

Abastrak

Pengikatan Seng oleh Asam fitat pada Berbagai Rasio Molaritas dan Kondisi pH

Iman Hernaman^a, Toto Toharmat^b, Wasmen Manalu^c dan Putut, I. Pudjiono^d

^aJurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan UNPAD

^bDepartemen Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan IPB

^cBagian Fisiologi dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB

^dBalai Pengembangan Bioproses dan Teknologi Kimia, LIPI

Fitat atau asam fitat banyak ditemukan dalam biji-bijian. Senyawa ini memiliki kemampuan mengikat ion multivalensi. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui banyaknya seng yang terikat pada asam fitat dalam berbagai rasio molaritas dan kondisi pH. Larutan asam fitat direaksikan dengan larutan $ZnCl_2$ pada perbandingan molaritas 2:1, 1:1, 1:1,5 dan 1:2 dengan pH pada rentang 4-7. Hasil menunjukkan bahwa rata-rata Zn yang terikat dengan asam fitat adalah 0,129 g atau 51,09%. Rasio asam fitat dengan Zn pada 1:2 menghasilkan pengikatan sebesar 0,209 mg dan 53,74 %. Kompleks Zn-fitat pada pH 6-7 dengan total pengikatan Zn oleh asam fitat sebesar 0,132 mg atau 52,84%. Kesimpulan, rasio asam fitat dengan $ZnCl_2$ pada perbandingan 1:2 menghasilkan pengikatan Zn yang maksimum. Kompleks Zn-fitat lebih stabil pada pH netral.

Kata kunci : asam fitat, seng dan pH

Abstract

Precipitated Zn on Phytic Acid at Various Ratio Molarities and pH Condition

Phytate or phytic acid is commonly found high in cereals. This compound can bind multivalency ions. The purpose of this study was to know precipitated Zn on phytic acid at various ratio molarities and pH condition. Phytic acid solution was mixed with $ZnCl_2$ solution at a molarities ratio of 2:1, 1:1, 1:1,5 and 1:2 in range of pH 4-7. Results indicated that mean of Zn bound to phytic acid was 0,129 g or 51,09%. Formation of Zn-phytate in the phytic acid mixed with $ZnCl_2$ solution at molarities ratio of 1:2 was 0,209 mg or 56,03 %. Zinc-phytate complex at pH 6-7 with total Zn bound the phytic acid was 0,132 mg or 52,84 %. It concluded that ratio of phytic acid to $ZnCl_2$ molarities at 1:2 was optimum to obtain the maximum precipitated Zn. Zinc-phytate complex had been more stable at neutral pH.

Keywords : phytic acid, zinc and pH

PENDAHULUAN

Biji-bijian mengandung 60-90% total fosfor (P) dalam bentuk fitat atau garam fitat. Asam fitat ($C_6H_{18}O_{24}P_6$ atau IP6) secara struktural adalah suatu cincin myo-inositol yang mengikat penuh 6 fosfat di sekeliling cincin. Asam fitat memiliki bobot

molekul yang tinggi dan merupakan senyawa yang tidak larut (Oatway *et al.* 2001). Pada tanaman senyawa ini memiliki fungsi fisiologi sebagai penyimpanan P, sumber energi, glukoronat, dan kation yang dibutuhkan dalam perkembangan biji (Graf *et al.* 1987; Williams 1999).

Molekul asam fitat mengandung 12 proton dengan sisi terdisosiasi. Enam sisi merupakan asam kuat dengan nilai pKa kira-kira 1,5, tiga sisi dengan nilai pKa 5,7, 6,8, 7,6, dan sisanya tiga sisi adalah asam sangat lemah dengan nilai pKa >10 (Costello *et al.* 1976). Struktur molekul tersebut secara konsisten memiliki kapasitas sebagai *chelating agent* dengan kation multivalensi. Karena sifatnya sebagai *chelating agent* terutama terhadap ion-ion bervalensi dua (Georgievskii *et al.* 1982), kehadiran asam fitat pada pakan menyebabkan ketersediaan biologis mineral-mineral tersebut pada ternak non-ruminansia sangat rendah. Telah terbukti bahwa asam fitat dalam ransum nyata dapat menurunkan rata-rata akumulasi dan retensi Ca, Fe, Cu, Mn, dan Zn (Graf dan Eaton 1993). Asam fitat mudah bereaksi dengan protein membentuk kompleks fitat-protein yang dapat menurunkan kelarutan protein. Laju hidrolisis protein oleh enzim-enzim proteolisis menurun akibat protein terikat oleh fitat. Asam fitat juga mengikat karbohidrat sehingga memberikan efek merugikan bagi ternak (Oatway *et al.* 2001).

Mikroflora dalam rumen ternak ruminansia menghasilkan fitase dalam jumlah besar. Keberadaan asam fitat bagi ternak ruminansia tidak menjadi masalah karena dapat menghidrolisis senyawa tersebut (Park *et al.* 1999). Bagi ternak ruminansia, asam fitat menyediakan *myo-inositol* dan fosfat anorganik pada sapi perah yang diberi ransum dengan konsentrat tinggi (Marounek *et al.* 2000). Namun, pakan yang berasal dari biji-bijian dengan ukuran yang lebih halus, kemungkinan asam fitat yang dikandung dalam pakan tersebut akan cepat lolos menuju pascarumen. Seperti halnya pada hewan monogastrik, bila senyawa ini lolos dari rumen akan berikatan dengan mineral-mineral esensial dan merugikan ternak ruminansia tersebut. Pakan dengan ukuran kecil menyebabkan laju aliran pakan meningkat dan mikroba rumen memiliki sedikit waktu untuk memfermentasinya (Kerley *et al.* 1985).

Tujuan penelitian ini adalah untuk memberikan informasi dasar mengenai pengikatan Zn pada asam fitat dalam berbagai rasio molaritas dan kondisi pH yang berbeda-beda seperti pada saluran pencernaan.

MATERI DAN METODE

Asam fitat murni (BM=660,08) (Tokyo Kasei Kogyo Co. LTD.) direaksikan dengan ZnCl₂ (PA) pada perbandingan 2:1, 1:1, 1:1.5 dan 1:2 dalam tabung reaksi. Potensial hidrogennya diatur pada pH 4-5, 5-6, dan 6-7 dengan titrasi NaOH, kemudian divorteks dan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, lalu kandungan Zn supernatan diukur dengan menggunakan AAS. Sampel terlebih dahulu dilakukan preparasi dengan metode *wet ashing* (Restz, *et al.* 1960). Sampel ditimbang dalam Erlenmeyer 100 ml, kemudian ditambahkan HNO₃ pekat 5 mL dan dibiarkan selama ± 1 jam sampai menjadi bening. Berikutnya sampel dipanaskan selama ± 4 jam di atas *hot plate*. Setelah ± 4 jam lalu sampel didinginkan dan ditambahkan 0,4 mL H₂SO₄ pekat, kemudian dipanaskan kembali selama ± 30 menit.

Pada saat perubahan warna, sampel diteteskan 2-3 tetes larutan campuran $\text{HClO}_4 + \text{HNO}_3$ (2:1) dan setelah itu dipanaskan lagi selama ± 15 menit. Terakhir, sampel ditambahkan 2 mL aquades dan secara bersamaan ditambahkan 0,6 mL HCl pekat, setelah itu dipanaskan selama ± 15 menit sampai larut. Sampel dibiarkan menjadi dingin dalam suhu kamar, lalu dilarutkan dengan aquades sampai 100 mL dalam labu takar. Sampel hasil *wet ashing* ditambahkan 0,05 mL larutan $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, lalu disentrifuse dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit, kemudian diukur absorbansinya dengan *atomic absorption spectroscopy* pada panjang gelombang Zn. Kadar Zn yang mengendap (Zn-fitat) diperoleh dari pengurangan Zn total yang direaksikan dikurangi dengan kadar Zn supernatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan bahwa Zn terendapkan dalam rentang pH 4-7 dengan rata-rata sebesar 0,129 mg atau 51,09%. Endapan Zn yang paling tinggi diperoleh pada rasio 1:2 pada kisaran pH 6-7 sebesar 0,218 mg dengan persentase yang diendapkan sebesar 56,03%. Semakin tinggi molaritas Zn yang digunakan akan semakin banyak Zn yang diendapkan dan endapan Zn tertinggi dicapai pada rasio molaritas Zn dengan asam fitat 2:1 yang mencapai rata-rata 0,209 mg. Sedangkan pada kondisi pH yang berbeda, jumlah dan persentase Zn yang mengendap paling tinggi diperoleh pada pH 6-7, yaitu sebesar 0,132 mg atau 52,84%.

Tabel 1. Jumlah dan Persentase Zn yang Mengendap pada Berbagai Rasio Molar dengan Asam Fitat Murni dalam Suasana pH yang Berbeda

Suasana Keasaman (pH)	Perbandingan Molar (As. Fitat: Zn)								Rataan	
	2:1		1:1		1:1,5		1:2		End (mg)	End (%)
	End (mg)	End (%)	End (mg)	End (%)	End (mg)	End (%)	End (mg)	End (%)		
4-5	0,044	44,07	0,096	49,17	0,160	54,70	0,207	53,44	0,127	50,34
5-6	0,043	42,99	0,097	49,40	0,164	55,87	0,201	51,74	0,126	50,00
6-7	0,050	49,58	0,100	50,61	0,162	55,14	0,218	56,03	0,132	52,84
Rataan	0,046	45,55	0,098	49,72	0,162	55,23	0,209	53,74	0,129	51,06

Keterangan : End = Endapan Zn

Banyaknya Zn yang mengendap pada rentang pH 4-7 yang mencapai rata-rata 51,06% menunjukkan bahwa asam fitat sangat kuat mengikat Zn. Asam fitat memiliki enam sisi terdisosiasi yang merupakan asam kuat dengan nilai pKa 1,5. Struktur molekul tersebut secara konsisten memiliki kapasitas sebagai agen pengkhelet. Kuatnya aktivitas asam fitat dalam mengkhelet kation menyebabkan Zn sangat mudah diikat dan diendapkan dalam suasana pH yang berbeda-beda. Endapan tersebut membentuk selaput putih pada saat reaksi terjadi yang kemudian mengalami pengendapan. Turk (1999) menyatakan bahwa asam fitat sangat kuat membentuk kompleks terutama dengan kation bervalensi dua pada rentang pH yang lebar.

Lebih banyak ion Zn yang direaksikan akan memberikan kesempatan lebih luas dari mineral tersebut untuk terikat dengan asam fitat. Hal ini terlihat dengan semakin tinggi molaritas Zn yang direaksikan akan semakin tinggi Zn yang mengendap/terikat. Sementara itu, pH 6-7 menghasilkan jumlah dan persentase Zn yang mengendap lebih tinggi diduga karena pada suasana pH tersebut ikatan Zn-fitat akan lebih stabil. Indikasi tersebut ditunjukkan dengan semakin tingginya Zn yang terendapkan seiring dengan meningkatnya nilai pH. Davidek *et al.* (1999) melaporkan bahwa kompleks Zn-fitat akan stabil pada pH netral ($\text{pH} > 6$).

Data di atas juga menunjukkan bahwa perbandingan molaritas antara asam fitat dan Zn menentukan jumlah Zn yang dapat diikat oleh asam fitat. Meskipun jumlah Zn yang diikat lebih tinggi pada rasio Zn yang lebih besar, sisa Zn yang tidak terikat juga tinggi dan menyebabkan lebih banyak Zn yang tersedia bagi ternak. Pada hewan ruminansia muda yang belum berkembang rumennya atau ruminansia dewasa yang diberi ransum dengan konsentrat dari biji-bijian berukuran halus dalam jumlah besar, perbandingan molar asam fitat dan Zn diduga sangat besar pengaruhnya pada jumlah Zn yang diserap tubuh. Hal ini berarti bahwa untuk mencapai kebutuhan Zn yang diinginkan bagi hewan ruminansia dengan kriteria seperti di atas, perbandingan molaritas asam fitat yang dikandung dengan Zn dalam ransum kemungkinan harus diperhitungkan. Seperti halnya hewan monogastrik, tikus dan babi, mengalami defisiensi suboptimal bila rasio molar asam fitat:Zn $> 10-15$ (Pallauf dan Rimbach 1999). Sumiati (2006) menyimpulkan bahwa rasio asam fitat:Zn 10 merupakan rasio yang paling tepat dalam meningkatkan status mineral Zn. Obedeas dan Harland (1999) menyatakan bahwa makanan manusia yang mempunyai rasio molar asam fitat:Zn > 10 akan memicu defisiensi Zn. *World Health Organization* (WHO) menetapkan kriteria untuk mengelompokkan makanan yang berkaitan dengan ketersediaan Zn yang dikandungnya, makanan manusia yang mempunyai rasio molar asam fitat:Zn > 15 tergolong pada ketersediaan Zn rendah.

Saluran pencernaan pascarumen memiliki suasana pH berbeda-beda, pH di abomasum adalah ± 2 (Church 1984) dan menuju usus halus nilai pH semakin meningkat mencapai 7,6-8 (Arora 1995). Di dalam abomasum, bila asam fitat pakan lolos dari degradasi mikroba rumen kemungkinan akan larut dan terbebaskan dari partikel pakan. Ketika masuk ke usus halus dengan pH yang semakin meningkat, diduga asam fitat bebas akan berinteraksi dengan beberapa mineral terutama yang bervalensi 2. Dugaan ini dikaitkan dengan data yang menunjukkan Zn terikat dengan asam fitat pada rentang pH 4-7 dan ikatan tersebut semakin kuat dengan meningkatnya nilai pH.

KESIMPULAN

Rasio asam fitat dengan Zn pada 1:2 menghasilkan pengikatan Zn yang paling tinggi. Kompleks Zn-fitat lebih stabil pada pH netral.

DAFTAR PUSTAKA

Arora S.P. 1995. *Pencernaan Mikroba pada Ternak Ruminansia*. Cetakan ke-2. Gadjah Mada University Press.

- Church D.C. 1984. *Digestive Physiology, and Nutrition*. Second ed. Vol. 1. Digestive Physiology. O and B Books, Corvallis, OR.
- Costello A.J.R., T. Glonek, and T.C. Meyers. 1976. ^{31}P -nuclear magnetic resonance-pH titration of myo-inositol hexaphosphate. *Carbohydrate Research* 46:159-171.
- Davidek J, J. Velisek, and Pokorny. 1999. *Chemical Changes During Food Processing*. Elsevier Science Publisher. Amsterdam, The Netherlands.
- Georgievskii VI, B.N. Amenkov, and V.T. Samokhin. 1982. *Mineral Nutrition of Animal*. Butterwoths, London.
- Graf E, K.L. Empson, and J.W. Eaton. 1987. Phytic Acid; A natural Antioxidant. *The Journal of Biological Chemistry* 267 (24):11647-11650.
- Graf E, and J.W. Eaton. 1993. Suppression of colonic cancer by dietary phytic acid. *Nutr. Cancer* pp. 9
- Kerley MS, J.L. Firkins, G.C. Fahey, and L.L. Berger. 1985. Roughage content and particle size: their effects on size reduction and fiber composition of particle passing through the gastrointestinal tract of sheep fed corn-cob-concentrate diets. *J. Dairy Sci.* 68 :1363-1375.
- Marounek M, D. Duskova, V. Skrivanoka, and O.G. Savka. 2000. Isotachophoretic determination of phytate phosphorus in feces of cattle, pigs and hens. *Reprod. Ntr. Dev.* 40:223.
- Oatway L, T. Vasanthan, and J.H. Helm. 2001. Phytic Acid. *In Food Reviews International*. Vol. 17 (4). P 419-431.
- Oberleas D, and B.F. Harland. 1999. Impact of phytic acid on nutrient availability. Di dalam: Coelho MB, Kornegay ET, editor. *Phytase in Animal Nutrition and waste Management*. A BASF Reference Manual. Ed ke-2. BASF Corporation. Hlm 77-84.
- Pallauf J, and G. Rimbach. 1999. Effect of supplemental phytase on mineral and trace element bioavailability and heavy metal accumulation in pigs with different type of diets. Di dalam : Coelho MB, Kornegay ET, editor. *Phytase in Animal Nutrition and waste Management* A BASF Reference Manual. Ed ke-2. BASF Corporation. Hlm. 481-495.
- Park W.Y., T. Matsui, C. Konishi, S.W Kim, F. Yano, and H. Yano. 1999. Formaldehyde treatment suppresses ruminal degradation of phytate in soyabean meal and rapeseed meal. *Br. J. Nutr.* 81(6): 467-71.
- Restz, L.L., W.H. Smith, and M.P Plumlee. 1960. A simple wet oxidation procedure for biological material. Animal Science Department, Purdue University, West La Fayette. *Animal Chemistry* Vol 32:1728.
- Sumiati. 2005. Rasio Molar Asam Fitat : Zn Untuk Menentukan Suplementasi Zn dan Enzym Phytase Dalam Ransum Berkadar Asam Fitat Tinggi [disertasi]. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

- Turk, M. 1999. Cerealand Microbial Phytase. Phytase Degradation, Mineral Binding and Absorption. Doctoral Thesis. Department of Food Science, Chalmers University of Technology. Chalmers reproservice, Gttenborg, Sweden.
- Williams, S.G. 1999. Background. In: Maria Turk (Ed.): *Cereal-and microbial phytases. phytate degradation, mineral binding and absorption*. Doctoral Thesis. Department of Food Science, Chalmers University of Technology. Chalmers Reproservice, Gotenborg, Sweden.