

MODUL MK

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
Bab I : Analisis Kadar Air	1
Bab II : Analisis Kadar Abu	8
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

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 alcohol,

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 tidak mahal, sedangkan produk dengan air di dalamnya dapat dihargai tinggi karena volumenya 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.

Tabel 1. Kadar Air Beberapa Jenis Bahan Pangan

No	Jenis Bahan Pangan	Kadar Air (% WB)
1	Daging Sapi	66
2	Daging Ayam	56
3	Daging Kambing	70
4	Telur Ayam	74
5	Susu Sapi	88
6	Keju	34
7	Susu Bubuk	3-4
8	Tomat	94
9	Nanas	85
10	Semangka	93
11	Tepung Terigu	12

WB: *Wet Basis* (berdasarkan bobot basah)

Analisis Kadar Air

2.2.1. Metode Pengeringan /Oven

Analisis kadar air dengan metode oven didasarkan atas prinsip perhitungan selisih bobot sampel sebelum dan sesudah proses pengeringan. Ketelitian analisis kadar air dengan metode pengeringan dipengaruhi oleh suhu pengering, suhu dan kelembaban dari ruang pengeringan, kecepatan pergerakan udara didalam ruang pengeringan, kondisi vakum, kedalaman dan ukuran partikel sampel, konstruksi oven serta jumlah dan posisi sampel dalam oven. Selain itu, ketelitian analisis air juga dipengaruhi oleh karakteristik sampel maupun kondisi selama pengeringan. Contohnya adalah penggunaan suhu pengeringan 70- 100⁰C menyebabkan karbohidrat tertentu (contohnya fruktosa) akan terurai sehingga akan mempengaruhi data kadar air yang diperoleh. Bahan pangan yang mengandung senyawa yang mudah menguap (etanol, minyak esensial) serta senyawa yang mudah teroksidasi oleh lemak tidak jenuh dan tannin juga dapat mempengaruhi data kadar air yang diperoleh karena menguapnya senyawa tersebut sehingga menyebabkan kadar air lebih besar dari sesungguhnya (Andarwulan *et.al*, 2011).

Sudarmadji *et.al.* (2010) menyatakan bahwa walaupun analisis kadar air dengan metode ini tergolong relative murah dan mudah, namun demikian mempunyai kelemahan yaitu:

1. Bahan lain selain air juga ikut menguap dan ikut hilang bersama dengan uap air (alkohol, asam asetat, minyak atsiri, dll.).
2. Dapat terjadi reaksi selama pemanasan yang menghasilkan air atau zat yang mudah menguap (gula akan mengalami dekomposisi/karamelisasi, lemak mengalami oksidasi).
3. Bahan yang mengandung bahan yang dapat mengikat air secara kuat sulit melepas airnya mestikun sudah dipanaskan.

Selanjutnya, analisis kadar air dengan metode oven dibedakan menjadi dua, yaitu:

1. Metode Oven Udara

Prinsip dari metode oven udara adalah sampel dikeringkan dalam oven udara pada suhu 100⁰-105⁰C sampai diperoleh berat konstan (Andarwulan *et.al*, 2011).

Menurut Legowo dan Nurwantoro (2004) metode ini dapat digunakan untuk semua produk pangan, kecuali produk yang mengandung senyawa yang mudah menguap (volatile) atau produk yang rusak pada suhu pemanasan 100⁰C. prosedur dan perhitungan kadar air adalah sampel (\pm 2-5 g) dioven 4-6jam, ditimbang, dioven kembali dan ditimbang kembali sampai beratnya konstan (selisih penimbangan \leq 0,2 mg).

$$\text{Kadar air} = \frac{w_1 - w_2}{w_1 - w_0} \times 100\%$$

Keterangan:

W₀ adalah bobot botol timbang kosong dan tutupnya (g)

W₁ adalah bobot botol timbang, tutupnya dan sampel sebelum dikeringkan (g)

W₂ adalah bobot botol timbang, tutupnya dan sampel setelah dikeringkan (g).

2. Metode Oven Vakum

Prinsip dari metode oven vakum adalah sampel dikeringkan dalam oven vakum dengan tekanan 25-100 mmHg sehingga air dapat menguap pada suhu lebih rendah dari 100⁰C misalnya pada suhu 60⁰-70⁰C dalam waktu 3-6 jam. Hal yang perlu diperhatikan dalam metode ini adalah suhu yang digunakan yaitu sesuai dengan sampel yang dianalisis, perlu dipertimbangkan faktor koreksi kehilangan untuk sampel yang mengandung senyawa volatin yang tinggi, wadah sampel harus diletakan langsung pada rak logam untuk menghantaskan panas pada vakum, waktu pemgeringan terganrung pada kadar air yang ada pada bahan, sifat alami sampel, luas permukaan per unit sampel, dll (Fibri dan Santoso, 2015).

Prosedur \pm 2 g sampel ditempatkan didalam botol yang telah diketahui bobotnya, keringkan dalam oven vakum selama 3-5 jam dengan suhu 95⁰-100⁰C, dinginkan dideksikator dan timbang selanjutnya sampel dipanaskan lagi selama 1 jam, didinginkan dan ditimbang kembali (Fibri dan Santoso, 2015). Penentuan kadar air dengan metode oven vakum adalah menimbang sPerhitungan kadar air dengan metode oven vakum dapat dilakukan sama dengan metode oven udara.

2.2.2. Metode Destilasi

Prinsip penentuan kadar air dengan destilasi adalah menguapkan air dengan pembawa cairan kimia yang mempunyai titik didih lebih tinggi dari air dan tidak dapat dicampur dengan air serta mempunyai berat jenis lebih rendah daripada air. Zat kimia yang dapat digunakan: toluen, xylem, benzene, tetrakhlorethilen, dan xylon. Cara destilasi ini baik untuk menentukan kadar air dalam zat yang kandungan airnya kecil yang sulit ditentukan dengan cara thermovolumetri.

