

4. PEMBAHASAN

4.1. Kontaminasi MOSH dan MOAH pada Produk Pangan

Mineral Oil Hydrocarbons (MOHs) adalah kelas bahan kimia yang terdiri dari campuran kompleks hidrokarbon, dan terutama berasal dari minyak mentah atau minyak sulingan. Dari perspektif kimia, minyak mineral dapat dibagi menjadi dua jenis utama, yaitu MOSH dan MOAH (Biedermann dan Grob 2010; Weber *et al.* 2018). MOSH termasuk alkana rantai lurus (n-alkana), alkana bercabang (isalkana), dan sikloalkana (naftena), sedangkan MOAH tipikal terutama terdiri dari hidrokarbon poliaromatik tersubstitusi alkil (EFSA, 2012). Bahan kontak makanan diyakini sebagai sumber utama MOHs karena MOHs banyak digunakan dan dapat ditransfer ke makanan melalui kontak langsung atau melalui fase gas (Pan *et al.*, 2021). MOSH sering dianalisis sebagai penanda keberadaan minyak mineral karena berperan dominan dan lebih mudah ditentukan daripada MOAH (Li *et al.*, 2017).

Senyawa MOH yang alami biasanya didominasi oleh n-alkana dengan jumlah atom karbon ganjil pada rantai karbonnya (C21-C35). Sedangkan senyawa MOH yang bukan berasal dari alam memiliki n-alkana dengan jumlah atom karbon ganjil maupun genap dan adanya isomer yang panjang rantai sebagian besar antara C10- C50 (ANSES, 2017).

Seperti yang dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5, sumber kontaminasi MOSH dan MOAH sebagian besar berasal dari kemasan dan lingkungan yang kemudian bermigrasi ke dalam makanan. Jenis pengemas yang paling banyak menjadi sumber kontaminasi MOSH dan MOAH yaitu kertas karton. Berikut merupakan uraian sumber kontaminasi MOSH dan MOAH.

4.1.1. Pengemas

Pengemas berbahan dasar kertas sebagian besar digunakan untuk mengemas produk-produk kering (*dry food*). Menurut Pack *et al.* (2020), MOSH dan MOAH sebagian besar terlepas dari *coating poliolefin*. Perpindahan dari kertas karton ke makanan kering terutama terjadi melalui fase gas, yang berarti dengan penguapan dari kertas karton dan rekondensasi dalam makanan.

Pergerakan migran (MOSH dan MOAH) melalui struktur berpori dari karton atau kertas terjadi melalui proses adsorpsi/desorpsi, yang dibatasi oleh sifat kimia serat selulosa dan migran. Fase gas adalah rute utama dimana minyak mineral ditransfer ke makanan, dan oleh karena itu fraksi volatil adalah yang paling penting (Biedermann & Grob, 2012). Namun demikian, migrasi melalui kontak langsung juga relevan dan harus diperhitungkan (Jaen *et al.*, 2022). Selama transfer melalui fase gas (khususnya untuk makanan kering) MOSH dan MOAH menguap dan mengendap pada makanan. Hal ini membutuhkan tekanan uap yang cukup. Migrasi dari kemasan ke dalam makanan bersaing dengan penguapan ke luar (Fengler *et al.*, 2019).

Pada suhu ruang, migrasi MOSH yang ditemukan memiliki rantai alkana nC24 (Lorenzini *et al.*, 2010) dan terlihat hingga sekitar nC28 (Biedermann & Grob 2010). Sekitar 70% MOSH dan MOAH hingga n-C24 dipindahkan ke makanan kemasan jika tidak ada kemasan internal yang bertindak sebagai penghalang atau penyerap minyak mineral (Biedermann *et al.* 2013).

Terkadang lapisan plastik bisa menjadi penghalang tetapi itu tergantung pada jenis plastik yang digunakan. Biedermann *et al.* (2013) menyampaikan bahwa plastik (polietilen) hanyalah penghalang lemah yang memperlambat migrasi minyak mineral, tetapi tidak secara signifikan. Selama waktu penyimpanan yang lama, hidrokarbon mungkin terakumulasi dalam matriks plastik sampai dapat melewatinya, bergerak menuju bagian dalam kemasan yang berisi produk pangan. Hal ini juga ditemukan pada penelitian yang dilakukan oleh Lorenzini *et al.* (2013), yang menyatakan plastik memang digunakan sebagai penghalang, namun plastik jenis polietilena tidak cukup kuat untuk menjadi penghalang (lemah).

Menurut beberapa penelitian, dari hasil analisis MOHs menunjukkan bahwa tidak ada sampel yang mengandung MOAH, tetapi MOSH dan POSH ada di sebagian besar makanan berbasis sereal. Kontaminasi MOSH dan POSH dalam makanan tersebut mungkin berasal dari bahan baku dan kemasan. (Liu *et al.* 2021). Menurut penelitian Gharbi *et al.* (2016) pada minyak zaitun kemasan, didapatkan hasil yaitu MOAH tidak terdeteksi. Tingkat MOSH yang lebih

tinggi yang ditemukan dalam minyak dari pasar membuktikan kontribusi penting karena pemrosesan dan/atau pengemasan minyak.

POSH dalam makanan biasanya berasal dari bahan plastik yang digunakan untuk mengemas makanan, seperti polietilen atau polipropilen, yang sebagian besar terdiri dari hidrokarbon bercabang dan mungkin siklik yang sangat isomer dan secara kimiawi tidak berbeda dari MOSH; sehingga kedua kontaminan tersebut tidak dapat dipisahkan secara efektif dari MOSH dengan HPLC-GC-FID on-line menggunakan kolom gel silika (Biedermann-Brem *et al.* 2012), sehingga dalam pelaporan hasil analisis minyak mineral dalam makanan, seringkali POSH ditentukan bersama dan ditambahkan ke beban total MOSH.. Hal serupa juga ditemukan dalam penelitian Gharbi *et al* (2016), bahwa dua sampel minyak zaitun terkontaminasi POSH yang berasal dari tutup plastik.

Dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5, bahwa kontaminasi MOSH dan MOAH pada bahan pangan yang dikemas menggunakan kemasan logam relatif lebih rendah dibandingkan dengan ketika dikemas dalam kemasan kertas, terlebih karton daur ulang (Wan *et al.* 2021). Temuan ini menunjukkan bahwa migrasi MOHs lebih sulit pada logam daripada bahan lain seperti plastik dan kertas. Hal ini dapat dipengaruhi oleh tingkat porositas dan kristalinitas dari logam itu sendiri.

