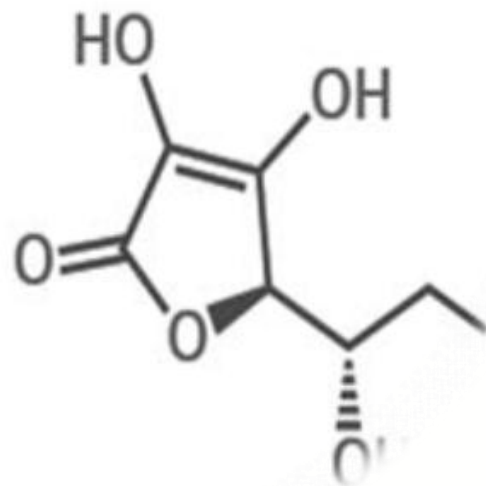
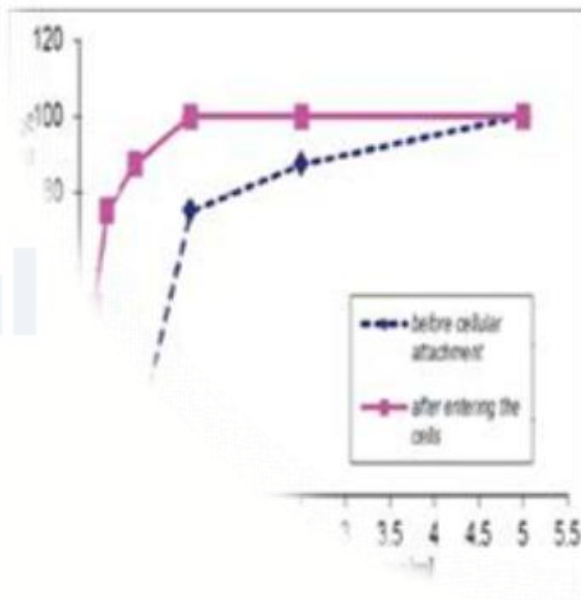
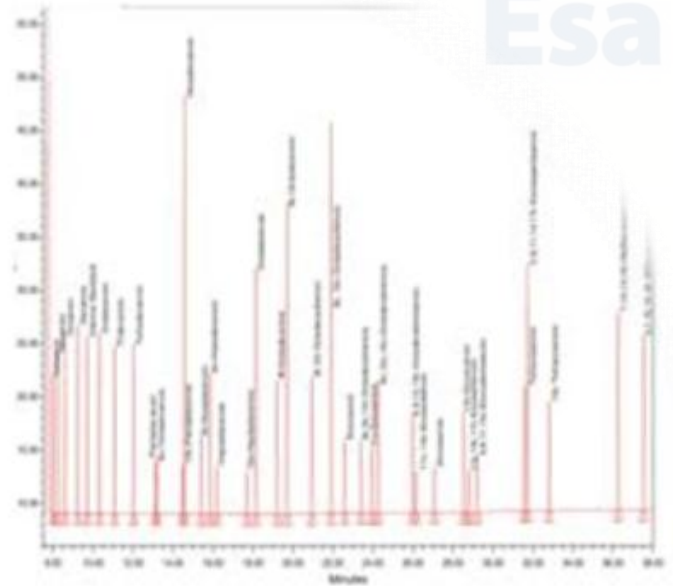
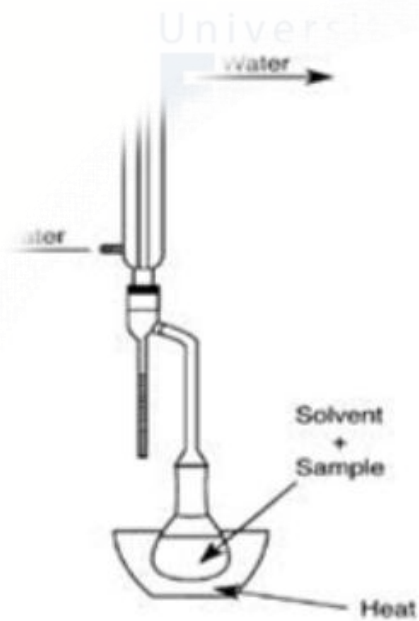


## PANDUAN PRAKTIKUM ANALISIS ZAT GIZI

Disusun oleh: Dudung Angkasa, Rezha Fadhilla, Yuges Saputri



ASCOR

DEPARTMENT OF NUTRITIONAL SCIENCE  
FACULTY OF HEALTH SCIENCES  
UNIVERSITAS ESA UNGGUL

## **KATA PENGANTAR**

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas Rahmat dan hidayahNya, sehingga penulisan buku Petunjuk Laboratorium Analisis Zat Gizi ini dapat diselesaikan.

Buku Petunjuk Laboratorium Analisis Zat Gizi ini disusun terutama untuk mahasiswa tingkat sarjana (S1) program studi Ilmu Gizi baik dilingkungan Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan maupun di luar UEU.

Dalam buku petunjuk ini banyak disampaikan pengantar pengetahuan atau prinsip-prinsip mengenai topik yang akan dipraktekkan sehingga diharapkan dapat membantu dalam penyusunan laporan maupun dalam pelaksanaan praktikum, serta memperluas cakrawala dalam bidang pengetahuan bahan pangan.

Penyusun menyadari, tulisan dalam penuntun ini masih belum sempurna, untuk itu diharapkan kritik dan saran ke arah perbaikan buku ini. Dengan segala kelebihan dan kekurangannya, semoga buku ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukannya.

Jakarta, 7 Maret 2018

Penyusun

## TATA TERTIB PRAKTIKUM

### A. Kewajiban Praktikan:

1. Hadir 10 menit sebelum praktikum dimulai, praktikan harus sudah siap di depan laboratorium.
2. Masuk ke dalam laboratorium, memperhatikan petunjuk-petunjuk yang diberikan oleh dosen/asisten/laboran, dan menyediakan sendiri alat-alat yang diperlukan.
3. Bahan praktikum yang akan dikerjakan harus sudah dikuasai, termasuk:
  - a. Prosedur percobaan pada buku laporan praktikum.
  - b. Laporan praktikum dikumpulkan kepada asisten atau dosen sebelum praktikum dimulai, tidak ada yang mengerjakan laporan selama praktikum berlangsung.
  - c. Peralatan yang diizinkan untuk dibawa hanya alat tulis dan bahan untuk praktikum.
4. Data pengamatan dan catatan lain mengenai jalannya praktikum dicatat pada buku tulis masing-masing.
5. Percobaan harus sesuai dengan prosedur dan rencana kerja dikerjakan serius.
6. Alat-alat gelas yang digunakan menjadi tanggungjawab praktikan dan bila terjadi kerusakan/pecah harus diganti dengan ukuran dan kualitas yang sama.
7. Setiap praktikan harus menjaga ketenangan dan kebersihan selama praktikum berlangsung.
8. Membersihkan alat-alat yang dipakai 10 menit sebelum waktu praktikum berakhir.
9. Bagi mahasiswa yang berhalangan hadir dapat memberitahukan secara tertulis (dengan surat).

**B. Praktikan Tidak Diperbolehkan:**

1. Merokok, makan, dan minum di ruang laboratorium kecuali untuk uji organoleptik.
2. Membetulkan sendiri kerusakan alat-alat laboratorium kecuali di bawah pengawasan asisten (laboran/teknisi) yang bertugas.
3. Meninggalkan percobaan yang sedang berlangsung tanpa dijaga.
4. Melakukan percobaan yang mengeluarkan gas diluar lemari asam.
5. Mengambil larutan asam atau basa pekat sendiri diruang asam tanpa pengawasan dari dosen/asisten/laboran.

**C. Pakaian (*Dress Code*) Lab :**

Praktikum dilaksanakan di laboratorium, sehingga pakaian yang digunakan harus mengikuti peraturan mengenai pakaian di laboratorium, yaitu:

1. Berpakaian rapi dan sopan, tidak boleh mengenakan pakaian tanpa lengan, tidak boleh memakai rok pendek karena dapat membahayakan diri sendiri.
2. Praktikan harus memakai sepatu dan jas laboratorium. Praktikan tidak diperkenankan mengikuti praktikum bila tidak mengenakan jas laboratorium.
3. Bagi praktikan perempuan jika tidak memakai jilbab (penutup kepala), jika memiliki rambut panjang harus diikat.
4. Perhiasan di tangan seperti cincin dan gelang hendaknya di lepas, jika tidak harus menggunakan sarung tangan atau menyimpannya pada lemari yang telah disediakan.

**D. Keamanan Laboratorium**

Praktek laboratorium yang baik (*Good Laboratory Practice/GLP*) harus diterapkan,

untuk keamanan bekerja di lab. Meliputi:

1. Kertas dan buku sebisa mungkin tidak diletakkan di atas meja kerja. Tas dan buku diletakkan di bawah atau disamping meja kerja.
2. Cuci tangan dan peralatan dengan sabun dan air hangat sebelum, selama, dan setelah persiapan bahan.

3. Berhati-hati dengan lingkungan sekitar pada saat menggunakan kompor, oven, tanur atau peralatan lain yang menggunakan api/listrik dan panas. Gunakan sarung tangan/alas untuk memegang peralatan yang panas.
4. Penanganan peralatan yang tajam seperti pisau harus berhati-hati. Gunakan alas (talenan) untuk memotong bahan.
5. Bersihkan segera jika ada cairan yang tumpah.
6. Jika tidak mengerti/mengetahui cara pemakaian alat, diskusikan dengan dosen/asisten/laboran.
7. Laporkan segera jika ada alat yang tidak dapat digunakan/rusak atau hilang kepada dosen/asisten/laboran.
8. Buang semua sisa bahan yang tidak digunakan ke tempat yang telah disediakan.
9. Jangan membuang cairan kimia berbahaya di sembarang tempat.



## FORMAT LAPORAN

Laporan diketik di atas kertas A4, dengan tulisan Times New Roman 12 dan 1.5

spasi. Sistematika laporan dan bobot nilai adalah sebagai berikut :

No	Bab Penulisan	Nilai
	<b>Halaman Judul</b>	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tuliskan judul percobaan, nama, dan NIM.</li> <li>▪ Format mengikuti pedoman penulisan ilmiah UEU</li> </ul>	
<b>I.</b>	<b>Pendahuluan</b>	<b>15</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Deskripsi mengenai latar belakang dan tujuan praktikum.</li> </ul>	
<b>II.</b>	<b>Alat dan Bahan</b>	<b>10</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Bahan yang digunakan harus disebutkan spesifikasi dan sumbernya</li> <li>▪ Alat yang spesifik harus dijelaskan spesifikasinya, sedangkan alat-alat yang umum seperti alat gelas tidak perlu ditulis.</li> </ul>	
<b>III.</b>	<b>Langkah/Cara Kerja (Flow Chart)</b>	<b>10</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Prosedur harus dikemukakan secara lengkap dalam bentuk flow chart</li> </ul>	
<b>IV.</b>	<b>Hasil dan Pembahasan</b>	<b>30</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Pencatatan, pengambilan data, dan pembahasan data</li> <li>▪ Tuliskan data percobaan dalam bentuk tabel, gambar atau format lain yang sesuai</li> <li>▪ Beri nomor pada Tabel dan Gambar</li> <li>▪ Setiap Tabel dan Gambar harus dirujuk di dalam naskah.</li> <li>▪ Penulisan satuan menggunakan Standar Internasional (SI). Eksponen negatif digunakan untuk menyatakan satuan penyebut. <b>Contoh : mg L<sup>-1</sup>, bukan mg/L.</b> Satuan ditulis menggunakan spasi setelah angka, kecuali persen. <b>Contoh 37 °C, bukan 37°C, 0,8% bukan 0,8 %.</b> Penulisan desimal menggunakan koma (bukan titik).</li> <li>▪ Pembahasan harus dapat menjawab “Apa” dan “Mengapa”, serta harus didukung oleh pustaka yang terkait dengan menyebutkan sumber pustaka.</li> </ul>	
<b>V.</b>	<b>Kesimpulan</b>	<b>15</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Simpulkan pokok-pokok utama yang penting dari hasil pembahasan dengan mengacu pada tujuan praktikum percobaan.</li> </ul>	
<b>VI.</b>	<b>Daftar Pustaka</b>	<b>10</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Semua pustaka yang disitasi di dalam teks harus dituliskan dalam daftar pustaka, dan sebaliknya pustaka yang tidak ada di dalam teks tidak boleh ada di dalam daftar pustaka.</li> </ul>	

- 
- Nama pustaka disusun berdasarkan abjad dari nama akhir penulis pertama.
  - Sumber pustaka yang digunakan harus 10 tahun terakhir.
- 

**VII. Lampiran** **10**

- Dokumentasi hasil praktikum dalam bentuk photo
  - Tunjukkan data keseluruhan serta contoh perhitungan (jika ada)
  - Lampiran lain yang dianggap perlu.
- 

**Total Bobot Nilai** **100**

---

## DAFTAR ISI

	Hal
Praktikum 1. Penentuan Kadar Air Metode Oven	8
Praktikum 2. Penentuan Kadar Air Metode Vakum	11
Praktikum 3. Penentuan Kadar Abu	14
Praktikum 4. Analisa Kualitatif Karbohidrat	16
Praktikum 5. Penentuan <i>Reducing Sugar</i> Metode Lane Lyon	20
Praktikum 6. Penentuan Kadar Karbohidrat dengan Metode Anthrone	21
Praktikum 7. Analisis Kualitatif Protein	24
Praktikum 8. Penentuan Kadar Protein Metode Micro Kjeldahl	26
Praktikum 9. Penentuan Bilangan Iodium	26
Praktikum 10. Penentuan Bilangan Asam Lemak	28
Praktikum 11. Penentuan Bilangan Penyabunan	29
Praktikum 12. Penentuan Kadar Lemak Kasar	30
Praktikum 13. Penentuan Kadar Kalsium	31
Praktikum 14. Penentuan Iodium dalam Garam Beryodium	33
Praktikum 15. Penentuan Kadar Zat Besi	34
Praktikum 16. Penentuan Kadar Vitamin C	35
Praktikum 17. Penentuan Kadar Phospor	37
Praktikum 18. Penentuan Formalin secara Kualitatif	39
Praktikum 19. Penentuan Boraks secara Kualitatif	41
Praktikum 20. Penentuan Rhodamin B secara Kualitatif	42
Praktikum 21. Penentuan Aktivitas Antioksidan Pangan	43



## PRAKTIKUM 1

### PENENTUAN KADAR AIR METODE OVEN

---

#### 1. Lingkup Metode

Metode ini digunakan untuk menentukan kadar air secara kuantitatif pada semua bahan makanan kecuali bahan yang tinggi gula dan lemak (>10%). Untuk keamanan gunakan pencapit (tongs) saat penanganan cawan pengering. Kadar air dalam metode ini merujuk pada jumlah air bebas dan bahan volatil yang hilang karena pengeringan pangan dengan temperatur terkendali dalam oven. Hasil dinyatakan dalam gram per 100 gram sampel.

#### 2. Prinsip

Bahan dikeringkan dengan pemanasan pada oven sampai berat konstant didapatkan. Kadar air diperlukan untuk menyatakan kadar gizi dalam basis kering. Dalam bahan pangan tertentu kadar air menunjukkan kualitas pangannya. Standar untuk kadar air suatu bahan pangan ada dalam peraturan pangan misal Standar Nasional Indonesia (SNI)

#### 3. Bahan/Reagen dan Alat

- a) Sand acid washed ( $\text{SiO}_2$ ), 40 mesh
- b) Oven (dapat diterapkan pada suhu terkendali pada  $100 \pm 5^\circ\text{C}$ )
- c) Timbangan analitik, kapasitas 200 g dan sensitivitas 0.1 mg
- d) Desikator dengan silica gelnya.
- e) Cawan (aluminium, porselain, botol timbang atau wadah yang cocok lainnya)
- f) Penjapit (tongs)
- g) Pengaduk kaca (*stirring rod*)
- h) *Water bath*
- i) Sampel: ikan asin, udang, susu, tahu dan lain-lain.

#### 4. Prosedur

##### 4.1 Persiapan Sample

**4.1.1** Tempatkan cawan pada oven pengering pada suhu  $100\pm 5^{\circ}\text{C}$  sampai berat constant (1-2 jam). Diambkan dalam desikator sekitar 30 menit dan timbang ( $W_1$ ). Untuk sample liquid dan semisolid, siapkan cawan pengering dengan 15-20 gram *acid washed sand* ( $\text{SiO}_2$ ) dan kaca pengaduk

**4.1.2** Haluskan atau campur sample sampai homogen. Segera analisis sample setelah persiapan. Jika sample tidak dapat dianalisis pada hari yang sama, simpan dalam botol tertutup dalam freezer. Jika sample digunakan untuk uji vitamin atau zat gizi yang labil lainnya, siram sample dengan nitrogen sebelum disimpan

##### 4.2 Analisis

a) Untuk sampel kering

*Thawing* sample ke suhu ruang. Campurkan sample dengan menggerakan botol tertutup keatas kebawah tiga kali. Timbang akurat 3-4 gram pada cawan yang sudah dikeringkan ( $W_2$ ). Buat 2-3 duplikat

b) Untuk sample liquid/basah/bubur

Campurkan sample secara homogen dan timbang 5-15 gram sample berbentuk bubur atau 20 gram sample liquid ke dalam cawan yang telah diberi *acid washed* dan aduk ( $W_2$ ). Untuk sample liquid, keringkan sampai membentuk pasta di waterbath sebelum dimasukan ke dalam oven.

c) Letakkan cawan dengan sample dalam oven  $100\pm 5^{\circ}\text{C}$ , 2-3 jam.

d) Pindahkan cawan dengan sample yang sudah kering ke dalam desikator. Diamkan selama 30 min dan timbang ( $W_3$ )

Ulangi prosedur pemanasan sampai berat konstant. Perbedaan berat antar dua penimbangan tidak boleh lebih dari 5 mg

#### 5. Perhitungan Kadar Air

$$\text{Jumlah-air}(g/100g) = \frac{(W_2 - W_3)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

$$\text{Total-padatan}(\%) = 100 - \% \text{ jumlah-air}(w/w)$$

Keterangan :

W2 = berat cawan + sample sebelum pengeringan (g)

W2-W1 = berat sample (g)

W3 = berat cawan + sample setelah pengeringan (g)

W2-W3 = berat yang hilang (g)

Catatan:

Hasil dinyatakan dalam g/100 gr sample hingga satu decimal. Hasil diterima jika perbedaan duplikat tidak lebih dari 5% rataannya.

## PRAKTIKUM 2

### PENENTUAN KADAR AIR METODE OVEN VAKUM

---

#### 1. Lingkup Metode

Kadar air pada metode ini ialah jumlah air bebas dan bahan volatil yang hilang dengan pengeringan pangan dalam keadaan vakum dan suhu terkendali. Metode ini digunakan untuk penentuan secara kuantitatif kadar air pada bahan pangan tinggi gula dan lemak (>10%)

#### 2. Prinsip

Bahan dikeringkan dengan pemanasan pada oven sampai berat konstant didapatkan. Kadar air diperlukan untuk menyatakan kadar gizi dalam basis kering. Dalam bahan pangan tertentu kadar air menunjukkan kualitas pangannya. Standar untuk kadar air suatu bahan pangan ada dalam peraturan pangan misal Standar Nasional Indonesia (SNI)

#### 3. Bahan/Reagen dan Alat

- a) Sand acid washed ( $\text{SiO}_2$ ), 40 mesh
- b) Oven vakum (dapat diterapkan pada suhu terkendali pada  $60-100 \pm 5^\circ\text{C}$ )
- c) Timbangan analitik, kapasitas 200 g dan sensitivitas 0.1 mg
- d) Desikator dengan silica gelnya.
- e) Cawan (aluminium, porselain, botol timbang atau wadah yang cocok lainnya)
- f) Penjapit (tongs)
- g) Pengaduk kaca (*stirring rod*)
- h) *Water bath*
- i) Sample: sirup, macaroon, es krim, madu, telur puyuh

#### 4. Prosedur Metode Oven Vakum

##### 4.1 Persiapan cawan pengering

- a) Tempatkan cawan pada oven pengering pada suhu  $100 \pm 5^\circ\text{C}$  sampai berat constant (1-2 jam). Dinginkan dalam desikator sekitar 30 menit dan



timbang ( $W_1$ ). Untuk sample liquid dan semisolid, siapkan cawan pengering dengan 15-20 gram *acid washed sand* ( $SiO_2$ ) dan kaca pengaduk.

#### 4.2 Persiapan Sample

- b) Haluskan atau campur sample sampai homogen. Segera analisis sample setelah persiapan. Jika sample tidak dapat dianalisis pada hari yang sama, simpan dalam botol tertutup dalam freezer. Jika sample digunakan untuk uji vitamin atau zat gizi yang labil lainnya, siram sample dengan nitrogen sebelum disimpan.

#### 4.3 Analisis

- a) Untuk sampel kering

*Thawing* sample ke suhu ruang. Campurkan sample dengan menggerakkan botol tertutup keatas kebawah tiga kali. Timbang akurat 3-4 gram pada cawan yang sudah dikeringkan ( $W_2$ ). Buat 2-3 duplikat

- b) Untuk sample liquid/basah/bubur

Campurkan sample secara homogen dan timbang 5-15 gram sample berbentuk bubur atau 20 gram sample liquid ke dalam cawan yang telah diberi *acid washed* dan aduk ( $W_2$ ). Untuk sample liquid, keringkan sampai membentuk pasta di waterbath sebelum dimasukkan ke dalam oven.

- c) Letakkan cawan dengan sample dalam oven vacum  $60-70^{\circ}C$ ,  $<25$  mm Hg, selamat 5-6 jam.

- d) Pindahkan cawan dengan sample yang sudah kering ke dalam desikator.

Dinginkan selama 30 min dan timbang ( $W_3$ )

- e) Ulangi prosedur pemanasan sampai berat konstant. Perbedaan berat antar dua penimbangan tidak boleh lebih dari 5 mg.

#### 5. Perhitungan Kadar Air

$$\text{Jumlah-air}(g/100g) = \frac{(W_2 - W_3)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

$$\text{Total-padatan}(\%) = 100 - \% \text{ jumlah-air}(w/w)$$

Keterangan :

$W_1$  = berat cawan awal (g)



- W2 = berat cawan + sample sebelum pengeringan (g)  
W2-W1 = berat sample (g)  
W3 = berat cawan + sample setelah pengeringan (g)  
W2-W3 = berat yang hilang (g)

Catatan:

Hasil dinyatakan dalam g/100 gr sample hingga satu decimal. Hasil diterima jika perbedaan duplikat tidak lebih dari 5% rataannya. Metode ini dapat juga dipakai untuk semua sample makanan yang dikeringkan secara vakum pada suhu 70-100 C.

## PRAKTIKUM 3 PENENTUAN KADAR ABU

---

### 1. Lingkup Metode

Penentuan kadar abu untuk bahan pangan mentah, masak dan olahan

### 2. Prinsip

Air dan bahan-bahan organik akan hilang dalam pembakaran dengan suhu tinggi (<550 °C). Residu yang tertinggal adalah mineral dalam bentuk abu putih. Pengabuan pada suhu lebih tinggi (650 C) dapat 'menguapkan' garam anorganik seperti klorida alkali, Fe, K, Na, S, dan P.

### 3. Bahan/Reagen dan Alat

- a) Tanur (mampu men-set suhu 100-600 C)
- b) Oven
- c) Hotplate dan pembakar Bunsen atau pemantik listrik
- d) Timbangan analitik, kapasitas 200 gram, sensitivitas 0.1 mg
- e) Desikator dengan gel silikanya
- f) Water bath
- g) Pencapit
- h) Cawan porselain atau silika
- i) Spatula

### 4. Prosedur

- a) Masukkan *crusibel* kosong dan tutup ke dalam tanur pada suhu 500-550 C, selama 2-3 jam.
- b) Turunkan suhu ke 180 C dan pindahkan cawan ke dalam desikator, dinginkan 30 menit, lalu timbang ( $W_1$ )
- c) Timbang sample sebanyak 2-4 gram untuk sample kering dan 10 gram untuk sample basah. Buat 2-3 duplikat. Catat sebagai  $W_2$ .
- d) Untuk sample kering, panaskan terlebih dahulu pada hotplate mulai dari suhu rendah untuk menghindari percikan api. Tambahkan suhu secara bertahap sampai asapnya berhenti

- e) Untuk sample basah, keringkan terlebih dahulu melalui water bath sampai kering. Setelah kering ikuti langkah poin d).
- f) Panaskan sample dalam tanur 500-550 C sampai terbentuk residu putih atau hampir putih
- g) Jika sample tidak putih keseluruhan, lembabkan abu dengan beberapa tetes air (*ion free*) atau asam. Evaporasi air dengan waterbath lalu ulangi pemanasan dalam tanur selama 30-60 menit sampai berat konstan. Catatan: jika sample akan digunakan untuk analisis mineral, suhu tidak boleh melebihi 450 C.
- h) Turunkan suhu Tanur ke 180 C dan pindahkan cawan ke desikator, diamkan 30 menit dan timbang ( $W_3$ )

#### 5. Perhitungan :

$$\text{Jumlah- abu (g / 100g)} = \frac{(W_3 - W_1)}{(W_2 - W_1)} \times 100$$

Keterangan :

$W_1$  = berat cawan awal (g)

$W_2$  = berat cawan + sample (g)

$W_3$  = berat cawan + abu (g)

Hasil dinyatakan dalam g/100 gr sample hingga satu decimal. Hasil diterima jika perbedaan duplikat tidak lebih dari 5% rataannya

## PRAKTIKUM 4

### ANALISA KUALITATIF KARBOHIDRAT

---

#### 1. Test Molish

**1.1 Prinsip** : Asam pekat akan mendehidrasi karbohidrat sehingga membentuk furfural. Dengan adanya resoreinol furfural akan membentuk warna violet berbentuk cincing.

**1.2 Reagen** : Asam sulfat pekat. Larutan Molish 15% recorsinol/alpha naftol dalam 5% alkohol.

**1.3 Prosedur** : 5 ml larutan gula 1% (glukosa, malcosa, sukrosa, laktosa, fruktosa) dalam test tube ditambah 2 tetes laurutan Molish. Kemudian tambahkan perlahan-lahan melalui dinding tabung reaksi 3 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Test positif bila terjadi warna merah violet berbentuk cincin.

#### 2. Test Moore

**2.1 Prinsip** : Gula dengan adanya basa kuat akan membentuk warna coklat karena proses karamelisasi.

**2.2 Reagen** : NaOH 10%

**2.3 Prosedur** : 5 ml larutan sampel ditambah 1 ml larutan NaOH 10%. Letakkan tabung reaksi dalam air mendidih selama 5 menit. Test positif bila terjadi warna coklat tua dan bau yang sedap.

#### 3. Test Benedict

**3.1 Prinsip** : Larutan CuSO<sub>4</sub> dalam suasana alkali akan direduksi oleh gula yang mempunyai gugus aldehyd sehingga cupri (CuO) tereduksi menjadi Cu<sub>2</sub>O yang berwarna merah bata.

**3.2 Reagen** : Larutan benedict

- a. 21,6 gr Na-Citrat, 12,5 gr Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, anthydrone dilarutkan dalam air panas
- b. 17,5 gr Cu SO<sub>4</sub>. 5 H<sub>2</sub>O dalam 100 ml air dan disaring. Larutan a & b dicampur perlahan-lahan

#### 4. Test Seliwanoff

**4.1 Prinsip** : Fruktosa dengan asam kuat akan membentuk 4 hidroksi methyl fultural, bila ditambahkan reseleinal akan membentuk warna coklat

**4.2 Reagen** : Larutan Seliwanoff : 0,05 gr resolcinal dalam 100 H<sub>2</sub>O (1:1).

**4.3 Prosedur** : 5 ml larutan Seliwanoff ditambah beberapa tetes larutan sampel. Panaskan selama 30-60 detik dalam penangas air. Perhatikan perubahan warna. Bila terjadi endapan, disaring dan endapan dilarutkan dengan alkohol.

#### 5. Osazone Test

**5.1 Prinsip** : Jika larutan direaksikan dengan phenyl hidrazin dan Na Acetat akan memberikan bentuk-bentuk kristal yang dapat dilihat pada mikroskop.

**5.2 Reagen** : Phenyl hidrazin, bubuk Na Acetat

**5.3 Prosedur** : Tabung reaksi diisi dengan 1 gr phenyl hidrazin dan 1,5 gr Na Acetat, tambahkan 5 ml larutan gula dan panaskan 30 menit dalam penangas air. Dinginkan, lihat kristal-kristal di bawah mikroskop.

#### 6. Barfood Test

**6.1 Prinsip** : Dengan adanya reagen Barfood akan mereduksi monosakarida karena bersifat asam sehingga kekuatan hidrosi menurun dan mengakibatkan tak dapat mereduksi disakarida.

**6.2 Reagen** : Larutan Barfood 13,3 gr Cu Asetat dalam 800 ml H<sub>2</sub>O ditambah 1 ml asam asetat glacial.

**6.3 Prosedur** : 5 ml larutan Barfood dalam tabung reaksi ditambah 1 ml larutan gula. Panaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Perhatikan perubahan warna yang terjadi.



**PRAKTIKUM 5**  
**PENENTUAN REDUCING SUGAR METODE LANE LYNON**  
**(DENGAN HIDROLISIS)**

---

**1. Prinsip**

Gula mereduksi cupri ( $\text{Cu}^{2+}$ ) dalam suasana alkali. Setelah semua cupper direduksi, gula akan mereduksi methylen blue menjadi methylen white.

**2. Bahan/Reagen**

- a) Larutan Fehling I, timbang 6,93 gr  $\text{CuSO}_4$  larutkan dalam 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ .
- b) Larutan Fehling II, timbang 125 gr KOH dan 173 KNa Tartarat, campur dan larutkan dalam 500 ml  $\text{H}_2\text{O}$ .
- c) Larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10%
- d) Indikator methylen blue 2%
- e) Indikator brom thymol blue 2%
- f) KCl

**3. Prosedur**

- a) Timbang dengan teliti 10 gr bahan (pepaya/nanas, haluskan dalam mortar).
- b) Tambahkan aquadest 25-50 ml, kemudian masukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian tambah 1-2 ml HCl pekat aduk hingga homogen.
- c) Panaskan dalam penangas air mendidih selama 30 menit. Tambah indikator bromthymol blue 3 tetes.
- d) Netralkan dengan menambah  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sampai larutan berwarna kehijauan.
- e) Pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu seukuran 250 ml. Tambahkan  $\text{H}_2\text{O}$  sampai tandah batas.
- f) Kocok sampai homogen dan disaring, filtrat ditampung.
- g) Ambil erlenmeyer, masukkan 5 ml tepat larutan Fehling I dan 5 ml larutan Fehling II. kocok.
- h) Masukkan filtrat bahan ke dalam buret.
- i) Tambahkan larutan bahan 15 ml dari buret ke dalam erlenmeyer yang berisi larutan Fehling I dan II. panaskan sampai mendidih.

- j) Tambahkan 3 tetes methylen blue, titrasi dilakukan dalam keadaan mendidih sampai warna biru hilang.

Catatan : penentuan reducing sugar tanpa hidrolisa, prosedur sama hanya bahan tanpa penambahan HCl pekat dan penangasan.

**PRAKTIKUM 6**  
**PENENTUAN KADAR KARBOHIDRAT**  
**DENGAN METODE ANTHRONE**

---

**1 Prinsip**

Anthrone 9,10 dehidro-9 ketoanthracene bereaksi dengan karbohidrat membentuk warna biru kehijauan. Warna yang terbentuk diukur serapannya pada spektrofometer dengan panjang gelombang 620 nm.

Perhatian : larutan bahan adalah campuran beras bebas protein.

**2. Bahan/Reagen**

- a) Pereaksi anthrone (2 g/l dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat).
- b) Larutan standar glukosa (0,1 g/l).

**3 Prosedur**

- a) Pipet tepat 1 ml larutan bahan bebas protein ke dalam tabung reaksi.
- b) Tambahkan 4 ml larutan anthrone, kocok hingga homogen.
- c) Tutup tabung reaksi dengan sebuah kelereng, panaskan tabung reaksi dalam penangas air mendidih selama 10 menit.
- d) Dinginkan dan baca intensitas warna yang terbentuk pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 620 nm.
- e) Buatlah blanko dengan prosedur yang sama hanya tanpa larutan bahan.
- f) Buat kurva standar glukosa dengan larutan standard dari berbagai konsentrasi (30 ug, 40 ug, 50 ug, 60 ug, 70 ug).
- g) Penimbangan bahan : 5 gr + 3 ml HCl p tambahkan H<sub>2</sub>O sehingga volume mencapai 100 ml, kemudian pipet 5 ml bahan yang sudah disaring larutan dalam 500.00 ml.

**5. Perhitungan :**

$$\frac{\text{Serapan contoh} - \text{serapan blanko}}{\text{Serapan standard-serapan blanko}} \times \frac{\text{Konsentrasi standard}}{\text{berat contoh}} \times \text{fp} \times 100 \%$$

fp = faktor pengenceran

## PRAKTIKUM 7

### ANALISA KUALITATIF PROTEIN

---

#### 1. Test Xantoprotein

##### 1.1 Prinsip

Jika protein ditambah  $\text{HNO}_3$  p, akan terbentuk endapan putih yang merupakan senyawa poli nitro dan bila didinginkan kemudian ditambahkan  $\text{NaOH}$  10 % akan memberikan warna oranye.

##### 1.2 Bahan/Reagen

- a). Albumin, 1,0%
- b). Casein 1,0%
- c). Susu
- d). Telur yang dilarutkan dalam  $\text{NaCl}$  0,9 %

##### 1.3 Prosedur

- a) Ambil 3 ml sampel, masukkan ke dalam tabung reaksi.
- b) Tambahkan 1 ml  $\text{HNO}_3$  p.a, timbul endapan putih, kemudian panaskan di atas penangas akan terbentuk warna kuning, dinginkan.
- c) Setelah ditambah  $\text{NaOH}$  secara perlahan-lahan, akan terjadi warna oranye

#### 2. Test Biuret

##### 2.1 Prinsip

Protein dengan larutan  $\text{CuSO}_4$  encer akan membentuk senyawa kompleks dalam suasana alkalis, akan membentuk warna ungu.

##### 2.2 Bahan

- a). Albumin 1%
- b).  $\text{NaOH}$  10%
- c). Casein 1%
- d).  $\text{CuSO}_4$  0,5%
- e). Susu
- f). Telur yang dilarutkan dengan  $\text{NaCl}$  0,9%

##### 2.3 Prosedur

- a) 2 ml bahan masukkan pada tabung reaksi; tambahkan 2-3 ml larutan  $\text{CuSO}_4$ .
- b) Tambahkan perlahan-lahan 2 ml  $\text{NaOH}$  10%; amati warna yang terjadi.

#### 3. Test Ninhydrin

##### 3.1 Prinsip

Protein dengan ninhydrin dalam suasana panas akan memberikan warna biru.

### 3.2 Bahan/Reagen

- a). Albumin 1%      b). Susu      c). Casein  
d). Telur      e). Larutan ninhydrin 0,1%

### 3.3 Prosedur

- a) Ambil 5 ml bahan masukkan ke dalam tabung reaksi.  
b) Tambahkan larutan ninhydrin 0,1% sebanyak 0,5 ml.  
c) Panaskan diatas penangas air sampai mendidih. Dinginkan dan amati warna yang terjadi.

## 4. Pengaruh Asam Kuat dan Basa Kuat

### 4.1 Prinsip

Protein yang mempunyai sifat amfoter dalam suasana asam akan bersifat basa dan dalam suasana basa akan bersifat asam.

### 4.2 Bahan/Reagen

- a). Albumin 1%      b). Casein 1%  
c). Susu      d). Telur  
e).  $\text{HNO}_3$  p,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$ p,  $\text{NaOH}$  p, Asam aetat pekat.

### 4.3 Prosedur

- a) Masukkan 1 ml bahan ke dalam tabung reaksi.  
b) Tambahkan 1 ml  $\text{HNO}_3$  p, secara perlahan-lahan sampai ada 2 lapis cairan.  
c) Kocok dengan hati-hati dan amati aja yang terjadi.  
d) Ulangi dengan memakai  $\text{H}_2\text{SO}_4$  p,  $\text{HCl}$ p, Asam aetat pekat,  $\text{NaOH}$  pekat.

## 5. Pengendapan protein

### 5.1 Prinsip

Protein akan mengalami pengendapan bila ditambahkan dengan TCA (Tri chlor Acid) dan asam pikras.

### 5.2 Bahan/Reagen

- a). Albumin      b). Susu      c). Telur  
d). TCA 1%      e).Asam pikrat jenuh

### 5.3 Prosedur

- a) Ambil 2 ml bahan masukkan ke dalam tabung reaksi.



- b) Masukkan ke dalam tabung asam pikrat jenuh tetes demi tetes sampai berlebihan dan terbentuk endapan.

Ulangi percobaan poin ab-b dengan menggunakan TCA 1% amatilah apa yang terjadi.

---

Quote for today

*Bukan karena hari ini indah Kita bahagia  
Tapi karena Kita bahagia hr ini menjadi indah  
Bukan karena tidak ada rintangan Kita menjadi optimis  
Tapi karena Kita optimis rintangan menjadi tidak ada  
Bukan karena mudah Kita yakin bisa  
Tapi karena Kita yakin bisa, smuanya menjadi mudah  
Bukan karena semua baik, Kita tersenyum,  
Tapi karena Kita tersenyum mka semua menjadi baik.*



---

**PRAKTIKUM 8**

## PENENTUAN KADAR PROTEIN METODE MICRO KJELDAHL

---

### 1 Prinsip

Bahan destruksi dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sehingga Nitrogen dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  akan membentuk  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Amonium sulfat dalam proses destilasi akan melepaskan  $\text{NH}_3$  yang akan ditampung dan diikat oleh larutan asam borat menjadi ammonium borat. Ammonium berat dititrasi dengan standar asam.

### 2. Bahan/Reagen

- a)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat
- b) Hg O
- c)  $\text{K}_2 \text{SO}_4$
- d) NaOH – Na thiosulfat; larutkan 30 gr NaOH dan 5 gr  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dalam 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$  atau 5 ml  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  25% dalam 100 ml NaOH 50%
- e) Asam borat jenuh.
- f) Indikator : Methyl red – methylene mixture; campur 2 bagian 0,2% MR dan 1 bagian methylene blue.
- g) HCl 0,02 N

### 3. Prosedur

- a) Timbang kurang lebih 50 mg bahan kering, masukkan ke dalam labu Kjeldahl (kira-kira membutuhkan titrasi 3-10 ml HCl 0,02 N).
- b) Timbang 40 mg + 10 mg Hg O dan pipet 2,0 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Masukkan ke dalam labu Kjeldahl.
- c) Destruksi sampai tidak terdapat partikel karbon (jernih).
- d) Encerkan campuran hasil destruksi dengan + 2 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , dinginkan.
- e) Olesi dinding labu dengan vaselin, masukkan cairan destilat ke dalam alat destilasi.
- f) Bilas labu Kjeldahl tersebut dengan 3 x, 5 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , masukkan semua kedalam destilator. (Tiap kali penambahan  $\text{H}_2\text{O}$  larutan dimasukkan ke dalam destilator).

- g) Isi erlenmayer 125 ml dengan 5 ml asam borat 4% tambahkan 2-3 tetes indikator mixture. Rendam ujung alat destilas ke dalam larutan asam borat.
- h) Masukkan 8-10 ml larutan NaOH – thiosulfat ke dalam destilator, tutup dan panaskan alas pemanas destilator.  
Perhatian : pada saat destilasi air dalam pendingin balik harus mengalir.
- i) Destilasi destroat sampai didapat destilat  $\pm$  15 ml.
- j) Tambahkan destilat dengan HC1 0,02 N sampai warna abu-abu atau pertama kali timbul warna violet.
- k) Buatlah blanko.

#### 4 Perhitungan :

$$\text{Kadar N (\%)} = (\text{ml HC1 titrasi bahan} - \text{ml titrasi blanko}) \times \text{N HC1} \times 14,007 \times 100 : \text{mg sampel.}$$

$$\text{Kadar protein} = \text{kadar N} \times f$$

f adalah = faktor konfersi N menjadi protein.

Catatan :

Nilai f bervariasi tergantung jenis bahan makanan, misalnya :

Beras	: 5,95
Susu	: 6,38
Kacang tanah	: 5,46
Kedele	: 5,75
Kenari	: 5,18

## PRAKTIKUM 9

### PENENTUAN BILANGAN IODIUM

---

### 1. Prinsip

Adisi iodium ke dalam ikatan rangkap minyak / lemak, kelebihan iodium ditentukan secara iodimetri. Angka Iodium adalah banyaknya miligram iodium yang diikat oleh 100 g minyak / lemak.

### 2. Reagen

- a) Larutan hanus : timbang 13,2 g iodium, larutkan dalam 10 ml glacial acetic acid panas. Tambahkan dengan hati-hati 2 ml larutan breman. Aduk sampai homogen.
- b) Larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,10 N.
- c) Larutan amilum 1%
- d) Chloroform.

### 3. Prosedur

- a) Timbang teliti 0,5 g minyak, ke dalam erlenmeyer bertutup. Tambahkan 10 ml chloroform, kocok.
- b) Tambahkan 25 ml larutan hanus (gunakan buret).
- c) Tutup erlenmeyer, biarkan 30 menit sambil dikocok-koco perlahan-lahan.
- d) Tambahkan 10 ml larutan KI 15%.
- e) Cuci tutup elenmeyer dan dinding dalam labu erlenmeyer dengan 50 ml  $\text{N}_2\text{O}$  bebas  $\text{CO}_2$  dingin.
- f) Titras dengan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N sampai warna coklat muda, segera tambahkan 2 ml amilum 1%.
- g) Titras diteruskan sampai warna biru gelap hilang (sebelum warna biru hilang, erlenmeyer ditutup dan kocok kuat-kuat. Lanjutkan titrasi sampai warna biru hilang).
- h) Buat blanko dengan prosedur yang sama bahan diganti pelarut.
- i) Lakukan standarisasi  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

### 8.3 Perhitungan :

Angka Iodium :

$$\frac{(\text{ml Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ blanko} - \text{ml bahan}) \times \text{N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times \text{BM}}{12 \times 100}$$

Berat bahan dalam gram

---

**Quote for Today**

*Kalau bukan karena ada harapan, maka seorang kakek tidak akan mau menanam pohon. Walaupun belum tentu sang kakek dapat merasakan buahnya.*

*Kalau bukan karena ada harapan, seorang ibu tidak akan mau merawat anaknya.*

---

\* Kakek Nenek kalian pun turut berkontribusi atas kehadiran dan keselamatan kalian saat ini.

\*\* Ingat, ortu kalian punya harapan terhadap kalian 😊

**PRAKTIKUM 10**  
**PENENTUAN BILANGAN ASAM**

---

**1 Prinsip**



Asam lemak bebas yang terdapat dalam lemak/ minyak dinetralkan oleh KOH. Angka Asam adalah banyak mg KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat dalam 1 gr minyak /lemak

## 2. Reagen

- a) Alkohol 95% (netral)
- b) KOH 0,05 N
- c) Indikator phenolphtalein

## 3. Prosedur :

- a) Timbang teliti 10 gr minyak, masukkan ke dalam labu erlenmeyer.
- b) Tambahkan 50 ml alkohol 95% (netral).
- c) Panaskan sampai mendidih dan biarkan mendidih sambil di kocok perlahan-lahan.
- d) Dinginkan dan tambah indikator Pnenolpthaline 3-4 tetes.
- e) Titrasi dengan KOH 0,05 N sampai warna merah muda pucat yang tidak hilang selama 20 – 30 detik.
- f) Lakukan standardisasi KOH.

## 4. Perhitungan

$$\text{Angka Asam} = \frac{\text{MI KOH} \times \text{N KOH} \times \text{BN KOH}}{\text{Berat minyak (gram)}}$$

## PRAKTIKUM 11

### PENENTUAN BILANGAN PENYABUNAN

---

## 1 Prinsip

Penyabunan adalah hidrolisa suatu ester. Penyabunan minyak dilakukan dengan menambahkan larutan KOH alkohol berlebihan. Kelebihan KOH dapat diketahui melalui titrasi dengan standar asam (HC1). angka penyabunan adalah banyaknya miligram KOH yang dibutuhkan untuk menyabun 1 gram lemak/ minyak.

## 2. Prosedur

- Timbang teliti 10 gr minyak, masukkan ke dalam labu erlenmeyer.
- Tambahkan 50 ml KOH alkohol (gunakan buret) ke dalam erlenmeyer bahan dan blanko.
- Siapkan peangas air dan pendingin balik (condensor).
- Sambung erlenmeyer dengan pendingin balik, panaskan dalam penangas air mendidih selama  $\pm$  30 menit. (selama penyabunan, air dalam pendingin balik harus tetap mengalir).
- Dinginkan, kemudian titrasi dengan HC1 0,5 N dengan indikator PP 3 tetes.
- Titrasi sampai larutan berwarna merah muda.
- Blanko juga dititrasi sampai warna merah muda (dengan prosedur yang sama dengan bahan).
- Lakukan standardisasi HC1.

