheese consumption in Indonesia. One of the fatty acid content in cheese is palmitic acid which has important benefits in the body if consumed in accordance with applicable recommendations. One of them can improve blood fat profiles by increasing HDL levels in the blood. The amount of palmitic acid in cheese is influenced by the long storage time, where the longer the cheese storage is carried out, the higher the palmitic acid content in it. This study was conducted to examine the effect of storage time on palmitic acid levels in cheese. The samples were extracted using a mixture of chloroform: methanol (2: 1 v / v) and esterified with methanol using KOH base catalyst, then analysis of palmitic acid levels was carried out by gas chromatography - mass spectroscopy and to find out the differences were analyzed using one way ANOVA. The 3 samples analyzed were cheese with a storage of 2 months, 4 months and 7 months which had palmitic acid levels of 22.91%; 42.39% and 43.57%. Based on the analysis using one way ANOVA, the three samples stated that the storage time affected the amount of palmitic acid in cheese.

Keywords: palmitic acid, cheese, gas chromatography - mass spectroscopy

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Dimasa sekarang keju merupakan salah satu produk pangan yang tidak asing lagi di masyarakat. Produk ini telah digunakan dalam berbagai makanan sebagai bahan dasar maupun sebagai bahan tambahan. Hal ini menyebabkan meningkatnya konsumsi keju di Indonesia. Berdasarkan data tahun 2002, kebutuhan keju di Indonesia terus meningkat. Konsumsi keju nasional sebesar 8000 ton per tahun dan meningkat 20 % dibandingkan tahun 2011 (Kemenperin, 2016). Konsumsi keju pada tahun 2013 meningkat mencapai 19.000 ton per tahun dan pada 3 tahun terakhir ini peningkatan konsumsi keju di Indonesia mencapai 30 %. Sebagian besar kebutuhan keju dipenuhi dengan cara impor. Indonesia mengimpor keju dari Amerika Serikat sebesar 2.726 ton. Impor keju ini terus meningkat sebesar 5,96 % per tahun (BPS, 2014). Keju yang beredar di Indonesia mayoritas merupakan keju yang berbahan dasar susu atau *dairy cheese*. Keju cheddar merupakan salah satu jenis keju yang menguasai 61% penjualan di Indonesia.

Asam palmitat merupakan salah satu asam lemak bebas terbesar di dalam keju. Asam palmitat ini memiliki manfaat yang penting dalam tubuh yaitu dapat memperbaiki profil lemak darah dengan meningkatkan kadar HDL dalam darah. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa mengkonsumsi asam palmitat yang terdapat dalam lemak susu dapat memberikan efek yang buruk terhadap kesehatan seperti meningkatkan risiko *Cardiovascular Disease* (CVD). Namun penelitian terbaru mengatakan bahwa mengkonsumsi asam palmitat pada produk olahan susu dapat mempengaruhi hasil positif pada kesehatan dengan efek netral yang diberikan pada lemak darah. Di sisi lain, hal itu menetapkan bahwa jumlah karbohidrat di dalam makanan dapat mengatur sintesis dan metabolisme lemak jenuh pada manusia (gomes-cortes *et al*, 2018).

Salah satu faktor yang mempengaruhi banyaknya kadar asam palmitat di dalam keju yaitu lama penyimpanan. Semakin lama penyimpanan keju yang dilakukan maka kadar asam palmitat akan semakin tinggi. Hal ini dapat dikarenakan adanya aktifitas enzim lipolitik yang lebih tinggi di dalam keju atau enzim mikroorganisme baik yang disengaja maupun yang tidak disengaja memiliki akses yang lebih besar dalam proses pemisahan lemak. Proses lipolisis pada produk susu dapat melalui 3 sumber yaitu lipolisis terinduksi yang dipengaruhi oleh beberapa faktor salah satunya yaitu perubahan suhu dan penyimpanan. Kemudian lipolisis spontan yang dipengaruhi oleh faktor pengolahan susu dan pemerahan susu, dan yang terakhir yaitu lipolisis mikroba yang disebabkan oleh mikroba pencemar yang dapat membuat keju menjadi tengik (Nouira, W *et al*, 2011).

Penentuan kadar asam palmitat pada keju dapat dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas spektroskopi massa. Pemilihan kromatografi gas didasarkan pada selektif dan sensitifitasnya dalam menganalisis. Selain itu penggunaan kolom yang panjang juga dapat menghasilkan pemisahan yang tinggi. Asam palmitat memiliki titik didih yang tinggi namun dapat dibuat metil esternya agar titik didih menjadi rendah dan sesuai jika digunakan alat kromatografi gas. Penggunaan spektroskopi massa dikarenakan detektor ini akan menampilkan informasi data struktur senyawa kimia yang belum diketahui dan detektor ini dapat digunakan untuk hampir semua jenis senyawa volatil (Gandjar & Rohman, 2007).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hayaloglu dan Karabulut (2013) membandingkan komposisi total asam lemak bebas pada 11 jenis keju turki menggunakan metode kromatografi gas dengan detektor ionisasi nyala. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa 11 jenis keju turki memiliki profil asam lemak bebas yang berbeda. Konsentrasi asam lemak bebas dari sebagian besar jenis keju dipengaruhi oleh proses pembuatan dan kondisi pemasakan. Diantara total asam lemak bebas, diketahui asam palmitat dan asam oleat adalah asam lemak yang utama pada semua jenis keju. Masing – masing kadar asam palmitat dan asam oleat adalah 19,9 – 356,7 mg/100g dan 17,6 – 386,3 mg/100g.

Berdasarkan dari uraian diatas, maka peneliti tertarik ingin melakukan penelitian yang ditujukan untuk melihat kadar asam palmitat di dalam keju dengan membandingkan lama penyimpanannya menggunakan metode kromatografi gas – spektroskopi massa, sehingga dapat memberikan pengetahuan kepada masyarakat bahwa keju dengan lama penyimpanan tertentu dan dalam jumlah tertentu yang dapat dikonsumsi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas rumusan masalah yang akan diteliti adalah

1. Berapa kadar asam palmitat yang terdapat dalam beberapa keju dalam berbagai waktu penyimpanan dengan metode kromatografi gas spektroskopi massa ?
2. Berapa perbedaan kadar asam palmitat yang terdapat dalam beberapa keju dengan berbagai waktu penyimpanan ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah

1. Untuk mengetahui kadar asam palmitat yang terdapat dalam beberapa keju dalam berbagai waktu penyimpanan dengan metode kromatografi gas spektroskopi massa
2. Untuk mengetahui perbedaan kadar asam palmitat yang terdapat dalam beberapa keju dalam berbagai waktu penyimpanan

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

1. Peneliti dapat mengetahui kadar asam palmitat pada produk keju yang dianalisis dengan metode kromatografi gas spektroskopi massa
2. Peneliti dapat mengetahui perbedaan kadar asam palmitat pada produk keju dalam berbagai waktu penyimpanan

1.4.2 Manfaat Bagi Pemangku Kebijakan

Dapat dijadikan sebagai bahan informasi terkait dengan produk keju

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

1. Dapat mengetahui lebih jauh kandungan asam palmitat yang terdapat dalam produk keju.
2. Dapat mengetahui batasan konsumsi keju per harinya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Keju

Keju adalah produk segar atau hasil pemeraman berbentuk padat atau semi padat yang diperoleh dengan cara menggumpalkan susu, krim, susu skim, komponen susu, susu rekombinasi, susu rekonstitusi atau campurannya dengan rennet atau enzim penggumpal (asal hewan, tanaman atau mikroba) atau asam dengan persyaratan kadar lemak susu dan kadar air yang tergantung dari jenisnya (Kementan RI, 2011).

Keju merupakan produk pangan olahan yang dibuat dari penggumpalan bagian kasein dari susu dan susu skim. Penggumpalan ini terjadi dengan adanya enzim atau dengan peningkatan keasaman susu. Keju adalah salah satu bahan pangan berasal dari susu sebagai upaya memperpanjang masa simpan susu tersebut (Murti dan Hidayat, 2009). Penggumpalan kasein dapat disebabkan oleh penambahan enzim rennet atau enzim proteolitik lainnya yang dihasilkan oleh bakteri (Sari, 2014).

2.1.1 Jenis – jenis Keju

Menurut *Codex Alimentarius International food standards* (2018), keju dapat dibedakan berdasarkan teksturnya menjadi :

1. Keju lunak (*Soft*)

Keju ini memiliki kadar air yang tinggi yaitu lebih dari 40 %, sehingga dapat menjaga kelembutan dari keju. Selama pembuatan keju ini tidak ditekan atau diperas. Contohnya *Cottage, ricotta, mozzarella*.

2. Keju setengah lunak (*Semi-Soft*)

Keju ini memiliki tekstur yang setengah lunak. Keju setengah lunak memiliki kadar air 36 – 40 %, keju tipe ini sangat cocok digunakan untuk diletakkan diatas makanan yang dipanggang atau makanan ringan. Contohnya *Brie, Camembert, Limburger, Fetta*.

3. Keju setengah keras (*Semi-Hard*)

Keju setengah keras memiliki kadar air 25 – 36 %. Memiliki konsistensi yang agak empuk dan lembut. Contohnya *blue cheese*

4. Keju keras (*Hard*)

Keju ini memiliki sedikit kadar air yaitu kurang dari 25% dan memiliki rasa yang kuat. Keju ini biasanya dibungkus di bawah tekanan yang besar dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama dibandingkan dengan keju lunak. Contohnya *Edam, Cheddar, dan Parmesan*.

2.1.2 Kandungan Gizi Keju

Kandungan gizi keju seperti protein, kalsium, karbohidrat, lemak, zat besi dan fosfor akan menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan susu segar. Mengonsumsi keju sebanyak 100 g per hari akan menambah kebutuhan kalsium sebanyak 20-25%. Keju adalah makanan yang sangat baik dalam membantu pertumbuhan tulang dan gigi terutama pada masa pertumbuhan anak – anak (Anjarsari, 2010). Berikut adalah tabel nilai gizi keju dalam 100 g :

Tabel II.1 Nilai gizi keju dalam 100 g (Anjarsari, 2010) :

No.	Jenis	Nilai
1.	Protein	26 g
2.	Lemak	33,5g
3.	Kalsium	800 g
4.	Besi	0,5 g
5.	Tiamin	0,4 g
6.	Vit. A	310 g
7.	Riboflavin	0,5 mg
8.	Vit. C	0 mg
9.	Asam nikotin	0,5 mg
10.	Energi	406 kkal

2.2 Asam Lemak Bebas

Asam lemak bebas adalah asam lemak yang berada sebagai asam bebas tidak terikat sebagai trigliserida. Asam lemak bebas dihasilkan oleh proses hidrolisis dan oksidasi biasanya bergabung dengan lemak netral (Linder, 2010).

Jaringan lemak melepaskan asam lemak bebas dan gliserol ke dalam darah, dimana asam lemak tersebut diangkut albumin ke hampir semua organ. Disisi lain gliserol menuju terutama ke dalam hati dan sedikit ke dalam ginjal, tempat yang dapat digunakan hanya pada jaringan. Proporsi asam lemak bebas yang lebih besar dalam sirkulasi dikonversi menjadi badan – badan keton, yang merupakan prinsip dalam hati. Badan – badan keton adalah energi yang lebih larut dalam air daripada asam lemak (Linder, 2010).

Asam lemak bebas terbentuk karena proses oksidasi dan hidrolisa enzim selama pengolahan dan penyimpanan. Dalam bahan pangan, asam lemak dengan kadar yang besar dari berat lemak akan mengakibatkan rasa yang tidak diinginkan dan kadang – kadang dapat meracuni tubuh (Almatsier, 2011).

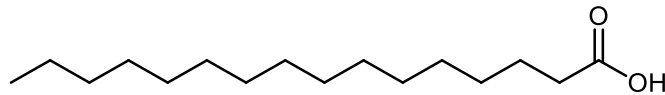
2.2.1 Klasifikasi asam lemak bebas

Macam – macam asam lemak bebas yang paling banyak terdapat di dalam keju diantaranya :

1. Asam palmitat

Asam palmitat atau asam heksadekanoat adalah satu dari sebagian besar asam lemak jenuh yang dapat ditemukan pada hewan misalnya sapi, tumbuhan misalnya avokado, kelapa, wijen, jagung, kedelai, kemiri dan kacang tanah dan mikroorganisme. Selain itu juga terdapat pada mentega, keju, susu dan daging. Asam palmitat merupakan asam lemak jenuh berantai panjang yang memiliki 16 atom karbon (C), Dengan rumus kimia $C_{16}H_{32}O_2$. Memiliki berat molekul sebesar 256,43 g/mol. Titik didihnya 351,5°C sedangkan titik lelehnya 61,8°C. Bentuknya berupa padatan tidak berwarna atau kristal putih, larut dalam alkohol panas atau dingin, eter, propil alkohol, sangat mudah larut dalam kloroform, juga mudah bercampur pada etil eter, dalam air asam palmitat dapat larut 0,4 mg/L pada suhu 25°C (Pubchem, 2018). Manfaat asam palmitat bagi kesehatan yaitu dapat meningkatkan kadar HDL sehingga memperbaiki profil lemak (Barack *et al*, 2018). Selain itu, menurut Agostini (2015), asam palmitat merupakan komponen penting dalam membran sel, sekretori dan transportasi lipid, serta meningkatkan nilai HDL

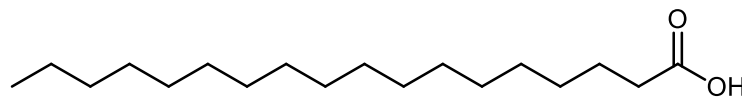
lebih banyak dibandingkan dengan lemak mono dan poli tak jenuh, tanpa efek signifikan pada nilai total kolesterol. Struktur kimia asam palmitat dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Asam palmitat

2. Asam stearat

Asam stearat atau yang biasa disebut dengan asam oktadekanoat merupakan asam lemak jenuh rantai panjang yang memiliki 18 atom karbon (C). Asam stearat dapat ditemukan pada beberapa macam hewan dan tumbuhan yang mengandung lemak, juga merupakan komponen yang banyak terdapat pada mentega. Memiliki rumus kimia $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$ atau $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_2$ dengan berat molekul 284,484 g/mol. Bentuknya berupa padatan berwarna putih, mengapung di air. Memiliki titik didih 383°C dan titik leleh $69,3^\circ\text{C}$. Asam stearat sedikit larut dalam alkohol dan eter, larut dalam aseton, kloroform. Kelarutannya di dalam air 0,568 mg/L pada suhu 25°C (Pubchem, 2018). Manfaat asam stearat bagi kesehatan yaitu dapat menurunkan kadar LDL, meningkatkan kadar HDL, sehingga asam stearat memberikan efek yang baik bagi profil lipid (O'Connor & Rudkowska, 2018). Struktur kimia asam stearat dapat dilihat pada Gambar 2.2

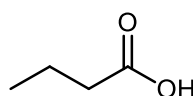


Gambar 2.2 Asam stearat

3. Asam butirat

Asam butirat atau yang disebut dengan asam butanoat merupakan asam lemak jenuh rantai pendek yang memiliki 4 atom karbon (C). Asam ini dapat

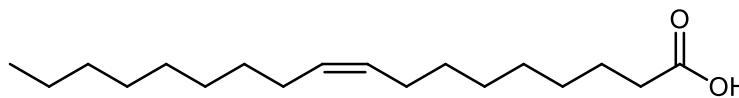
ditemukan pada bentuk ester lemak hewan dan minyak tumbuhan, dapat juga ditemukan di mentega dan keju. Asam butirat bersama dengan mikroorganisme dapat memfermentasikan karbohidrat dan diduga dapat menekan *colorectal cancer*. Asam butirat juga dapat digunakan dalam pengobatan *irritable bowel syndrome* (Zaleski, 2013). Asam butirat memiliki rumus kimia $C_4H_8O_2$ dengan berat molekul 88,106 g/mol. Titik didihnya sebesar $163,5^{\circ}C$ dan titik lelehnya $-7,9^{\circ}C$. Bentuknya cairan tidak berwarna dengan bau yang tidak menyenangkan dan bersifat korosif. Asam butirat dapat larut pada etanol dan eter juga pada air (Pubchem, 2018). Struktur kimia asam butirat dapat di lihat pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Asam butirat

4. Asam oleat

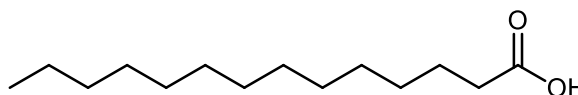
Asam oleat merupakan asam lemak tak jenuh yang secara luas terdistribusi dan melimpah pada asam lemak di alam. Komponen yang banyak terdapat pada minyak tumbuhan seperti minyak zaitun dan minyak almond. Memiliki rumus kimia $C_{18}H_{34}O_2$, dengan berat molekul 282,468 g/mol. Asam oleat dapat berupa cairan tidak berwarna sampai berwarna kuning dengan sedikit berbau dan mengapung di air. Titik didihnya $360^{\circ}C$ dan titik lelehnya $13,4^{\circ}C$. Memiliki kelarutan pada kloroform, etanol, eter, aseton dan metanol. Praktis tidak larut dalam air (Pubchem, 2018). Manfaat asam oleat pada kesehatan yaitu dapat mengatur kadar kolesterol dalam plasma dan hati, menurunkan daerah protrombotik, memodifikasi pelekatan platelet, koagulasi dan fibrinolisis. Kemudian dapat menurunkan tekanan darah pada laki – laki maupun perempuan dan pasien hipertensi yang efektif dalam meurunkan tekanan sistol maupun diastol (Gnoni *et al*, 2010). Struktur kimia asam oleat dapat di lihat pada Gambar 2.4



Gambar 2.4 Asam oleat

5. Asam miristat

Asam miristat merupakan asam lemak jenuh rantai panjang yang memiliki 14 atom karbon (C). Dapat ditemukan pada minyak palem, minyak kelapa dan mentega juga pada lemak hewan. Memiliki rumus kimia $C_{14}H_{28}O_2$ dengan berat molekul sebesar 228,376 g/mol. Titik didihnya $326,2^{\circ}C$ dan titik lelehnya $53,9^{\circ}C$. Bentuknya berupa padatan kristal berwarna putih dan berminyak. Asam miristat sedikit larut pada etil eter. Larut pada etanol, aseton, kloroform, metanol dan sangat larut dalam benzena (Pubchem, 2018). Manfaat asam miristat bagi kesehatan yaitu dapat meningkatkan kadar HDL sehingga memperbaiki profil lemak (Barack *et al*, 2018). Struktur kimia asam miristat dapat di lihat pada gambar 2.5

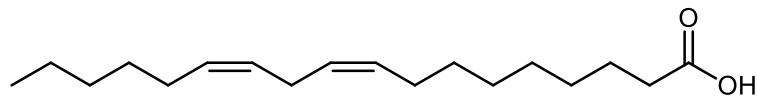


Gambar 2.5 Asam miristat

6. Asam linoleat

Asam linoleat atau yang lebih di kenal dengan asam lemak omega 6 yang merupakan *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA). Asam linoleat banyak ditemukan pada minyak tumbuhan. Bentuknya dapat berupa cairan tidak berwarna, memiliki rumus kimia $C_{18}H_{32}O_2$ dengan berat molekul 280,452 g/mol. Titik didihnya $230^{\circ}C$ pada tekanan 16 mm Hg, dan $202^{\circ}C$ pada tekanan 1,4 mm Hg sedangkan titik lelehnya $-6,9^{\circ}C$. Asam linoleat sangat larut dalam aseton, benzena, etil eter dan etanol, larut dalam eter, pada air 1,59 mg/L pada suhu $25^{\circ}C$ (Pubchem, 2018). Manfaat asam linoleat bagi kesehatan adalah dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah sehingga dapat menurunkan resiko perkembangan aterosklerosis dan menekan

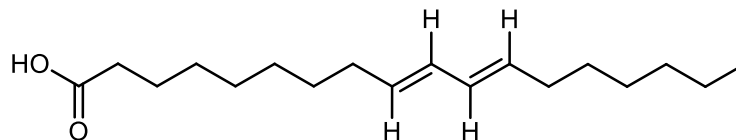
pertumbuhan tumor (Jandacek, 2017). Struktur kimia asam linoleat dapat di lihat pada Gambar 2.6



Gambar 2.6 Asam linoleat

7. Asam linoleat terkonjugasi

Asam linoleat terkonjugasi adalah istilah yang diberikan kepada kelompok dari asam linoleat yang mengubah posisi dan geometris isomernya (cis-9, cis-12, C18:2 LA) dimana terdapat *double bond* yang terkonjugasi. Masing – masing *double bond* dapat berupa *cis* atau *trans* yang mungkin diberikan pada isomer asam linoleat terkonjugasi. Asam ini dapat ditemukan pada makanan yakni daging merah dan produk susu. Asam linoleat terkonjugasi memiliki rumus kimia $C_{18}H_{32}O_2$ dengan berat molekul 280.452 g/mol (Pubchem, 2018). Manfaat asam linoleat terkonjugasi bagi kesehatan yaitu efektif dalam menekan perkembangan tumor selama masa awal dan fase pertumbuhan dari kanker. Bukan hanya itu saja, tetapi dapat juga digunakan sebagai antiaterogenik, imunomodulasi dan antidiabetik (Chinnadurai & Kyagi, 2011). Struktur kimia asam linoleat terkonjugasi dapat di lihat pada Gambar 2.7



Gambar 2.7 Asam linoleat terkonjugasi

2.3 Manfaat Asam Lemak Bebas

Asam lemak bebas merupakan prekursor penting dalam reaksi katabolik yang akan memproduksi komponen volatil seperti ester, alkohol, aldehida, keton,

lakton dan komponen yang berkontribusi dalam rasa keju (Hayaloglu & Karabulut, 2013). Komponen yang berkontribusi dalam rasa keju khususnya pada asam lemak bebas rantai pendek dan rantai sedang, sedangkan asam lemak bebas rantai panjang kurang berpengaruh dalam pemberian rasa keju. Misalnya asam butirir yang menghasilkan rasa yang khas yaitu pahit/getir dan asin terhadap beberapa keju internasional. Seperti halnya pada asam kaproat dan asam kaprilat yang juga mempunyai peranan penting dalam menciptakan rasa pada keju. Sedangkan asam kaprat, asam laurat dan asam miristat memberikan rasa manis pada keju (Delgado, 2011).

