

IDENTIFIKASI DAN ANALISIS AKRILAMIDA DALAM KOPI SERBUK (TUBRUK) DAN KOPI INSTAN DENGAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI

M. Hatta Prabowo^{1*}, Ari Wibowo², Fitri Yuliani³

^{1,2,3} Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia

*e-mail: htprabowo@gmail.com

ABSTRAK

Akrilamida merupakan salah satu zat yang dapat menyebabkan kanker pada manusia dan bersifat neurotoksik. Akrilamida dapat terbentuk akibat pemanasan suhu tinggi terhadap makanan yang mengandung karbohidrat dan asam amino. Karbohidrat dan asam amino merupakan senyawa utama yang terkandung dalam biji kopi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah akrilamida pada serbuk kopi dan kopi instan yang beredar di masyarakat. Metode analisa akrilamida dilakukan dengan metode KCKT menggunakan fase gerak asam fosfat:asetonitril:akuabides (1:5:94 v/v/v), fase diam kolom Sunfire C₁₈ (150 x 4,6 mm id, 5µm), dan laju alir 0,15 mL/menit dengan detektor UV 202 nm. Hasil uji validasi metode yang dilakukan memberikan linearitas 0,999 (range 2-20 µg/mL), LOD 0,94 µg/mL dan LOQ 2,86 µg/mL, presisi dengan RSD 0,47 %, dan akurasi serbuk kopi 91-94% serta kopi instan 99-102%. Kadar yang diperoleh menunjukkan kadar akrilamida pada serbuk kopi dan kopi instan masing-masing sebesar 7,03 ± 0,01 µg/g dan 5,71 ± 0,03 µg/g. Kadar akrilamida dalam serbuk kopi dan kopi instan dinyatakan aman berdasarkan FDA apabila konsumsi kopi tidak melebihi 16 g/hari.

Kata kunci: akrilamida, serbuk kopi, kopi instan, KCKT, validasi

ABSTRACT

Acrylamide is a substance that can cause cancer on human and is neurotoxic. Acrylamide is formed due to high temperature heating of foods that contains carbohydrates and amino acids. Carbohydrates and amino acids are the

major compounds that contained in coffee beans. This study aims to determine the levels of acrylamide in ground coffee and instant coffee that have different process of manufacture. Method of analyze of acrylamide were performed by HPLC (High Performance of Liquid Chromatography) method using mobile phase that consists of phosphoric acid : acetonitrile : aquabides (1:5:94 v/v/v), the stationary phase was Sunfire C₁₈ column (150 x 4.6 mm, 5µm), and the flow rate was 0-15 mL/minute and the detection using UV 202 nm. The result of the study was validation of method that provide the linearity 0.999 (range 2-20 µg/mL), LOD of 0.94 µg/mL and LOQ of 2.86 µg/mL, the precision with RSD of 0.47%, and accuracy for ground coffee of 91-94% and instant coffee of 99-102%. The study found acrylamide levels in ground coffee and instant coffee were 7.03 ± 0.01 µg/g dan 5.71 ± 0.03 µg/g respectively. These levels were considered safe for up to 16 g for consume of coffee.

Keywords : acrylamide, ground coffee, instant coffee, HPLC, validation

PENDAHULUAN

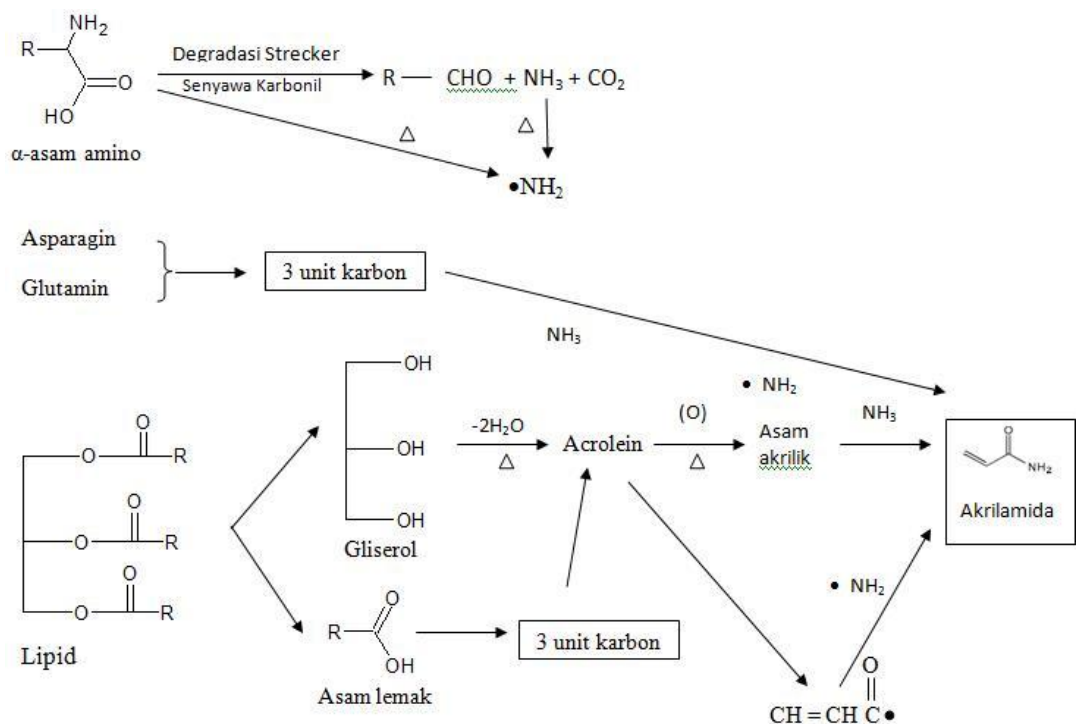
Menurut *Swedish National Food Administration*, akrilamid banyak dijumpai pada beberapa makanan berkarbohidrat tinggi yang mengalami pemanasan dengan suhu tinggi (di atas 120°C). Makanan seperti keripik kentang, kentang goreng, *popcorn*, sereal, biskuit, makanan bayi dan kopi dalam proses pembuatannya menggunakan proses pengolahan dengan suhu yang tinggi. Oleh karena itu, *Food and Drug Administration*

(FDA) melarang masyarakat mengonsumsi makanan-makanan tersebut. Akrilamida dapat juga terbentuk dari protein, peptida, dan amina biogenik (Harahap, 2005). Pembentukan akrilamida juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lain yaitu suhu pemanasan, waktu pemanasan, pH, dan kadar air (Lingnert, 2002).

Biji kopi merupakan salah satu produk pangan yang mengandung karbohidrat dan asam amino yang tinggi sebagai prekursor terbentuknya akrilamida. Pembuatan serbuk kopi dilakukan dengan proses *roasting* kemudian dibentuk bubuk dan apabila dilarutkan dalam air maka akan meninggalkan ampas. Kopi instan dibuat melalui proses *roasting* kemudian dilakukan *grinding* lalu dilakukan ekstraksi dengan cara perkolasi pada suhu 154-182°C. Selanjutnya

dilakukan pengeringan (*drying*) dengan metode *spray dryer* ataupun *freeze dryer* (Anonim, 2010).

Karbohidrat dan asam amino merupakan senyawa kimia utama pada kopi sebagai prekursor reaksi Maillard yang berperan penting dalam menimbulkan aroma pada kopi (Seal *et al.*, 2008). Reaksi Maillard adalah reaksi antara senyawa amino (biasanya asam amino, peptide, atau protein) dengan senyawa karbonil. Selama reaksi Maillard dihasilkan zat yang berbahaya seperti akrilamida atau 5-hidroksimetil-furfural. FDA menemukan residu akrilamid pada beberapa produk kopi di pasaran (Nursten, 2005). Mekanisme pembentukan akrilamida dapat dilihat sesuai dengan **Gambar 1**.



Gambar 1. Hipotesis mekanisme pembentukan akrilamida dari asam amino dan lipid

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa pada populasi umum, rata-rata asupan akrilamida melalui makanan berada pada rentang 0,3–0,8 µg/kg BB/hari. *Environmental Protection Agency (EPA)* pada tahun 1992 dan WHO pada tahun 1985 telah membatasi kadar akrilamida dalam air minum sebesar 0,5 µg/L (ppb) (Anonim, 1985). *Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEAHHA)*, salah satu divisi EPA yang berlokasi di California, Amerika Serikat telah menetapkan bahwa asupan 0,2 µg/hari akrilamida tidak bersifat sebagai agen pencetus kanker (Anonim, 2005^a).

Pengembangan metode analisis akrilamida dalam produk pangan telah banyak dilakukan dengan menggunakan metode *high performance of liquid chromatography* (HPLC) (Liu *et al.*, 2008) dan kromatografi gas (Yasuhara *et al.*, 2003). Analisis dengan menggunakan kromatografi gas membutuhkan tahap derivatisasi akrilamida untuk mengurangi cemaran senyawa lain dan untuk meningkatkan volatilitas, selektivitas dan sensitivitas akrilamida. Namun, tahap tersebut membutuhkan waktu yang cukup lama.

Penelitian yang dilakukan adalah menggunakan kromatografi cair yang tidak memerlukan tahap derivatisasi akrilamida terlebih dahulu, serta tidak membutuhkan pelarut yang bebas air dan bersifat volatil seperti yang dibutuhkan pada analisis dengan kromatografi gas. dan tidak memerlukan waktu yang lama serta merupakan teknik yang baik untuk analisis kuantitatif akrilamida (Liu *et al.*, 2008). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh proses pengolahan biji

kopi terhadap kadar akrilamida dalam produk kopi dengan menggunakan metode kromatografi cair dengan detektor uv yang memiliki validitas dan sensitivitas yang baik.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk kopi (tubruk) dan serbuk kopi instan tanpa tambahan gula yang beredar di pasar di daerah Ngaglik sleman Yogyakarta; akrilamida; aseton (p.a, E Merck, Germany); n-heksana (p.a., E Merck, Germany); asam Fosfat (p.a., E Merck, Germany); asetronitril (HPLC grade, E Merck, Germany); akuabides (PT. Ikaparmindo Putramas, Indonesia), kertas saring.

Alat yang di gunakan adalah seperangkat alat gelas (Pyrex); ultrasonik (Branson[®]); timbangan analitik macrobalance (Metler Toledo[®]); timbangan analitik semimikrobalance (Metler Toledo[®]); cawan porselen; corong *Buchner, vacuum manifold*; kaca arloji; detektor UV-Vis (Waters[®] 2489); kolom C₁₈ (Sunfire[™]) 150 mm x 4,6 mm, 5 µm; injektor, (Waters[®] SM7); KCKT (Waters[®] e2695).

Sampling

Sampel diambil secara acak atau digunakan metode *convenience sampling*. Sampel yang dipilih adalah produk kopi robusta dengan bentuk sediaan yang berbeda yaitu kopi serbuk (tubruk) dan kopi instan. Kedua sampel dibeli dari supermarket yang ada di wilayah Jalan Kaliurang Yogyakarta dengan batas kadaluarsa yang sama.

Preparasi sampel

Sejumlah 2,2 g bubuk kopi ditimbang dan dilakukan penghilangan kandungan lemak dengan menambahkan 10 mL n-heksana pada sampel dan di-*vortex* selama 5 menit. Setelah didekantasi, residu dikeringkan dengan *vacuum manifold*. Tahap ini dilakukan 2 kali. Untuk mengekstraksi akrilamida, filtrat kopi yang telah didefatasi dengan cara ditambahkan aseton sebanyak 20 mL dan 100 μ L aquabides dan di-*ultrasonic* selama 20 menit pada suhu $40 \pm 0,1^\circ$ C. Lapisan aseton disaring dengan menggunakan kertas saring dan kemudian diuapkan dengan *waterbath*. Kemudian residunya ditambahkan dengan 2 mL fase gerak dan dikocok untuk melarutkan dan disaring dengan kertas saring.

Optimasi kondisi analisa dan uji kesesuaian sistem

Sejumlah 20 μ L larutan standar akrilamida dengan 10 ppm diinjeksikan ke dalam sistem KCKT. Fase gerak yang digunakan adalah asam fosfat, asetonitril dan akuabides dengan perbandingan 1:5:94 v/v/v dan laju alir 0,15 mL/menit pada panjang gelombang yang sama. Selanjutnya 20 μ L sampel diinjeksikan ke dalam sistem KCKT dengan kondisi fase gerak, laju alir dan panjang gelombang 202 nm. Kemudian dari data yang diperoleh ditentukan apakah kondisi yang digunakan memiliki kesesuaian sistem.

Pembuatan standar dan kurva baku akrilamida

Sejumlah lebih kurang 10 mg standar akrilamida ditimbang seksama dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Larutan stok akrilamida dilarutkan dengan asam fase gerak sampai batas. Larutan

standar akrilamida dengan konsentrasi : 2; 5; 10; 15 dan 20 ppm dibuat dengan mengencerkan larutan stok menggunakan fase gerak. Larutan standar 2; 5; 10; 15 dan 20 ppm masing-masing diinjeksikan sebanyak 20 μ L ke dalam sistem KCKT pada kondisi terpilih. Luas area dibawah kurva yang diperoleh di hitung untuk menentukan persamaan garis regresi linier.

Pengujian batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi dan batas kuantitasi ditentukan dari regresi kurva baku yang diperoleh. Nilai LOD = $3,3 \times (SD/S)$ dan LOQ = $10 \times (SD/S)$, standar deviasi (SD) respon ditentukan berdasarkan standar deviasi residual (simpangan baku residual) dari garis regresi yang dinyatakan sebagai Sy/x dan S merupakan nilai kemiringan (*slope* atau b) pada persamaan garis atau regresi linier $y = bx + a$ (Anonim, 2002).

Uji Presisi

Pengujian presisi yang dilakukan adalah keterulangan (*repeatability*) sebagai variasi dalam sehari. Kadar yang digunakan dalam pengujian presisi adalah 10 ppm untuk akrilamid. Sejumlah 20 μ L larutan standar 10 ppm diinjeksikan ke dalam sistem KCKT menggunakan fase gerak dan kecepatan alir yang terpilih sebanyak 6 kali rpitasi, dielusi dengan eluen terbaik. Data yang akan diperoleh adalah nilai t_R dan AUC kemudian dihitung nilai rata-rata (\bar{x}), standar deviasi (SD) dan standar deviasi relatif (RSD). Berdasarkan AOAC, nilai presisi senyawa dengan konsentrasi 100-1000 ppm baik jika % RSD-nya $\leq 4\%$ (Anonim, 2002).

Uji Akurasi

Sejumlah 22 g sampel ditimbang dan ditambahkan sejumlah standar yang setara dengan 0,1 mg standar akrilamida. Campuran tersebut kemudian dilakukan defatisasi dengan menggunakan 100 mL n-hexana dan di-vortex selama 30 menit. Setelah didekantasi, residu dikeringkan dengan *vacuum manifold*. Defatisasi dilakukan 2 kali. Selanjutnya, campuran yang telah didefatisasi diekstraksi dengan menggunakan 200 mL aseton, di-*ultrasonic* selama kurang lebih 1 jam pada suhu $40 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Lapisan aseton disaring dengan menggunakan kertas saring dan kemudian diuapkan dengan *waterbath*. Kemudian residunya ditambahkan fase gerak hingga 20 mL dan dikocok untuk melarutkan. Sebelum diinjeksikan, larutan uji disaring terlebih dengan *acrodisc syringe filter*. Setelah diperoleh data berupa nilai AUC sampel yang telah ditambahkan standar kemudian dihitung % perolehan kembali dari masing-masing kadar standar yang ditambahkan dalam sampel dengan menentukan persen analit yang ditambahkan yang dapat terukur. Berdasarkan AOAC, nilai % perolehan kembali senyawa dengan konsentrasi 10-100 ppm baik jika nilainya 80-115 % dan konsentrasi 100-1000 ppm nilainya antara 85-110 % (Anonim, 2002).

Uji akrilamida dalam sampel

Larutan uji hasil preparasi disaring menggunakan *acrodisc syringe filter* 0,45 μm dan diinjeksikan ke dalam sistim KCKT sebanyak 20 μL pada kondisi analisis yang sesuai dan ditentukan luas area puncaknya. Konsentrasi akrilamida dalam sampel dihitung menggunakan persamaan kurva kalibrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kesesuaian sistem

Uji kesesuaian sistem bertujuan untuk memastikan sistem operasi secara lengkap mulai dari instrumen, kolom, reagen dan kolom telah cocok untuk penggunaannya. Uji kesesuaian sistem merupakan bagian integral dari kromatografi cair dan gas. Uji ini digunakan untuk memverifikasi resolusi dan reproduibilitas sistem kromatografi untuk analisa yang dilakukan. Adapun hasil uji kesesuaian sistem dapat dilihat pada tabel 1. Faktor kapasitas, resolusi, faktor tailing dan efisiensi kolom telah memenuhi persyaratan yang telah ditentukan. Menurut ICH resolusi yang harus dicapai adalah $>1,5$ (Anonim 2005^b). Berdasarkan data yang diperoleh, resolusi dari akrilamida masih cukup baik. Menurut FDA, faktor tailing sebaiknya ≤ 2 . Berdasarkan data yang diperoleh, faktor tailing dari akrilamida masih cukup baik. Berdasarkan ketentuan FDA efisiensi kolom akan dikatakan baik apabila nilai $N > 2000$ (Anonim,1994).

Validasi metode analisis

Validasi metode analisis merupakan suatu tindakan penilaian yang harus dilakukan terhadap parameter tertentu berdasarkan percobaan laboratorium untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Beberapa parameter analisis yang harus dipertimbangkan dalam validasi metode analisis didefinisikan dan diuraikan sebagaimana cara penentuannya.

Selektivitas

Selektivitas metode adalah kemampuan suatu metode yang hanya

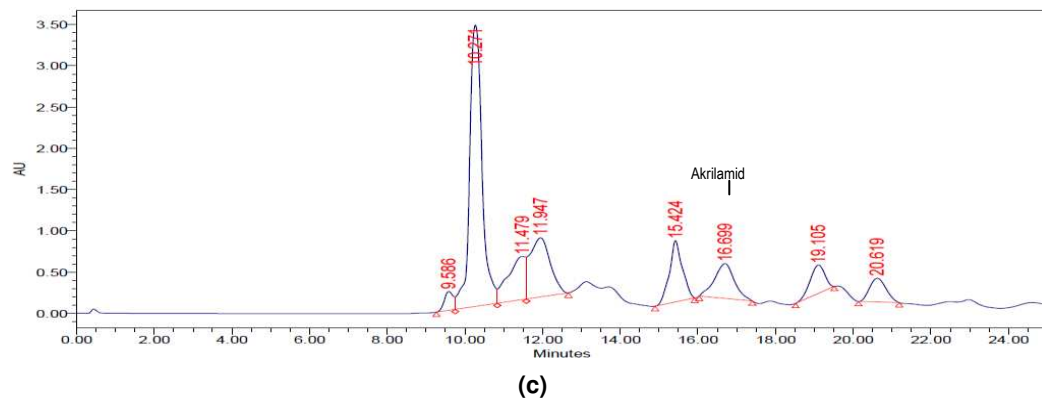
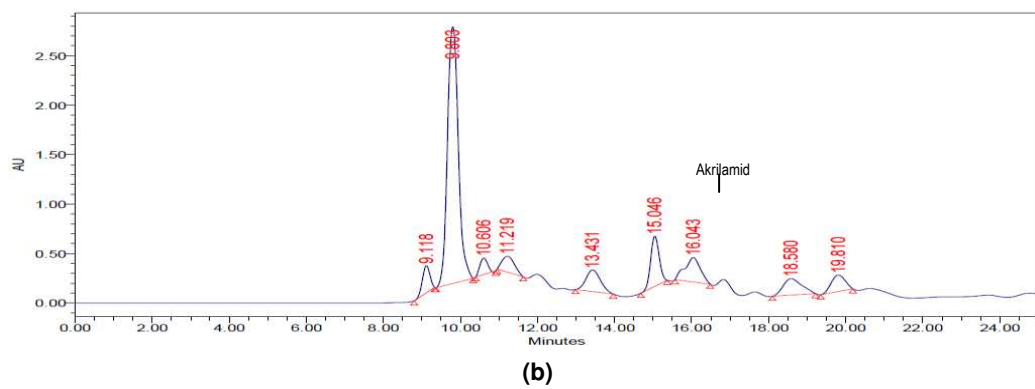
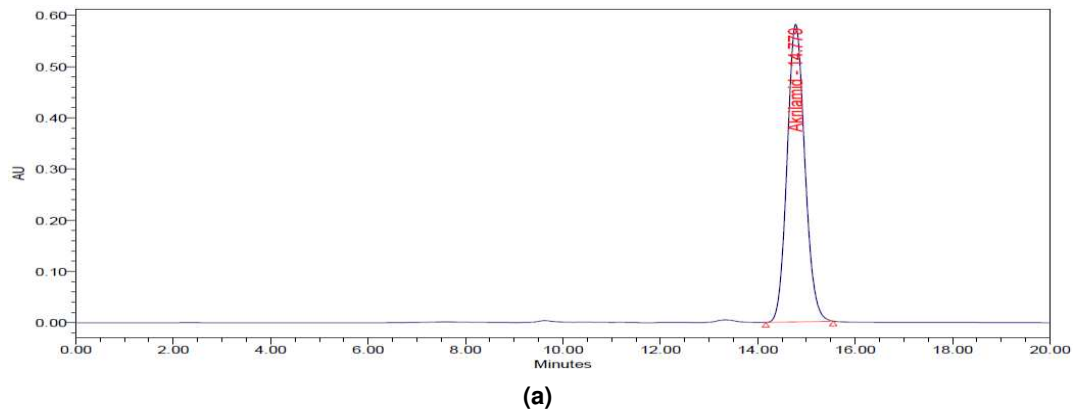
mengukur zat tertentu saja secara seksama dengan adanya komponen lain yang terdapat dalam sampel. Penentuan selektivitas harus dilakukan selama validasi uji identifikasi, penentuan cemaran dan pengujian.

Prosedur dengan kromatografi digunakan kromatogram standar sebagai pembanding. Kemudian ditentukan resolusi dua puncak yang terelusi berdekatan. Resolusi masing-masing pada sampel kopi

serbuk (tubruk) dan kopi instan, pada analisis ini sedikit berbeda. Pada kopi serbuk (tubruk), resolusi rata-rata puncak akrilamida terhadap puncak yang muncul pada menit ke-13,4 adalah 1,9, sedangkan resolusi rata-rata puncak akrilamida pada kopi instan terhadap puncak yang muncul pada menit ke-13,4 adalah 2,04. Berdasarkan nilai resolusi tersebut, maka spesifisitas metode yang digunakan sudah baik walaupun *baseline* kurang baik.

Tabel 1. Hasil uji kesesuaian sistem metode analisa akrilamid dengan KCKT dalam kopi

No.	Variabel	Hasil	
		Kopi Serbuk	Kopi Instan
1	Fase gerak	Asam fosfat : asetnitril : akubides (1:5:94)	Asam fosfat : asetnitril : akubides (1:5:94)
2	Fase diam	Sunfire C ₁₈ (150 mm x 4,6 mm) 5 µm	Sunfire C ₁₈ (150 mm x 4,6 mm) 5 µm
3	Kecepatan alir	1,0 mL/menit	1,0 mL/menit
4	Panjang gelombang	202 nm	202 nm
5	Faktor kapasitas	0,65	0,96
6	Resolusi	1,90	2,04
7	Faktor tailing	0,140	0,09
8	Efisiensi kolom	4503	7741

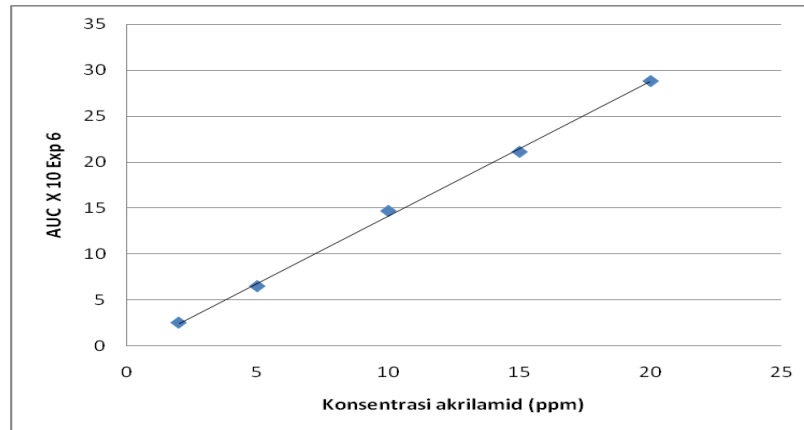


Gambar 2. (a) Kromatogram standar akrilamida, (b) Kromatogram sampel kopi instan, (c) Kromatogram akrilamida sampel serbuk kopi tubruk. Kondisi KCKT : Kolom Sunfire C₁₈ (150 mm x 4,6 mm) 5 μm, fase gerak asam fosfat : asetonitril : aqubides (1:5:94), laju alir 1,0 mL/menit dan deteksi dengan UV 202 nm.

Linieritas

Linearitas ditujukan untuk mengetahui kemampuan metode analisis untuk memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang sesuai terhadap konsentrasi

analit dalam sampel. Data hasil regresi linier yang diperoleh memberikan persamaan regresi linier $Y = 1463427,341X - 481214,641$ dengan nilai r adalah 0,999. Hal ini menunjukkan bahwa kurva baku memiliki linieritas yang baik.



Gambar 3. Kurva kalibrasi akrilamida

Batas deteksi dan batas kuantitasi

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantitasi. Batas kuantitasi merupakan konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Batas deteksi dan batas kuantitasi merupakan parameter sensitivitas suatu metode analisis, semakin kecil nilai batas deteksi dan kuantitasi menandakan semakin sensitif suatu metode dalam menganalisis dan mengukur kadar suatu analit. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai batas deteksi akrilamida adalah 0,79 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai batas kuantitasnya adalah 2,40 $\mu\text{g/mL}$.

Presisi

Presisi merupakan ukuran kedekatan antara serangkaian hasil analisis yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran pada sampel homogen yang sama. Presisi biasanya diekspresikan sebagai simpangan baku relatif dari sejumlah sampel yang berbeda signifikan secara statistik. Keterulangan merupakan ketepatan pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik analisisnya, peralatannya, tempatnya, maupun waktunya, sedangkan presisi antara merupakan ketepatan pada kondisi percobaan yang salah satunya berbeda baik analisisnya, peralatannya, tempatnya maupun waktunya. Dokumentasi presisi seharusnya mencakup simpangan baku, simpangan baku relatif (RSD) atau koefisien variasi (CV). Merujuk pada *Association of Official Analytical Chemist (AOAC) Guidelines* yang merupakan acuan dalam validasi metode

analisis, nilai RSD presisi keterulangan yang diterima untuk senyawa dengan kadar 10 sampai 100 ppm adalah tidak lebih dari 7% (Anonim, 2002). Data hasil perhitungan presisi pada Tabel 2 menunjukkan bahwa

nilai standar deviasi relatif (RSD) dari kadar 6 replikasi adalah 0,47%. Ini menunjukkan %RSD analit telah memenuhi kriteria yang ditetapkan untuk pengukuran presisi.

Tabel 2. Data uji presisi akrilamida 10 ppm

Penginjeksi ke -	Luas Area	Kadar (ppm)	Waktu Retensi (menit)
1	15024858	10,62	14,83
2	15131724	10,69	14,83
3	14938737	10,56	14,82
4	15031849	10,62	14,83
5	14906115	10,54	14,82
6	14953359	10,57	14,84
Rata-rata	14997774	10,60	14,83
SD	82093,46	0,05	0,005
RSD (%)	0,54	0,47	0,03

Kecermatan (*accuracy*)

Akurasi merupakan kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima sebagai nilai sebenarnya. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Pengukuran akurasi dalam penelitian ini menggunakan metode standar adisi, karena sampel yang dianalisis merupakan obat paten yang tidak diketahui matriks didalamnya sehingga tidak memungkinkan untuk membuat sampel plasebonya. Metode

adisi merupakan teknik analisis kuantitatif dengan menambahkan sejumlah analit dengan jumlah yang telah diketahui ke dalam sampel. Persen perolehan kembali ditentukan dengan menentukan berapa persen analit yang ditambahkan tadi dapat ditemukan. Suatu pendekatan praktik dalam metode standar adisi adalah dengan membagi sampel ke dalam beberapa bagian yang sama lalu menambahkan ke dalamnya standar dengan level konsentrasi yang meningkat.

Tabel 3. Uji *recovery* akrilamida pada kopi serbuk

Level	Kadar akrilamid teoritik (ppm)	Kadar akrilamid diperoleh (ppm)	% <i>Recovery</i>
80%	12,68	11,62	91,68
100%	14,08	13,34	94,74
120%	15,50	14,61	94,26

Tabel 4. Uji *recovery* akrilamida pada kopi instan

Level	Kadar akrilamid teoritik (ppm)	Kadar akrilamid diperoleh (ppm)	% <i>Recovery</i>
80%	10,33	10,62	102,80
100%	11,48	11,54	100,52
120%	12,63	12,61	99,84

Merujuk persyaratan nilai akurasi yang tertera dalam AOAC, nilai akurasi yang diterima untuk konsentrasi 1-10 ppm adalah 85-110 %. Pada uji *recovery* yang dilakukan terhadap sampel, uji *recovery* akrilamida dalam kopi serbuk berkisar antara 91-94 % *recovery*nya sedangkan untuk kopi instan berkisar 99-102%. Berdasarkan hasil tersebut, maka % *recovery* yang diperoleh pada kopi instan dengan menggunakan metode ini dapat diterima.

Penentuan kadar akrilamida pada kopi instan dan kopi tubruk

Penetapan kadar sampel merupakan tahap akhir yang dilakukan dalam penelitian setelah metode baru yang dikembangkan memiliki validitas yang baik sehingga hasil pengukurannya dapat dipertanggungjawabkan kebenarannya.

Tabel 6. Hasil analisis akrilamida dalam sampel kopi instan dan kopi serbuk

Sampel	Replikasi ke-	Area	Kadar akrilamid (ppm)	SD	RSD (%)	Kandungan / sachet (g)
Kopi Serbuk	1	9793960	7,02	0,01	0,14	7,03 µg
	2	9827634	7,04			
	3	9803182	7,03			
Kopi Instan	1	7852027	5,69	0,02	0,44	5,71 µg
	2	7924334	5,74			
	3	7887213	5,72			

Produk kopi serbuk (tubruk) dan kopi instan mengalami langkah pengolahan biji kopi yang berbeda untuk pembuatannya. Kopi tubruk pada umumnya dibuat dari biji kopi yang dipanggang dan kemudian dihaluskan, sedangkan kopi instan dibuat dari biji kopi yang juga mengalami pemanggangan dan dihaluskan dan setelah itu dilakukan perkolasi pada suhu tinggi dengan menggunakan air. Hal ini yang menyebabkan kandungan akrilamid pada kedua jenis kopi tersebut berbeda. Hasil yang diperoleh dari uji tersebut yaitu kopi serbuk (tubruk) memiliki konsentrasi akrilamida yang lebih tinggi. Ada beberapa faktor yang memungkinkan terjadinya penurunan akrilamida dalam proses pembuatan bubuk kopi ini antara lain adalah penyimpanan dan penambahan air pada tahap perkolasi. Diketahui bahwa

penyimpanan makanan atau minuman yang mengandung akrilamida pada suhu >4°C akan menyebabkan penurunan konsentrasi akrilamida. Peningkatan kelembaban dengan adanya air menyebabkan penekanan pembentukan akrilamida dan menurunkan kadar senyawa prekursor akrilamida tersebut (Friedman, 2003).

