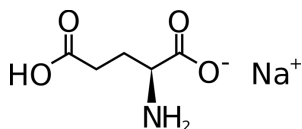


BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Metode penentuan MSG

Monosodium glutamat (MSG) adalah garam sodium asam L-glutamat yang digunakan sebagai bahan penyedap makanan untuk merangsang selera. MSG adalah hasil dari pemurnian glutamat atau gabungan dari beberapa asam amino dengan sejumlah kecil peptida yang dihasilkan dari proses hidrolisa protein. Asam glutamat digolongkan pada asam amino non essensial karena tubuh manusia sendiri dapat menghasilkan asam glutamat. Asam Glutamat merupakan unsur pokok dari protein yang terdapat pada bermacam-macam sayuran, daging, ikan dan air susu ibu. Dosis maksimal MSG yang dapat dikonsumsi perhari oleh manusia sebesar 60 mg/kg berat badan [1]. MSG memiliki rumus kimia $C_5H_8NO_4Na$ dengan massa molekul $169,1 \text{ g mol}^{-1}$. MSG mempunyai struktur seperti gambar 2.1 [9] dan kesetimbangan dalam larutan seperti Tabel 2.1 [10].



Gambar 2.1 Struktur molekul Monosodium Glutamat

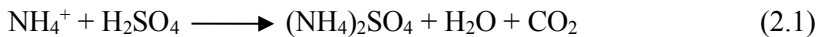
Berdasarkan tabel 2.1 dapat diketahui bahwa pH sangat mempengaruhi struktur MSG dalam larutannya. Pada $pH < 2,2$ MSG bermuatan positif (+1) pada gugus amina. Pada $pH > 2,2$ struktur MSG mulai berubah menjadi tidak bermuatan karena terbentuknya anion pada gugus -OH karboksil, sehingga pada $pH 3,22$ struktur MSG bermuatan nol. Peristiwa tersebut dinamakan *zwitter ion* karena jumlah kation dan anion sama dalam satu senyawa. Pada $pH > 4,25$ MSG bermuatan negatif (-1) akibat gugus karboksil pada rantai samping melepas ion H^+ dan $pH > 9,67$ mengubah stuktur MSG menjadi bermuatan negatif (-2) akibat deprotonasi gugus amina [10]. Perbedaan struktur MSG pada pH

tertentu memudahkan proses ekstraksi dan penentuan MSG.

Tabel 2.1 Keseimbangan MSG dalam larutannya [10].

No	pH	Muatan	Struktur
1.	0 - 2,2	+ 1	$\begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{NH}_3^+ \qquad \text{O} \\ \parallel \qquad \qquad \qquad \parallel \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{C} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{OH} \qquad \qquad \qquad \qquad \text{OH} \end{array}$
2.	2,2 - 4,25	0	$\begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{NH}_3^+ \qquad \text{O} \\ \parallel \qquad \qquad \qquad \parallel \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{C} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{OH} \qquad \qquad \qquad \qquad \text{O}^- \end{array}$
3.	4,25 - 9,67	- 1	$\begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{NH}_3^+ \qquad \text{O} \\ \parallel \qquad \qquad \qquad \parallel \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{C} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{O}^- \qquad \qquad \qquad \qquad \text{O}^- \end{array}$
4.	9,67 - 14	- 2	$\begin{array}{c} \text{O} \qquad \qquad \text{NH}_2 \qquad \text{O} \\ \parallel \qquad \qquad \qquad \parallel \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{C} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{O}^- \qquad \qquad \qquad \qquad \text{O}^- \end{array}$

Metode Nessler merupakan metode baku dalam penentuan kadar amonia. Kadar MSG dapat ditentukan secara tidak langsung sebagai NH_4^+ melalui destruksi Kjeldahl dengan penambahan H_2SO_4 sebagai pendestruksi, menjadi amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Tahapan pembentukan amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) dapat dilihat pada persamaan 2.1 [11].

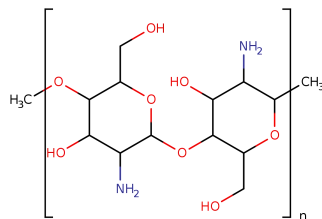


Amonium dianalisis secara spektrofotometri sinar tampak dengan metode Nessler. Prinsip dari metode Nessler adalah mereaksikan amonium dengan larutan basa kalium tetraiodomerkurat (II) seperti pada persamaan 2.2, sehingga didapatkan larutan yang berwarna kuning hingga merah bata pada panjang gelombang 425 nm [12]. Namun

metode tersebut masih membutuhkan preparasi sampel untuk memisahkan MSG dari unsur nitrogen yang lain. Untuk memisahkannya dapat menggunakan MIP (*Molecularly Imprinted Polymer*) sebagai metode preparatif terbaru dan selektif.

2.2 MIP (*Molecularly Imprinted Polymer*) selektif MSG

MIP adalah adsorben yang dikembangkan untuk memisahkan dan mengukur kandungan zat kimia, termasuk obat dan molekul bioaktif dalam matriks kompleks [5]. MIP merupakan polimer sintesis dari hasil polimerisasi monomer fungsional dan molekul cetakan dengan molekul pengikat silang [6]. Molekul yang dicetak pada polimer akan dilepaskan kembali sehingga menghasilkan polimer dengan cetakan yang secara bentuk, ukuran, dan susunan kimia mirip dengan molekul cetakan. Cetakan yang terbentuk dalam MIP dapat menjadi pemisah selektif untuk memisahkan MSG dengan sumber nitrogen yang lain [8]. Selain terbentuknya cetakan terdapat interaksi intermolekuler antara analit dan fasa padat seperti ikatan hidrogen, dipol - dipol dan ikatan ionik [13].

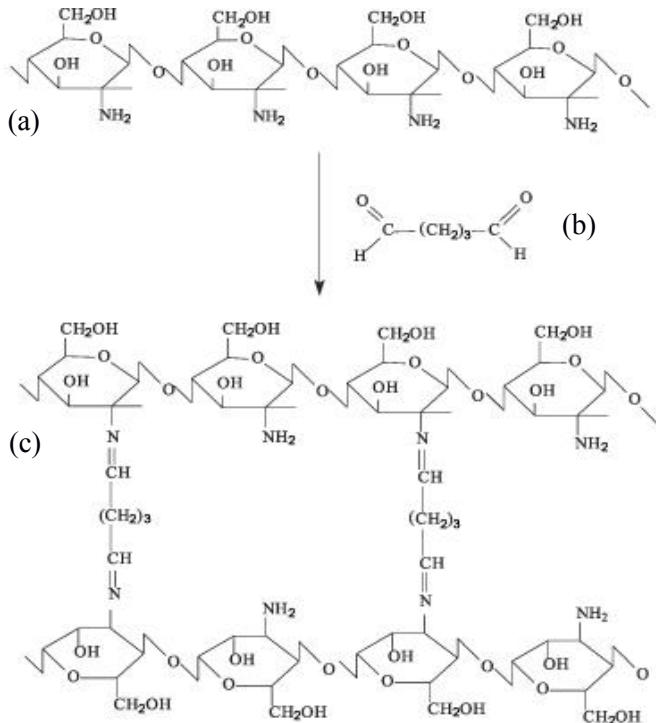


Gambar 2.2 Struktur kitosan

Salah satu bahan yang berpotensi sebagai monomer fungsional adalah kitosan karena memiliki gugus hidroksil dan amina. Kitosan bersifat *biodegradable*, tidak beracun dan keberadaannya yang melimpah [9]. Kitosan larut dalam asam asetat dan asam formiat encer dan memiliki pKa 6,5 [14]. Kitosan dapat dengan mudah berinteraksi dengan zat organik seperti protein dan memiliki struktur seperti pada gambar 2.2. Kitosan memiliki kelemahan mudah membengkak (*swelling*)

pada $\text{pH} < 6,5$ akibat protonasi pada gugus amino yang membentuk $-\text{NH}_3^+$. Namun hal tersebut dapat diatasi dengan mengikat silang kitosan dengan glutaraldehyd, genipin, glyoxal dan dextran sulfat [15]. Fungsi dari ikat silang dengan beberapa senyawa pengikat silang tersebut adalah untuk meningkatkan sifat mekanik dari kitosan [16].

Glutaraldehyd dipilih sebagai senyawa pengikat silang karena mempunyai dua gugus aldehid yang reaktif terhadap gugus amina pada kitosan sehingga apabila direaksikan, glutaraldehyd akan menghubungkan antar polimer kitosan. Glutaraldehyd memiliki rumus molekul $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ atau $\text{CH}_2(\text{CH}_2\text{CHO})_2$. Reaksi yang terbentuk antara kitosan dan glutaraldehyd seperti pada gambar 2.3 [17].



Gambar 2.3 Reaksi ikat silang antara kitosan dan glutaraldehyd (a) kitosan; (b) glutaraldehyd; (c) Hasil ikat silang antara kitosan dengan glutaraldehyd [17].

2.3 Ekstraksi MSG dengan MIP selektif MSG

Ekstraksi merupakan proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen. Ekstraksi fasa padat (EFP) adalah metode preparasi sampel yang efektif untuk berbagai sampel dengan konsentrasi yang rendah. Ekstraksi fasa padat terdiri fasa cair dan fasa padat [18]. Pada penelitian ini MIP selektif MSG digunakan sebagai fasa padat karena mempunyai cetakan selektif, sehingga ketika MSG dalam larutannya yang mempunyai bentuk sesuai dengan cetakan dilewatkan kedalam kolom akan tertahan pada fasa padat.

Prinsip ekstraksi fasa padat adalah perpindahan analit dari fasa cair ke dalam sisi aktif fasa padat yang disebut retensi. Retensi dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain ukuran analit, fasa gerak, dan fasa padat [19]. Kemampuan fasa padat dalam mengadsorpsi dan menahan analit dipengaruhi oleh laju alir, ukuran partikel dan konsentrasi sampel [20]. Untuk memperoleh kembali analit yang teradsorpsi pada fasa padat dilakukan proses pencucian kolom dengan mengalirkan fasa cair ke dalam kolom sehingga terjadi perpindahan analit dari fasa padat menuju fasa cair atau disebut dengan proses elusi [21].

Ekstraksi asam glutamat yang sudah dikembangkan antara lain kromatografi penukar ion. Prinsip kromatografi penukar ion berdasarkan pI dari masing- masing asam amino. Asam amino akan terpisah dengan pH larutan buffer yang sesuai dengan asam amino yang akan dipisah [3]. Namun metode ini kurang selektif karena asam glutamat dan asam aspartat memiliki pI berdekatan yaitu 3,25 dan 2,77 [22]. Selain kromatografi penukar ion asam glutamat dapat ekstraksi menggunakan emulsi membran cair. Prinsip ekstraksi emulsi membran cair didasarkan pada difusi asam glutamat melalui membran cair (kerosen, tri-etanol amin sebagai pengemulsi dan asam oleat sebagai molekul pembawa) ke dalam fasa eksternal (air). Pemisahan terjadi pada pH 4 (air) dan pH 7,8 (larutan asam amino). Namun metode emulsi membran cair ini belum efektif karena persen perolehan kembali (*recovery*) sebesar 66% [4]. Untuk mengatasi hal tersebut pada penelitian ini menggunakan MIP

selektif MSG sebagai aplikasi preparatif yang dikembangkan dalam sistem kolom.

Ekstraksi dalam kolom memiliki keunggulan dapat digunakan sebagai aplikasi preparatif, lebih praktis, dan memiliki kondisi proses lebih konstan. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi menggunakan kolom adalah bentuk molekul asam glutamat, pH fasa gerak dan pembuatan fasa padat (*MIP*). Bentuk molekul asam glutamat dan ketahanan *MIP* dipengaruhi oleh pH. Pada pH <6 *MIP* membengkak (*swelling*) dan pada pH >6 MSG memiliki bentuk seperti pada tabel 2.1 nomor 3, sehingga pemisahan dilakukan pada pH 6-8. Penggunaan kolom dalam EFP memiliki prinsip yang sama dengan metode kromatografi.

2.4 Kromatografi

Kromatografi dibagi menjadi tiga berdasarkan jenis fasa diam yaitu, kromatografi padat, penukar ion, dan gel. Berdasarkan fasa gerak yang digunakan pada kromatografi padat dibagi menjadi dua yaitu gas dan cair. Aplikasi untuk fasa diam berupa padatan dan fasa gerak berupa cairan, dilakukan kedalam sistem kolom. Faktor yang mempengaruhi efektifitas metode kromatografi antara lain waktu retensi (t_R), faktor kapasitas (k'), dan efisiensi kolom (H). Waktu retensi (t_R) adalah periode waktu yang dilalui mulai sampel dimasukkan ke dalam kolom hingga diperoleh sinyal maksimum sehingga membentuk puncak kromatogram. Faktor kapasitas (k') menunjukkan kekuatan retensi fasa diam terhadap analit yang tidak dipengaruhi oleh laju alir dan panjang kolom. Faktor kapasitas dapat diperoleh dengan membagi waktu retensi bersih (t'_R) dengan waktu hampa (t_0) [23, 18].

$$k' = \frac{t'_R}{t_M} = \frac{t_R - t_M}{t_M} \quad (2.3)$$

Efisiensi kolom adalah ukuran tingkat penyebaran puncak dalam kolom yang ditunjukkan berdasarkan bentuk kromatogram. Efisiensi kolom berhubungan dengan jumlah lempeng teoritis (N) dan panjang

kolom (L) yang ditunjukkan pada persamaan dan [24].

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2 \quad (2.4)$$

$$H = \frac{L}{N} \quad (2.5)$$

Pemisahan semakin baik jika nilai N semakin tinggi, untuk kromatografi cair jumlah lempeng teoritis untuk terjadinya retensi adalah 100. Kolom dengan efisiensi yang baik menghasilkan bentuk kromatogram dengan lebar puncak (w) sempit [24]. Hasil pemisahan menggunakan metode kromatografi dapat dilihat berdasarkan puncak yang terbentuk pada kromatogram. Bentuk kromatogram yang sempurna memiliki nilai faktor tailing dan asimetri sebesar 1, jika lebih besar atau kurang dari 1 maka puncak yang terbentuk tidak simetris [24].