Asam lemak bebas khususnya asam linoleat terkonjugasi memiliki manfaat baik bagi kesehatan diantaranya antikarsinogenik, antiaterogenik, antidiabet, *coronary heart disease*, mempunyai daya antioksidan, meningkatkan sistem imun, dan membantu dalam menurunkan berat badan (Vieitez, 2013).

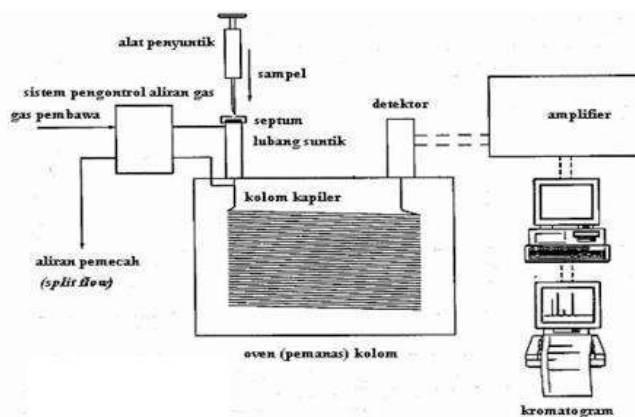
Asam palmitat dan asam miristat merupakan asam lemak yang keduanya memiliki manfaat dalam meningkatkan kadar HDL sehingga memperbaiki profil lemak (Barack *et al*, 2018). Asam stearat memiliki manfaat bagi kesehatan yaitu dapat menurunkan kadar LDL, meningkatkan kadar HDL, sehingga asam stearat memberikan efek yang baik bagi profil lipid (O'Connor & Rudkowska, 2018). Selanjutnya, di dalam tubuh manusia asam butirir bersama dengan mikroorganisme dapat memfermentasikan karbohidrat dan diduga dapat menekan *colorectal cancer*. Asam butirir juga dapat digunakan dalam pengobatan *irritable bowel syndrome* (Zaleski, 2013).

Asam oleat memiliki manfaat bagi kesehatan yaitu dapat mengatur kadar kolesterol dalam plasma dan hati, menurunkan daerah protrombotik, memodifikasi pelekatan platelet, koagulasi dan fibrinolisis. Asam oleat dapat menurunkan tekanan darah pada laki – laki maupun perempuan dan pasien hipertensi yang efektif dalam menurunkan tekanan sistol maupun diastol (Gnoni *et al*, 2010). Asam linoleat dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah sehingga dapat menurunkan resiko perkembangan aterosklerosis dan menekan pertumbuhan tumor (Jandacek, 2017). Asam linoleat terkonjugasi efektif dalam menekan perkembangan tumor selama masa awal dan fase pertumbuhan dari

kanker. Asam linoleat terkonjugasi juga dapat digunakan sebagai antiaterogenik, imunodulasi dan antidiabetik, mempunyai daya antioksidan, meningkatkan sistem imun, dan membantu dalam menurunkan berat badan (Chinnadurai & Kyagi, 2011).

2.4 Kromatografi Gas

Kromatografi gas merupakan metode pemisahan yang dinamis yang digunakan untuk identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap pada analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran. Fase gerak yang digunakan pada instrumen ini berupa gas untuk fasa diam berupa padatan (kolom). Fase gerak akan melulusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Komponen terpisah menuju detektor dan menghasilkan sinyal listrik yang besarnya proporsional dengan komponen tersebut. Sinyal akan diperkuat oleh amplifier dan di catat oleh *recorder* dalam bentuk kromatogram berupa *peak* (Sudjadi, 2007). Alur kromatografi gas dapat dilihat pada Gambar 2.8



Gambar 2.8 Kromatografi Gas (Kealey dan Haines, 2002)

2.4.1 Prinsip Kromatografi

Prinsip kromatografi gas adalah teknik pemisahan dimana solut yang mudah menguap akan bermigrasi melalui kolom yang mengandung fase diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Secara umum, solut akan terelusi menurut peningkatan titik didihnya, kecuali jika ada interaksi

khusus antara solut dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solut dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Penggunaan suhu yang meningkat bertujuan untuk menjamin bahwa solut akan menguap dan cepat terelusi (Gandjar, 2007).

2.4.2 Fase gerak kromatografi gas

Fase gerak pada kromatografi gas disebut juga dengan gas pembawa karena tujuan awalnya adalah untuk membawa solut ke kolom. Syarat gas pembawa adalah tidak reaktif, murni/kering dan dapat disimpan dalam tangki tekanan tinggi. Gas pembawa biasanya mengandung gas helium, nitrogen, hidrogen, atau campuran argon dan metana. Pemilihan gas pembawa tergantung pada penggunaan spesifik dan jenis detektor yang digunakan (Gandjar, 2007).

Tabel II.2 Contoh gas pembawa dan detektor (Gandjar, 2007)

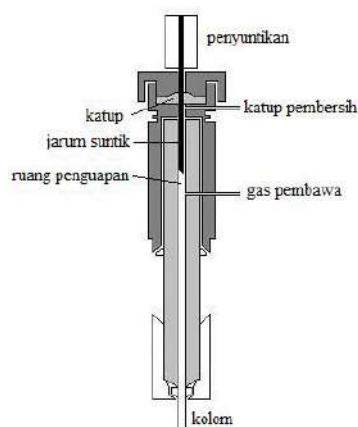
No	Gas pembawa	Detektor
1.	Hidrogen	Hantar panas Hantar panas
2.	Helium	Ionisasi nyala Fotometri nyala Termoionik Ionisasi nyala
3.	Nitrogen	Tangkap elektron Fotometri nyala Termoionik
4.	Argon	Ionisasi nyala
5.	Argon + metana 5 %	Tangkap elektron
6.	Karbondioksida	Hantar panas

Tabel II.3 Jenis – jenis detektor dan jenis – jenis sampelnya (Gandjar, 2007)

No.	Jenis detektor	Jenis sampel
1.	Hantar panas	Senyawa umum
2.	Ionisasi nyala	Hidrokarbon
3.	Penangkap elektron	Halogen organik,pestisida
4.	Nitrogen-fosfor	Senyawanitrogen organik dan fosfat organik
5.	Fotometri nyala (393 nm)	Senyawa – senyawa sulfur
6.	Fotometri nyala (526 nm)	Senyawa – senyawa fosfor
7.	Fotoionisasi	Senyawa – senyawa yang terionisasi dengan UV
8.	Konduktivitas elektrolitik	Halogen, N,S
9.	Fourier <i>transform</i> -infrared (FT-IR)	Senyawa – senyawa organik
10.	Selektif massa	Sesuai untuk senyawa apapun
11.	Emisi atom	Sesuai untuk elemen apapun

2.4.3 Injektor sampel

Fungsi dari ruang ini yaitu untuk menghantarkan sampel ke dalam aliran gas pembawa. Penyuntikan dapat dilakukan secara manual atau otomatis yang dapat menyesuaikan jumlah sampel. Injektor harus dipanaskan tersendiri dan biasanya 10 – 15°C lebih tinggi dari suhu kolom maksimum. Jadi seluruh sampel akan menguap segera setelah disuntikkan (Gandjar, 2007). Gambar injektor dapat dilihat pada Gambar 2.9

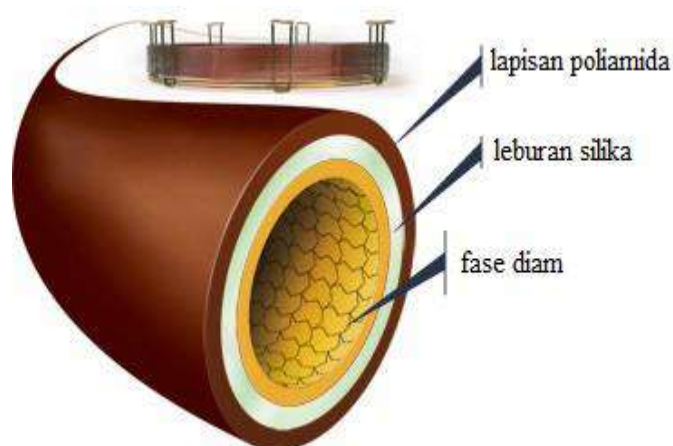
**Gambar 2.9** Injektor (Kealey and Haines, 2002)

2.4.4 Kolom

Kolom adalah tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam. Kolom merupakan komponen sentral pada kromatografi gas. Terdapat dua jenis kolom pada kromatografi gas yaitu kolom kemas (*Packing column*) dan kolom kapiler (*capillary column*). Kolom kemas terdiri dari fase cair yang tersebar pada permukaan penyangga yang lembam (inert) yang terdapat dalam tabung yang relatif besar (diameternya 1-3 mm) (Gandjar, 2007).

Fase diamnya hanya dilapiskan saja pada penyangga. Kolom kapiler jauh lebih kecil (diameternya 0,0-0,2 mm) dan dinding kapilernya bertindak sebagai penyangga lembam untuk fase diam cair. Fase diam dilapiskan pada dinding kolom yang kemudian bercampur dengan penyangga lembam yang sangat halus untuk memperbesar luas permukaan yang efektif (Gandjar, 2007). Gambar untuk struktur kolom dapat dilihat pada Gambar 2.10

Kolom VF-5MS merupakan kolom fenil-metil 5% inert yang dapat meningkatkan sensitifitas, akurasi dan waktu retensi. Kolom ini memiliki panjang 30 m dan diameter 0,25 mm. Kolom ini sedikit lebih polar, menghasilkan selektifitas yang bagus pada komponen aromatik. Digunakan untuk pemisahan senyawa polar maupun semi polar karna memiliki cakupan yang luas (Agilent, 2018).



Gambar 2.10 Kolom kapiler (Gauglitz & Vo-Dinh, 2003)

2.4.5 Detektor

Detektor adalah komponen yang diletakkan di ujung kolom tempat keluarnya gas pembawa yang membawa komponen hasil pemisahan. Detektor pada kromatografi merupakan suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen - komponen didalamnya menjadi sinyal elektronik. Sinyal elektronik detektor sangat berguna untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif terhadap komponen yang terpisah diantara fase diam dan fase gerak. Hasil kromatografi gas disajikan dalam bentuk kromatogram sebagai deretan luas puncak terhadap waktu. Waktu tambat tertentu digunakan sebagai data kualitatif, sedangkan luas puncak digunakan sebagai data kuantitatif yang keduanya dikonfirmasi dengan senyawa baku (Gandjar, 2007).

Jenis – jenis detektor yang sering digunakan dalam kromatografi gas yaitu:

1. Detektor hantar panas (*Thermal Conductivity Detector* = TCD)

Detektor ini didasarkan pada panas yang dihantarkan dari benda yang bersuhu tinggi ke benda lain yang bersuhu lebih rendah. Kecepatan penghantarannya tergantung pada susunan gas yang mengelilinginya. Setiap gas memiliki daya hantar panas yang kecepatannya adalah fungsi dari laju pergerakan molekul gas yang pada suhu tertentu merupakan fungsi dari berat molekul gas. Gas yang mempunyai berat molekul rendah mempunyai daya hantar lebih tinggi (Gandjar, 2007).

2. Detektor ionisasi nyala (*Flame Ionization Detector* = FID)

Detektor ini mengukur jumlah atom karbon, dan bukan jumlah molekul seperti TCD. Hampir semua senyawa organik pada dasarnya dapat menggunakan detektor ini. Di samping itu respon FID yang sangat peka, dan linier ditinjau dari segi cuplikan dan teliti (Gandjar, 2007).

3. Detektor tangkap elektron (*Electron Capture Detector* = ECD)

Detektor ini didasarkan pada penangkapan elektron oleh senyawa yang mempunyai afinitas terhadap elektron bebas, yaitu senyawa yang mempunyai unsur – unsur elektronegatif. Bila fase gerak (gas pembawa N₂) masuk kedalam detektor maka sinar β akan mengionisasi molekul N₂ menjadi ion –

ion N_2^+ dan menghasilkan elektron bebas yang akan bergerak ke anoda dengan lambat (Gandjar, 2007).

4. Detektor fotometri nyala

Detektor ini didasarkan pada ketika senyawa yang mengandung sulfur atau fosfor dibakar dalam nyala hidrogen-oksigen, maka akan terbentuk spesies – spesies yang tereksitasi yang akan runtuh dan menghasilkan suatu emisi kemiluminesen yang spesifik yang dapat diukur pada panjang gelombang tertentu. Atom sulfur diukur pada panjang gelombang 393 nm, sedangkan fosfor diukur pada panjang gelombang 526 nm (Gandjar, 2007).

5. Detektor konduktifitas elektrolitik

Detektor ini spesifik digunakan untuk mendeteksi senyawa yang mengandung atom sulfur, nitrogen dan halogen. Detektor ini tersusun atas tungku (*furnace*) yang mampu memberikan suhu paling kecil 100°C . Efluen dari kolom akan memasuki tungku lalu dipriolisiskan dalam suatu udara yang kaya hidrogen atau oksigen. Hasil priolisis ini akan dicampur dengan pelarut yang sesuai dan menghasilkan suatu larutan yang bersifat konduktif. Adanya perubahan dalam konduktivitas dimonitor (Gandjar, 2007).

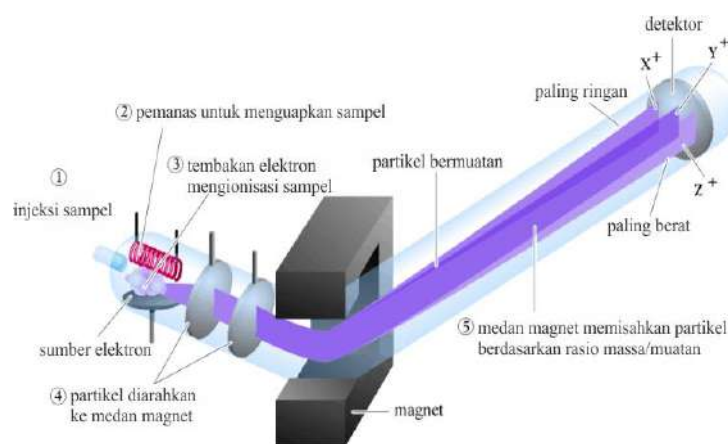
6. Detektor foto ionisasi

Detektor ini digunakan untuk mendeteksi senyawa aromatis, keton, aldehid, ester, amin, senyawa sulfur organik, senyawa anorganik seperti hidrogen sulfida, HI, HCl, klorin, iodium, dan fosfin. Detektor ini didasarkan pada suatu senyawa menyerap energi foton dari suatu lampu UV maka senyawa tersebut akan terionisasi. Senyawa yang terionisasi ini selanjutnya dikumpulkan dan banyaknya arus yang dihasilkan dimonitor (Gandjar, 2007).

7. Detektor spektroskopi massa

Detektor spektroskopi massa mampu memberikan informasi data struktur kimia senyawa yang tidak diketahui. Dengan spektroskopi massa untuk memonitor ion tunggal atau beberapa ion yang karakteristik dalam analit, maka batas deteksi ion – ion ini akan ditingkatkan (Gandjar, 2007). Sampel yang telah diinjeksikan dalam kromatografi gas kemudian melewati kolom hasilnya berupa molekul gas, dengan menggunakan detektor spektroskopi

massa maka molekul gas ini akan diionisasikan sehingga mengalami fragmentasi yang berupa ion – ion positif yang bertenaga tinggi. Ion – ion molekuler, ion pecahan, dan ion radikal pecahan dipisahkan oleh pembelokan dalam magnet yang dapat berubah sesuai dengan massa dan muatannya sehingga menimbulkan arus pada kolektor yang sebanding dengan limpahan relatifnya (Karliawan, 2009). Gambar spektroskopi massa dapat dilihat pada Gambar 2.11



Gambar 2.11 Spektrofotometer Massa (Gauglitz & Vo-Dinh, 2003)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi keju, kloroform, metanol, Butil Hidroksi Toluena (BHT), NaCl jenuh, KOH, hexana, Na₂SO₄ anhidrat, aquades, gas nitrogen.

3.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat kromatografi gas – spektroskopi massa, beaker glass, pipet ukur, mikro pipet, neraca analitik, alat sentrifugasi, cawan porselin.

3.3 Sampel

Sampel adalah sebagian objek penelitian atau objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi. Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive sampling*. *Purposive sampling* yaitu metode pengambilan sampel yang didasarkan pada suatu pertimbangan tertentu yang dibuat oleh peneliti (Notoatmodjo, 2012). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 3 macam merek keju yang diambil di salah satu toko di Tulungagung.

3.4 Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah keju.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar asam palmitat dalam keju.

3.5 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen/percobaan. Analisis kadar asam lemak bebas dilakukan secara kuantitatif menggunakan kromatografi gas

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel keju diambil 2,5 g menggunakan neraca analitik dalam cawan porselin atau gelas kimia. Kemudian dicampur dengan 25 mL larutan kloroform : Metanol (2:1 v/v) dan ditambahkan dengan larutan Butil Hidroksi Toluena (BHT) 0,001 %. Campuran diaduk sampai sampel keju terlarut, lalu ditambahkan 10 mL NaCl jenuh dan disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Kemudian akan terbentuk 3 lapisan dimana fase kloroform berada pada lapisan paling bawah lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45° C (Kim *et al*, 2014).