Cara penentuannya dengan memberikan zat kimia sebanyak 75-100 ml pada sampel yang diperkirakan mengandung air sebanyak 2-5 ml, kemudian dipanaskan sampai mendidih. Uap air dan zat kimia tersebut diembunkan dan ditampung dalam tabung penampungan. Air dan pelarut akan saling terpisah, karena perbedaan berat jenis (air dibawah, zat kimia diatas) dan volumenya dapat diketahui berdasarkan skala pada tabung penampung (Sudarmadji *et.al.* (2010) dan Andarwulan *et.al.* (2011)). Menurut Legowo dan Nurwantoro (2004) ditambahkan oleh Andarwulan *et.al.* (2011) keuntungan analisis kadar air dengan menggunakan metode destilasi adalah:

1. Dapat menentukan kadar air bahan yang kandungan airnya relatif kecil dan memerlukan waktu yang relatif singkat, yaitu 30 menit-1 jam.
2. Terjadinya oksidasi senyawa lipida dan dekomposisi senyawa gula dapat dihindari, sehingga penentuan kadar air cukup akurat.
3. Kadar air ditetapkan secara langsung dan hasil akhirnya merupakan nilai kadar air yang nyata dan bukan karena kehilangan berat sampel.
4. Peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapat.
5. Pengaruh kelembaban lingkungan dapat dihindari.

Selain keuntungan yang disebutkan diatas, metode ini juga memiliki kekurangan, yaitu senyawa alkohol dan gliserol mungkin terdestilasi bersama air sehingga data yang diperoleh lebih tinggi dari sebenarnya, pelarut yang digunakan mudah terbakar, sebagian pelarut memiliki sifat racun (benzene), dan ketelitian membaca volume air yang terkondensi terbatas. Perhitungan kadar air dengan metode ini adalah (Fibri dan Santoso, 2015):

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{volume air yang teruapkan (ml)}}{\text{berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

2.2.3. Metode Kimiawi

1. Metode Titrasi Karl Fischer

Prinsip metode ini adalah melakukan titrasi sampel dengan larutan iodin dalam metanol dan pirimidin. Jika masih ada air didalam sampel maka iodin akan bereaksi, tetapi bila air habis maka iodin akan bebas, iodin bebas ini akan memberikan warna kuning coklat. Metode ini dapat diterapkan untuk pengukuran kadar air yang mempunyai kadar air rendah (produk minyak/lemak, gula, madu, tepung dan bahan kering) karena pereaksi Karl Fischer memiliki sifat yang sangat sensitif terhadap air. Perhitungan kadar air dengan menggunakan rumus (Legowo dan Nurwantoro (2004); Sudarmadji *et.al.* (2010); Andarwulan *et.al.* (2011)) :

$$\text{Kadar air (\%)} = 0,4 \times F \times (V_1 - V_2) / W_1$$

Keterangan :

W_1 = berat sampel (g)

V_1 = volume pereaksi Karl Fischer yang terpakai untuk titrasi sampel (ml)

V_2 = volume pereaksi Karl Fischer yang terpakai untuk titrasi blanko (ml)

F = faktor standarisasi pereaksi Karl Fischer (ml (mg) air/ml pereaksi)

0,4 = Ekuivalen air pereaksi

Faktor standarisasi (F) dapat dihitung dengan rumus :

$$F = \frac{W \times M \times 2,5}{V_s - V_b}$$

Keterangan :

M = persen kadar air sodium asetat (%)

W = berat sodium asetat trihidrat (g)

V_s = volume titran untuk standarisasi (ml)

V_b = volume titran untuk blanko (ml)

Kadar air pada produk coklat dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{V_1 \times F \times 100}{W_1}$$

Keterangan :

W_1 = berat sampel (g)

V_1 = volume pereaksi Karl Fischer yang terpakai untuk titrasi sampel (ml)

F = faktor standarisasi pereaksi Karl Fischer (ml (mg) air/ml pereaksi)

2. Metode Kalsium Karbid

Metode ini didasarkan atas reaksi antara kalsium karbid dan air yang akan menghasilkan gas asetilin. Cara ini membutuhkan waktu yang cepat dan tidak memerlukan alat yang rumit. Jumlah asetilin yang terbentuk dapat diukur dengan beberapa cara, yaitu:

1. Selisih bobot campuran sampel sebelum dan sesudah reaksi.
2. Volume yang terkumpul dan terukur dalam tabung tertutup.
3. Mengukur tekanan gas asetilin dalam ruang tertutup.
4. Menangkap gas asetilin dengan larutan tembaga kemudian ditentukan dengan gravimetri/volumetri/kolorimetri (Sudarmadji *et.al*, 2010).

2.2.4. Metode Fisis

Metode fisis adalah metode tidak langsung dilakukan tanpa mengeluarkan air dari bahan pangan atau merusak bahan pangan sehingga pengukuran ini tidak bersifat merusak. Waktu pengukuran kadar air dilakukan dengan cepat dan dimungkinkan untuk menjadikan kontinyu dan otomatis. Beberapa metode analisis kadar air secara tidak langsung diantaranya adalah (Andarwulan *et.al.*, 2011):

1. Metode Listrik-Elektronika (Konduktivitas DC dan AC dan Konstanta Dielektrik).
2. Penyerapan Gelombang Mikro.
3. Penyerapan Sonik dan Ultrasonik.
4. Metode Spektroskopi (Inframerah dan *Nuclear Magnetic Resonance/NMR*).

