

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Krokot (*Portulaca oleracea* L.)

Krokot termasuk kedalam jenis tumbuhan yang dapat tumbuh pada beragam geografis dan pada iklim yang hangat. WHO telah menggolongkan tumbuhan krokot kedalam tanaman C4 yaitu tanaman obat yang paling bermanfaat dan disebut sebagai “Global Panacea” (Sultana dan Rahman, 2013). Klasifikasi daun krokot menurut USDA (2010) adalah:

Kingdom : Plantae

Sub Kingdom : Tracheobionita

Sub Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Sub Kelas : Caryophyllidae

Ordo : Caryophyllales

Famili : Portulacaceae

Genus : *Portulaca* L.

Spesies: *Portulaca oleracea* L.

Tumbuhan krokot (*Portulaca oleracea* L.) merupakan tumbuhan yang memiliki daun sukulen (tunggal) dan dapat tumbuh tegak atau merunduk yang tergantung pada jenis pencahayaan yang diperoleh. Daun krokot memiliki daging yang cukup tebal serta permukaan daun yang datar. Bentuk daun yang dimiliki tanaman krokot adalah bulat telur dengan ujung bulat dan melekok ke dalam,

namun bertepi rata. Panjang daun mencapai 1-5 cm dan lebar mencapai 0,5-2 cm memiliki warna hijau dengan tepi merah. Sedangkan batang krokot memiliki bentuk bulat dengan warna coklat keunguan, memiliki panjang mencapai 50 cm serta tidak berambut (Uddin, *et al.*, 2014; Raharjo, 2007).

Bunga krokot terletak pada ujung percabangan dan berkelompok, yang terdiri dari 2-6 kuntum bunga. Daun mahkota bunga berjumlah lima, dengan ukuran kecil dan berwarna kuning, ungu atau putih-merah muda. Bunga krokot akan mekar selama bulan mei hingga september. Waktu mekar bunga krokot adalah pagi hari antara pukul 08.00-11.00 WIB dan mulai layu saat menjelang sore hari. Sedangkan buah tanaman krokot berbentuk oval juga memiliki biji yang banyak, dengan warna buah hitam coklat mengkilap berukuran 4-8 mm dan diameter biji buah 0,5-1,2 mm (Uddin, *et al.*, 2014; Raharjo, 2007).



Gambar 2.1 *Portulaca olearacea* L.
Sumber: Christians (2011)

Pada pertumbuhannya, krokot dapat tumbuh dengan baik pada lingkungan yang lembab (RH 80%) dan hangat, yaitu pada suhu 24-32°C dengan curah hujan 1800-2000 mm. Tanaman krokot akan tumbuh selama 4-16 jam dalam sehari, dengan pencahayaan sinar matahari yang baik dan tanah yang tidak terlalu kering (Azuka, *et al.*, 2014; Alam, *et al.*, 2014). Tumbuhan krokot memiliki daur hidup

yang tergolong cepat yaitu 15-20 hari. Tumbuhan krokot (*Portulaca olearacea* L.) dapat beradaptasi dengan baik pada berbagai macam kondisi lingkungan, termasuk kondisi lingkungan yang ekstrim sekalipun, seperti pada tanah yang mengandung pestisida tinggi (Jin, *et al.*, 2016; Proctor, 2013). Krokot dapat tumbuh pada ladang, perkebunan dan di pinggir jalan (Uddin, *et al.*, 2012). Kandungan gizi *Portulaca olearacea* L. menurut USDA dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan gizi *Portulaca olearacea* L. per 100 gram

| Komposisi | Jumlah |
|------------------|----------|
| Energi | 16 Kcal |
| Karbohidrat | 3,4 g |
| Protein | 1,3 g |
| Total lemak | 0,1 g |
| Kolestrol | 0 mg |
| Folat | 12 µg |
| Niacin | 0,480 mg |
| Panthotenic acid | 0,360 mg |
| Pyridoxine | 0,073 mg |
| Riboflavin | 0,112 mg |
| Thiamin | 0,047 mg |
| Vitamin A | 1320 IU |
| Vitamin C | 21 mg |
| Sodium | 45 mg |
| Potasium | 494 mg |
| Kalsium | 65 mg |
| Copper | 0,113 mg |
| Iron | 1,99 mg |
| Magnesium | 68 mg |
| Manganese | 0,303 mg |
| Phosporus | 44 mg |
| Selenium | 0,9 µg |
| Zinc | 0,17 mg |