4.1.2. Lingkungan (Atmosfer dan Pelumas)

Komposisi hidrokarbon jenuh minyak mineral dalam biji yang dipetik menunjukkan adanya minyak pelumas dari atmosfer (Grundbock *et al*, 2010).

Migrasi MOHs dari kertas yang dicetak (ada pelabelan) jauh lebih tinggi daripada kertas tidak dicetak, hal ini sependapat dengan temuan sebelumnya bahwa tinta cetak adalah sumber utama kontaminasi MOHs di kertas kontak makanan. Tinta cetak diyakini sebagai sumber utama MOSH karena fraksi volatil dalam tinta dapat dengan mudah menguap dari papan kertas dan masuk ke dalam makanan. (Pan *et al.*, 2021). Konsentrasi MOSH dan MOAH yang tinggi juga terdeteksi pada bahan *antifoaming agent*, perekat dan rosin sizing agent,

yang menunjukkan bahwa kontaminasi MOHs yang disebabkan oleh penggunaan bahan baku dan aditif juga harus dipertimbangkan (Pan *et al.*, 2021). Volmer *et al.* (2011) dan Canavar *et al.* (2019), juga menemukan bahwa terkadang sejumlah besar minyak mineral bermigrasi melalui tinta cetak, bahkan jika minyak mineral yang bermigrasi sebagian besar berasal dari bahan awal daur ulang. Selain itu, menurut pengamatan Lorenzini *et al.* (2013) dan Barp *et al.* (2015), selama waktu penyimpanan, hidrokarbon mungkin terakumulasi dalam matriks plastik hingga dapat melewatinya, bergerak menuju bagian dalam kemasan yang terdapat makanan.

Migrasi MOSH dan MOAH dari cup kertas roti putih masing-masing adalah 1,8 mg/kg dan 0,7 mg/kg, sedangkan migrasi MOSH dan MOAH dari kertas roti coklat tua masing-masing adalah 23,8 mg/kg dan 3,2 mg/kg. Migrasi MOHs dari cangkir kertas coklat tua secara signifikan lebih tinggi daripada cangkir (paper cups utk roti) putih. Hasil ini mengkonfirmasi temuan sebelumnya bahwa pewarna adalah sumber utama kontaminasi MOHs di kertas kontak makanan. Selain tinta cetak, migrasi MOHs dari perekat juga harus dipertimbangkan karena perekat lelehan panas banyak digunakan untuk merekatkan kotak kardus dan kantong kertas, dan dapat mengakibatkan migrasi MOHs yang cepat selama kontak langsung. (Pan *et al.*, 2021)

Minyak teknis seperti minyak pelumas banyak digunakan dalam mesin manufaktur biji-bijian dan migrasi mungkin terjadi melalui kontak biji-bijian yang tidak disengaja atau difusi gas, karena minyak mineral adalah minyak dasar di sebagian besar pelumas. Oli teknis yang biasa digunakan dalam produksi biji-bijian adalah oli transfer, oli batching, oli lithium, oli mineral food grade, oli pompa, oli roda gigi, dan pelumas Shell. Selain itu, minyak standar pelumas dan bahan referensi yang digunakan untuk menentukan TPH dalam air laut dan makhluk hidup laut juga terdeteksi. Sebagian besar minyak teknis mengandung satu puncak kecuali minyak HJ. Berbeda dengan kromatogram butiran, profil MOAH dari minyak teknis ini berbeda satu sama lain. Sebagian besar pelumas mengandung MOAH titik didih yang lebih tinggi daripada butiran sesuai dengan perbandingan rentang nomor karbon. Kecuali oli transfer, hampir semua pelumas lain memiliki nomor karbon mulai dari n-C10 hingga di atas

n-C50. Minyak mineral <n-C24 ada dalam minyak transfer, yang sama dengan yang ada di biji-bijian. Diasumsikan bahwa minyak mineral dalam biji-bijian terutama berasal dari migrasi difusi gas dari pelumas, dan hanya sebagian kecil yang berasal dari kontak dengan mesin, yang mengandung minyak transfer. (Xie *et al* 2019)

Berdasarkan Gambar 4 dan 7 dapat dilihat sumber kontaminasi utama berasal dari bahan kertas. Hal ini dapat disebabkan karena kertas memiliki porositas yang besar sehingga kontaminan berupa MOSH dan MOAH dapat bermigrasi dengan mudah ke makanan. Migrasi ini dapat berasal dari pewarna atau campuran pewarna (tiner) yang juga berbasis minyak, perekat kertas, dan bahan tambahan lain. Selain itu, migrasi pada kemasan kertas juga dapat terjadi karena migrasi sepanjang waktu penyimpanan yang berasal dari udara yang terkontaminasi.

Pada Gambar 5 dan 8 diketahui produk pangan yang terdeteksi mengandung MOSH dan MOAH yang tertinggi. Sebagian besar produk tersebut merupakan produk olahan, sehingga dapat diketahui bahwa keberadaan MOSH dan MOAH dalam produk berasal dari kontaminasi selama proses produksi, dan tidak menutup kemungkinan berasal dari pelumas mesin. Pada muesli diketahui terdeteksi kandungan MOSH dan MOAH tertinggi, hal ini dapat berasal dari proses pemanenan biji-bijian atau sereal, dimana dalam prosesnya dapat terjadi kontaminasi dari minyak teknis (Xie *et al* 2019). Pada tepung jagung terdeteksi kontaminasi MOSH dan MOAH terbesar kedua, hal ini dapat disebabkan karena tepung yang kontak dengan kemasan (kertas) memiliki luas permukaan yang besar sehingga memudahkan terjadinya proses migrasi. Selain itu, tepung jagung dan muesli merupakan produk kering dan migrasi MOSH dan MOAH melalui fase gas, dengan demikian proses migrasi MOSH dan MOAH ke dalam kedua produk tersebut lebih mudah.

4.1.3. Metode Analisis

Berdasarkan Tabel 4 dan 5, dapat dilihat bahwa sebagian besar metode analisis MOSH dan MOAH yang dilakukan adalah gabungan dari beberapa metode, bergantung pada karakteristik bahan dan kebutuhan. Tiga besar metode analisis MOSH dan MOAH yang

banyak digunakan dalam penelitian berdasarkan Gambar 6 dan Gambar 9 adalah sama yaitu GC, FID, dan HPLC. Sampel makanan adalah matriks yang kompleks dan karena itu sistem kromatografi dengan kemampuan pemisahan yang tinggi diperlukan untuk menganalisis MOSH dan MOAH.

Alasan metode-metode tersebut paling banyak digunakan dan digabung adalah karena masing-masing metode memiliki fungsi yang berbeda. GC berperan dalam memisahkan hidrokarbon pengganggu. Sementara FID merupakan detektor yang efektif untuk menentukan MOSH dalam makanan karena memberikan respon yang sama per satuan massa untuk semua hidrokarbon jenuh dan mampu mengukur minyak mineral dengan hidrokarbon tunggal sebagai standar internal atau campuran hidrokarbon sebagai standar eksternal. Namun, GC-FID adalah metode analisis yang kurang sensitif untuk MOSH karena biasanya membutuhkan sekitar 50-100 mcg MOSH untuk membentuk puncak dengan ketidakpastian yang dapat diterima. GC-FID juga merupakan teknik yang kurang selektif; oleh karena itu, penting untuk meningkatkan selektivitas melalui preparasi sampel, yang biasanya direkomendasikan untuk penggunaan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Li *et al*, 2017). Hidrokarbon minyak mineral yang terdeteksi akan membentuk (kromatogram) *peak* komponen yang belum spesifik dalam kromatografi GC-FID dalam kisaran volatilitas yang sama. Puncak-puncak tajam MOSH sebagian besar mewakili n-alkana bernomor ganjil yang terjadi secara alami dari tumbuhan. Menurut keputusan European Commission (2002/657/EC), FID tidak direkomendasikan untuk digunakan sebagai pendeteksi identifikasi/konfirmasi zat tertentu dan residunya pada hewan hidup dan produk hewan (2002/657/EC).

Li *et al* (2017) dalam penelitiannya menggunakan metode analisis HPLC-GC-FID secara *on-line* untuk menganalisis MOSH dan MOAH dalam minyak nabati dan makanan lainnya. HPLC akan berperan sebagai kolom pemisahan memainkan peran pemurnian untuk mengisolasi MOSH dari lipid dalam makanan. Metode *on-line* berarti bahwa MOSH diekstraksi dari sampel dan disuntikkan langsung (atau setelah konsentrasi) ke dalam sistem HPLC-GC. Ada beberapa keuntungan yang terkait dengan teknik digabungkan, seperti

meminimalkan manipulasi sampel, mencegah kontaminasi sampel, dan melakukan transfer lengkap fraksi bunga ke dalam kolom GC. Oleh karena itu, metode ini sangat dapat direproduksi dan memungkinkan pemrosesan sejumlah besar sampel per hari. Namun demikian, instrumentasi gabungan yang sesuai dari HPLC-GC-FID on-line hanya tersedia di beberapa laboratorium karena harganya yang mahal. Dengan demikian, berbagai persiapan sampel off-line menggunakan kolom kromatografi cair konvensional dan ekstraksi fase padat (SPE) juga telah ditetapkan untuk analisis rutin. Karena sensitivitas FID yang lebih rendah, metode offline tersebut sering dirancang untuk memasukkan alikuot (keseluruhan) besar ekstrak sampel ke dalam instrumen FID.

4.1.4. Pelarut yang Digunakan

Berdasarkan Tabel 4 dan 5, juga dapat dilihat bahwa pelarut yang digunakan dalam analisis MOSH dan MOAH sebagian besar heksana, dan dalam beberapa penelitian merupakan campuran dari heksana dan etanol dengan perbandingan 1:1. Alasan utamanya adalah karena MOSH dan MOAH merupakan senyawa non-polar, maka diperlukan pula pelarut non-polar untuk menghasilkan analisis yang baik.

Minyak mineral merupakan kontaminan yang dapat ditemukan di mana-mana termasuk di lingkungan, sehingga kemungkinan kontaminasi tambahan yang menyebabkan analisis menjadi bias harus diminimalkan dengan cara pemilihan pelarut dengan tingkat kemurnian tinggi, pembersihan dan perawatan alat analisis dengan baik, serta kemungkinan minimalisasi penanganan sampel (*handling sampel*).

Namun demikian, metode ekstraksi sama pentingnya dengan metode analisis untuk minyak mineral dalam sampel makanan yang kompleks. Prosedur ekstraksi yang digunakan bergantung pada komposisi makanan dan sumber kontaminasi. Untuk sampel susu bubuk, hanya minyak mineral superfisial yang diekstraksi menggunakan n-heksana semalaman atau pada suhu 60, yang umumnya digunakan untuk mengekstrak minyak mineral di sebagian besar makanan (Biedermann & Grob, 2012; Zhang *et al.*, 2019).

Pada ekstraksi, sejauh ini heksana merupakan pelarut yang paling umum digunakan. Heksana dapat digunakan sendiri (tanpa pelarut lain), atau dicampur dengan pelarut lain (seperti etanol), tergantung pada kandungan lemak, kelembaban matriks, dan pada jenis kontaminasi yang akan dianalisis (termasuk kontaminasi yang berasal dari migrasi). Pelarut ini digunakan dalam ekstraksi minyak mineral dari banyak matriks, termasuk sereal atau produk kering berbasis sereal, makanan basah, minyak, lemak, dan bahan yang kontak dengan makanan (Weber *et al.*, 2018; Purcaro *et al.*, 2016).

Dalam kasus makanan kering, kontaminasi pada permukaan dapat dengan mudah diekstraksi dengan perendaman langsung dalam heksana, sedangkan untuk kontaminasi bagian dalam, diperlukan proses rehidrasi matriks seperti dengan perendaman. Kemudian, untuk matriks basah atau rehidrasi, langkah pendahuluan (*pre-treatment*) dalam etanol sangat penting untuk menggantikan air dan dengan demikian dapat membantu masuknya heksana ke pori-pori. Efek positif lain dari etanol adalah kemampuan pengembangannya terhadap pati dan daya denaturasi terhadap protein, sehingga mendukung pelepasan hidrokarbon yang terperangkap (Biedermann-Bremm *et al.*, 2011; Moret *et al.* 2014). Untuk minyak dan lemak yang dapat dimakan, pengenceran sederhana dalam heksana dilakukan, diikuti dengan langkah pemurnian *online* atau *offline*. Pengayaan (*pre-treatment*) sampel sering dilakukan untuk meningkatkan sensitivitas, dan langkah-langkah pemurnian tambahan dapat diperlukan untuk menghilangkan interferensi seperti alkana dan olefin alami.

