

Penetapan Kadar Kolesterol Daging Itik Menggunakan Metode *High Performance Liquid Chromatography* di Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan – Bogor

Siti Rahmawati¹, Puji Rahayu², Aminullah^{3*}

¹Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Universitas Djuanda, rahmawatisiti493@gmail.com

²Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan, puji_latif@yahoo.com

³Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Universitas Djuanda, aminullah@unida.ac.id

ABSTRAK

Kolesterol merupakan komponen pembangun esensial tubuh untuk sintesis zat penting seperti membran sel. Tujuan dari kajian ini yaitu untuk mempelajari analisis secara langsung proses analisis kolesterol pada daging itik metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah praktik langsung yang melibatkan wawancara, rekaman audio, diskusi, tinjauan pustaka, dan observasi melalui pengamatan langsung terhadap kegiatan lapangan. Analisis data dilakukan dengan analisis deskriptif kualitatif. Dari hasil pengujian yang telah dilakukan dapat dikatakan kadar kolesterol semua sampel masih termasuk normal dengan nilai 94,405 - 170,882, perbedaan kolesterol dapat dipengaruhi oleh faktor genetik, nutrient, dan pakan. Dalam pengujian metode HPLC ini banyak dipengaruhi oleh tahap preparasi sampel dan pelarut yang digunakan, pelarut ekstraksi juga mempengaruhi kebersihan kromatogram dari puncak pengotor selain puncak kolesterol.

Kata Kunci: daging *Anas domesticus*, ekstraksi, kajian kolesterol, kromatografi cair, saponifikasi.

PENDAHULUAN

Daging merupakan salah satu sumber pangan hewani yang seringkali di konsumsi manusia karena kandungan zat gizinya yang dibutuhkan tubuh salah satunya adalah daging itik. Daging itik relatif banyak disukai masyarakat yang kandungan protein dan lemaknya tidak berbeda jauh dengan daging ayam (Matitaputty & Suryana, 2010). Daging itik mengandung kurang lebih 5,71% lemak dan 0,60% kolesterol yang kandungan lemaknya lebih tinggi 8,2% dari daging ayam (Septinova et al., 2020). Tingginya kandungan lemak dan kolesterol pada daging itik menjadi pertimbangan masyarakat dalam mengonsumsi daging itik.

Kolesterol merupakan komponen pembangun esensial tubuh untuk sintesis zat penting seperti membran sel. Konsumsi kolesterol yang dianjurkan dalam sehari yaitu ≤ 300 mg, apabila mengonsumsi kolesterol dalam jumlah berlebih dapat mengakibatkan kematian karena mengalami peningkatan kolesterol dalam darah yang disebut hiperkolesterol (Listiyana et al., 2013). Selain itu peningkatan kadar kolesterol disebabkan sering mengonsumsi makanan tinggi kolesterol, oleh karena itu penentuan kadar kolesterol dalam pangan menjadi penting. Beberapa metode yang dapat digunakan dalam menentukan kadar kolesterol yaitu diantaranya kromatografi gas (GC), spektrofotometri UV-VIS, dan kromatografi cair tingkat tinggi (HPLC) dengan detektor UV. Metode kromatografi gas dapat mendeteksi kolesterol hingga konsentrasi $4,00 \mu\text{g/mL}$, metode spektrofotometer UV-VIS terdeteksi hingga $14 \mu\text{g/mL}$ dan metode HPLC-UV terdeteksi hingga $0,08 \mu\text{g/mL}$. (Lioe et al., 2013). Aminullah et al. (2018a; 2018b) telah melakukan pengujian kandungan asam lemak pada berbagai jenis lemak hewani dengan menggunakan metode kromatografi gas.

Tujuan dari kajian ini adalah untuk mempelajari analisis secara langsung proses analisis kolesterol pada daging itik metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat - alat yang digunakan dalam metode penentuan kolesterol adalah HPLC Agilent 1100 series, neraca analitik, rotary evaporator, waterbath, vortex, tabung sentrifuse 100 mL, pipet volumetric 5 mL dan 1 mL, labu evaporator, gelas piala, sudip, mikropipet, pipet tetes, bulp, rak, corong pemisah, syringe, botol vial dan botol aquades.

Bahan bahan yang digunakan dalam metode penentuan kolesterol adalah enam sampel daging itik, standar kolesterol 8000 ppm, KOH 10%, dietil eter, distilated water (dw), methanol 1c, asetonitril 1c dan 2-propanol 1c.

Ekstraksi sampel

Sampel daging itik ditimbang sebanyak ± 1 g dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse 100 mL dihomogenizer dan ditambah 1 mL KOH 10%. Sampel disaponifikasi langsung dalam waterbath selama 45 menit dengan suhu 70 °C, setiap 10 menit di shake. Bagian yang tidak tersaponifikasi diekstrak dengan larutan dietil eter sebanyak 5 mL dan dw sebanyak 2 mL di dalam labu pemisah. Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali dengan pengenceran menggunakan dw hanya satu kali. Fase dietil eter ditampung pada labu evaporasi 50 mL, lalu sampel dievaporasi di rotary evaporator pada suhu 45 °C. fraksi yang tidak terevaporasi dilarutkan dengan 1 mL fase gerak, lalu difilter dan dipindahkan ke dalam botol vial untuk diinjek ke HPLC.

Pembuatan larutan

Larutan fase gerak : Pembuatan dilakukan dengan cara mencampurkan asetonitil LC, methanol LC dan 2-propanol LC dengan perbandingan 7:3:1.

Larutan untuk standar :Pembuatan dilakukan dengan cara larutan standar kolesterol 8000 ppm diencerkan dengan larutan fase gerak menjadi 4000 ppm, 2000 ppm, 1000 ppm, 500 ppm, dan 250 ppm pada botol vial.

Analisis dengan HPLC

Sebanyak 20 μ l sampel dan standar diinjeksikan ke dalam HPLC Agilent 1100 series. Adapun kondisi HPLC adalah sebagai berikut :

- ⊙ Sistem: Fase terbalik
- ⊙ Fase gerak: Asetonitril : Methanol : 2 – Propanol (7:3:1)
- ⊙ Kecepatan alir: 1,6 mL/ menit
- ⊙ Detektor: UV 205 nm
- ⊙ Kolom: Silica C – 18

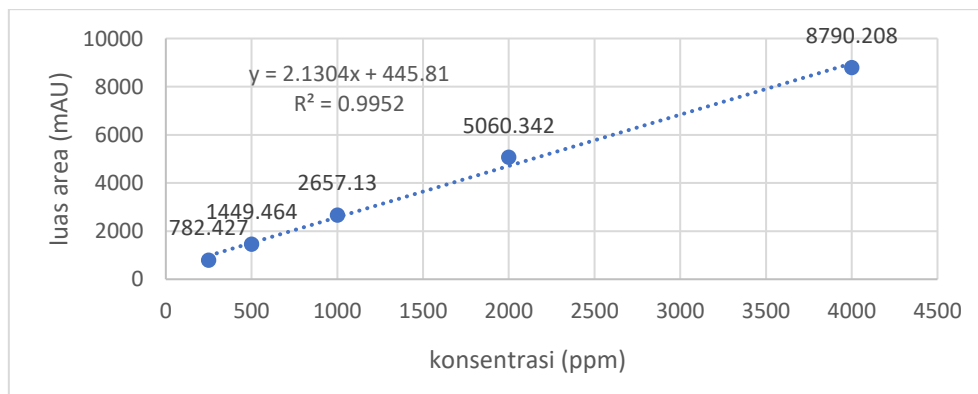
Standar dan sampel yang telah siap diuji diletakan pada auto sampler yang selanjutnya diinjeksi secara otomatis oleh jarum khusus ke aliran fase gerak. Kemudian dialirkan melalui kolom fase diam dan terjadi proses pembacaan sinyal yang digambarkan melalui kromatogram