3.5.2 Proses Esterifikasi Sampel

Esterifikasi sampel didasarkan pada ISO 15884 dengan memasukkan 100 mg ekstrak lemak ke dalam tabung, lalu dilarutkan dalam 5 mL hexana, kemudian campuran diaduk hingga larut. Setelah itu ditambahkan larutan KOH dalam metanol dan diaduk selama 1 menit lalu didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 0,5 g Na₂SO₄ anhidrat dan diaduk, lalu dilakukan Sentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm.

3.5.3 Analisa Kualitatif dan Kuantitatif Asam Palmitat

Sampel diambil 3 merek keju kemudian dianalisis menggunakan kromatografi gas. Tujuan dari analisa kualitatif adalah untuk menentukan asam palmitat yang terkandung di dalam sampel dengan membandingkan waktu retensi sampel terhadap standar dan analisa kuantitatif digunakan untuk menentukan kadar asam palmitat di dalam sampel.

3.5.3.1 Pengujian Asam Palmitat Menggunakan Kromatografi Gas

Pengujian kadar asam palmitat dilakukan dengan cara menginjeksikan sampel yang telah dipreparasi ke dalam alat kromatografi gas dengan kondisi volume injeksi 2 µl, suhu oven dimulai dari 80°C (10 menit) kemudian dinaikkan menjadi 300°C dengan laju 10°C/menit (20 menit), suhu injektor 310°C, gas pembawa nitrogen dengan laju alir 1 mL/menit, kolom yang digunakan adalah tipe VF-5MS dengan panjang kolom 30 m dan diameter 0,25 mm.

3.5.3.2 Perhitungan Kadar Asam Palmitat

Perhitungan kadar asam palmitat dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Asam Palmitat (\%)} = \frac{\text{luas area as.palmitat}}{\text{luas area total}} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.1)$$

3.6 Analisis Data

Analisis data merupakan suatu cara yang dapat digunakan untuk mengolah data yang telah didapatkan sehingga diperoleh hasil analisis (Azwar, 2008). Data – data yang didapatkan dari penelitian tidak dapat digunakan secara langsung tetapi perlu diolah agar dapat memberikan keterangan yang dapat dipahami, jelas dan teliti. Analisis ini dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Analisis data yang dilakukan melalui tahapan berikut ini :

3.6.1 Analisis Variansi satu arah (*One Way ANOVA*)

Analisis *One Way Anova* digunakan untuk membedakan rata – rata sampel uji lebih dari dua jenis kelompok. Dalam penelitian ini digunakan untuk membuktikan bahwa lama penyimpanan keju akan mempengaruhi kadar asam palmitat didalamnya.

Interpretasi hasil *One Way Anova* dapat dilihat dari *probabilities values* dari uji F:

- *Probabilities values* > derajat keyakinan 0,05 maka H_0 diterima atau H_a di tolak. Artinya tidak terdapat pengaruh lama penyimpanan terhadap kadar asam palmitat di dalam keju.
- *Probabilities values* < derajat keyakinan 0,05 maka H_0 ditolak atau H_a di terima. Artinya terdapat pengaruh lama penyimpanan terhadap kadar asam palmitat di dalam keju.

3.6.2 Uji *Post-Hoc*

Uji *Post-Hoc* digunakan sebagai uji lanjutan dari analisis ANOVA. Uji *Post-Hoc* yang digunakan pada penelitian ini adalah Tukey HSD (*Honestly Significantly Different*), dimana uji ini digunakan untuk menguji masing – masing perbedaan rata – rata kelompok sampel dibanding standar erornya.

Interpretasi dari uji ini dapat dilihat dari *probabilities values* dari uji t:

- *Probabilities values* > derajat keyakinan 0,05 maka H_0 diterima atau H_a ditolak. Artinya tidak terdapat pengaruh antara awal penyimpanan dengan pertengahan penyimpanan dan juga akhir penyimpanan terhadap kadar asam palmitat di dalam keju.
- *Probabilities Values* < derajat keyakinan 0,05 maka H_0 ditolak dan H_a diterima. Artinya terdapat pengaruh antara awal penyimpanan dengan pertengahan penyimpanan dan juga akhir penyimpanan terhadap kadar asam palmitat di dalam keju.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung dan di ruang Instrumentasi Kromatografi Gas Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, tanggal 4 Maret – 9 April 2019. Penelitian ini menggunakan keju sebagai sampel penelitian. Keju dibeli dengan tiga variasi lama penyimpanan. Hasil penelitian yang sudah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut:

4.1 Pengambilan Sampel Keju

Sampel dalam penelitian ini diambil secara *purposive sampling*, dimana pengambilan sampel ini merupakan pengambilan sampel yang didasarkan pada suatu pertimbangan tertentu oleh peneliti. Pertimbangan yang diambil adalah jenis keju yang memiliki angka penjualan tertinggi serta keju dengan lama penyimpanan 2 bulan, 3 bulan, dan 7 bulan. Penelitian ini didapatkan 3 sampel keju yaitu keju jenis *cheddar* dengan penyimpanan 2 bulan, keju jenis *cheddar* dengan penyimpanan 4 bulan dan keju jenis *cheddar* dengan penyimpanan 7 bulan.

4.2 Preparasi Sampel Asam Palmitat

Proses preparasi sampel dilakukan melalui 2 tahapan yaitu proses ekstraksi dan proses esterifikasi. Proses ekstraksi dilakukan untuk menarik lemak yang terdapat di dalam keju untuk kemudian dilakukan proses esterifikasi. Ekstraksi merupakan suatu metode pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kelarutan terhadap dua cairan yang tidak larut (Khopkar, 2008).

Sampel keju ditimbang sebanyak 2,5 g menggunakan neraca analitik. Kemudian dicampur dengan 25 mL kloroform : metanol (2:1 v/v) di dalam gelas beaker. Pemilihan bahan pelarut ini sangat penting karena dapat mempengaruhi hasil dari kadar lemak yang diekstraksi. Salah satu faktor yang digunakan untuk

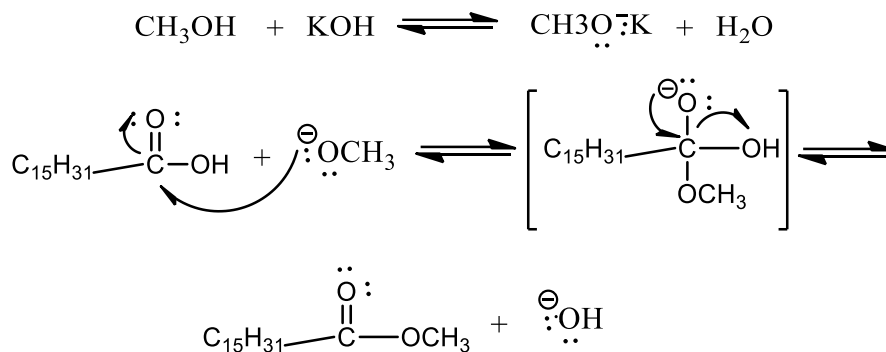
memilih pelarut yang sesuai yaitu dilihat dari tingkat derajat kepolarannya. Bahan atau zat yang polar akan larut pada pelarut yang polar begitu juga sebaliknya (Isa, 2011). Kloroform dan metanol digunakan untuk melarutkan lemak yang terdapat di dalam keju. Kloroform yang bersifat non polar akan melarutkan lemaknya sedangkan metanol yang bersifat polar akan mengikat air di dalam sampel. Penggunaan pelarut non polar yang semakin banyak akan menyebabkan semakin besar luas permukaan kontak antara solut dengan solven sehingga solut akan lebih mudah terlarut (Wijanarko & Putri, 2012).

Kemudian ditambahkan dengan Butil Hidroksi Toluena (BHT) 0,001 % dan diaduk. BHT merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dalam bahan yang mengandung lemak rendah atau tinggi (Cahyadi, 2005). Kemudian ditambahkan 10 mL NaCl jenuh dan disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Penambahan NaCl jenuh ini bertujuan untuk menghilangkan pengotor – pengotor yang ada pada proses ekstraksi, kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan fasa – fasa dalam ekstraksi sesuai dengan tingkat kepolarannya. Selanjutnya fasa kloroform (paling bawah) diambil dan dipekatkan. Diambil fasa kloroform karena sifat dari ekstrak lemak yang non polar sehingga cairan yang diambil adalah cairan yang non polar juga. Selanjutnya cairan kloroform dipekatkan. Hal ini bertujuan untuk menguapkan kloroform sehingga didapatkan ekstrak lemaknya saja.

Setelah diperoleh ekstrak kental selanjutnya dilakukan proses esterifikasi. Proses esterifikasi merupakan proses yang digunakan untuk mengubah asam lemak bebas menjadi larutan metil ester dengan mereaksikan asam lemak dan alkohol untuk memudahkan karakterisasi dan analisa. Perubahan asam lemak menjadi metil ester ini bertujuan untuk merubah lemak hasil hidrolisis yang bersifat nonvolatil (tidak mudah menguap) menjadi larutan yang volatil (mudah menguap) karena salah satu syarat analisis suatu senyawa menggunakan KG-SM adalah senyawa yang volatil (Kilo Dkk, 2014).

Esterifikasi dengan menggunakan katalis basa KOH, didalam reaksinya gugus alkoksida (:OR) dalam hal ini adalah metanol berperan sebagai nukleofil. Reaksi pembentukan ester dalam kondisi basa dengan ion alkoksida merupakan

suatu reaksi substitusi nukleofilik melalui pembentukan intermediet tetrahedral seperti Gambar 4.1



Gambar 4.1 Mekanisme Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Basa (Saefudin, 2005)

Esterifikasi yang dilakukan dengan menggunakan katalis basa akan berjalan lebih cepat dibandingkan dengan katalis asam karena di dalam larutan basa, karbonil akan diserang oleh nukleofil tanpa protonasi sebelumnya. Hasil reaksi esterifikasi dapat ditentukan melalui asam karboksilatnya dalam hal ini yaitu alkohol, dengan meningkatkan jumlah alkohol sampai berlebih yang dapat meminimalkan jumlah katalis basa alkali yang digunakan tetapi jika alkohol dibuat berlebih akan berpengaruh terhadap hasil yang diinginkan yaitu terdapat sisa air yang mengganggu hasil ester (Denniston Dkk, 2007).

Prosedur esterifikasi pada penelitian ini didasarkan pada ISO 15884 yaitu 100 mg ekstrak lemak di masukkan kedalam tabung, kemudian dilarutkan dalam 5 mL hexana dan diaduk. Selanjutnya ditambahkan larutan KOH-metanol 2 mL dan diaduk selama 1 menit dan didiamkan selama 5 menit. Metanol disini digunakan sebagai reaktan dan KOH digunakan sebagai katalis basa. Selanjutnya yaitu ditambahkan dengan 0,5 g Na_2SO_4 anhidrat dan diaduk. Penambahan Na_2SO_4 anhidrat ini bertujuan untuk mengikat sisa – sisa air yang terdapat di dalam larutan sehingga diperoleh larutan yang bebas dari kandungan air. Kemudian disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm yang bertujuan untuk semakin mengoptimalkan reaksi antara Na_2SO_4 dengan sisa air sehingga larutan yang didapatkan benar – benar terbebas dari air.

4.3 Uji Kualitatif dan Kuantitatif Asam Palmitat

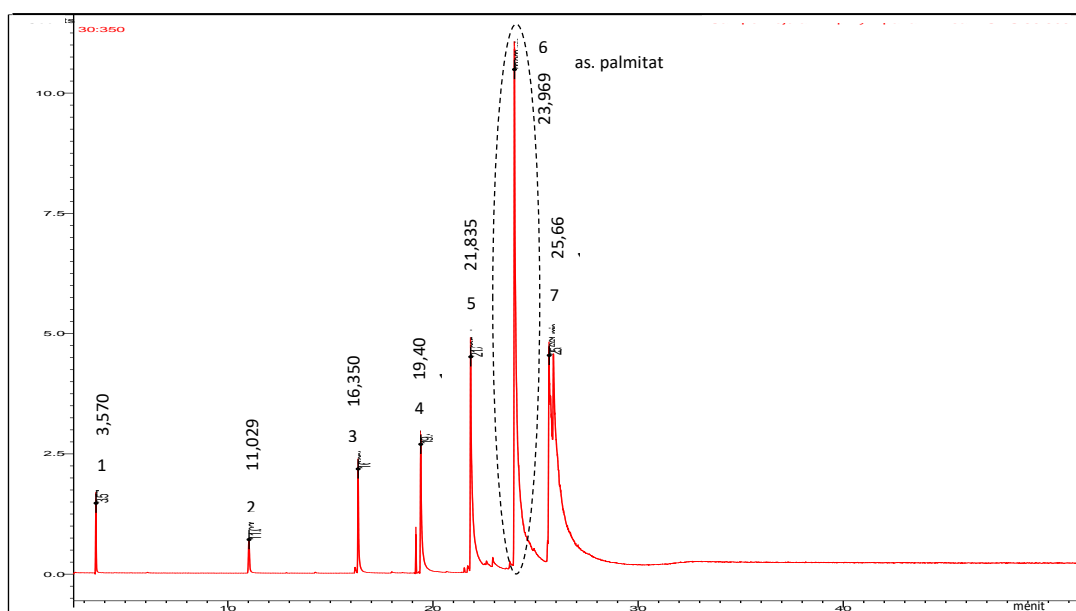
Uji kualitatif dan kuantitatif asam palmitat dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi gas spektroskopi massa. Pengujian ini dilakukan dengan menginjeksikan sampel yang telah dipreparasi kedalam alat kromatografi gas - spektroskopi massa dengan menginjeksikan sampel sebanyak 2 μ l, suhu oven yang digunakan dimulai pada suhu awal 80°C ditahan selama 10 menit, kemudian dinaikkan suhunya mencapai 300°C dengan laju kecepataannya 10°C/menit, pada suhu tersebut ditahan selama 20 menit. Kenaikan suhu secara bertahap atau suhu terprogram memiliki keuntungan mampu meningkatkan resolusi komponen – komponen dalam suatu campuran yang mempunyai titik didih pada kisaran yang luas. Selain itu, juga mampu mempercepat keseluruhan waktu analisis, karena senyawa – senyawa dengan titik didih tinggi akan terelusi lebih cepat (Gandjar & Rohman, 2007).

Suhu injektor yang digunakan 310°C dengan gas pembawa Nitrogen dengan laju alir 1 mL/menit. Gas pembawa nitrogen akan mencapai kinerja (efisiensi) yang optimum dengan *High Equivalent of Theoretical Plate* (HETP) minimum pada kecepatan alir yang lambat (10cm/detik). Meskipun begitu gas pembawa ini dipilih karena gas ini lebih aman dibandingkan dengan gas lain yang cenderung lebih mudah terbakar, cenderung lebih murah dan lebih mudah didapat. Selain itu gas pembawa nitrogen juga memenuhi persyaratan gas pembawa yaitu tidak reaktif, murni/kering, dan dapat disimpan dalam tangki bertekanan tinggi.

Kolom yang digunakan yaitu tipe VF-5MS merupakan kolom kapiler yang inert, mengandung 5 % fenil-metil. Memiliki panjang 30 m dengan diameter 0,25 mm dan ketebalan 0,25 μ m. Dipilih kolom tipe ini karena memiliki sensitifitas dan akurasi yang tinggi, serta memiliki *range* yang lebar sehingga mampu menganalisis senyawa polar maupun semipolar. Kolom ini sesuai digunakan untuk analisis kromatografi gas dengan spektroskopi massa (Agilent, 2018). Semakin sempit diameter kolom, maka efisiensi pemisahan kolom semakin besar atau puncak kromatogram yang dihasilkan semakin tajam (Gandjar, 2007).

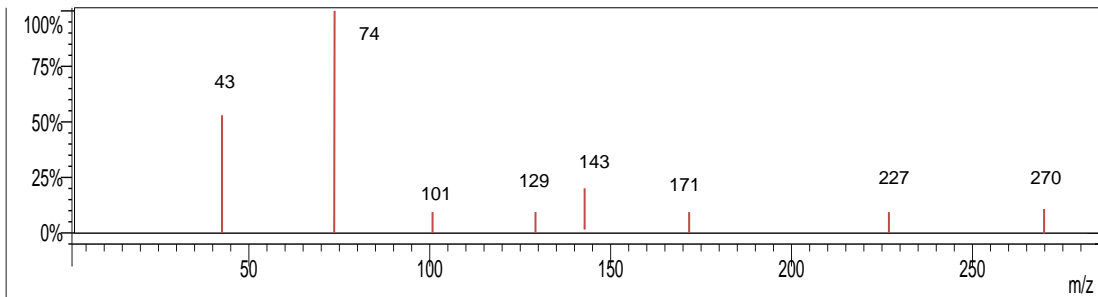
4.4 Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Asam Palmitat Menggunakan Kromatografi Gas - Spektroskopi Massa (KG-SM)

Analisis dengan menggunakan KG-SM terhadap hasil esterifikasi asam lemak untuk mengetahui adanya kandungan asam palmitat di dalam keju. Kromatogram ke-1 sampel keju penyimpanan 2 bulan yang dihasilkan oleh instrumen kromatografi gas diperoleh 7 puncak (*peak*) senyawa ester seperti pada Gambar 4.2. Puncak senyawa metil palmitat terletak pada puncak ke 6 dengan waktu retensi 23,969 menit dan luas area 22,91%.

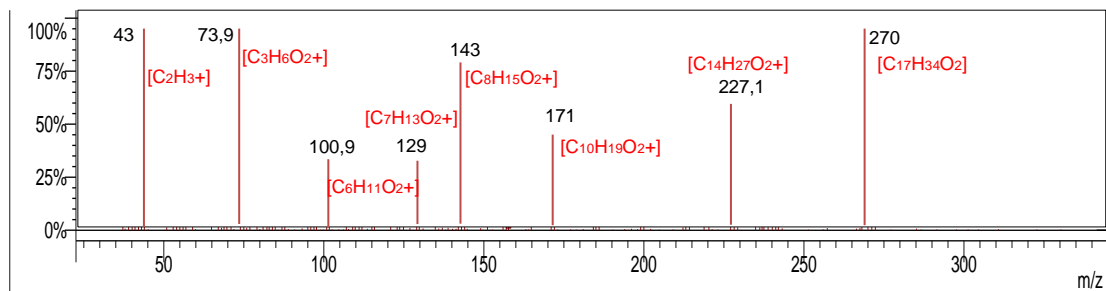


Gambar 4.2 Kromatogram KG Sampel Keju Penyimpanan 2 Bulan

Hasil kromatogram kromatografi gas dianalisis menggunakan spektrofotometer massa untuk mengetahui struktur senyawa dan berat molekul dapat terlihat dengan jelas. Gambar 4.3 menunjukkan spektra massa standar metil palmitat yang digunakan untuk membandingkan spektra dari sampel keju. Gambar 4.4 menunjukkan bahwa dalam spektrum massa puncak ke-6 merupakan senyawa yang memiliki berat molekul (m/z) 270, yang teridentifikasi adalah metil palmitat. Senyawa ini memiliki puncak dasar pada m/z 74 yang merupakan hasil fragmentasi ion *Mc Lafferty* (Rohan, 2005).

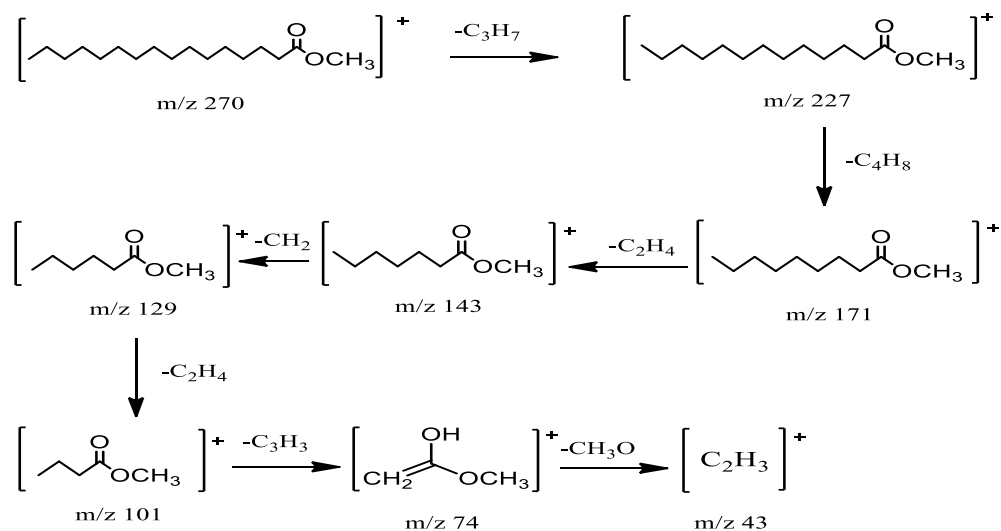


Gambar 4.3 Spektra Massa Standar Metil Palmitat



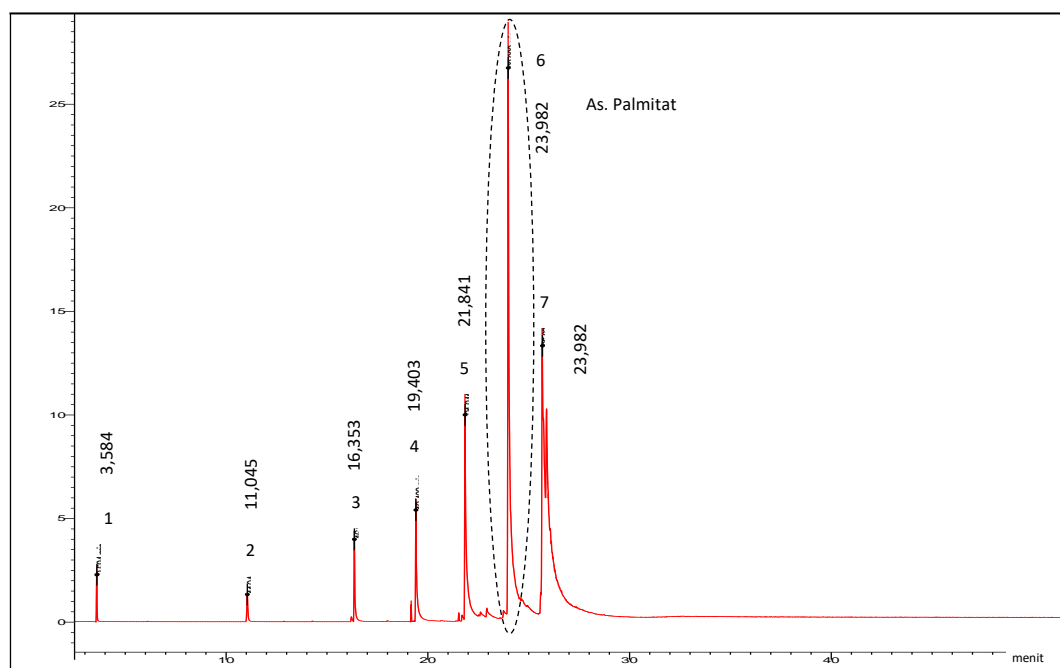
Gambar 4.4 Spektra Massa Metil Palmitat Sampel Keju Penyimpanan 2 Bulan

Puncak-puncak yang muncul pada fragmentasi senyawa tersebut yaitu m/z 270; 227,1; 171; 143; 129; 100,9; 73,9 dan 43. Kemungkinan pola fragmentasi yang muncul pada senyawa dapat dilihat pada Gambar 4.5



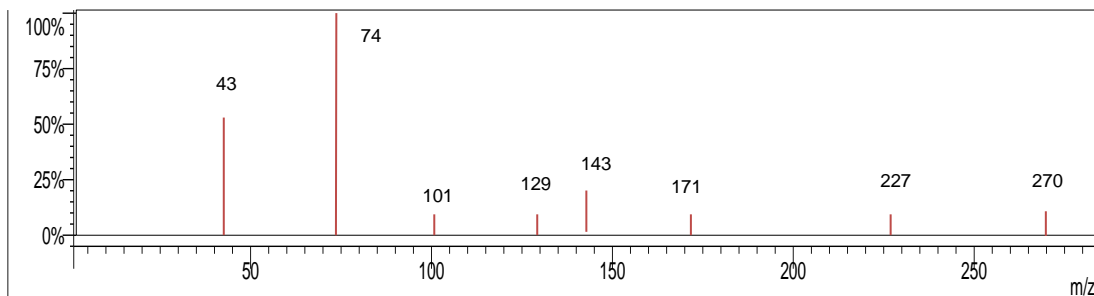
Gambar 4.5 Pola fragmentasi metil palmitat sampel keju penyimpanan 2 bulan

Kromatogram ke-2 sampel keju penyimpanan 4 bulan yang dihasilkan oleh instrumen kromatografi gas diperoleh 7 puncak (*Peak*) senyawa ester seperti pada gambar 4.6. Puncak senyawa metil palmitat terletak pada puncak ke 6 dengan waktu retensi 23,982 menit dan luas area 42,39 %.

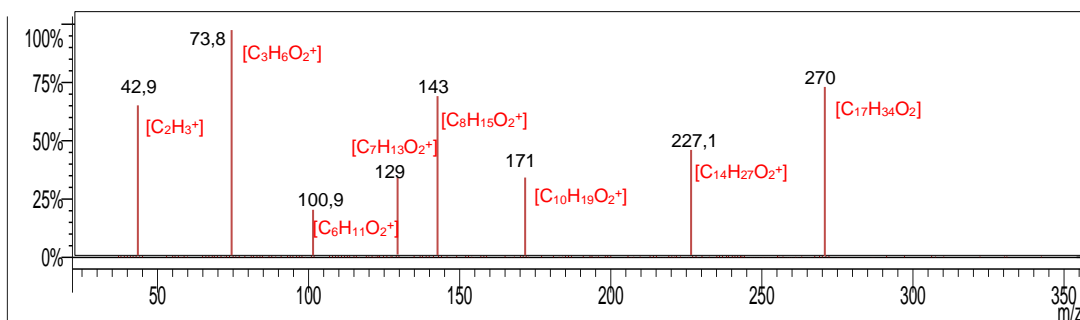


Gambar 4.6 Kromatogram KG Sampel Keju Penyimpanan 4 Bulan

Hasil kromatogram kromatografi gas dianalisis menggunakan spektrofotometer massa untuk mengetahui struktur senyawa dan berat molekul yang dapat terlihat dengan jelas. Gambar 4.7 menunjukkan spektra massa standar metil palmitat yang digunakan untuk membandingkan spektra dari sampel keju. Gambar 4.8 menunjukkan bahwa dalam spektrum massa puncak ke-6 merupakan senyawa yang memiliki berat molekul (m/z) 270, yang teridentifikasi adalah metil palmitat. Senyawa ini memiliki puncak dasar pada m/z 74 yang merupakan hasil fragmentasi ion *Mc Lafferty* (Rohan, 2005).

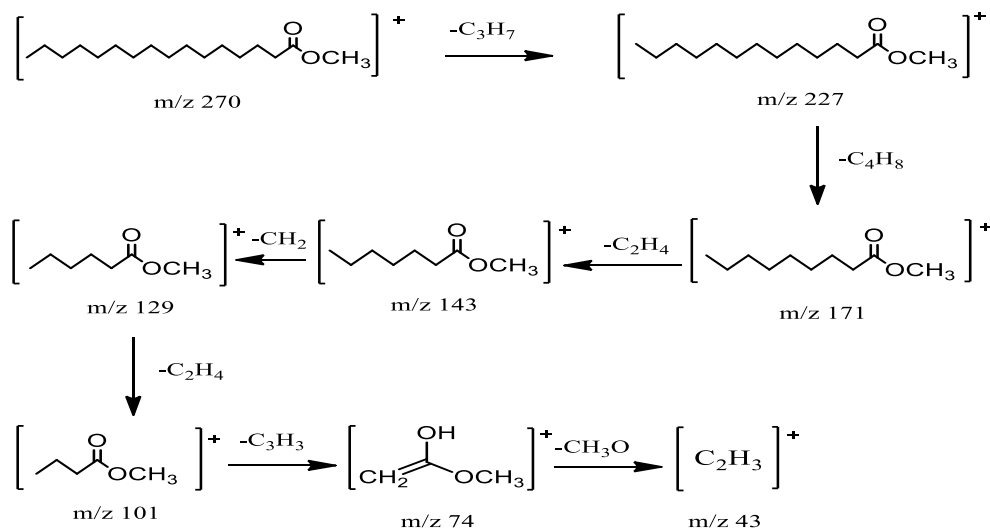


Gambar 4.7 Spektra Massa Standar Metil Palmitat



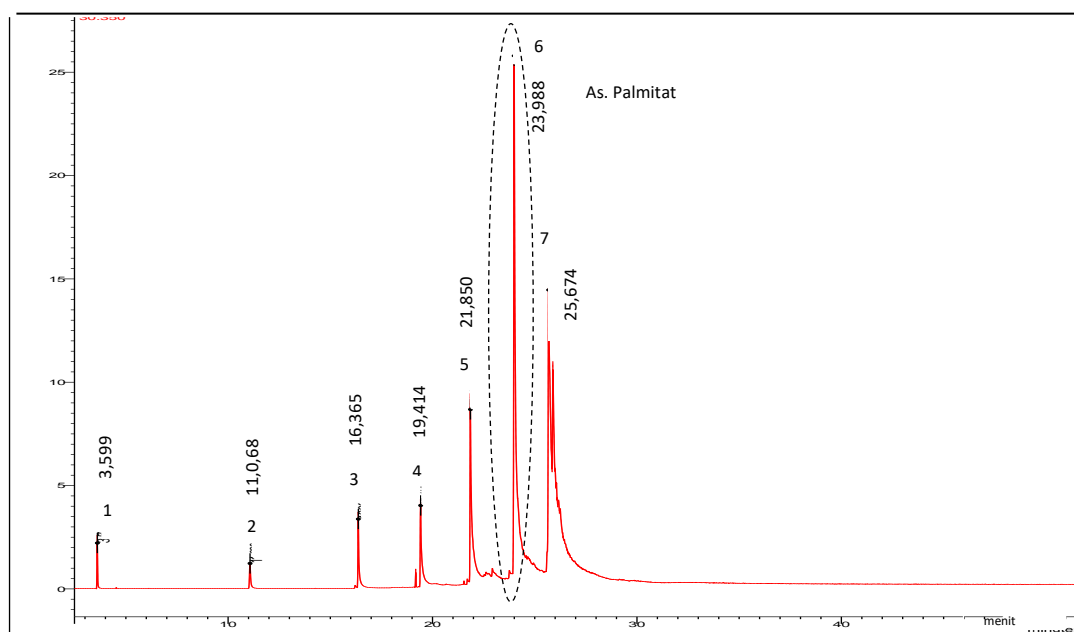
Gambar 4.8 Spektra Massa Metil Palmitat Sampel Keju Penyimpanan 4 Bulan

Puncak-puncak yang muncul pada fragmentasi senyawa tersebut yaitu pada m/z 270; 227,1; 171; 143; 129; 100,9; 73,8 dan 42,9. Kemungkinan pola fragmentasi yang muncul pada senyawa dapat dilihat pada Gambar 4.9.



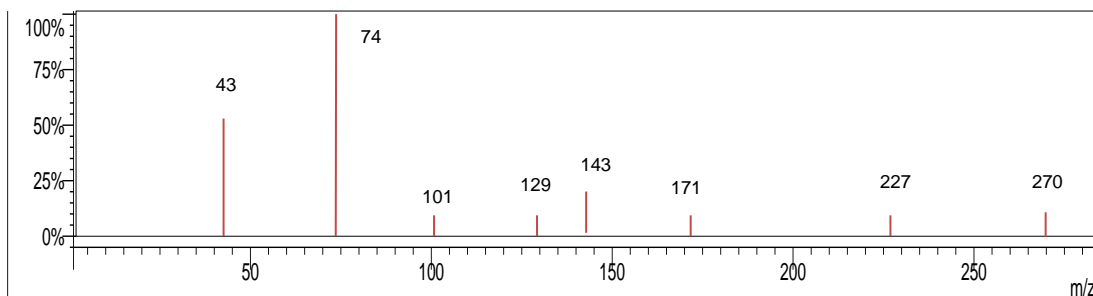
Gambar 4.9 Pola fragmentasi metil palmitat sampel keju penyimpanan 4 bulan

Kromatogram ke-3 sampel keju penyimpanan 7 bulan yang dihasilkan oleh instrumen kromatografi gas diperoleh 7 puncak (*Peak*) senyawa ester seperti pada Gambar 4.10. Puncak senyawa metil palmitat terletak pada puncak ke 6 dengan waktu retensi 23,988 menit dan luas area 43,57%.

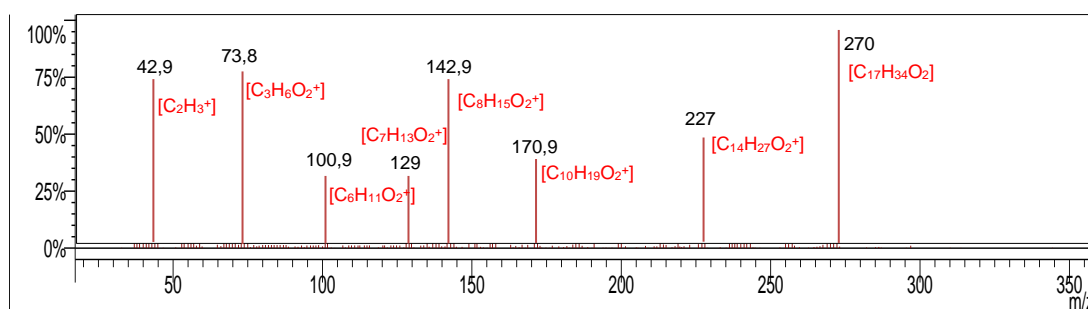


Gambar 4.10 Kromatogram KG Sampel Keju Penyimpanan 7 Bulan

Hasil kromatogram kromatografi gas dianalisis menggunakan spektrofotometer massa untuk mengetahui struktur senyawa dan berat molekul yang dapat terlihat dengan jelas. Gambar 4.11 menunjukkan spektra massa standar metil palmitat yang digunakan untuk membandingkan spektra dari sampel keju. Gambar 4.12 menunjukkan bahwa dalam spektrum massa puncak ke-6 merupakan senyawa yang memiliki berat molekul (m/z) 270, yang teridentifikasi adalah metil palmitat. Senyawa ini memiliki puncak dasar pada m/z 74 yang merupakan hasil fragmentasi ion *Mc Lafferty* (Rohan, 2005)

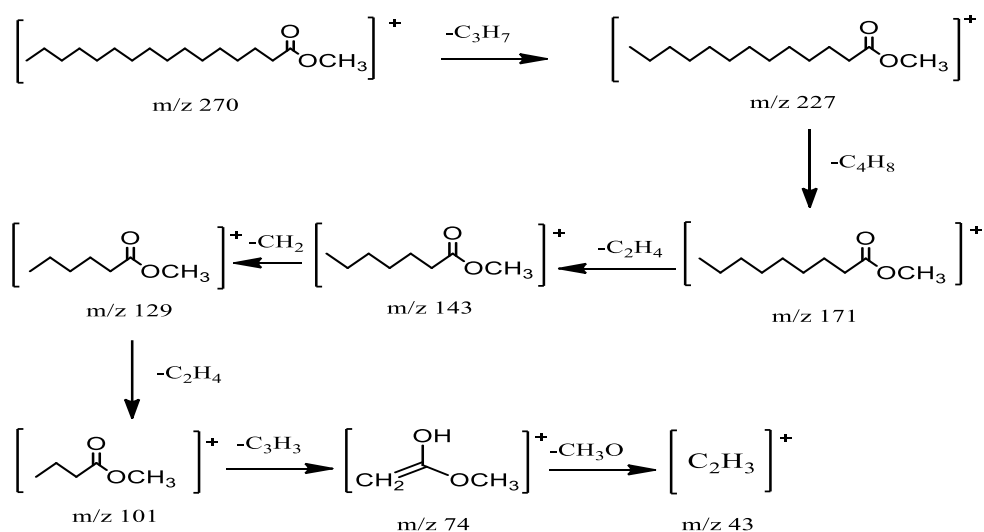


Gambar 4.11 Spektra Massa Standar Asam Palmitat



Gambar 4.12 Spektra Massa Asam Palmitat Sampel Keju Penyimpanan 7 Bulan

Puncak-puncak yang muncul pada fragmentasi senyawa tersebut yaitu pada m/z 270; 227; 170,9; 142,9; 129; 100,9; 73,8 dan 42,9. Kemungkinan pola fragmentasi yang muncul pada senyawa dapat dilihat pada Gambar 4.13



Gambar 4.13 Pola fragmentasi Metil Palmitat sampel keju penyimpanan 7 bulan

Tabel IV.1 Data hasil analisis asam palmitat dengan KG-SM

Sampel	Kadar (% b/b)	Kadar (g/2,5g)
2 bulan	22,91 %	0,191
4 bulan	42,39 %	0,353
7 bulan	43,57 %	0,363

Berdasarkan perhitungan penetapan persentase (%) kadar menggunakan Rumus 3.1 didapatkan hasil sesuai Tabel IV.1. Sesuai dengan hasil analisis yang didapat semakin lama waktu penyimpanan keju yang dilakukan hasil kadar asam palmitat yang didapatkan juga semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Noura, W *et al* (2011) bahwa konsentrasi kadar asam lemak keju *full fat* yang disimpan pada lemari pendingin selama 3 bulan meningkat dari 2,044 – 3,344 dan 0,982 – 1,217 mg/g. Hal ini dikarenakan aktifitas enzim lipolitik yang lebih tinggi didalam keju atau enzim mikroorganisme yang baik disengaja atau tidak disengaja memiliki kesempatan yang lebih besar dalam proses pemisahan lemak.

Asam palmitat merupakan asam lemak jenuh yang ada dalam makanan dan dapat disintesis secara endogen. Pemberian asam palmitat pada orang dewasa rata – rata yang diperbolehkan setiap harinya berkisar antara 20 – 30 g/hari atau sekitar 8 – 10 % (Sette, *et al*, 2011). Dilihat dari hasil analisis dalam 2,5 g keju penyimpanan 2 bulan, 4 bulan, dan 7 bulan masing – masing kadar asam palmitat yaitu 0,191 g/2,5g; 0,353 g/2,5g; 0,363 g/2,5g, bila dihubungkan dengan pernyataan Sette *et al* (2011) maka konsumsi keju yang dapat diberikan pada orang dewasa berkisar antara 50 g – 75 g per hari.

