

PAIR/P.454/1990

PENENTUAN TIAMIN DAN RIBOFLAVIN JAMUR
MERANG IRADIASI SECARA HPLC DAN
SPEKTROFLUOROMETRI

Aryanti dan R. Sofyan

KP.203

PENENTUAN TIAMIN DAN RIBOFLAVIN JAMUR MERANG IRADIASI SECARA HPLC DAN SPEKTROFLUOROMETRI

Aryanti* dan R. Sofyan**

ABSTRAK

PENENTUAN TIAMIN DAN RIBOFLAVIN JAMUR MERANG IRADIASI SECARA HPLC DAN SPEKTROFLUOROMETRI. Penelitian ini bertujuan membandingkan metode HPLC dengan Spektrofluorometri, untuk mempelajari perubahan kadar tiamin dan riboflavin jamur merang akibat iradiasi gamma. Jamur merang yang diiradiasi dengan dosis 0, 1, 2, 3, 4 dan 5 kGy pada laju dosis 5 kGy/jam, dipotong-potong kecil dan dihidrolisis dengan HCL 0,1 N. Kemudian ditambah enzim takadiastase dan papain, sebelum dilakukan penentuan baik secara HPLC maupun Spektrofluorometri, tiamin dan riboflavin dioksidasi menjadi tiokrom dan lumiflavin masing-masing dengan K.ferisianida dan lampu UV. Dari hasil penelitian terlihat bahwa penurunan kadar tiamin dan riboflavin jamur merang mulai terdeteksi secara nyata pada jamur merang yang masing-masing diiradiasi dengan dosis 2 dan 3 kGy. Tiamin dan riboflavin jamur merang dapat ditentukan dengan kedua metode tersebut. Dibandingkan dengan metode Spektrofluorometri, metode HPLC memberikan hasil deteksi yang lebih teliti dan limit deteksi yang lebih kecil.

ABSTRACT

THE DETERMINATION OF THIAMINE AND RIBOFLAVIN IN IRRADIATED STRAW MUSHROOM BY HPLC AND SPECTROFLUOROMETRY. The purpose of this study is compare HPLC method with Spectrofluorometric method for the determination of thiamine and riboflavin changes in straw mushroom due to gamma irradiation. Straw mushroom was irradiated with the doses of 0, 1, 2, 3, 4 and 5 kGy at a dose rate of 5 kGy per hour, sliced into small pieces and hydrolized by 0,1 N HCL and addition of takadiastase and papain enzymes. Prior to the HPLC and Spectrofluorometry determination,

* Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN

** Pusat Pengkajian Teknologi Nuklir, BATAN

thiamine and riboflavin were oxidized to thiochrome and lumiflavin by 10% potassium ferricyanide and UV irradiation respectively. It was found that the significant decrease in thiamine and riboflavin appeared after irradiation by the doses of 2 and 3 kGy respectively. Compared to the Spectrofluorometric methods, HPLC is more accurate and the lowest detection limit was smaller.

PENDAHULUAN

Jamur merang, selain merupakan bahan makanan yang mempunyai nilai gizi tinggi dan cita rasa yang enak, juga mengandung tiamin (vitamin B₁) dan riboflavin (vitamin B₂) yang diperlukan tubuh. Vitamin B₁ dan B₂ terdapat dalam jamur merang dengan kadar yang cukup tinggi (1). Jamur merang merupakan salah satu komoditi yang cukup penting, tetapi sangat cepat mengalami kemunduran mutu. Dari hasil penelitian sebelumnya (2) dan penelitian MAHA (3), menunjukkan bahwa pengawetan dengan iradiasi dapat menghambat pencoklatan dan memperpanjang kesegaran jamur merang tanpa menyebabkan penurunan kadar vitamin C yang berarti (4).

Penentuan tiamin dan riboflavin dalam sayuran dan buah-buahan lazimnya ditentukan secara Spektrofluorometri. Metode HPLC yang mempunyai keunggulan dalam memisahkan dan menentukan senyawa yang mempunyai struktur molekul dan sifat kimia yang hampir sama, juga banyak digunakan ; antara lain untuk penentuan tiamin dan riboflavin dari berbagai sediaan farmasi, yang pada umumnya terdapat pada tingkat kemurnian dan konsentrasi yang cukup tinggi. Kecilnya kadar vitamin dan banyaknya senyawa lain yang terdapat pada bahan makanan, menyebabkan kesulitan pada penentuan langsung ekstrak kasar. Penentuan tiamin dan riboflavin dengan metode HPLC pada daging dan hasil olahannya telah dicoba oleh

ANG dan MOSELEY (5), yang memberikan hasil pengukuran cukup teliti dan kedapat ulangannya cukup tinggi. Tiamin dan riboflavin pada bahan makanan diekstrak dengan metode pemecahan oleh enzim dalam suasana asam. Selanjutnya dioksidasi masing-masing menjadi tiokrom dan lumiflavin kemudian ditentukan secara Shimadzu RF-520 dan Spektrofluorometri Shimadzu RF-520 pada panjang gelombang emisi 428 mm untuk tiamin dan 518 mm untuk riboflavin.

Tiamin dan riboflavin jamur merang diharapkan dapat ditentukan secara baik dengan kedua metode tersebut, sehingga adanya perubahan yang kecil akibat iradiasi dapat terdeteksi. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan metode HPLC dan Spektrofluorometri dalam mempelajari perubahan kadar tiamin dan riboflavin jamur merang akibat iradiasi gamma.

BAHAN DAN METODE

Semua bahan kimia yang digunakan berkualitas p.a, diperoleh dari BDH Chemicals Ltd, Inggris.

Jamur merang yang diteliti diperoleh dari pasar Mayestik Jakarta dengan ukuran rata-rata sekitar 16 buah per 100 gram, diambil yang segar dan belum mekar. Jamur merang dimasukkan ke dalam kantong plastik, setiap kantong berisi 4 - 5 jamur merang kemudian diiradiasi dengan dosis 0, 1, 2, 3, 4 dan 5 kGy.

Iradiasi. Jamur merang dalam kantong plastik diiradiasi dalam Iradiator Panorama Serba Guna (IRPASEMA) pada laju dosis 5 kGy/jam.

Penentuan Tiamin dan Riboflavin Jamur Merang dengan HPLC dan Spektrofluorometri. Jamur merang yang telah diiradiasi diambil sebanyak 5 gram kemudian diblender dengan HCL 0,1 N dan dihidrolisis selama 30 menit, lalu pH diatur sampai 4,5 dengan penambahan Na-asetat, kemudian ditambahi enzim tekadiastase dan papain. Larutan diinkubasi selama 3 jam selanjutnya ditambahi TCA 50% dan disaring. Filtrat yang diperoleh diambil sebanyak 10 ml, ditambahi larutan K. ferisianida 10% dan isobutanol, kemudian ditentukan kadar tiamin dan riboflavin jamur merang dengan HPLC Shimadzu RF-520 dengan kolom ODS, detektor fluoresen pada panjang gelombang eksitasi 370 nm dan emisi 428 nm, larutan yang sama ditentukan juga dengan Spektrofluorometri Shimadzu RF-520. Untuk penentuan riboflavin filtrat jamur merang diambil sebanyak 10 ml lalu pH-nya dijadikan 10,5 selanjutnya disinari dengan lampu UV selama 20 menit dan ditambahi larutan kloroform, lumiflavin yang terbentuk diukur konsentrasinya dengan HPLC dan Spektrofluorometri pada panjang gelombang eksitasi 468 nm dan emisi 518 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari tiga ulangan percobaan yang masing-masing dikerjakan secara duplo, menunjukkan bahwa iradiasi dapat menyebabkan perubahan pada kadar tiamin dan riboflavin jamur merang. Baik pada penentuan secara HPLC maupun Spektrofluorometri terlihat bahwa penurunan kadar tiamin dan riboflavin mulai terdeteksi secara nyata pada jamur merang yang masing-masing diiradiasi dengan dosis 2 dan 3 kGy, seperti terlihat pada Tabel 1 dan 2. Penentuan dengan cara yang sama telah dilakukan oleh

WILLS dkk (6), dilaporkan bahwa metode HPLC memberikan hasil pengukuran yang lebih tinggi dari Spektrofluorometri, sedang pengaruh iradiasi terhadap vitamin pada makanan telah dilaporkan oleh JOSEPHSON dan PETERSON (7) bahwa tiamin dan riboflavin terurai dengan iradiasi dosis di bawah 10 kGy. Interaksi antara iradiasi dengan makanan dipengaruhi oleh adanya air yang terkandung dalam makanan tersebut, sehingga akan terjadi suatu radiolisis. Radiolisis pada riboflavin terdiri dari tiga tahap yakni ; pindahnya gugus robitol, terbentuknya radikal iso-alloxazin dan terurainya radikal tersebut (8). Menurut DELINCEE terbentuknya radikal akibat iradiasi pada makanan bukanlah hal yang perlu ditakuti, karena jauh sebelum proses iradiasi ini dikenal orang, radikal-radikal juga terbentuk pada makanan yang dipanasi, fotolisis maupun selama penyimpanan yakni terjadinya interaksi makanan dengan oksigen dan peroksida.

Tabel 1. Perubahan kadar Tiamin Jamur Merang akibat iradiasi gamma dengan dosis 1, 2, 3, 4 dan 5 kGy ditentukan secara HPLC dan Spektrofluorometri (ppm)

Dosis iradiasi (kGy)		HPLC	Spektrofluorometri
	0	1,667	1,493
	1	1,670	1,483
	2	1,510	1,413
	3	1,500	1,400
	4	1,447	1,320
	5	1,003	1,003
BNT	5%	0,113	0,079
	1%	0,156	0,111

Tabel 2. Perubahan kadar Riboflavin Jamur Merang akibat iradiasi gamma dengan dosis 1, 2, 3, 4 dan 5 kGy ditentukan dengan HPLC dan Spektrofluorometri (ppm)

Dosis iradiasi (kGy)		HPLC	Spektrofluorometri
	0	0,930	0,816
	1	0,920	0,800
	2	0,933	0,813
	3	0,746	0,743
	4	0,727	0,720
	5	0,720	0,736
BNT	5%	0,078	0,045
	1%	0,110	0,063

Pada Tabel 1 dan 2 terlihat bahwa kadar tiamin jamur merang mengalami penurunan yang nyata pada dosis 2 kGy yakni sebesar 9,4% dan 5,4% sedang kadar riboflavin terjadi perubahan yang nyata pada dosis iradiasi 3 kGy sebesar 9,8% dan 8,9% pada pengukuran dengan HPLC dan Spektrofluorometri. Mengingat tiamin dan riboflavin merupakan komponen bahan makanan essensial yang harus dipertahankan baik pada proses pengawetan maupun pada pengolahan bahan makanan, maka pada pengawetan jamur merang dengan iradiasi, sebaiknya menggunakan dosis iradiasi di bawah 3 kGy.

Pada metode HPLC, baik untuk tiamin maupun riboflavin memberikan harga pengukuran yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode Spektrofluorometri, sehingga pada metode HPLC perubahan konsentrasi yang lebih kecil lebih mudah terdeteksi. Limit deteksi terendah untuk tiamin dan riboflavin pada metode HPLC masing-masing adalah 0,06 ng dan 0,04 ng; sedang pada metode Spektrofluorometri adalah 0,7 ng dan 0,5 ng.

Dilain pihak ditinjau dari cara preparasi sampel untuk pengukuran dengan HPLC sama untuk Spektrofluorometri, tetapi pengukuran dengan HPLC lebih cepat. Jadi metode HPLC lebih menguntungkan dibandingkan dengan metode Spektrofluorometri.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut ;

1. Kadar tiamin dan riboflavin jamur merang dapat ditentukan, baik dengan metode HPLC maupun Spektrofluorometri.
2. Penentuan dengan metode HPLC lebih teliti dan lebih cepat dibandingkan dengan metode Spektrofluorometri, sehingga perubahan yang kecil akibat iradiasi dosis rendah dapat dideteksi secara baik dengan HPLC.
3. Berdasarkan penurunan kadar tiamin dan riboflavin akibat iradiasi, dapat disarankan bahwa pada pengawetan jamur merang dengan iradiasi sebaiknya menggunakan dosis di bawah 3 kGy.

DAFTAR PUSTAKA

1. KAROSINE, S., and STANKE, V.D., Vitamin content of mushroom in food, *Feed Chem.* 101 (1984) 497.
2. SOFYAN, R., Studi tentang polifenoloksidase jamur merang (*Volvariella volvacea*) dan perubahan aktivitasnya akibat iradiasi gamma, *Risalah Seminar Nasional Prose Radiasi*, BATAN Jakarta (1986).

3. MAHA, M., dan DEWI, Penggunaan iradiasi untuk memperpanjang daya simpan jamur merang (Volvariella volvacea) segar, Risalah Seminar Pertemuan Ilmiah Proses Radiasi Dalam Industri, Sterilisasi dan Hidrologi, Jakarta (1988).
4. ARYANTI, Perubahan kadar vitamin C jamur merang (V. volvacea) akibat iradiasi gamma, Risalah Pertemuan Ilmiah Proses Radiasi Dalam Industri, Sterilisasi dan Hidrologi, Jakarta (1988).
5. MOSELEY, F.A., and ANG, C.Y.W., Determination of thiamine and riboflavin in meat product by HPLC, J. Agric. and Food Chem. 28 (1980) 483.
6. WILLS, R.B.H., WIMALASIRI, P., and GREENFIELD, H., Comparative determination of thiamine and riboflavin in foods by High Performance Liquid Chromatography and Fluorometric methods, J. of Micro. Analysis 1 (1985) 23.
7. JOSEPHSON, E.S., and PETERSON, M.S., Preservation of food by ionizing radiation, CRC Press, Boca Raton Vol. III (1983).
8. ELIAS, P.S., and COHEN, A.J., Radiation chemistry of major food component, Elsevier, Amsterdam (1977).
9. DELINCEE, H., Radiolytic effects in food-implications for wholesomeness and analytical identification of irradiated foods, The 19th Japan Conference on Radiation and Radioisotopes, Tokyo, Japan (1989).