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Deret standar dapat dilihat pada Gambar 1 dan parameter linearitas pada Tabel 1.

a. Deret standar dan parameter linear



Gambar 1. Kurva Kalibrasi Kolesterol

Tabel 1. Parameter dan Nilai Pengujian Linearitas

Parameter	Nilai
Linearitas (rentan (ppm))	4000 – 250
Koefisien korelasi (r)	0,9952
Intercept (a)	445,81
Kemiringan (b)	2,1304

b. Larutan sampel daging itik

Hasil pengujian sampel daging itik dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengujian Sampel Daging Itik

Sampel	Ulangan	Waktu Retensi (Menit)	Luas Puncak (mAU)	Total Kolesterol (mg/kg)	Total Rata-rata Kolesterol mg/100g
A	1	3,441	2328,62817	927,37993	98,246
	2	3,427	2569,70483	1037,89754	
B	1	3,407	2926,76392	1202,50224	119,734
	2	3,393	2906,26025	1102,18580	
C	1	3,441	4140,61572	1758,05565	170,882
	2	3,389	3925,82715	1659,58938	
D	1	3,383	3458,23022	1445,22731	165,345
	2	3,392	4366,64990	1861,67728	
E	1	3,378	3830,82617	1616,03776	156,791
	2	3,383	3620,86157	1519,78296	
F	1	3,379	2965,51172	1219,34866	123,681
	2	3,380	3041,70581	1254,27858	
G	1	3,374	2397,61060	959,00378	94,504
	2	3,378	2336,68018	931,07124	
H	1	3,375	2270,12695	900,56101	95,204
	2	3,368	2494,69678	1003,51134	
I	1	3,367	2416,18286	967,51793	98,063
	2	3,362	2473,37549	993,73694	
J	1	3,359	3247,76050	1348,74094	139,247
	2	3,376	3438,55518	1436,20761	
Rata-rata		3,388	3057,829	1257,216	126,1715

Pembahasan

Kolesterol pada tubuh berasal dari dua sumber, kolesterol eksogen dan kolesterol endogen yaitu kolesterol yang diproduksi sendiri oleh tubuh. Sintesis kolesterol dalam tubuh terjadi melalui jalur asetil koenzim A tergantung kandungan kolesterol makanan yang disebut kolesterol de-novo untuk mendukung berbagai proses biologis tubuh yang membutuhkan kolesterol (Muliani, 2014). Untuk menghindari kelebihan kolesterol dalam tubuh maka dilakukan pengujian kadar kolesterol pada pangan menggunakan metode HPLC-UV pada enam sampel daging itik dengan masing-masing dua kali pengulangan. Sebelum dianalisa menggunakan instrument HPLC, sampel daging itik perlu melalui tahap preparasi sampel terlebih dulu. Tahap paling kritis dalam analisis kolesterol adalah tahap preparasi sampel dan ekstraksi sampel ditentukan oleh matriks bahan pangan (Lioe et al., 2013). Proses saponifikasi merupakan tahap awal dan kritis dalam pengujian kolesterol untuk melepas kolesterol dari komponen lain pada matriks pangan. Pada saponifikasi sampel daging itik menggunakan KOH 10 % dengan suhu 70°C. Saponifikasi atau penyabunan adalah reaksi hidrolisis asil gliserida menjadi gliserol dan garam asam lemak, gliserida yang berikatan dengan kolesterol bersifat mengganggu pada proses analisis kolesterol sehingga untuk melepas ikatan ester dapat terlepas pada tahap penyabunan. Selain itu, konsentrasi KOH dan lama waktu saponifikasi berpengaruh pada jumlah analit yang terekstrak. Rata-rata suhu yang digunakan antara 25–80 °C (Faridah et al., 2020).

Selain saponifikasi, ekstraksi sampel juga mempengaruhi hasil kromatogram yang bebas dari pengotor. Umumnya kolesterol yang bersifat non polar atau polaritasnya rendah dalam campuran saponifikasi harus diekstraksi menggunakan pelarut yang mampu tercampur dengan baik dan menghasilkan ekstraksi fase homogen. Ekstraksi dapat menggunakan eter atau heksan karena kolesterol dalam campuran yang disabunkan memiliki polaritas rendah yang harus diekstraksi dengan pelarut yang mampu tercampur dengan baik dalam lingkungan air-etanol serta

menghasilkan ekstraksi homogen (Dinh et al., 2008). Dalam pengujian ini digunakan dietil eter sebagai pengekstrak yang diulang tiga kali hingga larutan terpisah dan larutan dietil eter diambil untuk selanjutnya dievaporasi pada rotary evaporator. Kromatogram dalam penelitian yang menggunakan eter sebagai pelarut ekstraksi menunjukkan beberapa puncak yang signifikan selain puncak kolesterol (Dinh et al., 2008). Hal ini terjadi pada hasil kromatogram dengan adanya beberapa puncak pengotor selain puncak kolesterol. Setelah diekstraksi selanjutnya sampel dievaporasi pada rotary evaporator hingga kering, hal ini bertujuan untuk memekatkan atau menjenuhkan larutan yang terdiri dari pelarut yang mudah menguap dan yang tidak mudah menguap (Herfianto et al., 2014). Analit yang tersisa ditambah 1 mL fase gerak kemudian di vortex agar larutan fase gerak tercampur sempurna dengan analit, sampel dimasukkan ke dalam vial dan siap untuk diinjek.

Pada analisis kolesterol pada daging itik ini menggunakan kolom C-18, detektor UV-VIS pada 205 nm dengan komposisi fase gerak berupa campuran asetonitril LC, methanol LC, dan 2-propanol LC dengan perbandingan 7:3:1 melalui teknik elusi gradien dengan laju alir 1,6 mL/menit dan volume injeksi 20 µl. Fase HPLC yang digunakan pada Analisa ini yaitu fase terbalik (reversed phase), pada sistem ini interaksi fase diam dan fase gerak berupa ikatan hydrogen dan interaksi hidrofilik. Kolesterol yang merupakan molekul hidrofobik akan bertahan lebih lama dengan fase diam yang bersifat non polar sehingga membutuhkan fase gerak polar dengan konsentrasi lebih besar untuk mengelusi seperti methanol (Faridah et al., 2020). Prinsip dasar HPLC yaitu pemisahan analit berdasarkan kepolarannya yang diawali dengan sampel diinjeksi ke dalam injektor yang kemudian dibawa oleh fase gerak ke dalam kolom dan terjadi interaksi antara komponen dengan fase diam. Perbedaan sifat kepolaran antara sampel dan fase diam mengakibatkan tingkat elusi berbeda, perbandingan waktu elusi komponen sampel dan standar digunakan sebagai penentu kadar komponen sampel dengan kurva kalibrasi dari injeksi standar. Mekanisme kerja HPLC yaitu fase gerak membawa analit ke dalam fase diam menggunakan

pompa reciprocating, sampel dalam vial diinjeksikan menggunakan jarum suntik ke lubang injeksi. Interaksi komponen sampel terjadi di kolom yang berperan sebagai fase diam, komponen yang tidak sama dengan fase gerak akan melewati detektor yang berupa perangkat pemasok sinyal terkait jumlah sampel yang diinjeksikan. Selanjutnya perekaman yang akan menerjemahkan sinyal detektor ke dalam kromatogram (Skoog et al., 2007). Instrumen HPLC yang digunakan dalam kajian ini dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Instrument HPLC aligent

Setelah larutan standar kolesterol diinjeksikan pada HPLC didapatkan hasil pada Gambar 1 kurva kalibrasi standar. Uji linearitas pada kolesterol ditetapkan dengan membuat deret standar sebanyak lima konsentrasi dengan rentang 250 ppm sampai 4000 ppm pada Panjang gelombang 205 nm. Linearitas merupakan kemampuan metode analisis yang memberi respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Parameter ini berupa kurva kalibrasi yang menghubungkan respon (y) dengan konsentrasi (x), pengukuran dapat dilakukan dengan pengukuran tunggal pada konsentrasi yang berbeda yang kemudian ditentukan nilai kemiringannya (slope), intersep dan koefisien korelasinya (Harmita, 2004). Dikatakan linear jika suatu metode menghasilkan koefisien korelasi $> 0,9900$ (AOAC, 2005), dari pengujian kolesterol dihasilkan persamaan linear yaitu $y = 2,1304x + 445,81$ dengan koefisien korelasi 0,9952. Nilai koefisien korelasi $0,9952 > 0,9900$, berdasarkan hasil yang didapat menunjukkan adanya hubungan berbanding lurus antara konsentrasi standar dengan luas area

puncak dan menunjukkan pengujian ini memiliki linearitas yang baik karena memenuhi syarat koefisien korelasi.

Hasil ekstraksi sampel daging itik yang telah dianalisis menggunakan alat HPLC pada Tabel 2 menunjukkan bahwa semua sampel terdeteksi mengandung kolesterol dengan rentan konsentrasi dari 90,06 mg/100 g hingga 186,17 mg/100 g. Setiap sampel dilakukan pengujian secara duplo, hal ini bertujuan untuk mendapatkan data dengan tingkat keakuratan yang tinggi dari sampel (Karlina et al., 2022). Kandungan kolesterol dalam produk daging dan olahannya yaitu 262-3010 mg/100 g dan hindari pangan yang mengandung 300 mg/100g kolesterol karena dapat beresiko penyakit jantung (Lioe et al., 2013). Dalam Arti (2019) menyebutkan kadar kolesterol normal pada itik sekitar 125-200 mg/100 g. Penelitian lain menunjukkan kandungan kolesterol daging itik sebesar 166,91 mg/100 g pada bagian dada dan 188 mg/100 g pada bagian paha, sedangkan kolesterol ayam kampung pada bagian dada 177,47 mg/100 g dan 187,95 mg/100 g pada bagian paha. Perbedaan ini dipengaruhi oleh pakan dan umur potong yang berbeda, selain itu setiap unggas memiliki kemampuan sintesis kolesterol yang berbeda yang sangat dipengaruhi oleh kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan. Daging yang berwarna putih (daging dada) kandungan kolesterolnya lebih rendah dibandingkan daging berwarna gelap (daging paha) karena kandungan asam lemak jenuh lebih rendah pada bagian dada (Ismoyowati & Widiyastuti, 2003). Penelitian lain menyebutkan sosis yang menggunakan daging dada lebih rendah kandungan kolesterolnya dibandingkan paha. Hal ini terjadi karena daging dada memiliki warna terang yang mengandung lemak lebih rendah dibandingkan daging paha yang berwarna gelap. Kadar lemak berbanding lurus dengan kadar kolesterol yaitu semakin tinggi kadar lemak maka menghasilkan kadar kolesterol yang tinggi dan sebaliknya (Dwiloka et al., 2021). Sampel daging itik G menunjukkan rata-rata kandungan kolesterol paling sedikit yaitu 94,504 mg/100g dan sampel daging itik C paling banyak yaitu 170,882mg/100g. pada hasil penelitian Muliani (2014) menunjukkan rerata kadar kolesterol itik pengging 58,355 mg/100g, itik Tegal 64,862

mg/100g, dan itik Magelang 57,656 mg/100g yang dipengaruhi faktor genetik, nutrient, atau pakan serta menunjukkan perbedaan besar dengan hasil pengujian yang telah dilakukan di BPMSPH. Dari hasil pengujian yang telah dilakukan dapat dikatakan kadar kolesterol semua sampel masih termasuk normal sesuai literatur Arti (2019), antara sampel C dan G menunjukkan perbedaan yang sangat nyata. Hal ini dapat terjadi karena memungkinkan adanya perbedaan ras atau pakan yang diberikan, selain itu dapat diperkirakan sampel C merupakan daging itik bagian paha dan sampel G termasuk daging bagian dada.

