

MODUL PRAKTIKUM ANALISIS PANGAN



Disusun oleh:

UPGRIS

Dr. Rini Umiyati, S.Hut., M.Si.

Arief Rakhman Affandi, S.T.P., M.Si.

Berkolaborasi dengan

UNIVET:

Ir. Agustina Intan Niken Tari, M.P.



**PEMBELAJARAN DARING KOLABORATIF
KERJASAMA TEKNOLOGI PANGAN UPGRIS DAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN UNIVET
2024**

KATA PENGANTAR

Setiap produk pangan memiliki karakteristik yang berbeda antara satu produk dengan produk lainnya. Faktor inilah yang menjadi penentu mutu dari produk pangan itu sendiri. Proses penentuan mutu pangan sendiri memerlukan suatu mekanisme tertentu yang disesuaikan dengan bahan pangan yang akan diukur. Selain prosedur yang sesuai dengan karakteristik bahan, diperlukan suatu standar acuan yang dikenal secara luas (internasional) dan bersifat *reproducible*. Beberapa metode analisis bahan pangan yang sering digunakan antara lain metode yang dikeluarkan oleh *Association of Official Agricultural Chemist (AOAC)*, *International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)*, *American Oil Chemist Society (AOCS)*, dan lain sebagainya.

Buku petunjuk praktikum analisis pangan ini disusun dalam rangka sebagai salah satu acuan yang digunakan dalam praktikum analisis pangan. Praktikum analisis pangan ini diselenggarakan dengan tujuan untuk melatih mahasiswa melakukan teknik analisis yang tepat sesuai dengan tujuan dan sifat produk pangan yang dianalisis. Materi dalam buku petunjuk praktikum ini akan membahas beberapa metode analisis untuk menentukan parameter mutu bahan pangan yang meliputi :

1. Analisis Kadar Air
2. Analisis Kadar Abu
3. Analisis Kadar Lemak dan ALB
4. Analisis Kadar Protein (Metode Mikro Kjeldahl)
5. Analisis Serat Kasar
6. Analisis Total Fenol
7. Analisis Kadar Total Gula (Metode Anthrone)
8. Analisis Kapasitas Antioksidan
9. Metode Separasi TLC

Dengan disusunnya buku petunjuk praktikum ini, diharapkan dapat memudahkan para mahasiswa dalam pelaksanaan praktikum analisis pangan sehingga tujuan dari kompetensi matakuliah dapat tercapai. Demi kesempurnaan dan kelengkapan buku petunjuk praktikum analisis pangan ini, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat kami harapkan, sehingga pedoman praktikum ini dapat memberikan manfaat secara luas, bukan hanya bagi mahasiswa, namun bagi pihak yang ingin menggunakannya.

Semarang, Juli 2024

Tim Penyusun

DAFTAR ISI

| | |
|--|-----|
| Kata Pengantar | ii |
| Daftar Isi | iii |
| Peraturan Praktikum | iv |
| Bab I : Analisis Kadar Air | 1 |
| Bab II : Analisis Kadar Abu | 4 |
| Bab III : Analisis Kadar Lemak dan ALB | 6 |
| Bab IV : Analisis Protein (Mikro Kjeldahl) | 12 |
| Bab V : Analisis Kadar Serat Kasar | 15 |
| Bab VI : Analisis Total Gula (Metode Anthrone) | 17 |
| Bab VII : Analisis Total Fenol | 20 |
| Bab VIII : Analisis Kapasitas Antioksidan | 22 |
| Bab IX : Metode Separasi TLC | 25 |

BAB I

ANALISIS KADAR AIR

METODE OVEN (SNI 01-2891-1992)

Air merupakan salah satu komponen kimia yang banyak terkandung dalam suatu bahan pangan. Kandungan air dalam bahan pangan seringkali dikaitkan dengan mutu pangan dan tingkat keawetan bahan pangan tersebut. Umumnya, bahan pangan yang memiliki kadar air cukup tinggi memiliki masa simpan yang cukup pendek. Hal ini dikarenakan ada kaitan antara kadar air dengan masa pertumbuhan mikroba dan bentuk fisik dari bahan pangan tersebut.

Air yang terdapat dalam bahan pangan terdapat dalam berbagai bentuk yaitu air bebas, air terikat lemah, dan air terikat kuat. Air bebas adalah air yang terdapat dalam ruang-ruang antar sel dan inter granular dan pori-pori yang terdapat pada bahan. Air terikat lemah merupakan air yang terjadi karena terserap (teradsorpsi) pada permukaan koloid makro molekul air seperti protein, pektin, dan selulose. Sedangkan air dalam keadaan terikat kuat adalah air yang membentuk hidrat dalam bahan pangan.

Penetapan kadar air termasuk dalam analisis kuantitatif. Kadar air pada dasarnya menyatakan banyaknya kandungan air yang terdapat dalam bahan pangan. Jumlah air tersebut seringkali berubah-ubah tergantung pada beberapa faktor yang mempengaruhinya. Faktor-faktor tersebut antara lain kelembaban udara sekitar yang berkaitan dengan tempat penyimpanan bahan, sifat dan jenis bahan, maupun perlakuan yang telah dialami oleh bahan tersebut.

Penetapan kadar air dengan menggunakan oven prinsipnya adalah menguapkan air yang ada dalam bahan dengan jalan pemanasan, kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti semua air telah teruapkan. Cara ini relatif murah dan mudah akan tetapi memiliki beberapa kekurangan yaitu adanya kemungkinan bahan lain ikut teruapkan sehingga mengurangi bobot akhir. Bahan yang sering ikut teruapkan misalnya alkohol,

asam asetat, minyak atsiri, dan lainnya. Selain itu, terbentuk reaksi selama proses pengeringan, dan adanya bahan yang dapat mengikat air secara kuat menyebabkan kesulitan dalam melepaskan air selama pengeringan.

Penentuan kadar air suatu bahan dapat ditentukan berdasarkan basis kering (*dry basis*) dan basis basah (*wet basis*). Penetapan kadar air berdasarkan basis kering lebih efektif bila dibandingkan dengan basis basah, karena kadar air bahan sering berubah-ubah sedangkan padatan dalam bahan relatif stabil. Basis basah biasa digunakan untuk sampel tunggal sedangkan basis kering umumnya digunakan untuk sampel yang banyak dan seringkali dilakukan perbandingan antara sampel satu dengan lainnya.

