

**PENGEMBANGAN TEKNIK DIFFERENTIAL SCANNING
CALORIMETRIC UNTUK ANALISIS KONTAMINAN
MINYAK SAWIT DAN PRODUKNYA**

Tri Haryati, Donald Siahaan, dan Kamariah Long¹

ABSTRAK

Kesadaran atas keamanan pangan produk sawit meningkat belakangan ini. Antisipasi metode analisis untuk menjamin keamanan pangan perlu dilakukan. Salah satu bahan aditif penting yang digunakan dalam olein dan shortening (produk pangan utama dari minyak sawit) adalah antioksidan sintetik. Penggunaan antioksidan sintetik tidak boleh melebihi 200 ppm karena dapat mengakibatkan gangguan pada kesehatan manusia.

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh metode analisis antioksidan pada olein dan shortening dengan metode yang lebih cepat namun tetap akurat dan tidak menggunakan pelarut organik. Metode differential scanning calorimetry (DSC) merupakan salah satu jawaban atas persoalan tersebut. Analisis dilakukan dengan metode standar menggunakan HPLC dan pengembangan teknik dengan metode DSC. Pengembangan teknik DSC untuk analisis antioksidan yang terkandung dalam olein dan shortening melalui tahapan (i) Uji konsistensi, dilakukan untuk melihat konsistensi dari variabel yang akan digunakan sebagai indikator dalam menentukan kandungan antioksidan, (ii) membangun persamaan standar dengan menggunakan variabel DSC yang konsisten (diperoleh dari tahapan i) sebagai variabel bebas, sedangkan nilai yang diperoleh dengan metode standar digunakan sebagai variabel tidak bebas, (iii) verifikasi, dilakukan untuk melihat tingkat ketepatan dari metode DSC yang dikembangkan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perhitungan kandungan antioksidan berdasarkan persamaan standar yang menggunakan variabel-variabel relatif konsisten (koefisien keragaman dibawah 10%) baik pada kromatogram HPLC maupun pada termogram DSC pendinginan dan pemanasan. Kandungan antioksidan dalam olein dan shortening dengan alat HPLC, masing-masing dapat diduga melalui persamaan standar $Y = 0.00042 X$ ($r = 0.992$) untuk sampel olein, dan $Y = 0.00084 X$ ($r = 0.985$) untuk sampel shortening; dimana Y adalah konsentrasi antioksidan dan X adalah luas area puncak yang muncul pada kromatogram HPLC.

Kandungan antioksidan dalam olein dengan alat DSC dapat diduga melalui persamaan standar $Y = -516.864 + 0,018 X_1$ ($r = 0.92$) atau $Y = -134,002 - 0,013 X_2$ ($r = 0.92$) dimana Y adalah konsentrasi antioksidan dan X_1 adalah besaran energi

pada termogram pemanasan, sedangkan X_2 adalah besaran energi pada termogram pendinginan.

Kandungan antioksidan dalam shortening dengan alat DSC dapat diduga melalui persamaan $Y = 416 + 0,009 X_1$ ($r = 0,89$) atau $Y = 713 + 0,023 X$ ($r = 0,90$) dimana Y adalah konsentrasi antioksidan dan X_1 adalah besaran energi puncak pada suhu $-1,5^\circ\text{C}$, sedangkan X_2 adalah besaran energi pada suhu $23,5^\circ\text{C}$ dari termogram pendinginan. Uji korelasi antara metode HPLC dan DSC sangat tinggi sehingga menunjukkan bahwa metode DSC terverifikasi untuk digunakan dalam analisis antioksidan pada olein dan shortening.

Kelebihan teknik DSC dalam menduga kandungan antioksidan dalam olein dan shortening antara lain memerlukan waktu yang relatif singkat yaitu 38 menit, tidak menggunakan pelarut, relatif aman bagi teknisi dan ramah lingkungan.

Kata kunci: antioksidan sintetik, differential scanning calorimetry (DSC), olein, shortening

ABSTRACT

Awareness to food safety of palm oil products has been growing recently. Analytical method should be conducted to support food safety of palm oil products. Synthetic antioxidants usually added in major food derivatives of palm oil (olein, shortening). The addition of synthetic antioxidants should not be higher than 200 ppm.

This research was conducted to develop an analytical method which faster, but accurate and no use of toxic solvent than conventional HPLC method for determination of synthetic antioxidants. Differential scanning calorimetry (DSC) technique is a novel technique to answer that requirement. This research is a collaborative work between Indonesian Oil Palm Research Institute and Malaysian Agriculture Research and Development Institute (MARDI).

The DSC technique developed following these steps: i. consistency test (to evaluate the consistency of variables as indicator for analysis); ii. Developing standard curves, iii. Verify the results on DSC method to HPLC method by correlation test. The results show that the variable in HPLC and DSC were consistently ($CV < 10\%$) and it can be used in order to develop standard curves. The equations for analysis of olein and shortening in HPLC were $Y = 0.00042 X$ ($r = 0.992$) and $Y = 0.00084 X$ ($r = 0.985$), respectively ($Y =$ antioxidant concentration, $X =$ area of the variable peaks). In DSC, the equations were $Y = -516.864 + 0,018 X_1$ ($r = 0,92$) or $Y = -134,002 - 0,013 X_2$ ($r = 0,92$) for olein, and $Y = 416 + 0,009 X_1$ ($r = 0,89$) or $Y = 713 + 0,023 X$ ($r = 0,90$) for shortening ($X_1 =$ energy value for variable peaks). Correlation test between HPLC and DSC methods show that the two method comparable (highly correlated).

Therefore, DSC method can be used to analysis of synthetic antioxidants for both olein and shortening. The advantages of using DSC methods are short in time of analysis (38 minutes), use no toxic solvent and environmental friendly.

Key words: syntetic antioxidant, differential scanning calorimetry (DSC), olein, shortening

PENDAHULUAN

Minyak sawit merupakan salah satu bahan baku produk pangan yang sangat luas digunakan, diantaranya minyak goreng, margarin, *shortening*, dan produk-produk minyak serta lemak pangan lainnya seperti minyak salad, pengganti lemak susu, dan pengganti lemak coklat. Sebagai bahan baku produk pangan, minyak sawit dan produk turunannya (RBDPO, olein, dan stearin) harus bebas dari kontaminan-kontaminan yang bersifat membahayakan kesehatan.

Kontaminasi dapat diartikan tercampurnya agensia/bahan asing yang tidak dikehendaki oleh konsumen secara tidak sengaja. Bila agensia yang tidak dikehendaki tersebut dicampurkan secara sengaja dengan akibat merugikan konsumen, tindakan ini disebut 'adulterasi'. Adulterasi merupakan tindakan klasik yang kerap terjadi dalam perdagangan minyak dan lemak pangan di berbagai negara, seperti substitusi bahan baku pembuatan margarin dengan minyak babi di India, adulterasi solar dalam minyak goreng curah di Pulau Jawa serta minyak sawit mentah (CPO) Indonesia yang diekspor ke Eropa akhir tahun 1999. Adulterasi juga mencakup tindakan penggunaan bahan aditif yang dilarang penggunaannya pada produk pangan ataupun penggunaan bahan aditif makanan (BTM) yang melebihi batas maksimum penggunaan (BMP) yang telah ditetapkan.

Kontaminasi dan adulterasi pada minyak sawit dan produk turunannya dapat terjadi di kebun ataupun pada proses pengolahan. Salah satunya adalah

penggunaan antioksidan yang bertujuan agar produk turunan minyak sawit, seperti minyak goreng, margarin, dan *shortening*, dapat lebih tahan terhadap proses kerusakan oksidasi. Antioksidan yang banyak digunakan di industri pangan umumnya merupakan antioksidan kimia sintetik, yakni *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), dan *tertiary butyl hydroquinone* (TBHQ), yang digunakan secara individual maupun dalam bentuk campuran 2 atau 3 jenis diantaranya. FDA (*Food and Drug Administration*) - USA dan FAO menetapkan BMP jenis antioksidan kimia sintetik di atas sebesar 0.02% dari berat minyak atau 200 ppm (19). Indonesia pun menggunakan batasan yang sama sebagaimana tercantum dalam SNI 01-0222-1995 tentang antiosidan dan SNI 01-0018-1998 tentang RBD Palm Olein.

Dengan semakin meningkatnya kesadaran masyarakat akan kesehatan, maka adanya kandungan bahan aditif yang dapat membahayakan kesehatan manusia pada produk pangan maupun non pangan (seperti produk kosmetika dan farmasi) akan menjadi lebih diperhatikan dan kemungkinan juga akan menjadi salah satu *barrier* bagi perdagangan minyak sawit dan produk turunannya. Pengembangan cara-cara pengendalian berbagai senyawa kimia yang digunakan atau terjadi di dalam makanan untuk menjaga suplai makanan yang aman telah lama secara konsisten dilakukan oleh PBB maupun pemerintah.

Analisis kontaminan solar pada CPO telah berhasil dikembangkan oleh Pusat Penelitian Kelapa Sawit, baik dengan menggunakan kromatografi gas

(GC, *gas chromatography*) maupun *differential scanning calorimetry* (DSC). Pengembangan teknik DSC untuk analisis kontaminan solar pada minyak sawit bekerjasama dengan *Malaysian Agriculture Research and Development Institute* (MARDI).

Analisis kandungan antioksidan pada produk pangan umumnya menggunakan teknik kromatografi cair tekanan tinggi (KCKT/HPLC). Kedua teknik kromatografi (GC dan HPLC) ini menggunakan pelarut organik dan memerlukan waktu analisis yang relatif lama. Karena itu perlu dicari teknik analisis alternatif yang lebih cepat dan ramah lingkungan.

Teknik DSC adalah suatu teknik *thermo-analytical* yang dapat mengukur perubahan jumlah energi yang diabsorb atau yang dilepaskan akibat adanya perubahan fisik pada setiap perubahan suhu yang diberikan baik pendinginan maupun pemanasan. Perubahan tersebut diekspresikan sebagai puncak-puncak dalam termogram DSC.

