

V

**DIKTAT KULIAH**  
**ANALISIS PANGAN**



**Disusun Oleh:**  
**Dr. Ir. Anang Mohamad Legowo, MSc.**  
**Ir. Nurwantoro, MS**

UPT-PUSTAK-UNDIP  
No. Daft.:  
Tgl.:

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL TERNAK**  
**FAKULTAS PETERNAKAN**  
**UNIVERSITAS DIPONEGORO**  
**SEMARANG**

**2004**

UPT-PUSTAK-UNDIP  
No. Daft.: 1137/KI/FP/e1  
Tgl. 19/10 05

## KATA PENGANTAR

Pangan merupakan kebutuhan pokok manusia sebagai sumber zat gizi yang penting bagi tubuh. Berbagai zat gizi didalam bahan pangan dapat dikelompokkan kedalam golongan makronutrien seperti karbohidrat, protein dan lemak; serta golongan mikronutrien seperti vitamin, mineral dan senyawa lain. Bahan pangan dapat diperoleh dari berbagai macam komoditas pertanian, baik hasil nabati maupun hasil hewani. Pada umumnya hasil nabati kaya akan zat gizi karbohidrat dan vitamin, sedangkan hasil hewani kaya akan protein dan lemak.

Analisis pangan diartikan sebagai upaya penguraian dan pengukuran kandungan zat gizi didalam bahan pangan. Hasil pengukuran tersebut dapat dimanfaatkan, antara lain untuk: (1) Menentukan komposisi zat gizi bahan pangan, (2) Menentukan kualitas bahan, (3) Menentukan adanya bahan ikutan/ tambahan dalam makanan, dan (4) Mendeteksi terjadinya perubahan bahan selama proses penanganan dan pengolahan bahan pangan.

Dalam kurikulum Program Studi S1 Teknologi Hasil Ternak mahasiswa pada semester 3 (tiga) atau lebih diwajibkan mengambil mata kuliah Analisis Pangan. Garis besar isi perkuliahan Analisis Pangan membahas beberapa hal, yaitu: tentang pengertian dan ruang lingkup analisis pangan, dasar analisis, serta prinsip penentuan kadar air, protein, karbohidrat, lemak, vitamin, abu/ mineral dan beberapa senyawaan lain.

Sehubungan dengan hal tersebut diatas, diktat kuliah ini disusun untuk memberi tuntunan kepada mahasiswa agar lebih mudah memahami isi perkuliahan analisis pangan. Sudah barang tentu diktat ini hanya berisi garis besar dan prinsip dasar, sehingga masih perlu dilengkapi dengan berbagai penjelasan tambahan selama kuliah dan pustaka pendukung yang juga digunakan dalam penyusunan diktat ini.

Penyusun menyadari masih banyak kekurangan dari diktat kuliah analisis pangan ini. Oleh sebab itu, masukan dan saran dari para pembaca sangat diharapkan untuk menyempurnakan diktat ini dimasa mendatang.

Semarang, Medio Januari 2004

Tim Penyusun,

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR .....	i
DAFTAR TABEL .....	iv
DAFTAR ILUSTRASI .....	v
BAB I . PENDAHULUAN .....	1
BAB II. DASAR ANALISIS .....	3
2.1. Dasar Pemilihan Prosedur Analisis .....	3
2.2. Dasar Pengambilan Sampel/ Contoh/ Cuplikan .....	4
2.3. Langkah Analisis .....	5
2.4. Kesalahan dalam Analisis .....	7
2.5. Unit dan Peralatan Dasar Analisis .....	7
BAB III. ANALISIS KADAR AIR .....	13
3.1. Air dalam Bahan Pangan .....	13
3.2. Metode Analisis Kadar Air .....	16
3.3. Analisis Kadar Total Padatan Terlarut .....	20
BAB IV. ANALISIS PROTEIN .....	22
4.1. Metode Kjeldhal .....	23
4.2. Metode Biuret .....	26
4.3. Metode Lowry .....	27
4.4. Metode Pengikatan Zat Warna/ Pengecatan (Dye Binding) .....	28
4.5. Penetapan Alfa-Amino Nitrogen .....	28
4.6. Penentuan Asam Amino dengan HPLC .....	28
4.7. Penentuan N-non Protein .....	29
4.8. Penentuan TVBN dan TMA .....	29
BAB V. ANALISIS KARBOHIDRAT .....	30
5.1. Analisis Kadar Gula Pereduksi dan Total Gula .....	30
5.2. Analisis Jenis-jenis Gula .....	33
5.3. Analisis Kadar Pati .....	34
5.4. Analisis kadar Dekstrin .....	35
BAB VI. ANALISIS LEMAK .....	37
6.1. Penentuan Kadar Lemak dengan Soxhlet .....	37
6.2. Penentuan Kadar Lemak dengan Babcock .....	38
BAB VII. ANALISIS VITAMIN .....	39
7.1. Penentuan Kadar Asam Askorbat Total .....	39
7.2. Penentuan Kadar Vitamin A dalam Lemak/ Minyak .....	40

BAB VIII. ANALISIS ABU DAN MINERAL .....	42
8.1. Penentuan Kadar Abu .....	42
8.2. Penentuan Kadar Kalsium .....	43
BAB IX. ANALISIS BAHAN METABOLIT .....	45
9.1. Analisis Kadar Alkohol .....	45
9.2. Pengukuran pH dan Analisis Kadar Asam Total .....	46
DAFTAR PUSTAKA .....	48

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Unit Dasar dari Sistem Internasional (SI) .....	9
2. Awalan untuk Kelipatan dan Sub-kelipatan Unit .....	9
3. Unit Dasar Pengukuran untuk Sistem SI .....	10
4. Kadar Air Beberapa Bahan Pangan .....	15
5. Jumlah Unsur didalam Molekul Protein .....	23
6. Faktor Konversi N Beberapa Jenis Bahan Pangan .....	25

## DAFTAR ILUSTRASI

<b>Ilustrasi</b>	<b>Halaman</b>
1. Alat Ukur Volume Cairan .....	11
2. Neraca dengan Satu Piring dan Wadah untuk Penimbangan .....	12
3. Kurva ISL Bahan Pangan .....	15
4. Kurva Standar untuk Analisis Kadar Protein .....	27

## BAB I PENDAHULUAN

Ilmu pengetahuan dan teknologi dibidang pangan kini telah berkembang cukup maju. Berbagai hasil pertanian terus diupayakan untuk ditangani dan diolah agar dapat dimanfaatkan secara optimal bagi kepentingan manusia. Bagian atau cabang dari ilmu pengetahuan tentang hal tersebut juga terus dikembangkan, yang salah satunya adalah ilmu analisis pangan.

Analisis berasal dari kata "analisis" dari bahasa Yunani. Istilah tersebut kemudian diserap kedalam bahasa Latin yang mempunyai arti yaitu: *Ana* = kembali, dan *Luein* = melepas. Berdasarkan asal kata itulah analisis kini diartikan sebagai upaya pemisahan atau penguraian suatu kesatuan materi bahan menjadi komponen senyawa-senyawa penyusunnya, sehingga hasil (data) yang diperoleh dapat dikaji lebih lanjut. Dalam bahasa Inggris, "analysis" mempunyai pengertian analisis secara tunggal, sedangkan "analyses" mempunyai pengertian jamak

Pangan adalah makanan atau bahan hasil pertanian dan olahannya yang layak dikonsumsi manusia. Bahan pangan dikenal memiliki sifat fisik, kimiawi, biologis, serta mampu menimbulkan selera dan manfaat untuk dikonsumsi. Oleh sebab itu, analisis pangan dapat dilakukan dengan menggunakan kaidah-kaidah fisik, kimiawi, biologi, inderawi atau sensorik, dan nutrisi atau gizi.

Tujuan analisis pangan antara lain yaitu:

- 1). Menguraikan komponen-komponen bahan pangan (baik jenis maupun jumlahnya), sehingga dapat disusun komposisi bahan tersebut.
- 2). Menentukan suatu komponen bahan untuk menentukan kualitas bahan pangan tersebut.
- 3). Menentukan komponen bahan untuk menyusun menu.
- 4). Menentukan ada/tidaknya bahan ikutan/tambahan dalam makanan.
- 5). Mendeteksi adanya bahan metabolik senyawa beracun dalam

makanan.

6). Mengikuti terjadinya perubahan selama penanganan/pengolahan.

Komponen bahan pangan adalah merupakan senyawa kimia yang memiliki karakteristik tertentu. Komponen utama bahan pangan terdiri dari air, protein, karbohidrat, vitamin, mineral dan beberapa senyawa minor lain. Akan tetapi, komponen bahan pangan tersebut sering dikelompokkan kedalam tiga golongan, yaitu: air, makronutrien, dan mikronutrien. Menurut Sudarmadji *et al.*, (1996) komponen bahan pangan, selain air, dapat dikelompokkan lebih lengkap, yaitu:

1). Kelompok Makronutrien

- a. Karbohidrat
- b. Lemak
- c. Protein

2). Kelompok Mikronutrien

- a. Vitamin
- b. Mineral

3). Kelompok Bahan Ikutan ( Food adjunct )

- a. Alkaloid ( Kafein, nikotin, dll )
- b. Anti gizi ( Antitripsin, Fitat, dll )
- c. Warna Alami
- d. Aroma Alami

4). Kelompok Bahan Tambahan ( Food Aditive )

- a. Pengawet
- b. Penstabil
- c. Pengental
- d. Pewarna
- e. Penyedap rasa
- f. dll.

5). Kelompok Bahan Metabolit

- a. yang disengaja ( Alkohol, Laktat )
- b. yang tak disengaja ( Aflatoksin, senyawa beracun yang lain )

## **BAB II**

### **DASAR ANALISIS**

Dalam persiapan analisis pangan perlu dipertimbangkan beberapa hal, antara lain berkaitan dengan pemilihan prosedur analisis, pengambilan sampel atau cuplikan, dan langkah-langkah analisis. Apabila persiapan analisis telah dilakukan dengan baik maka pelaksanaan analisis diharapkan dapat berjalan dengan baik, sehingga hasil yang diperoleh juga akan memuaskan.

#### **2.1. Dasar Pemilihan Prosedur Analisis**

Dalam memilih prosedur analisis, sedikitnya ada tiga hal yang harus diketahui, yaitu: (1) Pengetahuan dasar komposisi suatu bahan, (2) Tingkat ketelitian yang dikehendaki, dan (3) Jumlah atau banyaknya sampel yang tersedia.

Pengetahuan tentang komposisi suatu bahan diperlukan untuk mengkonfirmasi hasil analisis, sehingga dapat dipastikan apakah prosedur analisis telah dilakukan dengan baik atau tidak. Apabila analisis berjalan dengan baik, maka hasil yang diperoleh tidak banyak menyimpang. Sebaliknya apabila pelaksanaan analisis tidak baik, maka hasil yang diperoleh akan mengalami bias atau penyimpangan yang besar.

Tingkat ketelitian suatu analisis juga perlu dipertimbangkan. Banyak prosedur analisis yang ada, masing-masing mempunyai tingkat ketelitian yang tidak sama. Untuk memperoleh hasil yang dengan tingkat ketelitian yang tinggi, maka harus dipilih prosedur analisis yang juga memiliki ketelitian tinggi. Sedangkan untuk memperoleh data kasar dapat dipilih prosedur analisis yang sederhana dan simpel.