Komponen kering yang tersisa setelah penghilangan kadar air biasa disebut total padatan. Nilai analitis ini penting secara ekonomi bagi produsen makanan, karena air merupakan bahan pengisi yang yang tidak mahal, sedangkan produk dengan air di dalamnya dapat dapat dihargai tinggi karena volume nya bertambah. Selain itu, kadar air bahan menentukan mutu dan kestabilan suatu bahan pangan terutama berhubungan dengan kerusakan mikrobiologis. Ketepatan pengukuran kadar air dipengaruhi oleh suhu pengeringan, suhu dan kelembaban relatif ruang pengering, ukuran partikel sampel, konstruksi oven pengering, jumlah serta posisi sampel dalam oven.

TUJUAN

Praktikum ini bertujuan untuk mengetahui metode pengukuran kandungan air dalam bahan pangan dengan tepat dan sesuai dengan karakteristik bahan pangan yang dianalisis. Selain itu, kegiatan ini juga bertujuan untuk melatih mahasiswa memahami prosedur yang telah dibuat agar hasil yang diperoleh dapat dimanfaatkan untuk kepentingan tertentu.

ALAT DAN BAHAN

Alat-alat yang digunakan antara lain cawan alumunium (diameter ± 3 cm), desikator, oven pengering, penjepit besi, timbangan analitik, pisau, dan sudip besi.

Bahan-bahan yang digunakan ialah kacang kedelai, tepung terigu, kentang, dan wortel.

PROSEDUR

Analisis Kadar Air

1. Cawan kosong dikeringkan dalam oven bersuhu 105 °C selama 15 menit kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang (W_1).
2. Sampel sebanyak kurang lebih 5 g (W) dimasukkan ke dalam cawan, kemudian diletakkan pada oven bersuhu 105 °C selama 4 jam, kemudian timbang
3. Sampel dikeringkan kembali dalam oven kemudian ditimbang kembali 1 jam kemudian atau hingga berat cawan berisi contoh konstan (W_2). Kadar air dapat dihitung menggunakan perhitungan berikut:

$$\text{kadar air (basis basah)} = \frac{W - (W_2 - W_1)}{W}$$

$$\text{kadar air (basis kering)} = \frac{W - (W_2 - W_1)}{W_2 - W_1}$$

4. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Hitung nilai rata, standar deviasi, dan RSD dari hasil analisis.

Tabel 1. Hasil analisis kadar air bahan

| No. | Nama Bahan | Berat Cawan (g) | Berat Sampel (g) | Berat akhir (g) | Kadar air (%) |
|-----|----------------|-----------------|------------------|-----------------|---------------|
| 1. | kacang kedelai | | | | |
| 2. | kacang kedelai | | | | |
| 3. | kacang kedelai | | | | |
| | | | | | |
| dst | | | | | |

BAB II

ANALISIS KADAR ABU

PENDAHULUAN

Abu merupakan residu anorganik dari proses pembakaran atau oksidasi komponen organik bahan pangan. Kadar abu dari suatu bahan menunjukkan total mineral yang terkandung dalam bahan pangan tersebut. Kadar abu total adalah bagian dari analisis proksimat yang digunakan untuk mengevaluasi nilai gizi suatu bahan/produk pangan. Pengabuan juga merupakan tahapan persiapan contoh yang harus dilakukan pada analisis mineral.

Metode pengabuan dapat dilakukan dengan menggunakan metode pengabuan basah dan pengabuan kering. Metode pengabuan kering menggunakan panas tinggi sedangkan pengabuan basah menggunakan oksidator kuat. Analisis kadar abu dengan metode pengabuan kering dilakukan dengan cara mendesktruksi komponen organik contoh dengan suhu tinggi dalam suatu tanur pengabuan, tanpa terjadi nyala api, hingga terbentuk abu berwarna putih keabuan dan berat tetap tercapai. Oksigen yang terdapat di dala udara bertindak sebagai oksidator. Residu yang didapatkan adalah total abu dari contoh.

TUJUAN

Praktikum ini bertujuan untuk mengetahui metode menghitung kandungan abu dengan menggunakan metode pengabuan kering. Selain itu, juga bertujuan untuk mengenalkan kepada mahasiswa mengenai metode awal dalam persiapan awal analisis mineral.

ALAT DAN BAHAN

Peralatan yang digunakan antara lain tanur (muffle furnace), cawan porcelain, timbangan analitik, dan gegep besi. Bahan-bahan yang digunakan ialah bahan pangan yang sudah dikeringkan seperti kacang, kentang, dan tepung.

PROSEDUR

Pengukuran kadar abu

1. Cawan porcelain dikeringkan di dalam oven selama 30 menit
2. Cawan dimasukkan ke dalam desikator dan ditunggu selama 10 menit (hingga dingin), kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik → berat cawan kosong (A)
3. Timbang sampel sebanyak 2-3 gram ke dalam cawan porcelain → berat sampel awal (B)
4. Cawan beserta sampel dimasukkan ke dalam tanur yang kemudian dipanaskan pada suhu 550°C hingga pengabuan sempurna (± 4 jam)
5. Setelah selesai pengabuan, dinginkan cawan contoh di dalam desikator, kemudian ditimbang. Ulangi penimbangan hingga diperoleh bobot tetap → berat total (C).

Perhitungan kadar abu

Hitung kadar abu dalam basis basah dan basis kering sebagai berikut :

Kadar abu dalam basis basah :

$$\text{Kadar abu (g/100 g bahan basah)} = \frac{C-A}{B} \times 100\%$$

Kadar abu dalam basis kering :

$$\text{Kadar abu (g/100 g bahan kering)} = \frac{\text{Kadar abu (bb)}}{(100 - \text{kadar air})} \times 100$$

Tabel 2. Hasil perhitungan kadar abu

| No. | Sampel | Berat cawan (A) | Berat sampel (B) | Berat total (C) | Kadar abu (bb) | Kadar abu (bk) |
|-----|----------------|-----------------|------------------|-----------------|----------------|----------------|
| 1. | Kacang kedelai | | | | | |
| 2. | Kentang | | | | | |
| 3. | Tepung | | | | | |
| 4. | | | | | | |

BAB III

ANALISIS LIPIDA

PENDAHULUAN

Lipida merupakan salah satu jenis makromolekul yang banyak terkandung pada bahan/produk pangan tertentu. Lipida memiliki peranan yang cukup penting dalam suatu produk pangan seperti membentuk citarasa, bahan pelarut vitamin, media pembawa flavor, dan lain sebagainya. Pada proses pengolahan pangan, lemak ditambahkan ke dalam produk dengan berbagai metode dan tujuan yang berbeda-beda.