Dua jenis desain DSC yang ada yaitu heat flux DSC dan power compensation DSC. Pada heat flux DSC, signal instrument dihasilkan dari perbedaan suhu antara sampel dan reference, lebih lanjut respon energi yang diabsorb digambarkan ke bawah. Pada power compensation DSC, signal dihasilkan dari perbedaan panas antara sampel dan reference, sedangkan suhunya dijaga sama, berlawanan dengan heat flux DSC, respon energi yang diabsorb digambarkan ke atas (4). Jumlah energi yang diabsorb (termogram pemanasan) atau energi yang dilepaskan (termogram pendinginan) akibat perlakuan pema-

nasan atau pendinginan dihitung berdasarkan area puncak terhadap baselinanya (7).

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa teknik DSC dapat digunakan untuk melihat profil termal dari minyak sawit (5), menentukan *solid fat index* (3, 13), menentukan ratio fraksi padat-cair dalam lemak (20), menentukan bilangan iod (9), mendeteksi lemak hewani dalam *butter* (11) atau mendeteksi lemak babi dan lemak daging kerbau dalam produk *ghee* (6), mengestimasi tingkat kejenuhan dalam *wax* yang telah diesterifikasi (14), dan untuk menseleksi campuran *joboba* yang mempunyai sifat termal mirip dengan *cocoa butter* (15).

Analisis antioksidan yang umum dipakai saat ini adalah kromatografi kinerja tinggi. Teknis ini relatif mahal dalam hal investasi dan operasinya, menggunakan bahan pelarut dan relatif lambat (diperlukan beberapa jam untuk proses preparasi dan analisis).

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan metode DSC yang relatif cepat dan bersifat ramah lingkungan untuk analisis kandungan beberapa jenis kontaminan dalam minyak sawit dan produk turunannya. Untuk penelitian tahun kedua ini, pengembangan metode DSC akan difokuskan pada kandungan bahan aditif antioksidan kimia sintetik, yakni BHA, BHT, dan TBHQ dalam produk turunan minyak sawit.

METODOLOGI

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah olein (minyak

goreng), dan margarin atau *shortening*. Lokasi penelitian untuk analisis kontaminan dengan metode standar dilakukan di Laboratorium Oleopangan Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS), sedangkan analisis menggunakan alat DSC dilakukan di *Malaysian Agriculture Research and Development Institute (MARDI)*, Malaysia.

Unit alat HPLC yang digunakan adalah Perkin Elmer Series 200 yang dilengkapi dengan Lichrosorb RP-18, sedangkan unit alat DSC yang digunakan adalah model Perkin Elmer Pyris 1 yang merupakan power compensation DSC.

Pengembangan teknik DSC untuk analisis antioksidan yang terkandung dalam olein dan *shortening* melalui tahapan (i) Uji konsistensi, dilakukan untuk melihat konsistensi dari variabel yang akan digunakan sebagai indikator dalam menentukan kandungan antioksidan, (ii) Membangun persamaan standar dengan menggunakan variabel DSC yang konsisten (diperoleh dari tahapan i) sebagai variabel bebas, sedangkan nilai yang diperoleh dengan metode standar digunakan sebagai variabel tidak bebas, (iii) Verifikasi, dilakukan untuk melihat tingkat ketepatan dari metode DSC yang dikembangkan.

ANALISIS

Teknik analisis kandungan antioksidan dalam olein dan *shortening* dilakukan menggunakan alat high performance liquid chromatography (HPLC) dan differential scanning calorimetry (DSC). Teknik preparasi menggunakan alat HPLC mengacu pada prosedur standar AOCS (Ce6-86). Pelarut yang

digunakan adalah heksana (100 ml). Antioksidan diekstrak 3 kali dengan pelarut asetonitril @ 50 ml. Kolom yang digunakan adalah Lichrosorb RP-18 dengan kondisi analisis pada suhu 30°C, tekanan 1710 psi. Eluent yang digunakan adalah asetonitril, etanol dan asam asetat dengan laju alir 1 mL/menit. Bahan yang dianalisis dideteksi dengan detector spektrometer panjang gelombang 280 nm.

Sedangkan teknik analisis menggunakan alat DSC mengacu pada penelitian sebelumnya (8). Termogram pemanasan dan pendinginan ditetapkan menggunakan differential scanning calorimeter (DSC). Kondisi pemanasan dilakukan dari suhu -60°C ke 150°C, sedangkan pendinginan dilakukan dari suhu 150°C ke -60°C. Laju pemanasan dan pendinginan adalah 5°C/menit dengan waktu penahanan 5 menit.

UJI KONSISTENSI

Evaluasi konsistensi dari teknik standar dan DSC dilakukan pada tahap pertama. Untuk tujuan ini, sebuah percobaan dengan rancangan acak lengkap (*completely randomized design*) dilakukan. Sebagai perlakuan adalah sampel yang mengandung antioksidan dengan konsentrasi tertentu, secara teoritis akan menghasilkan termogram dengan luas puncak yang berbeda. Beberapa sampel diambil dari tiap konsentrasi dan setiap sampel dianalisis dengan metode HPLC yang sekarang umum dilakukan untuk mendapatkan nilai konsentrasi yang terukur. Sampel juga di analisis dengan DSC untuk mendapatkan termogram dan data terkait.

Keragaman di dalam perlakuan (mean squared error/MSE) mencerminkan daya ulang dari pengukuran. Hanya variabel HPLC maupun DSC dengan daya ulang memadai yang di gunakan sebagai variabel bebas untuk analisis selanjutnya.

PEMBENTUKAN PERSAMAAN STANDAR

Langkah kedua adalah membangun persamaan standar yaitu:

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_p X_p \quad [1]$$

dimana Y adalah konsentrasi antioksidan dengan metode standar, X_i adalah variabel DSC yang berdaya ulang dan b_i adalah koefisien. Untuk tujuan ini, sampel dengan variasi konsentrasi yang lebih lebar dibuat. Setiap sampel dianalisis konsentrasi yang terukur menggunakan metode HPLC dan juga dianalisis dengan DSC untuk mendapatkan termogramnya dan data terkait. Persamaan standar dibuat dengan meregresikan antara konsentrasi terukur dengan HPLC dengan variabel DSC yang berdaya ulang. Apabila persamaan standar telah diperoleh, variabel standar dapat dihitung dengan menggantikan X_i dengan nilai variabel DSC sehingga konsistensi dari Y hanya tergantung pada konsistensi dari X_i

$$\text{Var } Y = \text{Var}(b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_p X_p) \quad [2]$$

Persamaan standar haruslah tidak hanya mampu memprediksi nilai Y dengan baik tetapi juga mempunyai daya ulang yang lebih baik dibandingkan

dengan apabila variabel tersebut diukur dengan metode HPLC.

VERIFIKASI

Langkah ketiga adalah untuk menguji persamaan standar. Untuk tujuan ini, dipersiapkan beberapa sampel yang lain dan digunakan untuk menguji persamaan standar. Tiap sampel dianalisis nilai terukur menggunakan metode KCKT dan dianalisis dengan DSC untuk mendapatkan termogramnya. Nilai dari variabel DSC disubstitusikan ke persamaan standar untuk mendapatkan nilai prediksi. Nilai ini kemudian dibandingkan dengan nilai yang diperoleh dengan metode KCKT. Apabila kedua nilai tersebut berkorelasi tinggi maka persamaan standar dapat diterima.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada tahun pertama (Tahun 2003) Pusat Penelitian Kelapa Sawit telah mengembangkan teknik analisis kontaminan solar pada CPO dengan menggunakan alat kromatografi gas (GC) dan DSC (10). Analisis kontaminan solar dalam minyak sawit menggunakan alat DSC dihitung melalui energi yang diabsorb atau energi yang dilepas yang dapat diukur melalui termogram pemanasan atau termogram pendinginan. Kondisi pemanasan dari -40°C ke 60°C , sedangkan kondisi pendinginan dari 60°C ke -40°C . Preparasi sampel untuk analisis menggunakan alat DSC relatif cepat dan tanpa menggunakan pelarut organik.

Berdasarkan hasil penelitian tahun pertama, penelitian ini mengkaji

kemungkinan penggunaan alat DSC untuk analisis antioksidan pada minyak sawit dan produk pangan berbasis sawit (shortening). Antioksidan yang digunakan adalah antioksidan sintesis yang umum digunakan dalam produk pangan. Berdasarkan sifat termal dari antioksidan yang digunakan, kondisi pemanasan dilakukan dari suhu -40°C ke 150°C , sedangkan kondisi pendinginan dilakukan dari suhu 150°C ke -40°C . Sebagai acuan, analisis antioksidan dalam sampel yang sama juga dilakukan dengan menggunakan metode standar AOCS. Berdasarkan metode standar, analisis dilakukan menggunakan alat HPLC dan preparasi sampel menggunakan pelarut antara lain heksan dan asetonitril. Kolom yang digunakan adalah Lichrosorb RP-18 dengan suhu 30°C , tekanan 1710 psi, eluent yang digunakan asetonitril, etanol dan asam asetat dengan laju alir 1 mL/menit. Detektor yang digunakan adalah UV dengan panjang gelombang 280 nm.

Teknik preparasi sampel menggunakan alat KCKT mengacu pada metode standar AOAC (1989). Dua puluh gram sampel minyak dilarutkan dalam 100 mL heksan, diambil 25 mL diekstraksi dengan asetonitril sejumlah 3 X 50 mL (150 mL). Filtrat asetonitril dipisahkan dan didiamkan semalam, kemudian dievaporasi hingga larutan menjadi 4-5 mL, selanjutnya dilarutkan ke dalam 10 mL pelarut 2-propanol dan diambil 10 μL untuk diinjek ke alat KCKT.

Hasil analisis menunjukkan bahwa hanya terdapat satu buah puncak dalam kromatogram KCKT. Puncak tersebut merupakan puncak antioksidan yang

terkandung dalam sampel. Hal ini didukung oleh data pengamatan waktu retensi dari puncak yang muncul sama dengan waktu retensi puncak yang muncul dari antioksidan murni.

UJI KONSISTENSI

Evaluasi konsistensi besar luas area dari puncak tersebut dilakukan Melalui sebuah percobaan dengan rancangan acak lengkap (*completely randomized design*). Sebagai perlakuan adalah sampel yang mengandung antioksidan dengan konsentrasi tertentu, secara teoritis akan menghasilkan kromatogram dengan luas puncak yang sama, sedangkan sampel yang mengandung antioksidan dengan konsentrasi yang berbeda akan menghasilkan kromatogram dengan luas puncak yang berbeda. Lima buah sampel diambil dari tiap konsentrasi dan setiap sampel dianalisis dengan metode KCKT yang sekarang umum dilakukan untuk mendapatkan nilai konsentrasi yang terukur. Hasil analisis menunjukkan bahwa nilai koefisien keragaman dari data yang dibuat adalah relatif kecil yaitu 3.59. Hal ini menunjukkan bahwa analisis menggunakan alat KCKT cukup konsisten.

