

SEBUAH REVIEW: ANALISIS PROFIL METABOLIT MENGUNAKAN GC-MS PADA SAMPEL SEREAL DAN MAKANAN KACANG-KACANGAN YANG DIFERMENTASI

Taufikurrahman^{1*}, Rizki Rahmadi Pratama²

¹Program Magister Ilmu Farmasi, Universitas Airlangga Surabaya, Indonesia

²Faculty of Pharmacy, Islamic University of Kalimantan Muhammad Arsyad Al Banjari
Banjarmasin, South Kalimantan, Indonesia

* Penulis koresponden: taufikurrahman-2022@f.unair.ac.id. (081703716763)

Keywords	Abstract
Food Fermentation , GC-MS, Metabolite profiles	Foodmics is one of the technological developments in food processing. Analysis of metabolite profiles in fermented cereal and legume food samples can be analyzed using GC-MS. Analytical aspects of current GC-MS technology to note include high resolution (in GC and MS technology), advances and improvements in the ionization process, reproducible fragmentation patterns (which is an advantage for compound identification) as well as fewer matrix effects. The time of fermentation is one of the main factors in the occurrence of differences in compounds analyzed using GC-MS, the use of computerized analysis such as principal component analysis (PCA) is very helpful when the study has a very large number of variables.

Kata Kunci	Abstrak
Makanan fermentasi, GC- MS, Profil metabolite	Foodmics merupakan salah satu pengembangan teknologi dalam pengolahan makanan. Analisis profil metabolit dalam sampel sereal dan makanan kacang-kacangan yang difermentasi dapat dianalisis dengan menggunakan GC-MS. Aspek analitik dari teknologi GC-MS saat ini yang perlu diperhatikan termasuk resolusi tinggi (dalam teknologi GC dan MS), kemajuan dan peningkatan dalam proses ionisasi, pola fragmentasi yang dapat direproduksi (yang merupakan keuntungan untuk identifikasi senyawa) serta efek matriks yang lebih sedikit. Waktu dari fermentasi merupakan salah faktor utama dalam terjadinya perbedaan senyawa yang dianalisis menggunakan GC-MS, penggunaan analisis secara komputerisasi seperti principal component analysis (PCA) sangat membantu ketika penelitian memiliki jumlah variabel yang sangat besar.

©JIFA: JURNAL ILMIAH FARMASI ATTAMRU
D 3 Farmasi Universitas Islam Madura

PENDAHULUAN

Dalam bidang ilmu hayati, salah satu kemajuan teknologi yang menonjol adalah kromatografi ditambah atau ditandemkan dengan spektrometri massa. Selama beberapa

dekade terakhir, platform analitik tandem ini telah dikembangkan untuk meningkatkan keandalan dan sensitivitasnya (Zimmermann, 2020).

Foodomics didefinisikan pada tahun 2009 sebagai "disiplin yang mempelajari domain Pangan dan Gizi melalui penerapan dan integrasi teknologi -omics canggih untuk meningkatkan kesejahteraan, kesehatan, dan pengetahuan konsumen". Foodomics membutuhkan kombinasi kimia makanan, ilmu biologi, dan analisis data (Cifuentes, 2009). Ilmu ini mencakup sejumlah rute omik termasuk proteomik, transkriptomik, dan metabolomik yang digunakan untuk mengungkap mekanisme makanan molekuler dasar dalam hubungannya dengan kesehatan. Kemajuan dalam hal ini adalah memperluas pengetahuan yang ada di berbagai sektor pangan termasuk keamanan pangan dan mikrobiologi, pemrosesan pangan, mikrobiologi pangan, ketertelusuran pangan dan keaslian pangan, kontaminasi dan penipuan pangan, dan dalam fungsi pangan. Dalam konteks ini, metabolomik telah diterapkan sebagai pendekatan analitik yang andal untuk menjelaskan perubahan biokimia global dan biotransformasi metabolit dalam proses makanan, seperti fermentasi.

Salah satu produk fermentasi kacang – kacangan yaitu produk kecap. Produk ini diolah dari tanaman pokok utama dan sumber nutrisi utama bagi jutaan orang di seluruh dunia. Kelompok makanan ini sering difermentasi menjadi minuman beralkohol dan non-alkohol. Dalam memahami metabolisme yang kompleks dan multidimensi dengan beragam konsentrasi, struktur kimia, afinitas, dan polaritas, dapat menjadi tantangan menggunakan teknik klasik dan konvensional. Oleh karena itu, metabolomik – yang melibatkan profil kualitatif dan kuantitatif global dari metabolit dalam matriks biologis – dapat memberikan karakterisasi yang komprehensif dari produk proses makanan. Hal ini memposisikan metabolomik sebagai pendekatan yang diinginkan untuk memberikan wawasan yang lebih baik serta memahami multifungsi dan kompleksitas makanan fermentasi sereal dan kacang-kacangan.

Aspek analitik dari teknologi GC-MS saat ini yang perlu diperhatikan termasuk resolusi tinggi (dalam teknologi GC dan MS), kemajuan dan peningkatan dalam proses ionisasi, pola fragmentasi yang dapat direproduksi (yang merupakan keuntungan untuk identifikasi senyawa) serta efek matriks yang lebih sedikit. Dengan demikian, pada studi ini akan membahas tentang analisis profil metabolit berbasis GC-MS pada makanan fermentasi sereal dan kacang-kacangan.

METODE

Penelitian ini merupakan studi literatur, dimana dalam pengumpulan artikel ini digunakan metode naratif yang dimana pengumpulan dilakukan dengan membaca literatur atau hasil penelitan, penelusuran artikel ini menggunakan *search engine* yaitu *google scholar* kata kunci atau *keyword* yang digunakan adalah “*GC/MS development food and beverage*”.