Proses ekstraksi lipida dapat dilakukan dengan metode kering (tanpa pelarut) dan metode basah (dengan pelarut). Metode ekstraksi kering dapat dilakukan dengan menggunakan alat bertekanan tinggi sehingga minyak yang terperangkap dalam jaringan dapat keluar dengan mudah. Kelemahan penggunaan metode ekstraksi kering ini, ada beberapa kandungan lemak yang masih terperangkap dalam ampas sehingga menurunkan rendemen proses ekstraksi. Kelemahan ini dapat diatasi apabila ekstraksi lipida tersebut menggunakan metode basah (menggunakan pelarut). Metode ekstraksi ini menggunakan bahan pelarut organik yang dapat melarutkan lipida, seperti heksana, petroleum eter, dan dietil eter.

Prinsip ekstraksi lipida dengan bahan pelarut ini diaplikasikan dalam metode pengukuran kandungan lipida yang menggunakan perangkat soxhlet. Metode soxlet ini dilakukan dengan cara refluks pada suhu pemanasan yang sesuai dengan karakteristik pelarut yang digunakan. Sirkulasi pelarut terhadap sampel akan mengekstrak lipida yang terkandung dalam sampel dengan efektif. Proses refluks dihentikan setelah warna pelarut berubah menjadi jernih, yang berarti sebagian besar lipida telah terekstrak dan tertampung dalam labu bulat.

TUJUAN

Praktikum ini bertujuan melatih mahasiswa melakukan ekstraksi lemak dari beberapa bahan dan produk pangan dengan menggunakan pelarut organik. Mahasiswa juga dituntut dapat menentukan prosedur ekstraksi lemak secara sistematis sehingga data yang diperoleh menjadi akurat.

ALAT DAN BAHAN

Peralatan yang digunakan pada praktikum ini antara lain labu soxhlet (volume 100 atau 250 ml), kondensor, pompa sirkulasi air, timbangan analitik, sudip, gelas kimia, kertas saring, penangas air, labu bulat (volume 100 atau 250 ml), Oven pengering, dan lemari asam.

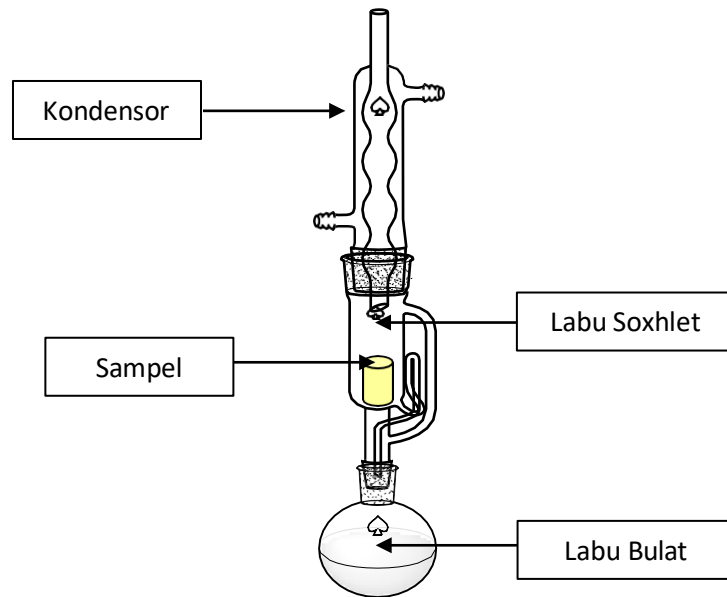
Bahan yang digunakan dalam praktikum ini antara lain MPASI, mie instant, dan pelarut heksan,

PROSEDUR

Kadar Lemak Metode Soxhlet (SNI 01-2891-1992)

1. Labu lemak yang digunakan dikeringkan dalam oven bersuhu 105 °C selama sekitar 15 menit, dinginkan dalam desikator, dan ditimbang (W_1).
2. Sampel dalam bentuk tepung ditimbang sebanyak 1-2 g (W_0) dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam alat ekstraksi (*soxhlet*), yang telah berisi pelarut heksana.
3. *Reflux* dilakukan selama \pm 4-6 jam dan pelarut yang ada di dalam labu lemak didistilasi.
4. Labu lemak yang berisi lemak hasil ekstraksi dipanaskan dalam alat refluks untuk meisahkannya dengan pelarut yang digunakan kemudian dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 75 °C hingga bobotnya konstan, didinginkan dalam desikator, dan ditimbang (W_2).
5. Kadar lemak dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar lemak} = \frac{(W_2 - W_1)}{W_0} \times 100\%$$



Gambar 1. Rangkaian unit ekstraksi lemak dan minyak (*Soxhlet Extraction unit*)

Tabel 3. Hasil penetapan kadar lemak kasar dengan metode soxhlet

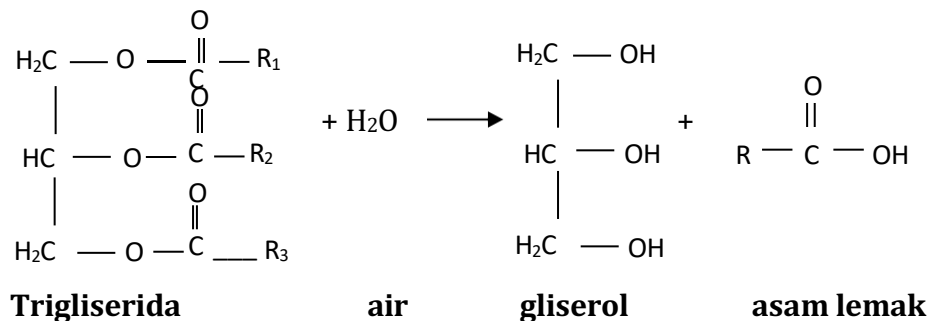
| Ulangan | Berat sampel (gram) | Berat labu lemak kosong (gram) | Berat labu lemak dan minyak/lemak (gram) | Jumlah lemak (gram) | Kadar lemak (%) |
|---------|---------------------|--------------------------------|--|---------------------|-----------------|
| 1 | MPASI | | | | |
| 2 | Mie instant | | | | |

KADAR ASAM LEMAK BEBAS (ALB)

Reaksi yang terjadi pada minyak selama proses pengolahan merupakan hasil dari hubungan panas, udara dan kadar air. Degradasi minyak meliputi reaksi polimerisasi, oksidasi dan hidrolisis. Adanya panas menjadi katalis yang mempercepat pembentukan asam lemak bebas dan reaksi polimerisasi pada minyak. Beberapa senyawa yang mudah mengalami oksidasi adalah asam lemak tidak jenuh dan persenyawaan yang menimbulkan aroma, flavor, dan warna. Permulaan proses oksidasi minyak pada umumnya diawali dengan adanya perubahan karakteristik bau.