BAB II

ANALISIS KADAR ABU

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 mendestruksi 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 dalam udara bertindak sebagai oksidator. Residu yang didapatkan adalah total abu dari contoh.

Kadar abu suatu bahan pangan sangat erat kaitannya dengan kandungan mineral. Didalam tubuh mineral berfungsi sebagai zat pembangun (penyusun tulang, gigi, jaringan lunak, otot, darah, dan sel syaraf) dan pengaturan metabolisme tubuh. Tubuh manusia sendiri memerlukan berbagai jenis mineral dalam jumlah berbeda, oleh karena itu dikenal istilah mineral makro (mineral yang dibutuhkan dalam jumlah yang besar; natrium, klor, kalsium, fosfor, magnesium, dan belerang) dan mineral mikro (mineral yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit (besi, iodium, mangan, tembaga, zink, kobalt, dan flour). Kebutuhan mineral dapat dipenuhi dengan mengkonsumsi sumber mineral seperti susu, daging sapi, telur, ikan, sereal, sayuran, dan lain-lain.

Analisis abu dan mineral penting dilakukan, karena dapat mengetahui kualitas gizi dan sering digunakan sebagai indikator mutu pangan. Dari analisis abu dan mineral dapat diketahui (1) tingkat kemurnian produk tepung atau gula, (2) adanya pemalsuan pada produk selai buah, sari buah, dan cuka, (3) tingkat

kebersihan pengolahan suatu bahan, (4) digunakan sebagai bahan evaluasi nilai gizi suatu bahan pangan, (5) terjadinya kontaminasi mineral yang bersifat toksik, dan (6) data dasar pengolahan pada beberapa bahan pangan dipengaruhi oleh keberadaan mineral (Andarwulan *et.al.*, 2011).

Analisis Kadar Abu

Analisis atau penentuan kadar abu dapat dilakukan dengan metode langsung dan tidak langsung. Penentuan kadar abu dengan metode langsung dilakukan dengan pengabuan kering dengan panas yang tinggi, sedangkan metode pementuan kadar abu dengan metode tidak langsung dilakukan dengan cara basah. Perbedaan pengabuan cara kering dan basah adalah:

Tabel 5. Perbedaan Pengabuan Cara Kering Dan Basah

No	Pengabuan Cara Kering	Pengabuan Cara Basah
1	Digunakan untuk penentuan total abu semua bahan makanan dan pertanian.	Trace element
2	Mebutuhkan waktu yang relatif lebih lama untuk menentukan abu yang larut dan tidak larut dalam air.	Mebutuhkan waktu yang relatif lebih cepat untuk menentukan abu yang larut dan tidak larut dalam air.
3	Mebutuhkan waktu yang relatif lebih lama untuk menentukan abu yang larut dalam asam.	Mebutuhkan waktu yang relatif lebih cepat untuk menentukan abu yang larut dalam asam.
4	Mebutuhkan suhu yang relatif tinggi.	Mebutuhkan suhu yang relatif rendah.
5	Menggunakan sampel yang relatif banyak.	Menggunakan sampel yang relatif sedikit.

Sumber : Sudarmadji *et.al.* (2010)

3.1.1. Pengabuan Kering (Langsung)

Prinsip penentuan kadar abu dengan metode pengabuan kering adalah abu dalam sampel ditetapkan dengan menimbang residu hasil pembakaran komponen bahan organik pada suhu yang tinggi yaitu 500⁰- 600⁰C. Dalam menggunakan metode ini perlu diperhatikan karakteristik dari bahan pangan. Bahan pangan yang memiliki kadar air yang tinggi, sebelum diabukan harus dikeringkan terlebih dahulu. Bahan pangan yang mengandung zat yang mudah menguap dan berlemak

banyak saat pengabuan mula-mula suhunya harus rendah sampai asam yang terkandung dalam bahan pangan tersebut hilang, baru kemudian dinaikan. Bahan pangan yang membentuk buih waktu dipanaskan harus dikeringkan dahulu dalam oven dan ditambah zat anti buih (olive dan paraffin) (Sudarmadji *et.al.* (2010)).

Selain itu hal yang perlu diperhatikan adalah kesesuaian suhu sehingga tidak ada kehilangan air yang bersifat mekanis, suhu yang terlalu tinggi spenguapan elemen tertentu (K, Na, S, CL, DAN P) dan menyebabkan dekomposisi senyawa tertentu (Fibri dan Santoso, 2015). Kelebihan metode kering adalah aman, dapat menangani atau digunakan untuk sampel yang banyak pada asaat bersamaan, hasil pengabuan kering dapat digunakan untuk analisis mineral individual, abu larut dan tak larut dalam air, dan abu yang tak larut dalam asam, sedangkan kelemahanya adalah membutuhkan waktu yang lama (Fibri dan Santoso, 2015).

Prosedur metode kering adalah dengan memijarkan cawan di dalam tanur listrik pada suhu $(550 \pm 10) ^\circ\text{C}$, yang sebelumnya dipanaskan terlebih dahulu pada penangas listrik/Bunsen dengan nyala api kecil selama 1 jam. Selanjutnya, mendinginkan dalam desikator selama 1 jam, kemudian timbang. Menimbang 2-3 g sampel dan mengarangkan di atas penangas listrik/Bunsen dengan nyala api kecil dalam lemari asam. Selanjutnya abukan dalam tabor pada suhu $(550 \pm 10) ^\circ\text{C}$ sampai putih atau kelabu selama 3 jam, kurs dari tanur diambil dan dinginkan sampai suhu cawan tidak terlalu panas. Dinginkan dalam desikator selama 30 menit dan timbang. Panaskan krus dan abu diatas *hot plate* 15 menit. Selanjutnya memasukan kembali kedalam tanur pada suhu yang sama selama 1 jam, dinginkan dalam desikator dengan waktu yang sama dan timbang. Perhitungan kadar abu dengan metode ini dengan rumus (Andarwulan *et.al.*, 2011) :

$$\text{Kadar abu} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

W adalah bobot sampel (g).