Asam palmitat merupakan komponen penting dalam membran sel, sekretori dan transportasi lipid. Konsumsi asam palmitat dalam jumlah yang disarankan akan memiliki manfaat yang baik bagi kesehatan yaitu meningkatkan nilai HDL sebesar 0,010 mmol/L lebih banyak dibandingkan dengan lemak mono dan poli tak jenuh, tanpa efek signifikan pada nilai total kolestrol jika di konsumsi pada batas yang telah disarankan (Agostini, 2015). TA O Sullivan, *et al* (2013) mengemukakan bahwa asam palmitat menunjukkan sifat yang netral sehingga

memiliki dampak yang menguntungkan pada profil serum lipid. Selain itu, asam palmitat yang terdapat di dalam keju tidak mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan risiko kematian pada *cardiovascular disease* (CVD). Belum diketahui mekanisme efek netral pada lemak darah. Penjelasan yang memungkinkan yaitu adanya kandungan kalsium tinggi yang terdapat di dalam keju dapat menjadikan ekskresi lemak sebagai sabun kalsium sehingga mengurangi penyerapan lemak dan meningkatkan ekskresi lemak melalui tinja. Selain itu dengan adanya kasein dan *whey* di dalam keju merupakan faktor lain yang menyebabkan efek hipokolesterolemia dari konsumsi keju (TA O Sullivan, *et al* 2013).

Apabila jumlah konsumsi asam palmitat berlebih yaitu lebih dari 30 g/ hari maka dampak yang ditimbulkan justru berkebalikan yaitu akan memiliki dampak yang negatif bagi kesehatan. Konsumsi asam lemak lebih dari 10 % akan dikemas sebagai triasilgliserol (TAG) ke dalam VLDL dan diekspor ke plasma akibatnya akan menyebabkan respon inflamasi sistemik dan disregulasi metabolik menghasilkan dislipidemia, resistensi insulin dan deposisi serta distribusi lemak yang tidak teratur (Carta *et al*, 2017).

Asam palmitat yang kaitannya dengan dislipidemia adalah dengan meningkatkan kadar LDL dalam darah sebesar 0,032 mmol/L. Peningkatan LDL ini dengan cara menghambat aktivitas reseptor LDL dan meningkatkan produksi lipoprotein yang mengandung apolipoprotein (apo) B. Faktor lain yang dapat meningkatkan kadar LDL darah yang lebih lemah seperti obesitas, resistensi insulin, hipertrigliseridemia, dan jenis kelamin wanita (Siri-Tarino *et al*, 2010).

Proses pertama terjadinya aterosklerosis adalah deposisi lemak, dimana asam palmitat berpengaruh dalam proses deposisi ini. Deposisi lemak dimulai dengan masuknya lipoprotein ke dalam dinding arteri yang akan menginisiasi kaskade proinflamasi yang menarik monosit ke dalam ruang subendotel. Monosit berdiferensiasi menjadi makrofag yang mengambil lipoprotein dan berubah menjadi sel busa. Sel busa ini membentuk lapisan lemak yang merupakan awal dari plak aterosklerosis. Penyerapan lipoprotein arteri dipengaruhi oleh konsentrasi lipoprotein yang bersirkulasi dan dapat di modulasi oleh asam lemak

makanan. Low-Density Lipoprotein (LDL) yang memasuki dinding arteri dapat dioksidasi atau dimodifikasi dan kemudian diambil oleh makrofag di dinding arteri sehingga mempercepat proses deposisi lemak dan berkontribusi pada kaskade inflamasi (Sudheendran *et al*, 2010).

Asam lemak dalam makanan mempengaruhi proliferasi sel otot polos koroner yang berkontribusi dalam pembentukan aterosklerosis. Asam lemak melemahkan perkembangan sel melalui fase sintesis dari siklus sel dengan menghambat sintesis dan replikasi DNA. Secara khusus asam lemak menghambat fosforilasi protein Cdk2 dan aktivitas Cdk2 kinase yang memiliki peran dalam regulasi dan proliferasi siklus sel. Seiring waktu, *Reactive Oxygen Spesies* (ROS), migrasi sel otot polos dan deposisi lemak bergabung dengan sel busa untuk berkembang menjadi plak dengan tutup fibrosa dan inti lipid. Ketika plak terus mengalami peradangan, degradasi matriks, dan kematian sel, tutup fibrosa yang tipis dan inti lipidnya menjadi nekrosis. Tutup fibrosa yang menipis dan inti lipid yang membesar meningkatkan tekanan melingkar pada plak dan mengarah ke dalam resiko pecahnya plak (Sudheendran *et al*, 2010).

Jiang *et al* (2010) mengemukakan bahwa dengan peningkatan 400 $\mu\text{mol/L}$ asam palmitat dapat menyebabkan *Coronary Artery Disease*. Asam palmitat berperan dalam menginduksi apoptosis sel endotel melalui peningkatan ekspresi TNF- α dan akumulasi intrasesuler *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). Akumulasi ini secara langsung menyebabkan penuaan sel inang dan merusak fungsi *Endothelial Progenitor Cell* (EPC). proses apoptosis dilakukan melalui jalur MPAK dengan peningkatan P38 dan memblokirnya menggunakan inhibitor SB203580 (Jiang *et al*, 2010).

Perkembangan *osteoarthritis* akibat asam palmitat lebih dari 37% dari total energi ditandai dengan meningkatnya degenerasi tulang rawan lutut dan penurunan kepadatan volume tulang, penurunan kekuatan cengkeraman dan peningkatan hipersensitifitas sendi. Asam palmitat menginduksi pro-apoptosis dan pro-inflamasi pada tulang rawan artikular yang bertindak bersama dengan IL-1 β dapat membuat kematian kondrosit dan kematian tulang rawan. Selain itu, asam palmitat juga mengaktifkan makrofag yang akan mengeluarkan sitokin inflamasi

seperti IL-1 dan TNF- α yang akan menyebabkan degradasi tulang rawan (Prasadam, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Sekar *et al* (2016) menunjukkan bahwa asam palmitat dapat meningkatkan ekspresi penanda degeneratif (MMPI3) dan penanda hipertrofik (COL10) dan penurunan ekspresi penanda proteoglikan di tulang rawan.

Konsumsi asam palmitat lebih dari 30 % dapat menyebabkan resistensi insulin. Hal ini terjadi melalui mekanisme yaitu meningkatkan sintesis lipida kompleks yang berbahaya. Peningkatan *Non-esterified Fatty Acids* (NEFA) plasma mendorong pengiriman asam lemak ke jaringan non adiposa seperti hati, otot, jantung dan pankreas. Akibat peningkatan tersebut dapat mendorong aktifitas metabolik yang menyebabkan disfungsi seluler (lipotoksitas) dan kematian sel (lipoapoptosis) (Palomer *et al*, 2017). Lipotoksitas dan lipoapoptosis disebabkan karena adanya disfungsi mitokondria dan gangguan autofagi (Park *et al*, 2014). Kemudian, gangguan fungsi organel sel yaitu rusaknya fungsi *Endothelial Progenitor Cell* (EPC) yang berkontribusi untuk menjaga integritas endotel yang sangat penting untuk menjaga komplikasi vaskuler pada diabetes (Trombetta, 2012).

4.5 Analisis Kadar Asam Palmitat menggunakan *One Way Anova*

Tabel IV.2 *Descriptives*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Penyimpanan 2 bulan	3	22.9100	.02646	.01528
Penyimpanan 4 bulan	3	42.3900	.02000	.01155
Penyimpanan 7 bulan	3	43.5700	.02646	.01528
Total	9	36.2900	10.04802	3.34934

Tabel IV.3 Hasil analisis *One Way Anova*

	Sum of Square	Df	Mean Square	F	Sig
Beetwen Groups	807.698	2	803.849	6.731E5	.000
Within Groups	.004	6	.001		
Total	807.702	8			

Berdasarkan hasil analisis ANOVA menggunakan SPSS pada Tabel IV.2 dan IV.3 didapatkan *P-value* sebesar 0,000 yang dapat diartikan bahwa lama penyimpanan keju berpengaruh terhadap perbedaan kadar asam palmitat pada keju. Namun, dari hasil ANOVA tersebut bersifat menyeluruh yaitu secara bersama – sama lama penyimpanan keju tersebut memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kadar asam palmitat yang dihasilkan. Untuk mengetahui pengaruh signifikan atau tidak antar kelompok maka dilakukan dengan *Post Hoc Tests*

Tabel IV.4 Hasil Analisis *Tukey HSD*

(I) Jenis Keju	(J) Jenis Keju	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig
Penyimpanan H-8 Bulan	Penyimpanan H-6 Bulan	-19.48000*	.02000	.000
	Penyimpanan H-3 Bulan	-20.66000*	.02000	.000
Penyimpanan H-6 Bulan	Penyimpanan H-8 Bulan	19.48000*	.02000	.000
	Penyimpanan H-3Bulan	-1.18000*	.02000	.000
Penyimpanan H-3 Bulan	Penyimpanan H-8 Bulan	20.660008	.02000	.000
	Penyimpanan H-6 Bulan	1.18000*	.02000	.000

Jika nilai *P-Value* < 0,05 maka dapat diartikan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antar kelompok. Berdasarkan tabel IV.4 melalui uji *Post Hoc Tukey HSD* diketahui perbedaan antar kelompok yang dirangkum sebagai berikut :
 Penyimpanan 2 bulan – penyimpanan 4 bulan : signifikan
 Penyimpanan 4 bulan – penyimpanan 7 bulan : signifikan

Penyimpanan 2 bulan – penyimpanan 7 bulan : signifikan

Dengan demikian dapat dikatakan bahwa dari ketiga jenis penyimpanan tersebut yaitu penyimpanan 2 bulan, 4 bulan dan 7 bulan masing – masing berpengaruh signifikan terhadap kadar asam palmitat di dalam keju.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap kadar asam palmitat di dalam keju menggunakan metode Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan pengujian menggunakan metode kromatografi gas – spektroskopi massa sampel keju penyimpanan 2 bulan, penyimpanan 4 bulan, Penyimpanan 7 bulan mengandung asam palmitat masing – masing sebesar 22,91%; 42,39%, 43,57% dengan kadar masing – masing sebesar 0,191 g/2,5g; 0,353 g/2,5g; 0,363 g/2,5g keju.
2. Berdasarkan pengujian statistik menggunakan *one way anova* dan uji *post hoc* menggunakan *Tukey HSD* didapatkan kesimpulan bahwa lama penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap perbedaan kadar asam palmitat di dalam keju.

5.2 Saran

1. Bagi masyarakat
Jumlah keju yang dapat dikonsumsi setiap harinya adalah berkisar antara 50 – 75 g
2. Bagi peneliti lain
 - a. Dapat dilakukan analisis lebih lanjut mengenai asam linoleat terkonjugasi yang terdapat di dalam keju dengan metode Kromatografi gas – spektroskopi massa.

- b. Dapat dilakukan penelitian asam palmitat dan asam linoleat terkonjugasi dengan jenis keju yang berbeda menggunakan kromatografi gas – spektroskopi massa

DAFTAR PUSTAKA

- Agilent. 2018. Column. Online. (<https://www.agilent.com/en/products/gas-chromatography/gc-columns/capillary/vf-5ms#productdetails>, Diakses 4 Desember 2018)
- Agostini, C., Luis, M., Raanan, S. 2015. Palmitic Acid and Health: Introduction. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Almatsier, S. 2011. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Anjarsari, Bonita. 2010. Pangan Hewani (Fisiologi Pasca Mortem dan Teknologi). Graha Ilmu. Bandung
- Azwar, Saifuddin. 2008. Metode Penelitian. Yogyakarta. Pustaka Pelajar
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2014. Statistik Kesejahteraan Rakyat. BPS. Jakarta
- Barack, M., Kresojevic, M., Trifunovic, B.S., Pesic, M., Vucic, T., Kostic, A., Despotovic, S. 2018. Fatty Acid Profiles and Mineral Content of Serbian Traditional White Brined Cheeses. *Mljekarstvo*. No 68. Page 37-45
- Cahyadi, W. 2005. Analisis Dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Bumi Aksara. Jakarta.
- Carta G, Murru E, Banni S and Manca C. 2017. Palmitic Acid: Physiological Role, Metabolism and Nutritional Implications. *Front. Physiol.* 8:902. doi: 10.3389/fphys.2017.00902
- Chinnadurai, K. & Tyagi, A. 2011. Conjugated Linoleic Acid: A Milk Fatty Acid with Unique Health Benefit Properties. Intech. ISBN: 978-953-307-535-8
- Codex Alimentarius. 2018. General Standard for Cheese. *International Food Standards*. CXS 283-1978
- Delgado, F.J., Crespo, J.G., Cava, R., Ramires, R. 2011. Formation of The Aroma of A Raw Goat Milk Cheese During Maturation Analyzed By SPME-GC-MS. *Journal Food Chemistry*. No. 129. Page: 1156-1163
- Denniston, K.D., Topping, J.J., Robert. L. dan Caret, L. L., 2007, *General Organic and Biochemistry*, 5th Edition, Mc-Graw Hill, New York.
- Gandjar, I.G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- Gauglitz, G., and T. Vo-Dinh. 2003. *Handbook of Spectroscopy*. Jerman. Wiley-VCH. Weinheim

- Gnoni, G.V., Natali, F., Geelen, M.J.H., Siculella, L. 2010. Oleic Acid as an Inhibitory of Fatty Acid and Cholesterol Synthesis. *Journal Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*. ISBN: 978-0-12-374420-3
- Gomes-Cortes, P., Manuela, J., Miguel, A. 2018. Milk Fatty Acid and Potential Health Benefits: An Update Vision. *Trends in Food Science & Technology* 81. Elsevier. Page 1-9
- Hayaloglu, A.A. & Karabulut, I. 2013. Characterization and Comparison of Free Fatty Acid Profiles of Eleven Varieties of Turkish Cheeses. *International Journal of Food Properties*. ISSN: 1094-2912. Page 1407-1416
- Isa, Ishak. 2011. Penetapan Asam Lemak Linoleat Dan Linolenat Pada Minyak Kedelai Secara Kromatografi Gas. *Saintek Vol 6, NO 1*
- Jandacek, R.J. 2017. Linoleic Acid: A Nutritional Quandary. *Journal Healthcare*. Vol. 5, No. 25
- Jiang, H, Chun, L, Xing, L, Qijun, J, Zhiqing, H, Jianxiang, W, Xiaoming, P, Yusheng, R, Min, F, Mei, L, Zonggui, W. 2010. Palmitic Acid Promotes Endothelial Progenitor Cells Apoptosis Via P38 And JNK Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways. *Atherosclerosis* 210. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2009.10.032. Published by Elsevier Ireland Ltd.
- Karliawan, A. 2009. Perubahan Senyawa Hidrokarbon Selama Proses Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi dengan Menggunakan Kromatografi Gas Spektrofotometri Massa. [skripsi]. Bogor: Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor
- Kealey, D. dan Haines, P.J. (2002). *Analytical Chemistry*. London: BIOS Scientific Publishers Ltd. Gauglitz & Vo-Dinh, 2003
- Kemenperin. 2016. Statistik Konsumsi Pangan. Kementerian perindustrian. Jakarta
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2011. Impor Keju dan Dadih Susu Perneraga Asal . Departemen Pertanian Republik Indonesia. Jakarta
- Khopkar, S.M. 2008. Konsep Dasar Kimia Analitik Penj. A. Saptorahardjo. Jakarta. Universitas Indonesia Press
- Kilo, A. K., Ishak, I., Weny, J. M .2014. Analisis Kadar Asam Linoleat Dan Asam Linolenat Pada Tahu Dan Tempe Yang Dijual Di Pasar Telaga Secara Gc-MS. Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika Dan Ipa Universitas Negeri Gorontalo
- Kim, N.S., Lee, J.H., Han, M.H., Kim, J.W., Cho, S., Kim, J. 2014. Discrimination of Commercial Cheese from Fatty Acid Profiles and

- Phytosterol Contents Obtained by GC and PCA. *Journal Food Chemistry*. No. 143. Page 40-47
- Linder, M.C. 2010. Nutritional Biochemistry and metabolism, (Terj.): Parraksi A. 2010. Biokimia Nutrisi dan Metabolisme. UI press. Jakarta
- Murti, T.W dan Hidayat. 2009. Pengaruh Pemakaian Kultur Tiga Macam Bakteri Asam Laktat dan pemeraman Terhadap Komposisi Kimia dan Flavor Keju. *Journal of The Indonesian Tropical Animal Agriculture* 34(1)
- Notoatmodjo, Soekidjo. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: PT Rineka Cipta
- Nouira, W., Park, Y.W., Guler, Z., Terrill, T. 2011. Comparison of Free Fatty Acid Composition Between Low-Fat and Full-Fat Goat Milk Cheeses Stored for 3 Months Under Refrigeration. *Journal of Animal Science*. Vol. 1, No. 2. Page 17-23
- O'Connor, S. & Rudkowska, I. 2018. Dietary Fatty Acid and The Metabolic Syndrome: A Personalized Nutrition Approach. *Food and Nutrition Research*. ISSN 1043-4526
- Palomer, X., Javier, P-Z., Emma, B., ManuelV, A-C. 2017. Palmitic and Oleic Acid: The Yin and Yang of Fatty Acids in Type 2 Diabetes Mellitus. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Vol XX
- Park, E. J, Ah Young, L, Sungjin, P, Jae-Ho, K, Myung-Haing, C. 2014. Multiple Pathways Are Involved In Palmitic Acid-Induced Toxicity. *Food and Chemical Toxicology* 67. Page 26–34
- Prasadam, I., Y. Sr., V. Xiao. 2018. Effects Of Dietary Saturated Fatty Acid Consumption On Cartilage Health And Trauma-Induced Osteoarthritis In Rats. Inst. of Hlth. and Biomed. Innovation, Queensland Univeristy of Technology, Queensland, Australia. *Osteoarthritis and Cartilage*, Page S10 - S59.
- Pubchem, Butyric acid, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/butyric_acid, 8 november 2018
- Pubchem, Conjugated linoleic acid, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/9_11Octadecadienoic_acid, 8 november 2018
- Pubchem. Stearic acid. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/stearic_acid, 8 november 2018
- Pubchem. Linoleic acid. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/linoleic_acid, 8 november 2018

- Pubchem. Myristic acid. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/Tetradecanoic_acid, 8 november 2018
- Pubchem. Oleic acid. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/oleic_acid, 8 november 2018
- Pubchem. Palmitic acid. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/palmitic_acid, 8 november 2018
- Rohan, A. 2005. Pengaruh Penambahan Al₂O₃-Montmorillonit Sebelum Reaksi Transesterifikasi Jelantah Minyak Sawit Terhadap Konversi Biodisel Total. Skripsi. Jurusan Kimia MIPA. Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada
- Saefudin, A. 2005. Sintesis Biodisel Melalui Reaksi Esterifikasi Minyak Elantah Dengan Katalis Montmorillonit Teraktifasi Asam Sulfat Yang Dilanjutkan Dengan Reaksi Transesterifikasi Terkatalis NaOH. Skripsi. Jurusan Kimia MIPA. Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada
- Sari, A.N. 2014. Total Bahan Padat, Kadar Protein, dan Nilai Kesukaan Keju Mozzarella dari Kombinasi Susu Kerbau dan Susu Sapi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 3 (4). Page 152-156
- Sekar, S, Ross, C, Yin, X, Indira, P. 2016. Dietary Fats And Osteoarthritis: Insights, Evidences And New Horizons. *Journal of Cellular Biochemistry*. DOI 10.1002/jcb.25758
- Sette, S., C, Le Donne., R, Piccinelli., D, Arcella., A, Turrini., C, Leclercq. 2011. The Third Italian National Food Consumption Survey, INRAN-SCAI 2005-06-Part 1: Nutrient Intakes in Italy. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 21. Page: 922-932
- Siri-Tarino, P.W., & Qi Sun. 2010. Saturated Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease : Modulation by Replacement Nutrients. *Atheroscler Rep* 12. Page 384–390. DOI 10.1007/s11883-010-0131-6
- Sudheendran,C.C. Chang,R.J. Deckelbaum. 2010. N-3 vs saturated fatty acids : Effect son the arterial wall. nProstaglandins, *Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. Elsevier Ltd. Page 205–209
- Sudjadi. 2007. *Kimia farmasi analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- T A. O’Sullivan, Katherine H, Francis M, and David L. 2013. Food Sources of Saturated Fat and the Association With Mortality: A Meta-Analysis. *American Journal of Public Health*. Vol 103, No. 9. Page e31 – e42
- Trombetta, A., Gabriele, T., Arturo, R., Patrizia, D., Cristina, O., Paolo, C., and Maria, F.B. 2012. Increase of Palmitic Acid Concentration Impairs