Reaksi kimia lainnya yang dapat menyebabkan kerusakan mutu minyak dalam penggorengan adalah reaksi hidrolisis. Air yang ada dalam bahan pangan berperan dalam menguraikan trigliserida menjadi asam lemak bebas, monogliserida, digliserida dan gliserol. Dengan adanya panas, gliserol akan terdegradasi menjadi akrolein (CH₂CHCHO) dan uap secara cepat. Molekul asam lemak bersifat lebih rentan terhadap oksidasi dan menjadi katalis hidrolisis. Titik asap minyak akan mengalami penurunan dengan bertambahnya kandungan asam lemak bebas. Asam lemak bebas yang berlebih menyebabkan minyak menjadi berbau kurang enak (Blumenthal di dalam Hui, 1996).

Asam lemak bebas yang terbentuk dinyatakan dengan bilangan asam yaitu jumlah miligram NaOH atau KOH yang diperlukan untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat dalam 1 gram minyak atau lemak.



Gambar 3. Reaksi hidrolisis minyak (trigliserida) menjadi asam lemak

Proses pemanasan akan menghasilkan uap air panas yang memicu reaksi hidrolisis minyak. Untuk proses penggorengan vakum asam lemak bebas yang terbentuk hasil reaksi hidrolisis lebih dominan daripada asam lemak bebas hasil reaksi oksidasi. Kadar lemak bebas menunjukkan persentase jumlah asam lemak bebas yang terdapat di dalam minyak, dan dihitung berdasarkan bobot molekul asam lemak yang dominan terdapat dalam minyak atau lemak tersebut. Untuk minyak goreng yang berasal kelapa sawit, asam lemak yang dominan adalah asam palmitat. Persentase asam lemak bebas dinyatakan dengan % asam lemak bebas (ALB).

TUJUAN

Praktikum ini bertujuan melatih mahasiswa melakukan titrasi asam basa. Selain itu, juga bertujuan untuk memberikan pemahaman terhadap mahasiswa mengenai perubahan karakteristik minyak goreng setelah digunakan, terutama kadar asam lemak bebas dalam minyak.

ALAT DAN BAHAN

Peralatan yang digunakan antara lain buret (volume 25 ml), gelas kimia, pipet tetes, pipet mohr (volume 5ml), labu Erlenmeyer (volume 250 ml), timbangan analitik, sudip, gelas ukur, dan penangas air.

Bahan yang digunakan antara lain minyak goreng baru, minyak goreng bekas, etanol p.a, NaOH, indikator PP, dan aquades.

PROSEDUR

1. Sampel ditimbang sebanyak 5 gram (untuk minyak goreng bekas) dan 10 g (untuk minyak goreng baru) dalam erlenmeyer 250 ml
2. Sampel minyak dilarutkan ke dalam 50 ml etanol (alkohol) 95% dan dipanaskan dalam *waterbath* dengan suhu 70°C kemudian ditambahkan indikator pp sebanyak 5-8 tetes.
3. Larutan ini kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1N (untuk minyak goreng baru) dan NaOH 0.25 N (untuk minyak goreng bekas) hingga terlihat

warna merah muda selama 10 detik. Kadar asam lemak bebas dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan :

$$\text{Kadar Asam Lemak Bebas (ALB) \%} = \frac{V \times T \times M}{10 \times m}$$

Keterangan : V = volume NaOH untuk titrasi (ml)
 T = normalitas larutan KOH (N)
 M = berat molekul sampel
 m = jumlah sampel yang digunakan (gram)

Tabel 4. Hasil analisis bilangan asam minyak goreng segar/baru dan minyak yang telah digunakan untuk menggoreng

| jenis minyak | berat contoh (g) | volume NaOH (ml) | Konsentrasi NaOH (N) | ALB (%) | Rata-rata ALB | std error |
|---------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|----------------|----------------------|------------------|
| minyak baru | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| Minyak bekas | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |

BAB IV

ANALISIS KADAR PROTEIN (METODE KJELDAHL)

PENDAHULUAN

Protein merupakan salah satu zat gizi esensial yang diperlukan tubuh. Selain sebagai salah satu sumber gizi, protein berperan mengganti sel yang rusak serta membentuk jaringan tubuh. Sebagai zat pembangun, protein sangat dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah yang cukup. Konsumsi protein yang cukup sangat menentukan perkembangan manusia terutama pada masa pertumbuhan seperti masa bayi, anak-anak, dan remaja.

Jumlah protein yang terkandung dalam makanan dapat menjadi ketentuan mutu yang harus dipenuhi oleh suatu produk. Oleh karena itu penting untuk mengetahui kandungan protein yang terkandung dalam makanan. Untuk mengetahui kandungan protein tersebut, harus dilakukan suatu analisa sehingga kandungan protein dapat ditentukan (diperkirakan).

Salah satu metode untuk mengestimasi kandungan protein dalam bahan adalah metode Mikro Kjeldhal. Metode Mikro Kjeldhal merupakan salah satu analisa protein secara proksimat dengan asumsi semua nitrogen berasal dari protein (Pomeranz dan Meloans,1978). Kadar protein diperoleh dengan mengalikan kadar nitrogen dengan suatu faktor konversi yang spesifik untuk tiap bahan (Harjadi, 1986). Dalam bahan pangan, jumlah nitrogen dalam protein sekitar 16 %. Dengan demikian, jumlah protein dalam bahan pangan adalah jumlah nitrogen dikali dengan $100/16$ (6,25).

Metode Kjeldhal dibagi dalam tiga tahap, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Tiap tahap sangat menentukan ketepatan hasil yang diperoleh. Oleh karena itu, pengerjaan ketiga tahap tersebut harus sangat teliti. Kesalahan-kesalahan kecil pada masing-masing tahap sangat berpengaruh pada hasil akhir yang diperoleh.

