

ANALISIS PERBANDINGAN KADAR AKRILAMIDA PADA PRODUK OLAHAN AYAM BERBUMBU DAN TIDAK BERBUMBU HASIL PEMBAKARAN MENGGUNAKAN METODE KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

Risma Azahra^{*}, Lilis Tuslinah, Mochamad Fathurrohman

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya
Jawa Barat, Indonesia

*Email: rismazhraz@gmail.com

Received: 17/06/2026 Revised: 31/07/2026 Accepted: 19/08/2026 Published: 31/08/2026

ABSTRAK

Senyawa akrilamida diketahui dapat muncul pada pangan yang diproses pada temperatur tinggi akibat terjadinya reaksi Maillard, yang melibatkan interaksi antara asam amino asparagin dengan gula pereduksi. Senyawa ini menjadi perhatian karena bersifat neurotoksik, genotoksik, dan berpotensi karsinogenik. Penelitian ini bertujuan membandingkan kadar akrilamida pada ayam bakar berbumbu dan tanpa bumbu menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Sampel yang digunakan berupa tiga bagian dada ayam dengan tiga kali ulangan analisis. Ayam bakar berbumbu dimarinasi menggunakan bawang merah, bawang putih, jahe, lengkuas, garam, dan kecap, sedangkan sampel tanpa bumbu dibakar tanpa marinasi. Metode analisis divalidasi melalui uji linearitas, presisi, akurasi, batas deteksi (LOD), dan batas kuantifikasi (LOQ). Hasil validasi menunjukkan metode memenuhi kriteria dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9996, presisi (%RSD) 0,370%, akurasi (% recovery) 85,63–108,34%, LOD 0,121 ppm, dan LOQ 0,367 ppm. Hasil analisis menunjukkan kadar akrilamida pada ayam bakar tanpa bumbu sebesar 7,12 ppm dan ayam bakar berbumbu sebesar 15,80 ppm. Kadar yang lebih tinggi pada ayam bakar berbumbu diduga berkaitan dengan penambahan kecap yang mengandung gula pereduksi sehingga berpotensi meningkatkan pembentukan akrilamida selama pembakaran. Secara deskriptif, penggunaan bumbu marinasi yang disertai kecap tidak menunjukkan penurunan kadar akrilamida pada ayam bakar. Kadar akrilamida pada kedua sampel melebihi batas acuan FDA sebesar 2 ppm sehingga menjadi perhatian dalam aspek keamanan pangan

Kata kunci: Akrilamida, Ayam Bakar, KCKT, Validasi Metode.

ABSTRACT

Acrylamide is known to form in foods processed at high temperatures through the Maillard reaction, which involves the interaction between the amino acid asparagine and reducing sugars. This compound is of concern due to its neurotoxic and genotoxic properties and its potential carcinogenicity. This study aimed to compare acrylamide levels in seasoned and unseasoned grilled chicken using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). The samples consisted of three chicken breast portions, each analyzed in triplicate. The seasoned grilled chicken was marinated with shallots, garlic, ginger, galangal, salt, and soy sauce, whereas the unseasoned samples were grilled without marination. The analytical method was validated for linearity,

precision, accuracy, limit of detection (LOD), and limit of quantification (LOQ). The validation results showed that the method met the acceptance criteria, with a coefficient of determination (R^2) of 0.9996, precision (%RSD) of 0.370%, accuracy (%recovery) ranging from 85.63–108.34%, an LOD of 0.121 ppm, and an LOQ of 0.367 ppm. The analysis showed that the acrylamide levels were 7.12 ppm in unseasoned grilled chicken and 15.80 ppm in seasoned grilled chicken. The higher acrylamide level in the seasoned grilled chicken was presumably associated with the addition of soy sauce containing reducing sugars, which may promote acrylamide formation during grilling. Descriptively, the use of a marinade containing soy sauce did not result in a reduction in acrylamide levels in grilled chicken. The acrylamide levels in both samples exceeded the FDA reference level of 2 ppm, raising food safety concerns

Keywords: Acrylamide, Grilled Chicken, HPLC, Method Validation.

PENDAHULUAN

Senyawa akrilamida adalah zat kimia yang dapat terbentuk secara tidak sengaja selama pengolahan pangan pada suhu tinggi akibat reaksi Maillard, yaitu interaksi antara asam amino asparagin dan gula pereduksi yang pada umumnya terdapat pada makanan yang dipanggang, digoreng, maupun dibakar pada temperatur melebihi 120°C. Pembentukan akrilamida dipengaruhi oleh suhu pemanasan dan komposisi bahan pangan (Cerrah et al., 2023). Keberadaan akrilamida menjadi perhatian karena berbagai penelitian menunjukkan bahwa senyawa ini bersifat neurotoksik, genotoksik, dan berpotensi karsinogenik bagi manusia sehingga perlu dilakukan pengawasan terhadap kadarnya dalam bahan pangan yang dikonsumsi masyarakat (EFSA, 2021).

Ayam bakar termasuk produk pangan yang memiliki tingkat popularitas tinggi di Indonesia. Proses pembakaran pada ayam bakar menggunakan suhu tinggi yang dapat memicu terjadinya reaksi Maillard sehingga

menghasilkan warna cokelat, aroma, dan cita rasa khas. Namun, reaksi yang sama juga berpotensi menghasilkan akrilamida sebagai produk samping. Intensitas pembentukan akrilamida dipengaruhi oleh suhu pemanasan, lama pemanasan, serta ketersediaan prekursor berupa gula pereduksi dan asam amino bebas dalam bahan pangan (Cerrah et al., 2023).

Ayam broiler dipilih sebagai objek penelitian karena merupakan jenis ayam yang paling banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia dan umum digunakan sebagai bahan baku produk ayam bakar komersial. Selain itu, proses pembakaran menggunakan arang dipilih karena masih menjadi metode pengolahan yang banyak diterapkan oleh pedagang maupun rumah tangga sehingga hasil penelitian diharapkan dapat menggambarkan kondisi konsumsi masyarakat.

Pada produk ayam bakar berbumbu, penggunaan bumbu marinasi seperti bawang merah, bawang putih, jahe, lengkuas, serta

penambahan kecap selama proses pembakaran dapat memengaruhi pembentukan akrilamida. Kecap diketahui mengandung gula pereduksi, asam amino bebas, peptida, dan senyawa karbonil yang berpotensi menjadi prekursor pembentukan akrilamida melalui reaksi Maillard pada suhu tinggi. Sementara itu, bawang merah, bawang putih, jahe, dan lengkuas mengandung berbagai senyawa antioksidan yang juga dapat memengaruhi jalannya reaksi selama proses pemanasan (Batiha et al., 2020)

Berdasarkan kandungan senyawa antioksidan pada bawang merah, bawang putih, jahe, dan lengkuas, penggunaan bumbu marinasi diduga dapat menghambat pembentukan akrilamida selama proses pembakaran. Namun demikian, penambahan kecap sebagai salah satu komponen marinasi juga diketahui mengandung gula pereduksi yang berpotensi meningkatkan pembentukan akrilamida melalui reaksi Maillard. Oleh karena itu, pengaruh keseluruhan marinasi terhadap kadar akrilamida masih memerlukan pembuktian secara eksperimental.

Penelitian mengenai pembentukan akrilamida selama ini lebih banyak difokuskan pada produk berbasis kentang, sereal, kopi, dan makanan hasil pemanggangan karena bahan pangan tersebut

memiliki kandungan gula pereduksi dan asparagin yang tinggi (EFSA, 2021; WHO, 2023). Sebaliknya, penelitian mengenai pembentukan akrilamida pada produk daging, khususnya ayam bakar dengan variasi penggunaan bumbu marinasi, masih relatif terbatas sehingga informasi mengenai pengaruh marinasi terhadap pembentukan akrilamida belum banyak dilaporkan. Padahal, ayam bakar merupakan produk yang banyak dikonsumsi masyarakat dan proses pengolahannya menggunakan suhu tinggi yang berpotensi menghasilkan akrilamida. Oleh karena itu, penelitian mengenai pengaruh penggunaan bumbu terhadap pembentukan akrilamida pada ayam bakar perlu dilakukan untuk memberikan informasi ilmiah yang dapat digunakan dalam pengembangan pangan yang lebih aman bagi konsumen.

Metode yang dimanfaatkan dalam analisis kadar akrilamida pada penelitian ini adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), mengingat keunggulannya dalam hal sensitivitas, selektivitas, dan akurasi untuk pemisahan, identifikasi, serta kuantifikasi senyawa dalam sampel pangan kompleks. KCKT beroperasi berdasarkan perbedaan interaksi antara analit dan fase diam serta fase gerak, sehingga memberikan hasil pengukuran yang akurat dan dapat

dipertanggungjawabkan (Gupta et al., 2022; Abdu Hussien, 2022).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, antara lain penggunaan ayam broiler yang berasal dari satu sumber sehingga belum mewakili variasi bahan baku di pasaran. Selain itu, penelitian hanya menggunakan satu kondisi suhu dan waktu pembakaran sehingga belum dapat menggambarkan pengaruh variasi proses pemasakan terhadap pembentukan akrilamida. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan lebih banyak replikasi biologis serta mengevaluasi berbagai suhu dan lama pembakaran.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan membandingkan kadar akrilamida pada ayam bakar berbumbu dan tanpa bumbu yang diproses melalui pembakaran menggunakan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh penggunaan bumbu marinasi terhadap pembentukan akrilamida pada ayam bakar serta menjadi dasar bagi pengembangan proses pengolahan pangan yang lebih aman.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan meliputi seperangkat Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Agilent Technologies 1200 Compact LC yang dilengkapi detektor UV-Visible dan kolom C18 (Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 (4,6 × 250 mm; 5 µm), neraca analitik (Ohaus) orbital shaker (IKA KS 260 Basic), sentrifugator (Eppendorf 5804R), *ultrasonic cleaner* (Branson 2510), mikropipet, labu ukur (Pyrex Class A) gelas ukur (Pyrex Class A, vial HPLC (Agilent 5182-0716) membran filter nylon 0,45 µm (Whatman) alat pemanggang arang, (Miyako) serta peralatan gelas laboratorium lainnya yang mendukung penelitian.

Bahan yang dimanfaatkan pada kajian ini mencakup sampel ayam. Sampel berupa ayam broiler segar diperoleh dari Pasar Tradisional Cikurubuk, Kota Tasikmalaya pada bulan Mei 2026. Seluruh sampel berasal dari pembelian pada hari yang sama untuk meminimalkan variasi bahan baku. Sampel dibagi menjadi dua varian ayam bakar berbumbu dan ayam bakar tanpa bumbu, standar akrilamida p.a. (Sigma-Aldrich), asetonitril pro-HPLC (J.T. Baker), aquabidest, asam fosfat 85% pro-analisis (Merck), etanol 96% pro-analisis, dan diklorometana. Bahan bumbu yang digunakan untuk proses marinasi terdiri atas

bawang putih, bawang merah, jahe, lengkuas, garam, dan kecap.

Jalannya Penelitian

1. Preparasi Sampel

Bumbu marinasi dibuat dengan menghaluskan 2,5 g bawang putih, 12,5 g bawang merah, 4 g jahe, 4 g lengkuas, dan garam secukupnya. Bumbu yang telah halus kemudian dibalurkan secara merata pada daging ayam dan didiamkan selama 60 menit agar terjadi proses marinasi. Setelah itu, ayam dibakar menggunakan arang hingga matang. Selama proses pembakaran dilakukan penambahan kecap dan pembalikan secara berkala hingga diperoleh kondisi siap santap. Daging ayam tanpa perlakuan marinasi dibakar menggunakan arang hingga matang tanpa penambahan bumbu maupun kecap. Sampel kemudian didinginkan dan digunakan untuk tahap analisis selanjutnya.

2. Pembuatan Fase Gerak

Fase gerak disiapkan dengan mencampurkan asetonitril dan akuabides pada rasio 1:19 (v/v). Sebanyak 50 mL asetonitril dituang ke dalam gelas ukur berkapasitas 1000 mL, lalu ditambahkan 950 mL aquabidest serta 0,2 mL asam fosfat 85%. Campuran tersebut dihomogenkan, kemudian disaring menggunakan membran filter 0,45µm untuk menghilangkan partikel yang dapat mengganggu analisis.

Selanjutnya, fase gerak dilakukan proses degassing menggunakan ultrasonik selama 15 menit guna menghilangkan gelembung udara yang berpotensi memengaruhi kestabilan tekanan dan sensitivitas detektor pada sistem KCKT. Fase gerak yang telah homogen dan bebas gas kemudian digunakan dalam analisis akrilamida.

3. Pembuatan Larutan Standar Baku Akrilamida

Tahapan dimulai dengan penimbangan 10 mg akrilamida yang kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL. Fase gerak selanjutnya ditambahkan hingga volume mencapai tanda tera, kemudian larutan dihomogenkan untuk menghasilkan larutan stok akrilamida berkonsentrasi 100 bpj. Diencerkan lagi menjadi 50 ppm agar nyambung ke paragraph berikutnya

4. Pembuatan Larutan Akrilamida Seri

Pembuatan larutan akrilamida seri konsentrasi dibuat dari pengenceran larutan induk akrilamida 50 bpj. Sebanyak 0,2 ; 0,32 ; 0,4 ; 0,48 ; 0,6 ; 0,8 ; 1 ; dan 1,2 mL. larutan induk akrilamida 50 ppm masing-masing dipipet ke dalam labu ukur yang berbeda. Selanjutnya, Selanjutnya, setiap larutan diencerkan dengan fase gerak hingga 10 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1 bpj, 1,6 bpj, 2 bpj, 2,4 bpj, 3 bpj, 4 bpj, 5 bpj, dan 6 bpj. Larutan seri

konsentrasi yang sudah dibuat kemudian disuntikkan ke dalam kolom sebanyak 20 μ L terpilih dan selanjutnya digunakan untuk pengujian linieritas.

5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimal Akrilamida

Sebanyak 10 mg akrilamida standar ditimbang kemudian dilarutkan dalam fase gerak hingga volume 100 mL dalam labu ukur untuk memperoleh larutan standar 100 bpj, kemudian dikocok hingga homogen (Wardani et al., 2022). Larutan tersebut selanjutnya dipindai menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 190–300 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) akrilamida. Panjang gelombang yang memberikan absorbansi tertinggi digunakan sebagai panjang gelombang analisis pada pengujian KCKT (Wardani et al., 2022).

6. Ekstraksi Sampel Simulasi

Sampel simulasi digunakan untuk uji akurasi (recovery) sebagai bagian dari validasi metode. Sebanyak 10 g sampel simulasi ditimbang, kemudian ditambahkan 30 mL diklorometana dan 1 mL etanol. Campuran dikocok menggunakan orbital shaker pada kecepatan 210 rpm selama 15 menit, kemudian didekantasi. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali. Filtrat hasil ekstraksi digabungkan, kemudian

ditambahkan 25 mL fase gerak. Diklorometana dan etanol diuapkan pada suhu 80°C di atas penangas air. Selanjutnya, larutan disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Lapisan pelarut kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan menggunakan fase gerak hingga tanda batas. Sebelum dianalisis menggunakan KCKT, seluruh larutan disaring menggunakan membran nilon berpori 0,45 μ m (Sulistina et al., 2019).

7. Uji Kesesuaian Sistem KCKT

Uji kesesuaian sistem KCKT dilakukan untuk memastikan bahwa sistem kromatografi bekerja dengan baik sebelum digunakan untuk analisis. Parameter yang diamati meliputi waktu retensi (t_R), faktor kapasitas (k'), selektivitas (α), efisiensi kolom, dan resolusi (R_s). Waktu retensi menunjukkan waktu yang diperlukan senyawa untuk mencapai detektor. Faktor kapasitas menunjukkan tingkat retensi senyawa dalam kolom, dengan nilai yang baik berada pada rentang 1–10. Selektivitas menggambarkan kemampuan sistem dalam memisahkan dua senyawa, dengan nilai $\alpha > 1$ menunjukkan pemisahan yang baik. Efisiensi kolom dinyatakan dengan jumlah lempeng teoritis (N), yang sebaiknya ≥ 2000 . Sementara itu, resolusi menunjukkan tingkat pemisahan antara dua puncak pada kromatogram, dengan nilai $R_s \geq 1,5$ yang

menandakan pemisahan telah berlangsung dengan baik (Harmita, 2004)

8. Validasi Metode

Validasi Metode dilakukan dengan mencari linieritas yang diperoleh dengan cara menyuntikkan standar akrilamida 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 bpj kedalam kolom. Presisi diperoleh dengan cara menyuntikkan larutan seri konsentrasi 2 bpj sebanyak 20 µL kedalam kolom terpilih dan diulang sebanyak 6 kali, kemudian dicatat luas areanya dan dihitung simpangan baku relatifnya akurasi dilakukan dengan cara menyuntikkan larutan akrilamida seri konsentrasi 1,6 , 2 , dan 2,4bpj sebanyak 20 µL kedalam kolom terpilih dengan pengulangan sebanyak tiga kali, LOD dan LOQ. Penentuan batas deteksi (Limit of Detection/LOD) dan batas kuantifikasi (Limit of Quantification/LOQ) dilakukan berdasarkan pendekatan simpangan baku respon dan kemiringan kurva kalibrasi dimana $BD = 3 \times (Sy/x)/slope$ dan $BK = 10 \times (Sy/x)/slope$. Nilai BD dan BK dihitung berdasarkan persamaan berikut (ICH, 2022): Spesifikasi kolom supercolsil C18, detektor UV – Vis, panjang gelombang 198 nm, fase gerak air : asetonitril (95:5), laju alir 0,5 ml/menit, volume injeksi 20 µL, mode elusi isokratik.

9. Penetapan Kadar Akrilamida Dalam Sampel

Penetapan kadar akrilamida sampel ayam bakar berbumbu dan ayam bakar tanpa bumbu. Sebelum analisis, sampel dilakukan penambahan standar (spiking) menggunakan larutan baku akrilamida dengan konsentrasi 2bpj untuk meningkatkan sensitivitas analisis. yang telah dihomogenkan ditimbang sebanyak 10 g, kemudian dilarutkan dalam 30 mL diklorometana dan ditambahkan 1 mL etanol. Campuran dikocok menggunakan orbital shaker pada kecepatan 160 rpm selama 15 menit, kemudian didekantasi. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Seluruh filtrat yang diperoleh digabungkan dan ditambahkan fase gerak sebanyak 25 mL. Diklorometana dan etanol kemudian diuapkan di atas penangas air pada suhu 80°C hingga pelarut organik menguap. Larutan selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 30 menit dan diencerkan dalam labu ukur 25 mL menggunakan fase gerak yang sama. Larutan kemudian disaring menggunakan membran filter Whatman 0,45 µm. Penetapan kadar akrilamida dilakukan dengan menyuntikkan larutan sampel sebanyak 20 µL ke dalam sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan kolom C18, detektor UV-Vis pada panjang gelombang 198 nm, fase gerak air (95:5), laju alir 0,5 mL/menit,

dan mode elusi isokratik. Luas area puncak (Area Under Curve/AUC) yang diperoleh dicatat, sampel dilakukan spiking dengan standar akrilamida sebelum analisis dengan larutan standar akrilamida 2 ppm untuk proses spiking kemudian kadar akrilamida dihitung menggunakan persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi standar akrilamida. Setiap sampel dianalisis sebanyak tiga kali pengulangan dan hasil yang diperoleh dinyatakan dalam satuan bpj.

Analisis Data

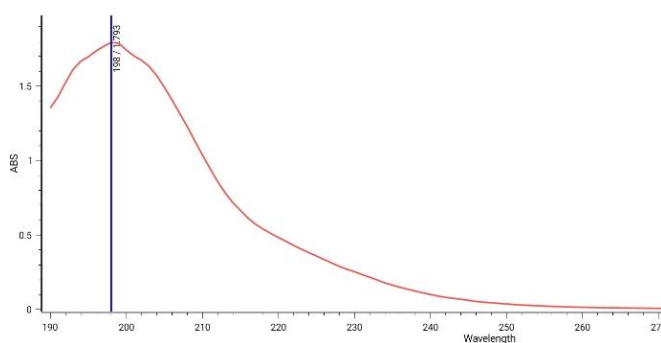
Analisis data kadar akrilamida dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS. Uji normalitas data dilakukan menggunakan metode Shapiro–Wilk karena jumlah sampel kurang dari 50. Selanjutnya, homogenitas varians diuji menggunakan Levene Test. Perbedaan kadar akrilamida antara kelompok ayam bakar tanpa bumbu

dan ayam bakar berbumbu dianalisis menggunakan Independent Sample t-test apabila data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas. Apabila data tidak terdistribusi normal, analisis dilakukan menggunakan Mann–Whitney U Test. Seluruh pengujian dilakukan pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Akrilamida

Penentuan panjang gelombang maksimum akrilamida dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 190–300 nm dengan fase gerak air:asetonitril (95:5). Hasil pengukuran menunjukkan bahwa akrilamida memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 198 nm.



Gambar 1. Spektrum standar akrilamida

Hasil tersebut menunjukkan bahwa akrilamida memiliki absorbansi tertinggi pada panjang gelombang 198 nm sehingga panjang gelombang tersebut dipilih sebagai

panjang gelombang optimum untuk analisis. Penggunaan panjang gelombang maksimum memberikan sensitivitas dan ketelitian pengukuran yang lebih baik karena respon

absorbansi yang dihasilkan paling tinggi (Zhang et al., 2021). Kemampuan akrilamida menyerap radiasi ultraviolet dipengaruhi oleh adanya gugus kromofor berupa ikatan rangkap C=C dan gugus karbonil (C=O), serta gugus aoksokrom –NH₂ yang dapat meningkatkan intensitas serapan. Selain itu, penggunaan fase gerak air:asetonitril (19:1) mendukung proses absorbansi karena sesuai dengan sifat polar akrilamida (Li et al., 2022). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhang et al. (2021) dan Li et al. (2022) yang melaporkan bahwa panjang gelombang maksimum akrilamida berada pada daerah ultraviolet rendah, yaitu sekitar 195–200 nm. Dengan demikian, panjang gelombang 198 nm yang diperoleh pada kajian ini telah sesuai dan dapat diterapkan untuk analisis akrilamida.

2. Uji Kesesuaian Sistem

Analisis akrilamida dilakukan menggunakan sistem Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan kolom fase

terbalik C18 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 (4,6 × 250 mm; 5 µm). Fase gerak yang digunakan berupa campuran air:asetonitril (95:5) dengan sistem elusi isokratik, laju alir 0,5 mL/menit, volume injeksi 20 µL, suhu kolom 25°C, dan deteksi menggunakan UV-Vis pada panjang gelombang 198 nm. kajian ini diperoleh waktu retensi akrilamida sebesar 7,998 menit dengan nilai %RSD 0,070%. Hasil tersebut telah memenuhi syarat waktu retensi yang baik, yaitu berada pada rentang 1–10 menit. Nilai ini menunjukkan bahwa sistem KCKT mampu memisahkan akrilamida secara stabil dan konsisten. Waktu retensi yang sesuai dipengaruhi oleh penggunaan kolom C18 dan fase gerak asetonitril:aquabides yang memungkinkan akrilamida terelusi dengan baik. Selaras dengan studi Ali (2022) yang melaporkan bahwa penggunaan fase gerak polar dapat menghasilkan waktu retensi akrilamida yang optimal.

Tabel 1. Hasil uji kesesuaian sistem

Parameter HPLC	Hasil	%SBR	Syarat (USP,2022)
Waktu retensi (tR)	7,998	0,070	1-10 menit
Factor kapasitas (k')	5,383	0,0913	1-10
Factor selektifitas (α)	1,047	0,0887	>1
Resolusi (Rs)	2,758	1,357	>1,5
Efisiensi kolom	56.158	0,154	>2000

Nilai faktor kapasitas yang diperoleh sebesar 5,383 dan telah memenuhi persyaratan yaitu berada pada rentang 1–10

(USP, 2023). Hasil ini menunjukkan bahwa akrilamida memiliki interaksi yang baik dengan fase diam dan fase gerak sehingga

pemisahan berlangsung optimal. Nilai tersebut juga menunjukkan bahwa analit tidak terelusi terlalu cepat maupun terlalu lama. Temuan ini selaras dengan studi Iswandi et al. (2023) yang memperoleh nilai faktor kapasitas yang memenuhi syarat pada analisis akrilamida menggunakan KCKT.

Faktor selektivitas yang diperoleh sebesar 1,047 dan telah memenuhi syarat karena lebih dari 1. Hasil ini menunjukkan bahwa sistem KCKT mampu memisahkan akrilamida dari komponen lain dalam sampel dengan baik. Nilai selektivitas yang memenuhi syarat menandakan adanya perbedaan interaksi analit terhadap fase diam dan fase gerak. Hasil ini sesuai dengan penelitian Iswandi et al. (2023) yang juga memperoleh nilai selektivitas yang memenuhi kriteria.

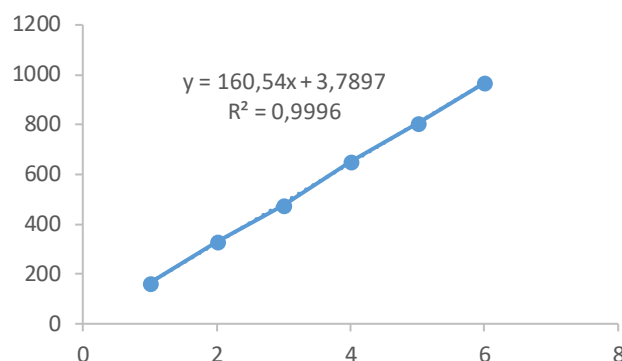
Nilai resolusi yang diperoleh sebesar 2,758 dan telah memenuhi persyaratan yaitu lebih dari 1,5. Hasil ini menunjukkan bahwa pemisahan antar puncak berlangsung dengan baik sehingga tidak terjadi tumpang tindih pada kromatogram. Resolusi yang baik memungkinkan identifikasi akrilamida dilakukan secara lebih akurat. Temuan ini selaras dengan studi Iswandi et al. (2023)

yang menunjukkan nilai resolusi memenuhi syarat pada analisis akrilamida.

Efisiensi kolom yang diperoleh sebesar 56.158 menunjukkan bahwa kolom C18 memiliki kemampuan pemisahan yang baik. Nilai tersebut berada pada kisaran yang sesuai untuk analisis KCKT karena semakin besar jumlah plat teoritis menunjukkan semakin tinggi efisiensi kolom dalam menghasilkan pemisahan analit. dengan nilai %RSD 0,154%. Hasil tersebut telah memenuhi syarat karena nilai efisiensi kolom lebih dari 2000 (ICH, 2022). Nilai ini menunjukkan bahwa kolom mampu menghasilkan puncak yang tajam dan pemisahan yang baik. Nilai %RSD yang rendah juga menunjukkan kestabilan sistem selama analisis. Temuan ini selaras dengan studi Ali (2022) dan Iswandi et al. (2023) yang melaporkan efisiensi kolom memenuhi persyaratan pada analisis akrilamida.

3. Linearitas (Kurva Kalibrasi)

Dimaksudkan guna mengetahui korelasi antara konsentrasi akrilamida dengan respon instrumen yang dihasilkan. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh persamaan regresi linier $y = 160,54x + 3,7897$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) 0,9996.



Gambar 2. Kurva kalibrasi linearitas

Nilai R^2 sebesar 0,9996 melaporkan bahwa terdapat hubungan linier yang sangat baik antara konsentrasi akrilamida dan respon instrumen. Hasil tersebut telah memenuhi persyaratan linearitas karena nilai $R^2 \geq 0,997$. Selain itu, nilai slope 160,54 menunjukkan bahwa instrumen memiliki sensitivitas yang baik terhadap perubahan konsentrasi akrilamida. Tingginya nilai koefisien determinasi menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi akrilamida akan diikuti oleh peningkatan respon instrumen secara proporsional. Menurut Sri et al. (2019), nilai yang meningkat menunjukkan penguatan hubungan linier antar variabel, sehingga metode analisis yang digunakan cenderung menghasilkan data yang lebih akurat dan reliabel. Temuan ini selaras dengan studi Iswandi et al. (2023) yang mengungkapkan bahwa linearitas yang memadai ditandai oleh nilai koefisien korelasi yang mendekati 1 dan metode KCKT untuk analisis akrilamida menghasilkan nilai

linearitas yang memenuhi persyaratan validasi metode.

4. Presisi

Berdasarkan hasil uji presisi diperoleh nilai %SBR sebesar 0,370%. Hasil tersebut telah memenuhi persyaratan uji presisi karena nilai $\%SBR \leq 2\%$ (ICH, 2022). Pengujian dilakukan sebanyak 6 kali pengulangan pada konsentrasi 2 ppm yang dipilih sebagai konsentrasi 100% mengacu pada batas maksimum kadar akrilamida pada makanan menurut FDA sebesar 2 ppm (FDA, 2004).

Tabel 2 Hasil uji presisi

Konsentrasi (bpj)	Pengulangan	AUC	Kadar Hasil (ppm)	Rata-rata	SB	%SBR
2	1	330,279	2,080	2,065	0,00764	0,37
	2	326,452	2,057			
	3	327,149	2,061			
	4	326,84	2,059			
	5	327,993	2,066			
	6	328,316	2,068			

Temuan tersebut mengindikasikan bahwa metode analisis yang diterapkan memiliki ketelitian yang tinggi, karena menghasilkan nilai pengukuran yang saling berdekatan pada pengulangan analisis. Rendahnya nilai %SBR mengindikasikan minimnya penyimpangan antar hasil, sehingga metode yang digunakan bersifat konsisten dan stabil. Hal ini terjadi karena sistem analisis yang digunakan memiliki kondisi pengujian yang stabil sehingga respon instrumen pada setiap pengulangan tidak berbeda jauh. Semakin kecil nilai simpangan baku dan %SBR, maka semakin baik tingkat presisi suatu metode analisis. Temuan penelitian ini konsisten dengan teori yang menyebutkan bahwa nilai %SBR yang baik dalam pengujian presisi $< 2\%$ agar metode dinilai memiliki ketelitian yang baik (ICH, 2022). Selain itu, penelitian FDA menetapkan batas maksimum kadar akrilamida pada makanan sebesar 2 bpj sehingga konsentrasi tersebut digunakan sebagai konsentrasi pengujian. Temuan ini selaras dengan studi (Iswandi *et al.*, 2023)

yang memperoleh nilai presisi memenuhi syarat pada analisis akrilamida menggunakan metode KCKT.

5. Akurasi

Pada penelitian ini diperoleh nilai % Recovery pada uji akurasi sebesar 85,63% pada konsentrasi 1,6 bpj, 101,67% pada konsentrasi 2 bpj, dan 108,34% pada konsentrasi 2,4 bpj. Seluruh hasil tersebut telah memenuhi syarat uji akurasi karena berada dalam rentang 80–110% (Harmita, 2009). Selain itu, nilai %RSD yang diperoleh juga kecil sehingga menunjukkan hasil pengukuran yang stabil.

Tabel 3. Hasil uji akurasi

Konsentrasi (bpj)	AUC	AUC rata-rata	Kadar Hasil (bpj)	%Recovery	SB	%SBR
1,6	223,711	223,764	1,370	85,63	0,092	0,041
	223,871					
	223,711					
2	330,279	330,258	2,033	101,67	0,018	0,005
	330,249					
	330,247					
2,4	420,953	421,245	2,600	108,34	0,297	0,071
	421,235					
	421,547					

Hasil Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memiliki tingkat ketepatan yang baik karena nilai hasil pengukuran mendekati kadar analit yang sebenarnya. Nilai %Recovery yang berada dalam rentang yang dipersyaratkan menandakan bahwa metode mampu mengukur kadar akrilamida dengan baik pada berbagai konsentrasi. Hal ini terjadi karena sistem analisis dan kondisi pengujian yang digunakan mampu mendeteksi analit secara optimal sehingga kadar akrilamida yang ditambahkan dapat terukur kembali dengan baik. Semakin mendekati 100% nilai *recovery* yang diperoleh, maka semakin baik tingkat akurasi metode analisis tersebut.

Nilai %Recovery menunjukkan kecenderungan meningkat seiring bertambahnya konsentrasi akrilamida, yaitu dari 85,63% pada konsentrasi 1,6 ppm menjadi 101,67% pada 2 ppm dan 108,34% pada 2,4 ppm. Pada konsentrasi yang lebih

rendah, respon instrumen umumnya lebih dipengaruhi oleh efek matriks, kehilangan analit selama proses preparasi, maupun gangguan sinyal (noise), sehingga *recovery* yang diperoleh cenderung lebih rendah. Sebaliknya, pada konsentrasi yang lebih tinggi respon analit menjadi lebih dominan sehingga *recovery* meningkat. Nilai *recovery* sebesar 108,34% masih berada dalam batas keberterimaan 80–110%, namun mengindikasikan adanya kecenderungan bias positif (*overestimasi*) yang kemungkinan disebabkan oleh efek matriks atau variasi kecil selama proses ekstraksi dan analisis. Meskipun demikian, karena seluruh nilai *recovery* masih memenuhi kriteria validasi metode, metode KCKT yang digunakan tetap dinilai memiliki akurasi yang baik.

Hasil penelitian ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa kriteria penerimaan akurasi berada pada rentang 80–110% (Prof. Dr. Harmita, 2009). Selain itu,

penelitian (Riyanto, 2015) juga menjelaskan bahwa nilai *recovery* yang memenuhi syarat menunjukkan kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian (Iswandi *et al.* 2023) yang memperoleh nilai akurasi memenuhi syarat pada analisis akrilamida menggunakan metode KCKT

6. Batas Deteksi dan Batas Kuantifikasi

Pada penelitian ini diperoleh nilai batas deteksi (LOD) sebesar 0,121 bpj dan batas kuantifikasi (LOQ) sebesar 0,367 bpj. Nilai tersebut diperoleh dari perhitungan menggunakan data rata-rata AUC pada konsentrasi 1–6 ppm dengan nilai simpangan baku respon (Sy/x) sebesar 5,897. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan mampu mendeteksi dan mengukur akrilamida dalam kadar rendah. Nilai LOD menunjukkan kadar terkecil akrilamida yang masih dapat dideteksi oleh instrumen, sedangkan nilai LOQ menunjukkan kadar terkecil akrilamida yang masih dapat diukur secara kuantitatif dengan baik. Hal ini terjadi karena instrumen memiliki sensitivitas yang baik terhadap perubahan konsentrasi akrilamida sehingga analit dalam kadar rendah masih dapat terbaca oleh alat. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ, maka semakin sensitif metode analisis yang digunakan dengan menggunakan persamaan $LOD =$

$3 \times (Sy/x) / \text{slope}$ dan $LOQ = 10 \times (Sy/x) / \text{slope}$.