Seperti halnya dengan menggunakan alat HPLC, untuk mengetahui variabel konsisten yang akan digunakan dalam membangun persamaan standar, minyak olein dan shortening yang tidak mengandung antioksidan, dianalisis menggunakan alat DSC. Kondisi perlakuan pendinginan dari suhu 150°C sampai dengan suhu -40°C , sedangkan perlakuan pemanasan dari suhu -40°C

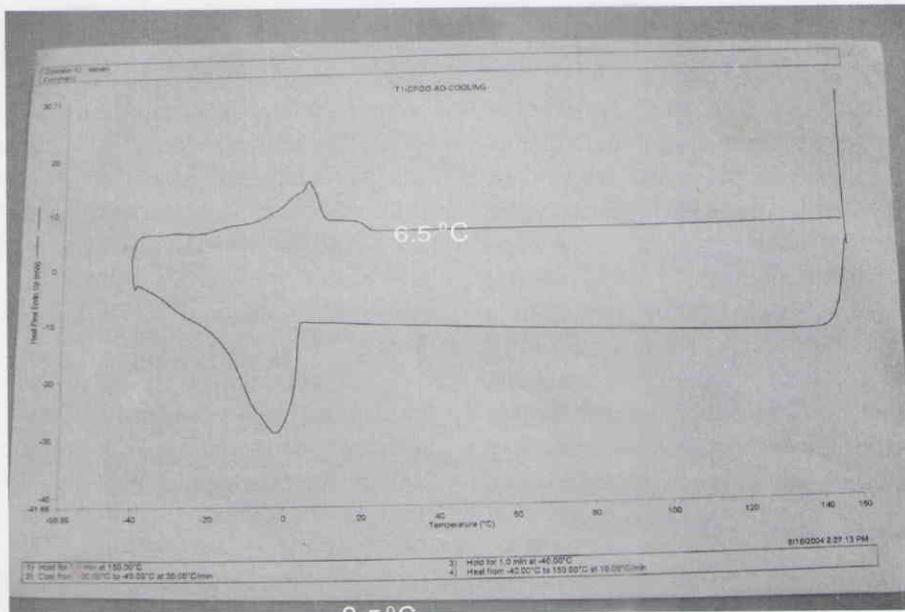
sampai dengan 150°C. Untuk memperoleh termogram DSC pendinginan dan pemanasan, total analisis yang diperlukan sekitar 76 menit.

Seperti telah dinyatakan di atas bahwa teknik DSC merupakan suatu teknik thermo-analytical yang dapat mengukur perubahan jumlah energi yang diabsorb atau dilepaskan yang terjadi akibat adanya perubahan fisik pada setiap perubahan suhu yang diberikan baik pendinginan maupun pemanasan. Perubahan tersebut diekspresikan sebagai puncak dalam termogram DSC. Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa besaran energi yang diabsorb maupun yang dilepaskan dapat dijadikan suatu indikator dalam menduga komponen asing dalam suatu produk (6). Berdasarkan pertimbangan bahwa energi yang diabsorb atau yang dilepaskan besarnya

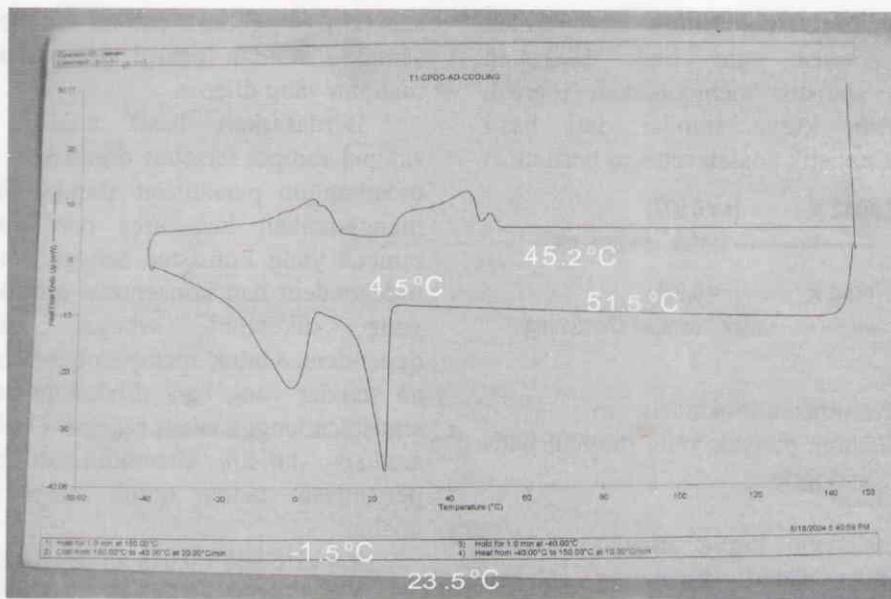
tergantung pada komponen yang terkandung dalam sampel, maka parameter tersebut digunakan sebagai indikator untuk menghitung antioksidan yang terkandung dalam minyak olein dan shortening.