Tahap destruksi adalah tahap pembentukan amonium sulfat. Menurut Meyer (1961) metode ini adalah proses oksidasi komponen-komponen organik dengan asam sulfat membentuk karbondioksida dan air serta

melepaskan nitrogen sebagai amonia. Pada tahap ini, sampel dipanaskan dalam labu Kjeldhal dengan K_2SO_4 , HgO, H_2SO_4 , serta batu didih secukupnya. Pada tahap ini sampel dioksidasi dengan asam sulfat (H_2SO_4) pekat panas.

TUJUAN

Praktikum ini bertujuan melatih mahasiswa melakukan analisis kandungan protein dalam suatu bahan pangan. Selain itu, juga bertujuan untuk memberikan pemahaman terhadap mahasiswa mengenai metode penentuan kandungan protein menggunakan metode Kjeldahl.

ALAT DAN BAHAN

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel cookies, MPASI, H_2SO_4 , Tablet kjeladahl, NaOH, H_2O , HCl, campuran indikator metil merah.

Alat-alat yang digunakan adalah neraca analitik, labu Kjeldhal, corong, pipet tetes, pipet mohr, alat destilasi, pemanas listrik, destilator, erlenmeyer, dan buret.

PROSEDUR

1. Sebanyak 1 g sampel ditimbang, dipindahkan ke dalam labu Kjeldahl.
2. Setelah itu, ditambahkan 10 ± 0.1 ml H_2SO_4 dan 1 tablet kjeladahl ke dalam labu Kjeldahl yang berisi sampel.
3. Setelah itu, labu Kjeldahl yang berisi sampel didihkan selama 1-1.5 jam sampai cairan menjadi jernih. Setelah cairan jernih, labu Kjeldahl yang berisi sampel didinginkan dan ditambahkan sejumlah kecil air secara perlahan-lahan ke dalamnya, kemudian didinginkan kembali.
4. Isi labu dipindahkan ke dalam alat destilasi, kemudian dilakukan proses distilasi dengan cara memanaskan sampel dengan penambahan larutan NaOH 45% sebanyak 25 mL.
5. Erlenmeyer 250 mL yang berisi 50 mL larutan HCl 0.1 N dan indikator merah metil diletakkan di bawah kondensor.

6. Ujung tabung kondensor harus terendam di bawah larutan HCl kemudian dilakukan destilasi sampai tertampung kira-kira 75 ml destilat di erlenmeyer.
7. Selanjutnya, isi erlenmeyer diencerkan sampai kira-kira 50 ml dan kemudian dititrasikan dengan NaOH 0.2 N yang sudah distandardisasi sampai terjadi perubahan warna dari merah menjadi kekuningan.
8. Penentuan protein juga dilakukan untuk blanko.

Kadar N (%) =

$$\frac{[(\text{ml HCl} - \text{ml blanko}) \times \text{konsentrasi HCl (N)}] - (\text{mL NaOH} \times \text{N NaOH}) \times 1,4007}{\text{berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

Kadar protein (%bb) = % N x faktor konversi (6,25)

$$\text{Kadar Protein (\%bk)} = \frac{\text{kadar protein (\%bb)}}{100 - \text{kadar ir}} \times 100\%$$

| Nama Sampel | Massa sampel (g) | Vol Blanko (mL) | Vol HCl (mL) | Vol NaOH (mL) | Kadar protein (%) |
|-------------|------------------|-----------------|--------------|---------------|-------------------|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

BAB V

Analisis Total Serat Kasar

PENDAHULUAN

Serat merupakan zat non gizi yang mempunyai efek positif bagi sistem metabolisme manusia. Sayur-sayuran dan buah-buahan merupakan sumber serat pangan yang sangat mudah ditemukan dalam bahan makanan. Sayuran merupakan menu yang hampir selalu terdapat dalam hidangan sehari-hari masyarakat Indonesia, baik dalam keadaan mentah atau setelah diolah menjadi berbagai macam bentuk masakan. Akhir-akhir ini adanya perubahan pola konsumsi pangan di Indonesia menyebabkan berkurangnya konsumsi sayuran dan buah-buahan di Indonesia.

Serat pangan merupakan kelompok polisakarida dan polimer lain yang tidak dapat dicerna oleh sistem gastrointestinal bagian atas tubuh manusia. Serat kasar adalah bagian dari pangan yang tidak dapat dihidrolisis oleh bahan-bahan kimia yang digunakan untuk menentukan kadar serat kasar, sedangkan serat pangan adalah bagian dari bahan pangan yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan. Oleh karena itu, kadar serat kasar nilainya lebih rendah dibandingkan dengan kadar serat pangan, karena bahan kimia seperti asam kuat dan basa kuat mempunyai kemampuan yang lebih besar untuk menghidrolisis komponen-komponen pangan dibandingkan dengan enzim-enzim pencernaan (Muchtadi, 2001).

TUJUAN

1. Mahasiswa dapat memahami metode pengukuran kadar total serat kasar yang terkandung dalam sampel

ALAT DAN BAHAN

Bahan yang digunakan dalam analisis serat kasar adalah akuades, alkohol 95%, larutan H_2SO_4 0,255N, K_2SO_4 10%, NaOH 0,313N, daun bayam, wortel, dan singkong.

Alat yang digunakan dalam analisis serat kasar adalah alat refluks, *bulb* pipet, corong, desikator, gelas kimia, kertas lakmus, kertas saring, labu erlenmeyer 250mL, labu erlenmeyer asah, neraca analitis, oven, pipet ukur dan spatula.

PROSEDUR :

1. Bagian sampel yang dikonsumsi diambil dan dihaluskan dengan cara *digrinder*.
2. Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1,25 gram menggunakan neraca analitis dan dimasukkan dalam labu erlenmeyer.
3. Sebanyak 100mL larutan H₂SO₄ dimasukkan dalam erlenmeyer asah dan direfluks dengan alat refluks selama 30menit.
4. Hasil refluks disaring dalam keadaan panas.
5. Residu penyaringan dibilas dengan akuades hingga netral menggunakan indikator kertas lakmus.
6. Sisa residu pada kertas saring dipindahkan ke labu erlenmeyer, ditambahkan 100mL larutan NaOH 0,313N dan direfluks kembali selama 30menit.
7. Hasil refluks disaring menggunakan kertas saring yang sudah dikonstankan sebelumnya.
8. Residu penyaringan pada kertas saring dicuci dengan 7,5mL larutan K₂SO₄ 10%, 25mL akuades panas dan 7,5mL alkohol 95%.
9. Kertas saring tersebut kemudian dikeringkan dalam oven selama 1-2 jam pada suhu 105°C, didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga konstan.
10. Kadar serat kasar pada sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$\%SK = \frac{W_{ks+sampel} - W_{ks}}{W_{sampel}} \times 100\%$$

Dimana:

- %SK : kadar serat kasar
W_{ks} : berat kertas saring konstan
W_{sampel} : berat sampel awal
W_{ks+sampel} : berat sampel dan kertas saring setelah dioven

BAB VI ANALISIS TOTAL GULA

PENDAHULUAN

Karbohidrat merupakan komponen utama bahan panganyang memiliki sifat fungsional yang penting dalam proses pengolahan pangan. Karbohidrat dapat dikelompokkan menjadi karbohidrat yang dapat dicerna dan tidak dapat dicerna. Karbohidrat yang dapat dicerna adalah karbohidrat yang dapat dipecah oleh enzim α -amilase di dalam sistem pencernaan manusia dan menghasilkan energi. Karbohidrat yang termasuk dalam kelompok yang dapat dicerna adalah monosakarida, disakarida, dan polisakarida. Karbohidrat yang dapat dicerna tersebut di dalam tubuh akan dikonversi menjadi monosakarida yang akan diserap oleh tubuh dan menyediakan energi untuk proses metabolisme.

Gula dapat bereaksi dengan sejumlah pereaksi menghasilkan warna yang spesifik, dimana intensitas warnanya dipengaruhi oleh konsentrasi gula. Intensitas warna yang terbentuk dapat diukur dengan spektrofotometer. Pereaksi Anthrone (9,10-dihidro-9-oksoantrasena) yang merupakan hasil reduksi anthraquinone bereaksi dengan karbohidrat dalam asam sulfat pekat menghasilkan warna biru kehijauan yang khas yang intensitas absorbansinya dapat diukur pada panjang gelombang 630 nm. Metode anthrone dapat digunakan untuk mengukur kadar gula total untuk contoh bahan pangan.

TUJUAN

Praktikum ini bertujuan memberikan pemahaman kepada mahasiswa mengenai metode pengukuran kadar total gula yang terkandung dalam suatu bahan/produk pangan dengan menggunakan metode Anthrone.

ALAT DAN BAHAN

Peralatan yang digunakan pada praktikum ini antara lain penangas air, pipet mohr 1 ml, pipet mohr 5 ml, tabung reaksi, dan unit spektrofotometer UV-Vis.

Bahan yang digunakan antara lain madu, selai, pereaksi Anthrone 0.1%, glukosa standar 0.2 mg/mL.

PROSEDUR

Pembuatan Kurva Standar

1. Pipet larutan glukosa standar sebanyak 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, dan 1.0 mL ke dalam tabung reaksi, lalu encerkan hingga total volume masing-masing tabung 1.0 mL
2. Buat larutan blanko dengan cara memipet 1 mL air destilata ke dalam tabung reaksi yang lain.
3. Tambahkan dengan cepat 5 mL pereaksi Anthrone ke dalam masing-masing larutan glukosa standar dan blanko kemudian ditutup. Vorteks dan kocok hingga merata.
4. Panaskan tabung reaksi di atas penangas air 100°C selama 12 menit.
5. Setelah didinginkan, pindahkan larutan ke dalam kuvet dan baca absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 630 nm.
6. Buat plot kurva standar, yaitu jumlah (g) glukosa standar (pada sumbu x) dan nilai absorbansi (pada sumbu y). Tentukan persamaan regresi liniernya. Jumlah (g) glukosa standar yang digunakan terdapat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kandungan glukosa dalam larutan glukosa standar

| Volume Glukosa standar (ml) | Kandungan glukosa standar (mg) |
|------------------------------------|---------------------------------------|
| 0 (blanko) | 0.00 |
| 0.2 | 0.04 |
| 0.4 | 0.08 |
| 0.6 | 0.12 |
| 0.8 | 0.16 |

Analisis Contoh

1. Sebanyak 5 ml sampel (dari persiapan contoh) ke dalam labu takar 100 ml dan diencerkan sampai tanda tera dengan air destilata

2. Masukkan sebanyak 1 ml contoh tersebut ke dalam tabung reaksi tertutup
3. Selanjutnya lakukan tahap seperti pada pembuatan kurva standar

Perhitungan

1. Tentukan konsentrasi gula dalam contoh dengan menggunakan kurva standar hubungan antara konsentrasi gula standar dengan absorbansinya dan dengan memperhitungkan pengenceran yang dilakukan yaitu dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Total gula (\%)} = \frac{G - FP}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

G - Gula dari kurva standar (gram)

FP - Faktor Pengenceran

W - Berat sampel (gram)

BAB VI

Analisis Total Fenol

PENDAHULUAN

Kandungan total fenol ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu yang didasarkan pada kemampuan sampel untuk mereduksi reagen Folin-ciocalteu yang mengandung senyawa asam fosfomolibdat fosfotungstat. Folin-Ciocalteu adalah pereaksi anorganik yang dapat membentuk larutan kompleks dengan senyawaan fenol yaitu molibdenum tungstant yang berwarna biru, semakin pekat intensitas warna menunjukkan kandungan fenol dalam fraksi semakin besar (Malangngi *etal.*, 2012).

Prinsip yang digunakan pada metode Folin Ciocalteu adalah reaksi oksidasi dan reduksi kolorimetrik untuk mengukur senyawa fenolik yang terkandung dalam sampel. Pereaksi Folin Ciocalteu merupakan larutan kompleks ion polimerik yang dibentuk dari asam fosfomolibdat dan asam heteropolifosfotungstat. Pereaksi ini terbuat dari air, sodium tungstate, sodium molibdat, asam klorida, litium sulfat, dan bromin. Reagen ini mengandung rangkaian polimerik yang memiliki bentuk umum dengan pusat unite tetrahedral fosfat $(PO_4)^{3-}$ yang dikelilingi oleh beberapa unit octahedral asam oksi-molibdenum. Struktur tungsten dapat dengan bebas bersubstitusi dengan molybdenum (Tursiman et al, 2012).

TUJUAN

Praktikum ini bertujuan memberikan pemahaman kepada mahasiswa mengenai metode pengukuran kadar total fenol yang terkandung dalam suatu bahan/produk pangan dengan menggunakan metode Folin Ciocalteu.

ALAT DAN BAHAN

Peralatan yang digunakan pada praktikum ini antara lain labu takar, pipet mohr 10 ml, mikropipet 100 μ L, kuvet, tabung reaksi, dan unit spektrofotometer UV-Vis.

Prosedur :

1. Total fenol ditentukan dengan menggunakan asam galat sebagai standar.
2. Asam galat diencerkan dengan konsentrasi berkisar dari 50-600 mg asam galat/L untuk membuat kurva standar yang digunakan dalam menghitung kadar total fenol sampel.
3. Kurva standar asam galat terdiri dari tujuh titik.
4. Untuk setiap analisis, 0.5 ml larutan asam galat atau ekstrak sampel ditambahkan ke dalam 7,5 ml air destilata.
5. Sebanyak 0.5 ml reagen Folin-Ciocalteu 50% ditambahkan, dan sampel di vortex.
6. Setelah itu, tambahkan 1 ml Na_2CO_3 20% dan diamkan 30 menit di ruang gelap pada suhu kamar.
7. Ukur absorbansi pada 755 nm.
8. Nilai total fenol diperoleh dari hasil perhitungan dengan memasukkan nilai absorbansi ke dalam persamaan linear kurva standar.
9. Nilai total fenol dinyatakan dalam mg Asam Galat Ekuivalen/ g bubuk sampel bebas lemak basis kering.

| Nama Sampel | Massa sampel (g) | Absorbansi sampel | Total Fenol (mg GE/g) |
|--------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

BAB VIII

ANALISIS KAPASITAS ANTIOKSIDAN

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal dampak negatif radikal bebas dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa radikal bebas sehingga aktivitasnya dapat dihambat (Winarsi 2007 dalam Arsana 2014). Analisis antioksidan dilakukan secara *in vitro*. Metode *in vitro* merupakan metode yang tidak dilakukan dalam metabolisme di dalam tubuh dan diukur dengan instrumen tertentu. Beberapa metode pengujian *in vitro* antioksidan yaitu DPPH dan FRAP. Molekul DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) adalah suatu molekul radikal bebas yang stabil dengan adanya delokalisasi sisa elektron secara keseluruhan sehingga tidak terjadi dimerisasi seperti yang akan terjadi pada senyawa radikal bebas lainnya. Delokalisasi tersebut menyebabkan munculnya warna ungu pekat yang dapat dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang serapan maksimum DPPH, yaitu 517 nm (Alam et al. 2013).

Antioksidan merupakan zat yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi. Zat ini secara nyata mampu memperlambat atau menghambat oksidasi zat yang mudah teroksidasi meskipun dalam konsentrasi rendah. Antioksidan juga didefinisikan sebagai senyawa-senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif. Atas dasar fungsinya antioksidan dapat dibedakan menjadi tiga, yaitu:

1. **Antioksidan primer.** Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena ia dapat mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya yaitu sebelum sempat bereaksi. Antioksidan primer yang ada dalam tubuh yang sangat terkenal adalah enzim superoksidadismutase.
2. **Antioksidan Sekunder.** Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas serta mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar Contoh

yang populer antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan

3. **Antioksidan Tersier.** Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah jenis enzim misalnya metionin sulfoksidan reduktase yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel.

TUJUAN

1. Mahasiswa dapat menjelaskan metode pengukuran kapasitas antioksidan dari beberapa jenis sampel.

ALAT DAN BAHAN

Peralatan yang digunakan pada praktikum ini antara lain tabung reaksi, vorteks, mikropipet, kuvet, spektrofotometer UV Vis. Bahan yang digunakan antara lain DPPH, metanol.

PROSEDUR :

1. Pereaksi DPPH (10^{-4} mol/L) dilarutkan menggunakan metanol.
2. Sebanyak 0.5 ml ekstrak sampel ditambahkan dengan 4.5 ml reagen DPPH.
3. Larutan divortex kemudian dilakukan inkubasi selama 30 menit pada ruang gelap.
4. Perubahan warna larutan DPPH diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm.
5. Kurva standar trolox digunakan untuk menghitung hasil akhir DPPH yang dinyatakan dengan mikromol Trolox Ekuivalen (TE) per gram kering sampel ($\mu\text{mol TE/g bk}$).
6. Kurva standar yang digunakan memiliki enam titik dengan konsentrasi 50 – 400 $\mu\text{M TE}$.

| Nama Sampel | Massa sampel (g) | Absorbansi sampel | Kapasitas Antioksidan |
|--------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

BAB IX

METODE SEPARASI TLC

PENDAHULUAN

Kromatografi digunakan untuk memisahkan substansi campuran menjadi komponen-komponennya. Seluruh bentuk kromatografi berkerja berdasarkan prinsip ini. Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan perambatan komponen dalam medium tertentu. Pada kromatografi, komponen-komponennya akan dipisahkan antara dua buah fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam akan menahan komponen campuran sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang mudah tertahan pada fase diam akan tertinggal. Sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat. Semua kromatografi memiliki fase diam (dapat berupa padatan, atau kombinasi cairan-padatan) dan fase gerak (berupa cairan atau gas).

Fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Komponen-komponen yang berbeda bergerak pada laju yang berbeda. Proses kromatografi juga digunakan dalam metode pemisahan komponen gula dari komponen non gula dan abu dalam tetes menjadi fraksi-fraksi terpisah yang diakibatkan oleh perbedaan adsorpsi, difusi dan eksklusi komponen gula dan non gula tersebut terhadap adsorbent dan eluent yang digunakan. (*Hongisto dan Heikkila, 1977; Kantasubrata, 1993; Schneider, 1987*).

Pada fase dian pelaksanaan kromatografi lapis tipis menggunakan sebuah lapis tipis silika atau alumina yang seragam pada sebuah lempeng gelas atau logam atau plastik yang keras. Jel silika (atau alumina) merupakan fase diam. Fase diam untuk kromatografi lapis tipis seringkali juga mengandung substansi yang mana dapat berpendar flour dalam sinar ultra violet. Fase gerak merupakan pelarut atau campuran pelarut yang sesuai.

Dalam kromatografi, eluent adalah fasa gerak yang berperan penting pada proses elusi bagi larutan umpan (feed) untuk melewati fasa diam (adsorbent). Interaksi antara adsorbent dengan eluent sangat 2 menentukan terjadinya pemisahan komponen. Oleh sebab itu pemisahan komponen gula dalam tetes secara kromatografi dipengaruhi oleh laju alir eluent dan jumlah umpan. Eluent dapat digolongkan menurut ukuran kekuatan teradsorpsinya pelarut atau campuran pelarut tersebut pada adsorben dan dalam hal ini yang banyak digunakan adalah jenis adsorben alumina atau sebuah lapis tipis silika. Penggolongan ini dikenal sebagai deret eluotropik pelarut.

Kromatografi lapis tipis (KLT) dikembangkan oleh Izmailoff dan Schraiber pada tahun 1938. KLT merupakan bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan elektroforesis. Berbeda dengan kromatografi kolom yang mana fase diamnya diisikan atau dikemas di dalamnya, pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium atau pelat plastik. Meskipun demikian, kromatografi planar ini dapat dikatakan sebagai bentuk terbuka dari kromatografi kolom.

TUJUAN

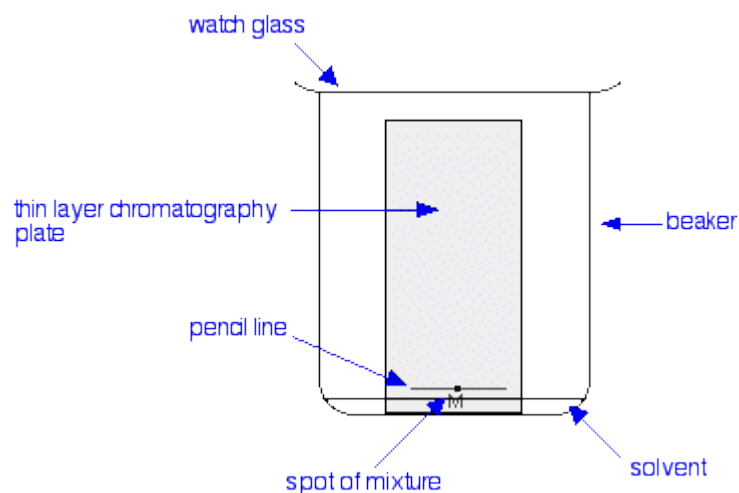
1. Mahasiswa dapat memahami konsep proses pemisahan senyawa dengan menggunakan thin layer chromatography atau kromatografi lapis tipis (KLT)
2. Mahasiswa dapat memisahkan komponen fraksi gliserida pada sampel minyak

ALAT DAN BAHAN

Peralatan yang digunakan pada praktikum ini antara lain tabung vial kecil, pipa kapiler, penangas, lembar KLT, hairdryer, dan chamber KLT. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu sampel minyak goreng, emulsifier, petroleum eter, dieteil eter, asam asetat glasial, etanol, metilen blue.

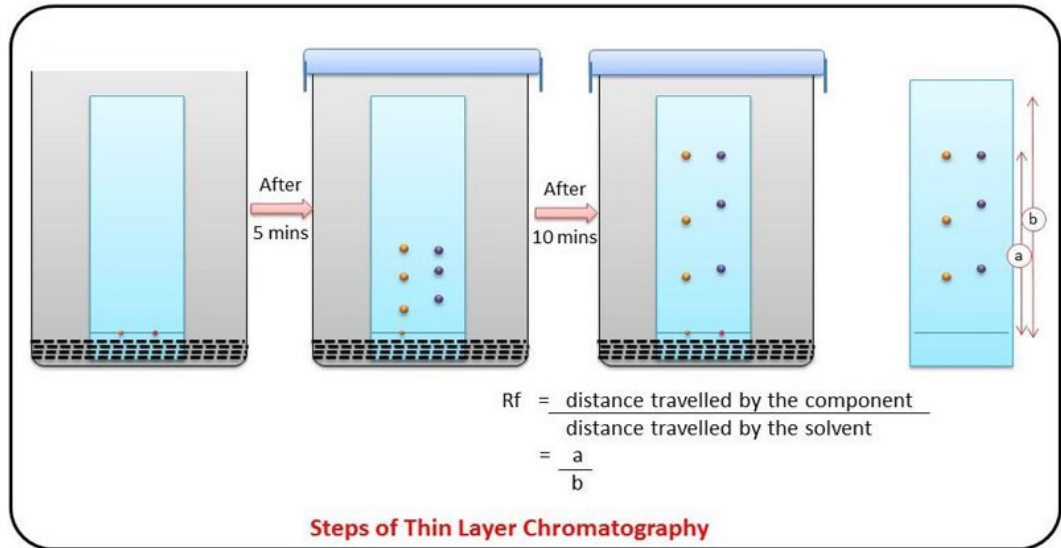
PROSEDUR :

1. Sebanyak 100 mg produk campuran mono dan diasilgliserol dilarutkan dalam 0.1 ml kloroform.
2. Siapkan lempeng TLC dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama \pm 30 menit.
3. Disiapkan fasa gerak yang berupa campuran pelarut petroleum eter : dietil eter : asam asetat glasial (80 : 20 : 0.2 v/v/v) ke dalam chamber TLC. Tahap penjenjuran dilakukan dengan cara menutup chamber selama sekitar 15 menit.
4. Sebanyak 1 μ l larutan diambil dengan menggunakan pipa kapiler kemudian diaplikasikan pada lempeng TLC dalam bentuk spot bulat dengan jarak antarspot adalah 2 cm.
5. Lembar TLC yang telah ditambahkan spot sampel dimasukkan ke dalam chamber dan bagian spot tidak boleh terendam dalam fase gerak dalam chamber.



6. Proses Elusi dilakukan hingga larutan mencapai batas atas yang dibuat pada lembar TLC. Lempeng dikeluarkan dari bejana pengembangan dan dibiarkan beberapa menit sampai uap yang masih tertinggal hilang (bisa dibantu dengan menggunakan *hairdryer*).

7. Noda sampel (spot) yang terbentuk diperjelas warna dengan cara direndam di dalam larutan etanol yang sudah ditambahkan metilen blue. Spot yang terbentuk diamati dengan cermat bila perlu dilakukan dengan bantuan lampu UV. Noda yang dihasilkan ditandai dengan pensil dan dihitung nilai Rfnya.



| Nama Sampel | Fraksi MAG | | Fraksi DAG | | Fraksi TAG | |
|-------------|------------|----------------|------------|----------------|------------|----------------|
| | Massa (g) | Prosentase (%) | Massa (g) | Prosentase (%) | Massa (g) | Prosentase (%) |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |