



# SERBA SERBI PRAKTIS ANALISIS PROKSIMAT BAHAN PANGAN BAGI MAHASISWA



**Indomedia  
Pustaka**

Daimon Syukri, S.Si., M.Si., Ph.D  
Prof. Dr. Ir Rina Yenrina, MS  
Prof. Dr. Ir. Fauzan Azima, MS

## SERBA SERBI PRAKTIS ANALISIS PROKSIMAT BAHAN PANGAN BAGI MAHASISWA

Daimon Syukri  
Rina Yenrina  
Fauzan Azima



**Edisi Asli**  
**Hak Cipta © 2020 pada penulis**  
Griya Kebonagung 2, Blok I2, No.14  
Kebonagung, Sukodono, Sidoarjo  
Telp. : 0812-3250-3457  
Website : www.indomediapustaka.com  
E-mail : indomediapustaka.sby@gmail.com

*Hak cipta dilindungi undang-undang.* Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apa pun, baik secara elektronik maupun mekanik, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan menggunakan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari Penerbit.

### UNDANG-UNDANG NOMOR 19 TAHUN 2002 TENTANG HAK CIPTA

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak mengumumkan atau memperbanyak suatu ciptaan atau memberi izin untuk itu, dipidana dengan pidana penjara paling lama **7 (tujuh) tahun** dan/atau denda paling banyak **Rp 5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah)**.
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1), dipidana dengan pidana penjara paling lama **5 (lima) tahun** dan/atau denda paling banyak **Rp 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah)**.

---

Syukri, Daimon  
Yenrina, Rina  
Azima, Fauzan

Serba Serbi Praktis Analisis Proksimat Bahan Pangan bagi Mahasiswa/Daimon  
Syukri, Rina Yenrina, Fauzan Azima  
Edisi Pertama  
—Sidoarjo: Indomedia Pustaka, 2020  
Anggota IKAPI No. 195/JTI/2018  
1 jil., 17 × 24 cm, 50 hal.

ISBN: 978-623-7137-94-8

- |              |   |
|--------------|---|
| 1. Pertanian | 2. Serba Serbi Praktis Analisis Proksimat Bahan Pangan bagi Mahasiswa |
| I. Judul     | II. Daimon Syukri, Rina Yenrina, Fauzan Azima                         |

# Prakata

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulisan buku ini dapat diselesaikan. Shalawat beserta salam untuk Yang Mulya Nabi Besar Muhammad SAW.

Buku ini diharapkan dapat memberikan informasi-informasi praktis tentang analisis proksimat bahan pangan. Informasi yang disampaikan di dalam buku ini merupakan hal-hal teknis yang dapat diaplikasikan untuk mendukung pengerjaan analisis proksimat bahan pangan agar dapat menghasilkan data hasil uji yang lebih valid, akurat dan dapat dipercaya. Buku ini ditujukan bagi para peneliti pemula khususnya mahasiswa di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Andalas Padang dan di program studi dan atau Perguruan Tinggi lainnya yang berkaitan dengan pengerjaan analisis bahan pangan. Informasi-informasi teknis yang disampaikan di dalam buku akan sangat berguna bagi mahasiswa atau peneliti pemula dalam pengerjaan analisis proksimat di laboratorium yang sifatnya masih memerlukan pengembangan seperti laboratorium pendidikan yang ada di Universitas Andalas.

Dalam penulisan buku ini penulis telah berusaha menyampaikan informasi yang ada semaksimal mungkin, walaupun demikian penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari sempurna dan masih perlu untuk dilakukannya penyempurnaan di masa yang akan datang. Oleh karena itu kritik dan saran dari pemakai buku ini penulis harapkan untuk perbaikan selanjutnya.

Penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada segenap pimpinan Universitas Andalas, Bapak Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Andalas (FATETA UNAND), Dr. Ir Feri Arlius, M.Sc. dan jajarannya. Ketua kelompok bidang kajian Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FATETA UNAND, Prof. Dr. Ir, Fauzan Azima MS. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FATETA UNAND, Prof. Dr. Ir Kesuma Sayuti, MS. beserta sekretaris, Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian UNAND, Dr.-Ing. Uyung Gatot S.Dinata, MT dan segenap jajarannya serta semua pihak yang telah banyak membantu terlaksananya penulisan buku ini.

Terima kasih

Penulis  
Diamon Syukri

# Daftar Isi

<b>PRAKATA .....</b>	<b>III</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>V</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>VII</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>VIII</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>BAB 2 ANALISIS PROKSIMAT AIR .....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 3 ANALISIS PROKSIMAT PROTEIN .....</b>	<b>13</b>
<b>BAB 4 ANALISIS PROKSIMAT LEMAK .....</b>	<b>23</b>

<b>BAB 5 ANALISIS PROKSIMAT ABU .....</b>	<b>31</b>
<b>BAB 6 ANALISIS PROKSIMAT KARBOHIDRAT .....</b>	<b>35</b>
<b>BAB 7 VERIFIKASI PEKERJAAN ANALISIS PROKSIMAT YANG TELAH DILAKUKAN .....</b>	<b>39</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>41</b>

# Daftar Gambar

<b>Bagan alir analisis proksimat kadar air dengan cara pengeringan.....</b>	<b>7</b>
<b>Skema kerja analisis proksimat kadar protein dengan cara Kjeldahl.....</b>	<b>20</b>
<b>Gambar sistem ekstraksi lemak dengan cara soklet .....</b>	<b>35</b>
<b>Bagan alir analisis proksimat kadar karbohidrat dengan cara “by difference” untuk bahan uji yang tidak mengandung Alkohol .....</b>	<b>42</b>
<b>Bagan alir analisis proksimat kadar karbohidrat dengan cara “by difference” untuk bahan uji yang mengandung Alkohol .....</b>	<b>42</b>

## **DAFTAR TABEL**

<b>Faktor yang digunakan untuk konversi kadar nitrogen menjadi kadar protein .....</b>	<b>18</b>
<b>variasi lipid yang umum ada dalam suatu bahan pangan .....</b>	<b>27</b>



# Bab 1

## Pendahuluan Analisis Proksimat

Analisis proksimat merupakan istilah yang dikenalkan dalam kegiatan analisis mutu suatu bahan sejak tahun 1800-an. Analisis jenis ini digunakan untuk menganalisis kandungan **suatu kelompok** komponen bahan kimia tertentu yang terdapat di dalam suatu bahan uji. Komponen kimia yang dapat di analisis secara proksimat merupakan senyawa kimia yang secara sifat terikat secara bersama-sama sehingga dengan kata lain **analisis proksimat tidak dapat menguraikan kandungan komponen kimia di dalam suatu bahan secara rinci, namun hanya berupa nilai perkiraan secara kasar dari jumlah kelompok komponen tersebut.** Di dalam bahan pangan, analisis proksimat mencakup penentuan jumlah total senyawa air, total protein, total lemak, abu dan karbohidrat. Dimana total karbohidrat diperkirakan dengan mengurangi jumlah persentase (air, total protein, total lemak dan abu) dari 100.

Walaupun analisis proksimat hanya memberikan informasi kandungan komponen kimia secara total atau kasar, analisis merupakan hal yang mendasar dan penting dari

suatu bahan uji terutama pada bahan pangan karena hasil analisis proksimat akan memberikan informasi tentang sifat dan karakteristik dari suatu bahan uji tersebut. Dalam suatu kegiatan analisis baik analisis proksimat atau analisis yang lebih spesifik, pengambilan bahan uji yang cermat, mewakili populasi, dan teliti sangatlah diperlukan untuk mendapatkan nilai hasil uji yang akurat dan dapat dipercaya. Sifat kimia dan fisik dari bahan uji yang bervariasi akan berpengaruh besar terhadap hasil uji yang dilakukan. Khususnya di dalam analisis proksimat, karena yang diuji itu merupakan kelompok senyawa yang bersifat makronutrien seperti air, protein, lemak dan karbohidrat maka interaksi dari masing-masing komponen akan saling mempengaruhi dan akhirnya dapat memberikan informasi yang salah. Hal ini akan menjadi perhatian yang sangat krusial apabila bahan uji merupakan produk olahan pangan, karena selama proses pengolahan bahan pangan reaksi interaksi antara makronutrien tersebut sangat mungkin terjadi dan apabila tidak diperhitungkan akan membuat hasil analisa menjadi tidak akurat dan tidak bisa dipercaya. Untuk itu pengetahuan tentang teknik sampling dan perlakuan awal dari bahan uji sebelum dilakukan analisis proksimat menjadi hal yang penting untuk bisa mendapatkan data hasil uji yang akurat dan dapat dipercaya.

Di dalam buku ini, akan diinformasikan tentang hal-hal mendasar yang perlu diperhatikan untuk melakukan analisis proksimat dari bahan uji pangan sehingga menghasilkan data yang akurat dan bisa dipercaya baik dari pemilihan metode uji berdasarkan karakter bahan, teknik sampling, perlakuan awal bahan uji yang memiliki karakter tertentu seperti bahan uji yang memiliki kadar air tinggi, kadar gula tinggi dan lain-lain serta proses perhitungan data yang baik dan benar. Diharapkan buku ini bisa menambah pengetahuan praktis para pembaca khususnya dikalangan mahasiswa eksakta yang berkaitan dengan kegiatan analisis bahan pangan untuk dapat lebih mudah memahami dan melakukan analisis proksimat dengan jaminan data yang akurat dan dapat dipercaya pada kegiatan penelitian di masa yang akan datang.

# Bab 2

## Analisis Proksimat Air

### **Pendahuluan**

---

Salah satu hal yang paling dasar dan penting dalam suatu kegiatan analisis mutu bahan pangan adalah dengan mengetahui kandungan air yang ada di dalam bahan pangan tersebut. Dengan diketahuinya kandungan air di dalam suatu bahan pangan, informasi akan total padatan di dalam bahan tersebut otomatis juga akan dapat diketahui karena material yang tertinggal setelah semua air di dalam suatu bahan dihilangkan dianggap sebagai total padatan di dalam bahan uji tersebut. Hampir semua bahan baku dan produk pangan dipastikan memiliki kandungan air di dalamnya, baik air yang terkandung secara alami ataupun air yang ditambahkan selama proses produksi suatu produk bahan pangan.

Analisis kadar air merupakan salah satu analisis yang paling penting dilakukan pada produk pangan walaupun sampai saat ini analisis kadar air masih merupakan salah satu analisis yang cukup sulit untuk mendapatkan hasil uji yang sangat tepat dan teliti karena banyak faktor yang dapat mempengaruhi hasil uji dari analisis kadar air ini.

Air merupakan komponen utama dari kebanyakan bahan baku pangan dan juga produk olahan pangan itu sendiri. Keberadaan air di dalam suatu bahan pangan secara garis besar dapat dibagi dua yaitu air bebas dan air terikat dimana air terikat juga akan terbagi menjadi air teradsorpsi dan air yang terikat dalam bentuk hidrat.

1. Air bebas:

Air yang bebas mempertahankan sifat fisiknya. Di dalam bahan pangan bahan ini dapat bertindak sebagai zat pendispersi koloid atau pelarut untuk senyawaan garam. Dapat dibayangkan air jenis ini akan berada di dalam bahan pangan dalam bentuk air yang keberadaannya bebas tanpa ada ikatan dengan molekul-molekul dan atau jaringan-jaringan yang ada di dalam bahan tersebut.

2. Air terikat secara fisika (teradsorpsi):

Air jenis ini akan terserap di dinding sel atau protoplasma dan atau tertahan dengan adanya protein.

3. Air terikat secara kimia (hidrat):

Air jenis ini merupakan air yang terikat secara kimia dengan komponen tertentu seperti laktosa monohidrat; juga beberapa garam seperti  $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ .

Setiap bahan uji pangan kemungkinan akan memiliki tipe-tipe jenis air ini sehingga perkiraan akan karakter yang ada di dalam suatu bahan uji akan menentukan metode analisis kadar air yang digunakan. Selain itu perkiraan kandungan atau jumlah air di dalam suatu bahan uji juga dapat memengaruhi pilihan metode analisis yang akan dilakukan. Pemilihan metode analisis yang tepat sangat ditekankan karena dapat memandu peneliti dalam menentukan tingkat akurasi dan kepercayaan terhadap data uji yang dihasilkan. Bervariasinya jenis air yang ada di dalam suatu bahan uji, menjadikan prosedur analisis kadar air kadang kala tidak bisa dibakukan.

## **TEKNIK ANALISIS KADAR AIR**

---

Kadar air di dalam suatu bahan pangan dapat diukur berdasarkan sifat fisik dan kimia seperti berat, jenis, kepadatan, viskositas, indeks bias, dan konduktivitas listrik dari senyawa air yang ada suatu bahan uji tersebut. Pengukuran kadar air dapat dilakukan langsung terhadap salah satu sifat air tersebut atau secara tidak langsung dengan melalui tahapan reaksi kimia yang melibatkan senyawa air yang ada di dalam suatu bahan uji. Ada beberapa teknik analisis kadar air yang umum dilakukan untuk mengetahui kadar air suatu bahan pangan yaitu teknik pengeringan, teknik destilasi, teknik titrasi (reaksi kimia) dan teknik pengukuran berdasarkan sifat fisika air.

## Teknik analisis kadar air dengan pengeringan

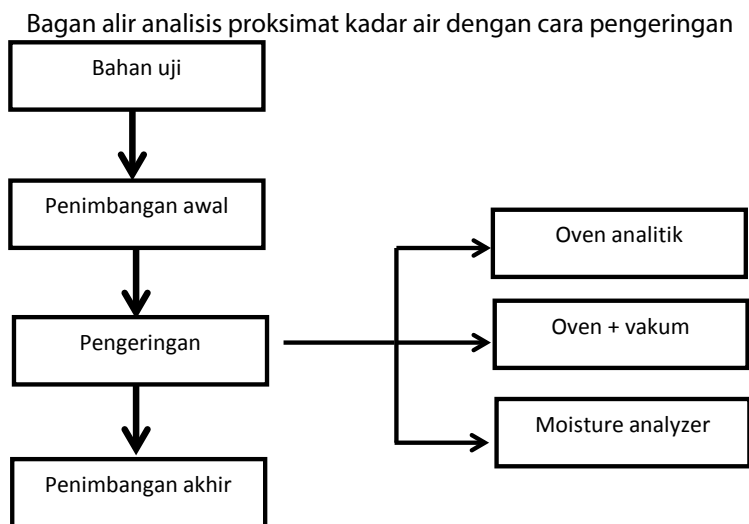
Teknik pengeringan merupakan cara analisis kadar air yang bersifat pengujian kadar air secara langsung dimana cara ini merupakan metode yang paling umum digunakan untuk menentukan kadar air dalam bahan pangan yang berbentuk padat. Pada metode ini, bahan uji akan dikeringkan di dalam alat pengering dengan kondisi tertentu dimana hilangnya berat bahan uji dapat dihitung sebagai banyaknya air yang ada di dalam bahan uji. Hasil kadar air yang didapatkan akan dipengaruhi oleh jenis alat pengering yang dipakai, kondisi alat pengering pada saat analisis dan waktu pengeringan yang dilakukan. Teknik ini dikenal juga dengan teknik “thermogravimetry”.

Analisis kadar air dengan cara ini sangatlah populer dan banyak digunakan peneliti maupun stakeholder lainnya untuk mengetahui kandungan air di dalam suatu bahan uji. Analisis ini memiliki prinsip yang sangat mudah untuk dipahami dengan jenis peralatan mulai dari yang sederhana sampai yang sudah modern. Walaupun analisis dengan cara ini dapat menggunakan alat yang sederhana akan tetapi hasil yang akurat hanya bisa didapatkan apabila kategori alat yang digunakan sudah sesuai standar yang ditentukan. Penggunaan oven yang berkategori sebagai oven analitik merupakan alat pengering yang paling sederhana untuk pengujian dengan metode ini. Kondisi oven untuk pemanasan berkisar diatas titik didih air yaitu 105°C -110 °C. Untuk waktu analisis umumnya diinformasikan sampai didapatkan bobot konstan dari sample yang sudah dilakukan pemanasan dimana akan memakan waktu analisis yang bervariasi untuk setiap bahan uji.

Analisis kadar air dengan metode oven merupakan metode uji yang berdasarkan perhitungan terhadap banyaknya air yang ada di dalam suatu bahan uji yang hilang ketika bahan uji dipanaskan melebihi titik didih air (100 °C). Akan tetapi hal ini hanya berlaku untuk jenis air bebas yang dapat menguap pada kondisi 100 °C dan tekanan 1 atmosfer (atm) atau 760 mm Hg. Air bebas merupakan jenis air yang sangat mudah diuapkan pada kondisi tersebut dibandingkan dengan dua jenis air yang lainnya. Penggunaan suhu yang cukup relatif tinggi yaitu sekitar 105 °C -110 °C memungkinkan hasil yang didapatkan tidak hanya menunjukkan jumlah air sebenarnya yang ada di dalam bahan tetapi juga bisa jumlah zat lain yang juga menguap pada suhu analisis seperti senyawa-senyawa yang mudah menguap dan atau senyawa air yang berasal dari hasil reaksi kimia suatu senyawa akibat adanya proses pemanasan. Sebagai contoh: adanya glukosa bebas di dalam bahan uji apabila dipanaskan pada suhu tinggi juga akan dapat melepaskan air. Contoh senyawa-senyawa yang mudah menguap akan mudah didapati di dalam bahan uji yang memiliki rasa asam dan atau memiliki aroma yang khas yang berasal dari asam-asam organik seperti asam asetat, asam propionat, asam butirat, senyawa alkohol, senyawa ester dan senyawa aldehid.

Penggunaan oven dengan adanya penggunaan pompa vakum yang dapat memperendah tekanan udara dari 1 atm menjadi 0,2 atm akan membuat proses pengeringan atau penguapan air dapat terjadi tanpa adanya proses dekomposisi dari senyawa-senyawa yang sensitif terhadap panas seperti gula sederhana atau senyawa mudah menguap yang juga terdapat di dalam bahan uji.

Selain oven analitik, ada beberapa alat yang dikategorikan sudah alat-alat modern yang juga dapat digunakan sebagai alat pengering untuk memicu penguapan air dalam teknik pengeringan untuk analisis kadar air dalam bahan pangan. Alat-alat tersebut antara lain microwave, lampu infra merah dan “*moisture analyzer*” . Semua alat alat tersebut dapat mengukur banyaknya air yang teruap dari dalam bahan uji berdasarkan perbedaan berat antara bahan uji sebelum dipanaskan dengan sesudah dipanaskan. “*Moisture analyzer*” merupakan alat yang sangat umum digunakan di industri-industri makanan pada saat ini. Alat ini menggunakan elemen pemanas yang berupa lampu halogen atau lampu infra merah yang dapat memanaskan bahan uji dan juga dilengkapi dengan timbangan digital yang dapat menghitung perubahan berat bahan uji secara langsung atau “*online*” sehingga waktu analisis menggunakan alat ini sangatlah singkat. Alat ini merupakan alat yang sudah termasuk dalam kategori alat modern dalam analisis kadar air dengan teknik pengeringan yang mana alat ini dapat mengukur kadar air di dalam bahan uji dengan rentang 50 ppm (0,0005%) sampai dengan 100 % dengan penggunaan jumlah bahan uji antara 150 mg (0,15 g) sampai dengan 40 g.



**Kendala yang sangat mungkin terjadi dalam kegiatan analisis kadar air dengan teknik pengeringan suhu tinggi.**

Sudah diinformasikan sebelumnya, bahwa analisis kadar air dalam suatu bahan dengan teknik pengeringan dengan suhu tinggi sekitar titik didih air (100 °C), akan memberikan tingkat kesalahan hasil uji dari nilai sebenarnya untuk bahan uji yang mengandung gula sederhana bebas dan atau senyawa-senyawa yang mudah menguap. Kendala seperti ini umumnya akan ditemukan dalam analisis bahan baku yang berasal dari bahan hasil pertanian.

Berdasarkan pengalaman dilaboratorium pangan, untuk produk olahan jadi, kendala yang sering terjadi dalam analisis kadar air produk pangan adalah adanya produk yang mengandung air yang berikatan dengan senyawa lain seperti gula kompleks. Jenis air seperti ini sangat umum ditemukan untuk jenis bahan uji yang mengandung kadar gula yang tinggi seperti permen dan produk pangan manis lainnya.

Gula merupakan senyawa yang bersifat sensitif terhadap adanya panas. Dengan adanya panas, gula yang terdapat di dalam bahan uji dapat mengalami “peleburan semu” yang merupakan titik awal terbentuknya proses karamelisasi. Perubahan karakter gula pada kondisi ini dapat mempengaruhi proses penguapan air bebas yang dapat terukur dengan teknik pengeringan suhu tinggi yang dilakukan.

Selain itu, apabila bahan uji mengandung protein dan lemak yang tinggi sedangkan kadar air di dalam bahan uji tersebut di perkirakan ada dalam kandungan yang kecil, adanya protein dan lemak juga akan menghalangi proses penguapan dari air. Untuk itu perlu adanya pertimbangan untuk tidak menggunakan teknik pengeringan suhu tinggi untuk menganalisis kadar air bahan produk pangan yang mengandung kadar gula protein dan lemak yang tinggi. Biasanya pengukuran kadar air produk pangan yang mengandung kadar gula, protein dan atau lemak yang tinggi dengan teknik pengeringan suhu tinggi akan memberikan hasil uji yang lebih kecil dari nilai uji yang sebenarnya.

Untuk itu cara yang sederhana yang dapat dilakukan untuk menyelesaikan kendala ini adalah dengan mencari faktor koreksi yang dapat menunjukkan keberadaan gula atau protein di dalam bahan uji. Nilai faktor koreksi akan berbeda untuk setiap jenis bahan uji karena bervariasi komposisi gula dan atau protein di dalam suatu bahan uji. Faktor koreksi bisa didapatkan dengan mengurangi kadar air yang dihitung secara teoritis dengan kadar air yang didapat dengan teknik pengeringan suhu tinggi.

Selain menggunakan faktor koreksi, menggunakan suhu pemanasan yang lebih tinggi seperti 110 °C– 120 °C dengan waktu analisis yang lebih lama juga dapat dipertimbangkan dalam meminimalisasi kesalahan dari hasil akhir analisis kadar air untuk bahan uji yang mengandung kadar gula, protein dan atau lemak yang tinggi dengan teknik pengeringan.

Idealnya, pemilihan teknik analisis yang lebih cocok untuk karakter bahan uji yang mengandung kadar gula dan protein yang tinggi merupakan langkah penyelesaian masalah yang sangat tepat. Seperti yang sudah disampaikan sebelumnya, bahwa teknik analisis kadar air di dalam suatu bahan pangan tidak hanya dengan menggunakan teknik pengeringan, akan tetapi dapat juga dilakukan dengan teknik analisis lainnya seperti teknik titrasi. Teknik analisis kadar air dengan cara titrasi banyak direkomendasikan untuk mendapatkan hasil uji yang valid, akurat dan terpercaya untuk bahan yang memiliki karakter kandungan air yang relatif kecil tetapi memiliki kadar gula, protein dan atau lemak yang tinggi.

### **Hal-hal umum yang menjadi sumber kesalahan lainnya dalam analisis proksimat kadar air dengan cara pengeringan**

Selain pengaruh pemanasan terhadap karakter bahan uji yang bisa menimbulkan bias terhadap hasil analisis, banyak sumber kesalahan lainnya yang mungkin terjadi dalam analisa proksimat kadar air dengan cara pengeringan ini, diantaranya adalah:

- Karena prinsip dasar dari analisis ini adalah gravimetri, penggunaan timbangan yang baik dan terkalibrasi serta berada pada posisi yang baik dan benar sangat perlu diperhatikan dalam melakukan analisis ini. Pada umumnya, mahasiswa jarang sekali dibekali dengan pengetahuan tentang spesifikasi teknis sebuah timbangan analitik dan cara penggunaan timbangan itu secara baik dan benar. Di laboratorium, mungkin secara kasat mata para mahasiswa dapat membedakan mana timbangan yang dikategorikan sebagai timbangan analitik yang boleh digunakan sebagai alat timbang dalam kegiatan analisis proksimat kadar air karena bentuk nya yang sangat berbeda dengan timbangan semi analitik atau timbangan kasar. Dimana timbangan analitik memiliki dimensi yang cukup tinggi dan memiliki jendela atau pintu di sisi samping dan atau di sisi atas. Akan tetapi umumnya mahasiswa tidak memperdulikan kebersihan timbangan dan posisi dari timbangan tersebut. Apakah timbangan tersebut masih layak atau tidak untuk digunakan dan lain-lain. Untuk itu faktor-faktor seperti kebersihan timbangan, apakah posisi timbangan sudah dalam posisi datar (horizontal) dan terkalibrasi harus diketahui terlebih dahulu sebelum melakukan kegiatan analisis untuk mendapatkan data hasil uji yang dapat dipercaya. Selain itu lokasi timbangan analitik yang digunakan juga harus berada pada tempat yang terkena cahaya matahari langsung dan juga tidak boleh berada pada jalur hembusan air dari air conditioner (AC). Apabila timbangan terkena cahaya matahari langsung, maka panas dari matahari tersebut dapat membuat proses penimbangan akan terganggu karena proses pemuaihan material logam pada alas timbangan akan sedikit banyaknya akan memerikan bias terhadap hasil penimbangan. Kemudian,



- apabila timbangan berada di jalur hembusan AC, maka pembacaan nilai hasil timbangan pada layar alat akan susah untuk mendapatkan nilai yang stabil.
- Selain perhatian terhadap alat timbangan yang digunakan, kemampuan desikator dalam proses pendinginan sebelum proses penimbangan juga perlu diperhatikan untuk kelancaran proses analisis proksimat kadar air dengan cara pengeringan ini. Desikator digunakan untuk proses pendinginan cawan kosong atau cawan yang berisi bahan uji yang sudah dikeringkan dengan proses pemanasan, dimana hal utama yang bekerja pada suatu desikator tersebut adalah bahan silika gel yang terdapat di dalamnya yang berfungsi menyerap uap panas pada cawan kosong atau cawan yang berisi bahan uji yang sudah dikeringkan dengan proses pemanasan. Berdasarkan fakta di laboratorium pendidikan, umumnya mahasiswa tidak terlalu memperdulikan keberadaan silika gel tersebut, yang penting apabila suatu desikator sudah memiliki silika gel berarti sudah bisa dipakai untuk kegiatan analisis. Pemahaman seperti ini tidak lah sepenuhnya benar, karena silika gel yang digunakan suatu saat akan sampai ke fase jenuh sehingga bahan tersebut tidak lagi mampu menyerap uap air lagi, sehingga proses pendinginan tidak sempurna atau akan berlangsung lama. Apabila proses penimbangan dilakukan dalam kondisi cawan belum mencapai suhu kamar atau proses pendinginannya belum cukup, maka data hasil penimbangan yang didapat tidak akan akurat yang akhirnya akan mempengaruhi hasil uji yang didapat. Untuk itu, kondisi silika gel yang ada di dalam desikator harus diperhatikan kondisinya. Silika gel yang umum digunakan sudah memiliki indikator yang dapat menginformasikan kandungan air di dalam silika gel tersebut. Perubahan warna dari biru dari silika gel dari warna biru menjadi merah muda menandakan silika gel telah dalam posisi yang jenuh akan kandungan air. Untuk itu silika gel perlu di "recovery" atau diganti. Jadi, untuk teknisnya perhatikanlah warna silika gel pada desikator, apabila masih biru atau belum terlalu merah muda, desikator masih layak untuk digunakan.

### **Teknik analisis kadar air dengan titrasi (reaksi kimia).**

Penggunaan teknik titrasi (reaksi kimia) merupakan teknik yang sangat dianjurkan untuk mengetahui kadar air di dalam bahan pangan yang mengandung kadar gula dan atau protein dan atau minyak yang tinggi.

Teknik analisis kadar air dengan cara titrasi merupakan teknik analisis kadar air dengan metode reaksi titrasi volumetri. Teknik ini sama sekali tidak menggunakan proses panas sedikitpun. Teknik ini dikenal dengan teknik analisis "karl Fisher" dimana teknik ini mengacu terhadap reaksi kimia oleh Bunsen pada 1853. Secara umum prinsip reaksinya adalah terjadinya proses reaksi kimia dalam suatu sistem campuran yang hanya dapat terjadi dengan adanya air, dimana air yang ada di dalam sistem campuran tersebut

berasal dari bahan yang diuji. Secara khusus reaksi kimia yang terjadi dapat digambarkan dengan terjadinya reaksi reduksi senyawa  $I_2$  oleh  $SO_2$  dengan adanya air yang terdapat di dalam bahan uji. Reaksi tersebut terjadi dengan adanya sistem campuran lain yang terdiri dari senyawa piridin dan metanol. Teknik analisis kadar air dengan cara titrasi ini merupakan salah satu teknik analisis kadar air secara tidak langsung. Secara awam prinsip reaksi dari titrasi ini cukup kompleks sehingga dibutuhkan penjelasan khusus secara terpisah untuk dapat menjelaskan teknik analisis ini secara lebih jelas lagi.

Secara penerapannya di lapangan atau di laboratorium, teknik ini memerlukan biaya analisis yang cukup mahal dari bahan kimia dan peralatan yang digunakan. Akan tetapi penggunaan teknik analisis dengan cara titrasi “karl Fisher” dapat memberikan hasil yang lebih akurat untuk bahan uji yang memiliki kandungan air yang kecil dengan faktor pengganggu gula, protein dan atau lemak yang tinggi maka “karl Fisher” ini menjadi populer dan menjadi sangat umum digunakan di industri pangan dan bahkan di beberapa instansi pendidikan yang sudah “establish”. Salah satu contoh penerapan analisis kadar air dengan metoda “karl Fisher” ini adalah analisis kandungan air di dalam suatu produk minyak goreng.

### **Teknik analisis kadar air dengan destilasi**

Penentuan kadar air dengan cara destilasi merupakan cara analisis kadar air dengan prinsip pengukuran langsung. Analisis dengan teknik ini lebih diutamakan untuk bahan uji yang mengandung lemak dan komponen-komponen lain yang mudah menguap selain air. Prinsip analisis dengan teknik ini adalah proses destilasi bahan uji yang dilakukan dengan menggunakan pelarut yang bersifat *immiscible* dengan air (pelarut yang tidak dapat bercampur dengan air). Penentuan kadar air dengan teknik destilasi memiliki prinsip yang berbeda dengan teknik pengeringan, karena pada teknik ini kadar air di dalam bahan uji diketahui dari volume air yang di dapatkan dari proses desitilasi bukan dari proses kehilangan air yang terdapat di dalam bahan uji.

Untuk dapat melakukan analisis kadar air dengan teknik destilasi ini, biasanya digunakan pelarut yang tertentu. Umumnya pelarut yang digunakan adalah pelarut organik seperti toluene, senyawa-senyawa xilen dan senyawa-senyawa benzen. Selama proses destilasi, pelarut tersebut bersama air dalam bahan akan menguap pada suhu lebih rendah dari suhu didih air. Uap yang terbentuk mengalami kondensasi yang ditampung dalam labu penampung destilat. Dalam labu penampung destilat, pelarut dan air terpisah sesuai berat jenisnya. Bila berat jenis pelarut yang digunakan lebih ringan dari berat jenis air maka air akan berada di bagian bawah labu dan sebaliknya air berada di bagian atas labu. Bila air berada di bagian bawah labu maka akan memudahkan pembacaan satu meniskus dan lebih akurat. Tetapi bila air berada di bagian atas labu destilat maka akan lebih sulit dalam pembacaan dua meniskus pada labu dan mengurangi ketelitian data.

Perlu juga diketahui, penggunaan pelarut pada teknik destilasi ini, akan mempengaruhi suhu penguapan dari campuran bahan uji dan pelarut. Sebagai contoh pada penggunaan pelarut toluene dengan perbandingan 20 : 80 untuk air dan toluene maka, air dan pelarut akan menguap pada suhu 85 °C. Sehingga proses pemanasan selama proses destilasi tidak perlu menggunakan suhu sampai 100 °C yang akan berpengaruh terhadap proses reaksi kimia yang mungkin terjadi pada suhu yang tinggi seperti yang terjadi pada teknik pengeringan.

Tidak banyak informasi yang bisa disampaikan mengenai kendala yang bisa terjadi ketika melakukan analisis dengan teknik destilasi ini. Karena bahan uji yang berkarakter khusus, teknik analisis kadar dengan cara destilasi ini akan memberikan deviasi nilai hasil uji dari nilai yang sebenarnya apabila ada zat yang bersifat tidak bisa dipisahkan dengan air. Kotornya peralatan destilasi juga menjadi sumber kesalahan utama dalam analisis dengan teknik ini. Penggunaan peralatan gelas, seperti alat destilasi yang bahan uji nya mengandung bahan lemak, tahap penghilangan sisa lemak bahan uji setelah pengujian selesai menjadi hal yang perlu diperhatikan. Adanya sisa lemak pada alat destilasi akan mempengaruhi aliran kondensat yang dihasilkan ketika proses destilasi.

### **Teknik analisis kadar air lainnya**

Selain teknik pengeringan, titrasi dan destilasi, kadar air di dalam suatu bahan uji juga dapat diperkirakan atau dihitung dengan menggunakan teknik berdasarkan sifat fisika dari air tersebut. Beberapa teknik analisis kadar air berdasarkan sifat fisika air adalah metode dielektrik didasarkan pada sifat listrik air, metode hidrometri didasarkan pada hubungan antara berat jenis dan kadar air dan metode indeks bias didasarkan pada bagaimana air dalam sampel memengaruhi refraksi cahaya. Metode-metode tersebut sangat cocok untuk bahan uji yang berbentuk cair dan dengan jumlah yang terbatas. Selain itu ada juga metode lainnya seperti metode *Near Infra Red* yang didasarkan dengan pengukuran serapan pada gelombang dari getaran molekul air pada karakteristik panjang gelombang *Near Infra Red* .

Walaupun metode-metode yang berdasarkan sifat fisika dari air ini sangat mudah untuk dilakukan, akan tetapi metode-metode tersebut memiliki keterbatasan akan keakuratan hasil uji yang didapatkan. Hasil uji yang didapat sering kali menghasilkan korelasi yang kurang empiris antara hasil uji yang didapat dari pengujian dengan nilai teoritis air yang ada di dalam bahan uji.



# Bab 3

## Analisis Proksimat Protein

### **Pendahuluan**

---

Protein adalah komponen kimia yang keberadaannya melimpah di semua sel makhluk hidup baik hewani maupun tubuhan. Protein memiliki peranan yang penting dalam fungsi biologis dan pembentuk stuktur sel bagi makhluk hidup. Di dalam proses pengolahan bahan pangan protein akan ada pada bahan baku dan produk olahan pangan yang dihasilkan. Protein yang ada di bahan pangan memiliki karakteristik yang sangat kompleks. Secara garis besar, protein terdiri dari gabungan asam-asam amino yang dihubungkan dengan ikatan peptida. Asam-asam amino tersebut tersusun dari unsur-unsur termasuk hidrogen, karbon, nitrogen, oksigen, dan belerang dimana unsur nitrogen unsur yang menjadi unsur pengenal dari senyawa protein.

Analisis protein merupakan salah satu analisis proksimat yang dapat menentukan karakteristik suatu bahan pangan. Informasi tentang kadar protein di dalam suatu

produk pangan baik bahan baku maupun produk olahan jadi akan dapat mempengaruhi informasi nilai gizi dari bahan pangan tersebut. Selain itu, informasi tentang kadar protein, juga akan dapat mempengaruhi harga dari bahan tersebut dimana banyak produk olahan pangan yang menonjolkan sisi fungsionalitas dari komponen protein yang dikandungnya.

Analisis kadar protein memiliki tingkat kerumitan tersendiri, karena protein tidak bisa dianalisis secara langsung. Banyak teknik analisis yang sudah dikembangkan dan digunakan oleh para peneliti dalam menghitung kadar protein di dalam suatu bahan pangan. Teknik analisis yang umum antara lain berdasarkan penentuan kadar protein berdasarkan jumlah nitrogen total, ikatan peptida, asam amino penyusun aromatik, kapasitas protein dalam mengikat zat warna dan serapan terhadap sinar UV.

Analisis proksimat untuk protein yang paling banyak dikenal oleh masyarakat laboratorium adalah analisis yang mengacu terhadap penentuan kadar protein berdasarkan jumlah nitrogen total. Analisis kadar protein dengan teknik ini merupakan salah satu teknik analisis yang cukup rumit dimana banyaknya senyawa atau komponen yang ada di dalam bahan pangan yang memiliki sifat fisikokimia yang serupa dengan protein. Sebagai salah satu contohnya adalah banyaknya bahan yang juga memiliki nitrogen yang tidak berasal dari protein akan tetapi berasal dari asam amino bebas, peptida kecil, asam nukleat, fosfolipid, gula amino, porfirin, dan beberapa komponen minor lainnya seperti vitamin, alkaloid, asam urat, urea, dan amonium ion. Oleh karena itu, pada analisis kadar protein dengan mengukur jumlah total protein di dalam bahan pangan akan memberikan hasil uji terhadap total nitrogen yang tidak hanya berasal dari protein, tetapi juga berasal dari senyawa non protein lainnya walaupun kemungkinannya keberadaan senyawa itu sangat kecil persentasenya.

Bahkan bisa juga nitrogen berasal dari komponen atau senyawa kontaminan yang terdapat di dalam bahan pangan yang mungkin saja secara sengaja atau tidak sengaja ditambahkan ke dalam bahan pangan tersebut. Terjadinya kasus pengoplosan melamin di dalam susu yang pernah terjadi di Indonesia beberapa tahun yang lalu dapat menjadi referensi dari kelemahan pengujian protein dengan teknik pengukuran jumlah total nitrogen yang ada di dalam bahan uji.

## **TEKNIK ANALISIS KADAR PROTEIN**

---

Teknik-teknik analisis kadar protein sangatlah banyak mengacu terhadap prinsip-prinsip pengukuran yang sudah di sampaikan sebelumnya. Beberapa teknik analisis kadar protein yang dikenal dan diterima luas oleh para peneliti antara lain teknik analisis Kjeldahl dan Dumas yang dirilis oleh *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC Internasional). Teknik analisis di atas merupakan teknik analisis kadar protein yang umum digunakan

dalam kegiatan yang bersifat pengujian rutin dan atau bersifat “quality control”. Selain itu, ada juga teknik analisis yang menggunakan pengukuran secara spektrofotometri dengan prinsip penyerapan sinar UV dimana teknik analisis ini hanya umum dilakukan untuk keperluan penelitian.

### **Teknik analisis kadar protein cara Kjeldahl**

Teknik analisis ini dikembangkan oleh Johann Kjeldahl pada tahun 1883. Dalam prosedur *Kjeldahl* ini, protein dan senyawa organik lainnya yang ada di dalam bahan uji akan hidrolisis atau di pecah oleh asam sulfat pekat berlebih dengan adanya katalis tertentu atau dikenal juga dengan proses *digestion*. Jumlah nitrogen total yang terbentuk akibat proses pemecahan ini kemudian terkonversi menjadi amonium sulfat. Kelebihan asam akan dinetralkan dengan larutan alkali (biasanya digunakan larutan NaOH pekat dengan konsentrasi 30% - 50% b/v.) Setelah itu larutan campuran di destilasi dan hasil destilasi yang merupakan gas ammonia dikondensasi dan di tampung dengan asam borat. Ammonium borat yang terbentuk kemudian dititrasi dengan larutan standar asam (biasanya digunakan HCl 0,02 N). Kadar nitrogen di dalam bahan uji akan didapatkan dengan mengkonversi persamaan mol larutan stardar asam yang tertitrasi dengan berat molekul unsur nitrogen. Hasil uji yang didapatkan akan mewakili kandungan protein kasar dari bahan pangan yang diuji karena nitrogen juga akan berasal dari komponen *nonprotein*. Perlu diperhatikan juga bahwa cara *Kjeldahl* ini dapat mengukur nitrogen dari senyawa amonia dan amonium sulfat yang mungkin ada di dalam bahan pelarut kimia yang digunakan, sehingga hasil uji perlu diverifikasi dengan melakukan pengujian terhadap blanko.

Cara Kjeldahl pada umumnya dapat dibedakan atas dua cara, yaitu cara makro dan semimakro. Cara makro Kjeldahl digunakan untuk bahan uji yang berkarakter sukar dihomogenisasi dan tersedia dalam jumlah yang banyak 1-3 g, sedang semimikro Kjeldahl dirancang untuk bahan uji yang memiliki ketersediaan yang sedikit yaitu kurang dari 300 mg dari bahan yang homogen.

Cara Kjeldahl digunakan untuk menganalisis kadar protein kasar dalam bahan pangan secara tidak langsung, karena yang dianalisis dengan cara ini adalah kadar nitrogennya. Diperlukannya penggunaan faktor konversi untuk merubah nilai total protein untuk bisa dihitung menjadi jumlah protein yang terdapat di dalam bahan uji. Atom nitrogen pada gugus amino suatu asam amino adalah karakteristik protein. Rata-rata terdapat sebanyak 16% nitrogen dalam suatu protein. Oleh karena itu, faktor konversi dari kadar nitrogen (hasil penetapan dengan metode Kjeldahl) menjadi protein adalah 6,25 (sebagai hasil bagi 100 dengan 16).

Akan tetapi penggunaan faktor konversi 6,25 tidaklah bisa digunakan untuk semua bahan uji, karena bervariasinya kadar nitrogen di dalam protein suatu bahan pangan,

Kadar nitrogen dalam bahan pangan bervariasi antara 15 – 18%, tergantung dari jumlah asam-asam amino protein yang dikandungnya, serta senyawa-senyawa nitrogen lain, seperti purin, pirimidin, asam amino bebas, vitamin, kreatin, kreatinin, dan gula-gula amino. Untuk itu, apabila para peneliti akan melakukan analisis kadar protein dengan cara kjeldahl ini pengetahuan tentang jenis bahan dan faktor konversi dari nilai total nitrogen menjadi nilai protein kasar yang ada di dalam bahan uji sangat perlu diketahui.

Pada Tabel 1 dapat dilihat faktor-faktor konversi yang digunakan untuk menghitung kadar protein beberapa macam bahan pangan. Untuk bahan yang tidak terdapat di dalam tabel 1, faktor konversi yang digunakan adalah 6,25.

Jenis bahan pangan	Faktor konversi
Gandum (utuh)	5,83
Terigu	5,70
Makaroni, spaghetti	5,70
Beras (semua varietas)	5,95
Rye, barley, dan oats	5,83
Kacang tanah	5,46
Kacang kedela	5,71
Kelapa	5,30
Wijen, biji bunga matahari	5,30
Susu (dari semua spesies) dan keju	6,38

Cara kjeldahl merupakan teknik analisis kadar protein yang sangat terkenal bagi para peneliti untuk mengetahui perkiraan kandungan protein di dalam suatu bahan uji. Adapun kelebihan dan kekurangan dari cara kjeldahl ini antara lain:

*Kelebihan:*

1. Dapat digunakan untuk analisis proksimat protein hampir untuk semua jenis bahan pangan, baik bahan baku maupun produk olahan.
2. Biaya operasional pengujian baik dari biaya peralatan maupun bahan kimia relatif murah apabila menggunakan sistem non otomatis atau konvensional. Apabila analisis sudah menggunakan sistem peralatan yang sudah otomatis, biaya penyediaan peralatan sudah termasuk kategori mahal

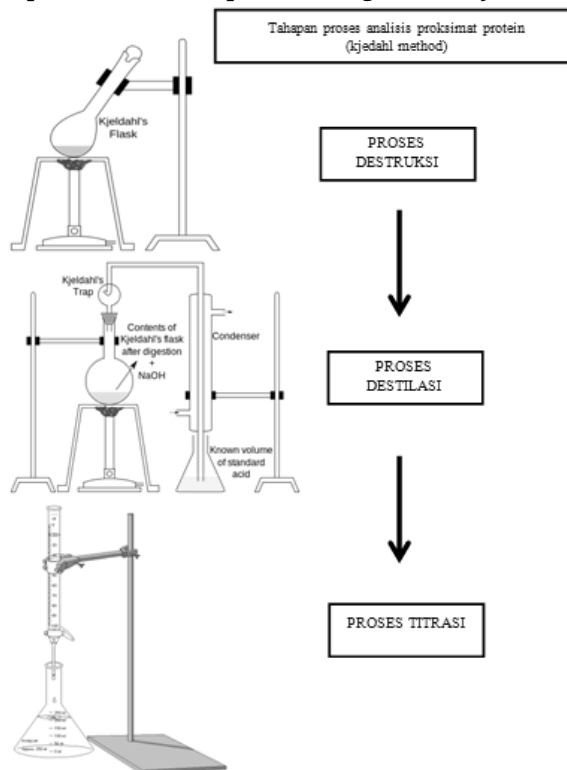


3. Hasil uji yang didapatkan dari cara kjeldahl ini sudah divalidasi keakuratannya sebagai indikator perkiraan kadar protein kasar yang ada di dalam suatu bahan uji.
4. Cara ini sudah sering dimodifikasi sehingga variasi bahan uji yang bisa di analisis dengan cara ini sangat luas bisa sampai untuk ukuran jumlah protein mikrogram (mikro kjeldahl)

*Kekurangan:*

1. Hanya mengukur total nitrogen organik, bukan hanya protein nitrogen, sehingga hasil akhir hanya bersifat kasar.
2. Waktu analisis yang cukup lama karena ada tiga tahap analisis yang harus dilakukan yaitu *digestion* atau destruksi (pemecahan), destilasi dan titrasi. Setidaknya memakan waktu 2 jam untuk menyelesaikan satu kali analisis.
3. Analisis dengan cara kjeldahl sampai saat ini masih menggunakan bahan-bahan kimia yang bersifat korosif, sehingga pengetahuan akan keselamatan kerja di laboratorium mutlak diketahui sebelum melakukan analisis dengan cara ini.

Skema kerja analisis proksimat kadar protein dengan cara kjeldahl



Sumber: [https://en.wikipedia.org/wiki/Kjeldahl\\_method](https://en.wikipedia.org/wiki/Kjeldahl_method) dan [https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Titration\\_Apparatus.png](https://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Titration_Apparatus.png)

Berkas: Titration\_Apparatus.png

## **Hal-hal umum yang menjadi sumber kesalahan lainnya dalam analisis proksimat kadar protein dengan cara Kjeldahl**

Selain memperhatikan teknik kerja dalam melakukan analisis proksimat kadar protein dengan cara kjeldahl sesuai dengan informasi yang telah disampaikan sebelumnya, ada beberapa hal teknis sederhana lainnya yang sering terjadi dikalangan mahasiswa dan dapat mempengaruhi hasil uji yang dilakukan. Analisis proksimat kadar protein dengan cara kjeldahl merupakan cara analisis untuk mengetahui kandungan protein di dalam suatu bahan uji yang sangat populer dan mudah untuk dilakukan. Akan tetapi, di dalam pelaksanaannya ada beberapa hal yang sering luput dari perhatian para mahasiswa atau peneliti pemula sehingga hasil data uji yang dihasilkan menjadi diragukan.

### 1. Penggunaan spesifikasi bahan kimia yang tidak sesuai.

Analisi proksimat kadar protein dengan cara kjeldahl ini memiliki tiga tahapan, dimana setiap tahap akan menggunakan bahan kimia yang berbeda-beda dengan tujuan yang berbeda-beda pula. Pada tahap proses destruksi akan terjadi proses pemutusan molekul protein oleh asam sulfat pekat dengan bantuan katalis (selenium mix) dan pemanasan sehingga dapat membentuk ammonium sulfat. Penambahan basa (natrium hidroksida) akan merubah ammonium sulfat menjadi ammonium hidroksida. Pada proses destilasi akan terpisahkan gas ammonia dari senyawa ammonium hidroksida. Gas ammonia di destilasi dengan perangkat destilasi kjeldahl. Gas ammonia akan ditangkap oleh larutan asam borat menghasilkan ammonium borat. Dan pada proses titrasi, ammonium borat yang terbentuk akan dititrasi dengan asam klorida.

Penggunaan bahan kimia pada analisis ini haruslah memenuhi spesifikasi yang sudah ditentukan. Di laboratorium sering kali ditemukan penggunaan bahan yang tidak sesuai spesifikasinya. Penggunaan bahan kimia yang berspesifikasi teknis atau kemurnian rendah sangatlah tidak dibolehkan. Penggunaan bahan kimia teknis tidak dapat melakukan fungsi yang diharapkan pada setiap tahapan dalam analisis proksimat kadar protein cara kjeldahl. Sebagai contoh: pada tahapan destruksi, protein di dalam bahan akan di pecah oleh asam sulfat pekat dengan bantuan katalis dan panas. Penggunaan asam sulfat dengan kemurnian tinggi sangat dibutuhkan pada tahapan ini. Penggunaan asam sulfat dengan konsentrasi rendah atau dengan spesifikasi teknis tidak akan mampu memecah protein yang ada di dalam bahan uji. Apabila analisis tetap dilakukan dengan penggunaan asam sulfat yang berspesifikasi teknis maka akan di dapatkan hasil uji yang rendah karena tidak semua protein dipecah sehingga melepaskan ammonia yang kemudian akan berikatan dengan kelebihan asam sulfat membentuk ammonium sulfat. Pada penggunaan basa (natrium hidroksida), apabila spesifikasi bahan yang digunakan memiliki kemurnian yang rendah atau teknis, pembentukan ammonium hidroksida

juga tidak akan sempurna. Konsentrasi natrium hidroksida yang digunakan haruslah dengan konsentrasi yang tinggi karena natrium hidroksida sebelum membentuk ammonium hidroksida, dia harus menetralkan dulu kelebihan asam sulfat yang ada. Kalau asam sulfat tidak bisa dinetralkan maka proses pembentukan ammonium hidroksida sangat kecil untuk dapat terjadi. Diantara semua bahan kimia yang digunakan pada saat analisis proksimat kadar protein, penggunaan asam sulfat dan natrium hidroksida yang bersifat teknislah yang sering di abaikan oleh para mahasiswa karena ketersediannya yang mudah untuk di dapat.

2. Selain penggunaan bahan kimia yang sesuai dengan spesifikasi yang dibutuhkan, ada hal lain yang juga sering diabaikan oleh para mahasiswa atau peneliti pemula ketika melakukan analisis proksimat kadar protein dengan cara kjeldahl ini. Proses standarisasi dari asam klorida yang digunakan untuk proses titrasi sering kali tidak dianggap penting dilakukan oleh para mahasiswa. Biasanya konsentrasi asam klorida yang digunakan disesuaikan saja sesuai dengan perhitungan yang dilakukan ketika membuat asam klorida yang dibutuhkan untuk proses titrasi tersebut dimana biasanya konsentrasi asam klorida dibuat dengan konsentrasi 0,02 N. Proses standarisasi sama klorida sangatlah wajib untuk dilakukan karena akan berpengaruh sekali terhadap hasil uji yang akan di dapat. Kesadaran untuk melakukan proses standarisasi ini akan menambah ketelitian dan kevalidan data analisis yang dihasilkan.
3. Terjadinya kebocoran pada rangkaian alat destilasi. Proses destilasi juga merupakan proses yang penting untuk diperhatikan selama kegiatan analisis proksimat kadar protein. Ada berbagai macam bentuk alat destilasi yang ada di pasaran dengan prinsip kjeldahl ini baik yang bersifat konvensional maupun yang sudah berkategori modern atau instrumentasi. Akan tetapi tetap saja pada pelaksanaannya, proses destilasi memerlukan suatu rangkaian alat gelas yang harus dirangkai sebelum proses dimulai dan dibongkar setelah proses destilasi selesai. Proses perangkaian yang tidak baik atau dilakukan dengan tergesa-gesa akan dapat mengakibatkan terjadinya kebocoran ketika proses destilasi dilakukan. Destilasi bertujuan untuk memisahkan gas ammonia dari senyawa ammonium hidroksida yang terbentuk pada tahapan destruksi, apabila terjadi kebocoran maka gas ammonia yang tertampung pada larutan penampung akan menjadi kecil sehingga hasil uji akhir yang didapatkan nantinya juga akan terpengaruh dimana hasil uji didapat lebih kecil dari hasil yang seharusnya.
4. Tidak dilakukannya perlakuan blanko  
Perlakuan blanko juga menjadi salah satu hal yang sering diabaikan oleh para mahasiswa ketika melaksanakan analisis proksimat kadar protein dengan cara kjeldahl ini. Analisis protein dengan cara kjeldahl merupakan pengukuran

kandungan protein yang ada di dalam suatu bahan uji dengan cara melihat dari banyaknya unsur nitrogen yang membentuk ammonia, dimana di asumsikan sumber nitrogen akan berasal dari senyawa protein. Adanya sumber dari unsur nitrogen lainnya yang berasal dari bahan kimia, pelarut harus diperhitungkan. Untuk itu perlu dilakukannya analisis terhadap perlakuan blanko untuk memastikan ada atau tidaknya sumber unsur nitrogen yang berasal dari bahan kimia atau pelarut. Di laboratorium, biasanya para mahasiswa malas untuk melakukan perlakuan blanko ini dan hanya menganggap bahwa tidak ada sumber unsur nitrogen dari bahan kimia atau pelarut yang digunakan. Perlakuan blanko dapat dilakukan dengan melakukan proses destruksi tanpa adanya bahan uji, hanya bahan kimia asam sulfat dan penggunaan katalis saja. Selanjutnya proses destilasi dan titrasi juga dilakukan sebagaimana umumnya analisis proksimat kadar protein dengan cara kjeldahl.

### **Teknik analisis kadar protein cara Dumas**

Teknik analisis dengan cara Dumas ini masih menggunakan prinsip pengukuran jumlah nitrogen sebagai indikator jumlah protein di dalam suatu bahan uji. Akan tetapi cara Dumas ini memiliki kelebihan yang sangat signifikan dibandingkan dengan cara kjeldahl dari sisi waktu analisis. Cara Dumas menyediakan waktu analisis yang jauh sangat singkat apabila dibandingkan dengan cara kjeldahl.

Teknik analisis dengan cara Dumas ini menggunakan metode pembakaran diperkenalkan oleh Jean-Baptiste Dumas pada tahun 1831. Secara garis besar prinsip analisis dengan cara Dumas dapat dijelaskan sebagai berikut: Bahan uji dibakar pada suhu tinggi (700-1000 °C) dengan aliran oksigen murni. Semua zat organik di dalam bahan uji akan melepaskan unsur karbonnya dikonversi menjadi karbon dioksida. Begitu juga dengan unsur nitrogen yang ada di dalam bahan uji juga akan terkonversi menjadi nitrogen oksida. Nitrogen oksida yang terbentuk kemudian akan direduksi menjadi nitrogen dalam kolom tembaga pereduksi pada suhu tinggi (600 °C). Nitrogen total yang terbentuk (termasuk yang berasal senyawa anorganik termasuk nitrat dan nitrit) akan diinjeksikan kedalam suatu sistem kromatografi gas yang menggunakan detektor thermal konduktivitas (Thermal Conductivity Detector). Keberadaan unsur nitrogen akan dapat dihitung secara kuantitatif dengan menggunakan suatu standar nitrogen murni untuk kalibrasi penganalisa nitrogen. Acetanilide dan EDTA (ethylenediamine tetraacetate) dengan kemurnian yang sangat tinggi menjadi standar kalibrasi yang digunakan pada cara Dumas ini. Pada akhirnya, nitrogen yang ditentukan dari pengukuran kromatografi gas dikonversi menjadi kandungan protein dalam bahan uji menggunakan faktor konversi protein.

Cara Dumas ini tidak begitu populer di laboratorium pendidikan, akan tetapi sangat banyak digunakan di industri karena kecepatan waktu analisis dan keakuratan data hasil uji yang dihasilkan. Adapun kelebihan dan kekurangan dari cara kjeldahl ini antara lain:

1. Sama dengan cara kjeldahl, cara Dumas ini juga dapat digunakan untuk analisis proksimat protein hampir untuk semua jenis bahan pangan, baik bahan baku maupun produk olahan.
2. Waktu analisis yang sangat singkat, dimana rata-rata satu kali pengujian akan selesai dalam waktu 3 menit.
3. Tidak digunakannya bahan-bahan kimia berbahaya ketika melakukan analisis dengan cara ini.
4. Secara umum, cara Dumas ini sudah menggunakan alat yang modern dengan sistem otomatisasi, dimana tidak hanya waktu pengujian bahan saja yang singkat, analisis dengan cara ini juga bisa dilakukan untuk jumlah bahan uji yang banyak (sampai 150 bahan) dalam satu kali waktu analisis.

*Kekurangan:*

1. Biaya operasional analisis yang sangat mahal terutama biaya pengadaan peralatannya, oleh karena itu hanya kalangan industri saja yang dapat menggunakan cara ini, khususnya di Indonesia.
2. Cara Dumas ini juga mengukur total nitrogen yang ada di dalam bahan uji. Sedikit berbeda dengan cara kjeldahl yang hanya mengukur total nitrogen yang bersifat organik, cara Dumas ini dapat mendeteksi total nitrogen yang bersifat anorganik juga seperti nitrogen dari senyawa nitrat dan atau nitrit. Hasil akhir yang didapatkan dengan cara Dumas memiliki trend yang lebih besar dari pada cara kjeldahl untuk bahan uji yang memiliki kadar nitrogen anorganik yang tinggi.

### **Perbandingan cara Kjeldahl dan Dumas**

Seperti yang sudah diinformasikan sebelumnya, walaupun cara Dumas memiliki keluaran data uji yang sama dengan kjeldahl dan memiliki waktu analisis yang singkat. Cara Kjeldahl tidaklah bisa tergantikan oleh cara Dumas seluruhnya. Dalam praktek di laboratorium untuk bahan uji yang mengandung kadar lemak tinggi, cara Kjeldahl masih lebih direkomendasikan dari pada cara Dumas. Tingginya lemak di dalam bahan uji akan dapat mengganggu proses pembakaran pada cara Dumas, sehingga hasil uji bisa saja menjadi tidak akurat.

### **Teknik analisis kadar protein lainnya.**

Banyak teknik analisis protein lainnya yang sudah dikenalkan kepada para peneliti dalam analisis bahan pangan. Berbeda dengan cara kjeldahl dan Dumas yang mengukur kadar protein dari jumlah nitrogen yang didapat, teknik analisis yang lain mengukur kandungan protein berdasarkan karakter atau sifat khusus dari senyawa protein itu sendiri. Sebagai contoh, penggunaan instrumentasi spektrofotometer dengan metode biuret yang mengukur protein berdasarkan sifat ikatan peptida dalam suatu protein, dan metode Lowry yang mengukur karakter kombinasi ikatan peptida dan asam amino triptofan dan tirosin. Sementara itu penggunaan spektroskopi inframerah adalah metode tidak langsung untuk memperkirakan kandungan protein, berdasarkan energi yang diserap oleh ikatan peptida yang ada di dalam bahan uji. Dari beberapa teknik analisis yang disebutkan di atas, cara lowry memiliki sensitivitas yang lebih tinggi dari pada teknik analisis lainnya.

Penggunaan instrumentasi spektrofotometer dalam analisis protein cara biuret dan lowry, penggunaan zat protein standar sangat diperlukan. Pengetahuan yang baik tentang sifat dan karakter dari protein standar yang digunakan, dimana harus diasumsikan memiliki sifat dan karakter yang sama dengan protein yang ada di dalam bahan uji harus menjadi perhatian bagi peneliti yang mau menggunakan cara-cara ini.

# Bab 4

## Analisis Proksimat Lemak

### **Pendahuluan**

---

Dalam analisis proksimat bahan pangan, salah satu analisisnya adalah analisis kadar lemak. Lemak itu sendiri merupakan bagian dari makronutrien “Lipid”. Sampai saat ini memang belum terlalu jelas perbedaan definisi antara lemak dan lipid dalam komposisi bahan hasil pertanian atau pangan. Analisis proksimat lemak didefinisikan sebagai analisis jumlah komponen yang ada di dalam suatu bahan uji yang sifatnya larut di dalam pelarut organik (seperti hexane, kloroform, eter, petroleum eter, petroleum benzen dll) dan tidak larut di dalam pelarut air. Jadi pada analisis kadar lemak, semua senyawa yang larut di dalam pelarut organik akan dianggap sebagai senyawa lemak.

Tabel 2 memperlihatkan variasi lipid yang umum ada dalam suatu bahan pangan.

No	Jenis Lipid
1	Tri asilgliserol
2	Di asilgliserol
3	Mono asilgliserol
4	Phospolipids
5	Sterol
6	Squalen
7	Asam lemak bebas
8	Lilin
9	Vitamin A
10	Karotenoid
11	Vitamin D
12	Vitamin E
13	Vitamin K

Berdasarkan pengertian analisis proksimat yang sudah diinformasikan sebelumnya bahwa analisis proksimat lemak tidak dapat membedakan antara masing-masing spesies lipid yang ada. Semua spesies lipid akan dihitung sebagai kandungan lemak total yang merupakan hasil akhir dari analisis proksimat lemak.

Sesuai definisi dari analisis proksimat lipid yang hanya menghitung banyaknya komponen di dalam suatu bahan uji yang sifatnya larut di dalam pelarut organik, maka faktor ketidaklarutan suatu komponen lemak terhadap air menjadi kunci penting dari analisis proksimat lemak ini. Di dalam suatu bahan pangan, ada terdapat berbagai jenis lipid dengan berbagai jenis kepolaran, akan tetapi ketika melakukan analisis proksimat lemak, semua jenis lipid akan dianggap sebagai lemak dan harus dapat diambil/diekstrak dari bahan uji hanya dengan satu jenis pelarut. Sebagian lipid juga terdapat di dalam bahan pangan dalam bentuk senyawa kompleks lipid dengan protein (lypoprotein) dan atau lipid dengan karbohidrat (lyposakarida). Untuk itu pemutusan ikatan antara lipid dan protein atau karbohidrat penting untuk diperhatikan dalam melakukan analisis proksimat lemak untuk mendapatkan hasil uji yang betul-betul menginformasikan kandungan lemak total di dalam bahan uji.



## TEKNIK ANALISIS KADAR LEMAK

Dalam melakukan analisis proksimat kadar lemak, ada beberapa hal yang sebaiknya diperhatikan. Antara lain perlakuan terhadap bahan uji dan pemilihan jenis pelarut yang akan digunakan untuk mengekstrak komponen lemak di dalam bahan uji.

### **Perlakuan pendahuluan terhadap bahan uji sebelum analisis kadar lemak.**

Akurat atau tidaknya suatu hasil analisis kadar lemak akan sangat ditentukan oleh perlakuan awal terhadap bahan uji yang akan di uji. Untuk analisis kadar lemak di dalam suatu bahan pangan, teknik perlakuan awal atau preparasi bahan uji pertamanya akan dipengaruhi oleh jenis bahan uji itu sendiri. Untuk bahan uji yang berbentuk cair, teknik preparasi bahan uji dan analisis kadar lemaknya akan berbeda dengan bahan uji yang berbentuk padat. Pengerjaan analisis kadar lemak di dalam pengujian bahan pangan didominasi untuk bahan uji yang berbentuk padat, hanya bahan-bahan tertentu yang memiliki bentuk dasar cair. Bahan pangan yang berbahan cair umumnya didominasi oleh susu. Ada perbedaan yang sangat mendasar untuk teknik analisis kadar lemak untuk bahan yang berbentuk cair dengan bahan yang berbentuk padat. Pada buku ini, pembahasan akan difokuskan terhadap hal-hal kunci yang perlu diperhatikan untuk mendapatkan hasil yang akurat dan dapat dipercaya dari analisis proksimat kadar lemak untuk bahan pangan yang berbentuk padat. Metoda analisis lemak yang umum digunakan untuk bahan uji yang berbentuk pada dikenal uji dengan nama ekstraksi soklet, dimana lemak yang ada didalam bahan uji akan di ekstrak dengan pelarut organik tertentu dengan menggunakan alat soklet.

Secara umum, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam rangka preparasi bahan uji untuk analisis kadar lemak dari suatu bahan pangan dengan cara soklet. Hal-hal tersebut antar lain: penghilangan kandungan air, pengecilan ukuran partikel bahan uji, pemisahan lipid (lemak) dari ikatan kompleks dengan senyawa protein dan karbohidrat dan pemilihan pelarut organik.

1. Penghilangan air dengan pengeringan awal terhadap bahan uji.

Lemak yang ada di dalam bahan uji akan diekstrak dengan pelarut organik seperti hexane atau petroleum eter, dimana proses ekstraksi dari komponen lemak di dalam bahan uji tersebut tidak akan berlangsung efektif apabila kandungan air di dalam bahan uji cukup tinggi. Pelarut organik yang berfungsi mengekstrak komponen lemak memiliki sifat kepolaran yang sangat berbeda dengan air, sehingga pelarut organik dan air akan saling tidak melarutkan atau tolak-menolak. Apabila jumlah air banyak didalam bahan uji maka pelarut organik tidak akan bisa meresap ke dalam pori-pori bahan uji karena kehadiran pelarut organik akan di tolak oleh air. Tidak dapat masuknya pelarut organik kedalam bahan uji akan mengurangi

efektifitas dari proses ekstraksi yang terjadi, sehingga tidak semua lemak di dalam bahan uji akan terekstrak yang pada akhirnya akan membuat hasil akhir uji tidak mengindikasikan kandungan lemak yang ada di dalam bahan uji.

Untuk itu proses pengeringan untuk bahan uji yang mengandung kadar air yang cukup tinggi perlu dilakukan sebelum dilakukannya analisis proksimat kadar lemak. Suhu pengeringan menjadi hal yang penting juga untuk diperhatikan, karena suhu yang tidak tepat akan membuat komposisi lemak di dalam bahan dapat mengalami kerusakan. Penggunaan pengeringan suhu rendah ( $\leq 65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), oven vakum atau pengering beku (freeze drying) dapat dipertimbangkan untuk teknik preparasi pengeringan ini.

Proses pengeringan terutama yang dilakukan di suhu yang cukup tinggi, akan dapat mengakibatkan pembentukan ikatan antara lemak (lipid) dengan protein dan karbohidrat. Untuk itu, proses pemecahan atau hidrolisis antara ikatan lemak dengan protein atau karbohidrat juga menjadi faktor penting dalam meningkatkan keakuratan hasil uji analisis proksimat lemak.

## 2. Pengecilan ukuran partikel bahan uji.

Semakin kecil ukuran partikel suatu bahan maka akan semakin luas bidang sentuh atau bidang reaksi dari suatu bahan uji. Dalam analisis kadar proksimat lemak ini, semakin kecil ukuran partikel bahan uji, maka proses penyerapan pelarut organik ke dalam partikel bahan uji akan semakin meningkat. Dengan semakin banyaknya pelarut organik yang akan masuk ke dalam bahan uji akan mengakibatkan semakin banyak komponen lemak yang akan terekstrak. Akan sangat diharapkan semua komponen yang larut di dalam pelarut organik tersebut dapat terekstrak semua sehingga hasil uji yang didapatkan betul-betul mengindikasikan kandungan lemak secara total yang ada di dalam bahan uji.

Proses penggilingan merupakan proses yang umum digunakan untuk memperkecil ukuran suatu bahan uji. Untuk bahan pangan, yang umumnya jarang sekali yang sudah memiliki ukuran partikel yang kecil, proses penggilingan sangat dianjurkan sebelum melakukan pengujian kadar lemak. Apabila bahan uji mengandung kadar air yang tinggi, proses penggilingan dilakukan sesudah bahan uji dikeringkan, karena proses penggilingan akan lebih mudah dilakukan apabila bahan uji sudah berbentuk bahan kering. Untuk analisis yang dilakukan dalam kategori “advance”, dimana mungkin nantinya lemak yang sudah didapat dari proses ekstraksi soklet akan dilakukan analisis lanjutan seperti analisis profil asam lemak, vitamin dll, maka suhu pada saat pengeringan dan saat penggilingan menjadi faktor yang sangat mutlak diperhatikan. Selama proses preparasi bahan

uji, adanya faktor-faktor yang dapat mengakibatkan terjadinya oksidasi komponen lemak seperti panas dan kandungan oksigen yang tinggi perlu diminimalisasi.

3. Hidrolisis asam untuk pemutusan ikatan kompleks komponen lemak (lipid) dengan senyawa protein dan karbohidrat.

Sebagian besar produk bahan pangan terutama produk yang merupakan turunan dari susu, roti, tepung dan produk-produk hewani pasti mengandung komponen lemak berkategori sebagai lypoprotein atau lyposakarida. Analisis kadar lemak untuk bahan uji jenis ini apabila langsung dilakukan dengan pengekstrakan oleh pelarut organik tidaklah akan efisien. Pelarut organik tidak akan dapat mengekstrak komponen lypoprotein dan atau lyposakarida, karena pada senyawa ini fraksi protein atau karbohidrat memiliki sifat dengan kepolaran yang tidak sama dengan pelarut organik. Perbedaan kepolaran ini membuat pelarut organik tidak mampu mengekstrak komponen ini.

Untuk bahan uji yang memiliki ikatan lypoprotein dan lyposakarida ini, harus dilakukan perlakuan hidrolisis asam. Proses hidrolisis asam akan dapat memutus ikatan antara komponen lemak dengan komponen lainnya. Apabila komponen lemak sudah putus dari ikatan senyawa kompleks yang ada dan menjadi lemak bebas, proses ekstraksi dengan pelarut organik akan berlangsung efisien terhadap komponen lemak tersebut. Sehingga hasil akhir uji betul-betul akurat mengindikasikan kandungan total lemak yang ada di dalam bahan uji. Proses hidrolisis yang umum dilakukan adalah dengan merefluks bahan uji di dalam pelarut asam klorida (HCl) dimana konsentrasi yang digunakan biasanya 2-3 N. Proses hidrolisis dapat dilakukan selama paling cepat sekitar 1 jam. Pengaturan suhu hidrolisis juga diperhatikan untuk dapat mempercepat proses hidrolisis tersebut tetapi faktor kerusakan lemak oleh suhu juga diperhatikan. Biasanya suhu yang dipakai adalah 65 °C.

Proses hidrolisis akan dapat meningkatkan keakuratan hasil analisis proksimat lemak bahan pangan. Hal ini dapat dibuktikan dari data yang ditampilkan pada tabel 3. Tabel 3 menunjukkan perbedaan yang signifikan antara hasil uji analisis lemak dari beberapa bahan pangan yang memerlukan proses hidrolisis asam sebelum dilakukannya proses ekstraksi soklet.

Jenis bahan uji	Kadar lemak (%)	
	Tanpa hidrolisis	Dengan hidrolisis
Telur	36,74	42,39
Tepung	1,20	1,73
Mie	2.1-3.91	3.77-4.84

4. Pembuatan timble / tempat bahan uji

Analisis proksimat kadar lemak dengan proses ekstraksi soklet sangatlah umum dilakukan. Analisis soklet merupakan analisis kandungan lemak di dalam suatu bahan uji dimana proses ekstraksi lemak dilakukan dengan pelarutan yang berulang-ulang dengan pelarut yang sesuai. Sampel yang akan diekstraksi ditempatkan dalam suatu timbel yang permeabel terhadap pelarut dan diletakkan di atas tabung destilasi, dididihkan dan dikondensasikan di atas sampel. Kondensat akan jatuh ke dalam timbel dan merendam sampel dan diakumulasi sekeliling timbel. Setelah sampai batas tertentu, pelarut akan kembali masuk ke dalam tabung destilasi secara otomatis. Proses ini berulang terus dengan otomatis di dalam alat terutama dalam peralatan soklet.

Penggunaan timbel pada analisis ini sangatlah penting. Pada prosedur baku, timbel merupakan suatu peralatan yang sudah dibuat khusus untuk analisis proksimat kadar lemak, akan tetapi di dalam kegiatan laboratorium sehari-hari penggunaan timble yang bersifat standar dapat digantikan dengan kertas saring yang dilipat sedemikian rupa membentuk suatu timbel. Timbel yang merupakan wadah bahan uji harusnya memiliki pori permiable sehingga pelarut dapat melewati bahan uji tetapi bahan uji tetap berada di dalam timbel. Pemilihan kertas saring yang cocok sangat diperlukan sebagai bahan yang dimodifikasi menjadi timbel. Kertas saring yang kasar yang tipis dan memiliki pori-pori yang besar tidak dianjurkan untuk dijadikan bahan dasar untuk timbel, karena dikhawatirkan akan mudah robek sehingga bahan uji bisa tumpah di dalam alat soklet. Pemilihan kertas saring yang cukup tebal dan berpori-pori halus dan dengan teknik lipatan yang cukup tebal dapat dipertimbangkan untuk tujuan pembuatan timbel yang baik.

5. Pemilihan pelarut organik

Pemilihan pelarut juga menjadi faktor yang penting diperhatikan dalam melakukan analisis proksimat kadar lemak. Seperti yang sudah diinformasikan sebelumnya bahwa pengendalian suhu sangat perlu dalam melakukan analisis kadar lemak. Suhu yang relative rendah sangat diinginkan ketika proses ekstraksi dilakukan. Pemilihan pelarut organik sebagai larutan pengekstrak selain memiliki karakter sangat melarutkan lemak, memiliki titik didih yang rendah juga menjadi faktor yang diperhatikan.

Pelarut yang direkomendasikan adalah eter dengan titik didih sekitar 34,6 °C. Akan tetapi harga dari pelarut ini cukup mahal. Alternative pelarut yang lain adalah petroleum eter dengan titik didih sekitar 35-38 °C. Untuk aplikasi umum, penggunaan hexane merupakan pelarut yang sangat ekonomis dan banyak digunakan dimana titik didih hexane sekitar 68 °C. Penggunaan suhu yang sekitar

65 °C di duga tidak memberikan pengaruh oksidasi terhadap lemak yang ada di dalam bahan uji.

Seringkali analisis proksimat lemak ini merupakan langkah awal untuk analisis yang lebih spesifik lagi tentang komposisi dari lemak atau minyak yang ada di dalam bahan uji. Salah satu contohnya adalah untuk analisis profil asam lemak. Untuk melakukan analisis profil asam lemak di dalam suatu bahan uji khususnya produk pangan, lemak atau minyak di dalam bahan uji tersebut harus di ambil terlebih dahulu. Proses pengambilan minyak atau lemak ini bisa dilakukan pada saat mengerjakan analisis proksimat kadar lemak, jadi efisiensi dalam bekerja dapat ditingkatkan. Untuk itu, para mahasiswa atau peneliti pemula harus memiliki rencana kerja yang jelas dan terukur ketika akan bekerja dengan analisis proksimat kadar lemak ini.

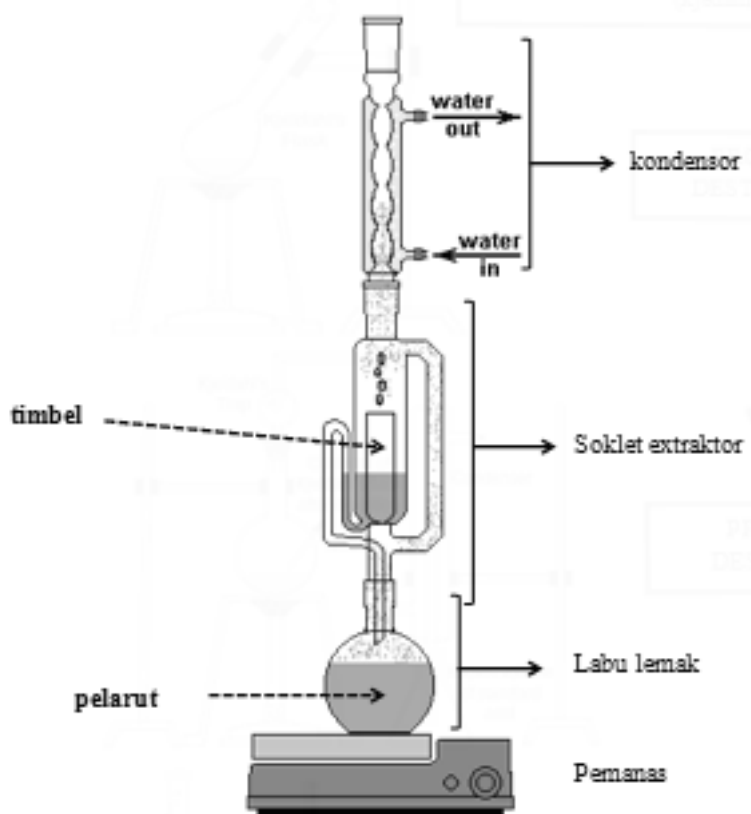
Apabila target analisisnya hanya total lemak tanpa memikirkan analisis lanjutan terhadap profil asam lemak yang ada, maka pemilihan pelarut yang efisien secara ekonomi dengan penggunaan suhu ekstraksi yang relatif cukup tinggi dapat menjadi pilihan, karena pada kondisi seperti ini tidak diperlukan usaha untuk mempertahankan kualitas dari minyak atau lemak yang didapat hasil dari proses ekstraksi soklet yang dilakukan.

Akan tetapi, apabila target analisis juga membutuhkan analisis lanjutan untuk mengidentifikasi komposisi dari penyusun minyak atau lemak yang didapat, maka sedari awal, pemilihan pelarut yang memiliki titik didih yang rendah sangat direkomendasikan. Pemilihan pelarut dengan titik didih rendah diharapkan akan meminimalisir terjadinya proses oksidasi terhadap komponen penyusun dari minyak atau lemak yang di dapat. Tetapi kadang kala, walaupun sudah dipilih pelarut dengan titik didih yang rendah, suhu ekstraksi lupa untuk diatur sesuai dengan karakter pelarut yang dipilih. Suhu ekstraksi masih menggunakan suhu yang umum digunakan atau bahkan tidak diatur sama sekali. Hal ini tentu tidak akan berpengaruh terhadap pemilihan pelarut yang sudah dipertimbangkan sehingga tetap saja akan terjadi oksidasi dari komponen lemak yang didapat. Jadi bagi para mahasiswa, sebaiknya mulailah untuk lebih konsern terhadap suhu selama proses ekstraksi soklet dilakukan. Sesuaikan suhu ekstraksi dengan jenis pelarut yang digunakan.

6. Waktu sirkulasi selama proses ekstraksi soklet  
Seperti yang sudah diinformasikan sebelumnya bahwa analisis proksimat kadar lemak dengan cara soklet merupakan proses ekstraksi yang berkesinambungan terhadap zat yang berkategori lemak yang terdapat di dalam bahan uji dengan suatu pelarut tertentu. Proses ekstraksi lemak dengan pelarut organik dilakukan

secara terus menerus sampai diyakinkan semua lemak yang ada di dalam bahan uji terekstrak semua. Durasi waktu selama proses ekstraksi inilah yang akan menentukan keakuratan hasil uji yang akan didapatkan nantinya. Berdasarkan teori yang ada, proses ekstraksi dilakukan minimal sebanyak 15-16 kali sirkulasi atau dengan estimasi waktu kurang lebih 4 jam. Pada proses ekstraksi soklet ini, sebaiknya bagi para mahasiswa atau peneliti pemula penggunaan waktu yang maksimal sangat dianjurkan. Secara percobaan, telah selesainya proses ekstraksi dapat juga diketahui dengan menguji larutan perarut yang ada di dalam soklet ekstraktor. Apabila pelarut tersebut ketika direaksikan dengan larutan NaOH 0,1 N menghasilkan sabun yang ditandai dengan munculnya busa, berarti proses ekstraksi masih belum selesai dan dilanjutkan. Begitu juga sebaliknya, apabila tidak terbentuk sabun, maka bisa diestimasi proses ekstraksi sudah selesai dimana semua lemak/minyak yang ada di dalam bahan uji sudah terekstrak semua.

Gambar sistem ekstraksi lemak dengan cara soklet



Sumber: [https://en.wikipedia.org/wiki/Soxhlet\\_extractor](https://en.wikipedia.org/wiki/Soxhlet_extractor)

# Bab 5

## Analisis Proksimat Abu

### **Pendahuluan**

---

Sebagian besar bahan pangan mengandung sekitar 96% terdiri dari bahan organik dan air, sedangkan sisanya mengandung unsur mineral. Unsur mineral disebut dengan zat anorganik atau zat abu. Berdasarkan keterangan ini dapat disimpulkan bahwa analisis proksimat kadar abu adalah analisis perkiraan total mineral yang merupakan residu anorganik yang tersisa setelah semua komponen organik di dalam suatu bahan uji pangan dibakar atau dioksidasi secara total. Selain bertujuan untuk melihat perkiraan total mineral yang ada di dalam bahan uji juga sebagai indikator untuk melihat kemurnian atau kebersihan bahan tersebut. Analisis ini menjadi dasar untuk dilakukannya analisis lanjutan dalam penentuan kadar mineral di dalam suatu bahan uji. Apabila kadar abu di dalam suatu bahan uji besar, maka analisis yang lebih spesifik terhadap komposisi suatu mineral tertentu dapat dilakukan.

## TEKNIK ANALISIS KADAR ABU

---

Secara umum analisis kadar abu di bagi atas dua cara yaitu pengabuan basah dan pengabuan kering. Dilihat dari sisi aplikasinya, tujuan dua cara pengabuan ini sangatlah berbeda, sehingga peneliti atau mahasiswa yang ingin melakukan analisis kadar abu harus memahami perbedaan tujuan dari kedua cara di atas.

### 1. *Pengabuan basah*

Pengabuan basah: Pengabuan dengan cara basah ini merupakan cara pengabuan dengan tujuan sebagai perlakuan pendahuluan/preparasi untuk pengujian kandungan logam secara spesifik. Jadi pengabuan basah tidak cocok digunakan untuk analisis proksimat kadar abu.

Pada pengabuan basah ini, semua senyawa organik di dalam bahan uji akan dioksidasi dengan pelarut asam (asam kuat) dimana penggunaan asam kuat sering kali digunakan lebih dari satu jenis asam. Komponen logam atau mineral yang ada di dalam bahan uji akhirnya akan larut dan terionisasi di dalam larutan asam yang kemudian dapat dianalisis jumlah secara spesifik untuk masing-masing unsur logam yang ada. Analisis logam ini sudah tidak bersifat proksimat lagi karena sudah spesifik terhadap logam tertentu seperti magnesium, timbal, besi dan lainnya.

### 2. *Pengabuan Kering*

Pengabuan kering ini merupakan cara pengabuan yang umum dilakukan di laboratorium yang bertujuan untuk melihat total kandungan mineral di dalam bahan uji secara proksimat. Pada cara pengabuan kering ini bahan uji akan dibakar atau di *insinerasi* pada suhu yang tinggi mulai dari 550 °C. Proses pengabuan akan dilakukan di dalam peralatan khusus yang dikenal dengan “furnace atau tanur”. Pada prakteknya, dalam analisis kadar abu bahan pangan, proses pengabuan harus diawali dulu dengan proses pengeringan. Pengeringan dapat dilakukan di atas api terbuka, terutama untuk bahan uji yang mudah berbuih. Perlakuan ini dilakukan sampai seluruh bahan mengering dan tidak mengasap lagi. Setelah perlakuan ini baru bahan dimasukkan ke dalam tanur untuk proses pengabuan. Apabila proses pengeringan ini tidak dilakukan dan bahan uji langsung diabukan di dalam tanur, maka alat tanur akan dapat rusak karena adanya asap dari bahan.

## Kelebihan dan kekurangan pengabuan cara basah dan cara kering

Kedua cara pengabuan ini masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan.

### 1. Pengabuan basah

Cara ini sangat cocok untuk preparasi bahan uji untuk pengukuran kadar spesifik suatu logam di dalam bahan uji. Walaupun cara pengabuan kering juga bisa



dilakukan sebagai cara preparasi untuk pengukuran kadar spesifik logam, tetapi dengan pengabuan cara basah kemungkinan kehilangan logam akibat proses penguapan akan dapat dihindari. Pada pengabuan cara basah, logam akan berada di dalam larutan sejak awal perlakuan. Pada pengabuan kering, Mineral-mineral yang terdapat dalam porsi mikro dapat hilang karena proses penguapan yang terjadi pada suhu pengeringan dan suhu pengabuan sehingga data kuantitatif dari jumlah mineral tersebut akan salah nantinya.

Untuk Pengujian kadar logam, preparasi dengan cara basah ini juga akan mempersingkat waktu analisis, karena cara basah ini memerlukan waktu yang tidak terlalu lama dibandingkan dengan pengabuan cara kering. Pengabuan cara kering yang melewati proses pengeringan dan proses pengabuan umumnya memerlukan waktu pengerjaan sekitar 6-12 jam. Selain itu, biaya operasional pengabuan cara basah juga akan lebih hemat dari pada cara kering karena tidak memerlukan peralatan tanur yang harganya cukup mahal yang memerlukan tenaga listrik dengan watt yang cukup besar.

Cara pengabuan basah ini memiliki kekurangan antara lain tidak cocok apabila peneliti hanya memerlukan data proksimat kadar total abu di dalam bahan uji saja. Selain itu penggunaan bahan-bahan pengoksidasi yang merupakan asam-asam kuat yang bersifat korosif memerlukan peralatan “safety” yang baik dan benar untuk melakukan cara pengabuan basah ini.

## 2. Pengabuan cara kering

Pengabuan cara kering banyak digunakan untuk analisis proksimat kadar abu, karena data hasil uji yang didapatkan merupakan jumlah abu yang dihasilkan setelah pembakaran bahan pada suhu tinggi secara gravimetri. Jumlah abu ini merupakan jumlah proksimat mineral yang ada di dalam bahan uji.

Pengabuan abu cara kering ini memiliki potensi resiko yang kecil dalam pengerjaannya karena tidak menggunakan bahan kimia yang beresiko tinggi seperti korosif dan lain-lain. Akan tetapi pengabuan cara kering ini membutuhkan peralatan yang cukup mahal dan waktu analisis yang cukup lama.

## **Analisis proksimat kadar abu dengan cara pengabuan kering**

Analisis kadar abu dengan cara pengabuan kering sudah sangat umum dilakukan untuk mengetahui jumlah proksimat total mineral yang ada di dalam suatu bahan pangan. Penentuan suhu pengabuan untuk analisis kadar abu bahan pangan sangat perlu diperhatikan. Pemilihan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan akan banyak mikro mineral yang hilang sehingga data hasil uji akan menjadi kecil dari nilai sebenarnya.

Sedangkan apabila suhu pengabuan terlalu rendah, proses pengabuan tidak akan sempurna.

Untuk bahan pangan hewani, pemilihan suhu yang relatif tinggi sangat disarankan karena bahan uji hewani tinggi akan lemak. Akan tetapi, pemilihan suhu yang tinggi harus memperhitungkan jenis cawan pengabuan yang digunakan. Cawan porselen yang umum digunakan memiliki karakter yang tahan sampai suhu 500 °C tetapi mudah pecah apabila suhu pemanasan dinaikan secara cepat dalam proses pengabuan. Cawan porselen sangat umum digunakan karena harga yang relatif murah. Untuk penggunaan suhu pengabuan yang tinggi  $\geq 500$  °C ada beberapa alternatif cawan pengabuan yang bisa digunakan. 1) Cawan abu dari bahan baja (Steel crucibles). Cawan ini memiliki ketahanan terhadap panas yang tinggi, akan tetapi karena cawan ini terbuat dari campuran krom dan nikel, potensi kontaminasi dari terbawanya kedua logam ini sangat mungkin terjadi. 2) Cawan abu dari bahan platinum (Platinum crucibles). Cawan abu ini sangat direkomendasikan untuk analisis kadar abu, karena selain tahan akan suhu tinggi, cawan jenis ini juga bersifat “inert” atau tidak reaktif. Kekurangan dari cawan jenis ini adalah harga yang mahal.

Dalam prakteknya, analisis kadar abu dengan cara pengabuan kering memiliki beberapa kendala praktis yang sangat sering kali terjadi. Analisis kadar abu dengan cara pengeringan dan menggunakan tanur, proses pengerjaannya bisa dilakukan untuk beberapa bahan uji dalam satu kali waktu analisis menyesuaikan dengan kapasitas tanur yang ada. Untuk itu penanda atau labeling perlu dilakukan untuk setiap cawan abu yang berisi bahan. Pemberian tanda terhadap cawan abu akan menjadi masalah karena penanda yang digunakan haruslah memiliki karakter tidak rusak karena panas yang tinggi. Penggunaan penanda dari pena/pensil sering dilakukan, akan tetapi hal ini tidak akan efektif. Secara komersial sudah ada tinta yang khusus disediakan untuk keperluan analisis ini sehingga akan dapat meningkatkan efisiensi kerja dalam menganalisis kadar abu dengan jumlah bahan uji yang banyak.

# Bab 6

## Analisis Proksimat Karbohidrat

Karbohidrat memiliki fungsi utama sebagai pemberi sifat tekstur yang dominan pada bahan baku maupun produk olahan, menjadi sumber energi utama dan berfungsi sebagai serat makanan yang dapat mempengaruhi proses fisiologis ketika dikonsumsi oleh manusia.

Karbohidrat adalah kelompok komponen senyawa organik yang jumlahnya paling banyak dan jenisnya paling beragam di alam. Di dalam bahan pangan, karbohidrat merupakan makromolekul yang terbagi atas tiga kelompok yaitu karbohidrat dengan berat molekul yang rendah seperti mono dan disakarida, karbohidrat dengan kelompok berat molekul sedang seperti oligosakarida dan karbohidrat dengan berat molekul besar seperti polisakarida. Karbohidrat juga bisa dibagi menjadi dua kelompok yaitu karbohidrat sederhana yang terdiri dari monosakarida dan disakarida, dan karbohidrat kompleks yang merupakan kelompok senyawa yang terdiri dari polisakarida dan atau serat.

Di dalam suatu bahan pangan, keberadaan komponen karbohidrat sangat banyak jenisnya karena karbohidrat bisa berada dalam bentuk polisakarida, oligosakarida dan bahkan dalam bentuk monosakarida pada saat yang sama, sehingga teknik atau metoda untuk melakukan analisis terhadap jumlah dari komponen karbohidrat pun akan sangat banyak jumlahnya.

Secara umum, di dalam analisis proksimat bahan pangan komponen karbohidrat dinyatakan sebagai total karbohidrat, dimana hasil uji dari analisis ini tidak akan membedakan apakah karbohidrat yang dimaksud termasuk jenis karbohidrat apa, apakah mono, di, polisakarida ataupun serat.

Secara umum, total karbohidrat di dalam pangan tidaklah di analisis secara langsung, tetapi berdasarkan pengurangan dari nilai 100 dengan total dari jumlah persentase komponen proksimat lainnya yang ada di dalam bahan pangan tersebut seperti (air, abu, protein dan lemak) (persamaan 1). Bahkan untuk beberapa jenis produk olahan komponen alkohol juga dimasukkan ke dalam komponen proksimat lainnya (persamaan 2).

$$\text{karbohidrat (\%)} = 100 - (\text{air} + \text{abu} + \text{protein} + \text{lemak}) \dots\dots^1$$

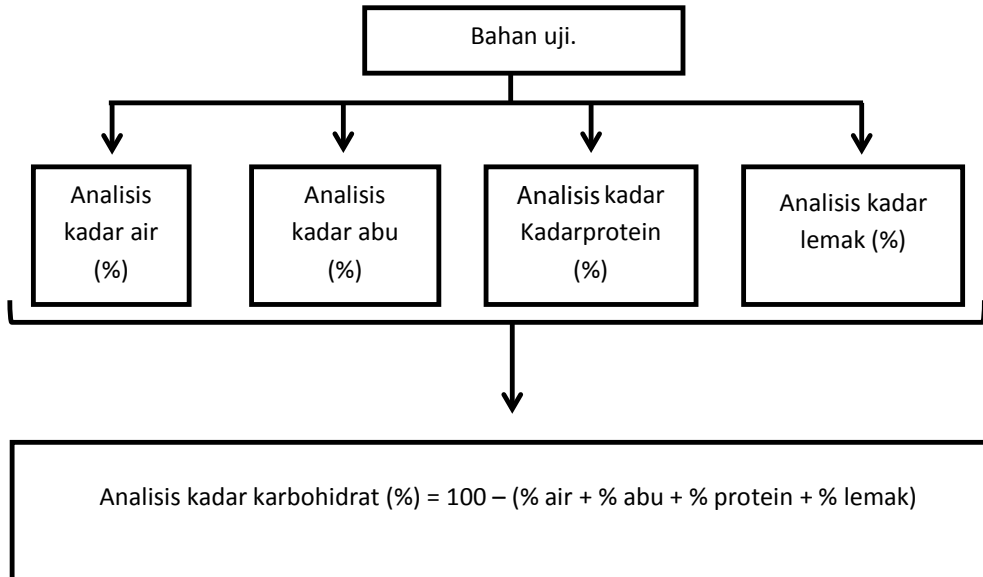
$$\text{KH (\%)} = 100 - (\text{air} + \text{abu} + \text{protein} + \text{lemak} + \text{alkohol}) \dots\dots^2$$

Analisis karbohidrat dengan cara yang di atas sudah dikenal sejak lama dengan nama analisis karbohidrat dengan cara “*by difference*”. Bagi para peneliti pemula atau mahasiswa harus benar-benar jelas jelas bahwa analisis karbohidrat yang diperkirakan dalam cara ini akan memberikan informasi total karbohidrat termasuk semua jenis komponen karbohidrat, serat, serta beberapa komponen yang bukan karbohidrat seperti asam organik.

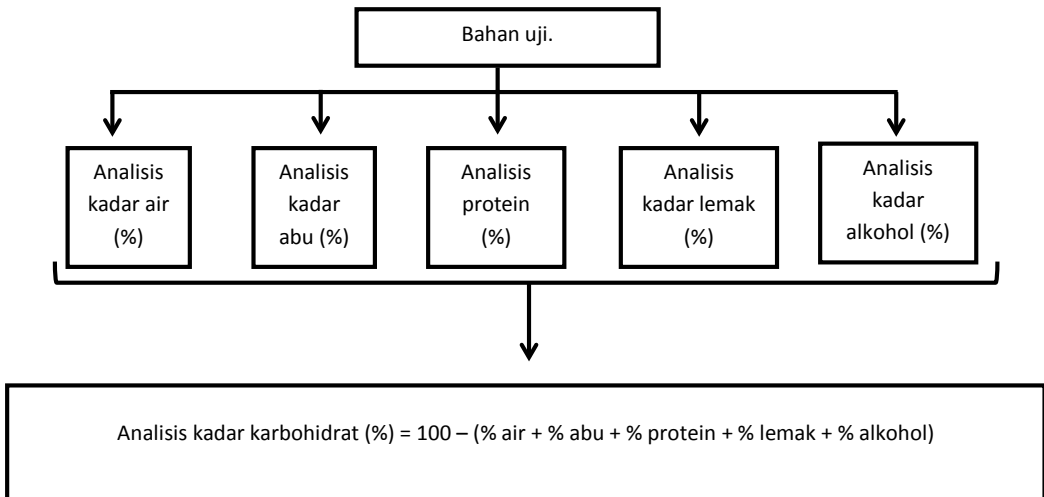
Di dalam analisis bahan pangan yang lebih spesifik, informasi yang diberikan dari hasil uji analisis proksimat karbohidrat berdasarkan cara “*by difference*” ini masih memerlukan analisis lanjutan, karena terlalu luasnya kesimpulan yang bisa didapat dari hasil uji ini. Semua komponen akan dianggap sebagai karbohidrat dimana komponen-komponen tersebut memiliki dapat memiliki fungsi yang bermacam-macam seperti karbohidrat sebagai nutrisi (dekstrin, pati, dan gula); karbohidrat yang tidak termasuk komponen nutrisi (pentosan, pektin, hemiselulosa, dan selulosa) dan senyawa yang bukan karbohidrat seperti asam organik dan lignin.

Di dalam prakteknya, analisis kandungan serat kasar merupakan analisis sederhana yang dapat menyertai hasil uji analisis karbohidrat dengan cara “*by difference*” ini. Analisis serat kasar merupakan pengujian yang mengestimasi jumlah proksimat karbohidrat tidak dapat dicerna dalam bahan atau produk pangan.

**Bagan alir analisis proksimat kadar karbohidrat dengan cara "by difference" untuk bahan uji yang tidak mengandung alkohol**



**Bagan alir analisis proksimat kadar karbohidrat dengan cara "by difference" untuk bahan uji yang mengandung alkohol**





# Bab 7

## Verifikasi Pekerjaan Analisis Proksimat yang Telah Dilakukan

Setelah dilakukannya suatu kegiatan analisis proksimat dari suatu bahan pangan, kadang kala muncul pertanyaan apakah data hasil uji yang didapatkan merupakan suatu nilai yang valid dan dapat dipercaya. Analisis proksimat yang sifat analisisnya merupakan estimasi kasar dari nilai kandungan total suatu kelompok senyawa di dalam suatu bahan uji, biasanya memberikan rentang nilai hasil yang cukup besar. Akan cukup sulit untuk memastikan keakuratan data hasil uji dari analisis proksimat yang telah dilakukan apabila pengerjaannya dilakukan oleh mahasiswa atau peneliti pemula. Untuk itu perlunya kesadaran dari para mahasiswa untuk melakukan verifikasi dari pekerjaan yang sudah dilakukan, apakah data yang dihasilkan sudah akurat dan dapat dipercaya.

Ada beberapa hal yang perlu diketahui dan dipraktikkan untuk dapat lebih meyakinkan bahwa hasil analisis proksimat yang telah dilakukan telah betul dan menghasilkan data yang dapat dipercaya. Hal-hal tersebut antara lain:

1. Melakukan analisis dengan ulangan yang banyak (minimal 3 ulangan)  
Apabila teknik sampling sudah baik dan benar dan karakter bahan uji yang sudah homogen, pengulangan dalam melakukan analisis proksimat juga sangat perlu untuk diperhatikan. Tidak hanya pada analisis proksimat saja, semua kegiatan analisis baik analisis kimia, analisis biokimia maupun analisis lainnya, pengulangan kerja analisis merupakan cara yang utama dan sangat dianjurkan untuk meminimalisasi adanya kesalahan yang terjadi ketika kegiatan analisis dilakukan, terutama kesalahan yang bersumber dari faktor lingkungan seperti manusia dan peralatan yang digunakan. Nilai deviasi yang didapatkan dari ulangan yang dilakukan akan menjadi tolak ukur bahwa analisis yang telah dilakukan telah memberikan nilai hasil uji yang akurat dan dapat dipercaya atau tidak. Apabila didapatkan nilai deviasi yang besar, dengan nilai besar dari 5 %, dapat diestimasikan bahwa pengerjaan analisis yang telah dilakukan memiliki tingkat kesalahan yang cukup besar sehingga data hasil uji yang didapatkan juga akan dipertanyakan keakuratannya. Untuk itu, bagi para mahasiswa, harus diperhatikan nilai deviasi dari pengulangan yang dilakukan, dimana nilainya haruslah lebih kecil dari 5 % setidak-tidaknya.
2. Lakukan latihan dengan bahan uji yang sudah diketahui komposisi kadungan proksimatnya  
Bagi mahasiswa yang akan melakukan penelitian dan memerlukan kegiatan analisis proksimat, adanya latihan dalam melakukan kegiatan analisis sebelum melakukan analisis yang sebenarnya terhadap bahan uji sebaiknya dilakukan terlebih dahulu. Lakukanlah latihan dengan memeriksa kembali komposisi proksimat suatu produk pangan yang sudah diketahui nilainya. Produk pangan yang sudah dijual oleh produsen dipasaran umumnya telah mencantumkan informasi tentang komposisi kandungan proksimat di kemasannya. Jadikanlah nilai tersebut menjadi acuan di dalam kegiatan latihan tersebut. Kegiatan ini juga digunakan untuk melihat dan melatih skil dari mahasiswa dan juga dapat digunakan untuk memastikan kondisi peralatan dan bahan-bahan kimia yang digunakan berada dalam kondisi yang baik dan layak pakai. Apabila didapatkan nilai hasil uji yang sama atau mendekati nilai yang dicantumkan di kemasan maka dapat diasumsikan bahwa kinerja pelaksana, alat, maupun bahan kimia yang dipakai sudah baik dan layak.



# Daftar Pustaka

## DAFTAR PUSTAKA

- Muchtadi, Deddy. 2008. *Nutrifikasi Pangan*. dalam: Nutrifikasi Protein (Bagian 1). Universitas Terbuka, Jakarta, pp. 1-41.
- Nielsen, S.S. 2010. *Food Analysis*. 4th Edition, Food Science Text Series, Springer, USA.
- Winarno F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