Prosedur analisis pada umumnya dilengkapi penggunaan alat-alat dengan spesifikasi dan ukuran tertentu. Oleh sebab itu, pemilihan

prosedur analisis harus dipertimbangkan dengan banyak sedikitnya bahan atau sampel yang tersedia.

Disamping beberapa hal tersebut diatas, ada beberapa ciri yang menunjukkan suatu prosedur analisis dianggap baik. Sudarmadji et al. (1996) menyebutkan bahwa prosedur analisis yang ideal sebaiknya memenuhi syarat: sah, tepat, cermat, cepat, hemat, selamat, dapat diulang, khusus, andal dan mantap. Berikut ini beberapa persyaratan prosedur analisis yang ideal.

- 1) Prosedur harus sah ( valid ) untuk suatu pengukuran.
- 2) Prosedur memiliki ketepatan ( accuracy ) tinggi.
- 3) Prosedur memiliki nilai kecermatan ( Precission ) tinggi
- 4) Prosedur singkat atau cepat.
- 5) Prosedur harus aman atau memiliki tingkat keselamatan tinggi.
- 6) Prosedur dapat diulang ( reproducibility ) dengan hasil yang relatif sama, atau secara statistik tidak berbeda nyata.
- 7) Prosedur memiliki sifat khusus untuk suatu pengukuran.
- 8) Prosedur harus dapat diandalkan ( reliable ) dalam berbagai kondisi tempat dan peralatan yang digunakan.
- 9) Prosedur harus mantap ( stable ), sehingga dapat dilaksanakan dalam batas waktu yang wajar dan tidak harus tergesa-gesa..

## **2.2. Dasar Pengambilan Sampel/Contoh/ Cuplikan.**

Dalam "sampling" atau pengambilan sampel ada dua faktor penting yang harus diperhatikan, yaitu:

- 1). Pengambilan sampel harus bersifat "representatif". Artinya sampel yang diambil harus mewakili sifat keseluruhan bahan dan mewakili populasi bahan yang akan dianalisis. Untuk bahan yang berupa cairan, sebelum pengambilan sampel harus dilakukan pengadukan bahan hingga merata atau homogen. Untuk bahan yang berupa benda padat,

pengambilan sampel harus dilakukan dari beberapa bagian (tempat/ lokasi) bahan tersebut dan kemudian dicampur menjadi satu kesatuan.

2). Jumlah sampel yang diambil harus memenuhi persyaratan minimal. Jumlah sampel dapat diambil sebanyak 5-20% dari jumlah keseluruhan bahan. Pengambilan sampel dalam jumlah tersebut juga harus memperhatikan faktor pertama, yakni "representatif". Semakin homogen suatu bahan, persentase jumlah sampel yang diambil dapat semakin kecil (dalam kisaran 5-20%).

Pada saat pengambilan sampel perlu diperhatikan kemungkinan terjadinya perubahan sampel . Perubahan tersebut dapat disebabkan karena beberapa faktor berikut ini:

- 1) Perubahan kimiawi, misalnya karena proses oksidasi.
- 2) Perubahan biokimiawi/enzimatis
- 3) Perubahan akibat kontaminasi mikroorganisme.
- 4) Perubahan fisis
- 5) Perubahan mekanis

### **2.3. Langkah Analisis**

Kegiatan analisis pangan pada dasarnya mencakup beberapa langkah berikut, yaitu: penetapan batasan masalah, "sampling", dan penetapan cara pengukuran.

#### **1) Batasan Masalah Analisis**

Batasan masalah analisis menyangkut penentuan tujuan dan target analisis yang nantinya berkaitan erat dengan pemilihan metoda dan prosedur analisis.

#### **2) "Sampling" dan Perlakuan Pendahuluan**

Pada waktu "Sampling" harus mengacu pada ketentuan bahwa sampel harus "representatif" dan dalam jumlah yang cukup (5-20%). Disamping

itu, kadang diperlukan perlakuan pendahuluan untuk sampel dan analisis tertentu, misalnya melarutkan, atau memisahkan komponen tertentu.

### 3) Pengukuran

Pengukuran bahan secara kuantitatif dapat dikelompokkan dalam beberapa cara, yaitu: kimiawi, elektronis, spektroskopi, fisikawi, biologi. Secara ringkas beberapa cara tersebut diberikan ilustrasi seperti tersebut dibawah ini.

#### **a. Kimiawi**

Cara kimiawi merupakan cara paling banyak diterapkan. Dalam metoda ini digunakan senyawa atau reagensia kimia yang memungkinkan terjadi reaksi dan hasil/produk reaksi. Jumlah reagensia atau jumlah produk reaksi akhirnya dapat diukur.

#### **b. Elektronis**

Cara ini diterapkan dengan pengukuran tenaga potensial, aliran listrik, konduktivitas, dan sifat elektronis yang lain dari bahan, yang dapat diukur setelah direaksikan dengan reagensia.

#### **c. Spektroskopi**

Mencakup pengukuran jumlah radiasi gelombang elektromagnetis yang diserap atau ditimbulkan bahan. Pengukuran gelombang sinar tampak (visible) UV, IR, sinar lainnya.

#### **d. Fisikawi**

Pada cara fisikawai diterapkan metoda pengukuran berdasarkan sifat dan besaran fisik bahan. Cara ini mencakup pengukuran : BJ, index refraksi, pemutaran optimal sifat magnetis.

#### **e. Biologi**

Pada cara biologi didasarkan atas terjadinya reaksi dan proses yang terjadi pada makhluk hidup. Pengukurannya melalui penggunaan hewan percobaan, mikrobial, dan uji inderawi.

## 2.4. Kesalahan Dalam Analisis

Dalam melaksanakan analisis pangan, kadang ditemui adanya kesalahan. Pada prinsipnya kesalahan tersebut dapat dikelompokkan kedalam kesalahan yang sifatnya tetap dan kesalahan bersifat sistematis.

### 1) Kesalahan Tetap ( Constant Determinann Error )

- Alat pengukur
- Kemurnian Bahan

### 2) Kesalahan Sistematis ( Systematic Error )

- Kesalahan dalam prosedurnya
- Kesalahan dalam pengambilan & persiapan contoh
- Kesalahan dalam menerapkan metoda analisis
- Kesalahan pengerjaan

Untuk memperkecil kemungkinan kesalahan dalam analisis, kedua hal tersebut diatas harus diantisipasi. Disamping itu, ada beberapa saran penting dalam analisis :

- 1) Cara pengambilan & persiapan sampel
- 2) Ketepatan Analisis
- 3) Pemilihan metode yang tepat

## 2.5. Unit dan Peralatan Dasar Pengukuran

Unit pengukuran dengan sistem internasional disingkat dengan SI didasarkan pada sistem MKS (meter-kilogram-seconds). Unit dasar dari SI dapat dilihat pada pada Tabel 1. Unit SI yang lain dapat diturunkan dari unit dasar tersebut, misalnya Newton (N) adalah  $\text{kg} \times \text{m} \times \text{s} (\text{detik})^{-2}$ . Untuk kelipatan unit dapat digunakan "prefix" atau awalan sebagaimana dapat dilihat pada Tabel 2. Unit dasar untuk pengukuran yang sering digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.

Dalam analisis pangan diperlukan berbagai jenis peralatan. Akan tetapi peralatan dasar yang lazim digunakan untuk pengukuran dalam analisis

pangan, yaitu: alat ukur volume, alat ukur berat, alat ukur panjang, dan alat ukur waktu.

### **(1) Alat pengukur volume**

Untuk mengukur volume larutan atau bahan cair dapat digunakan gelas ukur dan labu ukur. Kedua macam alat ini ada dalam berbagai ukuran, dari kecil 10 ml, 25 ml, 50 ml hingga yang berukuran 500 ml dan 1000 ml.

### **(2) Alat pengukur berat**

Alat pengukur berat bahan adalah neraca. Kini ada banyak jenis neraca yang bervariasi tergantung pada tingkat kepekaannya. Neraca dapat dikelompokkan kedalam neraca dengan dua piring (disc) dan neraca dengan satu piring. Neraca dengan dua piring sekarang ini relatif tidak banyak dipakai, karena kurang praktis dan ketelitiannya terbatas. Sedangkan neraca dengan satu piring dan skala digital makin banyak digunakan, karena praktis dan mempunyai kepekaan tinggi.

### **(3) Alat pengukur panjang**

Alat pengukur panjang bahan yang biasa digunakan adalah penggaris dengan skala berjarak 1 cm dan dilengkapi dengan tanda dalam mm.

### **(4) Alat pengukur waktu**

Alat pengukur waktu adalah jam atau "stopwatch" yang sering digunakan untuk menentukan batas waktu berlangsungnya suatu reaksi kimia atau waktu untuk perlakuan tertentu.

Gambar peralatan untuk pengukuran volume cairan (labu ukur dan gelas ukur) dapat dilihat pada Ilustrasi 1. Contoh alat untuk penimbangan berat bahan (neraca dengan satu piring) dan wadah untuk penimbangan bahan dapat dilihat pada Ilustrasi 2.

**Tabel 1. Unit Dasar dari Sistem Internasional (SI)**

Kuantitas	Unit	Singkatan
Panjang	Meter	m
Berat	Kilogram	kg
Waktu	Detik	s
Suhu	Kelvin	K
Arus listrik	Ampere	A
Jumlah bahan	Mole	mol
Radioaktivitas	Becquerel	Bq

Sumber: Robyt and White (1990)

**Tabel 2. Awalan untuk kelipatan dan sub-kelipatan unit**

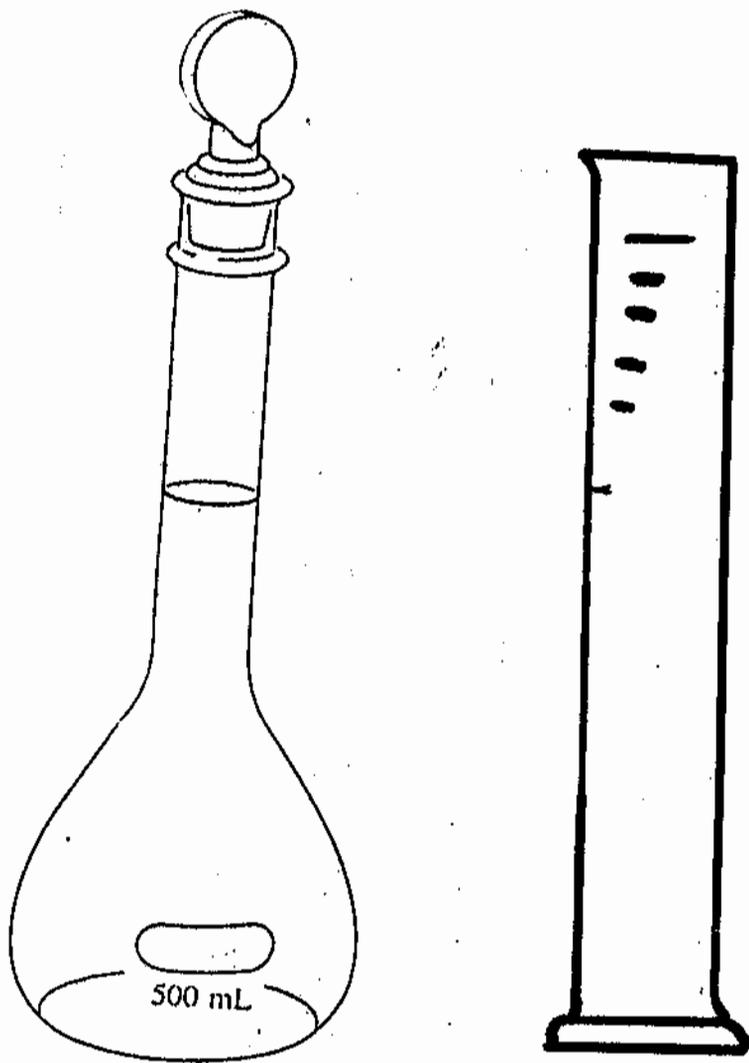
Jumlah	Kelipatan	Singkatan
$10^{12}$	tera	T
$10^9$	giga	G
$10^6$	mega	M
$10^3$	kilo	K
1	-	-
$10^{-1}$	deci	D
$10^{-2}$	centi	C
$10^{-3}$	milli	M
$10^{-6}$	micro	$\mu$
$10^{-9}$	nano	N
$10^{-12}$	pico	P
$10^{-15}$	femto	F
$10^{-18}$	atto	A

Sumber: Robyt and White (1990)

**Tabel 3. Unit Dasar Pengukuran untuk Sistem SI**

<b>Nama</b>	<b>Simbol</b>	<b>Definisi</b>
<b>Unit Panjang</b>		
Meter	m	Unit Dasar
Kilometer	km	$10^3$ meters
Centimeter	cm	$10^{-2}$ meter
Milimeter	mm	$10^{-3}$ meter
Micrometer	$\mu\text{m}$	$10^{-6}$ meter
Nanometer	nm	$10^{-9}$ meter
angstrom	$\text{\AA}$	$10^{-10}$ meter
<b>Unit Volume</b>		
Liter	L atau l	Unit Dasar
Deciliter	dL	$10^{-1}$ liter
Mililiter	mL	$10^{-3}$ liter
microliter	$\mu\text{L}$	$10^{-6}$ liter
<b>Unit Berat</b>		
Kilogram	kg	Unit Dasar
Gram	g	$10^{-3}$ kilogram
Milligram	mg	$10^{-6}$ kilogram
Microgram	$\mu\text{g}$	$10^{-9}$ kilogram
Nanogram	ng	$10^{-12}$ kilogram
<b>Unit Waktu</b>		
Second	S	Unit Dasar
Millisecond	ms	$10^{-3}$ second
Menit	mn	60 second
Jam	h	60 minutes
Hari	da	24 hours
Bulan	mo	28 –31 days
tahun	yr	12 months
<b>Unit Radioaktivitas</b>		
Becquerel	Bq	1 disintegrasi per detik (dps)
curie	Ci	$3,7 \times 10^{10}$ Bq

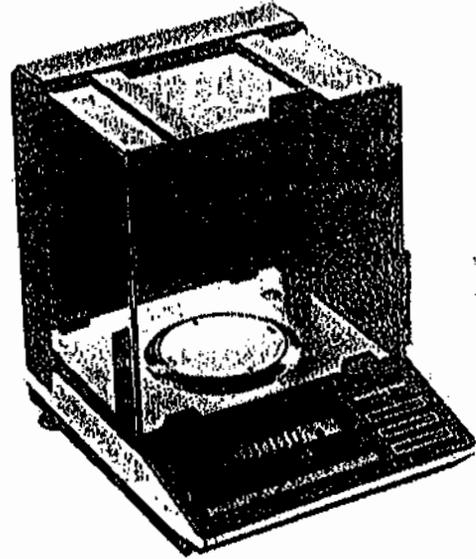
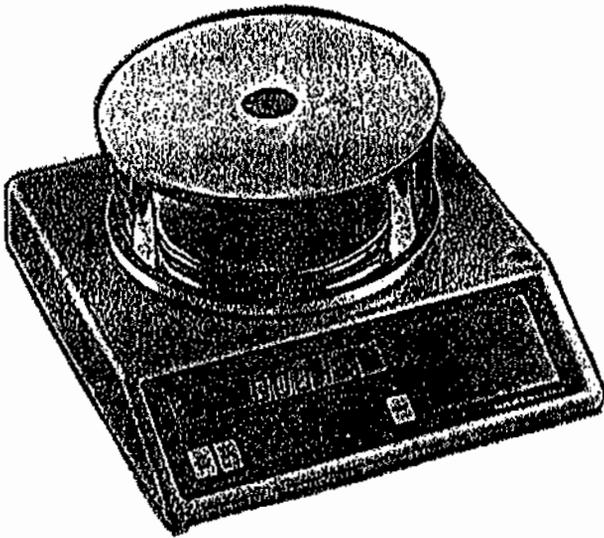
Sumber: Robyt and White (1990)



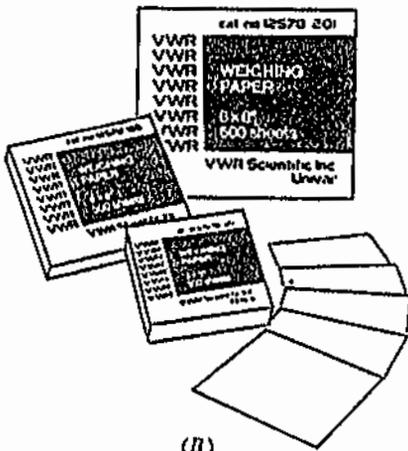
**Keterangan:**

- A. Labu ukur (Flask)
- B. Gelas ukur (Cylinder)

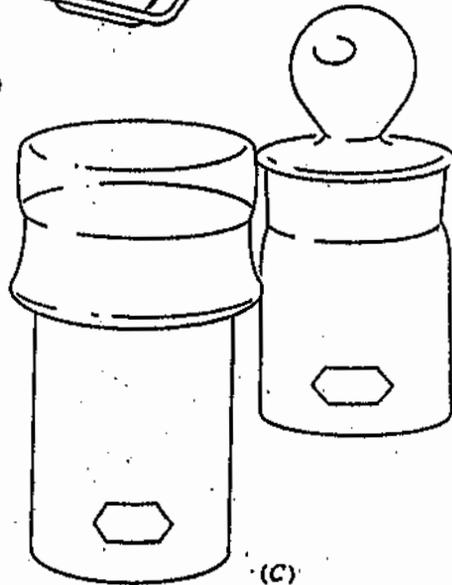
**Ilustrasi 1. Alat Ukur Volume Cairan**



(A)



(B)



(C)

**Keterangan:**

- 1 & 2 = Neraca dengan satu piring
- A = Wadah plastik
- B = Kertas timbang
- C = Botol/ kaca timbang

**Ilustrasi 2. Neraca dengan satu piring dan wadah untuk penimbangan**

## **BAB III**

### **ANALISIS KADAR AIR**

Air merupakan komponen penting dalam bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi "acceptability", kenampakan, kesegaran, tekstur, serta cita rasa pangan. Didalam beberapa bahan pangan, air ada dalam jumlah yang relatif besar, misalnya didalam beberapa buah-buahan dan sayuran mencapai sekitar 90%, susu segar sekitar 87%, dan daging sapi sekitar 66%. Pada produk pangan yang kering seperti dendeng, kerupuk dan susu bubuk, adanya air perlu mendapat perhatian secara seksama. Kenaikan sedikit kandungan air pada bahan kering tersebut dapat mengakibatkan kerusakan, baik akibat reaksi kimiawi maupun pertumbuhan mikroba pembusuk.

#### **3.1. Air Dalam Bahan Pangan**

Air didalam bahan pangan ada dalam tiga bentuk, yaitu: (1) air bebas, (2) air terikat lemah atau air teradsorpsi, dan (3) air terikat kuat. Pada umumnya air bentuk pertama dan kedua yang dominan, sedangkan air terikat jumlahnya sangat kecil.

##### **1). Air Bebas.**

Air bebas ada didalam ruang antar sel, intergranular, pori-pori bahan, atau bahkan pada permukaan bahan. Air bebas sering disebut juga sebagai aktivitas air atau "water activity" yang diberi notasi  $A_w$ . Disebut aktivitas air, karena air bebas mampu membantu aktivitas pertumbuhan mikroba dan aktivitas reaksi-reaksi kimiawi pada bahan pangan. Didalam air bebas terlarut beberapa nutrien yang dapat dimanfaatkan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembang. Adanya nutrien terlarut tersebut juga memungkinkan beberapa reaksi kimia dapat berlangsung. Oleh sebab itu, bahan yang mempunyai kandungan atau nilai  $A_w$  tinggi pada umumnya

cepat mengalami kerusakan, baik akibat pertumbuhan mikroba pembusuk maupun akibat terjadinya reaksi kimia tertentu, seperti oksidasi dan reaksi enzimatik. Air bebas sangat mudah untuk dibekukan maupun diuapkan.

## **2). Air Teradsorbsi.**

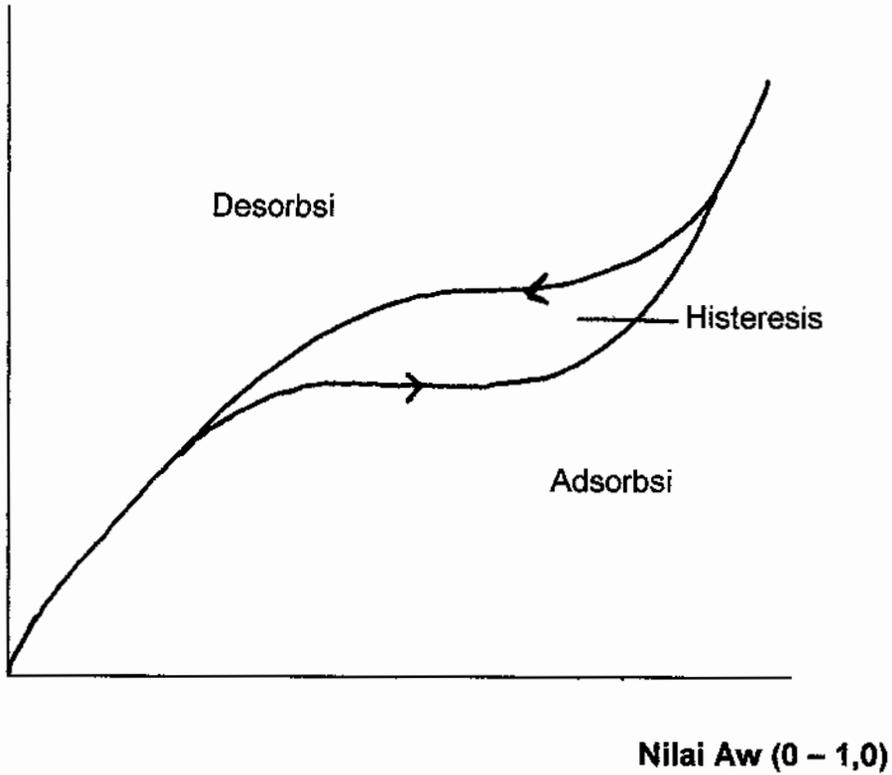
Air yang terikat lemah atau air teradsorbsi terserap pada permukaan koloid makromolekul (protein, pati, dll ) bahan. Air teradsorbsi juga terdispersi diantara koloid tersebut dan merupakan pelarut zat-zat yang ada dalam sel. Ikatan antara air dengan koloid merupakan ikatan hidrogen. Air teradsorbsi relatif bebas bergerak dan relatif mudah dibekukan ataupun diuapkan.

## **3). Air Terikat Kuat.**

Air terikat kuat sering juga disebut air hidrat, karena air tersebut membentuk hidrat dengan beberapa molekul lain dengan ikatan bersifat ionik. Air terikat kuat jumlahnya sangat kecil dan sangat sulit diuapkan dan dibekukan.

Pada pengukuran kadar air bahan pangan, air yang terukur adalah air bebas dan air teradsorbsi. Jadi kadar air suatu bahan pangan merupakan gabungan dari air bebas dan air teradsorbsi didalam bahan tersebut. Hubungan kadar air dan air bebas atau aktivitas air ( $A_w$ ) ditunjukkan dengan kecenderungan bahwa makin tinggi kadar air makin tinggi pula nilai  $A_w$ . Akan tetapi, hubungan tersebut tidak linier melainkan berbentuk kurva sigmoid. Kadar air dinyatakan dalam persen (%) dalam skala 0-100, sedangkan nilai  $A_w$  dinyatakan dalam angka desimal pada kisaran skala 0 – 1,0. Kurva hubungan antara kadar air dan  $A_w$  bahan disebut juga sebagai kurva Isoterm Sorbsi Lembab (ISL). Kurva ISL dapat dilihat pada Ilustrasi 3; dan contoh kadar air beberapa jenis bahan pangan dapat dilihat pada Tabel 4.

Kadar Air (0 - 100%)



Ilustrasi 3. Kurva ISL Bahan Pangan.

Tabel 4. Kadar Air Beberapa Jenis Bahan Pangan.

Jenis Bahan Pangan	Kadar Air (% WB)
Daging Sapi	66
Daging Ayam	56
Daging Kambing	70
Dendeng Sapi	25
Telur Ayam	74
Telur itik	71
Susu ( sapi )	88
Keju	34
Susu bubuk	3-4

WB = "Wet Basis"/ Berdasarkan Bobot Basah

### 3.2. Metode Analisis Kadar Air

Ada beberapa metode untuk analisis kadar air, antara lain yaitu: metode pengeringan, metode destilasi, dan metode kimiawi. Metode pengeringan menggunakan prinsip "thermogravimetri" dengan alat pengering berupa oven. Secara ringkas prinsip beberapa metode analisis kadar air dijelaskan dibawah ini.

#### 1) Metode Pengeringan/Oven (Thermogravimetri)

Metode pengeringan dengan oven didasarkan atas prinsip penghitungan selisih bobot bahan (sampel) sebelum dan sesudah pengeringan. Selisih bobot tersebut merupakan air yang teruapkan dan dihitung sebagai kadar air bahan.

##### a. Metode Oven

Metode ini dapat digunakan untuk semua produk pangan, kecuali produk yang mengandung komponen senyawa "volatil" (mudah menguap) atau produk yang terdekomposisi/rusak pada pemanasan 100<sup>0</sup> C.

Prinsip metode ini adalah mengeringkan sampel dalam oven 100–105<sup>0</sup> C sampai bobot konstan dan selisih bobot awal dengan bobot akhir dihitung sebagai kadar air.

Prosedur dan perhitungan kadar air adalah sebagai berikut. Bahan/ sampel ( ± 2-5 g ) di oven beberapa jam (4–6 jam), ditimbang, dioven kembali, dan ditimbang hingga konstan. Bobot dianggap konstan apabila selisih penimbangan tidak melebihi 0,2 mg. Selanjutnya kadar air dapat dihitung, baik berdasarkan bobot kering atau "dry basis" (DB) ataupun berdasarkan bobot basah atau "wet basis" (WB).

$$\text{Kadar air ( \% DB )} = \frac{W3}{W2} \times 100$$

$$\text{Kadar air ( \% WB )} = \frac{W3}{W1} \times 100$$

$$\text{Total Bahan Padat ( \% )} = \frac{W_2}{W_1} \times 100$$

W1 = Bobot sampel awal ( g )

W2 = Bobot sampel kering ( g )

W3 = Kehilangan Berat/ Selisih bobot ( g )

### ***b. Metode Oven-Vakum***

Metode ini digunakan untuk produk yang mengandung komponen yang dapat terdekomposisi pada 100<sup>0</sup> C, atau relatif banyak mengandung senyawa "volatil".

Prinsip metode oven-vakum adalah mengeringkan produk yang mudah terdekomposisi pada 100<sup>0</sup> C didalam suatu tempat yang dapat dikurangi tekanan udaranya atau di "vakum" kan. Dengan demikian proses pengeringan dapat berlangsung pada suhu dan tekanan rendah.

Prosedur dan perhitungan kadar air metode oven-vakum adalah sama dengan metode oven seperti tersebut diatas. Namun demikian penggunaan oven-vakum relatif sedikit dibandingkan dengan oven biasa, karena harganya relatif mahal.

## **2) Metode Destilasi (Thermovolumetri)**

Metode destilasi digunakan untuk bahan yang banyak mengandung lemak dan komponen mudah menguap disamping air. Jadi metode ini menggunakan sampel dengan sifat yang sama dengan sampel yang digunakan pada metode oven-vakum.

Prinsip pengukuran kadar air dengan metode destilasi adalah menguapkan air bahan dengan cara destilasi menggunakan pelarut "immiscible", kemudian air ditampung dalam tabung yang diketahui volumenya. Pelarut yang digunakan mempunyai titik didih lebih besar dari air, tetapi mempunyai berat jenis (BJ) lebih kecil dari air. Contoh senyawa yang dapat dijadikan pelarut yaitu: Toluene, Xylen, dan benzen.

Prosedur metode destilasi adalah diawali dengan memberikan pelarut sebanyak kira-kira 75-100 ml pada sampel yang diperkirakan mengandung

air 2-5 ml. Campuran ini kemudian dipanaskan hingga mendidih. Uap air dan pelarut diembunkan dan ditampung didalam tabung. Air dan pelarut saling terpisah (air dibagian bawah) dan dapat ditentukan volumenya berdasarkan skala pada tabung penampung.

Metode destilasi mempunyai keuntungan, antara lain:

- (1) Dapat untuk menentukan kadar air bahan yang memiliki kandungan air relatif kecil.
- (2) Penentuan kadar air memerlukan waktu yang relatif singkat, yaitu sekitar 1 jam.
- (3) Terjadinya oksidasi senyawa lipida dan dekomposisi senyawa gula dapat dihindari, sehingga penentuan kadar air cukup akurat.

### 3) Metode Kimiawi

Ada beberapa cara penentuan kadar air dengan metode kimiawi, yaitu: metode titrasi Karl Fischer, metode kalsium karbida, metode asetil klorida.

#### a. Metode Titrasi Karl Fischer

Metode ini dapat diterapkan untuk pengukuran kadar air pada bahan berupa cairan, tepung, madu, dan beberapa produk kering. Sesuai dengan namanya, metode ini menggunakan reagensia Karl Fischer yang terdiri dari SO<sub>2</sub>, piridin, dan iodin. Prinsip metode ini adalah melakukan titrasi sampel dengan larutan iodin dalam metanol dan piridin. Jika masih ada air didalam bahan maka iodin akan bereaksi, tetapi bila air habis maka iodin akan bebas. Perhitungan kadar air dengan menggunakan rumus dibawah ini:

$$\text{Kadar Air} = \frac{0,4 F (V_1 - V_2)}{W_1}$$

W<sub>1</sub> = Berat Sampel ( g )

V<sub>1</sub> = Volume pereaksi Karl Fischer untuk titrasi sampel ( ml )

V<sub>2</sub> = Volume pereaksi untuk titrasi blanko ( ml )

F = Faktor standarisasi pereaksi

0,4 = Ekuivalen air pereaksi

#### **b. Metode Kalsium Karbida**

Metode ini didasarkan atas reaksi antara kalsium karbida dengan air menghasilkan gas asetilin. Cara ini cukup cepat dan tidak memerlukan alat yang rumit. Jumlah asetilin yang terbentuk dapat diukur dengan beberapa cara, antara lain:

- (1) Selisih bobot campuran bahan sebelum dan sesudah reaksi.
- (2) Menampung dan mengukur volume gas asetilin dalam tabung tertutup.
- (3) Mengukur tekanan gas asetilin jika reaksi dilakukan pada ruang tertutup.

#### **c. Metode Asetil Klorida**

Metode ini didasarkan atas reaksi antara asetil klorida dengan air menghasilkan asam yang dapat dititrasi dengan basa. Cara ini dapat digunakan untuk menentukan kadar air bahan berupa minyak, mentega, margarin, rempah-rempah, dan beberapa bahan berkadar air rendah.

### **4) Metode Fisis**

Penentuan kadar air dengan metode fisis didasarkan atas beberapa cara, yaitu:

- (1) Berdasarkan tetapan dielektrikum.
- (2) Berdasarkan daya hantar dan resistansi listrik.
- (3) Berdasarkan resonansi nuklir magnetik atau "nuclear magnetic resonance" (NMR).

### 3.3. Pengukuran Nilai Aw Bahan

Pengukuran nilai Aw bahan pangan dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu: berdasarkan keseimbangan air bahan dengan kelembaban relatif udara, berdasarkan hukum Raoult, dan berdasarkan pengukuran secara tidak langsung.

#### 1) Keseimbangan Air.

Berdasarkan keseimbangan Kadar air bahan dengan kelembaban Relatif Udara disekitarnya.

$$Aw \equiv \frac{ERH}{100}$$

ERH : Equilibrium Relative Humidity ( Kelembaban Relatif Seimbang )

#### 2) Dengan Hukum Raoult :

$$Aw \equiv \frac{M_w}{M_w + M_s}$$

M<sub>w</sub> = Jumlah mol air

M<sub>s</sub> = Jumlah mol zat terlarut.

#### 2) Cara Tidak Langsung

Berdasarkan air yang terserap dalam kertas saring kering dalam suatu wadah atau ruang yang berisi bahan yang diukur Aw –nya

### 3.4. Analisis Kadar Total Padatan Terlarut

Apabila suatu bahan dihilangkan kandungannya maka yang tersisa adalah padatan yang terdiri dari berbagai komponen bahan tersebut. Didalam suatu bahan, sebagian padatan ada dalam bentuk terlarut dan sebagian yang lain tidak terlarut.

Kadar total padatan terlarut dapat diukur dengan menggunakan metode yang dilakukan oleh Pomeranz dan Meloan ( 1980 ). Alat yang digunakan

adalah refraktometer Abbe. Sebanyak 10 g contoh yang telah dihomogenkan ditambah 75 ml air, diaduk dengan pengaduk magnetik selama 3 menit, kemudian disaring dengan kertas saring, sedangkan filtratnya ditampung dalam labu ukur 100 ml, dan sisa padatan pada kertas saring dicuci dengan air sampai volume filtrat mencapai 100 ml. Contoh dipipet dan diletakkan pada permukaan prisma refraktometer, kemudian permukaan prisma refraktometer ditutup dan kadar total padatan terlarut dapat dibaca pada skala. Hasil perkalian yang terbaca pada skala dengan faktor pengencerannya merupakan kadar total padatan terlarut dalam contoh.

## **BAB IV**

### **ANALISIS PROTEIN**

Protein adalah zat makanan yang penting bagi tubuh, karena mempunyai fungsi antara lain sebagai zat pembangun dan zat pengatur, serta sebagai sumber tenaga. Protein merupakan makromolekul yang tersusun oleh asam-asam amino yang mengandung unsur-unsur utama C, O, H dan N. Molekul protein juga mengandung belerang, posfor, besi dan tembaga. Molekul protein mempunyai sifat atau ciri yang spesifik yang berguna dalam kegiatan analisis. Sifat atau ciri khas molekul protein tersebut antara lain yaitu:

- (1) Mempunyai ukuran berat molekul (BM) besar, sehingga mudah mengalami perubahan bentuk fisik dan aktivitas biologi. Hal ini dapat bermanfaat untuk mengenali dan memisahkan dari komponen bahan pangan yang lain.
- (2) Struktur molekul protein mengandung unsur nitrogen (N) relatif banyak, sehingga keberadaan protein didalam bahan dapat ditentukan berdasarkan kandungan unsur N. Jumlah unsur N dan unsur lain dalam molekul protein dapat dilihat pada Tabel 5.
- (3) Protein merupakan polimer yang tersusun oleh banyak monomer asam-asam amino (lebih dari 20 jenis), sehingga protein didalam bahan pangan juga banyak jenisnya.

Pada garis besarnya, tujuan analisis protein mencakup beberapa hal berikut ini:

- (1) Menera jumlah atau kandungan protein dalam bahan pangan.
- (2) Menentukan tingkat kualitas protein dari sudut gizi.
- (3) Menelaah protein sebagai suatu bahan kimia, misalnya secara biokimiawi, fisiologis, reologis, dll.

**Tabel 5. Jumlah Unsur Didalam Molekul Protein**

No	Jenis Unsur	Jumlah (%)
1	Karbon (C)	50-55
2	Oksigen (O)	20-25
3	Nitrogen (N)	15-18
4	Hidrogen (H)	5-7%
5	Belerang (S)	0,4-2,5
6	Posfor (P)	sedikit
7	Besi (Fe)	sedikit
8	Tembaga (Cu)	sedikit

Sumber: Sudarmadji *et al.* (1996)

Pengukuran kadar protein yang paling banyak dilakukan adalah penetapan protein kasar. Penetapan protein kasar bertujuan untuk menera jumlah protein total didalam bahan pangan. Metode pengukuran jumlah protein tersebut ada beberapa cara, antara lain yaitu: metode Kjeldhal, metode Biuret, metode Lowry, dan metode pengikatan zat warna. Disamping itu, ada beberapa metoda lain untuk analisis asam amino dan komponen protein lainnya.

#### **4.1. Metoda Kjeldahl.**

Prinsip metode Kjeldhal yaitu peneraan jumlah protein secara empiris berdasarkan jumlah N didalam bahan. Setelah bahan dioksidasi, amonia ( hasil konversi senyawa N ) bereaksi dengan asam menjadi amonium sulfat. Dalam kondisi basa, amonia diuapkan dan kemudian ditangkap dengan larutan asam. Jumlah N ditentukan dengan titrasi HCl atau NaOH.

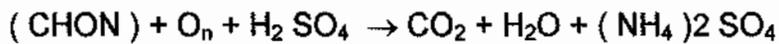
Berdasarkan prinsip tersebut diatas, prosedur analisis dengan metode Kjeldhal dapat dibagi dalam 3 (tiga) tahap, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi.

### **a. Tahap Destruksi**

Sampel dipanaskan dalam asam sulfat pekat sehingga bahan terdestruksi menjadi unsur-unsurnya. Hasil akhir pada tahap destruksi ini adalah terbentuknya amonium sulfat. Untuk mempercepat destruksi perlu ditambah katalisator :

- Campuran  $\text{Na}_2 \text{SO}_4$  &  $\text{HgO}$  ( 20 : 1 )
- $\text{K}_2 \text{SO}_4$
- $\text{Cu SO}_4$

Reaksi pada saat destruksi adalah sebagai berikut:



### **b. Tahap Destilasi**

Amonium Sulfat hasil destruksi dipecah menjadi amonia ( $\text{NH}_3$ ) dengan cara penambahan  $\text{NaOH}$  dan pemanasan. Selanjutnya  $\text{NH}_3$  ditangkap dengan larutan asam standar, sampai destilat tidak bereaksi basis. Larutan asam standar yang dfapat digunakan yaitu:  $\text{HCl}$ , atau asam borat 4%.

### **c. Tahap Titrasi**

Apabila digunakan  $\text{HCl}$  (sebagai penampung destilat), maka sisa  $\text{HCl}$  yang tidak bereaksi dengan  $\text{NH}_3$  dititrasi dengan  $\text{NaOH}$  (0,1 N). Persentase N dapat dihitung dengan rumus dibawah ini.

$$\% \text{ N} = \frac{\text{mL NaOH ( blanko - Sampel )} \times A}{\text{berat sampel ( g )} \times 1000}$$

$$\text{dimana A} = \text{Normalitas Na OH} \times 14.008 \times 100\%$$

Apabila digunakan asam borat sebagai penampung destilat, maka jumlah asam borat yang bereaksi dengan  $\text{NH}_3$  dititrasi dengan  $\text{HCl}$  (0,02 – 0,1 N ). Persentase N dapat dihitung dengan rumus dibawah ini.

$$\% N = \frac{\text{mL HCl ( sampel - blanko )}}{\text{berat sampel ( g )}} \times B$$

dimana B = Normalitas HCl x 14.008 x 100 %

Setelah diperoleh persentase N maka kadar protein sampel dapat dihitung dengan cara mengalikannya dengan faktor konversi N.

$$\Rightarrow \text{Kadar Protein} = \% N \times \text{Faktor Konversi N}$$

Faktor konversi (perkalian) N tergantung pada persentase/ jumlah unsur N yang menyusun molekul protein dalam suatu bahan. Beberapa bahan telah ditetapkan besarnya faktor konversi N (lihat Tabel 6). Sedangkan untuk bahan-bahan yang belum ditetapkan, besarnya faktor konversi N ditentukan melalui pendekatan empiris jenis bahannya, atau dihitung berdasarkan kadar N sebesar 16% sehingga faktor konversi N = 6,25.

**Tabel 6. Faktor Konversi N Beberapa Jenis bahan Pangan**

No	Jenis Bahan	Faktor Konversi N
1	Biji-bijian, bir, ragi	6,25
2	Buah-buahan, the, anggur	6,25
3	Makanan pada umumnya	6,25
4	Makanan ternak	6,25
5	Beras	5,95
6	Roti, makaroni, mie	5,70
7	Kedele	5,75
8	Susu	6,38
9	Kacang tanah	5,46
10	Gelatin	5,55

Sumber: Winarno (1986); Sudarmadji *et al.* (1996)

## 4.2. Metode Biuret

Prinsip metode Biuret adalah dalam larutan basa,  $\text{Cu}^{2+}$  membentuk kompleks dengan ikatan peptida (-CO-NH-) dari suatu protein yang membentuk warna ungu dengan absorbansi 540 nm. Besarnya absorbansi tersebut berbanding langsung dengan konsentrasi protein dan tidak tergantung pada jenis protein, karena semua protein pada dasarnya mempunyai jumlah ikatan peptida yang sama per satuan berat.

Dalam prosedur analisis dengan metode Biuret ada beberapa hal yang patut dicatat, antara lain yaitu :

- (1) Jumlah sampel harus mengandung protein sekitar 1 – 10 mg/ ml.
- (2) Ada senyawa pengganggu yang perlu diantisipasi, yaitu:
  - 1). Urea, karena mengandung gugus – CO-NH-.
  - 2). Gula pereduksi, yang akan bereaksi dengan ion  $\text{Cu}^{2+}$
- (3) Metode Biuret mempunyai ketepatan lebih besar dibanding Kjeldhal.

**Garis besar prosedur metode Biuret adalah sebagai berikut:**

Sebanyak 4 ml larutan protein ditambah 6 ml pereaksi (reagen Biuret ) dan kemudian didiamkan selama 10 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , atau didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar ( $30^{\circ}\text{C}$ ). Selanjutnya intensitas warna ungu larutan diukur absorbansinya dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Disamping itu, dibuat kurva standar menggunakan larutan protein serum albumin (BSA, bovine serum albumin) secara seri, misalnya dari 0,1-1,0% (lihat Ilustrasi 2). Kadar protein dihitung berdasarkan persamaan regresi kurva standar:

$$Y = a + bX$$

Y = nilai absorbansi

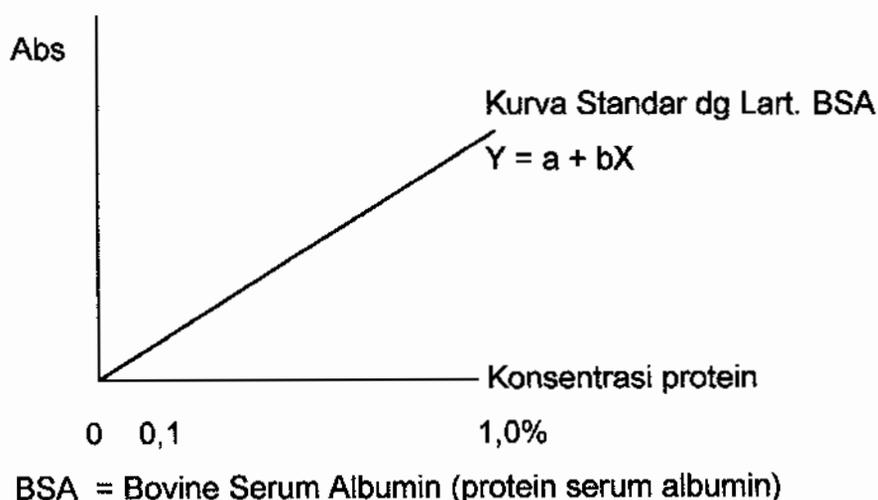
X = konsentrasi protein

### 4.3. Metode Lowry

Prinsip metode Lowry adalah protein dengan asam posfatungstat & posfomolibdat pada suasana alkalis dapat membentuk warna biru yang intensitasnya tergantung pada konsentrasi protein. Asam amino yang bereaksi dengan reagen Lowry adalah tirosin dan triptofan.

Prosedur analisis dengan metode Lowry hampir sama dengan prosedur dari metode Biuret. Perbedaannya adalah pada reagen yang digunakan. Dalam analisis ini digunakan reagen Lowry dan perlu disiapkan larutan protein BSA untuk pembuatan kurva standar (lihat Ilustrasi 4).

Sensitifitas analisis dengan metode Lowry jauh lebih tinggi (10 – 20 kali) dibanding metode Biuret. Namun perlu diperhatikan pula bahwa ada senyawa pengganggu dalam analisis dengan metode Lowry, yaitu: senyawa phenol, karena dapat membentuk warna biru. Akan tetapi dapat dihilangkan dengan cara pengendapan menggunakan TCA (Tri Chloro Acetic-acid).



**Ilustrasi 4. Kurva Standar untuk Analisis Kadar Protein**

#### **4.4. Metode Pengikatan Zat Warna/ Pengecatan (" Dye Binding ")**

Prinsip analisis protein dengan pengikatan zat warna, yaitu: zat warna dapat bereaksi dengan gugus polar protein membentuk kompleks tak larut. Kompleks dipisahkan (dengan sentrifus dan penyaringan) dan diukur densitas optiknya.

Bahan pewarna yang digunakan adalah : orange G, orange 12, Amido Black. Sisa bahan pewarna yang tidak bereaksi diukur dengan kolorimeter. Dalam analisis ini diperlukan kurva standar hubungan antara densitas optik dengan kadar protein.

#### **4.5. Penetapan Alfa–Amino Nitrogen**

Pada prinsipnya gugus alfa–amino dari suatu protein dapat direaksikan dengan Trinitrobenzen sulfonat pada pH & membentuk senyawa berwarna yang dapat diukur absorban- nya ( pada 340 nm ).

