

## **Penentuan kandungan kreatin dalam produk pracampuran puding jeli berprotein tinggi sepanjang tempoh penyimpanannya**

(Determination of creatine content in high protein pudding  
jelly premix for elderly during storage)

Hasnisa Hashim, Khairunizah Hazila Khalid, Nurul Nabilah Mohd  
Fiteri, Mohammad Shafeq Abu Bakar dan Mohamad Zin Ahmad

### **Pengenalan**

Kadar pertumbuhan penduduk di Malaysia yang tinggi sejak beberapa tahun yang lalu memberikan impak besar terhadap negara. Merujuk Jabatan Perangkaan Malaysia, populasi di Malaysia menunjukkan pertambahan penduduk yang tinggi apabila mana data bancian mencatatkan jumlah anggaran penduduk pada tahun 2019 mencecah 32.6 juta orang berbanding dengan 27.5 juta pada 2010, 22.2 juta pada 2000, 17.5 juta pada 1991 dan 10.4 juta pada tahun 1970. Populasi di Malaysia dijangka meningkat sehingga 75% pada tahun 2022 dan dianggarkan menjadi negara menua pada tahun 2030. Pada tahun 2017, jumlah penduduk berumur 60 tahun ke atas di Malaysia adalah sekitar tiga juta atau 9.6% daripada jumlah keseluruhan penduduk. Menjelang 2030, dijangka 15% atau seramai 4.9 juta penduduk negara terdiri daripada warga tua (berumur 60 tahun ke atas). Peningkatan populasi ini memberikan peluang kepada industri makanan dalam mengembangkan kepelbagaian produk makanan bernutrisi bagi memenuhi keperluan nutrisi pemakanan pelbagai peringkat umur di Malaysia.

Proses penuaan manusia melibatkan kemerosotan fungsi tubuh badan seperti sarkopenia (kemerosotan fungsi otot, prestasi, kehilangan jisim otot dan kekuatan otot rangka) dan disfagia (kesukaran untuk menelan). Sarkopenia difahami sebagai kehilangan jisim otot, kekuatan otot dan fungsi fizikal akibat proses penuaan. Menurut kajian yang dijalankan oleh penyelidik di Eropah, jisim otot manusia yang berumur 50 tahun ke atas, menurun sebanyak ~0.8% setiap tahun dan dua kali ganda pada dekad berikutnya. Selain bersenam, pengambilan protein harian yang mencukupi adalah rawatan utama untuk mengatasi masalah ini. Pengambilan rujukan makanan [Dietary Reference Intake (DRI)] menyarankan pengambilan protein bagi orang dewasa sebanyak 0.8 g protein/kg berat badan setiap hari. Menurut pakar pemakanan, pengambilan protein bagi warga tua disarankan ialah 1.2 – 2.0 g/kg sehari.

Diet protein seperti daging, ikan, sayuran tinggi protein seperti kekacang yang mengandungi kreatin amat baik untuk mengatasi gejala sarkopenia. Kreatin merupakan nutrien penting yang banyak terlibat dalam metabolisme protein. Sebatian ini mampu meningkatkan berat badan tanpa meningkatkan

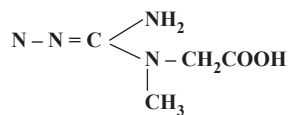
lemak badan, kekuatan intensiti tinggi, kekuatan otot dan juga pertumbuhan otot. Kajian terhadap warga tua lelaki berumur 55 – 57 tahun yang mengambil kreatin sebanyak 0.1 g/kg sehari selama 10 minggu program latihan rintangan menunjukkan mereka mengalami 27% penurunan penyerapan semula tulang (*bone resorption* - penyerapan semula tisu tulang di mana osteoklas memecahkan tisu dalam tulang dan melepaskan mineral yang mengakibatkan pemindahan kalsium daripada tisu tulang ke dalam sistem peredaran darah).

Kebelakangan ini, kreatin telah menarik minat pengguna dan penyelidik dalam aplikasi terapeutik dan penggunaan kreatin sebagai makanan tambahan dan juga produk makanan fungsian. Sebilangan besar produk makanan fungsian untuk warga tua di pasaran tempatan adalah produk yang diimport dalam bentuk susu tepung, tablet dan pil. Sehingga kini, masih belum ada produk tempatan yang direka untuk kegunaan warga tua tempatan.

Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan mengambil inisiatif untuk membangunkan produk buatan tempatan untuk mengatasi penurunan jisim otot warga tua. Oleh itu, produk pracampuran puding jeli berprotein tinggi dibangunkan daripada sayuran dan ubian tempatan terpilih yang mengandungi kadar protein tinggi. Produk ini dibangunkan dalam bentuk puding-jeli kerana tekstur yang lembut dan mudah dimakan. Tujuan utama produk ini dibangunkan untuk mengatasi masalah disfagia dan sarkopenia di kalangan warga tua. Kajian ini dijalankan bagi menentukan kandungan kreatin dalam produk makanan yang dibangunkan untuk warga tua iaitu pracampuran puding jeli berprotein tinggi.

### Kreatin

Kreatin adalah terbitan asid amino yang hadir secara semula jadi terutamanya dalam sel otot manusia yang disintesis secara endogen daripada tiga jenis asid amino iaitu arginin, glisin dan S-metilmetionin. Asid amino ini dapat juga disediakan melalui diet harian, terutama daripada daging, ikan dan tumbuhan tertentu. Secara kimia, kreatin atau nama IUPACnya 2-(methylguanidino) ethanoic acid merupakan sebatian organik bernitrogen dengan formula molekul  $C_4H_9N_3O_2$ . Struktur kimia kreatin adalah seperti dalam *Gambar rajah 1*.



*Gambar rajah 1. Struktur kimia kreatin*

Kreatin juga memainkan peranan penting dalam menyumbang tenaga; di mana kreatin ditukarkan kepada fosfokreatin di dalam tisu otot dalam tindak balas berbalik (enzim kreatin kinase sebagai pemangkin tindak balas) dengan adenosina trifosfat (ATP). Dalam tindak balas ini, fosfokreatin berfungsi sebagai penderma fosfat dalam penukaran ADP (adenosina difosfat) kepada ATP (adenosina trifosfat – sumber tenaga daripada proses penguraian makanan dan tenaga ATP ini biasa disimpan dalam sel otot). Fosfokreatin adalah bentuk penyimpanan tenaga utama di dalam badan dan memainkan peranan penting dalam metabolisme tenaga otot. Beberapa kajian saintifik membuktikan penggunaan makanan tambahan kreatin dapat mengurangkan keletihan, mempercepat pemulihan tenaga dan pertumbuhan otot dan meningkatkan kekuatan otot. Ia juga meningkatkan ukuran otot tanpa mempengaruhi/meningkatkan lemak badan dan menjana semula tenaga ATP untuk meningkatkan jumlah masa kerja otot.

### **Penentuan kreatin dalam matriks makanan**

Kaedah yang sering digunakan bagi penentuan kreatin adalah kaedah spektrofotometri berdasarkan tindak balas Jaffé, di mana kumpulan metilena aktif bertindak balas dengan larutan alkali natrium pikrat yang membentuk kompleks kekuningan. Walau bagaimanapun, tindak balas ini tidak khusus untuk kreatin sahaja, kerana banyak sebatian lain juga boleh hadir (*intefere*) dalam ujian ini. Oleh itu, pelbagai kaedah instrumental lain juga dicadangkan untuk penentuan kreatin seperti teknik kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC), kromatografi cecair spektrometer jisim (LC-MS), elektroforesis kapilari, spektrofotometri IR (infra red) dan penggunaan biosensor enzim. Dalam kajian ini, kandungan kreatin ditentukan menggunakan teknik kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC) kerana kaedah ini lebih jitu dan spektrum kreatin di dalam sampel dibandingkan dengan spektrum kreatin piawai dan kandungannya ditentukan berdasarkan pengiraan daripada lengkung kalibrasi piawai kreatin.

### ***Penyediaan sampel***

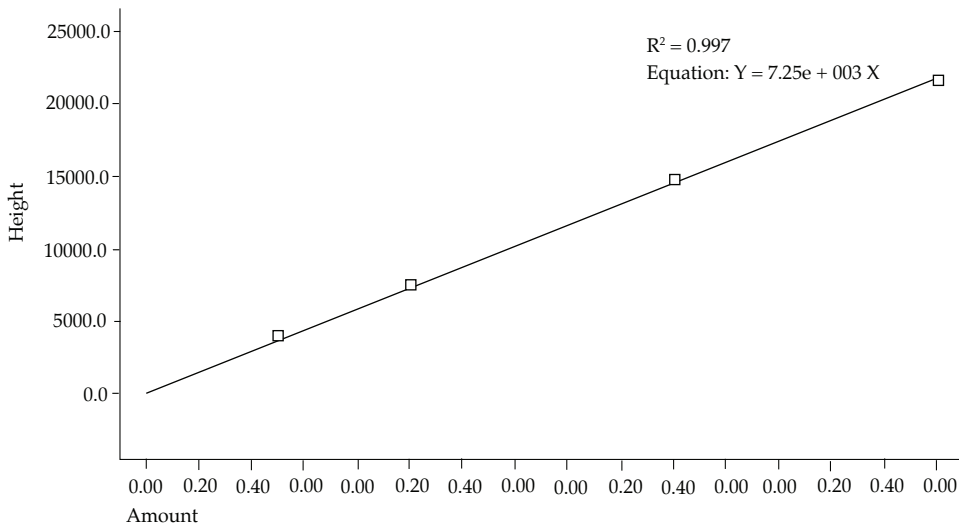
Sebanyak 1.0 g sampel dihomogenkan dengan 10 mL asid hidroklorik (HCL 0.01 N) pada 10,000 rpm selama dua minit dan diempar pada kelajuan 10,000 rpm selama 30 minit. Kemudian, 250  $\mu$ l lapisan atas (*supernatant*) dicampur dengan 750  $\mu$ l pelarut asetonitril dan disimpan pada suhu 4 °C selama 20 minit. Campuran tersebut kemudiannya diempar pada kelajuan 10,000 rpm selama 10 minit dan 1.0 mL lapisan atas yang diperolehi dimasukkan ke katrij pengekstrakan fasa pepejal (*Solid Phase Extraction* (SPE); Sep-Pak Cartridge Plus C18). Selepas itu, 1.0 mL ekstrak yang diperolehi dicampurkan dengan 3.0 mL pelarut asetonitril, kemudian dituras menggunakan penuras picagari 0.2  $\mu$ m *polyvinylidene difluoride* (PVDF) dan disuntik (100  $\mu$ l) ke dalam sistem HPLC.

### *Penyediaan larutan piawai kreatin*

Stok larutan piawai kreatin 1 mg/mL disediakan di mana 10 mg kreatin piawai (Sigma-Aldrich, USA) dilarutkan dalam 0.01 N asid hidroklorik (HCl) sehingga 10 mL. Kemudian stok larutan pertengahan (*intermediate standard solution*) 100 µg/mL disediakan melalui pencairan stok larutan piawai menggunakan 25% 0.01 N HCL dalam asetonitril. Seterusnya beberapa siri kepekatan larutan piawai (0.5 – 20 µg/mL) disediakan daripada pencairan stok larutan 100 µg/mL menggunakan 25% 0.01 N HCL dalam asetonitril. Larutan piawai berbeza kepekatan ini disuntik ke dalam sistem HPLC bagi membangunkan lengkung kalibrasi piawai kreatin (*Rajah 1*). Lengkung terbaik mestilah mempunyai nilai  $R^2$  menghampiri 1.

### *Teknik penentuan kandungan kreatin*

Kandungan kreatin ditentukan pada jarak gelombang 214 nm menggunakan sistem HPLC (Alliance Waters 2695) yang dilengkapi dengan pengesan *photo diode array* (PDA) dan turus pemisah silika HILIC Atlantis (Waters Corp. USA) dengan saiz 4.6 mm x 150 mm (3 µm saiz partikel). Elusi gradien ditetapkan (0 – 100%) bagi fasa gerak B (4.55 mM ammonium asetat dalam air:asetonitril; 70:30 v/v; pH5.5) pada kadar aliran 1.2 mL/min selama 15 minit diikuti dengan fasa gerak A (0.65 mM ammonium asetat dalam air:asetonitril; 20:80 v/v; pH5.5). Kandungan kreatin dalam sampel diukur menggunakan lengkung kalibrasi piawai kreatin seperti dalam *Rajah 1*.



*Rajah 1. Lengkung kalibrasi piawai kreatin*

**Kandungan kreatin dalam produk makanan untuk warga tua**  
 Produk pracampuran puding jeli berprotein tinggi yang telah dibungkus menggunakan bahan pembungkus jenis OPP/Al/PE (*oriented polypropelene/aluminium/polyethylene*). Seterusnya produk ini dikaji jangka hayatnya menggunakan *climatic chamber* selama 12 minggu - bersamaan dengan penyimpanan selama 12 bulan pada suhu bilik. *Jadual 1* menunjukkan kandungan kreatin dalam produk pracampuran puding jeli berprotein tinggi sepanjang tempoh 12 minggu penyimpanan di dalam *climatic chamber* (40 °C; 75% kelembapan). Daripada analisis yang dijalankan, pracampuran puding jeli berprotein tinggi mengandungi kreatin sebanyak 25 µg/g dan nilai tersebut semakin menurun sehingga 50% sepanjang tempoh penyimpanan selama 12 minggu di dalam *climatic chamber*.

Penurunan kandungan kreatin mungkin dipengaruhi oleh suhu penyimpanan, kelembapan relatif semasa penyimpanan dan tindak balas terhadap bahan ramuan produk terutamanya lemak. Menurut kajian terdahulu, kreatin monohidrat (*pure*) sangat stabil dan bertahan sekurang-kurangnya 1 – 2 tahun melebihi tarikh luputnya jika disimpan dalam keadaan sejuk dan kering. Namun, kreatin dalam bentuk cecair atau dalam produk makanan, kurang stabil dan berkemungkinan terurai lebih cepat menjadi kreatinin (produk penguraian kreatin fosfat hasil daripada metabolisme protein).

Jadual 1. Kandungan kreatin dalam produk pracampuran puding jeli berprotein tinggi sepanjang 12 minggu tempoh penyimpanan di dalam *climatic chamber*

Tempoh penyimpanan produk dalam <i>climatic chamber</i>	Kandungan kreatin (µg/g)
Minggu 0	25.97 ± 1.56
Minggu ke-4	16.39 ± 4.41
Minggu ke-8	13.34 ± 0.32
Minggu ke-12	12.36 ± 1.89

### **Kesimpulan**

Kajian menunjukkan bahawa kandungan kreatin dapat ditentukan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan teknik kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC). Kandungan kreatin dalam produk pracampuran puding jeli berprotein tinggi adalah sebanyak 25 µg/g. Produk ini boleh menyumbang kepada keperluan kreatin kepada warga tua yang diperolehi daripada sumber makanan lain. Namun, kajian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengkaji kesan pengambilan puding jeli berprotein tinggi ke atas pesakit sarkopenia dalam kalangan warga tua dan juga kesan penurunan kreatin sepanjang tempoh penyimpanan produk.

## Penghargaan

Sekalung penghargaan buat kumpulan penyelidik dan ahli-ahli kumpulan kerja dan kakitangan Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan MARDI yang terlibat secara langsung dan tidak langsung dalam kajian ini. Projek ini disokong oleh dana Projek Pembangunan RMK-11 iaitu Pengeluaran sayur-sayuran dan ubian bernutrisi tinggi, selamat dimakan dan mesra alam (Sub projek: Pembangunan ingredien dan makanan kesihatan melalui pendekatan teknologi pemprosesan dan nutrigenomik dari sumber sayuran dan ubian; Kod Projek PRH-403).

