

ANALISIS KARBOHIDRAT

Definisi

Ada beberapa definisi

- Merupakan polihidroksialdehid atau polihidroksiketon
- Senyawa yang mengandung C, H, dan O dengan rumus empiris $(CH_2O)_n$, n biasanya 5 atau 6

Metode analisis

METODE	JENIS GULA
1. Fisik	
Refraktometri	Total karbohidrat terlarut
Polarimetri	Seluruh karbohidrat yang larut
Hidrometri	Total karbohidrat terlarut
2. Kimiawi	
Nelson-Somogyi	Gula pereduksi
Anthrone	Heksosa bebas
Reduksi tembaga	Gula pereduksi
3. Kromatografi	Seluruh karbohidrat yang larut

Persiapan Sampel

untuk Analisis Total Gula dan Gula Pereduksi

Persiapan Sampel cair

- Sampel harus jernih dan bebas dari pengotor
- Pengotor yang dapat mengganggu analisis adalah:
 - protein (membentuk kekeruhan),
 - fenol (analisis untuk gula pereduksi),
 - furan dan turunannya sebagai produk karamelisasi dan reaksi Maillard (metode anthrone)
- Jika sampel keruh harus dilakukan pengendapan terlebih dahulu
- Gula yang terukur berasal dari gula dan karbohidrat yang larut dalam air

Persiapan Sampel Padat

- Gula diekstrak dengan etanol 80% panas
- Gula yang terukur adalah gula yang larut dalam etanol yang terdiri dari mono, di, tri, dan tetra, dan oligosakarida
- Polisakarida dan protein bersifat tidak larut dalam etanol
- Sebelum dilakukan ekstraksi, sebaiknya sampel dibuat bebas lemak

TOTAL GULA

(metode Anthrone)

- Karbohidrat dalam asam sulfat akan dihidrolisis menjadi monosakarida dan selanjutnya monosakarida mengalami dehidrasi oleh asam sulfat menjadi furfural atau hidroksil metil furfural.
- Selanjutnya senyawa furfural ini dengan anthrone (9, 10 dihidro-9-oxoanthracene) membentuk senyawa kompleks yang berwarna biru.

- Karbohidrat sensitif terhadap asam kuat dan suhu tinggi
- Pada kondisi tersebut terjadi serangkaian reaksi yang dimulai dari dehidrasi
- Pemanasan yang berlanjut pada kondisi asam menyebabkan pembentukan turunan furan

Penetapan kurva standar

- Larutan glukosa standar 0.2 mg/ml. Larutan 200 mg glukosa dalam 100 ml akuades. Ambil 10 ml encerkan menjadi 100 ml (1 ml = 0.2 mg glukosa)
- Pipet ke dalam tabung reaksi 0 (blanko), 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 dan 1.0 ml larutan glukosa standar. Tambahkan air sampai total volume masing-masing tabung reaksi 1.0 ml.
- Tambahkan 5 ml pereaksi Anthrone. Tutup tabung reaksi campur merata.
- Tempatkan dalam waterbath 100oC selama 12 menit (rendam dalam air mendidih).
- Dinginkan dengan cepat menggunakan air mengalir.
- Pindahkan ke dalam kuvet, baca absorbansnya pada 630 nm.
- Buat kurva hubungan antara absorbans dengan mg glukosa.

Kurva standar

No.	Konsentrasi gula standar	Absorbansi
1.	Blanko	
2.	0.04 mg/ml	
3.	0.08 mg/ml	
4.	0.12 mg/ml	
5.	0.16 mg/ml	
6.	0.20 mg/ml	

Persiapan Sampel cair

- Timbang sampel sebanyak 29 gram dan dilarutkan dalam 500 ml akuades.
- Pindahkan ke gelas beker, tambahkan 200-300 ml air dan 2 gram CaCO_3 , dididihkan selama 30 menit. Kemudian didinginkan.
- Masukkan ke dalam labu ukur 500 ml dan masukkan 3-5 ml Pb-asetat. Tambahkan akuades hingga tanda tera.
- Saring dengan kertas saring whatman no.2
- Tambahkan 1 gram Natrium oksalat untuk mengendapkan Pb-asetat, kemudian disaring lagi
- Filtrat siap dipakai.

Persiapan Sampel Padat

- Timbang sampel sebanyak 20-30 gram, ditambahkan alkohol 80% dengan perbandingan 1:1 atau 1:2.
- Hancurkan dengan waring blender
- Pindahkan ke dalam gelas beker
- Saring sampel dan cuci padatannya dengan alkohol 80%.
- Ukur pH dan jika asam tambahkan CaCO_3 . Panaskan dalam penangas air 100°C selama 30 menit.

- Sampel disaring lagi.
- Filtrat dipanaskan suhu 85oC untuk menghilangkan alkohol.
- Jika masih ada endapan, disaring lagi. Tambahkan Pb asetat dan kemudian Pb dihilangkan dengan penambahan Na-oksalat seperti persiapan sampel cair.
- Filtrat siap digunakan

Catatan

- Ekstraksi gula dengan etanol 80%: jenis gula yang terekstrak adalah mono, di, tri, tetra, oligosakarida (seperti maltodekstrin)

Penetapan sampel

- Masukkan 1 ml sampel (dari persiapan sampel) ke dalam tabung reaksi
- Selanjutnya lakukan seperti pada pembuatan kurva standar

1. Berapa kadar total gula (mg/ml) dari santan cair merek Kara jika analisis dilakukan sbb:

Pembuatan kurva standar

- Larutan standar dibuat dengan melarutkan 200 mg glukosa dalam 100 ml akuades. Sebanyak 10 ml larutan tersebut diencerkan menjadi 100 ml
- Pipet ke dalam tabung reaksi sebanyak 0 (blanko); 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 ml larutan glukosa standar. Tambahkan air sampai total volume masing-masing menjadi 1 ml. Kemudian tambahkan 5 ml pereaksi anthrone. Tabung reaksi dipanaskan selama 12 menit pada 100 C. Setelah dingin kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 630 nm

Persiapan sampel

- Ambil 25 ml santan cair. Pindahkan ke gelas piala dan tambahkan 200 ml air dan 2 g CaCO_3 . Didihkan selama 30 menit.
- Dinginkan larutan tersebut di atas, pindahkan pada labu ukur 500 ml, kemudian tambahkan Pb-asetat jenuh sampai larutan jernih
- Tepatkan volume larutan sampai tanda tera dengan air. Campur rata dan saring.
- Tambahkan Na-oksalat kering secukupnya sampai semua Pb mengendap, campur rata dan saring kembali.

Penetapan sampel

- Sampel ditetapkan sbb: 1 ml sampel cair tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya diberi perlakuan seperti larutan standar. Sampel mempunyai absorbansi 0,69. Larutan standar mempunyai absorbansi sbb:

Vol. larutan standar	Absorbansi
0,0	0,03
0,2	0,24
0,4	0,47
0,6	0,65
0,8	0,89
1,0	1,08

2. Berapa kadar gula (% b/b) dalam jenang apel jika analisis dilakukan sebagai berikut:

Persiapan sampel:

- Timbang 20 g sampel, tambahkan alkohol 80% dengan perbandingan 1:1 atau 1:2
- Hancurkan sampel dengan menggunakan waring blender sampai semua gula terekstrak
- Pindahkan pada gelas piala secara kuantitatif
- Saring sampel dengan kapas, sisa padatan dalam kapas dicuci dengan alkohol 80% sampai semua gula terekstrak
- Ukur pH filtrat. Jika asam tambahkan CaCO_3 sampai basa. Panaskan dalam penangas air selama 30 menit.
- Saring dengan kertas Whatman No.2
- Hilangkan alkohol dengan pemanasan 85°C , jika kering tambahkan air secukupnya. Tambahkan Pb-asetat jenuh, dan hilangkan sisa Pb dengan Na-oksalat seperti sampel cair.
- Tepatkan volume larutan sampai 100 ml.

Penetapan sampel

- Ambil 1 ml sampel cair dari persiapan sampel. Selanjutnya diberi perlakuan seperti pembuatan kurva standar soal no.1.
- Absorbansi sampel adalah 0,86 dengan kurva standar sbb

Volume larutan standar	Absorbansi
0,0	0,03
0,2	0,24
0,4	0,47
0,6	0,65
0,8	0,89
1,0	1,08

PATI

- Kuantifikasi: pati dihidrolisis, gula reduksi ditentukan. Yang spesifik adalah hidrolisis menggunakan enzim
- Kadar pati = FK X kadar gula
- $FK = \frac{BM \text{ pati}}{BM \text{ gula}} = \frac{(m \times 162)}{(m \times 180)} = 0.90$

Jenis Pati

- Amilosa dan amilopektin
- Amilosa: pembentukan kompleks dengan iodin, warna biru
- Amilopektin: warna merah bata
- Amilosa dan amilopektin dapat dipisahkan dengan elektrodialisa, pelarutan dengan n butanol (amilosa larut, amilopektin tidak larut)

Penetapan pati metode hidrolisis asam

- Metode ini digunakan untuk menetapkan kadar pati dalam bahan pangan yang diketahui hanya mengandung pati dan dekstrin.
- Prinsipnya adalah pati dihidrolisis dengan asam, kemudian gula hasil hidrolisis diukur.
- Dengan demikian kadar pati dalam sampel dapat diketahui.

Catatan

- Jika sampel mengandung polisakarida/ gum larut air, apakah terukur sebagai pati pada analisis pati?

Prosedur Penetapan

- Sampel padat 2-5 g yang telah dihaluskan atau cair ditambah 50 ml etanol 80% dan aduk selama 1 jam. Suspensi disaring. Filtrat mengandung karbohidrat yang larut dibuang.
- Untuk bahan berlemak, maka pati yang terdapat sebagai residu pada kertas saring dicuci 5 kali dengan 10 ml eter, kemudian cuci lagi dengan 150 ml alkohol 10% untuk menghilangkan lebih lanjut karbohidrat terlarut.
- Residu dipindahkan ke dalam erlenmeyer dengan pencucian 200 ml aquades dan tambahkan 20 ml HCl \pm 25% (bj 1.125), refluks selama 2,5 jam.
- Setelah dingin netralkan dengan larutan NaOH 45% dan encerkan sampai 500 ml, kemudian saring. Kadar glukosa ditentukan.
- Penentuan glukosa seperti pada penentuan total gula. Berat glukosa dikalikan 0.9 merupakan berat pati.

Contoh soal

- Berapa kadar (%) pati dari beras jika jumlah beras yang dianalisis adalah 1.45 g. Setelah dipreparasi dan diperoleh filtrat hasil hidrolisis, kadar gula dalam filtrat dianalisis dengan kadar 1,01 g.

SERAT KASAR

- Komponen bahan pangan yang tidak tercerna yang dinyatakan sebagai komponen tidak larut asam/alkali encer
- Residu hasil digesti: serat kasar yang terdiri dari lignin dan selulosa

Penetapan Serat Kasar

- Serat kasar merupakan residu dari bahan makanan atau produk pertanian setelah diberi perlakuan asam dan alkali mendidih, yang terdiri dari selulosa dan sedikit lignin dan pentosan
- Merupakan metode gravimetri

Prosedur

- Haluskan bahan sehingga dapat melalui ayakan diameter 1 mm dan campurlah baik-baik. Kalau bahan tak dapat dihaluskan, hancurkan sebaik mungkin.
- Timbang 2 g bahan kering dan ekstraksi lemaknya dengan soxhlet. Kalau bahan sedikit mengandung lemak, misalnya sayur-sayuran gunakan 10 g bahan; tidak perlu dikeringkan dan diekstraksi lemaknya
- Pindahkan bahan ke dalam erlenmeyer 600 ml. Kalau ada tambahkan 0,5 g asbes yang telah dipijarkan dan 3 tetes zat anti buih (antifoam agent).

- Tambahkan 200 ml larutan H₂SO₄ mendidih (125 g H₂SO₄ pekat/100 ml = 0.255 N H₂SO₄) dan tutuplah dengan pendingin balik, dididihkan selama 30 menit dengan kadangkala digoyang-goyangkan.
- Saring suspensi melalui kertas saring dan residu yang tertinggal dalam erlenmeyer dicuci dengan aquades mendidih. Cucilah residu dalam kertas saring sampai air cucian tidak bersifat asam lagi (uji dengan kertas lakmus).
- Pindahkan secara kuantitatif residu dari kertas saring ke dalam erlenmeyer kembali dengan spatula dan sisanya dicuci dengan larutan NaOH mendidih (1.25g NaOH/100ml = 0,313 N NaOH) sebanyak 200 ml sampai semua residu masuk ke dalam erlenmeyer. Dididihkan dengan pendingin balik sambil kadangkala digoyang-goyangkan selama 30 menit.

Contoh perhitungan

- Berapa kadar serat kasar dari sampel daun singkong jika jumlah sampel daun singkong basah yang dianalisis adalah 10.42 g. Kertas saring ditimbang, dan diketahui beratnya sebesar 1.20 g. Daun singkong dikeringkan dulu dan dilanjutkan dihidrolisis dengan asam dan basa. Setelah disaring dan dikeringkan dengan kertas saring berat kertas saring+residu serat adalah 1.84 g.