Metode ini banyak diterapkan untuk bahan hewani, atau bahan nabati yang sedikit karbohidrat. Metode ini dapat juga diterapkan untuk bahan ekstrak lipid.

#### **4.6. Penentuan Asam Amino dengan HPLC**

Protein dapat dihidrolisis dengan Asam Kuat (HCl 6N) sehingga asam-asam amino penyusun-nya dapat saling terpisah. Melalui kolom penukar kation dari alat HPLC (High Performance Liquid Chromatography), asam-asam amino tersebut dapat ditentukan jenis dan jumlahnya. Hasil kromatografi ini adalah berupa pola elusi atau kromatogram.

Pola ( kurva ) elusi kromatografi dibandingkan dengan pola elusi asam-asam amino standar. Untuk mengetahui jenis asam amino dapat dengan membandingkan waktu retensinya dengan standar. Untuk

mengetahui jumlah asam amino dapat membandingkan luasan kurva sampel dengan standar.

#### **4.7. Penentuan N-non protein**

Metode ini dapat diterapkan pada semua jenis bahan pangan. Protein sampel diekstrak dengan air dan diendapkan dengan tembaga asetat. Komponen nitrogen (N)-non protein tinggal dalam larutan. Setelah penyaringan, N dalam filtrat ditetapkan dengan metode Kjeldhal.

#### **4.8. Penentuan TVBN dan TMA**

Senyawa TVBN (Total Volatile Base Nitrogen) dan TMA (Tri Methyl Amine) merupakan senyawa nitrogen volatil yang dihasilkan dari dekomposisi bahan yang kaya protein oleh mikroba.

Pada prinsipnya analisis TVBN dan TMA dilakukan dengan cara ekstraksi sampel dengan TCA 5% sehingga protein mengendap dan komponen N volatil larut dalam TCA. Ekstrak TCA didistilasi dan komponen N ditangkap HCl. Distilat dititrasi dengan Na OH sehingga TVBN diketahui.

## **BAB V**

### **ANALISIS KARBOHIDRAT**

Karbohidrat adalah senyawa polihidroksi aldehid atau polihidroksi keton yang mempunyai rumus empiris  $C_nH_{2n}O_n$ . Pada umumnya karbohidrat dapat dikelompokkan menjadi monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida. Monosakarida merupakan suatu molekul sakarida/ gula yang mempunyai lima atau enam atom C. Oligosakarida terdiri dari 2-10 unit monosakarida. Polisakarida merupakan makromolekul yang tersusun oleh banyak unit monosakarida. Golongan karbohidrat yang banyak dijumpai di alam adalah monosakarida seperti glukosa dan fruktosa, oligosakarida yang terdiri dari 2 unit monosakarida seperti laktosa dan sukrosa, serta polisakarida seperti pati, dekstrin dan berbagai serat pangan.

Dalam analisis kadar karbohidrat seringkali ditujukan untuk menentukan jumlah golongan karbohidrat tertentu, misalnya kadar laktosa, kadar gula pereduksi, kadar dekstrin, dan kadar pati. Kadar karbohidrat suatu bahan pangan sering ditentukan dengan cara menghitung selisih dari angka 100 dengan jumlah komponen bahan yang lain (kadar air, kadar protein, kadar lemak dan kadar abu). Cara penentuan kadar karbohidrat semacam ini disebut sebagai metode "carbohydrate by difference" .

#### **5.1. Analisis Kadar Gula Pereduksi dan Total Gula**

Kadar gula dianalisis dengan menggunakan metode Lane-Eynon. Penetapan kadar gula pereduksi dengan metode ini didasarkan atas pengukuran volume larutan gula pereduksi standar yang dibutuhkan untuk mereduksi pereaksi tembaga basa yang diketahui volumenya (Apriyantono *et al.*, 1989 ).

Persiapan contoh untuk analisis kadar gula dilakukan dengan menimbang sebanyak 10 g contoh yang telah dihomogenkan dalam gelas

piala 100 ml, ditambah 10 – 20 ml alkohol 80% dan diaduk dengan pengaduk magnetik selama 3 – 5 menit. Selanjutnya campuran ini disaring dengan kapas, dan sisa padatan pada kapas dicuci dengan alkohol 80 %, kemudian pH filtrat diukur. Jika pH-nya asam ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  sampai cukup basa. Campuran ini kemudian dipanaskan di atas penangas air  $100^\circ\text{C}$  selama 30 menit, dan disaring dengan kertas saring Whatman nomor 40. Kelebihan alkohol dihilangkan dengan memanaskan filtrat diatas penangas air bersuhu  $\pm 85^\circ\text{C}$ , sambil terus menambahkan air secukupnya jika terlihat akan kering. Jika masih ada endapan, maka penyaringan diulangi lagi. Selanjutnya ditambahkan larutan Pb-asetat jenuh netral setetes demi setetes sampai tidak menimbulkan kekeruhan. Kelebihan Pb dihilangkan dengan menambahkan satu gram Na-oksalat anhidrat, dan disaring kembali. Volume larutan ditepatkan sampai volume 250 ml dalam labu ukur. Setelah dikocok merata, larutan ini siap dianalisis atau disimpan dalam lemari es yang bersuhu  $5 - 10^\circ\text{C}$ .

Pereaksi-pereaksi yang digunakan untuk penetapan kadar gula pereduksi dan total gula adalah : (a). larutan tembaga sulfat, dibuat dengan melarutkan sebanyak 34,639 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dalam air, diencerkan sampai volume 500 ml, dan disaring melalui kertas saring, (b). larutan tartarat basa, dibuat dengan melarutkan 173 g garam Rochele ( KNa-tartrat) dan 50 g NaOH dalam air, diencerkan sampai volume 500 ml, didiamkan selama dua hari, kemudian disaring melalui kertas saring, (c). larutan Fehling modifikasi Soxhlet, dibuat dengan mencampurkan dalam volume yang sama larutan (a) dan (b) segera sebelum digunakan, (d). larutan glukosa standar, dibuat dengan melarutkan sebanyak 1,5 g asam benzoat dalam 800 ml air mendidih, didinginkan sampai suhunya mencapai  $25 - 30^\circ\text{C}$ , kemudian ditambahkan ke dalamnya 5.000 g glukosa dan diencerkan sampai volume 1000 ml, dan (e). larutan biru metilena 0,2% dalam air (larutan dibuat baru ).

Sebelum melakukan penetapan gula, terlebih dahulu dilakukan standarisasi larutan Fehling. Mula-mula disiapkan larutan Fehling

modifikasi Soxhlet dengan cara memindahkan ke dalam labu erlenmeyer 250 ml masing-masing sebanyak 100 ml pereaksi (a) dan (b). kemudian sebanyak 10 ml larutan Fehling dipindahkan ke dalam labu erlenmeyer 100 ml dan ditambah dengan 20 ml air. Labu erlenmeyer ini diletakkan diatas hot plate dan setelah mendidih dibubuhi 3 – 4 tetes larutan biru metilena 0.2%. selanjutnya larutan ini dititrasi dengan larutan glukosa standar sampai biru metilena berubah warna, dan titik akhir titrasi dicapai apabila telah timbul warna merah bata. Selama berlangsungnya titrasi, larutan dalam labu erlenmeyer terus diaduk dengan pengaduk magnetik, dan kecepatan kerja diatur sedemikian rupa sehingga titrasi dapat diselesaikan dalam waktu kira-kira dua menit. Standarisasi di atas dilakukan triplo.

Untuk penetapan gula pereduksi, mula-mula 10 ml filtrat bebas Pb ( dari persiapan contoh ) dipindahkan ke dalam labu erlenmeyer 100 ml, kemudian ditambah 10 ml larutan Fehling. Campuran ini selanjutnya dititrasi dengan larutan glukosa standar seperti pada standarisasi larutan Fehling di atas dalam waktu dua menit. Titrasi dilakukan triplo. Kadar gula pereduksi dihitung sebagai glukosa dari titer penetapan larutan standar ( blanko) dan contoh, yaitu dengan rumus :

$$\text{Kadar gula pereduksi} = \frac{c ( b - a ) p}{G} \times 100 \%$$

c = konsentrasi glukosa standar ( 5 mg/ml ).

b = titer penetapan blanko ( ml ).

a = titer penetapan contoh ( ml ).

p = faktor pengenceran.

g = bobot contoh ( mg ).

Untuk penetapan kadar total gula, mula-mula 50 ml filtrat bebas Pb ( dari persiapan contoh ) dipindahkan ke dalam labu erlenmeyer 100 ml, kemudian ditambah 20 ml air dan 10 ml HCl 36%. Labu erlenmeyer tersebut diletakkan di atas penangas air bersuhu 60°C selama 10 menit

sambil digoyang-goyang, kemudian segera didinginkan dalam air mengalir. Setelah dingin, isi labu erlenmeyer dinetralkan dengan NaOH 45% dan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditetapkan volumenya dengan air sampai tanda tera. Jika terbentuk endapan, maka disaring dengan kertas saring. Selanjutnya penetapan kadar total gula dalam contoh ini dilakukan seperti penetapan kadar gula pereduksi.

## **5.2. Analisis Jenis-jenis Gula**

Analisis kualitatif dan kuantitatif gula yang terdapat di dalam contoh dilakukan dengan menggunakan alat High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merk ICI. Alat ini terdiri dari empat bagian, yaitu : (a) alat pengatur suhu HPLC tipe TC-1900, (b) alat pengatur gradien HPLC merk Kortec tipe K-45, (c) alat penyuntik otomatis tipe AS -2000, dan (d) alat pencatat kurva (chromotopac) merk Shimadzu tipe C-R6A. kolom yang digunakan jenis ICI Fermentation Column dengan air bebas ion (high pure) sebagai eluen (fase mobil). Kolom dioperasikan pada suhu 85 – 90 0 C. Kecepatan aliran alat adalah 0,5 ml/ menit. Detektor yang digunakan adalah Refractive Index Detector ( RID) merk Shimadzu.

Persiapan contoh untuk analisis kualitatif dan kuantitatif jenis-jenis gula menggunakan metode yang dilakukan oleh Picha ( 1985 ). Sebanyak 10 g contoh yang telah dihomogenkan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 100 ml, ditambah 75 ml alkohol 80%, diaduk dengan pengaduk magnetik selama lima menit, kemudian disaring dngan kertas saring Whatman nomor 41, dan filtratnya ditampung dalam labu ukur 100 ml. Residu pada kertas saring dan sisa padatan pada labu erlenmeyer dicuci dengan alkohol 80%, dan filtratnya ditampung pada labu ukur yang sama seperti tersebut di atas sampai volume filtrat mencapai 100 ml. Diambil sebanyak lima milimeter filtrat untuk disaring dengan saringan millipore dengan diameter pori-pori 0,45 ml, kemudian sebanyak 10 µl disuntikkan ke dalam HPLC.

Dalam penyiapan gula standar (sukrosa, glukosa, dan fruktosa), masing-masing gula ditimbang sebanyak 1.000 g, dihomogenkan dengan alkohol 80%, disaring dengan kertas saring Whatman nomor 41 dan filtratnya ditampung dalam labu ukur 100 ml. Selanjutnya sisa padatan pada kertas saring dicuci dengan alkohol 80% sampai volume filtrat mencapai 100 ml. Diambil sebanyak lima milimeter filtrat untuk disring dengan saringan millipore dengan diameter 0.45  $\mu\text{m}$ , kemudian disuntikkan ke dalam HPLC sebanyak 10  $\mu\text{l}$ .

Kadar masing-masing jenis gula dalam contoh diperoleh dengan mengalikan masing-masing jenis gula yang terbaca pada detektor dengan faktor pengencerannya, atau menggunakan rumus :

$$\text{Kadar gula} = \frac{a}{b} \times c \times p$$

( misal glukosa )

a = luas area glukosa pada contoh  
b = luas area glukosa standar  
c = konsentrasi glukosa standar ( 0,1 % )  
p = faktor pengenceran

### 5.3. Analisis Kadar Pati

Kadar pati pada contoh dianalisis dengan metode hidrolisis asam. Prinsip analisis ini adalah pati dalam contoh dihidrolisis dengan asam sehingga menghasilkan gula-gula ( glukosa ), kemudian glukosa yang terbentuk ditetapkan kadarnya. Dengan demikian kadar pati dapat ditentukan ( Apriyantono *et al.*, 1989)

Sebanyak lima gram contoh yang telah dihomogenkan dimasukkan ke dalam gelas piala 250 ml, ditambah 50 ml air, dan diaduk dengan pengaduk magnetik selama satu jam. Suspensi disaring dengan kertas saring dan dicuci dengan air sampai vfiltrat mencapai 250 ml. Filtrat ini mengandung karbohidrat terlarut selanjutnya dibuang. Residu dipindahkan

secara kuantitatif dari kertas saring ke dalam gelas piala 500 ml disertai pencucian dengan 200 ml air, dan ditambah 20 ml HCl  $\pm$  25 %, ditutup dengan pendingin balik, dan dipanaskan selama 2,5 jam. Setelah dingin, larutan dinetralkan dengan Na OH 45%, dan diencerkan dengan air hingga mencapai mencapai volume 500 ml. Campuran tersebut disaring lagi dengan kertas saring. Kadar gula dalam filtrat ditentukan sebagai glukosa. Penentuan glukosa dilakukan seperti penetapan/penentuan kadar gula pereduksi. Hasil perkalian bobot dengan faktor 0.9 merupakan bobot pati.

#### **5.4. Analisis Kadar Dekstrin**

Kadar dekstrin dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer Shimadzu UV 160. Analisis ini didasarkan pada kenyataan bahwa dekstrin dapat larut dalam air dingin, dan antara dekstrin yang larut tersebut dengan larutan iod dapat terbentuk ikatan dekstrin – iod yang berwarna merah atau coklat – ungu. Absorbsinya dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 555 nm (Armelia, 1990).

Untuk membuat kurva standar dekstrin, sebanyak 0,1 g dekstrin murni ditimbang dan diencerkan dengan air sampai volume 100 ml seraya diaduk dengan pengaduk magnetik selama 15 menit. Larutan tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit. Larutan yang jernih dipipet ke dalam tabung reaksi, masing-masing sebanyak 0,1,2,3,4,5 dan 6 ml, selanjutnya masing-masing diencerkan dengan air hingga volumenya mencapai 10 ml. Masing-masing tabung dibubuhi larutan iod 0,2% ( 0,2 g I<sub>2</sub> + 2,0 g KI + 100 ml air ) sebanyak 1,2 ml, kemudian dicari absorbansi maksimumnya dengan spektrofotometer UV vis. Pada percobaan ini diperoleh absorbansi maksimum pada panjang gelombang 550 nm. Selanjutnya dibuat kurva standar yang menyatakan hubungan antara konsentrasi dekstrin standar (absisa) terhadap absorbansi (ordinat).

Pada penetapan dekstrin, mula-mula ditimbang tiga gram contoh yang telah dihomogenkan. Contoh tersebut dimasukkan ke dalam gelas piala

100 ml, ditambah 75 ml air, diaduk dengan pengaduk magnetik selama 15 menit, dan disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml, sedangkan endapan dalam tabung sentrifugasi ditambah 25 ml air, diaduk dengan spatula, dan disentrifugasi kembali. Supernatan dipipet dan dipindahkan ke dalam labu ukur yang sama seperti tersebut di atas hingga volumenya mencapai 100 ml. Setelah dicampur dengan baik, sebanyak 10 ml filtrat dibubuhi 0,2 ml larutan iod 0,2% dan absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 550 nm dengan spektrofotometer UV vis. Selanjutnya persen dekstrin dalam contoh ditetapkan dengan memanfaatkan kurva standar dekstrin.

## **BAB VI**

### **ANALISIS LEMAK**

Lemak adalah senyawa ester dari gliserol dan asam lemak. Namun lemak yang ada didalam jaringan, baik hewan maupun tanaman, juga disertai dengan senyawa lain seperti posfolipida, sterol, dan beberapa pigmen. Dalam analisis kadar lemak, seringkali disebut sebagai analisis "lemak kasar", karena selain asam lemak terikut pula senyawa-senyawa lain.

#### **6.1. Penentuan Kadar Lemak dengan Soxhlet**

Ekstraksi dengan alat Goldfish sangat praktis dan mudah pemakaiannya. Bahan sampel yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam thimble dan dipasang dalam tabung penyangga yang pada bagian bawahnya berlubang. Bahan pelarut yang digunakan ditempatkan dalam bekgelas di bawah tabung penyangga. Bila bekgelas dipanaskan uap pelarut akan naik dan didinginkan oleh kondensor sehingga akan mengembun dan menetes pada sampel demikian terus-menerus sehingga bahan akan dibasahi oleh pelarut dan lipida akan terekstraksi dan selanjutnya akan tertampung kedalam bekgelas kembali. Setelah ekstraksi selesai ( 3 – 4 jam ), pemanas dimatikan dan sampel berikut penyangganya diambil dan diganti dengan bekgelas yang ukurannya sama dengan tabung penyangga. Pemanas dihidupkan kembali sehingga pelarut akan diuapkan lagi dan diembunkan serta tertampung ke dalam bekgelas yang terpasang di bagian bawah kondensor. Dengan demikian pelarut yang tertampung ini dapat dimanfaatkan untuk ekstraksi yang lain. Residu yang ada dalam bekgelas yang dipasang pada pemanas selanjutnya dikeringkan dalam oven 100°C sampai berat konstan. Berat residu ini dinyatakan sebagai minyak atau lemak yang ada dalam bahan.

Seperti halnya cara Soxhlet, penentuan banyaknya lemak/minyak dapat pula dengan menimbang residu dalam thimble sesudah ekstraksi berakhir dan sudah dikeringkan sampai berat konstan. Selisih bobot sample sebelum dan bobot residu sesudah ekstraksi dan sudah dikeringkan merupakan lemak yang ada dalam bahan. Keuntungan cara ekstraksi Goldfish ini adalah pelarut yang sudah dipakai dapat diperoleh kembali.

## **6.2. Penentuan Kadar Lemak dengan Babcock**

Penentuan lemak dengan botol Babcock sangatlah sederhana. Sample yang telah ditimbang dengan teliti dimasukkan ke dalam botol Babcock. Pada leher botol Babcock ini telah dilengkapi dengan skala ukuran volume. Sample yang dianalisa ditambah asam sulfat pekat (95%) untuk merusak emulsi lemak sehingga lemak akan terkumpul menjadi satu pada bagian atas cairan. Pemisahan lemak dari cairannya dapat lebih sempurna bila dilakukan sentrifugasi. Rusaknya emulsi lemak dikarenakan asam sulfat dapat merusak lapisan film yang menyelimuti globula lemak yang biasanya terdiri dari senyawa protein. Dengan rusaknya protein (denaturasi ataupun koagulasi) maka memungkinkan globula lemak yang satu akan bergabung dengan globula lemak yang lain dan akhirnya menjadi kumpulan lemak yang lebih besar dan akan mengapung di atas cairan. Setelah disentrifugasi lemak akan semakin jelas terpisah dengan cairannya dan agar dapat dibaca banyaknya lemak maka ke dalam botol ditambahkan aquades panas sampai lemak atau minyak tepat pada tanda skala bagian atas, dengan demikian banyaknya lemak atau minyak dapat secara langsung dibaca/diketahui. Asam sulfat yang berfungsi untuk merusak emulsi minyak dapat diganti dengan senyawa lain misalnya detergent yang bersifat anion yaitu Dioktil sodiumfosfat atau memakai detergent tidak mengion tetapi hidrofil yaitu polioxiethilen sorbitan monolaurat.

## **BAB VII**

### **ANALISIS VITAMIN**

Vitamin merupakan senyawa organik yang jumlahnya relatif sangat sedikit didalam suatu bahan pangan. Ada banyak jenis vitamin, tetapi pada umumnya dikelompokkan menjadi dua, yaitu: (1) vitamin yang larut air dan (2) vitamin yang larut dalam lemak. Kelompok vitamin yang larut dalam air yaitu vitamin C (asam askorbat) dan beberapa vitamin B (vitamin B1, B2, B6 dan B12) yang sering disebut sebagai vitamin B kompleks. Sedangkan kelompok vitamin yang larut dalam lemak yaitu vitamin A, D, E dan K.

#### **7.1. Penentuan Kadar Asam Askorbat Total**

Prinsip penentuan kadar asam askorbat total adalah asam askorbat dioksidasi seluruhnya menjadi asam dihidroaskorbat oleh arang aktif dengan bantuan asam asetat. Selanjutnya bila direaksikan dengan 2,4-difenilhidrazin dan ditambahkan asam sulfat akan terbentuk warna merah yang intensitasnya dapat diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm.

Muchtadi (1989) menjelaskan bahan dan prosedur yang digunakan untuk penentuan kadar asam askorbat total berikut ini. Terlebih dahulu disiapkan larutan asam metaposfat 5%, asam asetat 10%, larutan Tiourea 10% dan larutan 2-4-dinitrofenilhidrazin. Selanjutnya bahan dihancurkan dan dihomogenkan dalam "waring blender" atau mortar dengan menggunakan larutan metaposfat-asam asetat. Hancuran tersebut disaring dan kedalam 15 ml filtrat ditambahkan 0,75 g arang aktif, serta dikocok merata dan kemudian disaring. Kedalam 4 ml hasil saringan ditambahkan 1 tetes Tiourea 10% dan 1 ml larutan dinitrofenilhidrazin (dalam tabung reaksi).

Dibuat juga blanko seperti prosedur tersebut diatas tanpa penambahan dinitrofenilhidrazin (diganti dengan akuades). Selanjutnya tabung reaksi ditempatkan dalam penangas 37°C selama 3 jam, kemudian tabung didinginkan dalam air es. Ditambahkan 5 ml asam sulfat 85% kedalam sampel dan blanko, dikocok merata. Setelah 30 menit dilakukan pembacaan absorban pada 540 nm. Dibuat konsentrasi asam askorbat dari 0,25-15 µg per ml. Akhirnya dapat ditentukan kadar asam askorbat total.

## **7.2. Penentuan Kadar Vitamin A dalam Lemak/ Minyak.**

Vitamin A didalam lemak atau minyak dapat ditentukan dengan beberapa metode. Salah satu metode penentuan kadar vitamin A secara cepat adalah dengan metode Carr Price (Apriyantono *et al.*, 1989). Prinsip metode ini adalah vitamin A bereaksi dengan antimon triklorida membentuk warna biru yang dapat diukur intensitasnya dengan spektrofotometer.

Reagensia antimon triklorida dibuat dengan cara sebagai berikut. Kloroform dicuci dengan air dalam volume yang sama atau 2-3 kalinya, kemudian dibebaskan airnya dengan potasium karbonat anhidrat. Dilakukan distilasi dan dibuang sedikit destilat awalnya (sekitar 10%). Larutan antimon triklorida yang terbentuk dicuci dengan kloroform murni (bebas air) hingga jernih.

Untuk sampel yang diduga banyak mengandung vitamin A dapat langsung digunakan, yaitu terlebih dahulu dilarutkan dalam kloroform hingga mencapai konsentrasi 20% (w/v). Untuk sampel yang sedikit mengandung vitamin A perlu dilakukan saponifikasi terlebih dahulu. Cara saponifikasinya yaitu: 10 g sampel ditambah 75 ml alkohol 95% dan 25 ml larutan KOH 50%, kemudian dididihkan selama 20 menit. Bagian yang tidak tersabunkan diekstrak dengan kloroform.

Disiapkan blanko dengan cara mencampur 4 ml reagen antimon triklorida dan 1ml kloroform hingga merata. Disamping itu, disiapkan 0,5 ml larutan sampel/ bahan yang mengandung vitamin A, kemudian dicampur

dengan 2 ml reagensia antimon triklorida hingga merata. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 620 nm. Kadar vitamin A ditentukan berdasarkan kurva standar (konsentrasi vitamin A asetat 0-15 IU per ml).

## **BAB VIII**

### **ANALISIS ABU DAN MINERAL**

Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan. Kadar abu suatu bahan erat kaitannya dengan kandungan mineral bahan tersebut. Berbagai mineral didalam bahan ada didalam abu pada saat bahan dibakar.

#### **8.1. Penentuan Kadar Abu**

Prinsip penentuan kadar abu didalam bahan pangan adalah menimbang berat sisa mineral hasil pembakaran bahan organik pada suhu sekitar 550°C. Penentuan kadar abu dapat dilakukan secara langsung dengan cara membakar bahan pada suhu tinggi (500-600°C) selama beberapa (2-8) jam dan kemudian menimbang sisa pembakaran yang tertinggal sebagai abu. Jumlah sampel pada analisis kadar abu adalah sekitar 2-5 g untuk bahan yang banyak mengandung mineral (misalnya: ikan, daging, susu, biji-bijian), atau sekitar 10 g untuk bahan seperti "jelly", "jam", sirup dan buah kering, atau lebih besar lagi (25-50 g) untuk bahan yang mengandung sedikit mineral seperti buah segar, jus dan anggur.

Penentuan kadar abu juga dapat dilakukan secara tidak langsung, yaitu dengan cara melarutkan sampel kedalam cairan yang ditambahkan oksidator. Setelah itu baru dilakukan pembakaran sampel. Cara pengabuan ini disebut pengabuan cara basah dan keuntungannya adalah suhu pembakaran tidak terlalu tinggi.

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{\text{Berat abu (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100$$

Untuk menganalisis masing-masing jenis mineral dapat dilakukan dengan alat AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer). Menggunakan AAS kandungan beberapa jenis mineral didalam bahan pangan dapat ditentukan.

## **8.2. Penentuan Kadar Kalsium**

Penentuan kadar kalsium suatu bahan didasarkan pada prinsip bahwa kalsium dapat diendapkan sebagai kalsium oksalat. Endapan dilarutkan dalam asam sulfat encer panas dan dititrasi dengan  $\text{KMnO}_4$ . Berikut ini reagensia dan prosedur analisis kadar kalsium sebagaimana dijelaskan oleh Muchtadi (1989).

### ***(1) Reagensia***

- a. Amonium oksalat jenuh.
- b. Indikator merah metil. Indikator ini dibuat dengan cara melarutkan 0,5 g merah metil dalam 100 ml alkohol 95%.
- c. Asam asetat encer (1:4).
- d. Asam sulfat encer (1:4).
- e. Amonium hidroksida encer (1:4)
- f.  $\text{KMnO}_4$  0,1 dan 0,01 N. Larutan  $\text{KMnO}_4$  dibuat pada saat akan digunakan.

### ***(2) Prosedur***

Sebanyak 20-100 ml larutan abu hasil pengabuan kering dimasukkan kedalam gelas piala 250 ml. Bila perlu ditambahkan 25-50 ml akuades. Selanjutnya ditambahkan 10 ml larutan amonium oksalat jenuh dan 2 tetes idnikator merah metil. Larutan ditambah amonia encer hingga menjadi sedikit basa, kemudian ditambah beberapa tetes asam asetat

sampai terbentuk warna merah muda (pH 5,0). Larutan dididihkan dan didiamkan sekitar 4 jam atau 1 malam pada suhu kamar. Larutan disaring dengan kertas saring Whatman No. 42 dan dibilas dengan akuades hingga filtrat bebas oksalat. Endapan dibilas dan dipindahkan dengan asam sulfat encer panas dan dimasukkan kedalam gelas piala. Dibilas sekali lagi dengan air panas. Larutan dalam keadaan agak panas (70-80°C) dititrasi dengan larutan  $\text{KMnO}_4$  0,01 N sampai berwarna merah jambu. Dimasukkan kertas saring dan dilanjutkan titrasi hingga terbentuk warna merah jambu permanen kedua. Perhitungan jumlah kalsium adalah sebagai berikut:

**Ca (mg/100 g sampel) =**

Hasil titrasi x 0,2 x total volume larutan abu x 100

-----  
Volume larutan abu yang digunakan x Berat sampel yang diabukan

## **BAB IX**

### **ANALISIS BAHAN METABOLIT**

Didalam bahan pangan sering dijumpai bahan metabolit, baik yang diinginkan maupun yang tidak diinginkan. Bahan metabolit merupakan produk metabolisme mikroba yang menggunakan komponen bahan pangan tersebut untuk tumbuh dan berkembang biak. Ada jenis mikroba yang sengaja ditumbuhkan untuk menghasilkan metabolit tertentu seperti alkohol dan asam-asam organik yang ada didalam produk-produk fermentasi.

#### **9.1. Analisis Kadar Alkohol**

Penetapan kadar alkohol dalam contoh menggunakan metode oksidasi dikromat ( AOAC, 1984 ). Pereaksi – pereaksi yang digunakan adalah : (a) larutan kalium dikromat, dibuat dengan menambahkan 162,5 ml  $H_2SO_4$  pekat ke dalam air sampai volume 200 ml dalam labu ukur 500 ml, kemudian ditambah 16.884 g  $K_2Cr_2O_7$ , selanjutnya ditambah air sampai tanda tera, (b) larutan ferro amonium sulfat, dibuat dengan melarutkan sebanyak 67.75 g  $FeSO_4 (NH_4)_2 SO_4 \cdot 6H_2O$  dalam 250 ml air dalam labu ukur 500 ml, ditambah 15 ml  $H_2SO_4$  pekat, selanjutnya ditambah air sampai tanda tera, (c) larutan indikator 1,10-fenantrolin ferro sulfat, dibuat dengan melarutkan 0.695 g  $Fe SO_4 \cdot 7H_2O$  dalam 50 ml air dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambah 1,485 g o-fenantrolin.  $H_2O$ , selanjutnya ditambah air sampai volumenya mencapai 100 ml.

Untuk penetapan kadar alkohol, mula-mula ditimbang sebanyak 1.000 g contoh yang telah dihomogenkan ke dalam labu erlenmeyer 250 ml dan ditambah  $\pm 100$  ml air. Campuran tersebut selanjutnya didestilasi pada suhu  $\pm 85^0$  C. Destilat ditampung dalam labu erlenmeyer 100 ml yang

berisi 25 ml  $K_2Cr_2O_7$ . Destilat dihentikan apabila volume penampung telah mencapai  $\pm 40$  ml.

Destilat selanjutnya diencerkan sampai volume 250 ml dan dikocok merata. Diambil sebanyak 25 ml dan dititrasi dengan larutan  $FeSO_4 (NH_4)_2 SO_4$  sampai berwarna hijau jernih, dibubuhi tiga tetes indikator fenantrolin, dan dititrasi kembali sampai titik akhir titrasi berwarna coklat. Titrasi dilakukan triplo.

Penetapan blanko dilakukan dengan memindahkan sebanyak 25 ml larutan  $K_2 Cr_2 O_7$  ke dalam labu ukur 250 ml, diencerkan dengan air sampai tanda tera. Selanjutnya diambil sebanyak 25 ml dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 100 ml, serta dititrasi dengan larutan  $FeSO_4 (NH_4)_2 SO_4$  seperti pada penetapan contoh di atas.

Penetapan kadar alkohol dalam contoh selanjutnya dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar alkohol (\%)} = 25 - \left( 25 \times \frac{c}{b} \right)$$

c = titer contoh ( ml )

b = titer blanko ( ml )

## 9.2. Pengukuran Nilai pH dan Analisis Kadar Total Asam

Nilai pH pada contoh diukur dengan menggunakan pH meter merk Toa. Sebanyak 25 g contoh yang telah dihomogenkan diencerkan dengan air sampai volume 250 ml. Campuran ini selanjutnya dipindahkan ke dalam gelas piala 500 ml, dihomogenkan, didiamkan selama  $\pm 15$  menit, kemudian diukur pHnya, setelah sebelumnya pH-meter tersebut dikalibrasi dengan larutan bufer pH 4.00 dan bufer pH 7.00 ( Apriyantono et al, 1989 ).

Penetapan kadar total asam dinyatakan sebagai asam asetat. Analisis kadar total asam dilakukan secara titrasi menurut metode yang diuraikan

oleh Ruck ( 1963 ). Campuran contoh diatas, setelah diukur nilai pH-nya selanjutnya disaring dengan kertas saring. Selanjutnya sebanyak 25 ml filtrat dititrasi dengan larutan NaOH 0.02 N standar dengan indikator fenolftalein ( PP ) satu persen dalam alkohol 70 %. Titrasi dihentikan apabila telah terbentuk warna merah muda. Titrasi dilakukan triplo. Kadar total asam dapat ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar total asam ( sebagai asam asetat )} = \frac{V \times N \times P \times B}{G \times 1000} \times 100 \%$$

V = volume Na OH ( ml )

N = normalitas Na OH

P = faktor pengenceran

B = bobot molekul misal sebagai asam asetat = 60.052

G = bobot contoh ( g )

## DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati, dan S. Budiyo. 1989. Analisis Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB, Bogor.
- Armelia, M. 1990. Mempelajari Kinetika Hidrolisa Pati Sagu (*Metroxylan sp*) dengan HCl pada pembuatan Dekstrin secara Kering. Skripsi. FTP. IPB, Bogor.
- Association of Official Analytical Chemist ( AOAC ). 1984. Official Methods of Analysis. AOAC Arlington.
- Muchtadi, D. 1989. Petunjuk Laboratorium: Evaluasi Nilai Gizi Pangan. Depdikbud-Ditjen Dikti, PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor.
- Picha, D.H. 1985. HPLC Determination of Sugar in Raw and Baked Sweet Potatoes. J. Food Sei. 50 : 1189, 1190 and 1210.
- Pomeranz, Y. and C.E. Meloan. 1980. Food Analysis : Theory and Practice. The AVI Publ. Co. Inc., Westport, Connecticut.
- Robyt, J. F. and B.J. White. 1990. Biochemical Techniques, Theory and Practice. Waveland Press, Inc., Illinois.
- Ruck, J.A. 1963. Chemical Methods for Analysis of Fruit and Vegetable Products Canada Dep. Agric. Summerland.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1996. Analisa bahan Makanan dan Pertanian. Liberty dan PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.