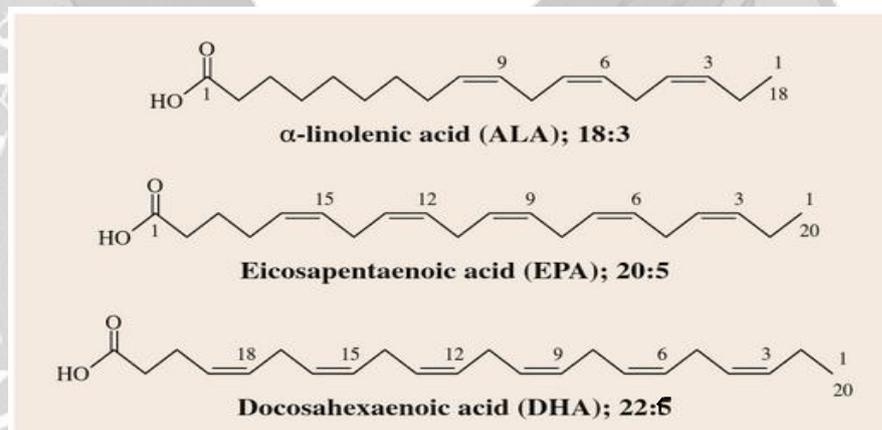
Sumber: USDA National Nutrient Data (2010)

2.2 Asam Lemak Omega-3

Asam lemak omega-3 merupakan asam lemak tidak jenuh (PUFA) dengan rantai ganda yang terdiri atas banyak ikatan rangkap dan tidak dapat disintesis oleh tubuh sehingga asam lemak omega-3 termasuk dalam asam lemak esensial (Diana, 2012; Kim, 2015). Ikatan rangkap pertama terletak pada atom karbon ketiga dari ikatan rangkap sebelumnya. Asam lemak omega-3 yang utama meliputi ALA (asam

alfa-linolenat (C18:3, n-3)), DHA (dokosaheksaenoat (C22:6,n-3) dan EPA (eikosapentaenoat (C20:5,n-3).

Berdasarkan strukturnya, rantai ALA (C18:3, n-3) merupakan ω -3 dengan rantai terpendek karena hanya tersusun atas 18 karbon dengan 3 ikatan ganda. Berbeda dengan DHA dan EPA yang merupakan ω -3 dengan rantai yang lebih panjang. EPA (C20:5,n-3) tersusun atas 20 karbon dengan 5 ikatan ganda dan DHA (C22:6,n-3) tersusun atas 22 rantai karbon dengan 6 ikatan ganda (Calviello dan Serini, 2010). Struktur ALA, EPA dan DHA dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur *polyunsaturated fatty acids*
Sumber: Kim (2015)

Umumnya sifat fisis dan sifat kimia mencakup metabolisme, pencernaan, absorpsi dan sekresi dari asam lemak omega-3 sama dengan lemak. Pada sifat fisik trigliserida ditentukan oleh proporsi dan struktur kimia asam lemak yang membentuknya. Lemak akan semakin lunak dan cair apabila semakin banyak mengandung asam lemak dengan rantai pendek dan ikatan tidak jenuh. Sebaliknya, lemak akan semakin padat apabila mengandung asam lemak-jenuh berantai panjang seperti asam stearat (C18:0) atau asam palmitat (C16:0). Sifat trigliserida turut

ditentukan oleh posisi omega dan posisi asam lemak pada molekul gliserol (Almatsier, 2006).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan asam lemak omega-3 memiliki banyak sekali manfaat diantaranya, yaitu anti penggumpalan darah dan anti peradangan, dikenal baik untuk sistem saraf pusat otak dan dapat mencegah penyakit kronis, CVD, mencegah hipertensi, mencegah penurunan penyakit diabetes pada janin selama kehamilan, mencegah infamasi, mencegah *hyperlipidaemia* dan kanker. Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa bila seseorang mengalami defisiensi asam lemak omega-3 maka akan berakibat fatal, yaitu gangguan saraf penglihatan, perkembangan saraf terganggu, gangguan saraf tubuh, daya ingat dan mental (Diana, 2012; Zhou, *et al.*, 2015; Yessoufou, *et al.*, 2015; Calviello dan Serini, 2010).

Konsumsi omega-3 yang disarankan menurut WHO adalah 0,3-0,5 gram/hari. Secara umum asam lemak esensial khususnya EPA dan DHA dapat diperoleh dengan mengkonsumsi ikan perairan dingin seperti salmon, *anchovies*, *mackerel*, *sardine*, *herring* juga lemak ikan yang merupakan turunan dari minyak ikan dan mikroorganisme (termasuk bakteri dan mikroalga). Sedangkan ALA (asam alfa-linolenat (C18:3, n-3) lebih banyak ditemukan diminyak tumbuhan dan kacang-kacangan. Kemudian EPA dan DHA terdapat pada ikan dan mikroorganisme (termasuk mikroalga dan bakteri) (Rustan dan Drevon, 2005; Calviello dan Serini, 2010).

2.3 Permen jeli

Menurut BSN (2008) permen jeli atau kembang gula lunak jeli adalah kembang gula dengan tekstur lunak yang diproses dengan cara menambahkan komponen hidrokoloid diantaranya agar, gum, pektin, pati, Karaginan, gelatin dan lain sebagainya. Penambahan komponen hidrokoloid dimanfaatkan untuk memodifikasi tekstur sehingga dihasilkan produk yang kenyal, yang terlebih dahulu dicetak dan diproses *aging* sebelum dikemas. Sementara itu menurut Imeson¹ (2010), permen jeli merupakan produk *confectionary* yang terbuat dari campuran air atau sari buah dengan bahan pembentuk gel sehingga memiliki penampakan jernih dan kenyal. Standar permen jeli menurut Standar Nasional Indonesia bagian kembang gula lunak dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Standar Nasional Indonesia kembang gula lunak (SNI 3547.2)

| No. | Kriteria Uji | Satuan | Persyaratan | |
|-----|----------------------------------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|
| | | | Bukan Jeli | Jeli |
| 1 | Keadaan | | Normal | Normal |
| 1.1 | Bau | - | Normal | Normal |
| 1.2 | Rasa | - | Normal | Normal |
| | | | (sesuai label) | (sesuai label) |
| 2 | Kadar air | % fraksi massa | Maks. 7,5 | Maks. 20,0 |
| 3 | Kadar abu | % fraksi massa | Maks. 20,0 | Maks. 3,0 |
| 4 | Gula reduksi (dihitung sebagai gula inversi) | % fraksi massa | Maks. 20,0 | Maks. 25,0 |
| 5 | Sakarosa | % fraksi massa | Maks. 35,0 | Maks. 27,0 |
| 6 | Cemaran logam | | | |
| 6.1 | Timbal (Pb) | mg/kg | Maks. 2,0 | Maks. 2,0 |
| 6.2 | Tembaga (Cu) | mg/kg | Maks. 2,0 | Maks. 2,0 |
| 6.3 | Timah (Sn) | mg/kg | Maks. 40,0 | Maks. 40,0 |
| 6.4 | Raksa (Hg) | mg/kg | Maks. 0,03 | Maks. 0,03 |
| 7 | Cemaran Arsen (As) | mg/kg | Maks. 1,0 | Maks. 1,0 |
| 8 | Cemaran Mikroba | | | |
| 8.1 | Angka lempeng total | koloni/g | Maks. 5×10^2 | Maks. 5×10^4 |
| 8.2 | Bakteri <i>Coliform</i> | APM/g | Maks. 20 | Maks. 20 |
| 8.3 | <i>E.coli</i> | APM/g | < 3 | < 3 |
| 8.4 | <i>Staphylococcus aureus</i> | koloni/g | Maks. 1×10^2 | Maks. 1×10^2 |
| 8.5 | <i>Salmonella</i> | | Negatif/25 g | Negatif/25 g |
| 8.6 | Kapang/khamir | koloni/g | Maks. 1×10^2 | Maks. 1×10^2 |

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2008)

Kemudian berdasarkan bahan bakunya permen jeli terbagi menjadi dua, yaitu *syrup-phase (sugar-phase)*, dan *fat-phase*. Lalu berdasarkan metode pengolahannya permen jeli terbagi menjadi dua, yaitu *crystalline* dan *non-crystalline*. Permen jeli dengan tipe *crystalline* memiliki sifat lunak, halus serta *creamy*. Sementara permen *non-crystalline* memiliki tekstur yang spesifik dengan penambahan gelatin untuk aerasi atau gum untuk peningkatan daya kunyah yang lebih lama dan padat (Brown, 2015; Yang, *et al.*, 2014). Bahan utama yang digunakan dalam pembuatan permen jeli adalah:

2.3.1 Gula

Gula adalah pemanis dalam pembuatan permen, atau dapat disebut sebagai sukrosa. Sukrosa bukan merupakan gula pereduksi. Dalam pembuatan permen jeli sukrosa yang digunakan berperan sebagai pemberi rasa manis, memiliki daya larut yang tinggi, memiliki kemampuan sebagai pengawet, yaitu menghambat pertumbuhan mikroba karena menurunkan aktivitas air dan mengikat air (Hull, 2010; Hidayat dan Ikarisztiana, 2004).

Gula memiliki peranan yang sangat penting dalam proses pengolahan permen jeli. Untuk industri-industri makanan umumnya menggunakan sukrosa dalam bentuk kristal halus atau kasar dan bila dalam jumlah yang banyak maka digunakan sukrosa dalam bentuk cairan atau sirup. Sirup diperoleh dari sukrosa yang sebagian terurai menjadi glukosa dan fruktosa yang disebut dengan gula *invert*. Inversi sukrosa terjadi dalam suasana asam. Gula *invert* tidak dapat membentuk kristal karena kelarutan fruktosa dan glukosa sangat besar. Dengan penggunaan suhu tinggi juga suasana yang semakin asam maka akan meningkatkan pembentukan gula *invert*. Pada suhu 20°C dapat membentuk gula *invert* sebanyak

72% dan pada suhu 30°C dapat membentuk hampir 80% gula *invert* (Winarno, 2004).

2.3.2 Sirup Fruktosa Tinggi (*High Fructose Sugar* atau HFS)

Fruktosa memiliki tingkat kemanisan yang lebih tinggi dibandingkan sukrosa, yaitu sebesar 1,12 kali sukrosa. *High Fructose Sugar* merupakan gula berbentuk cair yang dihasilkan dengan mengubah sebagian glukosa yang diperoleh dari hasil isomerasi. Menurut Tjoroadikoesoemo (1986), HFS dapat dibuat dengan menggunakan sirup dekstrosa dari hasil pengenceran, dekstrinasi, dan sakarisasi pati dengan menggunakan katalisator sistem enzim.

Dalam pembentukan gel, fruktosa dengan sukrosa akan bersama-sama membentuk tekstur dari permen jeli, kedua komponen ini dapat menurunkan tingkat kekerasan permen jeli dengan membentuk tekstur yang liat. Penambahan rasio yang tepat antara fruktosa dan sukrosa akan menghasilkan permen jeli dengan kekenyalan, kekerasan dan rasa manis yang tepat. Namun sebaliknya, bila jumlah HFS yang ditambahkan tetap dan meningkatkan jumlah sukrosa maka dapat menyebabkan tekstur permen jeli menjadi keras. Selain membentuk tekstur HFS juga turut berfungsi sebagai penguat cita rasa, mencegah pembentukan kristal gula, bernilai tinggi, serta dapat menghambat pertumbuhan kapang, bakteri, dan jamur dengan tekanan osmosis yang tinggi dan aktivitas air yang rendah. Dengan demikian produk HFS akan tetap segar meskipun disimpan dalam waktu yang lama (Richana dan Suarni, 2008; Bastian, 2009).

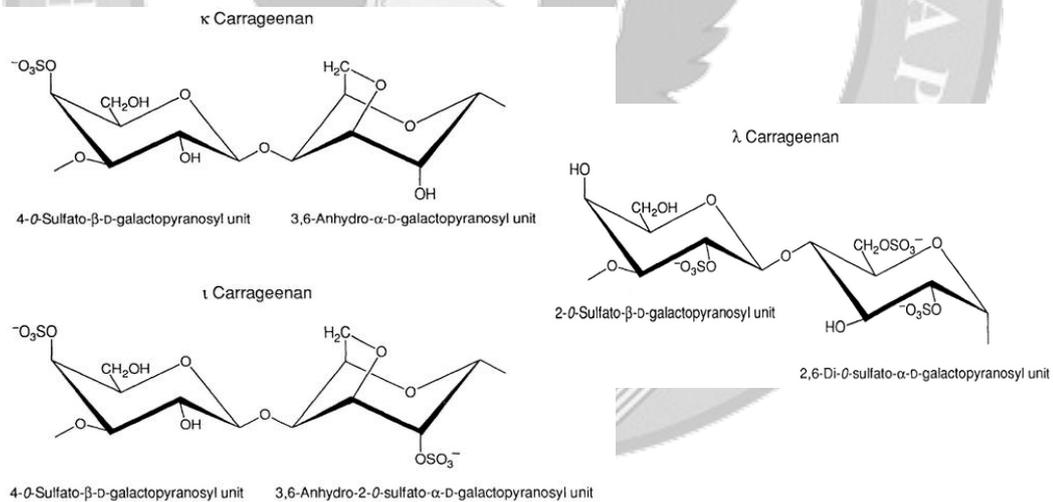
2.3.3 Karaginan

Karaginan adalah polisakarida linier yang tersusun atas unit galaktosa dan 3,6-anhidrogalaktosa dengan ikatan glikosidik pada α -(1,3) dan β -(1,4) (Imeson, 2000). Karaginan dapat dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu lambda, kappa dan iota karaginan. Struktur kimia kappa, iota dan lambda karaginan dapat dilihat pada Gambar 2.3. Ketiga karaginan tersebut dibedakan berdasarkan sumber karaginan, gugus sulfat dan metode ekstraksi yang dilakukan (Imeson, 2000). Kandungan nutrisi kappa-karaginan dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Kandungan nutrisi kappa-karaginan

| Kandungan | Jumlah (%) |
|-----------|------------|
| Karaginan | 79 |
| Protein | 1 |
| Lemak | 0,2 |
| Abu | 23,8 |

Sumber: Lindstrom dan Chapman (1996)



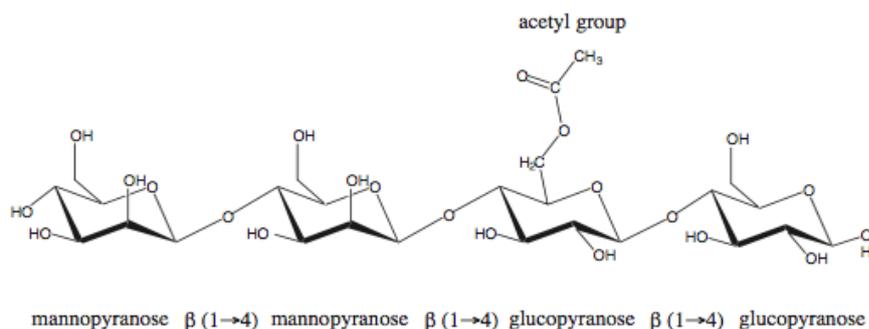
Gambar 2.3 Struktur kimia kappa-karaginan, iota-karaginan dan lambda karaginan
Sumber: Whistler dan BeMiller (2012)

Karaginan dihasilkan dengan cara mengekstrak rumput laut merah yang memiliki kandungan karaginan, sehingga karaginan dapat disebut sebagai polisakarida yang terdapat dalam struktur selulosa dari tanaman. Kandungan

polisakarida tersebut tidak dapat dicerna tubuh manusia. Karaginan banyak digunakan sebagai *emulsifier*, pembentukan gel, bahan penstabil, dan bahan pengental pangan atau produk pangan. Sehingga kappa-karaginan cocok digunakan dalam pembuatan permen jeli (Wyasti, 2016).

2.3.4 Konjak Glukomanan

Konjak merupakan glukomanan yang berasal dari akar umbi tanaman *Amorphophallus konjac* C. Koch yang umumnya tumbuh di Asia Tenggara, seperti Tiongkok, Jepang dan Indonesia. Li dan Xie (2006) mengungkapkan bahwa konjak glukomanan sering kali disebut sebagai pangan tanpa kalori karena tepungnya yang tidak dapat dicerna oleh tubuh. Sehingga serat yang terdapat pada konjak dapat digunakan untuk diet karena dapat meningkatkan metabolisme tubuh. Konjac glukomanan merupakan jenis heteropolisakarida alami yang tersusun atas β -1, gugus 4-D-manosa, dan D-glukosa dengan perbandingan 1,6:1 (Imeson¹, 2010). Struktur konjak glukomanan dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur konjak glukomanan
 Sumber: Imeson¹ (2010)

Menurut Imeson¹ (2010) konjak glukomanan memiliki beberapa manfaat dalam pembuatan permen yaitu, sebagai pengental, pengikat, dan pembentuk gel dengan nilai kalori tinggi. Menurut Widjanarko (2008), konjak yang ditambahkan

pada karaginan tidak akan mengubah struktur Karaginan dan akan mengisi ruang-ruang kosong dari gel kappa-karaginan. Karena adanya sinergisme antara karaginan dan konjak dapat menurunkan kerapuhan dan meningkatkan elastisitas gel kappa-karaginan dengan tekstur yang lebih elastis. Kandungan nutrisi pada konjak glukomanan dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Kandungan nutrisi konjak glukomanan

| Kandungan | Jumlah (%) |
|-------------|------------|
| Kadar air | 5,025 |
| Serat kasar | 5,025 |
| Karbohidrat | 43,48 |
| Lemak | 5,17 |
| Protein | 5,70 |
| Glukomanan | 15,49 |

Sumber: Nugraheni dan Sulistyowati (2014)

2.3.5 Asam Sitrat

Asam sitrat ($C_6H_8O_7$) adalah senyawa organik yang banyak ditemukan pada buah sitrus. Asam sitrat merupakan senyawa kimia yang memiliki peran penting dalam industri pangan dan *confectionary*. Asam sitrat mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang dapat mengakibatkan kerusakan pada pangan juga dapat mencegah perubahan warna, tekstur, flavor dan menjaga kesegaran (Brown, 2015). Asam sitrat dapat diperoleh melalui hasil fermentasi glukosa oleh *Aspergillus niger*. Pada pembuatan permen jeli, asam sitrat digunakan untuk memberikan rasa, menurunkan pH (*acidifier*) serta pencegahan terhadap kristalisasi gula. Penambahan asam sitrat pada permen jeli berkisar antara 0,2 hingga 0,3% tergantung jenis bahan pembentuk gel yang digunakan (Najafpour, 2006; Imeson¹, 2010).

2.3.6 Air

Dalam pembuatan permen jeli, air digunakan untuk melarutkan bahan baku terutama sukrosa dan sirup glukosa. Penambahan air dalam produk pangan sangatlah penting karena akan mempengaruhi penampakan, cita rasa juga tekstur. Semakin sedikit air yang ditambahkan pada permen jeli, maka permen jeli yang dihasilkan akan bertekstur keras (Hartel, *et al.*, 2017).

Selain itu, air yang terdapat dalam suatu bahan tidak hanya berperan sebagai pelarut tetapi turut membentuk suatu dispersi koloidal bersama dengan bahan kimia yang tidak dapat membentuk suatu larutan. Protein biasanya termasuk ke dalam senyawa yang membentuk dispersi koloidal, seperti gelatin. Umumnya air dalam bentuk dispersi koloidal memiliki sifat yang tidak stabil karena ukurannya yang besar (Winarno, 2004).

2.3.7 Flavor

Pemberian flavor sangatlah penting dalam mempengaruhi tanggapan organoleptik dan penerimaan konsumen. Penggunaannya dapat memberikan aroma yang disukai, sekaligus untuk menutupi bau khas dari gelatin akibat pemasakan. *Compounded flavor* merupakan salah satu jenis flavor bahan tambahan makanan yang dapat memberikan, menambahkan atau mempertegas aroma (flavor). *Compounded flavors* dapat terdapat dalam bentuk cair, bubuk atau enkapsulasi (Hui, 2006).

Dalam klasifikasinya *compounded flavors* terbagi menjadi dua yaitu, *compounded flavor* buatan dan *compounded flavor* alami. Penggunaan flavor alami dapat memberikan aroma yang lebih stabil dan tahan terhadap temperatur tinggi

selama pemasakan. Igoe dan Hui (2001) dalam bukunya mengungkapkan bahwa umumnya flavor yang ditambahkan dalam pembuatan permen jeli adalah flavor buah-buahan.

2.3.8 Proses Pembuatan Permen Jeli

Secara umum, proses pembuatan permen jeli terdiri dari proses pencampuran dan pemanasan bahan baku, pencetakan, pendinginan, pemotongan, dan pelapisan. Formulasi permen jeli secara umum dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5 Formulasi permen jeli

| Bahan | Jumlah (%) |
|-----------------------------|------------|
| Air (untuk sirup gula) | 9-11 |
| Air (untuk hidrasi gelatin) | 9-11 |
| Sukrosa | 31-34 |
| Sirup glukosa | 37-42 |
| Gelatin | 5,0-5,5 |
| Asam | 0,6-0,9 |
| Pewarna | 0,05-0,1 |
| Flavor | 0,3-0,6 |

Sumber: Hartel, *et al.*, (2017)

Proses pembuatan permen jeli diawali dengan melarutkan gelatin pada sebuah wadah dengan penambahan air. Pemanasan turut dilakukan sehingga gelatin dapat lebih cepat larut dengan suhu 80-90°C. Diwaktu yang bersamaan gula dan sukrosa dilarutkan pada wadah yang berbeda. Kedua wadah dicampurkan dan dipanaskan ketika masing-masing wadah sudah larut sempurna. Suhu pemanasan harus dijaga karena sangat mempengaruhi total padatan terlarut (TPT), yaitu 78-80% sebelum dicetak (Imeson¹, 2010). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Permata, *et al.* (2014), permen jeli yang digunakan untuk analisis sensori memiliki suhu terbaik untuk pemanasan 60°C. Dalam proses pemanasan juga dapat dilakukan pemanasan terhadap campuran sukrosa, sirup glukosa dan air hingga mencapai 90°C. Hal ini dimaksudkan untuk mempermudah pelarutan bahan dan pencampuran dengan bahan lain serta untuk menurunkan kadar air. Selama proses

pemanasan harus dilakukan pengadukan agar tidak terbentuk gelembung udara yang dapat mempengaruhi tekstur permen jeli (Mitchell, 2004).

Setelah pemasakan, asam, flavor, dan pewarna dapat ditambahkan. Lalu campuran dicetak dalam keadaan kering dan sejuk dalam *moulding starch* atau dalam cetakan/nampan. Kemudian nampan disimpan di suhu ruang (20-23°C) selama 24 jam sebelum dipotong. Pendinginan permen jeli pada suhu ruang bertujuan untuk menghilangkan gelembung udara pada permen, sedangkan pendinginan pada suhu 5°C dilakukan untuk memudahkan pengeluaran permen jeli dari cetakan. Setelah 24 jam maka permen jeli dapat dipotong dan diberikan bahan tambahan seperti minyak, gula halus, atau pati. Bahan pelapis turut digunakan untuk melapisi permen jeli umumnya adalah gula halus dan tepung tapioka dengan rasio 1:1, agar tidak lengket satu sama lainnya (Imeson¹, 2010).

2.4 Metode Ekstraksi Maserasi

Salah satu metode dalam memperoleh kandungan lemak adalah dengan menggunakan metode ekstraksi dengan pelarut seperti sokhlet, Goldfish, Mojonnier. Selain itu dapat juga dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi basah, yaitu Babcock dan Gerber (Nielsen, 2010).

Pada beberapa penelitian dilakukan ekstraksi lemak dengan menggunakan teknik maserasi. Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang didasarkan pada pelarut. Pada proses ekstraksi dengan menggunakan beberapa pelarut (seperti air, alkohol, minyak dan sebagainya). Waktu perendaman yang dibutuhkan lebih lama, bisa dalam beberapa jam hingga beberapa hari (Drew, 2005; Mandal, *et al.*, 2015).

2.5 Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Gas Chromatography (GC) adalah sebuah teknik kromatografi kolom dengan fase gerak berupa gas dan fase diam berupa cairan yang tidak bercampur dengan padatan yang dikemas dalam sebuah tabung tertutup. Umumnya GC digunakan dengan menguapkan sampel dan menginjeksikan sampel ke dalam kolom. Pada suhu yang telah diatur sebelumnya, sampel kemudian akan diteruskan ke dalam kolom dengan bantuan fase gerak dalam bentuk gas yang bersifat *inert*. Komponen akan terpisah berdasarkan beberapa karakteristik, yaitu titik didih, ukuran molekul dan polaritas (Nielsen, 2010).

Mass spectrometry (MS) adalah salah satu teknik spektroskopi yang menggunakan prinsip penyerapan radiasi oleh molekul yang lalu menghasilkan spektrum selama proses absorpsi atau selama molekul kembali ke *ground state* dari *excited state*. MS bekerja dengan cara memberikan muatan pada molekul dan mengubahnya menjadi ion. Proses ini disebut dengan ionisasi. Setelah ionisasi terjadi, ion yang terbentuk akan terbagi sesuai dengan rasio massa terhadap muatan (*mass to charge ratio*) (m/z) dengan cara memasukkan ion tersebut ke dalam medan magnet (*mass analyzer*) sehingga terdeteksi. Biasanya MS dikombinasikan dengan GC untuk mengkonfirmasi identitas komponen yang terelusi dari kolom GC (Nielsen, 2010).

2.6 Uji Toksisitas

Tumbuhan dapat bersifat toksik karena memiliki komponen yang bersifat toksik atau sebagai akibat kontaminasi. Beberapa metode untuk menganalisis

toksisitas dari tumbuhan seperti uji *in vivo* pada hewan laboratorium. Salah satu uji *in vivo* yang umum dilakukan adalah uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan menggunakan larva udang dari spesies *Aremia salina*, *Artemia franciscana*, *Artemia urmiana*, dan *Thamnocephalus platyurus*. Nilai toksisitas adalah konsentrasi letal yang dapat menyebabkan kematian 50% populasi udang dalam periode waktu tertentu dapat dinyatakan sebagai LC_{50} (Hamidi, *et al.*, 2014).