Untuk migrasi minyak mineral dari kemasan kertas ke makanan, kertas dan kertas karton daur ulang umumnya dibiarkan terendam dalam larutan heksana/etanol (1:1 v/v) (Lorenzini *et al.*, 2010; Biedermann *et al.*, 2010). Kondisi tersebut dipilih secara tepat untuk mengurangi ekstraksi hidrokarbon dengan berat molekul tinggi yang dapat tetap berada di celah retensi, yang menyebabkan efek akumulasi dan akan muncul dalam *peak* (Biedermann & Grob, 2012). Untuk pengemas plastik, waktu ekstraksi dengan heksana murni harus dikurangi seminimal mungkin, sesuai dengan ketebalan dan permeabilitas plastik, agar tidak mengekstrak oligomer plastik dalam jumlah berlebihan. Ekstraksi MOSH dan MOAH yang cepat, alternatif, dan efisien dapat diperoleh dengan penyabunan (saponifikasi) dengan

bantuan gelombang mikro atau ekstraksi cair bertekanan (PLE). Metode PLE dinilai dapat digunakan sebagai alternatif dalam makanan kering dengan kandungan lemak rendah (Moret *et al.*, 2014).

4.1.5. Faktor yang Mempengaruhi Migrasi

Setelah mengetahui temuan kontaminasi MOSH dan MOAH, dan metode analisisnya, penting juga untuk mengetahui faktor-faktor yang mempengaruhi migrasi MOSH dan MOAH dari kemasan. Migrasi MOHs ke dalam makanan adalah proses yang kompleks, selain karena faktor lingkungan industry, faktor seperti jenis bahan kemasan makanan, waktu penyimpanan, dan suhu penyimpanan juga dapat mempengaruhi migrasi (Lorenzini *et al.* 2013; Pack *et al.* 2020; Pan *et al.* al. 2021; Wan dkk. 2021; Liu *et al* 2021).

Karakteristik Produk Pangan

Menurut Canavar *et al* (2019), migrasi sebagian besar tergantung pada isi matriks makanan dan, terutama, pada kandungan lemak bahan makanan. Hal ini disebabkan karena sifatnya yang lipofilik. Ini didukung juga oleh penelitian Zhang *et al* (2020) pada susu bubuk, lemak dalam produk susu bubuk merupakan faktor lain yang berkontribusi terhadap kontaminasi MOSH, kandungan lemak yang lebih tinggi cenderung mengarah pada tingkat kontaminan yang lebih tinggi dalam sampel.

Karakteristik Kemasan

Migrasi MOHs dari kemasan ke produk pangan dapat dipengaruhi oleh struktur kemasan, jumlah tinta yang digunakan pada kertas karton, jumlah kertas daur ulang yang digunakan, pengulangan (Canavar *et al.*, 2019). Pada penelitian Vollmer *et al* (2021) mendapatkan hasil bahwa mie (*dry food*) diketahui sering lambat menyerap dari fase gas, dibuktikan dengan migrasi pada 2 bulan pertama adalah yang terendah, tetapi meningkat pada bulan-bulan berikutnya. Dari hasil ini, diketahui bahwa ada faktor lain selain kandungan lemak dari makanan, yaitu faktor-faktor seperti porositas atau luas permukaan kontak langsung antara kemasan dan bahan pangan. Hal serupa juga ditemukan dalam penelitian Biedermann *et al.* (2013), bahwa migrasi lebih dipengaruhi oleh porositas makanan daripada kandungan lemak,

seperti dalam penelitiannya, migrasi MOSH ke oatmeal jelas lebih tinggi daripada ke biskuit berlemak.

Hal serupa juga ditemukan dalam penelitian Biedermann dan Grob (2009) menilai bahwa perbedaan porositas dan kristalinitas juga dapat mempengaruhi migrasi karena pencetakan kotak dengan tinta berbasis minyak mineral dan migrasi dari kotak transportasi luar. Hal tersebut juga ditemukan oleh Biedermann *et al* (2013) bahwa plastik PET, yang diketahui memiliki tingkat kristalinitas yang tinggi, dapat menjadi penghalang kontaminasi MOSH dan MOAH yang baik selama kurang lebih 9 bulan.

Selain itu, proses migrasi juga dapat dihalangi oleh beberapa penghalang seperti kantong interal (kemasan primer) dan adsorben. Menurut Lommatzsch *et al* (2016), memasukkan karbon aktif sebagai adsorben dinilai efektif untuk menghambat migrasi, namun kinerjanya masih perlu diverifikasi, karena uji yang dilakukan belum tentu memadai. Adsorben dapat dijenuhkan oleh senyawa dari percetakan atau makanan yang dikemas yang mengakibatkan pelepasan zat dari karton daur ulang.

Kantong internal dapat bertindak sebagai penghalang yang memperlambat atau menghalangi migrasi ke dalam makanan. Sementara aluminium foil adalah penghalang yang sangat baik, banyak bahan plastik memperlambat migrasi sampai batas yang cukup untuk berperan sebagai penghalang dalam kondisi tertentu (Biedermann *et al*, 2013)

Menurut Pan *et al* (2021) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa migrasi MOHs dari mangkuk kertas yang digunakan untuk mengemas mie instan relatif rendah, menunjukkan lapisan berongga internal dapat berfungsi sebagai penghalang fungsional yang dapat menghalangi transfer MOHs (hingga C28) melalui fase gas, meskipun lapisan luarnya terbuat dari kertas daur ulang. Migrasi MOSH relatif rendah dalam mangkuk kertas untuk mie instan dibandingkan dengan sampel lain, sementara MOAH tidak terdeteksi (batas deteksi 0,5 mg/kg) di salah satu dari delapan sampel. Struktur khas mangkuk kertas untuk mie instan termasuk tinta (luar)/kertas daur ulang/hollow/kertas murni/PE (kontak dengan

makanan). Dengan demikian, migrasi MOHs dari kertas daur ulang dapat secara efektif diblokir oleh lapisan berongga karena minyak mineral hingga C28 terutama ditransfer dari fase gas (Lommatzsch *et al.* 2016).

Uji penghalang menunjukkan bahwa lapisan penghalang pada permukaan internal kotak kardus memiliki efisiensi yang lebih rendah daripada yang ada di kantong internal (Richter *et al.*, 2014). Hal ini dapat disebabkan karena adanya masalah seperti kerusakan lapisan penghalang karena kusut, penutupan yang memaparkan permukaan luar karton ke ruang internal kotak dan produk selama penyimpanan karton di tumpukan atau gulungan.

Dalam penelitian Lorenzini *et al.* (2013), muesli dimasukkan ke dalam kantong polietilen internal, yang pertama-tama mengadsorpsi hidrokarbon dan kemudian melepaskannya sebagian ke arah makanan. Secara berbeda, kantong polipropilen eksternal, yang berisi pasta dan baki kertas daur ulang, sangat membatasi migrasi ke atmosfer dan menimbulkan tingkat kontaminasi makanan tertinggi.

Suhu dan Waktu Penyimpanan

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Lorenzini *et al.* (2013), menemukan bahwa migrasi sangat dipengaruhi oleh suhu. Dalam penelitian pada pasta telur yang langsung dikemas dalam kertas karton, dalam 8 bulan pada 20 °C sekitar 30 mg kg⁻¹ MOSH bermigrasi tetapi pada suhu 40 °C hanya dalam 1 minggu untuk jumlah MOSH yang sama. Namun, pengujian pada suhu yang meningkat tidak hanya mempercepat migrasi, tetapi juga memperluas migrasi hidrokarbon ke massa molekul yang lebih tinggi, sehingga pada penelitian yang disimulasi dengan dipercepat akan lebih sulit untuk menginterpretasikan data.

Menurut Pan *et al.* (2021) dalam penelitiannya juga menemukan tingginya migrasi MOHs dari kertas roti, yaitu MOSH dan MOAH yang masing-masing terdeteksi pada 70% dan 53% kertas roti, sedangkan migrasi rata-rata MOSH dan MOAH masing-masing adalah 3,8 mg/kg dan 0,7 mg/kg. Migrasi rata-rata MOAH ini melebihi batas tertentu 0,5 mg/kg yang diusulkan oleh Mineral Oil Ordinance. Hal ini dapat disebabkan karena kertas roti sering diproses pada

suhu tinggi, yang mempercepat gerakan molekuler termal dan menyebabkan transfer MOHs yang cukup besar.

Selain itu, proses migrasi juga dipengaruhi oleh waktu. Menurut penelitian Pan *et al.* (2021), menyatakan bahwa migrasi rata-rata MOSH dan MOAH tertinggi ditemukan pada kertas kemasan untuk penyimpanan jangka panjang (lebih dari 6 bulan), dengan migrasi rata-rata masing-masing sebesar 91,2 mg/kg dan 1,4 mg/kg.

4.2. Kontaminasi Ceramide pada Produk Pangan

Sphingolipids adalah molekul nutrisi yang sangat bioaktif. Kelas lipid ini mengandung basa rantai panjang, yang disebut basa sphingoid yang dibedakan berdasarkan panjang rantai, jumlah ikatan rangkap dan hidroksil. Sphingolipids ditemukan di banyak organisme sebagai komponen biomembran yang memiliki beragam fungsi. Sphingolipid dan metabolitnya berperan dalam pensinyalan intraseluler untuk pengaturan fungsi sel seperti diferensiasi sel dan apoptosis. Sphingolipids juga diketahui memiliki aktivitas antitumor, memperbaiki sindrom metabolik, atau mempertahankan homeostasis kulit. Kelas sphingolipid yaitu termasuk basa sphingoid bebas, ceramides, sphingophospholipids, dan glycosphingolipids (Yamaguchi & Ogawa, 2011). Basa sphingoid sangat bervariasi di antara organisme hidup tetapi sedikit dalam spesies tertentu. Sphingosin, bagian utama dari sphingoid, membentuk seramida ketika gugus aminonya dihubungkan melalui ikatan amida dengan asam lemak, umumnya asam lemak jenuh. Ceramide selanjutnya akan digunakan untuk sintesis sphingolipid lainnya, termasuk sphingomyelin. (Bourlieu *et al*, 2018). Metabolisme ceramide berperan dalam beberapa mekanisme pensinyalan yang mendasari berbagai fungsi fisiologis pada mamalia, termasuk pertumbuhan, proliferasi, motilitas, adhesi, diferensiasi, penuaan, dan apoptosis. Pada penelitian Velasco *et al* (2016), tingkat ceramide pada otak hewan meningkat setelah diberi makan diet tinggi lemak dan pada individu obesitas. Ceramide telah ditemukan dalam makanan nabati terutama beras (Paosila *et al* 2020)

Glucosylceramide (GlcCer) adalah gula sphingolipid yang terdiri dari tulang punggung sphingoid, asam lemak, dan bagian glukosa. GlcCer ditemukan pada tumbuhan, jamur, dan

hewan dan tidak ada pada bakteri dan pada beberapa eukariota seperti ragi roti *Saccharomyces cerevisiae*. Reaksi akhir dari sintesis GlcCer dikatalisis oleh enzim glukosilceramide sintase (GCS), yang mentransfer bagian glukosa dari uridin 5-difosfat (UDP)-glukosa ke gugus hidroksil C1 dari seramida melalui ikatan oksigen-glikosidik (Del Poeta *et al*, 2014)

4.2.1. Temuan Ceramide dan Sumber Kontaminasi

Berdasarkan jurnal penelitian oleh Contarini *et al* (2016) disebutkan bahwa mereka menemukan untuk pertama kalinya, keberadaan lactosyl and glucosylceramide dari lemak susu keledai, dan dikonfirmasi oleh LC-MS/MS, dan hasil awal ini menunjukkan konsentrasi ceramide yang lebih tinggi daripada yang terdeteksi pada susu dan produk susu dari spesies lain.

Selain itu, ceramide juga ditemukan pada ikan. Hal ini terjadi karena ikan relatif tidak toleran terhadap glukosa, mereka lebih mengandalkan metabolisme asam amino dan lipid. Dengan demikian, ikan menggunakan lipid sebagai sumber energi utama yang mendukung berbagai peristiwa fisiologis, perkembangan, dan reproduksi. Selain itu, mengingat biaya protein yang relatif tinggi, pakan komersial yang tersedia untuk spesies ikan dalam budidaya relatif kaya akan lipid. Memberi makan diet ini dapat menyebabkan akumulasi dalam jaringan ikan dari turunan lipid seperti ceramides. Tidak ada bukti pada ikan mengenai kemungkinan dampak ceramide dalam regulasi asupan makanan. Tapi dari penelitian didapatkan asupan makanan menurun pada ikan yang diberi perlakuan secara intraserebral ventrikular dengan ceramide dibandingkan dengan ikan kontrol, dan penurunannya signifikan setelah 6 dan 24 jam pengobatan. Secara keseluruhan, pengobatan ceramide menginduksi inaktivasi sistem penginderaan asam lemak, yaitu, respons yang umumnya bertentangan dengan yang ditimbulkan oleh peningkatan kadar asam lemak pada spesies yang sama. Respon ini juga sebanding, yang ditemukan pada mamalia. Namun, fakta bahwa perubahan dalam asupan makanan dan kelebihan mRNA dari neuropeptida terkait, yang ditimbulkan oleh pengobatan ceramide C:6 (respon anorektik) serupa dengan yang ditimbulkan pada spesies yang sama

ketika diobati dengan asam lemak menunjukkan bahwa aksi C:6 ceramide pada asupan makanan terjadi melalui mekanisme selain penginderaan asam lemak. (Velasco *et al* 2016)

Selain itu, Bourlieu *et al* (2018) juga menemukan adanya sejumlah besar ceramide di kedua produk yang diuji, dengan rasio molar ceramide: sphingomyelin sekitar 1:5 di *buttermilk* dan 1:10 di *butterserum* dan beberapa perbedaan dalam profil isoform. Sumber ceramide ini masih belum jelas, namun dalam penelitian tersebut dapat diperkirakan bahwa ceramide sudah ada sebelumnya dalam sitoplasma dan/atau trilayer membran globula lemak susu atau *ceramides neoformed* yang dikeluarkan dari hidrolisis SM dalam produk bersama oleh *sphingomyelinase*. ASI juga sangat mungkin mengandung sejumlah kecil ceramide yang berasal dari *sphingomyelin* sebagai *sphingomyelinase* asam (Bourlieu *et al*, 2018)

Fujino *et al.*, (1985) dalam Paosila *et al* (2020) menemukan keberadaan ceramide di dalam beras. Berdasarkan proses pengolahan beras, beras kasar awalnya digiling untuk menghilangkan lapisan kulit endosperma untuk mendapatkan beras yang bersih. Dedak padi merupakan produk sampingan penting dari beras. Dedak padi mengandung vitamin, mineral, asam lemak esensial, serat pangan, fitosterol dan ceramide (Gul *et al.*, 2015). Kandungan ceramide dalam dedak padi ditemukan lebih tinggi daripada endosperma padi. Oleh karena itu, dedak padi mungkin bisa menjadi sumber utama ceramide. Dedak padi umumnya diproses dengan menggunakan metode *cold-press* untuk mendapatkan minyak mentah sebelum diendapkan pada suhu rendah atau proses musim dingin untuk mengendapkan lilin dedak padi, yang mengandung asam lemak, alkohol lemak dan ester (Vali *et al.*, 2005).

Selain itu, Yamaguchi & Ogawa (2012) menyebutkan bahwa banyak dari ceramide mungkin berasal dari alat dan bahan yang digunakan dalam produksi kecap. Hidrolisis serebrosida pada ikatan glikosidiknya selama produksi kecap dapat membebaskan beberapa dari seramida ini. Seramida yang tidak sesuai mungkin berasal dari sumber lain, atau mungkin dari pertukaran asam lemak.

Dari penjabaran sumber-sumber atau temuan-temuan ceramide pada bahan pangan, dapat diketahui bahwa ceramide ada di dalam makanan melalui dua kemungkinan. Pertama memang sudah terkandung di dalam produk pangan, yang kedua adalah melalui kontaminasi. Kandungan ceramide pada bahan pangan, biasanya ditemukan atau terdeteksi pada komponen yang mengandung lemak. Selain itu, keberadaan ceramide yang disebabkan oleh kontaminasi dapat berasal dari alat dan bahan yang digunakan untuk proses produksi.

4.2.2. Metode Analisis

Secara struktural, ceramide terdiri dari alkohol amino rantai panjang, yang disebut sebagai basa sphingoid atau basa rantai panjang (LCB), yang dihubungkan secara kovalen melalui ikatan amida ke rantai asil lemak. Basa sphingoid dan asam lemak dapat bervariasi dalam panjang, derajat ketidakjenuhan atau hidroksilasi, sehingga menimbulkan kelompok molekul yang sangat kompleks dan beragam, ceramide. Molekul lipid ini telah terbukti sangat sulit untuk dipelajari karena sifatnya yang apolar, keragaman yang sangat besar, dan tingkat yang relatif rendah dalam sampel biologis. (Cremesti & Fischl, 2000)

Pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa metode untuk analisis ceramide cukup beragam, dan dalam beberapa penelitian menggunakan metode gabungan. Beberapa metode analisis kromatografi untuk glukosilceramide yang digunakan yaitu HPLC dengan deteksi tering hamburan cahaya evaporatif (LC/ELSD), HPLC yang dihubungkan dengan spektrometri massa (LC/MS) atau dengan tandem spektrometri massa (LC/MS/MS) (Contarini *et al.*, 2017). Metode LC/MS/MS diketahui memiliki selektivitas dan sensitivitas tinggi untuk identifikasi dan kuantifikasi glukosilceramide, sehingga dinilai ampuh untuk analisis sfingolipid kompleks dalam makanan. Namun, metode belum digunakan secara rutin di laboratorium analitik karena instrumennya cukup mahal.

Dalam penelitian terdahulu yang disebutkan oleh Goto *et al* (2012), HPLC pra-kolom yang sangat sensitif dengan metode derivatisasi (proses mengubah sifat-sifat suatu senyawa agar sesuai untuk digunakan dalam analisis) *O-phthalaldehyde* (OPA) untuk basa sphingoid juga telah digunakan, tetapi karena turunan OPA tidak stabil, waktu dari derivatisasi hingga

analisis HPLC harus dikontrol secara ketat. Sehingga Goto *et al* (2012) dalam penelitiannya mengembangkan metode penentuan menggunakan HPLC pasca-kolom online dengan derivatisasi OPA untuk basa sphingoid yang diperoleh dari glukosilceramidea melalui hidrolisis HCl berair. Goto *et al* (2012) menggunakan kondisi HPLC yang dioptimalkan, pemisahan dan linearitas yang baik tercapai. Hasil yang didapatkan adalah metode tersebut dapat digunakan untuk analisis basa sphingoid yang diperoleh dari hidrolisis HCl berair glukosilceramidea dalam beras dan gandum, yang dipilih sebagai sampel makanan yang mengandung glukosilceramidea. Dalam penelitian ini, glukosilceramidea dan seramidea yang tidak memiliki gugus gula tidak dipisahkan sebelum dianalisis. Metode OPA dinilai cukup sederhana, murah, dan stabil dengan deteksi fluoresensi turunan, sehingga dapat menjadikannya teknik baik untuk analisis basa sphingoid dalam makanan.

Untuk menyelidiki kandungan ceramide dalam beras dan produk sampingannya, langkah hidrolisis asam dinilai baik untuk meningkatkan kemurnian ceramide dan diterapkan dalam GC atau HPLC. Larutan asam kuat mampu mengisolasi total seramidea atau seramidea terhidrolisis dari lipid kompleks dan asam lemak dan juga menghilangkan residu gula dalam glukosilceramidea, yang merupakan struktur utama seramidea alami dalam beras (Goto *et al.*, 2012; Yamaguchi dan Orgawa, 2012). Metode berbasis GC dengan kolom kapiler dan detektor yang sesuai telah digunakan untuk mengidentifikasi senyawa lipofilik (Paosila *et al* 2020).

Deteksi ultraviolet (UV) tidak mungkin digunakan untuk menganalisis karena kurangnya kromofor dalam molekul ceramide. Berbagai metode telah dikembangkan berdasarkan turunan ceramide dengan senyawa fluoresen atau penyerap UV dan identifikasi dan kuantifikasi dari turunan ceramide. Cremesti & Fischl (2000) menyatakan penggunaan HPLC digunakan karena kecepatan, reproduktifitas, dan sensitivitasnya selain tingkat resolusi yang tinggi yang dicapai dengan penggunaan fase diam dan fase gerak yang tepat namun belum dapat digunakan secara optimal.

Berdasarkan Gambar 11, metode lain yang banyak digunakan diantara metode lain yang dibahas adalah metode TLC. Dalam proses ekstraksi, lipid biasanya mengalami hidrolisis basa ringan diikuti dengan pemisahan pada pelat silika gel dengan proporsi kloroform/metanol/asam asetat yang berbeda. Identifikasi ceramide biasanya dilakukan dengan pewarnaan dengan tembaga sulfat dalam asam ortofosfat atau asam sulfonat 8-anilino-1-naftalena dan kuantisasi dilakukan dengan densitometry. Namun, pemisahan ceramide tidak dapat dicapai dengan satu kali TLC dan diperlukan pemisahan fraksi ceramide terlebih dahulu, lalu TLC untuk kedua kalinya. Meskipun metode ini sensitif, TLC cukup memakan waktu dalam analisisnya, dan kapasitas TLC kinerja tinggi terlalu rendah untuk memisahkan sejumlah besar. Dalam hal ini, HPLC lebih efisien digunakan dalam analisis (Cremesti & Fischl 2000)

4.2.3. Pelarut yang Digunakan

Beberapa lipid, seperti sphingolipids, memiliki kelarutan yang terbatas atau sangat buruk dalam banyak pelarut umum seperti kloroform, heksana, etil eter, dan bahkan metanol. Untuk mengatasi masalah kelarutan ini, berbagai campuran pelarut telah dikembangkan. Salah satu pelarut sphingolipid yang paling universal adalah campuran kloroform/metanol/air. Namun, sementara sistem pelarut ini sangat berguna untuk pengujian analitik, namun sangat beracun terhadap sel dan tidak dapat digunakan dalam kultur sel hidup atau aplikasi in vivo lainnya. Beberapa metode alternatif telah dikembangkan untuk menyediakan larutan sphingolipid yang cocok untuk studi sel hidup. Meskipun metode ini terutama dikembangkan untuk seramida dan glukosilceramida, metode ini dapat diadaptasi untuk digunakan dengan lipid lain.

Jika ada dalam jumlah yang cukup, seramida dapat langsung dimurnikan dengan prosedur dua langkah termasuk pemisahan dengan kromatografi kolom yang dikombinasikan dengan TLC. Pemisahan pada kolom silika gel, memungkinkan elusi dengan aseton/metanol dari fraksi yang mengandung semua glikolipid dan seramida. Ceramide dimurnikan sebagai fraksi lipid netral. Setelah penguapan pelarut, ekstrak lipid dapat dikromatografi pada pelat silika gel untuk mengisolasi tempat ceramide.

4.3. Efek Toksisitas

4.3.1. MOSH MOAH

MOSH adalah salah satu pemicu gangguan kesehatan. Penumpukan MOSH dapat terjadi pada hati dan jaringan limfoid yang kemudian mengakibatkan peradangan. Sementara itu, MOAH dapat bersifat karsinogenik (menyebabkan kanker), tetapi saat ini belum ada data memadai untuk menentukan ambang batas MOAH pada makanan. Walaupun demikian, masuknya MOAH ke dalam makanan harus diminimalkan mengingat sifatnya sebagai karsinogen.

MOHs adalah campuran kompleks hidrokarbon yang terutama berasal dari minyak bumi; mereka dibagi menjadi hidrokarbon jenuh minyak mineral (MOSH) dan hidrokarbon aromatik minyak mineral (MOAH). MOSH telah dikaitkan dengan pembentukan mikrogranuloma hati; namun, karena insiden lipogranuloma yang rendah dalam populasi, lipogranuloma tidak dianggap berbahaya secara toksikologi (Jaen *et al.*, 2022). Di sisi lain, fraksi MOAH dianggap paling berbahaya bagi kesehatan manusia karena adanya tiga atau lebih cincin aromatik dalam senyawa tersebut dapat menimbulkan aktivitas genotoksik dan karsinogenik (EFSA, 2012). Fraksi ini terutama terdiri dari hidrokarbon aromatik mono atau polisiklik teralkilasi dan juga mengandung, pada tingkat lebih rendah, hidrokarbon aromatik non-alkilasi dan senyawa aromatik dengan heteroatom, sebagian besar belerang (EFSA, 2012).

Berdasarkan tabel hasil analisis data, dapat diketahui sebagian besar kontaminasi MOSH dan MOAH melebihi batas yang ditentukan oleh Belgian Food Safety Authority (FAVV) (2017) dan European Commission's Standing Committee on Plants, Animals, Food and Feed – PAFF (2022). Hal ini dapat menyebabkan gangguan kesehatan jika mengonsumsi produk pangan yang terkontaminasi dalam jumlah banyak.

Biedermann *et al* (2013) dalam penelitiannya menggunakan ADI 0,01 mg/kg berat badan yang ditentukan pada tahun 2002 oleh JECFA sebagai tolok ukur untuk evaluasi minyak

mineral dalam makanan yang sangat halus dengan massa relatif rata-rata di bawah 480 Da dan titik distilasi 5% di bawah n-C25 (JECFA 2002). Dari ADI ini, konsentrasi aman maksimum 0,6 mg/kg dalam makanan diperoleh (Biedermann & Grob 2010). Sementara itu, Otoritas Keamanan Pangan Eropa (EFSA) menerbitkan pendapat tentang minyak mineral yang mempertanyakan validitas evaluasi JECFA dari tahun 2002, tetapi mengingatkan kekurangan dalam database toksisitas, tidak ada ADI baru yang ditentukan.

Penyerapan alkana dapat terjadi melalui sistem limfatik. Untuk n- dan siklo-alkana, penyerapannya bervariasi dari 90% untuk C14-C18 hingga 25% untuk C26-C29. Penyerapan semakin menurun dengan meningkatnya jumlah karbon. Namun, data hanya menunjukkan bahwa siklo-alkana diserap pada tingkat yang sama dengan n-alkana dengan berat molekul yang sebanding, sedangkan penyerapan alkana bercabang lebih sedikit. Alkana awalnya dioksidasi menjadi alkohol lemak yang sesuai oleh sistem sitokrom P450, kemudian dibiotransformasi menjadi asam lemak dan dalam beberapa kasus mengalami jalur oksidasi normal. Reaksi ini lebih cepat untuk n-alkana daripada untuk bercabang- dan siklo-alkana. Karena tingkat biotransformasi yang rendah, khususnya untuk beberapa cabang dan siklo-alkana, MOSH yang memiliki nomor karbon antara 16 dan 35 dapat terakumulasi dalam jaringan yang berbeda termasuk jaringan adiposa, kelenjar getah bening, limpa dan hati. Pada tikus, waktu paruh terminal MOSH dalam darah (diperkirakan dari minyak putih P15(H)) adalah antara 23 dan 59 jam, tergantung pada jenisnya. Namun, ini mencerminkan penghapusan MOSH yang mudah terdegradasi. Meskipun informasi terbatas tentang toksikokinetik MOAH, data yang tersedia menunjukkan bahwa senyawa ini diserap dengan baik dan didistribusikan dengan cepat ke semua organ. Data juga menunjukkan bahwa MOAH dimetabolisme secara ekstensif dan tidak mengalami bioakumulasi. Konsentrasi MOSH dalam jaringan manusia (terutama kelenjar getah bening, hati, limpa dan jaringan adiposa) menunjukkan bahwa akumulasi senyawa ini, sebagian besar bercabang dan siklo-alkana, terjadi pada manusia.

MOSH dan MOAH memiliki toksisitas oral akut yang rendah dan toksisitas akut tidak relevan dalam konteks pola paparan MOHs melalui makanan. Alkana dengan berat molekul

rendah dapat menyebabkan nefrotoksisitas terkait 2u-globulin pada tikus jantan. Efek ini diketahui tidak memiliki relevansi biologis bagi manusia. Campuran MOSH dengan jumlah karbon dalam kisaran C10-C13 menyebabkan hipertrofi sel hati sedang, tetapi tanpa adanya efek patologis, Panel CONTAM tidak menganggap ini sebagai efek samping.

Pada tikus, bioakumulasi MOSH dapat menyebabkan pembentukan mikrogranuloma di hati dan kelenjar getah bening mesenterika (MLN). Mikrogranuloma pada MLN dianggap berisiko rendah karena tidak berhubungan dengan respon inflamasi atau nekrosis, dan tidak berkembang menjadi merugikan. Selain itu, menurut penelitian terdahulu, ini tidak menunjukkan efek apapun pada fungsi imun. Pada hati tikus, mikrogranuloma dikaitkan dengan reaksi inflamasi. Pada manusia yang terpapar MOSH, mikrogranuloma telah diamati di hati, limpa, kelenjar getah bening dan organ lain, tetapi perubahan ini tidak dikaitkan dengan reaksi inflamasi atau konsekuensi merugikan lainnya. Namun, informasi tentang tingkat paparan di mana efek ini terjadi pada manusia tidak ada informasi.

Semua MOHs bersifat mutagenik kecuali jika diperlakukan secara khusus untuk menghilangkan MOAH. Mutagenisitas MOHs terutama disebabkan oleh 3-7 cincin MOAH, termasuk PAH non-alkilasi. PAH ini terutama dibentuk oleh pemanasan minyak, dan merupakan sebagian kecil dari MOAH. Beberapa di antaranya tercakup dalam program pemantauan dalam makanan. Banyak MOAH dengan tiga atau lebih cincin aromatik dan sedikit atau tanpa alkilasi, dan analog yang mengandung heterosiklik, dapat diaktifkan oleh enzim P450 menjadi karsinogen genotoksik yang reaktif secara kimia. Ini juga membentuk aduk DNA. MOSH tidak karsinogenik, meskipun MOSH rantai panjang dapat bertindak sebagai promotor tumor pada dosis tinggi. Beberapa MOAH yang sangat teralkilasi juga dapat bertindak sebagai promotor tumor, tetapi mereka sendiri bukan karsinogen. Beberapa MOAH sederhana, seperti naftalena, bersifat karsinogenik dengan cara kerja non-genotoksik, yang melibatkan sitotoksisitas dan regenerasi proliferasi (EFSA, 2012).

4.3.2. Ceramide

Sphingolipids dapat ditemukan dengan mudah dalam organisme eukariotik. Ceramide yang berasal dari hewan dan metabolitnya memainkan peran penting sebagai mediator intraseluler diferensiasi dan apoptosis sel (Goto *et al*, 2012). Ceramide adalah zat antara lipid yang berpotensi toksik yang mengandung satu rantai asil lemak yang terkondensasi dengan sphingosine. Kelebihan asil-CoA dapat merangsang produksi ceramide melalui asilasi yang ditingkatkan dalam sintesis *de novo*. Fenomena ini dinilai dengan penentuan kuantitatif ceramide yang mengandung salah satu dari empat asam lemak dengan menggunakan analisis LC-MS/MS dari sampel sel.

Penemuan bahwa sel-sel kanker yang resistan terhadap obat secara khas mengandung glukosilceramidea tingkat tinggi. Kemampuan sel untuk meningkatkan metabolisme ceramide akan membentuk jalur kelangsungan hidup dan mewakili penentu molekuler resistensi obat. Lucci *et al* (1999) menemukan bahwa ceramide, yang ditambahkan ke media pertumbuhan, tidak beracun bagi sel MCF-7-AdrR, karena secara efisien diubah menjadi glucosylceramide. Sebaliknya, ceramide dimetabolisme dengan buruk menjadi glucosylceramide dan beracun bagi sel MCF-7. Selain itu, trifeniletiena anti-estrogen, yang diketahui memodulasi resistensi obat, juga menghambat konversi ceramide menjadi glukosilceramidea.

Glucosylceramide memiliki peran unik dan sering ambigu dalam sel mamalia. Aktivasi glukosilceramidea sintase, enzim yang menempatkan bagian glukosil pada seramida, adalah langkah pertama yang berkomitmen pada jalur untuk produksi glikosfingolipid yang lebih kompleks seperti laktosilceramidea dan gangliosida. Perubahan tingkat glukosilceramidea dicatat dalam sel dan jaringan sebagai respons terhadap penyakit kardiovaskular, diabetes, gangguan kulit, dan kanker. Secara keseluruhan, *upregulation* glucosylceramide menawarkan perlindungan seluler dan sel-sel prima untuk proliferasi. Kelebihan glukosilceramide yang berkepanjangan merugikan, seperti yang terlihat pada penyakit Gaucher pada manusia (Messner *et al*, 2010)