W_1 adalah bobot cawan kosong (g).

W_2 adalah bobot cawan kosong dan abu (g).

3.1.2. Pengabuan Basah (Tidak Langsung)

Prinsip penentuan kadar abu dengan metode pengabuan basah adalah mengoksidasi komponen organik sampel menggunakan oksidator kimiawi seperti asam kuat. Pengabuan dengan metode ini biasanya lebih banyak digunakan untuk persiapan sampel mineral-mineral mikro (*trace minerals*) atau mineral-mineral toksik. Asam yang digunakan dapat terdiri atas satu jenis asam atau kombinasi dari beberapa jenis asam. Pemilihan kombinasi asam dan perbandingan jumlah asam serta cara kerjanya sangat tergantung pada jenis bahan yang akan didestruksi.

Beberapa kombinasi asam yang sering digunakan seperti: (1) asam nitrat (HNO_3), dan asam sulfat (H_2SO_4), (2) asam nitrat, asam sulfat, dan asam perklorat (HClO_4), dan (3) asam nitrat, asam sulfat, dan hydrogen peroksida (H_2O_2) (Andarwulan *et.al.*, 2011).

Kelebihan prosedur pengabuan basah adalah mineral akan tetap berada dalam larutan, sedikit atau bahkan hamper tidak ada kehilangan akibat penguapan karena penggunaan suhu rendah dan waktu oksidasi cukup singkat. Pengabuan dengan metode ini perlu dilakukan dengan hati-hati, oleh karena itu hanya sedikit sampel dapat dikerjakan dalam satu waktu (Fibri dan Santoso, 2015).

3.2. Analisis Kadar Mineral

Analisis mineral dapat dilakukan dengan metode tradisional dengan melibatkan prosedur gravimetri, titrimetri, dan kalorimetri. Analisis mineral juga dapat menggunakan alat instrumentasi, alat ini memiliki sensitivitas yang tinggi dan lebih cepat.

3.2.1. Metode Gravimetri

Analisis mineral dengan metode gravimetri dilakukan dengan cara mengendapkan mineral yang diinginkan secara selektif. Metode ini mempunyai keterbatasan yaitu hanya dapat digunakan untuk menganalisis mineral makro. Metode ini dapat diaplikasikan untuk menghitung kadar klorida (diendapkan dengan perak klorida) dan kalsium (menambahkan amonium oksalat) dalam suatu sampel. Perhitungan mineral dengan metode

ini dengan cara membandingkan berat masing-masing atom yang menyusun suatu komponen dengan berat molekul komponen tersebut.

3.2.2. Metode Titration

Analisis mineral dengan metode titration dapat dilakukan dengan beberapa cara. Pertama adalah dengan titration yang melibatkan pembentukan kompleks dengan EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic acid*), metode ini dapat digunakan untuk analisis kalsium.

Prinsip analisis titration EDTA yaitu Eriochrome Black T (Eriokrom Hitam T) adalah sejenis indikator yang berwarna merah muda bila berada dalam larutan yang mengandung ion kalsium dan magnesium dengan pH $10,0 \pm 0,1$. Sejenis molekul lain yaitu asam etilendiamintetraasetat dan garam natrium (EDTA), dapat membuat pasangan kimiawi (chelated complex) dengan ion-ion kesadahan dan beberapa jenis ion lain. Pasangan tersebut lebih kuat daripada hubungan antara indikator dengan ion-ion kesadahan. Oleh karena itu pada pH 10 larutan akan berubah menjadi biru yaitu disaat jumlah molekul EDTA yang ditambah sebagai titran, sama atau ekuivalen dengan jumlah ion kesadahan dalam sampel, dan molekul indikator terlepas dari ion kesadahan. Titration EDTA dapat menentukan kesadahan total yaitu penentuan jumlah ion-ion Ca^+ dan Mg^{2+} . Dimana perhitungan kesadahan dilakukan dengan rumus dibawah ini :

$$\begin{aligned}\text{Kesadahan (sebagai mg CaCO}_3\text{/l)} &= \frac{A \times 1,0009 \times 1000}{B} \times f \\ &= 1,0009 \times \frac{A}{B} \times f\end{aligned}$$

Keterangan:

A = ml titran EDTA,

B = ml sampel (sebelum diencerkan)

1,0009 = ekuivalen antara 1 ml EDTA 0,01 M dan 1 mg kesadahan sebagai CaCO_3

f = faktor perbedaan antara kadar larutan EDTA 0,01 M menurut standardisasi dengan CaCO_3 ($f \leq 1$)

$$\text{atau : kesadahan (mmol/l)} = \frac{A \times 0,01 \times 1000}{B} \times f$$

Catatan : bagi Ca^{2+} dan Mg^{2+} berlaku $50 \text{ mg/l sebagai CaCO}_3 = 1 \text{ meq/l}$.

3.2.3. Metode Kalorimetri

Metode ini didasarkan pada reaksi pembentukan warna yang dapat menyerap atau meneruskan sinar pada panjang gelombang tertentu. Pembentukan warna dapat melibatkan berbagai jenis reaksi seperti reaksi redoks, pembentukan kompleks atau reaksi lainnya. Reaksi ini harus menghasilkan produk berwarna tunggal yang dibentuk cepat dan bersifat stabil. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan kandungan magnesium, fosfor, dan besi pada sampel. Prinsip analisis fosfor dengan metode kalorimetri adalah fosfor bereaksi dengan asam molibdat membentuk kompleks fosfomolibdat. Kompleks ini kemudian direduksi oleh asam aminonoftolsulfonat menjadi kompleks molibdenum biru yang dapat diukur absorbansinya secara kalorimetri. Konsentrasi fosfor pada sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$P = \frac{W_2 \times V_1 \times 10}{V_2 \times W_1}$$

Keterangan:

P = kadar fosfor dalam sampel (mg/100 g)

1. W₁ = berat sampel yang diabukan (g)
2. W₂ = fosfor dalam larutan abu yang didapat dari kurva standar (mg)
1. V₁ = total volume larutan abu (ml)
2. V₂ = volume aliquot yang digunakan untuk penetapan fosfor (ml)

Analisis besi dengan metode ini prinsipnya adalah besi dalam bahan pangan dianalisis dengan mengkonversi besi dari bentuk ferro menjadi feri dengan menggunakan oksidator seperti K₂S₂O₈ (potassium persulfat) atau H₂O₂ (hidrogen peroksida) indikasinya adalah warna merah, warna merah diukur absorbansinya dengan spektrofotometer gelombang 480 nm. Kadar besi sampel selanjutnya dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Mg Fe}/100 \text{ g} = \frac{A_s \times 0,1 \times V \times 100}{A_{std} \times 5 \times W}$$

Keterangan

A_s = absorbansi sampel

Astd = absorbansi standar

V= volume total larutan abu

W= berat sampel yang digunakan untuk pengabuan

3.2.4. Atomic Absorption Spektrofotometer (AAS)

Atomic Absorption Spektrofotometer (AAS) dapat menganalisis mineral dengan sensitivitas tinggi bahkan sampai satuan ppm (*part per milion*). Alat AAS ini sangat berguna untuk menganalisis mineral mikro (*trace element*) yang terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit pada sampel bahan pangan. Kelebihan AAS dibanding metode tradisional adalah AAS dapat menganalisis kontamin logam berat dan dapat menganalisis beberapa jenis mineral/logam sekaligus dalam satu proses.

AAS berprinsip pada pengukuran sinar yang diserap oleh atom dari unsur-unsur. Caranya adalah sampel dari pengabuan basah atau pengabuan kering disebarkan dalam nyala api pada alat AAS, absorbansi atau emisi logam dapat dianalisis dan diukur pada panjang gelombang tertentu. Selanjutnya konsentrasi logam dalam sampel ditentukan berdasarkan kurva standar yang diperoleh :

$$L = \frac{(a-b) \times V}{10 W}$$

Keterangan :

a = konsentrasi larutan sampel (μ g/ml)

b = konsentrasi larutan sampel (μ g/ml)

V = volume ekstrak

W = berat sampel yang dianalisis (g)

BAB III

ANALISIS LIPIDA

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.

Klasifikasi Lipid

Klasifikasi lipid yang penting dalam bahan pangan menurut golongan utamanya yaitu dibagi menjadi :

1. Lipid sederhana

Termasuk golongan ini adalah lemak netral (seperti monogliserida, digliserida, dan trigliserida) dan ester asam lemak dengan alkohol berberat molekul tinggi (seperti malam, ester sterol, ester nonsterol, ester vitamin A dan ester vitamin D).

2. Lipid majemuk

Termasuk golongan ini adalah fosfolipid, serebrosida, sulfolipid, aminolipid, dan lipoprotein.

3. Turunan lipid

Termasuk golongan ini adalah asam lemak, gliserol, stereol, lemak alkohol, lemak aldehyd, dan lemak keton.

Seluruh komponen lipid yang secara alami terdapat pada lemak hewan maupun tumbuhan, 99% komponen terbesar lipidnya merupakan gliserol dan ester asam lemak, komponen ini yang selanjutnya dinamakan lemak atau minyak. Dinamakan lemak apabila suhu ruang bersifat padat dan dinamakan minyak apabila suhu ruang bersifat cair (Andarwulan *et.al.*, 2011).

Fungsi lemak adalah (Almatsier, 20113) :

- Sumber energi, lemak dan minyak merupakan sumber energi paling padat, yang menghasilkan 9 kkal untuk tiap gramnya.
- Sumber asam lemak esensial dan alat angkut vitamin larut lemak.
- Memberi rasa kenyang dan kelezatan, lemak memperlambat sekresi asam lambung dan dapat memperlambat pengosongan lambung sehingga memberi rasa kenyang lebih lama. Disamping itu lemak memberi tekstur yang disukai dan memberi kelezatan khusus pada makanan.
- Memelihara suhu tubuh, lapisan lemak dibawah kulit menisolasi tubuh dan mencegah kehilangan panas tubuh secara cepat serta pelindung organ tubuh untuk membantu menahan organ-organ ada pada tempatnya dan melindunginya terhadap benturan dan bahaya lain.

Analisis Kadar Lemak

Analisis kadar lemak pada suatu bahan dapat memberikan informasi mengenai ketersediaan lemak yang dapat kita aplikasikan untuk berbagai kebutuhan. Namun demikian dalam analisis lemak, seringkali disebut sebagai analisis lemak kasar karena selain asam lemak terikut pula senyawa-senyawa

lain. Berbagai metode analisis lemak diantaranya (Legowo dan Nurwantoro (2004), dan Andarwulan *et.al.* (2011)):

1. Metode Ekstraksi Soxhlet

Metode ekstraksi Soxhlet merupakan metode analisis kadar lemak secara langsung dengan cara mengekstrak lemak dari bahan dengan pelarut organik seperti heksana, petroleum eter, dan dietil eter.

Ekstraksi dilakukan dengan cara direfluks pada suhu yang sesuai dengan titik didih pelarut yang digunakan. Selama proses refluks, pelarut secara berkala akan merendam sampeldan melarutkan lemak/minyak yang ada pada sampel. Refluks dihentikan sampai pelarut yang merendam sampel sudah berwarna jernih yang artinya tidak ada lagi lemak/minyak yang terlarut. Jumlah lemak/minyak pada sampel diketahui dengan menimbang lemak setelah pelarutnya diuapkan. Jumlah lemak per berat bahan yang diperoleh menunjukkan kadar lemak kasar (*crude fat*) artinya semua yang terlarut oleh pelarut tersebut dianggap lemak misal vitamin larut lemak seperti vitamin A,D,E, dan K. Perhitungan kadar lemak dengan metode ini dapat dilakukan dengan rumus :

$$\% \text{ Lemak} = \frac{W_c - W_a}{W_b} \times 100\%$$

Keterangan :

Wa = berat labu lemak awal (g)

Wb= berat sampel (g)

Wc = lemak labu lemak setelah distilasi (g)

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi ketelitian analisis dengan metode ekstraksi Soxhlet diantaranya adalah :

- a. Ukuran partikel bahan atau sampel, semakin kecil ukuran sampel maka kontak antara permukaan bahan denganpelarut akan semakin luas sehingga proses ekstraksi lebih efisien.
- b. Pelarut, setiap pelarut organikmemilik polaritas yang berbeda. Pelarut yang memiliki polaritas paling sesuai dengan polaritas lemak akan memberikan hasil ekstraksi yang lebih baik.

- c. Waktu ekstraksi, semakin lama waktu ekstraksi maka jumlah lemak yang terbawa oleh pelarut akan semakin banyak sampai lemak dalam sampel tersebut habis.
- d. Suhu ekstraksi, semakin tinggi suhu maka ekstraksi akan semakin cepat, tetapi pada ekstraksi Soxhlet suhu yang digunakan harus sesuai dengan titik didih pelarut yang digunakan. Penggunaan suhu yang rendah dari titik didih pelarutnya akan menyebabkan ekstraksi berjalan lambat dan kurang efisien, sedangkan penggunaan suhu yang lebih tinggi dari titik didih pelarut akan menyebabkan ekstraksi tidak terkendali dan bisa menimbulkan resiko terjadinya ledakan atau kebakaran (Andarwulan *et.al.*, 2011).

2. Metode Bobcock

Analisis kadar lemak dengan menggunakan metode Bobcock digunakan untuk menentukan kadar lemak sampel cair atau pasta. Metode ini sangatlah sederhana dan sering digunakan untuk menentukan kadar lemak dalam susu segar (Andarwulan *et.al.*, 2011).

Lemak pada susu berada dalam bentuk emulsi o/w (lemak dalam air). Emulsi ini dapat dipecah atau dirusak dengan menggunakan asam kuat seperti H₂SO₄ sehingga lemak akan terkumpul menjadi satu di atas cairan, sentrifugasi dilakukan untuk memisah lemak dari cairannya dan setelah disentrifugasi lemak akan menjadi jelas terpisah dengan cairannya dan agar dapat dibaca banyaknya lemak akan kedalam botol ditambahkan aquades panas sampai lemak atau minyak dapat secara langsung diketahui. Mekanisme rusaknya emulsi lemak dengan H₂SO₄ adalah H₂SO₄ akan merusak lapisan film yang menyelimuti globula lemak yang biasanya terdiri dari senyawa protein. Dengan rusaknya protein (denaturasi ataupun koagulasi) maka akan memungkinkan globula lemak yang satu akan bergabung dengan globula lemak yang lain dan akhirnya menjadi kumpulan lemak yang besar dan akan mengapung di atas cairan. Lemak susu yang bersifat non polar akan terpisah dari komponen susu lain yang bersifat polar. Lemak susu yang memiliki densitas lebih rendah akan berada dibagian atas permukaan sampel. Sedangkan komponen polar sampel susu yang mempunyai densitas lebih

tinggi akan berada dibagian bawah sampel (Legowo dan Nurwantoro (2004), dan Andarwulan *et.al.* (2011)).

Bahan pangan yang berbentuk pasta, seperti daging ikan segar perlu dilakukan proses "*digest*" menggunakan asam sulfat pekat dengan waktu yang lebih lama dibandingkan sampel susu. Dengan demikian lemak dari jaringan bahan akan keluar dengan optimal. Metode seperti ini sering disebut dengan nama metode modifikasi Babcock. Pada analisis Babcock sampel ditempatkan didalam botol Babcock (Ilustrasi 12) yang telah dikalibrasi. Botol Babcock mempunyai skala pengukuran dalam satuan volume, lemak susu yang terpisah dari sampel dengan mudah dapat ditentukan dari skala tersebut. Perhitungan kadar lemak susu selanjutnya dapat dihitung dengan rumus (Andarwulan *et.al.*, 2011):

$$\% \text{ Lemak} = \frac{V_b}{V_a} \times 100\%$$

Keterangan :

Va = Volume susu (ml)

Vb = Voleme lemak yang terbaca pada botol Babcock (ml)

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).

BAB IV

ANALISIS KADAR PROTEIN

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.

Klasifikasi Protein

Protein dapat digolongkan menurut struktur susunan molekulnya, kelarutannya, adanya senyawa lain dalam molekul, dan tingkat degradasi (Winarno, 1992). Protein dapat diklasifikasikan berdasarkan komposisinya yaitu, protein sederhana dan protein terkonjugasi. Protein sederhana terdiri atas asam amino penyusunnya. Protein terkonjugasi terdiri atas glikoprotein, lipoprotein, dan nukleoprotein. Glikoprotein terdiri atas asam amino dan karbohidrat. Lipoprotein terdiri atas asam amino dan asam lemak. Nukleoprotein terdiri atas asam amino dan asam nukleat.

Struktur Susunan Molekul

- a. Protein fibriler/skleroprotein adalah protein yang berbentuk serabut. Memiliki sifat tidak larut dalam pelarut-pelarut encer (larutan garam, asam, basa, atau alkohol). Kegunaan protein ini adalah membentuk struktur bahan dan jaringan contohnya kolagen yang terdapat pada tulang rawan.
- b. Protein globuler yaitu protein yang berbentuk bola. Protein ini banyak terdapat pada bahan pangan seperti susu, telur, dan daging. Protein ini larut dalam larutan garam dan asam encer serta mudah terdenaturasi.

Kelarutan

Klasifikasi protein berdasarkan sifat fisiko-kimiawinya terutama sifat kelarutannya. Menurut cara pengelompokan ini maka garis besar kelompok protein sederhana adalah sebagai berikut :

- Albumin, larut dalam air dan terkoagulasi oleh panas. Contohnya adalah albumin telur, dan laktalbumin susu.
- Globulin, tidak larut dalam air, terkoagulasi oleh panas, larut dalam larutan garam encer. Contohnya adalah ovoglobulin dalam kuning telur.

- Glutelin, tidak larut dalam pelarut netral tetapi larut dalam asam/basa encer. Contohnya glutenin dalam gandum dan orizenin dalam beras.
- Gliadin, larut dalam alkohol 70-80% dan tidak larut dalam air dan alkohol absolut. Contohnya adalah gliadin dalam gandum dan zein dalam jagung.
- Histon, larut dalam air, tidak larut dalam amonia encer.
- Protamin, larut dalam air dan tidak terkoagulasi oleh panas. Contohnya salmin dalam ikan salmon.

Molekul protein sendiri merupakan rantai panjang yang tersusun oleh matarantai asam-asam amino. Asam amino adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus karboksil (-COOH) dan satu atau lebih gugus amino (-NH₂) yang salah satunya terletak pada atom C tepat disebelah gugus karboksil (atau atom C alfa). Asam-asam amino yang berbeda-beda (ada duapuluh jenis asam amino dalam protein alamiah) bersambung melalui ikatan peptida yaitu ikatan antara gugus karboksil satu asam amino dengan gugus amino dari asam amino yang disampingnya.

Di alam umumnya terdapat 20 jenis asam amino (untuk protein tertentu dapat 25 jenis); ratusan bahkan ribuan unit asam-asam amino yang berbeda-beda ini menyusun molekul protein, oleh sebab itu secara matematis jenis protein di alam ini dapat dikatakan tak terhingga jenisnya.

Protein memiliki sifat sebagai amfoter yaitu, bersifat asam dan basa. Sifat asam berasal dari adanya gugus asam karboksilat sedangkan sifat basa berasal dari adanya gugus amina. Selain sifat khas amfoter, protein juga dapat bersifat sebagai zwitter ion. Zwitter ion ditandai dengan adanya ion positif dan juga negatif secara bersamaan. Ion positif hasil ionisasi gugus amina sedangkan ion negatif hasil ionisasi dari gugus asam karboksilat.

Unit penyusun protein adalah asam amino. Protein terdiri atas > 50 unit asam amino, polipeptida jika < 50 unit asam amino, tripeptida jika terdiri atas 3 asam amino, sedangkan dipeptida terdiri atas 2 unit asam amino. Semua unit asam amino terhubung dengan ikatan peptida.

Apabila protein murni dianalisa unsur-unsur penyusunnya, maka gambaran yang berikut ini umum dijumpai : C : 50-55%, O : 20-25%, N : 15-18%, H : 5-7%, S : 0,4-2,5%, P : < 2,5%, Fe : < 2,5%, Cu: < 2,5%.

Analisis Protein

Analisis protein memiliki beberapa tujuan yaitu, menentukan jumlah kandungan protein bahan makanan, menentukan tingkat kualitas protein, dan menentukan karakter protein yang terkandung di dalamnya. Beberapa metode analisis kualitatif protein untuk menentukan jenis asam amino penyusunnya antara lain reaksi biuret, ninhidrin, millon, xanthoprotein, diazotasi (Pauli), sakaguchi, ehrilch, nitroprusida, dan juga bisa menggunakan instrumen spektroskopi uv vis. Beberapa metode kuantitatif protein untuk menentukan jumlah/ kadar protein pada sampel antara lain kolorimetri (reaksi biuret, ninhidrin, lowry, pewarnaan), penentuan jumlah N (Kjedahl, van Slyke, Dumas), volumetri (titrasi formol), turbidimetri, dan analisis menggunakan instrumen spektroskopi UV-Vis.

Cara terpenting menentukan jumlah protein secara kuantitatif adalah dengan penentuan kandungan N yang ada dalam bahan pangan atau bahan hasil pertanian lainnya. Apabila unsur N ini dilepaskan dengan cara destruksi (perusakan bahan sampai terurai unsur penyusunnya) dan N yang terlepas ditentukan jumlahnya secara kuantitatif (dengan titrasi atau cara lain) maka jumlah protein dapat diperhitungkan atas dasar kandungan rata-rata unsur N yang ada dalam protein. Cara ini sebenarnya mengandung kelemahan, yaitu tidak semua jenis protein mengandung senyawa N yang sama, kelemahan lain adalah adanya senyawa lain yang bukan protein yang mengandung N meskipun jumlahnya biasanya jauh lebih sedikit dari protein. Senyawa-senyawa bukan protein yang mengandung N misalnya ammonia, asam amino bebas dan asam nukleat. Oleh sebab itu cara penentuan jumlah protein melalui penentuan jumlah N total hasilnya disebut jumlah protein kasar atau crude protei

BAB V

Analisis Total Serat Kasar

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).

Serat kasar adalah bagian dari dinding sel tanaman yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin yang tidak larut dalam larutan asam atau basa kuat. Komponen ini sulit dicerna oleh enzim pencernaan manusia, tetapi penting untuk fungsi pencernaan.

Pentingnya Analisis Serat Kasar

- Menentukan kualitas nutrisi suatu pangan.
- Membantu pengembangan produk pangan sehat.
- Berguna dalam industri pakan ternak dan produk olahan.

BAB VI

ANALISIS TOTAL GULA

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.

BAB VI

Analisis Total Fenol

Fenol adalah senyawa kimia yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Senyawa ini sering disebut sebagai "pahlawan tersembunyi" dalam makanan karena memiliki banyak manfaat kesehatan, terutama sebagai antioksidan. Antioksidan berperan penting dalam melindungi tubuh kita dari kerusakan akibat radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit.

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 oksimolibdenum. Struktur tungsten dapat dengan bebas bersubstitusi dengan molybdenum (Tursiman et al, 2012).

Mengapa Kita Menganalisis Total Fenol?

Mengetahui Kandungan Antioksidan: Dengan mengetahui kadar total fenol dalam suatu bahan pangan, kita dapat memperkirakan seberapa tinggi potensi antioksidannya.

Membandingkan Kualitas Pangan: Kita bisa membandingkan kandungan fenol pada berbagai jenis buah, sayuran, atau produk olahan untuk memilih yang memiliki kandungan antioksidan paling tinggi.

Mengembangkan Produk Pangan Fungsional: Informasi tentang kadar fenol dapat digunakan untuk mengembangkan produk pangan yang kaya akan antioksidan dan memiliki manfaat kesehatan yang lebih baik.

Bagaimana Cara Menganalisis Total Fenol?

Metode yang paling umum digunakan untuk mengukur total fenol adalah **metode Folin-Ciocalteu**. Metode ini didasarkan pada reaksi antara fenol dengan reagen Folin-Ciocalteu yang menghasilkan warna biru. Semakin tinggi kadar fenol dalam sampel, semakin intens warna biru yang dihasilkan. Intensitas warna ini kemudian diukur menggunakan spektrofotometer.

Tahapan Analisis Total Fenol:

- **Persiapan Sampel:** Bahan pangan yang akan diuji diekstraksi menggunakan pelarut tertentu untuk melarutkan senyawa fenol.
- **Reaksi dengan Reagen Folin-Ciocalteu:** Ekstrak sampel direaksikan dengan reagen Folin-Ciocalteu.
- **Pengukuran Serapan Cahaya:** Intensitas warna biru yang dihasilkan diukur menggunakan spektrofotometer.
- **Perhitungan Kadar Fenol:** Hasil pengukuran dibandingkan dengan kurva standar untuk menghitung kadar total fenol dalam sampel.

Faktor yang Mempengaruhi Hasil Analisis:

- **Jenis Pelarut:** Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi sangat berpengaruh terhadap jumlah fenol yang terekstrak.
- **Kondisi Ekstraksi:** Waktu ekstraksi, suhu, dan perbandingan sampel dengan pelarut juga mempengaruhi hasil.
- **Interferensi Senyawa Lain:** Senyawa lain dalam sampel, seperti pigmen atau gula, dapat mengganggu pengukuran.

BAB VIII

ANALISIS KAPASITAS ANTIOKSIDAN

Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkalkan 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.

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.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC, 2004. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Association of Official Analytical Chemist. Washington.
- Badan Standardisasi Nasional. 1992. Cara Uji Makanan dan Minuman. BSN. Jakarta.
- Belton, P. S. 2005. Extraction of Organic Analytes from Foods : A Manual of Methods. Cambridge : Royal Society of Chemistry.
- Cifuentes, A. 2012. Review Articles : Present, Future, and Foodomics. International Scholarly Research Network. doi:10.5402/2012/801607.
- Cruz, R. M. S., Khmelinskii, I., Viera, M. C. 2014. Methods in Food Analysis. CRC Press. New York.
- Fessenden, R. J. dan Fessenden, J. S. 1986. Organic Chemistry. Wadsworth., Inc. California.
- Franca, A. S. dan Nollet, L. 2018. Food & Analysis Properties. Taylor & Francis. New York.
- Folch, J., Lees, M., dan Stanley, G H.S. 1957. A Simple Method for Isolation and Purification of Total Lipids from Animal Issues. *J. Biol. Chem.* 226 : 497.
- Jacobs, M. 1962. The Cmeical Analysis of Foods and Food Products (3rd Ed.) D. Van Nostrand Company, Inc. New York.
- Nielsen, S. S. 2010. Food Analysis (4th Ed.). Springer. New York. Otles, S. 2005. Methods of Analysis Food Components and Additives. Taylor & Francis. New York.
- Pico, Y. 2008. Comprehensive Analytical Chemistry. Elsevier. Oxford.
- Sikorsi, Z. 2006. Chemical and Functional Properties of Food Components (3rd Ed.). Taylor & Francis Inc. United States, Bosa Roca.
- Sediaoetomo, A. D. 2000. Ilmu Gizi. Jakarta : Dian Rakyat.
- Otles, S. 2009. Handbook of Food Analysis Instruments. CRC Press, Taylor & Francis. New York.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 2003. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Sun, D. W. 2009. Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control. Academic Press is an Imprint of Elsevier. San Diego.
- Synder, L. R. dan Kirkland, J. J. 1979. Introduction to Modern Liquid Chromatography (2nd Ed.). Wiley-Interscience. New York.
- Wetzel, D. L. B. & Charalambous, G. 1998. Instrumental Methods in Food and Beverage Analysis. Elsevier. Netherlands.
- Winarno, F. G. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.