Untuk melihat puncak-puncak yang konsisten dan dapat digunakan sebagai indikator dalam membangun persamaan standar, dilakukan analisis sejumlah sampel dengan kandungan antioksidan yang sama. Pada sampel olein, terdapat satu puncak yaitu pada suhu sekitar -2.5°C (OLC) pada termogram pendinginan dan satu puncak yaitu pada suhu sekitar 6.5°C (OLH) pada termogram pemanasan seperti yang terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Pada sampel shortening, terdapat dua buah puncak yaitu pada suhu -1.5°C (SC1) dan pada suhu 23.5°C (SC2) pada



Gambar 1. Termogram Differential Scanning Calorimetry pada sample olein



Gambar 2. Termogram Differential Scanning Calorimetry pada sampel shortening

termogram pendinginan, sedangkan pada termogram pemanasan terdapat tiga buah puncak yaitu masing-masing pada suhu 4.5°C, 45.2°C dan 51,5°C. Selanjutnya energi (mJ/g) dari masing-masing puncak tersebut diukur.

Berdasarkan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa dari puncak-puncak yang muncul tersebut, seluruhnya cukup konsisten dengan nilai *coeficient of variance* (CV) yang nilainya <10%. Puncak-puncak tersebut yang selanjutnya digunakan untuk membangun kurva/persamaan standar.

PEMBENTUKAN PERSAMAAN STANDAR

Persamaan standar untuk metode HPLC

Satu set sampel yang mengandung antioksidan dipersiapkan dengan kon-

sentration yang berbeda. Selanjutnya dipersiapkan satu set sampel yang mengandung antioksidan dengan konsentrasi berbeda. Sampel tersebut dipreparasi dan dianalisis menggunakan alat HPLC. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah olein yang umum digunakan sebagai bahan baku minyak goreng dan shortening yang merupakan salah satu produk pangan minyak sawit. Sampel tersebut ditambah antioksidan sintesis dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Sampel yang telah ditambahkan antioksidan, dipreparasi untuk selanjutnya dianalisis kandungan antioksidannya dengan menggunakan alat HPLC. Hasil analisis dari sampel-sampel tersebut digunakan untuk membangun kurva standar dengan menggunakan nilai dari puncak yang muncul sebagai variabel independen dan konsentrasi antioksidan yang diketahui sebagai

variabel dependen. Untuk memperoleh kurva standar yang baik dilakukan analisis statistik menggunakan regresi. Persamaan kurva standar dari hasil analisis statistik adalah sebagai berikut:

$$Y = 0.00042 X \quad (r = 0.992)$$

----- untuk sampel olein

$$Y = 0.00084 X \quad (r = 0.985)$$

----- untuk sampel shortening

Dimana:

Y = konsentrasi antioksidan,

X = luas area puncak yang muncul pada kromatogram

Persamaan kurva standar tersebut selanjutnya dapat digunakan sebagai persamaan untuk menghitung konsentrasi antioksidan yang terkandung di dalam sampel yang belum diketahui jumlahnya.

Persamaan standar untuk DSC.

Melalui pendekatan yang sama dengan cara HPLC, pembentukan persamaan standar untuk alat differential scanning calorimetry (DSC) dilakukan dengan menganalisis satu set sampel olein yang mengandung antioksidan dengan konsentrasi yang berbeda. Contoh termogram DSC dari olein dan shortening yang tidak mengandung antioksidan dan contoh termogram DSC yang mengandung antioksidan dengan konsentrasi berbeda. Jumlah puncak yang muncul baik pada termogram DSC pendinginan maupun pemanasan dari olein dan shortening yang mengandung antioksidan dan tidak mengandung antioksidan relatif sama. Namun, jika ditinjau dari energi yang diabsorb maupun dilepas menunjukkan bahwa

semakin tinggi konsentrasi antioksidan, semakin rendah energi yang diabsorb maupun yang dilepas.

Berdasarkan hasil analisis dari sampel-sampel tersebut digunakan untuk membangun persamaan standar dengan menggunakan luas area dari puncak-puncak yang konsisten sebagai variabel independent dan konsentrasi antioksidan yang diketahui sebagai variabel dependent. Untuk memperoleh persamaan standar yang baik dilakukan analisis statistik menggunakan regresi. Dari hasil analisis statistik menunjukkan bahwa persamaan standar untuk sampel olein adalah

$$Y = -516.864 + 0,018 X_1 \quad (r = 0,92) \text{ atau}$$

$$Y = -134,002 - 0,013 X_2 \quad (r = 0,92)$$

Dimana:

Y = konsentrasi antioksidan

X₁ = besaran energi pada termogram pemanasan

X₂ = besaran energi pada termogram pendinginan

Persamaan standar untuk shortening adalah

$$Y = 416 + 0,009 X_1 \quad (r = 0,89) \text{ atau}$$

$$Y = 713 + 0,023 X_2 \quad (r = 0,90)$$

Dimana:

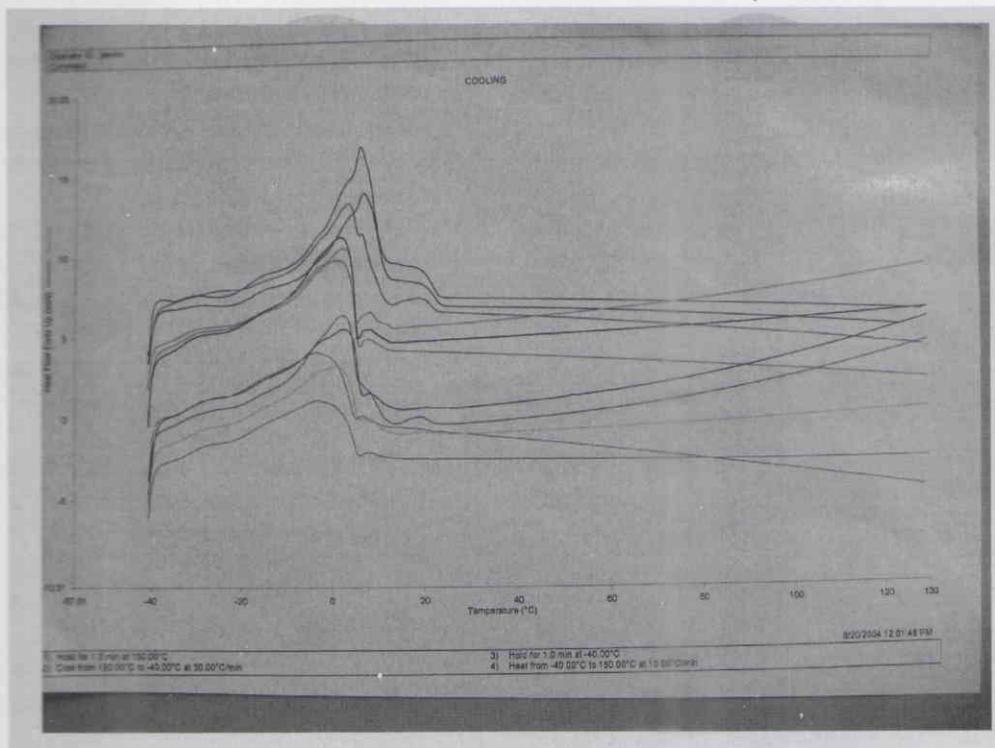
Y = konsentrasi antioksidan dan

X₁ = besaran energi puncak pada suhu - 1,5°C

X₂ = besaran energi pada suhu 23,5°C

VERIFIKASI

Untuk membuktikan persamaan kurva standar tersebut di atas dapat dinyatakan baik, dilakukan verifikasi dengan membuat satu set sampel yang lain. Sampel tersebut dipreparasi dan dianalisis



Gambar 3. Termogram pendinginan pada sampel olein dengan konsentrasi antioksidan yang berbeda

menggunakan alat HPLC. Nilai puncak yang muncul dimasukkan ke dalam persamaan kurva standar di atas dan selanjutnya nilai yang diperoleh dikorelasikan kembali dengan konsentrasi antioksidan yang sebenarnya. Hasil analisis regresi memberikan persamaan:

$Y = 0.00042 X (r = 0.992)$ untuk olein dan
 $Y = 10.018 + 0.9097 X (r = 0.993)$ untuk shortening, dimana Y adalah konsentrasi antioksidan, X adalah hasil perhitungan konsentrasi antioksidan.

Dengan demikian, dapat dinyatakan bahwa untuk menghitung antioksidan

dalam sampel minyak sawit dan produk turunannya dapat diduga melalui puncak pada kromatogram HPLC.

Verifikasi dilakukan juga terhadap persamaan standar yang dibangun untuk DSC. Dari hasil pengujian dengan cara pendekatan yang sama dengan HPLC diperoleh persamaan sebagai berikut:

untuk olein:
 $Y = -1240 + 3,29 X (r = 0,89)$

untuk shortening:
 $Y = 3264 - 28,57 X (r = 0,93)$

dimana Y adalah konsentrasi antioksidan dan X adalah hasil perhitungan konsentrasi antioksidan.

Nilai korelasi dari kedua persamaan di atas yang relatif tinggi. Karenanya, teknik DSC dapat dinyatakan relatif cukup baik untuk menentukan kandungan antioksidan dalam sampel olein maupun shortening. Kelebihan teknik ini, preparasi sampel tidak memerlukan pelarut yang toksik dan waktu preparasi singkat.

KESIMPULAN

1. Analisis antioksidan dalam olein dan shortening dapat dilakukan baik menggunakan alat HPLC maupun alat *differential scanning calorimetry* (DSC). Pada penelitian ini, telah diperoleh teknik preparasi sampel dengan alat HPLC.
2. Kandungan antioksidan dalam olein dan shortening dengan alat HPLC, masing-masing dapat diduga melalui persamaan standar $Y = 0.00042 X$ ($r = 0.992$) untuk sampel olein, dan $Y = 0.00084 X$ ($r = 0.985$) untuk sampel shortening; dimana Y adalah konsentrasi antioksidan dan X adalah luas area puncak yang muncul pada kromatogram HPLC.
3. Kandungan antioksidan dalam olein dengan alat DSC dapat diduga melalui persamaan standar $Y = -516.864 + 0,018 X_1$ ($r = 0.92$) atau $Y = -134,002 - 0,013 X_2$ ($r = 0,92$) dimana Y adalah konsentrasi antioksidan dan X_1 adalah besaran energi pada termogram pemanasan, sedangkan X_2 adalah besaran energi pada termogram pendinginan.
4. Kandungan antioksidan dalam shortening dapat diduga melalui

persamaan $Y = 416 + 0,009 X_1$ ($r = 0,89$) atau $Y = 713 + 0,023 X$ ($r = 0,90$) dimana Y adalah konsentrasi antioksidan dan X_1 adalah besaran energi puncak pada suhu $-1,5C$, sedangkan X_2 adalah besaran energi pada suhu $23,5 C$ dari termogram pendinginan.

5. Kelebihan teknik DSC dalam menduga kandungan antioksidan dalam olein dan shortening antara lain:
 - a. memerlukan waktu yang relatif singkat yaitu 38 menit
 - b. tidak menggunakan pelarut
 - c. relatif aman bagi teknisi dan ramah lingkungan

DAFTAR PUSTAKA

1. AOAC. 1993. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Arlington.
2. AOCS. 1989. Official Methods and Recommended Practices. American Oil Chemists Society, Champaign, Illinois.
3. BENTZ, A. P. and BREIDENBACH, B. G. 1969. Evaluation of differential scanning calorimetric methods for fat solids. J. Am. Oil Chem. Soc. 46, 60-63.
4. BROWN, M. E. 1988. Introduction to Thermal Analysis. New York: Chapman and Hall. Pp 23-49
5. CHE MAN, Y. B., HARYATI, T. ASBI, B. A. and GHAZALI, H. M. 1998. Composition and Thermal Profile of Crude Palm Oil and Its Products. J. Am. Oil Chem. Soc. (in press).

6. CONI, E., PASQUALE, M.D., COPPOLLELLI, P. and BOCCA, A. 1994. Detection of Animal Fats in Butter by Differential Scanning Calorimetry: A Pilot Study. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71, 807-810.
7. HAINES, P. J. and WILBURN. 1995. Differential Thermal Analysis and Differential Scanning Calorimetry. In Haines, P.J. (ed.) *Thermal Methods of Analysis, Principles, Applications and problems.* 1st Ed. London: Blackie Academic and Professional. pp 63-122.
8. HARYATI, T., 1999. Development and Applications of Differential Scanning Calorimetric Methods for Physical and Chemical Analysis of Palm Oil. Disertasi Ph D. Faculty of Food Science and Biotechnology, UPM, Malaysia.
9. HARYATI, T., CHE MAN, Y. B., GHAZALI, H. M., ASBI, B. A. and BUANA, L. 1998. Determination of Iodine Value of Palm Oil Based on Triacylglycerol Composition. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75, 789-792.
10. HARYATI, T., CHE MAN, Y.B., ASBI, A.B., GHAZALI, H.M. and BUANA, L. 1997. Determination of iodine value of palm oil by differential scanning calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 939-942.
11. LAMBELET, P. 1983. Detection of Pig and Buffalo Body Fat in Cow and Buffalo Ghees by Differential Scanning Calorimetry. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60, 1005-1008.
12. LAMBELET, P., SINGHAL O. P. and GANGULI, N. C. 1980. Detection of Goat Body Fat in Ghee by Differential Thermal Analysis. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 57, 364-366.
13. PRENDERGAST, J. A. 1969. The Rapid Determination of Solid Fat Index with a Scanning Calorimeter. In Schwenker, R.F. and Garn, P.D. (eds.) *Proc. of the Second Int. Conf. on Thermal Analysis.* New York: Academic Press. pp 1317-1323.
14. SESSA, D. J., NELSEN, T. C., KLEIMAN, R. and ARQUETTE, J.D. 1996. Differential Scanning Calorimetry Index for Estimating Level of Saturation in Transesterified Wax Esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73, 271-273.
15. SESSA, D. J. 1996. Derivation of a Cocoa Butter Equivalent from Jojoba Transesterified Ester via a Differential Scanning Calorimetry Index. *J. Sci. Food Agric.* 72, 295-298.
16. SNI 01-2901-1995. Minyak Kelapa Sawit (Crude Palm Oil). Dewan Standardisasi Nasional-DSN

17. SNI 01-0018-1998. 1998. Refined Bleached Deodorised Palm Olein (RBD Palm Olein). Badan Standarisasi Nasional-BSN
18. SULAIMAN, M. Z., SULAIMAN, N. M. and KANAGARATNAM, S. 1997. Triacylglycerols Responsible for the Onset of Nucleation During Clouding of Palm Olein. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 1553-1558.
19. VIEIRA, E.R. 1996. *Elementary Food Science*. Chapman & Hall, NY USA
20. WALKER, R.C. AND BOSIN, W.A. 1971. Comparison of SFI, DSC, and NMR Methods for Determining Solid-Liquid Ratios in Fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 48, 50-53.
21. WINARNO, F.G. and T. S. RAHAYU. 1994. *Bahan Tambahan untuk Makanan dan Kontaminan*. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.