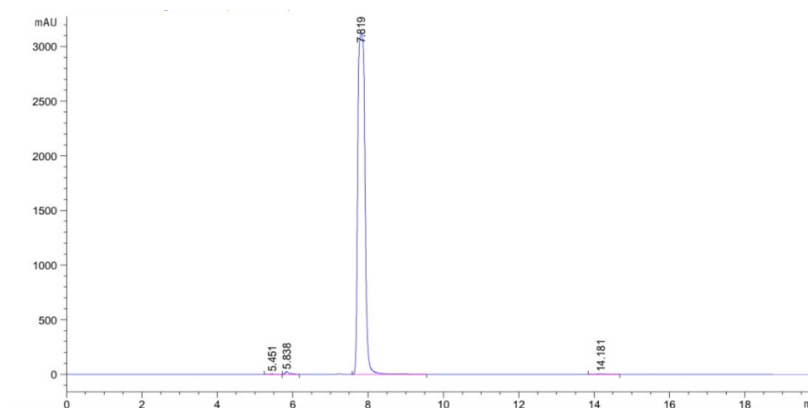
Hasil penelitian ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa LOD digunakan untuk mengetahui kadar analit terendah yang masih dapat dideteksi, sedangkan LOQ digunakan untuk mengetahui kadar analit terendah yang masih dapat diukur secara kuantitatif (ICH, 2022). Penelitian (Wardani *et al.*, 2023) juga menjelaskan bahwa nilai LOD dan LOQ yang kecil menunjukkan metode analisis memiliki sensitivitas yang baik. Temuan ini selaras dengan studi Iswandi *et al.* pada analisis akrilamida menggunakan metode KCKT.

7. Hasil Penetapan Kadar Akrilamida Pada Ayam Bakar Berbumbu Dan Tidak Berbumbu

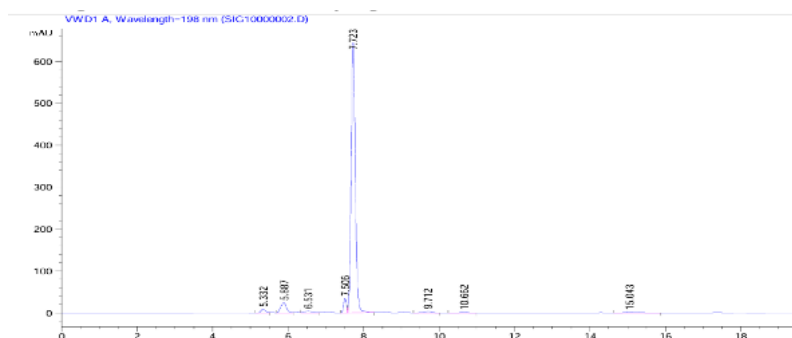
Kadar akrilamid dalam sampel daging ayam berbumbu dan daging ayam tanpa bumbu menggunakan bawang putih, bawang merah, jahe dan lengkuas dianalisis dengan KCKT. Kondisi KCKT yang digunakan yaitu fase diam Agilent C18 (4,6 x 250 mm; 5 μ m), fase gerak air:asetonitril (95:5), laju alir 0,5 mL/menit, suhu 25°C, volume sampel yang diinjeksikan 20 μ L dan panjang gelombang maksimum 198 nm. Pada penetapan kadar akrilamid dilakukan metode *spiking* yaitu menambahkan larutan baku akrilamid ke dalam masing-masing sampel, sehingga diperoleh hasil kadar akrilamid.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar akrilamida dalam sampel

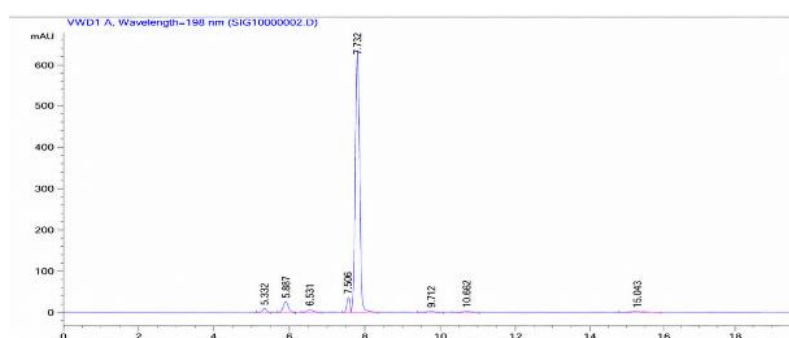
Sampel	Replikasi	AUC	AUC Rata-rata	Kadar Hasil (ppm)
Ayam Bakar Tanpa Bumbu	Replikasi 1	3564,518	3564,67	7,11
		3564,648		
		3564,845		
	Replikasi 2	3565,518	3566,34	7,12
		3566,648		
		3566,845		
	Replikasi 3	3568,518	3568,00	7,12
		3567,648		
		3567,845		
Ayam Bakar Berbumbu	Replikasi 1	7449,478	7449,551	15,80
		7449,597		
		7449,578		
	Replikasi 2	7448,478	7447,884	15,80
		7447,597		
		7447,578		
	Replikasi 3	7445,824	7445,46	15,79
		7444,825		
		7445,741		



Gambar 3. Standar baku akrilamid



Gambar 4. Hasil penetapan kadar ayam tanpa bumbu



Gambar 5. Hasil penetapan kadar akrilamida dengan bumbu

Hasil Analisis menunjukkan bahwa kadar akrilamida pada ayam bakar tanpa bumbu sebesar 7,12 ppm, sedangkan pada ayam bakar berbumbu sebesar 15,80 ppm. Secara deskriptif, kadar akrilamida pada ayam bakar berbumbu (15,80 ppm) lebih tinggi dibandingkan ayam bakar tanpa bumbu (7,12 ppm). Pada ayam berbumbu menunjukkan bahwa marinasi menggunakan bawang putih, bawang merah, jahe, dan lengkuas belum mampu menurunkan pembentukan akrilamida selama proses pembakaran. Peningkatan kadar akrilamida diduga dipengaruhi oleh penambahan kecap selama pembakaran. Kecap mengandung gula yang dapat berperan sebagai gula

pereduksi dalam reaksi Maillard sehingga meningkatkan pembentukan akrilamida pada suhu tinggi. Meskipun bahan marinasi mengandung senyawa antioksidan yang berpotensi menghambat pembentukan akrilamida, efek tersebut kemungkinan tertutupi oleh kontribusi gula dari kecap dan kondisi pemanasan yang intensif. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pembentukan akrilamida meningkat pada pangan yang diproses pada suhu tinggi dan melibatkan gula pereduksi (Ikhsan et al., 2022). Selain itu, kadar akrilamida pada kedua sampel masih melebihi ambang batas yang direkomendasikan FDA sebesar 2 ppm. Oleh

karena itu, pengaturan suhu pemasakan dan pengurangan penggunaan bahan yang mengandung gula selama pembakaran perlu dipertimbangkan untuk menekan pembentukan akrilamida pada ayam bakar.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan metode KCKT, diperoleh kadar akrilamida pada ayam bakar berbumbu sebesar 15,80 ppm dan ayam bakar tanpa bumbu sebesar 7,12 ppm. Secara deskriptif, kadar akrilamida pada ayam bakar berbumbu lebih tinggi dibandingkan ayam bakar tanpa bumbu, sehingga penggunaan bumbu marinasi yang disertai penambahan kecap belum mampu menurunkan pembentukan akrilamida selama proses pembakaran. Kedua kelompok sampel memiliki kadar akrilamida yang melebihi batas rekomendasi FDA sebesar 2 ppm, sehingga pengendalian proses pengolahan pangan bersuhu tinggi perlu diperhatikan untuk mengurangi risiko paparan akrilamida. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengevaluasi pengaruh variasi suhu dan lama pembakaran serta penggunaan jenis bumbu atau formulasi marinasi lain terhadap pembentukan akrilamida pada produk pangan hasil pembakaran

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A. H. (2022). *High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review. Annals of Advances in Chemistry*, 6(1), 10–20. <https://doi.org/10.29328/journal.aac.1001026>
- Batiha, G. E. S., Beshbishy, A. M., Wasef, L. G., Elewa, Y. H. A., Al-Sagan, A. A., El-Hack, M. E. A., Taha, A. E., Abd-Elhakim, Y. M., & Devkota, H. P. (2020). Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): A review. In *Nutrients* (Vol. 12, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu12030872>
- Cerrah, S., Ozcicek, F., Gundogdu, B., Cicek, B., Coban, T. A., Suleyman, B., Altuner, D., Bulut, S., & Suleyman, H. (2023). Carvacrol prevents acrylamide-induced oxidative and inflammatory liver damage and dysfunction in rats. *Frontiers in Pharmacology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1161448>
- Epshtein, N. A. (2020). System suitability requirements for liquid chromatography methods: Controlled parameters and their recommended values. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 54(11), 1094–1108.

- European Food Safety Authority. (2021). *Assessment of the genotoxicity of acrylamide*. EFSA Journal, 20(5), 7293. Dokumen ini menegaskan bahwa akrilamida dan metabolitnya (glisidamida) memiliki sifat genotoksik yang menjadi dasar kekhawatiran terhadap risiko kesehatan manusia.
- Harmita. (2004). *Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian, 1(3), 117–135. <https://doi.org/10.7454/psr.v1i3.3375>
- Gupta, M. K., Ghuge, A., Parab, M., Al-Refaei, Y., Khandare, A., Dand, N., & Waghmare, N. (2022). A comparative review on High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) & High-Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) with current updates. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 35(4), 224–228. <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0039>
- ICH. (2022). Analytical Procedure Development Q14 Draft. In *ICH Harmonised Guideline*. European Medicines Agency. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q14-analytical-procedure-development-step-2b_en.pdf
- Ikhsan, M., Harahap, Y., & Saputri, F. C. (2022). *Development and validation of HPLC-UV method for simultaneous analysis of acrylamide and glycidamide in volumetric absorptive microsampling*. International Journal of Applied Pharmaceutics, 14(5), 170–174. <https://doi.org/10.22159/ijap.2022v14i5.4544>
- Iswandi, I., Purwantari, Y., & Widyasti, J. H. (2023). *Penetapan kadar akrilamida pada naget ayam dengan perbedaan proses pengolahan secara kromatografi cair kinerja tinggi*. MEDFARM: Jurnal Farmasi dan Kesehatan, 12(2), 190–201. <https://doi.org/10.48191/medfarm.v12i2.241>
- Khan, M., Moniruzzaman, M., & Razu, M. H. (2019). Method development and validation for the quantification of acrylamide in potato chips and other locally available food by LC-MS/MS in Bangladesh. *Food and Nutrition Sciences*, 10(7), 876–892. <https://doi.org/10.4236/fns.2019.107063>

- Ly, L., Phikhher Eav, L., Tepy Chanto, M., Parakulsuksatid, P., & Tan, R. (2024). Evaluation of Physicochemical and Microbiological Characteristics of Different Soy sauces Sold in Phnom Penh, Cambodia. *Journal of Food Science and Nutrition Research*, 07(01).
<https://doi.org/10.26502/jfsnr.2642-110000147>
- Öz, F., Kaban, G., Kaya, M., & Kayaardı, S. (2020). *Effects of cooking methods and temperatures on the formation of heterocyclic aromatic amines and acrylamide in meat products: A review*. Food Chemistry, 328, 127138. (Periksa kembali volume dan halaman sesuai sumber yang Anda gunakan).
- Pedersen-Bjergaard, S., Gammelgaard, B., & Halvorsen, T. G. (2019). Introduction To Pharmaceutical Analytical Chemistry. Wiley.
- Sulistina, E., Miftah, A. M., & Aprilia, H. (2019). Penentuan Kadar Akrilamid dalam Keripik Jamur yang Dijual Pedagang Kaki Lima. *Prosiding Farmasi*, 5(1), 75–80.
- Suprianto, S. (2018). *Parameter Optimasi dan Validasi Metode Ultra Fast Liquid Chromatography*.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.143690>
- Wardani, G. A., Erlinasari, W., & Tuslinah, L. (2022). Pengaruh Konsentrasi Dan Waktu Perendaman Ampas Tebu Terhadap Kandungan Akrilamida Pada Minyak Jelantah. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 19(1), 133–147.