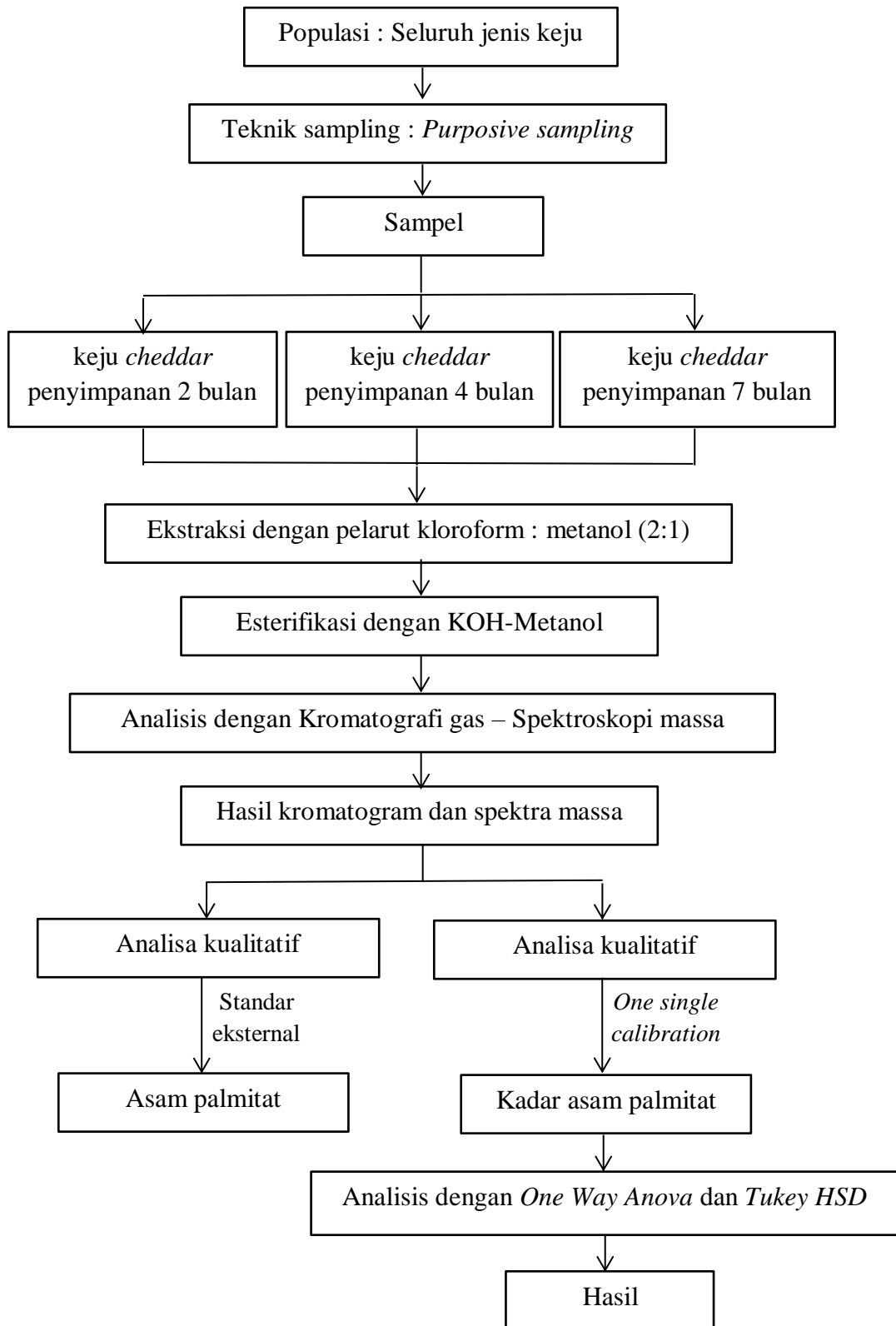
Endothelial Progenitor Cell and Bone Marrow–Derived Progenitor Cell Bioavailability. *Diabetes.diabetesjournals.org*

Vieitez, I., Callejas, N., Saibene, M., Cabrera, L., Irigaray, B., Antonia, M. 2013. Fatty Acids and Triglycerides Composition in Uruguayan Cow, Sheep and Goat Cheeses. *Journal of Food Science and Engineering* 3. No. 379-387. Page 379-387

Wijanarko, B & Lanny, D.P. 2012. Ekstraksi Lipid Dari Mikroalga (*Nanochloropsis Sp.*) Dengan Solven Methanol Dan Chloroform. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, Vol. 1, No. 1, Halaman 130-138

Zaleski, A., Banaszkiwicz, A., Walkowiak, J. 2013. Butyric Acid in Irritable bowel syndrome. *Journal Przegląd Gastroenterologic.* Page: 350-353

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



Lampiran 2. Prosedur Kerja Analisis Sampel

1. Prosedur Kerja Preparasi Sampel

Sampel keju

- Ditimbang 2,5 mg dengan neraca analitik
- Dicampur 25 ml kloroform : methanol (2:1 v/v)
- Ditambah BHT 0,001 %
- Ditambah 10 ml NaCl jenuh
- Disentrifugasi selama 30 menit, 4000 rpm
- Fase kloroform dipisah, dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 45°C

Hasil

2. Prosedur Kerja Esterifikasi Sampel

Ekstrak Sampel

- Ditimbang 100 mg dengan neraca analitik
- Dimasukkan dalam tabung
- Ditambah 5 ml heksana, diaduk
- Ditambah 0,2 ml KOH dalam Metanol, diaduk
- Didiamkan selama 5 menit
- Ditambahi 0,5 g Na₂SO₄ anhidrat
- Disentrifugasi selama 3 menit, 350 g ± 50 g

Hasil

Lampiran 3. Pembuatan Larutan

1. Larutan kloroform : metanol (2:1) 25 mL

$$\begin{aligned}\text{Kloroform} &= \frac{2}{3} \times 25 \text{ mL} \\ &= 16,67 \text{ mL} \\ &\approx 17 \text{ mL}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Metanol} &= \frac{1}{3} \times 25 \text{ mL} \\ &= 8,33 \text{ mL} \\ &\approx 8 \text{ mL}\end{aligned}$$

2. Larutan BHT 0,001%

$$\begin{aligned}\text{BHT} &= \frac{0,001}{100} \times 100 \text{ mL} \\ &= 0,001 \text{ g}\end{aligned}$$

3. Larutan KOH

Menurut ISO 15884 larutan KOH dapat dibuat dengan melarutkan KOH 11,2 g dilarutkan dalam 100 mL metanol.

Lampiran 4. Analisis Kualitatif Senyawa Asam Palmitat (Metode standar Eksternal)

Sampel Yang telah di Preparasi

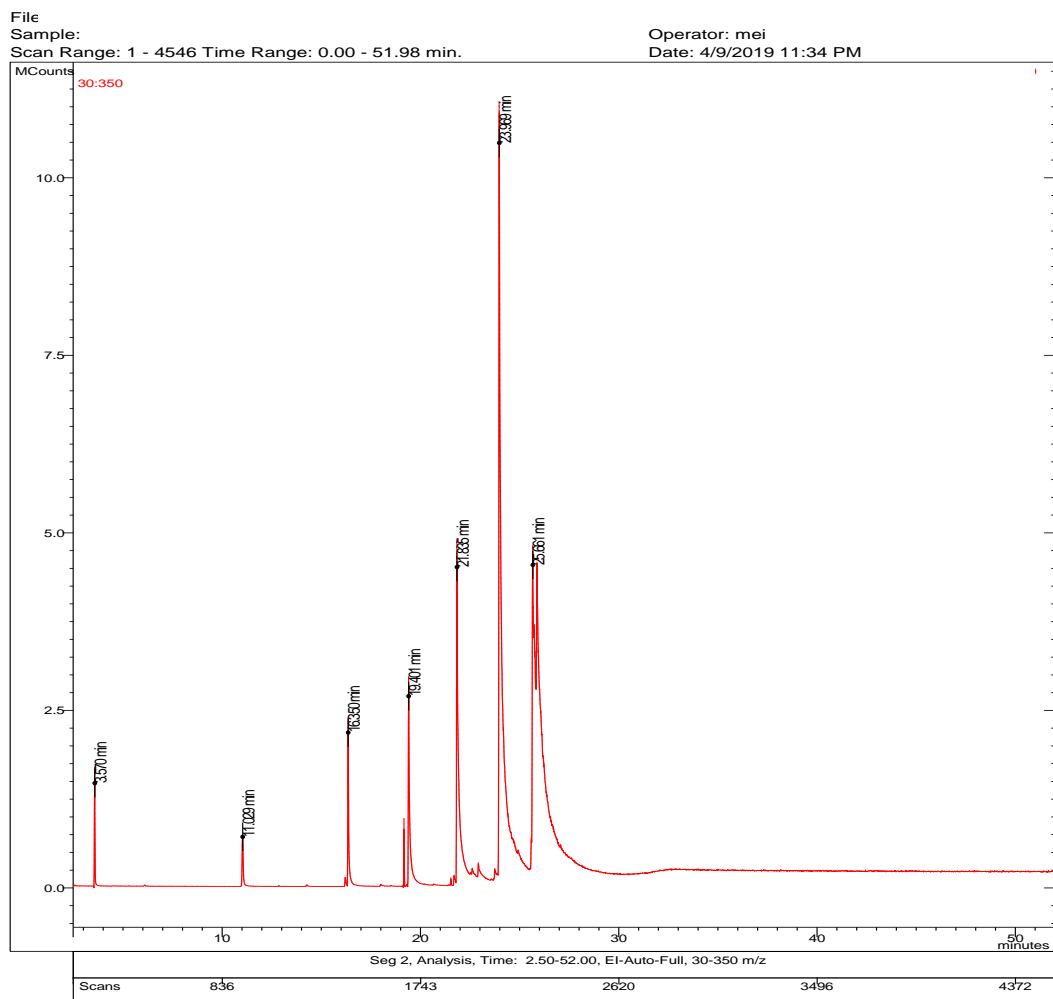
- Diinjeksikan sebanyak 2 μ L
- Dengan kondisi Suhu oven dimulai dari 80°C (10 menit), Dinaikkan menjadi 300°C dengan laju 10°C/menit (20 menit). Kolom yang dipakai yaitu tipe VF-5MS. Suhu injektor dan detektor yang dipakai yaitu 310°C. Gas pembawa yang dipakai yaitu nitrogen dengan laju alir 1 ml/menit. Detektor yang digunakan adalah spektroskopi massa
- Kemudian dibaca pada readout

Hasil

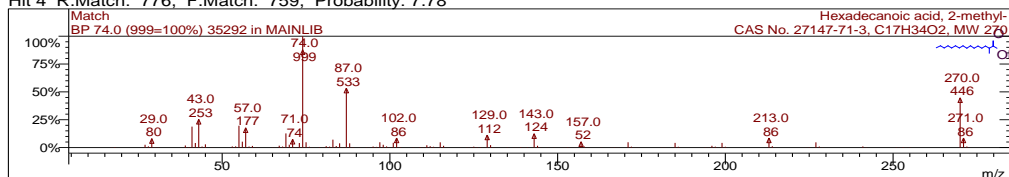
Hasil Analisis Kualitatif

1. Hasil Analisa Kualitatif Sampel Keju Penyimpanan 2 bulan

Chromatogram Plot

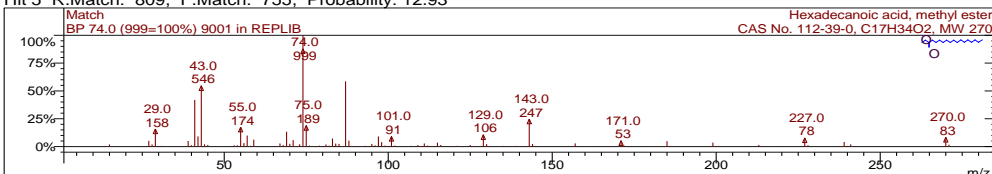


Hit 4 R.Match: 776, F.Match: 759, Probability: 7.78



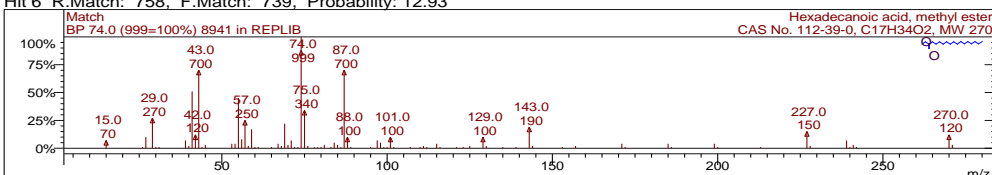
Spectrum 35292 from MAINLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, 2-methyl-
Pair Count: 136 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 27147-71-3 Acquired Range: 17.0 - 272.0 m/z

Hit 5 R.Match: 809, F.Match: 755, Probability: 12.93



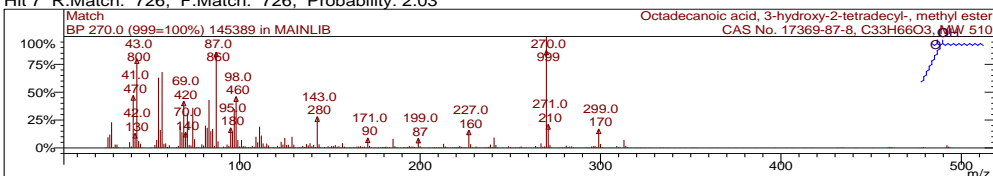
Spectrum 9001 from REPLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 152 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 14.0 - 272.0 m/z

Hit 6 R.Match: 758, F.Match: 739, Probability: 12.93



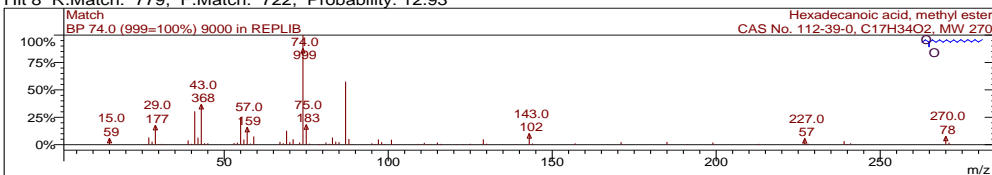
Spectrum 8941 from REPLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 83 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 15.0 - 271.0 m/z

Hit 7 R.Match: 726, F.Match: 726, Probability: 2.03



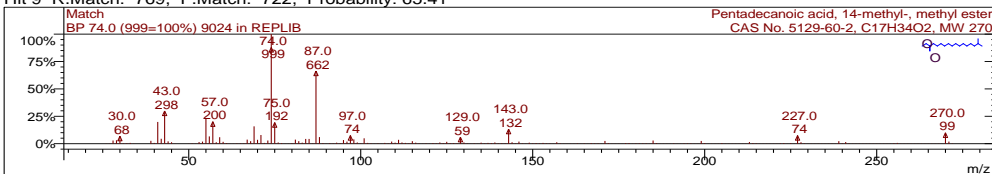
Spectrum 145389 from MAINLIB Library
Name: Octadecanoic acid, 3-hydroxy-2-tetradecyl-, methyl ester
Pair Count: 352 MW: 510 Formula: C33H66O3
CAS No: 17369-87-8 Acquired Range: 26.0 - 495.0 m/z

Hit 8 R.Match: 779, F.Match: 722, Probability: 12.93



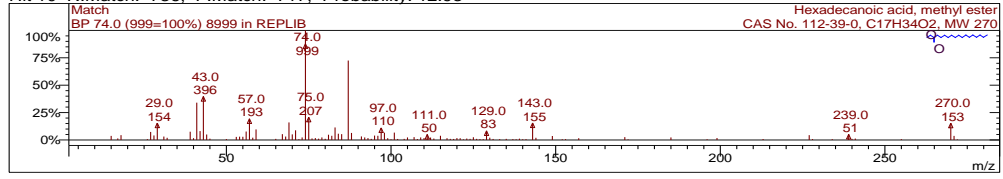
Spectrum 9000 from REPLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 89 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 14.0 - 272.0 m/z

Hit 9 R.Match: 769, F.Match: 722, Probability: 65.41



Spectrum 9024 from REPLIB Library
Name: Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester
Pair Count: 240 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 5129-60-2 Acquired Range: 26.0 - 272.0 m/z

Hit 10 R.Match: 736, F.Match: 717, Probability: 12.93

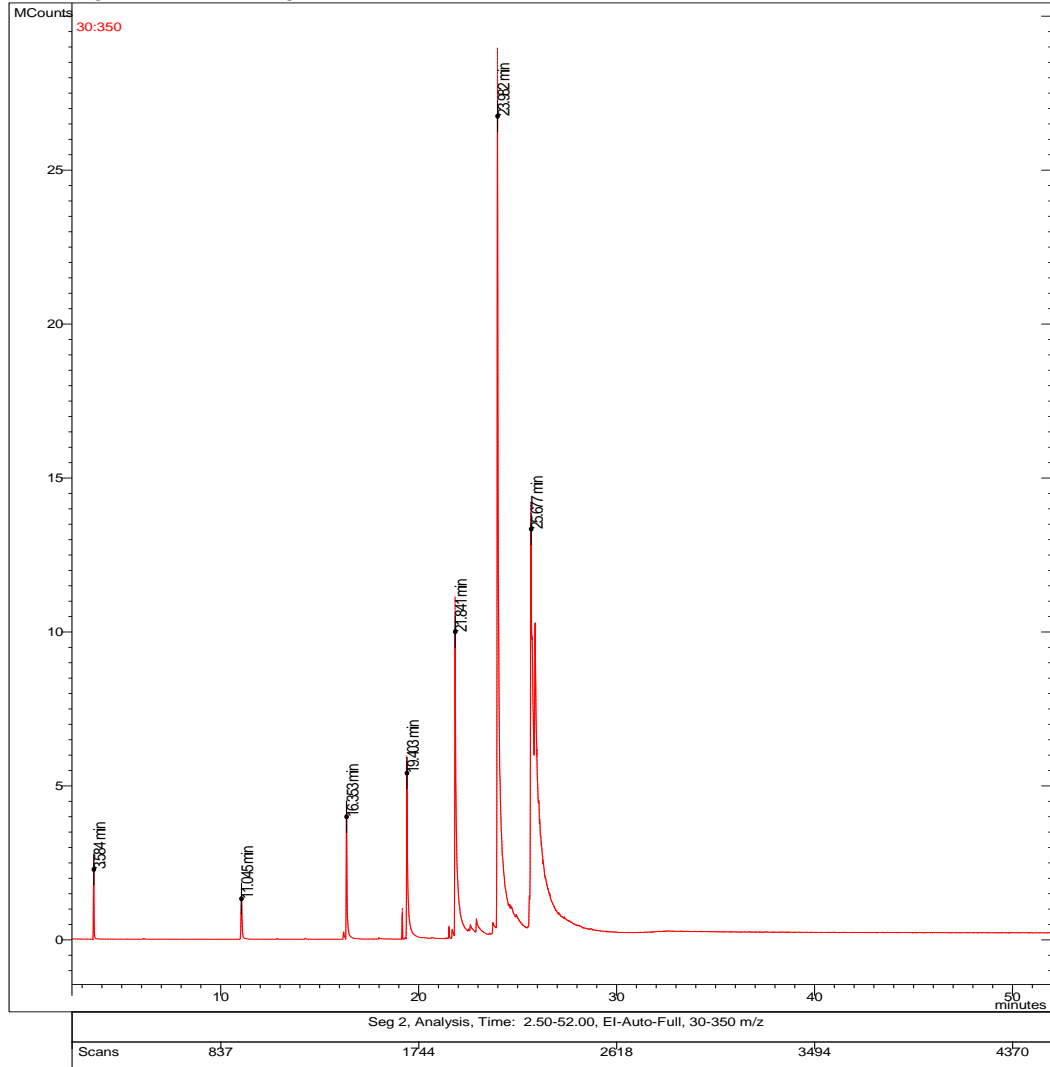


Spectrum 8999 from REPLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 112 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 15.0 - 272.0 m/z