Deposisi kolesterol dipengaruhi beberapa faktor diantaranya faktor genetik, nutrient atau obat-obatan. Selain itu sintesis kolesterol dipengaruhi oleh faktor genetik dan faktor lingkungan yaitu pakan yang diberikan (Muliani, 2014). Kolesterol merupakan zat yang berperan dalam membentuk dinding sel, garam empedu, hormon, dan vitamin D, serta penghasil energi. Secara normal kolesterol diproduksi tubuh dalam jumlah secukupnya namun dapat meningkat karena mengonsumsi pangan asal hewani, jika melewati batas normal maka akan berdampak negatif bagi kesehatan dalam jangka panjang. Salah satu cara untuk mencegah peningkatan kolesterol yaitu dengan mengonsumsi serat pangan karena bersifat mudah larut yang mampu mengikat asam empedu yang merupakan hasil akhir metabolisme kolesterol (Ampangallo et al., 2021). Perbedaan kadar lemak dan kolesterol pada daging sangat dipengaruhi oleh pakan, salah satu yang dapat menurunkan kolesterol yaitu dengan menambahkan ragi pada ransum sehingga dapat meningkatkan pencernaan pakan berserat tinggi menjadi asam lemak jenuh khususnya asam propionat yang berperan menghambat sintesis kolesterol (Suciani et al., 2011). Pencegahan lain agar kadar kolesterol menurun yaitu pada cara pemasakannya, dengan teknik perebusan dapat terjadi cooking loss yaitu hilangnya kandungan air yang menyebabkan penurunan susut masak. Perubahan susut masak disebabkan disposisi lemak yang menahan hilangnya sari daging selama perebusan

meskipun akan semakin kehilangan lemak daging, dan hasil penelitian menunjukkan dada itik memiliki susut masak tertinggi (Ismoyowati et al., 2012).

KESIMPULAN

Dari hasil kajian yang telah dilaksanakan di Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewani setelah dilakukan pengujian kolesterol menunjukkan bahwa semua sampel terdeteksi mengandung kolesterol dengan rerata 94,504mg/100g sampai 170,882mg/100g dan masih dalam batas normal. Perbedaan kolesterol dapat dipengaruhi oleh faktor genetik, nutrient, dan pakan. Mengonsumsi makanan tinggi kolesterol dapat menimbulkan dampak negatif bagi tubuh dalam jangka panjang yang dapat dicegah peningkatannya dengan mengonsumsi serat pangan. Selain itu proses perebusan dapat menurunkan kadar kolesterol daging dan disarankan mengonsumsi daging itik bagian dada karena kandungan kolesterolnya lebih rendah karena konsumsi kolesterol dalam sehari tidak boleh lebih dari 300mg/100g. Dalam pengujian metode HPLC ini banyak dipengaruhi oleh tahap preparasi sampel dan pelarut yang digunakan, pelarut ekstraksi juga mempengaruhi kebersihan kromatogram dari puncak pengotor selain puncak kolesterol.

REFERENSI

- Aminullah, Mardiah, Hakim, L., Argani, A.P., & Syahbirin, G. (2018a). Effect of fat extraction methods on fatty acid and infrared profiles of chicken fat using GC-MS and FTIR. *Asian Journal of Chemistry*, 30(6), 1317 – 1320.
- Aminullah, Mardiah, Sutsuga, H., & Kemala, T. (2018b). Study of different extraction methods on finger print and fatty acid of raw beef fat using fourier transform infrared and gas chromatography-mass spectrometry. *Open Chemistry*, 16(1), 1099-1105.
- Ampangallo, E., Jafar, N., Indriasari, R., Salam, A., & Syam, A. (2021). Hubungan pola makan dengan kadar kolesterol pada polisi yang mengalami gizi lebih di polresta sidenreng rapping. *Jgmi: The Journal of Indonesian Community Nutrition*, 10(2), 173–185.

- Arti, A. Y. (2019). Pengaruh Pemberian Ransum Komersil Dengan Bahan Pakan Lokal Terfermentasi Amonium Sulfat Dan Urea Terhadap Kadar Lemak Darah Itik Hibrida. [Skripsi, Universitas Lampung]. LPPM-UNILA Institutional Repository.
- Association of Official Analytical Chemist. (2005). Official method of analysis of AOAC international. Edisi ke-18, AOAC International. Maryland.
- Dinh, T. T. N., Blanton, J. R., Brooks, J. C., Miller, M. F., & Thompson, L. D. (2008). A simplified method for cholesterol determination in meat and meat products. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 21(4), 306–314.
- Dwiloka, B., Rusdiansyah, R., & Pramono, Y. B. (2021). Karakteristik asam lemak tak jenuh dan kolesterol sosis daging kalkun berdasarkan bagian dada dan paha. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 9(3), 173–180.
- Faridah, D. N., Maslukhah, Y. L., Anggraeni, R., & Lioe, H. N. (2020). Pengembangan proses saponifikasi dan kondisi reversed phase- hplc-mwd pada analisis kolesterol telur dari metode standar AOAC 994.10:2012. *Jurnal Standardisasi*, 22(2), 107–118.
- Harmita. (2004). Petunjuk pelaksanaan validasi dan cara penggunaannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 117.
- Herfianto, P. N., Nurhuda, M., & Yuana, F. (2014). Pengaruh durasi evaporasi etanol low grade terhadap kadar etanol pada residu hasil evaporasi. *Jurnal Fisika*, 2(1), 2–5.
- Ismoyowati, Iriyanti, N., & Santosa, S. A. (2012). The differences of physical, chemical and fatty acid profile of meat quality of male muscovy (*cairina moschata*) and local duck (*anas plathyrinchos*). *Journal Of The Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 37(4), 250–256.
- Ismoyowati, & Widiyastuti, T. (2003). Kandungan lemak dan kolesterol daging bagian dada dan paha berbagai unggas lokal. *Animal Production*, 5(2), 79–82.

- Karlina, A. C., Supriatna, A. M., & Amalia, V. (2022). Analisis kadar nitrit (no 2 – n) pada sampel air permukaan dan air tanah di wilayah kabupaten cilacap menggunakan metode spektrofotometer uv-vis. *Seminar Nasional Kimia 2021*,7(2), 1–7.
- Lioe, H. N., Setianingrum, T., & Anggraeni, R. (2013). Validasi metode analisis kolesterol dalam telur dengan hplc-elsd (method validation of cholesterol analysis in egg using hplc-elsd). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 18(3), 178–185.
- Listiyana, A. D., Mardiana, M., & Prameswari, G. N. (2013). Obesitas sentral dan kadar kolesterol darah total. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 9(1), 37–43.
- Matitaputty, P. R., & Suryana. (2010). Karakteristik daging itik dan permasalahan serta upaya pencegahan off-flavor akibat oksidasi lipida. *Wartazoa*, 20(3), 130–138.
- Muliani, H. (2014). Kadar kolesterol daging berbagai jenis itik (*anas domesticus*) di kabupaten semarang. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 22(2), 75–82.
- Septinova, D., Fathul, F., Santosa, P. E., & Hartono, M. (2020). Profil lemak darah itik lokal jantan yang diberi campuran bahan pakan lokal yang difermentasi dengan effective microorganism-4. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 8(21), 96–101.
- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2007). *Principles of instrumental analysis*. In Canada : Thomson Brooks/Cole.
- Suciani, Parimartha, K. W., Sumardani, N. L. G., Bidura, I. G. N. G., Kayana, I. G. N., & Lindawati, S. A. (2011). Penambahan multi enzim dan ragi tape dalam ransum berserat tinggi (pod-kakao) untuk menurunkan kolesterol daging broiler. *Jurnal Veteriner*, 12(1), 69–76.