Kriteria dalam pemilihan artikel adalah original artikel yang dimana pada artikel dijelaskan terkait analisis profil metabolit menggunakan GC-MS pada sampel sereal dan makanan kacang-kacangan yang difermentasi. Berikut adalah hasil dari penelusuran artikel :

Bahan	Instrumen	Analisis Data	Golongan Metabolit	Tujuan	Referensi
<i>Brewer's spent grain</i> (BSG)	GC-MS	PCA, OPLS-DA	Asam amino, aminofenol, asam lemak amino, karbohidrat, asam trikarboksilat, dan vitamin	Untuk menyelidiki konstituen BSG yang difermentasi menggunakan pelarut ekstraksi yang berbeda dan metode derivatisasi	(Cooray & Chen, 2018)
<i>Moromi</i>	GC-MS	HCA, PCA	Asam, alkohol, aldehida, ester, keton, fenol, dan pirazina	Untuk menganalisis senyawa volatil moromi yang dibuat menggunakan proses	(Zheng et al., 2013)

				fermentasi yang berbeda	
<i>Douchi</i>	GC-TOF-MS	PCA, OPLS-DA	Aldehida, asam amino, ester, asam organik, gula	Untuk mengevaluasi dinamika metabolisme <i>douchi</i> selama fermentasi	(Li et al., 2019)
<i>Black glutinous rice wine</i>	GC-TOF-MS	PCA, OPLSDA, Metabo -Analyst	Asam amino, asam organik, asam lemak, asam fenolat, gula, dan gula alkohol	Untuk menyelidiki hubungan antara metabolit dan waktu fermentasi	(Li et al., 2019)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah banyak studi yang dilakukan untuk mengetahui senyawa – senyawa yang terkandung dalam produk kecap (*soy souce*). Kecap adalah jenis makanan fermentasi yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia. Kecap merupakan suatu larutan yang berwarna coklat atau coklat kehitaman yang mempunyai flavor menyerupai daging, mempunyai rasa manis atau asin dan dipergunakan sebagai penyedap makanan. Nama jenis makanan fermentasi ini berbeda-beda untuk setiap negara, sebagai contoh kecap di Indonesia, *chiang-yu* di China, *shoyu* di Jepang dan *soy-sauce* di negara barat. Kecap dibuat dengan menggunakan lima bahan baku dasar: kedelai/serpih kedelai (sebagai sumber protein utama), gandum/tepung terigu (sebagai sumber karbohidrat utama), garam, air, dan *Aspergillus oryzae*/*Aspergillus sojae*, ragi yang toleran garam. dan bakteri asam laktat. Meskipun demikian, proses fermentasi yang ada sangat beragam dan kompleks, menjadikan kecap sebagai produk yang sangat bervariasi dengan warisan lokal/budaya yang kuat. Fermentasi tradisional menggunakan kultur starter

mikroorganisme yang mengeluarkan enzim yang mampu memecah protein, lipid, dan pati menjadi peptida, asam amino bebas, volatil, dan sakarida.

Pada artikel pertama, membahas terkait dengan valorisasi biji-bijian bekas pembuat bir menggunakan fermentasi padat jamur untuk meningkatkan nilai gizi, dalam hal ini sampel yang digunakan adalah *Brewer's spent grain* (BSG) kaya akan serat dan nitrogen, masing-masing mencapai 70% dan 20% dari berat kering. BSG adalah produk sampingan yang kurang dimanfaatkan yang dihasilkan dalam proses pembuatan bir. Pada tahun 2014 produksi bir di seluruh dunia dilaporkan mencapai 193 miliar liter, dan untuk setiap 100 liter bir menghasilkan sekitar 20 kg BSG dihasilkan (Mussatto et al., 2006). Sebagian besar lipid total yang terdapat dalam BSG adalah triasilgliserol, diikuti oleh asam lemak (terutama asam linoleat, palmitat, dan oleat). BSG telah terbukti mengandung banyak senyawa biologis aktif seperti polifenol, flavonoid dan antioksidan (del Río et al., 2013).

Dalam penelitian yang akan dilakukan oleh (Cooray & Chen, 2018) menggunakan *solid-state fermentation* (SSF) menggunakan food grade *Rhizopus oligosporus* untuk meningkatkan kandungan nutrisinya dengan valorisasi BSG. Analisis metabolomik berbasis dalam penelitian ini menggunakan GC-MS (*Gas chromatography mass spectrometry*) yang tidak ditargetkan digunakan untuk menganalisis konstituen. Kami menyelidiki pelarut yang berbeda untuk mengekstrak metabolit ekstraseluler dan metode derivatisasi terbaik, di mana metanol dan sililasi memberikan hasil terbaik.

Hasil dari penelitian ini pertama melihat dari Variasi penyusun BSG dengan fermentasi dimana Setelah 3 hari fermentasi kandungan BSG berubah. Penurunan nyata terlihat pada kandungan lemak (5,57%), serat makanan (7,82%), kandungan gula (> 1,04%) dan kandungan pati (1,74%), namun kandungan abu tidak berubah secara signifikan dapat dilihat pada gambar 1.

Composition of brewer's spent grain (BSG) before fermentation and after fermentation of 3 days reported based on dry matter content in g/100 g.

	Unfermented BSG	Fermented BSG
Fat content (g/100 g dry)	10.09	4.52
Total dietary fiber (g/100 g dry)	45.65	37.83
Total sugar content (g/100 g dry)	3.04	< 2
Starch content (g/100 g dry)	2.17	0.43
Ash content (g/100 g dry)	3.35	3.39

Gambar 1. Komposisi BSG sebelum dan sesudah fermentasi selama 3 hari

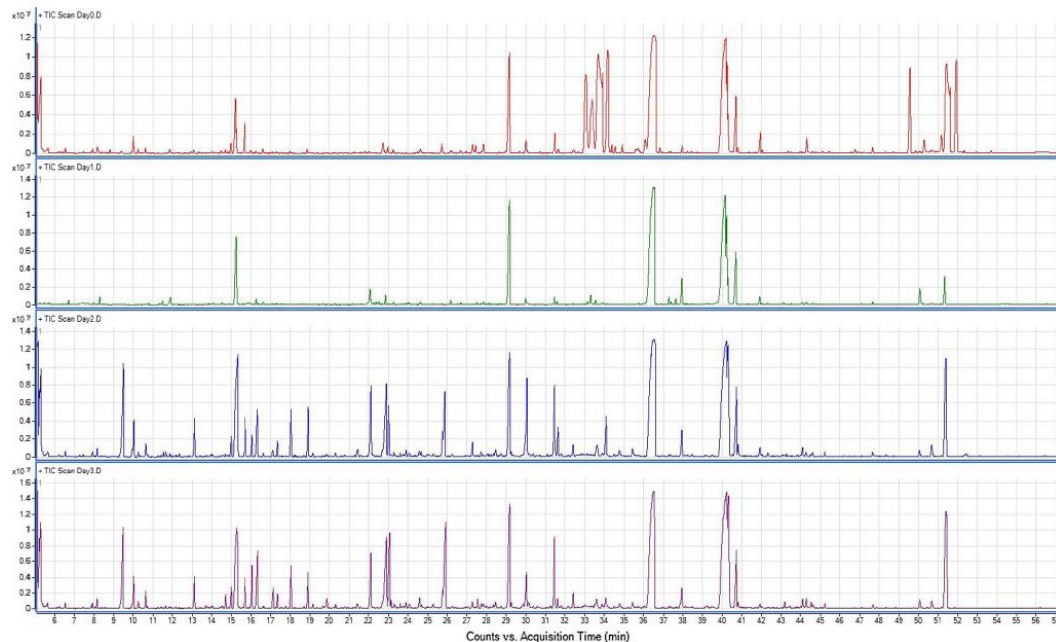
Pengurangan kandungan lemak yang sangat drastis ini bisa disebabkan oleh hidrolisis lemak oleh lipase. Penurunan yang signifikan dalam serat makanan bisa sebagai akibat dari degradasi oleh enzim pektinase dan selulase yang dihasilkan selama fermentasi. Demikian pula invertase dan amilase yang dihasilkan saat fermentasi berlangsung dapat memecah molekul gula dan pati. Protease yang dihasilkan selama fermentasi dapat memecah protein kompleks menjadi asam amino yang lebih sederhana (Hsiao et al., 2014).

Untuk mengetahui asam amino apa saja yang berubah dapat dilihat pada **Error! Reference source not found.** dimana serin, asam aspartat, asam glutamat dan tirosin. Semua asam amino yang terdeteksi menunjukkan peningkatan kadar setelah periode fermentasi.

	Unfermented BSG	Fermented BSG
Alanine	0.100	0.223
Glycine	0.100	0.131
Valine	0.233	0.396
Leucine	0.311	0.496
Proline	1.907	4.253
Serine	0.024	0.087
Threonine	0.056	0.337
Phenylalanine	0.158	0.362
Aspartic acid	0.316	0.481
Glutamic acid	0.402	0.743
Lysine	0.100	0.144
Tyrosine	0.100	0.119
Total amino acids	3.807	7.772

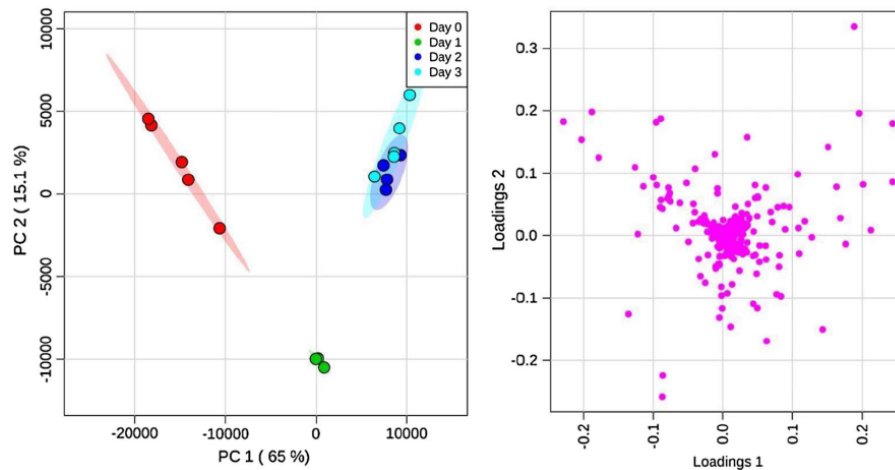
Gambar 2. Perubahan asam amino sebelum dan setelah fermentasi

Selanjutnya adalah Variasi metabolit selama proses fermentasi dilakukan, metabolomik pada saat fermentasi diperiksa untuk mendapatkan wawasan tentang perubahan yang telah terjadi selama bioproses. Analisis metabolomik yang tidak ditargetkan dilakukan untuk empat titik waktu menggunakan GC-MS bersama dengan analisis data multivariat, gambar 3 menggambarkan spektrum overlay yang diperoleh GC-MS dari sampel yang dikumpulkan setiap 24 jam selama fermentasi, mulai hari ke nol. Seiring berjalannya fermentasi, pola kromatografi berubah dan jumlah puncak yang terdeteksi meningkat. Ini menunjukkan bahwa metabolit yang lebih banyak dan berbeda diproduksi seiring dengan waktu ketika jamur tumbuh.



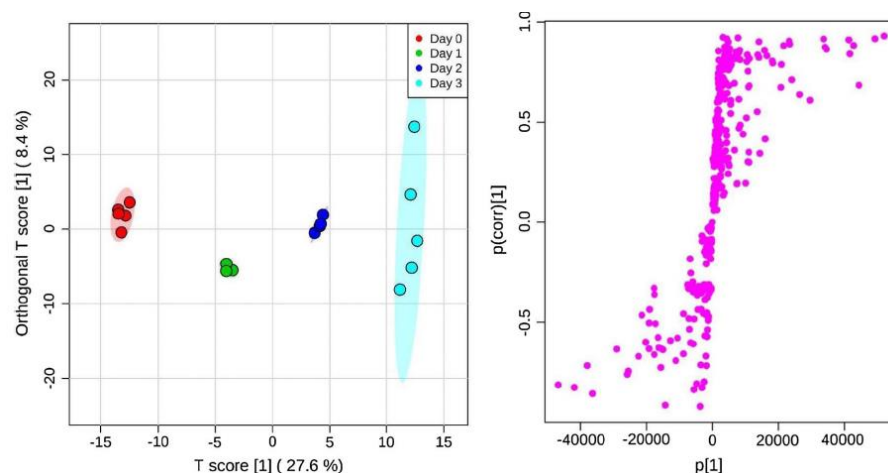
Gambar 3. Spektre GC-MS BSG pada saat fermentasi selama 3 hari

Dilakukan analisis menggunakan komputerisasi dalam melihat perubahan metabolit, metode yang lebih andal seperti analisis multivariat sangat penting untuk menemukan rincian lebih lanjut tentang perubahan pasti yang telah terjadi. *Principal components analysis* (PCA) dan *orthogonal partial least square-discriminant analysis* (OPLS-DA) adalah dua contoh analisis multivariat yang dapat digunakan untuk mengurangi dimensi. PCA mampu membuat plot dua dan tiga dimensi setelah pengurangan dimensi menggunakan komponen prinsip yang tidak berkorelasi secara linier. Secara umum, tujuan utama PCA adalah untuk mengurangi kompleksitas hubungan timbal-balik antara sejumlah besar variabel yang diamati ke sejumlah relatif kecil dari kombinasi linearnya, yang disebut sebagai komponen utama.



Gambar 4. Plot PCA

Plot skor PCA yang dihasilkan dalam penelitian ini, dengan jelas menunjukkan perbedaan metabolik antara sampel fermentasi BSG, di mana pemisahan terjadi antara komponen utama (PC) satu dan dua terhitung 80,1% dari varians. Dapat dilihat dengan jelas bahwa ada perbedaan yang dapat dibedakan di antara sampel ketika fermentasi berlangsung, kecuali variasi antara hari kedua dan ketiga yang tidak terlalu signifikan pada gambar 4. Sedangkan pada loading plot asam sitrat dan alanin adalah senyawa dominan yang diekspresikan secara berbeda menunjukkan diferensiasi dalam sampel fermentasi sepanjang komponen utama pertama. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa tingkat produksi meningkat dengan waktu fermentasi ketika sampel BSG yang tidak difermentasi dan difermentasi dibandingkan.



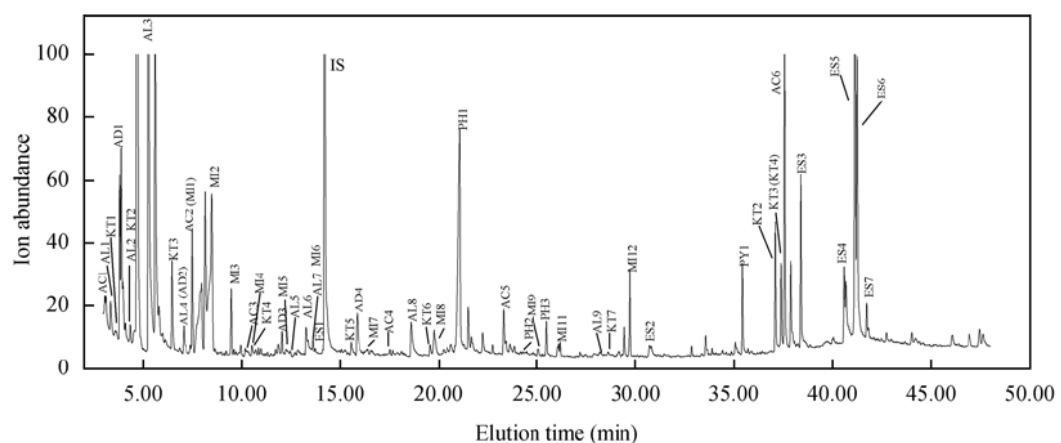
Gambar 5. OPLS-DA Skor Plot

Plot pemuatan OPLS-DA dan korelasi peta panas mampu menunjukkan metabolit yang berubah secara signifikan dalam BSG selama proses fermentasi. Singkatnya,

karbohidrat seperti glukosa, fruktosa, galaktosa, dan manitol berkurang dalam konsentrasi yang diamati setelah fermentasi dan komponen nutrisi lainnya seperti, asam sitrat, alanin, L-tirosin, L-isoleusin, asam pantotenat, asam hidroksianthranilat 3, myo -inositol dan L-norvaline meningkat pada biomassa yang difermentasi hal ini ditunjukkan pada gambar 5.

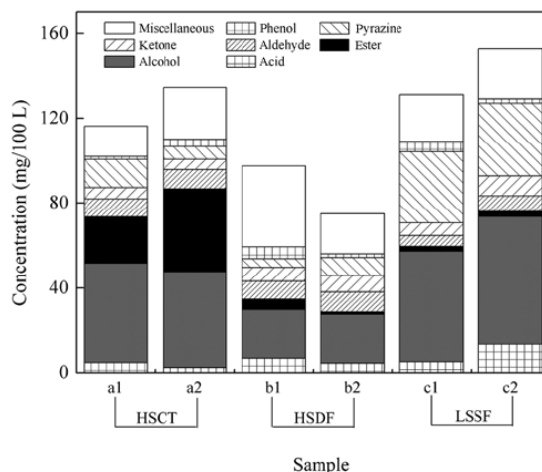
Kesimpulannya penelitian ini memberikan bukti valorisasi dalam BSG, bahan limbah yang kurang dimanfaatkan, menggunakan teknik fermentasi dengan *R. oligosporus*. Peneliti juga mengamati peningkatan kadar asam amino, asam sitrat, vitamin dan tingkat antioksidan dalam BSG yang difermentasi jika dibandingkan dengan BSG yang tidak difermentasi, sambil mengurangi kadar karbohidrat, lemak, dan serat makanan. Menurut hasil, fermentasi tampaknya meningkatkan nilai nutrisi BGS dan potensinya untuk digunakan dalam aplikasi terkait makanan dan nutrisi sebagai sumber nilai tambah.

Artikel kedua, yang dilakukan oleh (Zheng et al., 2013) menjelaskan Senyawa volatil dalam moromi kecap Cina dibudidayakan dengan proses fermentasi yang berbeda yaitu *lowsalt solid-state fermentation* (LSSF), *high-salt dilute-state fermentation* (HSDF), dan *high-salt constant temperature fermentation* (HSCT) ditentukan oleh GC-MS. Kecap adalah bumbu fermentasi penting di banyak negara Asia, seperti Cina, Korea, Jepang, Vietnam, Malaysia, dan Thailand. dan diklasifikasikan menjadi beberapa jenis, seperti tipe Jepang dan tipe Cina, berdasarkan jenis dan perbandingannya. bahan baku, mikroorganisme fermentasi, dan proses fermentasi. Konstitusi senyawa volatil memainkan peran penting dalam karakteristik organoleptik kecap. Perubahan signifikan asam, alkohol, ester, aldehida, keton, dan furan selama proses fermentasi moromi pada kecap tradisional Cina (Gao et al., 2010).



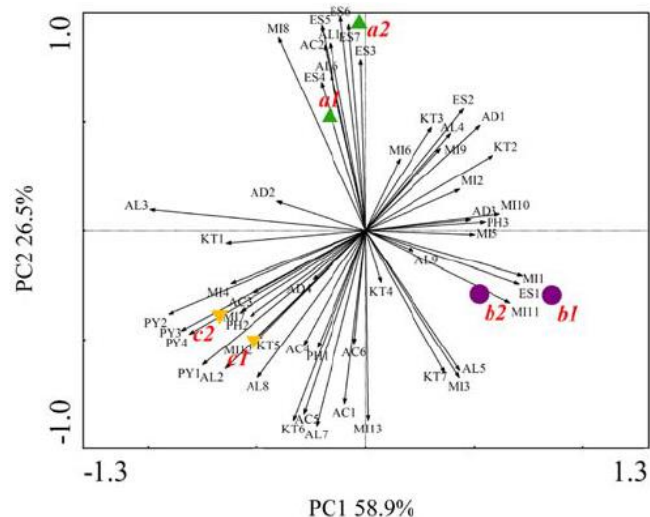
Gambar 6. Kromatogram ion total tipikal dari fraksi volatil yang diekstraksi dari moromi kecap

Kromatogram ion total senyawa volatil dalam sampel moromi yang dibiakkan dengan 3 proses fermentasi dianalisis menggunakan GC-MS gambar 6. Kromatogram untuk penentuan senyawa volatil sampel moromi ditampilkan pada gambar gambar 7



Gambar 7. Kelas senyawa volatil yang berbeda pada 6 sampel moromi kecap Cina yang diperoleh dengan GC-MS

Ester dan asam mendominasi dalam moromi HSCT, dan alkohol dan pirazin adalah kelompok senyawa yang dominan dalam moromi LSSF. Sedangkan pada gambar 8 menunjukkan bahwa PCA dari semua senyawa volatil memberikan pemisahan yang jelas dari berbagai sampel moromi. Hasil PCA juga menunjukkan moromi yang berbeda sampel berkorelasi dengan kelompok volatil tertentu senyawa jelas dibedakan dalam plot PCA. Pengamatan ini menunjukkan hubungan paling penting antara senyawa volatil dan sampel moromi.

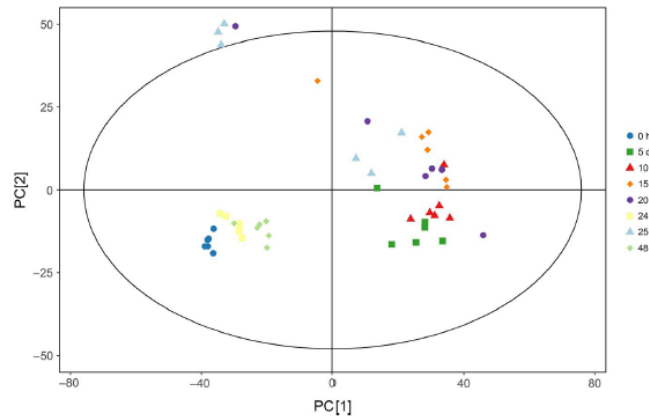


Gambar 8. Plot PCA

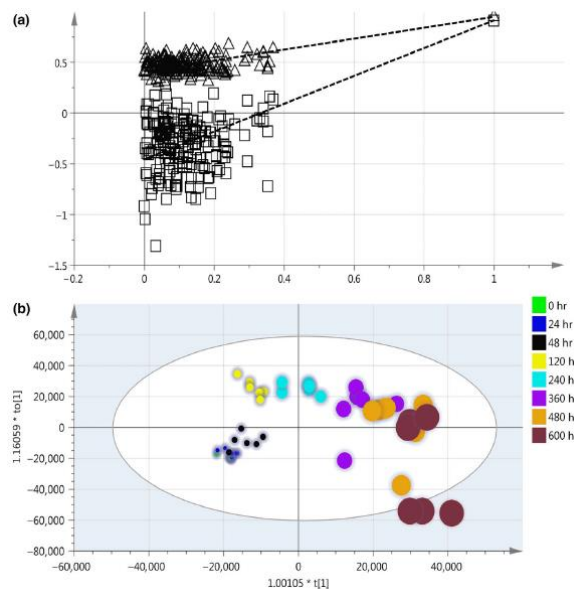
Kesimpulannya, senyawa volatil HSCT, HSDF, dan moromi LSSF dideteksi dengan menggunakan GC-MS. Analisis data GC-MS menunjukkan bahwa ester, alkohol, dan pirazin mungkin merupakan senyawa yang dominan. Dengan senyawa yang terdeteksi, moromi HSCT memiliki kandungan ester yang sangat tinggi, dan LSSF memiliki kandungan pirazin dan alkohol yang tinggi. Data PCA senyawa volatil juga mengungkapkan diskriminasi utama di antara sampel moromi yang dibuat dari proses fermentasi yang berbeda.

Artikel ketiga, pada makalah ini adalah menjelaskan tentang penelitian intensif tentang metabolisme selama fermentasi Douchi dapat memberikan pengetahuan baru untuk mengoptimalkan proses fermentasi. Karakterisasi metabolisme selama fermentasi *Mucor racemosus* Douchi diselidiki menggunakan kromatografi gas dengan spektrometri *time of flight*. Douchi, sebagai makanan kedelai fermentasi kelas besar, telah memainkan peran penting dalam diet negara-negara Asia dan menjadi semakin populer di dunia. Sejumlah faktor fungsional dalam Douchi telah dilaporkan, seperti efek antioksidan, antihipertensi, dan antidiabetes (Chen et al., 2011). Fermentasi Douchi sangat rumit. Dalam proses fermentasi terdapat berbagai jenis mikroorganisme dan enzim, sedangkan aktivitas masing-masing enzim berbeda. Metabolitnya kompleks, dan siklus fermentasinya berbeda. Fermentasi produksi Douchi biasanya dioptimalkan sesuai dengan nilai keasaman dan kandungan nitrogen asam amino, yang jelas tidak cukup untuk mengkarakterisasi proses yang kompleks.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi dinamika metabolisme fermentasi Douchi dengan menggunakan metabolisme GC-TOF/MS yang tidak ditargetkan. Metabolit M. racemosus Douchi pada waktu fermentasi yang berbeda dibandingkan dengan bantuan *principal components analysis* (PCA) dan *orthogonal partial least squares - discriminant analysis* (OPLS-DA).



Gambar 9. Klasifikasi sampel dengan waktu fermentasi yang berbeda dengan metode PCA



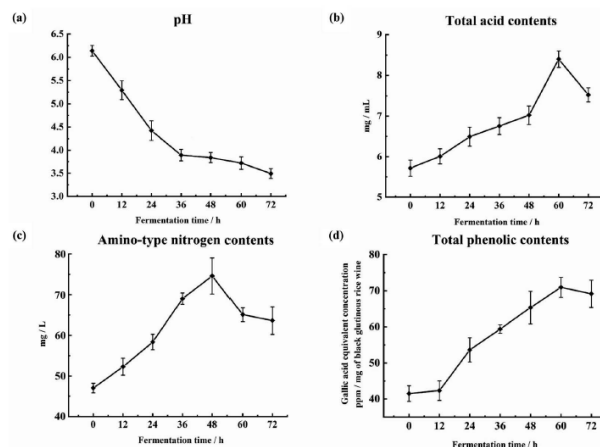
Gambar 10. Klasifikasi sampel dengan waktu fermentasi berbeda dengan metode analisis (OPLS-DA): (a) Plot validasi OPLS-DA dan (b) Plot skor OPLS-DA

Produk umumnya lebih mudah menguap dan stabil secara termal, dan metabolit utama yang menarik dapat diamati oleh GC-TOF/MS. Total ion chromatographs (TICs) GC-TOF/MS dengan waktu fermentasi yang berbeda diperoleh. Untuk memverifikasi

kinerja metode, waktu retensi dan luas puncak standar internal dalam sampel yang berbeda dibandingkan. Secara total, 511 puncak ditemukan dan 114 metabolit diidentifikasi. Pemisahan yang jelas ditemukan dalam 15 hari fermentasi, sedangkan diskriminasi tidak ditemukan dengan fermentasi lebih dari 15 hari, yang menunjukkan bahwa fermentasi Douchi selesai dalam 15 hari dapat dilihat pada gambar 10. Tingkat beberapa metabolit seperti alanin dan lisin yang terlibat dalam fermentasi bervariasi secara signifikan selama proses berlangsung. Selain itu, kadar putrescine dan myo-inositol meningkat secara dramatis, sedangkan kadar asam l-Malic menurun.

Artikel keempat, menunjukkan penelitian yang dilakukan oleh (Li et al., 2019) yang dimana penelitian ini menjelaskan bahwa proses Pra-fermentasi sangat penting untuk produksi anggur beras ketan hitam. Namun, perubahan dinamis yang terjadi pada metabolit selama pra fermentasi masih belum jelas. Oleh karena itu, tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk menyelidiki variasi metabolit dalam anggur beras ketan hitam selama pra-fermentasi dan untuk menentukan waktu pra-fermentasi yang optimal.

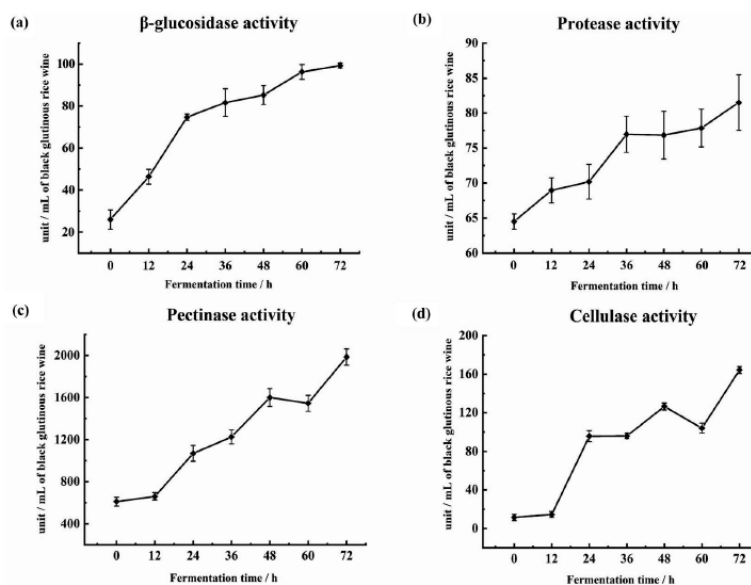
Sifat fisikokimia merupakan indikator penting yang digunakan untuk menilai derajat fermentasi dapat dilihat pada gambar 11. menunjukkan perbedaan sifat antara sampel dengan waktu fermentasi yang berbeda. Berbeda dengan kecenderungan kandungan asam total, nilai pH terus menurun.



Gambar 11. Perbandingan sifat fisikokimia anggur beras ketan hitam selama prafermentasi.

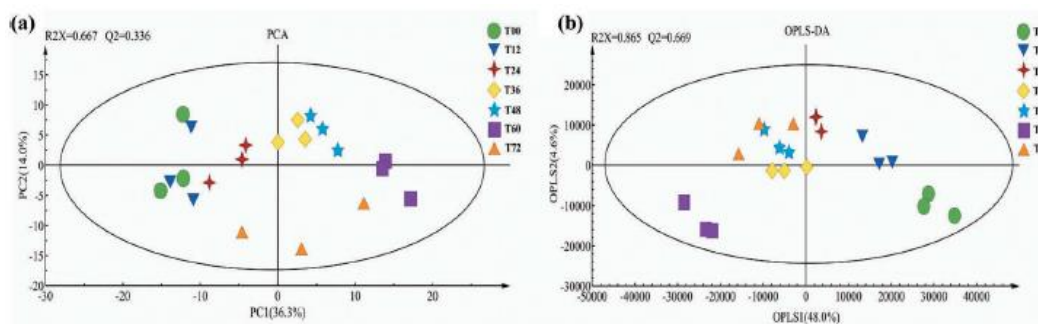
Kecenderungan kandungan nitrogen tipe amino mula-mula meningkat kemudian menurun seiring dengan lamanya waktu fermentasi gambar 11 bagian C. hal ini mungkin karena beberapa asam amino dikonsumsi oleh ragi untuk biosintesis enzim dan protein struktural. Senyawa polifenol anggur beras sebagian besar berasal dari bahan tanamannya, dan anggur beras yang dibuat dari bahan baku yang berbeda memiliki

kandungan fenolik total yang berbeda secara signifikan. Dapat dilihat pada gambar diatas bagian D kandungan fenolik total mula-mula meningkat dan kemudian menurun, dan mencapai puncaknya setelah 60 jam fermentasi.



Gambar 12. Perbandingan aktivitas enzimatik anggur beras ketan hitam selama prafermentasi.

Kemudian pada gambar gambar 12 menunjukan bahwa secara keseluruhan, aktivitas enzim ini meningkat seiring dengan perpanjangan waktu fermentasi. Peningkatan aktivitas enzimatik membantu memecah pati, protein dan lemak di substrat menjadi molekul kecil dan mengubah profil metabolit yang ditemukan dalam makanan fermentasi.



Gambar 13. Plot skor PCA (A) dan OPLS-DA (B) untuk anggur beras ketan hitam diperoleh dengan GC-TOF-MS

Analisis multivariat berdasarkan kumpulan data GC-TOF-MS dilakukan untuk menyelidiki perbedaan metabolit yang terkait dengan waktu fermentasi. Plot (PCA). Plot

diatas menunjukkan varians total 50,3% (PC1, 36,3%; PC2, 14,0%) dengan nilai kepuasan plot untuk variabel X sebesar 0,667 (R²X) dan akurasi prediksi sebesar 0,336 (Q²), menunjukkan bahwa model PCA memiliki fitting yang kurang baik dan prediktabilitas yang buruk. Untuk memaksimalkan perbedaan antara sampel dan meningkatkan kesesuaian dan prediktabilitas, model OPLS-DA digunakan untuk menghilangkan variasi yang tidak berkorelasi dalam variabel X ke variabel Y atau untuk variabilitas dalam X yang ortogonal terhadap Y dapat dilihat pada plot diatas bagian B. Selain fermentasi selama 72 jam, profil metabolit didistribusikan menurut waktu fermentasi pada plot skor PCA dan OPLS-DA. Lebih khusus lagi, profil metabolit terdistribusi sepanjang PC1 (dari kiri ke kanan) dan OPLS1 (dari kanan ke kiri), yang menunjukkan bahwa perubahan metabolisme terus menerus terjadi selama fermentasi dari 0 hingga 60 jam. Oleh karena itu, fermentasi selama 60 jam dapat menjadi titik balik utama dalam produksi anggur beras ketan hitam.

Seperti yang dirangkum dalam penelitian diatas, analisis metabolisme berdasarkan teknologi GC-TOF-MS adalah alat yang ampuh untuk optimalisasi waktu fermentasi. Dilihat dari sifat fisikokimia, aktivitas enzimatik, dan profil metabolit, anggur beras ketan hitam dengan waktu fermentasi yang berbeda berbeda nyata. Di antara semua 7 titik waktu, 60 jam dan 72 jam masing-masing ditandai dengan sifat fisikokimia dan aktivitas enzimatik yang optimal. Namun, hasil PCA dan OPLS-DA menunjukkan bahwa profil metabolit yang lebih baik diamati pada 60 jam daripada 72 jam, terutama lebih banyak jenis dan kadar gula.

KESIMPULAN

GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry) adalah metode yang mengkombinasikan kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analisis sampel. Dalam makalah ini dapat diambil kesimpulan bahwasannya analisis profil metabolit dalam sampel sereal dan makanan kacang-kacangan yang difermentasi ini dapat dianalisis dengan menggunakan GC-MS. Waktu dari fermentasi merupakan salah faktor utama dalam terjadinya perbedaan senyawa yang dianalisis menggunakan GC-MS, penggunaan analisis secara komputerisasi seperti Principal Component Analysis (PCA) sangat membantu ketika penelitian memiliki jumlah variabel yang sangat besar.

DAFTAR RUJUKAN

- Chen, Q., Xu, Y., Wu, P., Xu, X., & Pan, S.-Y. (2011). Aroma impact compounds in Liuyang douchi, a Chinese traditional fermented soya bean product. *International Journal of Food Science & Technology*, 46, 1823–1829. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02687.x>
- Cifuentes, A. (2009). Food analysis and foodomics. In *Journal of chromatography. A* (Vol. 1216, Issue 43, p. 7109). <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.09.018>
- Cooray, S. T., & Chen, W. N. (2018). Valorization of brewer's spent grain using fungi solid-state fermentation to enhance nutritional value. *Journal of Functional Foods*, 42(December 2017), 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.027>
- del Río, J. C., Prinsen, P., & Gutiérrez, A. (2013). Chemical composition of lipids in brewer's spent grain: A promising source of valuable phytochemicals. *Journal of Cereal Science*, 58(2), 248–254. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.07.001>
- Feng, Z., Ding, C., Li, W., Wang, D., & Cui, D. (2020). Applications of metabolomics in the research of soybean plant under abiotic stress. *Food Chemistry*, 310, 125914. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125914>
- Gao, X.-L., Cui, C., Zhao, H.-F., Zhao, M.-M., Yang, L., & Ren, J.-Y. (2010). Changes in volatile aroma compounds of traditional Chinese-type soy sauce during moromi fermentation and heat treatment. *Food Science and Biotechnology*, 19(4), 889–898. <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0126-7>
- Hsiao, N.-W., Chen, Y., Kuan, Y.-C., Lee, Y.-C., Lee, S.-K., Chan, H.-H., & Kao, C.-H. (2014). Purification and characterization of an aspartic protease from the *Rhizopus oryzae* protease extract, Peptidase R. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(2), 89–94. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.02.002>
- Li, P., Tang, H., Shi, C., Xie, Y., Zhou, H., Xia, B., Zhang, C., Chen, L., & Jiang, L. (2019). Untargeted metabolomics analysis of *Mucor racemosus* Douchi fermentation process by gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry. *Food Science and Nutrition*, 7(5), 1865–1874. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1042>
- Mussatto, S. I., Dragone, G., & Roberto, I. C. (2006). Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 1–14. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.06.001>
- Shimadzu. (2020). *Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS)*. <https://www.shimadzu.eu.com/sites/shimadzu.seg/files/SEG/GCMSBASIC.pdf>
- Zheng, J., Wu, C. De, Huang, J., Zhou, R. Q., & Liao, X. P. (2013). Analysis of volatile compounds in Chinese soy sauces moromi cultured by different fermentation processes. *Food Science and Biotechnology*, 22(3), 605–612. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0121-x>

Zimmermann, T. M. G. A.-T. M. G. A.-U. K. A.-R. (2020). Gas chromatography in combination with fast high-resolution time-of-flight mass spectrometry: Technical overview and perspectives for data visualization. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 122, 115677--2020 v.122. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115677>