2. Hasil Analisa Kualitatif Sampel Keju Penyimpanan 4 Bulan

Chromatogram Plot

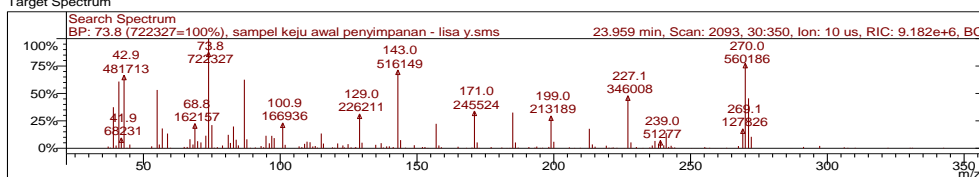
Sample: Operator: mei
Scan Range: 1 - 4544 Time Range: 0.00 - 51.98 min. Date: 4/9/2019 10:35 PM



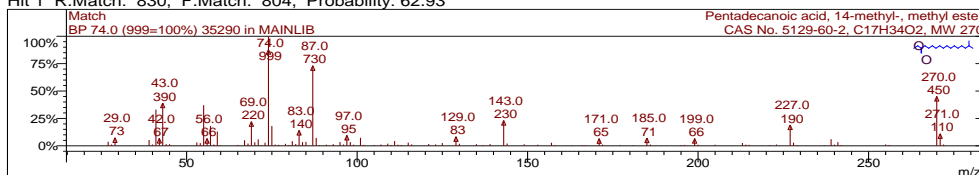
Target Compounds

Cmpd. Number	RT (min)	Area	Amount/RF
1	3.584	1.030e+6	1029564
2	11.045	1.047e+6	1046624
3	16.353	1.985e+6	1984500
4	19.403	2.893e+6	2893293
5	21.841	2.684e+6	2683834
6	23.982	8.206e+6	8206341
7	25.677	1.512e+6	1512150

Target Spectrum

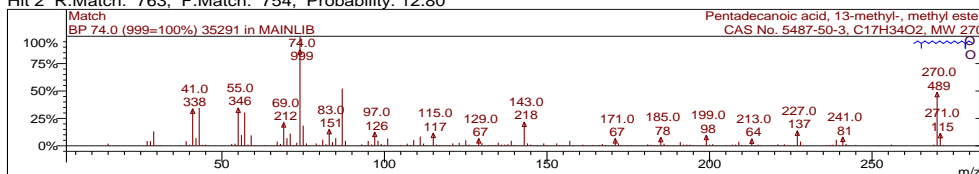


Hit 1 R.Match: 830, F.Match: 804, Probability: 62.93



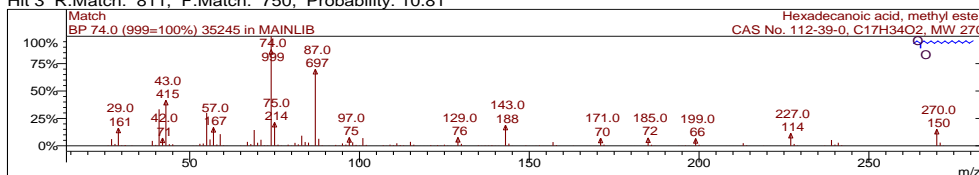
Spectrum 35290 from MAINLIB Library
Name: Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester
Pair Count: 104 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 5129-60-2 Acquired Range: 27.0 - 272.0 m/z

Hit 2 R.Match: 763, F.Match: 754, Probability: 12.80



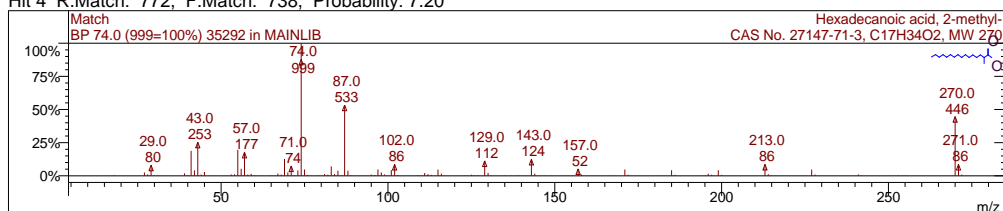
Spectrum 35291 from MAINLIB Library
Name: Pentadecanoic acid, 13-methyl-, methyl ester
Pair Count: 193 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 5487-50-3 Acquired Range: 15.0 - 272.0 m/z

Hit 3 R.Match: 811, F.Match: 750, Probability: 10.81



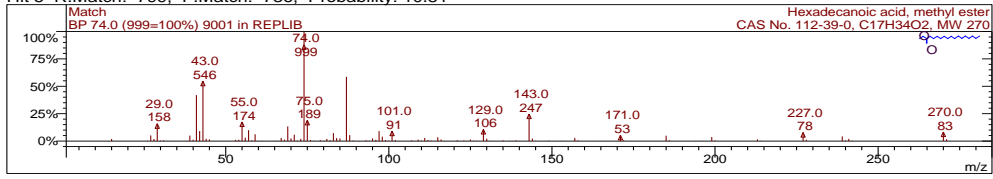
Spectrum 35245 from MAINLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 152 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 26.0 - 272.0 m/z

Hit 4 R.Match: 772, F.Match: 738, Probability: 7.20



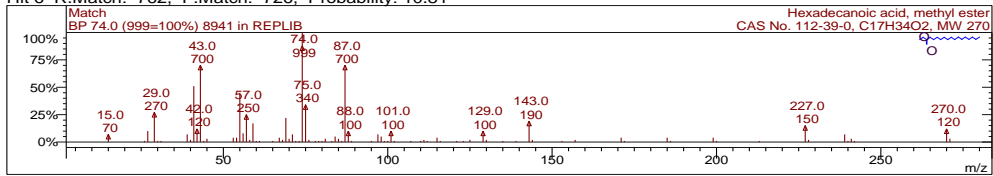
Spectrum 35292 from MAINLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, 2-methyl-
Pair Count: 136 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 27147-71-3 Acquired Range: 17.0 - 272.0 m/z

Hit 5 R.Match: 799, F.Match: 736, Probability: 10.81



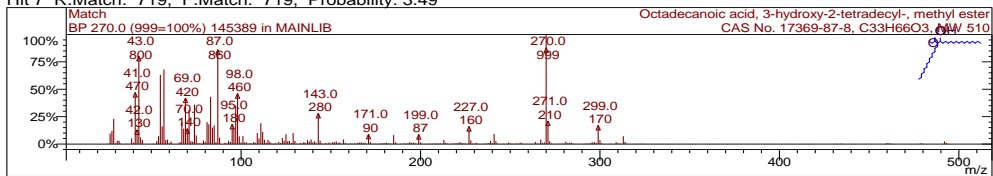
Spectrum 9001 from REPLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 152 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 14.0 - 272.0 m/z

Hit 6 R.Match: 762, F.Match: 726, Probability: 10.81



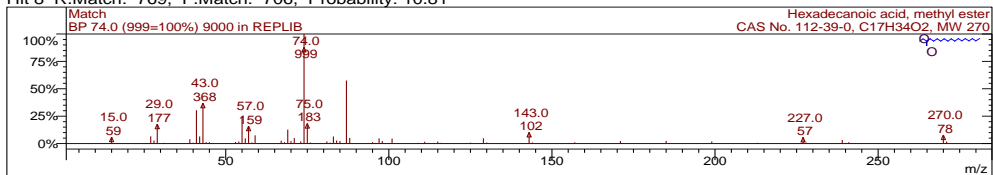
Spectrum 8941 from REPLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 83 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 15.0 - 271.0 m/z

Hit 7 R.Match: 719, F.Match: 719, Probability: 3.49



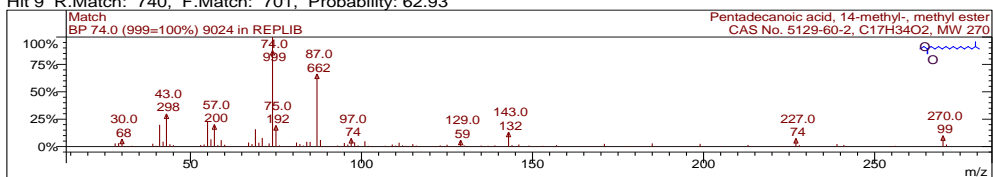
Spectrum 145389 from MAINLIB Library
Name: Octadecanoic acid, 3-hydroxy-2-tetradecyl-, methyl ester
Pair Count: 352 MW: 510 Formula: C33H66O3
CAS No: 17369-87-8 Acquired Range: 26.0 - 495.0 m/z

Hit 8 R.Match: 769, F.Match: 706, Probability: 10.81



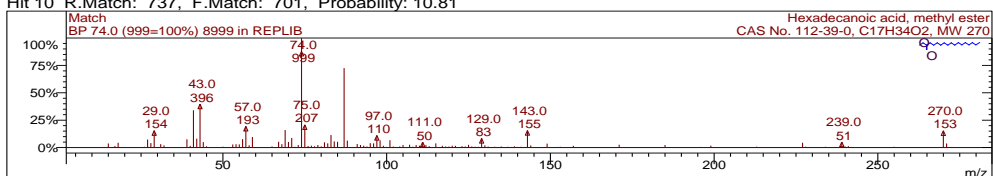
Spectrum 9000 from REPLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 89 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 14.0 - 272.0 m/z

Hit 9 R.Match: 740, F.Match: 701, Probability: 62.93



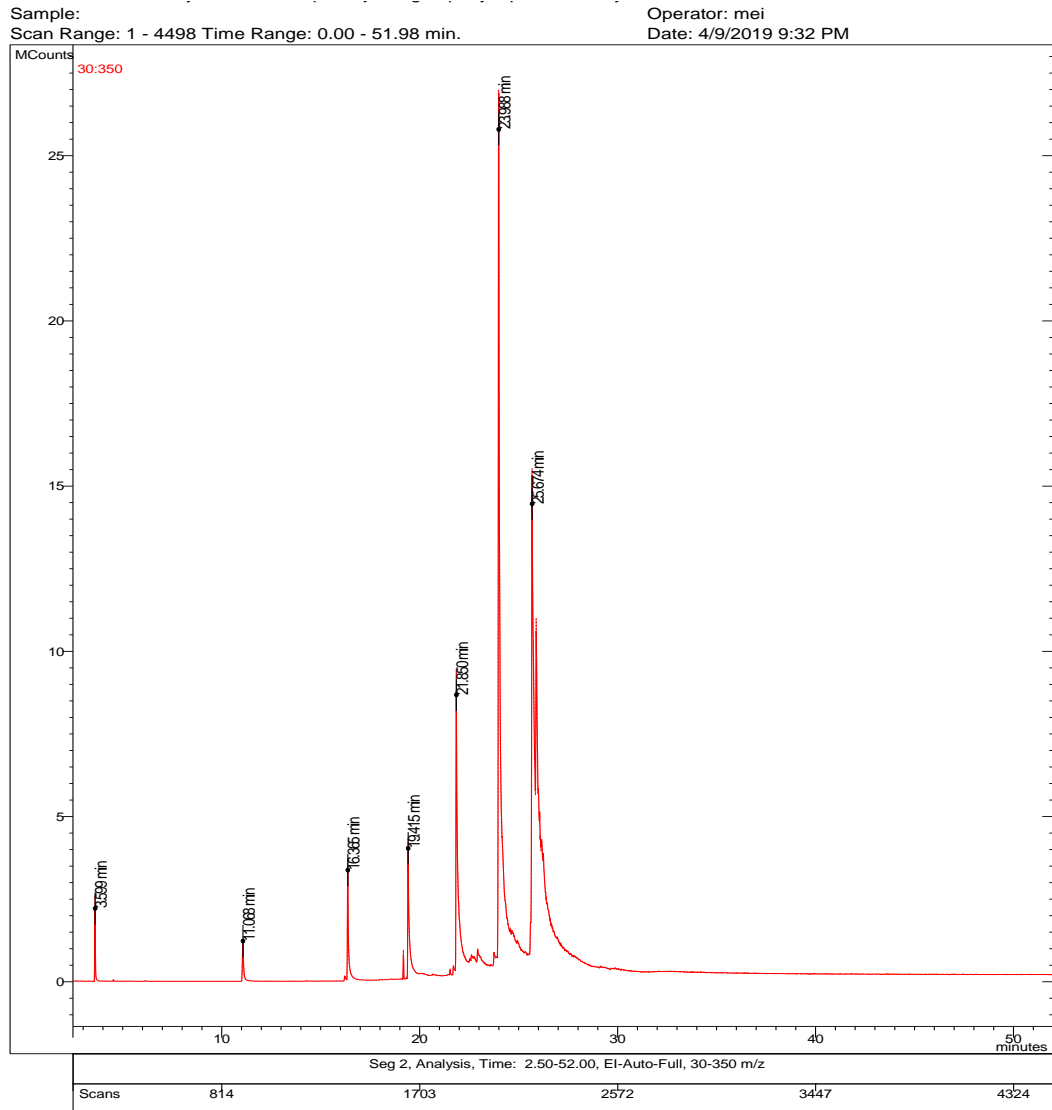
Spectrum 9024 from REPLIB Library
Name: Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester
Pair Count: 240 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 5129-60-2 Acquired Range: 26.0 - 272.0 m/z

Hit 10 R.Match: 737, F.Match: 701, Probability: 10.81



Spectrum 8999 from REPLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 112 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 15.0 - 272.0 m/z

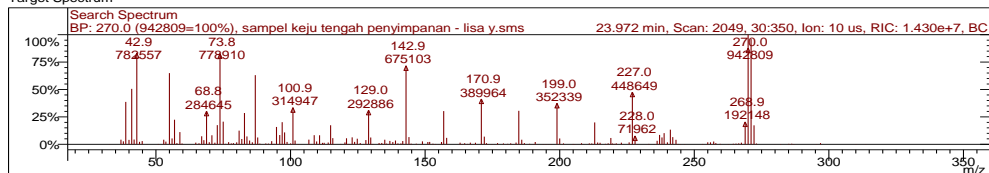
3. Hasil Analisis Kualitatif Sampel Keju Penuimpanan 7 Bulan Chromatogram Plot



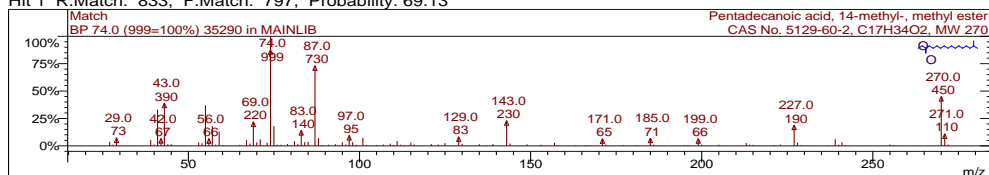
Target Compounds

Cmpd. Number	RT (min)	Area	Amount/RF
1	3.599	1.080e+6	1079693
2	11.068	1.009e+6	1009061
3	16.365	1.936e+6	1935537
4	19.415	2.317e+6	2317395
5	21.850	2.259e+6	2259029
6	23.988	8.456e+6	8456448
7	25.674	2.347e+6	2347425

Target Spectrum



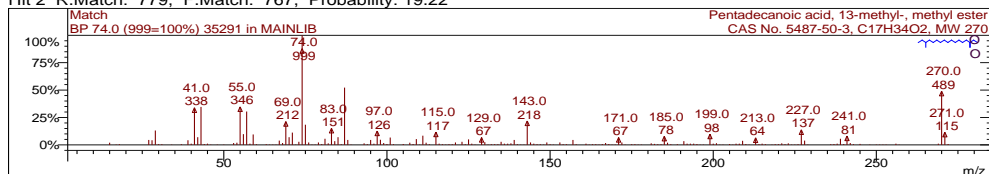
Hit 1 R.Match: 833, F.Match: 797, Probability: 69.13



Spectrum 35290 from MAINLIB Library

Name: Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester
Pair Count: 104 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 5129-60-2 Acquired Range: 27.0 - 272.0 m/z

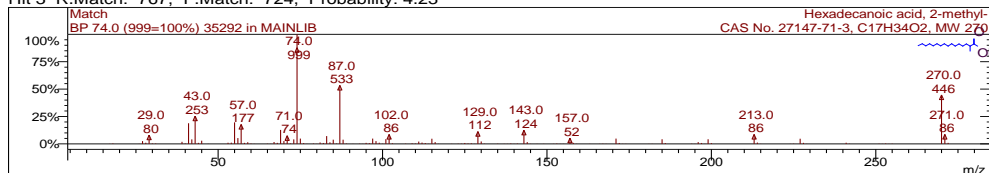
Hit 2 R.Match: 779, F.Match: 767, Probability: 19.22



Spectrum 35291 from MAINLIB Library

Name: Pentadecanoic acid, 13-methyl-, methyl ester
Pair Count: 193 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 5487-50-3 Acquired Range: 15.0 - 272.0 m/z

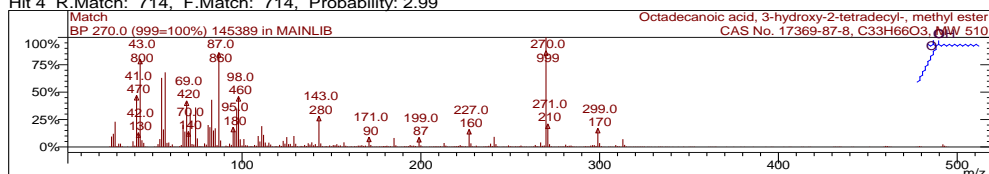
Hit 3 R.Match: 767, F.Match: 724, Probability: 4.23



Spectrum 35292 from MAINLIB Library

Name: Hexadecanoic acid, 2-methyl-
Pair Count: 136 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 27147-71-3 Acquired Range: 17.0 - 272.0 m/z

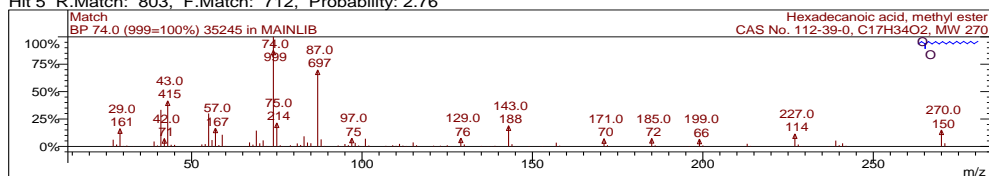
Hit 4 R.Match: 714, F.Match: 714, Probability: 2.99



Spectrum 145389 from MAINLIB Library

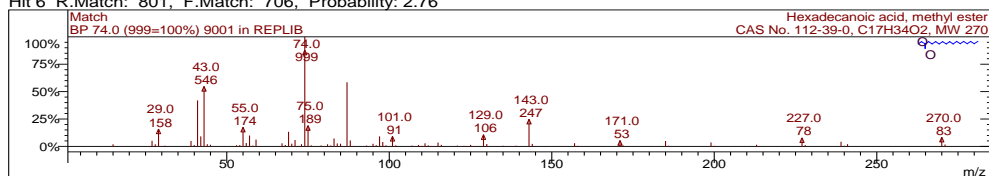
Name: Octadecanoic acid, 3-hydroxy-2-tetradecyl-, methyl ester
Pair Count: 352 MW: 510 Formula: C33H66O3
CAS No: 17369-87-8 Acquired Range: 26.0 - 495.0 m/z

Hit 5 R.Match: 803, F.Match: 712, Probability: 2.76



Spectrum 35245 from MAINLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 152 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 26.0 - 272.0 m/z

Hit 6 R.Match: 801, F.Match: 706, Probability: 2.76



Spectrum 9001 from REPLIB Library
Name: Hexadecanoic acid, methyl ester
Pair Count: 152 MW: 270 Formula: C17H34O2
CAS No: 112-39-0 Acquired Range: 14.0 - 272.0 m/z

Lampiran 5. Analisis Kuantitatif Senyawa Asam Palmitat (Metode *One Single Calibration*)

Sampel Yang telah di Preparasi

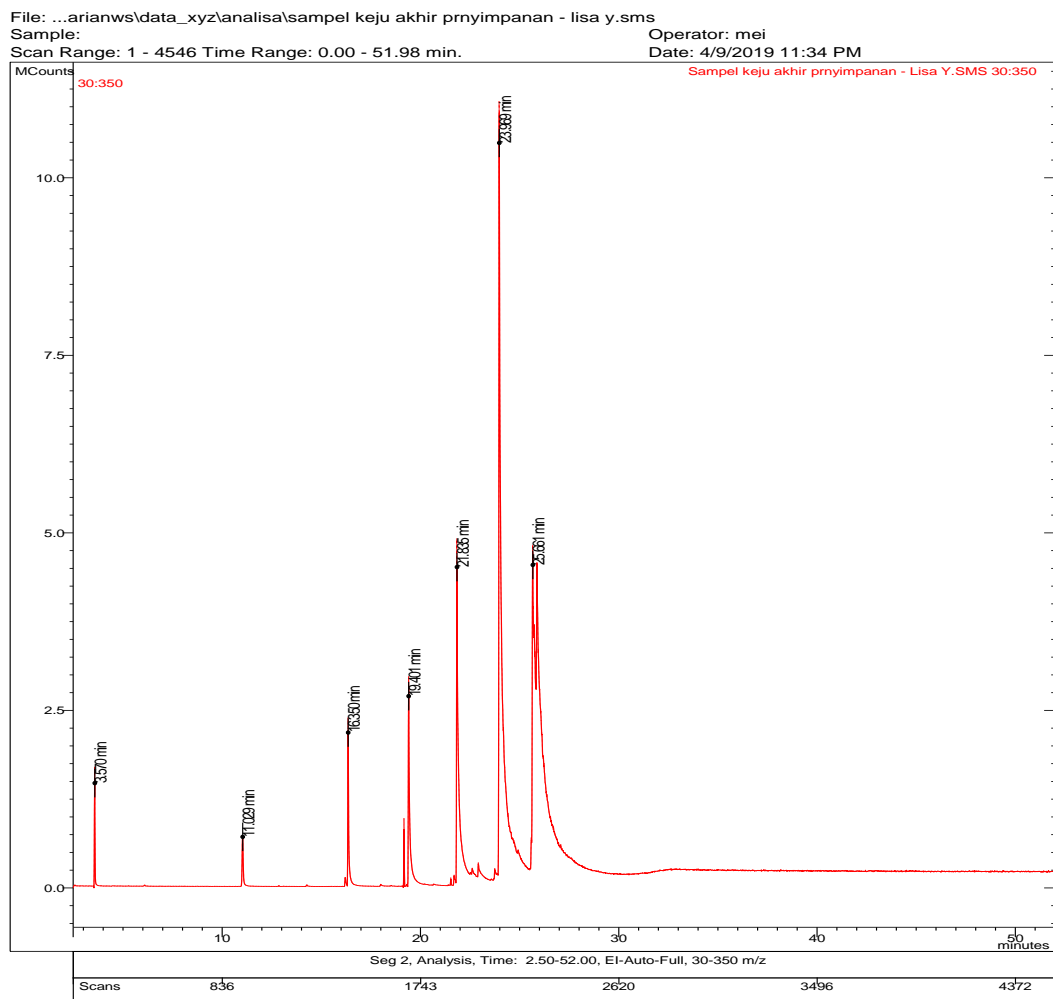
- Diinjeksikan sebanyak 2 μ L
- Dengan kondisi Suhu oven dimulai dari 80°C (10 menit), Dinaikkan menjadi 300°C dengan laju 10°C/menit (20 menit). Kolom yang dipakai yaitu tipe VF-5MS. Suhu injektor dan detektor yang dipakai yaitu 310°C. Gas pembawa yang dipakai yaitu nitrogen dengan laju alir 1 ml/menit. Detektor yang digunakan adalah spektroskopi massa
- Kemudian dibaca pada readout

Hasil

Hasil Analisis Kuantitatif

1. Hasil Analisis Kuantitatif Sampel Keju Penyimpanan 2 bulan

Chromatogram Plot



No Peak	Waktu retensi (menit)	Luas area
1	3,570	653981
2	11,029	576874
3	16,350	1109761
4	19,401	1456584
5	21,835	1585033
6	23,969	1812049
7	25,661	713370

Perhitungan Kadar Asam Palmitat Penyimpanan 2 bulan

- a. Perhitungan Persentase Kadar asam palmitat

$$\% \text{ kadar as. palmitat} = \frac{\text{luas area as.palimat}}{\text{luas area total}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar as. Palmitat penyimpanan 2 bulan} &= \frac{1812049}{7907652} \times 100 \% \\ &= 22,91 \% \end{aligned}$$

- b. Perhitungan Kadar Asam Palmitat (g/2,5g keju)

Menurut USDA kandungan lemak keju sebesar 33.31g/100g keju, dari data tersebut dapat digunakan untuk mencari kadar total lemak pada 2,5 g keju.

$$\frac{33,31 \text{ g}}{100 \text{ g}} = \frac{x}{2,5 \text{ g}}$$

$$33,31 \text{ g} \times 2,5 \text{ g} = 100 \text{ g} \times x$$

$$83,275 \text{ g} = 100x$$

$$x = \frac{83,275}{100}$$

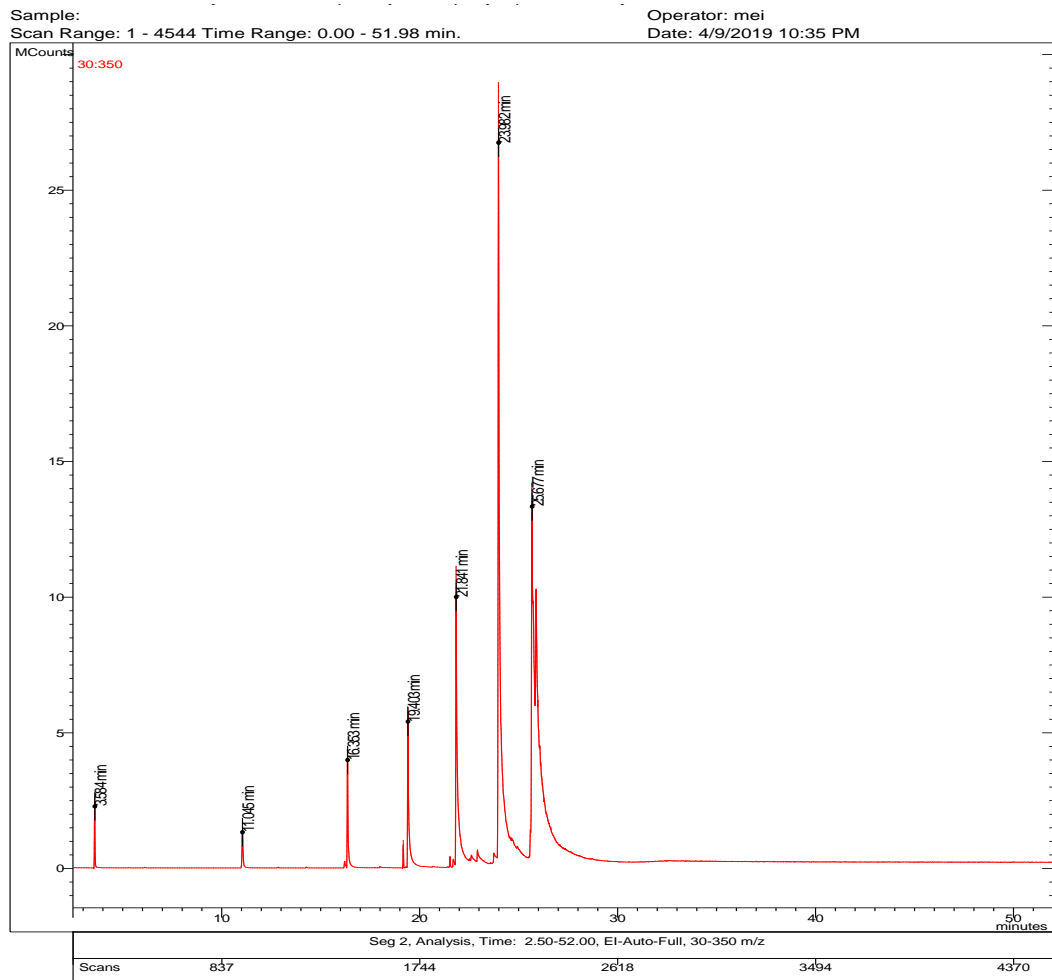
$$= 0,833$$

Kadar asam palmitat (g/2,5g keju)

$$\text{Kadar As. Palmitat penyimpanan 2 bulan} = \frac{22,91}{100} \times 0,833$$

$$= 0,191 \text{ g}$$

2. Hasil Analisis Kuantitatif Sampel Keju Penyimpanan 4 Bulan Chromatogram Plot



Puncak peak	Waktu retensi (menit)	Luas area
1	3,584	1029564
2	11,045	1046624
3	16,353	1984500
4	19,403	2893293
5	21,841	2683834
6	23,982	8206341
7	25,677	1512150

Perhitungan Kadar Asam Palmitat Penyimpanan 4 bulan

- a. Perhitungan Persentase Kadar asam palmitat

$$\% \text{ kadar as. palmitat} = \frac{\text{luas area as.palimat}}{\text{luas area total}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar as. Palmitat penyimpanan 4 bulan} &= \frac{8206341}{19356306} \times 100 \% \\ &= 42,39 \% \end{aligned}$$

- b. Perhitungan Kadar Asam Palmitat (g/2,5g keju)

Menurut USDA kandungan lemak keju sebesar 33.31g/100g keju, dari data tersebut dapat digunakan untuk mencari kadar total lemak pada 2,5 g keju.

$$\frac{33,31 \text{ g}}{100 \text{ g}} = \frac{\alpha}{2,5 \text{ g}}$$

$$33,31 \text{ g} \times 2,5 \text{ g} = 100 \text{ g} \times \alpha$$

$$83,275 \text{ g} = 100\alpha$$

$$\alpha = \frac{83,275}{100}$$

$$= 0,833$$

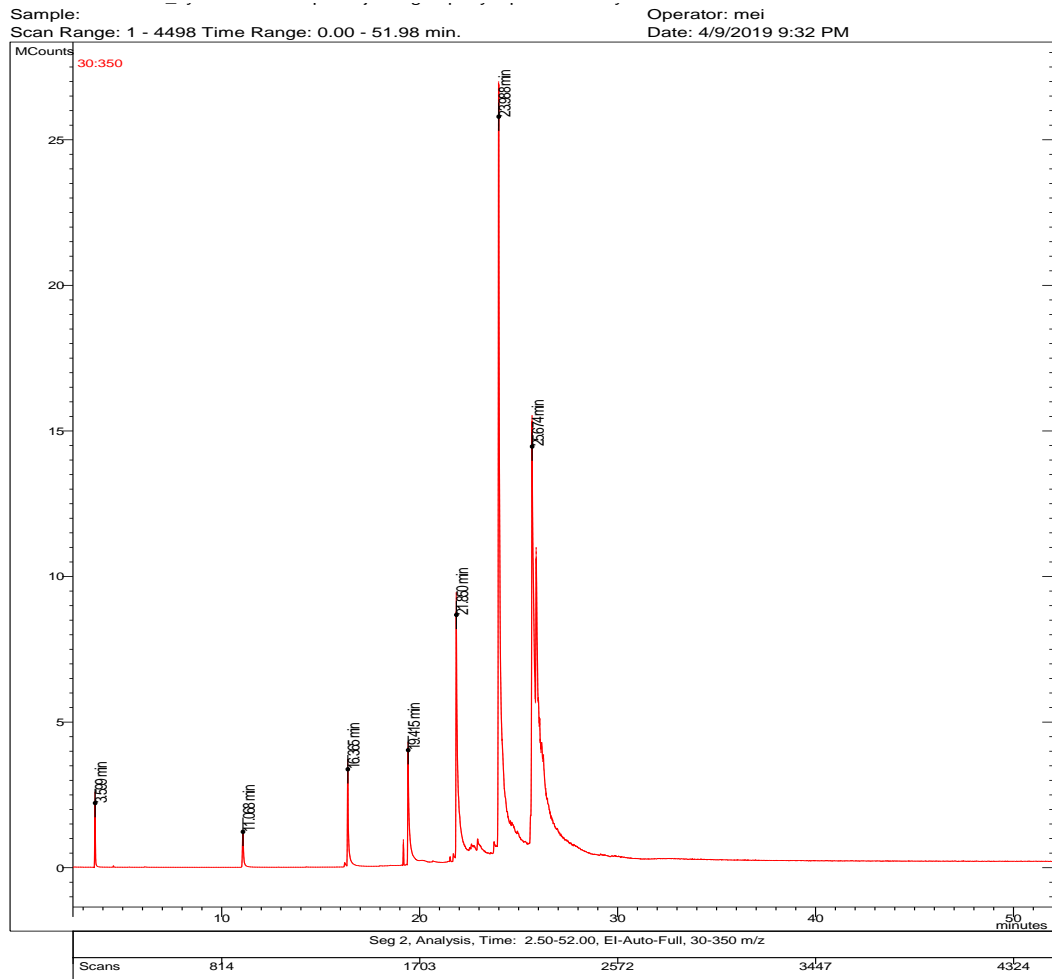
Kadar asam palmitat (g/2,5g keju)

$$\text{Kadar As. Palmitat penyimpanan 4 bulan} = \frac{42,39}{100} \times 0,833$$

$$= 0,353 \text{ g}$$

3. Hasil Analisis Kuantitatif Sampel Keju Penyimpanan 7 Bulan

Chromatogram Plot



Puncak peak	Waktu retensi (menit)	Luas area
1	3,599	1079693
2	11,068	1009061
3	16,365	1935537
4	19,414	2317395
5	21,850	2259029
6	23,988	8456448
7	25,674	2347425

Perhitungan Kadar Asam Palmitat Penyimpanan 7 bulan

- a. Perhitungan Persentase Kadar asam palmitat

$$\% \text{ kadar as. palmitat} = \frac{\text{luas area as.palimat}}{\text{luas area total}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar as. Palmitat penyimpanan 7 bulan} &= \frac{8456448}{19404588} \times 100 \% \\ &= 43,57 \% \end{aligned}$$

- b. Perhitungan Kadar Asam Palmitat (g/2,5g keju)

Menurut USDA kandungan lemak keju sebesar 33.31g/100g keju, dari data tersebut dapat digunakan untuk mencari kadar total lemak pada 2,5 g keju.

$$\frac{33,31 \text{ g}}{100 \text{ g}} = \frac{\text{x}}{2,5 \text{ g}}$$

$$33,31 \text{ g} \times 2,5 \text{ g} = 100 \text{ g} \times \text{x}$$

$$83,275 \text{ g} = 100\text{x}$$

$$\text{x} = \frac{83,275}{100}$$

$$= 0,833$$

Kadar asam palmitat (g/2,5g keju)

$$\text{Kadar As. Palmitat penyimpanan 7 bulan} = \frac{43,57}{100} \times 0,833$$

$$= 0,363$$

Lampiran 6. Hasil analisis statistika

1. Hasil analisis statistika dengan *One Way Anova*

Descriptives

Kadar

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
penyimpanan H-8 bulan	3	22.9100	.02646	.01528	22.8443	22.9757	22.89	22.94
penyimpanan H-6 bulan	3	42.3900	.02000	.01155	42.3403	42.4397	42.37	42.41
penyimpanan H-3 bulan	3	43.5700	.02646	.01528	43.5043	43.6357	43.55	43.60
Total	9	36.2900	10.04802	3.34934	28.5664	44.0136	22.89	43.60

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	807.698	2	403.849	6.731 E5	.000
Within Groups	.004	6	.001		
Total	807.702	8			

2. Hasil analisis statistika dengan *Tukey HS*

(I) jenis_keju	(J) jenis_keju	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
penyimpanan H-8 bulan	penyimpanan H-6 bulan	-19.48000*	.02000	.000	-19.5414	-19.4186
	penyimpanan H-3 bulan	-20.66000*	.02000	.000	-20.7214	-20.5986
penyimpanan H-6 bulan	penyimpanan H-8 bulan	19.48000*	.02000	.000	19.4186	19.5414
	penyimpanan H-3 bulan	-1.18000*	.02000	.000	-1.2414	-1.1186
penyimpanan H-3 bulan	penyimpanan H-8 bulan	20.66000*	.02000	.000	20.5986	20.7214
	penyimpanan H-6 bulan	1.18000*	.02000	.000	1.1186	1.2414

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

1. Preparasi Sampel



Gambar larutan kloroform : methanol (2:1 v/v) + sampel keju



Gambar larutan sampel setelah penambahan BHT dan NaCl jenuh



Gambar larutan sampel sebelum di sentrifugasi



Gambar proses sentrifugasi



Gambar hasil sentrifugasi



Gambar fase kloroform yang akan di pekatkan



Gambar fase kloroform yang telah dipekatkan

2. Proses Esterifikasi Sampel



Gambar ekstrak sampel + hexana + KOH-Metanol



Gambar larutan sampel yang siap di injeksikan



Gambar Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa

Lampiran 8. Jadwal Penelitian

JADWAL KEGIATAN		Bulan ke-					TEMPAT
		2	3	4	5	7	
1.	Tahap Persiapan						
	a.	Persiapan Bahan	√				Laboratorium Kimia KPB
2.	Tahap Penelitian						
	a.	Preparasi Sampel		√			Laboratorium Kimia KPB
	b.	Esterifikasi Sampel		√			Laboratorium Kimia KPB
	c.	Analisis dengan KG-SM			√		Ruang Instrumentasi KG-SM UIN malang
3.	Tahap Penyelesaian						
	a.	Analisis dan Pengolahan Data				√	Laboratorium Kimia KPB
	b.	Penyusunan Laporan Akhir				√	Laboratorium Kimia KPB
	c.	Pengumpulan Laporan					√ Prodi S1 Farmasi KPB