FDA memperkirakan jumlah asupan akrilamida yang masih memberikan tingkat risiko yang rendah adalah 1 µg/hari. Kadar tersebut diperkirakan memberikan efek karsinogenik 100.000 kali lebih rendah dibandingkan rata-rata asupan per hari. Asupan akrilamida yang dapat di toleransi adalah 2,6 µg/kg BB/hari untuk menghindari efek karsinogeniknya. Jika diasumsikan berat rata-rata laki-laki dan perempuan dewasa sekitar 40-80 kg, maka asupan akrilamida yang diperbolehkan adalah 80 -

160 µg tiap harinya. Pada penelitian ini, diperoleh hasil yaitu kopi instan mengandung akrilamida $7 \pm 0,01$ µg/g dan kopi tubruk mengandung akrilamida $5 \pm 0,03$ µg/g. Berdasarkan data tersebut, maka asupan akrilamida yang diperoleh dari masing-masing kopi dapat dikatakan aman untuk dikonsumsi hingga 16 g dalam sehari (88-112 µg) pada orang dewasa (Anonim, 2010).

KESIMPULAN

Metode analisa yang digunakan memiliki validitas yang baik berdasarkan parameter ICH dan AOAC. Kopi serbuk memiliki kandungan akrilamida $7,03 \pm 0,009$ µg/g dan kopi instan memiliki kandungan akrilamid sebesar $5,71 \pm 0,025$ µg/g. Kopi serbuk (tubruk) dan instant yang diuji masih relatif aman untuk di konsumsi oleh masyarakat dibawah 16 g/hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1985. *Environmental Health Criteria 49 Acrylamide*. International Programme on Chemical safety: the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation, and the World Health Organization. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc49.htm> #SubSectionNumber:1.1.5, 13 Juni 2010 22.00 WIB.
- Anonim, 1994, Reviewer Guidance : Validation of Chromatographic Methods, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 22.
- Anonim, 2002, AOAC *Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals*, available at <http://www.aoac.org> (diakses 12 Desember 2009).
- Anonim, 2005^a. *Intake of Acrylamide in Food*. Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHA). http://oehha.ca.gov/prop65/law/pdf_zip/_acrylamideintakeReport.pdf, 22 Juni 2010 21.00 WIB.
- Anonim, 2005^b, *Validation of Analytical Procedures: Methodology*, adopted in 1996, International Conference of Harmonization Q2(R1), Geneva.
- Anonim, 2010. *Toxicology of Acrylamide* (CAS No. 79-06-1) In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC
- Friedman, M., 2003. Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. A Review. *J. Agric. Food Chem.*, Vol 51: (16). 4504-4526.
- Harahap, Y., Harmita, Simajuntak, B., 2005, Optimasi Penetapan Kadar Akrilamida yang Ditambahkan ke dalam Kripik Kentang Simulasi Secara Kromatografi Cair Kinerja tinggi, *Indonesian J. Pharm.*, Vol. II No. 3: 154-163.
- Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Skog, K., Tornqvist, M., Aman, P., 2002, Acrylamide in Food : Mechanisms of Formation and Influencing Factor during heating of foods, *Scand. J. Nutr.*, Vol. 46: (4), 159–172.
- Liu, J., Zhao, G., Yuan, Y., Chen, F., Hu, X., 2008, Quantitative Analysis of Acrylamide in Tea by Liquid Chromatography Coupled with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry, *Food Chem.*, Vol. 108. 760-767.
- Nursten, H., 2005. *The Maillard Reaction Chemistry, Biochemistry and Implications*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge.
- Seal, C. J., de Mul, A., Haverkort, A.J., Franke, K., Lallie, S.P.D., Mykkanen, H., Reimerdes, E., Scholz, G., Somoza, V., Tuijtelaars, S., van Boekel, M., van Klaveren, J., Wilcockson, S.J.,

M. Hatta Prabowo

Wilms, L., 2008, Risk-Benefit Considerations of Mitigation Measures on Acrylamide Content of Foods—A Case Study on Potatoes, Cereals and Coffee, *Brit. J. Nutr.*

Yasuhara, A., Tanaka, Y., Hengel, M., dan Shibamoto, T., 2003. Gas Chromatographic Investigation of Acrylamide Formation in Browning Model Systems. *J. Agric. Food Chem.*, vol **51** : 4002-4003.