## Bibliografi

- Alekha, K.D. dan Angeli, S. (2002). A simple LC method with UV detection for the analysis of creatine and creatinine and its application to several creatine formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 29: 939 – 945
- Baum, J.I., Kim, I.Y. dan Wolfe, R.R. (2016). Protein consumption and the elderly: What is the optimal level of intake? *Nutrients* 8(359): 1 – 9
- Candow, D.G., Forbes, S.C., Chilibeck, P.D., Cornish, S.M., Antonio, J. dan Kreider, R.B. (2019). Effectiveness of creatine supplementation on aging muscle and bone: Focus on falls prevention and inflammation. *Journal of Clinical Medicine* 8(488): 1 – 15
- Emine, K., Pinar, E.E., Pekyardimci, S.U. dan Esmâ, K. (2006). Determination of creatine in commercial creatine powder with new potentiometric and amperometric biosensors. *Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology* 34: 337 – 347
- Jayasena, D.D., Jung, S., Alahakoon, A.U., Nam, K.C., Lee, J.H., dan Jo, C. (2015). Bioactive and taste-related compounds in defatted freeze-dried chicken soup made from two different chicken breeds obtained at retail. *The Journal of Poultry Science* 52: 156 – 165
- Marlini, S.H. (2020). Evolusi penduduk di Malaysia. Newsletter 2020 Jabatan Perangkaan Malaysia. Diperoleh dari DOSM/ BPPD/5.2020/Siri 63 [https://www.dosm.gov.my/v1/uploads/files/6\\_Newsletter/Newsletter%202020/DOSM\\_BPPD\\_5-2020\\_Siri-63.pdf](https://www.dosm.gov.my/v1/uploads/files/6_Newsletter/Newsletter%202020/DOSM_BPPD_5-2020_Siri-63.pdf)
- Von Haehling, S., Morley, J. E. dan Anker, S. D. (2010). An overview of sarcopenia: Facts and numbers on prevalence and clinical impact. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle* 1(2): 129 – 133

### **Ringkasan**

Penentuan kreatin boleh dilaksanakan menggunakan teknik kromatografi cecair berprestasi tinggi (HPLC). Kajian ini dijalankan bagi menentukan kandungan kreatin di dalam produk pracampuran puding jeli berprotein tinggi yang dibangunkan bagi mengatasi masalah disfagia (kesukaran untuk menelan) dan sarkopenia (kehilangan jisim otot) dalam kalangan warga tua. Hasil kajian menunjukkan produk pracampuran puding jeli berprotein tinggi mengandungi 25  $\mu\text{g/g}$  kreatin. Produk ini boleh menyumbang kepada keperluan kreatin kepada warga tua di samping diperoleh daripada sumber makanan lain. Kajian telah membuktikan bahawa senaman adalah gaya hidup yang berkesan dalam mengatasi penuaan jisim otot, kekuatan dan penambahan berat tulang. Walau bagaimanapun, terdapat kajian yang menunjukkan pengambilan kreatin bersama senaman dan tanpa senaman berkemungkinan boleh mengurangkan masalah sarkopenia dalam kalangan warga tua. Kajian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengkaji kesan pengambilan puding jeli berprotein tinggi ke atas pesakit sarkopenia dalam kalangan warga tua.

### **Summary**

Determination of creatine can be performed using the high-performance liquid chromatography (HPLC) technique. This study was carried out to determine the creatine content in high-protein pudding-jelly premixed product which developed to overcome dysphagia (difficulty swallowing) and sarcopenia (loss of muscle mass) in the elderly. The results showed that the high-protein pudding-jelly premixed product contained 25  $\mu\text{g/g}$  of creatine. This product can contribute to the creatine needs for the elderly in addition to being obtained from other food sources. Studies have proven that exercise is an effective lifestyle in overcoming aging muscle mass, strength and bone weight gain. However, some studies show creatine intake with and without exercise is likely to reduce the risk of sarcopenia among the elderly. Further studies need to be carried out to study the effects of high-protein pudding-jelly intake on sarcopenia patients in the elderly.

### **Pengarang**

Hasnisa Hashim

Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: [hasnisa@mardi.gov.my](mailto:hasnisa@mardi.gov.my)

Khairunizah Hazila Khalid (Dr.), Nurul Nabilah Mohd Fiteri, Mohammad Shafeq

Abu Bakar dan Mohamad Zin Ahmad

Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor