

## Validasi Metode Analisis Kolesterol dalam Telur dengan HPLC-ELSD

### (Method Validation of Cholesterol Analysis in Egg Using HPLC-ELSD)

Hanifah Nuryani Lioe\*, Tika Setianingrum, Ririn Anggraeni

#### ABSTRAK

Metode analisis kolesterol dalam telur menggunakan instrumen kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) yang dilengkapi dengan detektor *evaporative light scattering* (ELSD) divalidasi dalam penelitian ini. Kolom silika dan campuran tunggal fase gerak yang terdiri atas 90% heksana dan 10% isopropanol dipakai untuk menentukan kolesterol dengan HPLC. Kolesterol terdeteksi pada waktu retensi 1,5 menit memakai standar kolesterol dan kondisi HPLC-ELSD: suhu evaporasi 50 °C, tekanan udara 2,2 bar, dan laju alir fase gerak 2 mL/min. Linearitas metode analisis kolesterol menggunakan matriks sampel telur dicapai pada konsentrasi 50–3000 µg/g sampel, dengan  $R^2 > 0,990$ . Limit deteksi instrumen dan limit kuantifikasi berturut-turut diperoleh pada konsentrasi larutan kolesterol 1,07 dan 3,56 µg/mL. Hasil uji rekoveri dengan metode penambahan kolesterol standar dalam matriks sampel telur pada konsentrasi rendah (50 µg/g), sedang (250 µg/g), dan tinggi (3000 µg/g) masing-masing adalah 122,13, 108,23, dan 44,71%, dengan nilai presisi masing-masing 5,26, 4,29, dan 10,11%. Limit deteksi metode diketahui pada konsentrasi 2,30 µg/g. Reprodusibilitas intralab untuk menganalisis sebuah sampel telur adalah 0,04%. Metode analisis kolesterol dalam telur ini dinyatakan valid apabila digunakan untuk analisis kolesterol pada konsentrasi rendah dan sedang dalam sampel.

Kata kunci: HPLC-ELSD, kolesterol, telur, validasi metode

#### ABSTRACT

A method using high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled with an evaporative light-scattering detector (ELSD) for the determination of cholesterol in egg was validated. A silica column and a binary mixture of hexane and isopropanol (90:10) as a mobile phase were used to separate cholesterol. Cholesterol was detected at 1.5 min using cholesterol standard and HPLC-ELSD condition: evaporation temperature 50 °C, air pressure 2.2 bars, and flow rate of mobile phase 2 mL/min. A method linearity for the cholesterol analysis in egg as a sample matrix was obtained at a range of 50 to 3000 µg/g sample, with  $R^2 > 0.990$ . Instrument detection limit and limit of quantitation were determined at 1.07 and 3.56 µg/mL, respectively. Recovery test results by spiking cholesterol standard in egg sample at low, medium, and high concentrations (50, 250 and 3000 µg/g) were 122.13, 108.23, and 44.71%, respectively. Their corresponding repeatability values were 5.26, 4.29, and 10.11%. Method detection limit and intralab reproducibility (to analyze a sample) were observed at 2.30 µg/g and 0.04%. The method is valid for cholesterol analysis in egg at low and medium concentrations.

Keywords: cholesterol analysis, egg, HPLC-ELSD, method validation

#### PENDAHULUAN

Kolesterol merupakan jenis steroid yang paling dikenal dengan 27 atom karbon. Kolesterol hanya ditemukan pada pangan yang berasal dari hewan. Berikut adalah beberapa contoh kandungan kolesterol dalam produk pangan berdasarkan hasil penelitian USDA (2011). Kandungan kolesterol dalam produk daging dan olahannya adalah 262–3010 mg/100 g, untuk produk telur dan olahannya mencapai 356–2335 mg/100 g, untuk produk ikan dan olahannya mencapai 266–766 mg/100 g, dan produk ayam dan olahannya mencapai 262–568 mg/100 g. Menurut anjuran yang dikeluarkan oleh USDA (2011), produk pangan yang mengandung lebih dari 300,00 mg/100 g sebaiknya dihindari, terutama pengaruhnya

terhadap risiko penyakit jantung koroner (FERENCE *et al.* 2012). Kolesterol pun dapat membentuk produk hasil oksidasi kolesterol dalam pangan olahan selama proses pemanasan, contohnya pada pengolahan pasta yang mengandung telur. Kecukupan asupan kolesterol yang dibutuhkan oleh tubuh dapat diperoleh dari bahan pangan yang dikonsumsi sehari-hari. Informasi mengenai kadar kolesterol dari berbagai bahan pangan yang dikonsumsi setiap harinya sangat penting untuk diketahui mengingat setiap jenis bahan pangan memiliki kandungan kolesterol yang berbeda-beda.

Kadar kolesterol di dalam bahan pangan dapat diukur dengan berbagai metode, akan tetapi tahap yang paling kritis dalam metode analisis kolesterol adalah tahap persiapan sampel. Analisis diawali dengan proses ekstraksi; proses ini dipengaruhi oleh banyak hal. Salah satu hal penting yang menentukan dalam proses ekstraksi adalah matriks bahan pangan (Min & Steenson 1998). Matriks bahan pangan adalah jaringan makanan tempat zat gizi terperangkap.

Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680.

\* Penulis korespondensi: E-mail: hanilioe@hotmail.com