## 3. Perhitungan :

Angka penyabunan :

$$\frac{(\text{ml HC1 blanko} - \text{ml HC1 bahan}) \times N \text{ HC1} \times \text{BM KOH.}}{\text{Berat minyak (gram)}}$$

---

**PRAKTIKUM 12**  
**PENENTUAN KADAR LEMAK KASAR**  
**(CRUDE FAT)**

---

### 1 Prinsip

Lemak diekstraksi oleh eter, setelah eter diuapkan lemak ditentukan secara gravimetri.

### 2. Reagen

Diethyl ether.

### 3. Prosedur :

- a) Timbang dengan tepat labu minyak.
- b) Timbang bahan kering (5 – 10 gr).
- c) Masukkan dalam timble (dasar thimble diberi kapas bebas lemak).
- d) Tutup bahan dengan kapas bebas lemak.
- e) Masukkan thimble ke dalam soxhlet asparatus.
- f) Tambahkan diethyl ether anhidrin secukupnya (2 x ether turun + 1) 15 ml untuk merendam thimble).
- g) Ekstraksi dilakukan dengan memanaskan soxhlet di atas penangas air selama 6 jam.
- h) Lepaskan labu lemak dari asoparatus, uapkan ethernya (hati-hati, jauhkan dari api terbuka).
- i) Panaskan labu lemak dalam oven pada suhu 100 °C selama 2 jam.
- j) Dinginkan dalam desikator, timbang dengan tepat beratnya.

### 4. Perhitungan

$$\text{Kadar lemak : } \frac{\text{Berat labu dengan lemak} - \text{labu kosong}}{\text{Berat bahan kering ( g)}} \times 100\%$$

## PRAKTIKUM 13 PENENTUAN KADAR KALSIMUM

---

### 1 Prinsip

Kalsium diendapkan sebagai Ca oxalat dengan penambahan  $\text{NH}_4$  oxalat jenuh. Asam oxalat akan terbentuk setelah penambahan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pada endapan. Banyaknya Ca ditentukan dengan meniter asam oxalat yang terbentuk dengan  $\text{KMnO}_4$

### 2. Reagen

- a) Larutan ammonium oxalat jenuh
- b) Larutan  $\text{NH}_4\text{OH}$  : 1 bagian  $\text{NH}_4\text{OH}$  p ditambah dengan 4 bagian  $\text{H}_2\text{O}$
- c) Larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  : 1 bagian  $\text{H}_2\text{SO}_4$  p ditambah dengan 4 bagian  $\text{H}_2\text{O}$  (hati-hati)
- d) Indikator methyl red
- e) Larutan  $\text{KMnO}_4$  0,05 N

### 3 Prosedur

- a) Pipet tepat 20 ml larutan bahan, masukan kedalam labu erlenmeyer. Tambahkan 30 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , panaskan sampai mendidih.
- b) Tambahkan 3 tetes MR dan tambahkan 10 ml ammonium oxalat jenuh
- c) Netralkan campuran dengan larutan  $\text{NH}_4\text{OH}$  sampai pH + 5 (warna merah muda).
- d) Didihkan supaya endapan menggumpal, dinginkan dan biarkan +4 jam.
- e) Saring dan cuci endapan dengan  $\text{H}_2\text{O}$  bebas  $\text{CO}_2$  sampai bebas oxalat. Test filtrat dengan  $\text{CaCl}_2$ . 15%
- f) Pindahkan endapan kedalam erlenmeyer, lubangi kertas saring dan siram dengan 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$  panas. Lubangi kertas saring, tambahkan  $\text{H}_2\text{S}_4$  1:4 panas 10 ml.
- g) Panaskan sampai suhu  $80^\circ\text{C}$  dan titrasi dengan  $\text{KMnO}_4$  0,05 N sampai warna merah muda.
- h) Standardisasi  $\text{KMnO}_4$ .

#### 4. Perhitungan

$$[m] \text{ sampel} - \text{ml blanko} \times N \text{ KMnO}_4 \times \frac{\text{ml KMnO}_4}{\text{valensi Ca}} \times \frac{\text{volmue pengencer}}{\text{volume yang dipipet}} \times \frac{100}{B \text{ Zat}} \times \frac{1}{1000}$$

---

#### Quote for Today

*Biarkan orang lain menjalani kehidupan yang kecil,  
tetapi kamu jangan  
Biarkan orang lain memperdebatkan soal-soal kecil,  
tetapi kamu jangan  
Biarlah orang lain menanggapi kepedihan-kepedihan kecil,  
tetapi kamu jangan  
Biarlah orang lain menyerahkan masa depan mereka kepada orang lain,  
tetapi kamu jangan  
-Jim Rohn*

Diambil dari Novel Cinta zahrana hal 167 cetakan 1 mei 2011 karangan  
Habiburahman El Shirazy

---

#### PRAKTIKUM 14



## PENENTUAN IODIUM DALAM GARAM BERYODIUM

---

### 1. Prinsip

Yodium dalam  $KIO_3$  akan dibebaskan oleh  $H_2SO_4$ .  $I_2$  yang dibebaskan akan dititrasi dengan Na Tiosulfat.

### 2. Bahan

- |                         |                |
|-------------------------|----------------|
| a) Garam beryodium      | - $K_2Cr_2O_7$ |
| b) KI 10%               | - amylum 1%    |
| c) $H_2SO_4$ 2 N        | - HCl 6 N      |
| d) $Na_2S_2O_3$ 0,005 N |                |

### 3. Prosedur

- Timbang + 10 gram bahan masukkan kedalam erlenmayer
- Tambahkan 50 ml  $H_2O$ , kemudian tambahkan 3 ml KI 10%.
- Sebelum penambahan KI tambahkan 2 ml  $H_2SO_4$  2 N
- Tutup erlenmeyer dan simpan di tempat yang gelap selama 10 menit
- Bilas tutup erlenmeyer dengan aquadest, kemudian titrasi dengan Na Thiosulfat 0,005 N sampai warna kuning
- Tambahkan indikator amylum 1% sebanyak 1 ml. lanjutkan titrasi sampai warna jernih.

Lakukan standarisasi.

### 4. Perhitungan

$$Kadar KIO_3 = \frac{1000}{BB} \times ml \text{ titrasi} \times \frac{214}{6} \times \frac{N \text{ tio sebenarnya}}{0,005}$$

$$Kadar Yodium = \frac{BA I}{BM KIO_2} \times \text{hasil diatas}$$

## PENENTUAN KADAR ZAT BESI (Fe)

---

### 1 Prinsip

Zat besi (Fe) bereaksi dengan KSCN yang ditambahkan membentuk warna merah darah. Warna tersebut akan diukur intensitasnya dengan spektrofotometer.

### 2. Reagen

- a)  $\text{H}_2\text{SO}_4$  30%; 30 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dimasukkan kedalam 70 ml  $\text{H}_2\text{O}$  (hati-hati, jangan terbalik, tambahkan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  perlahan-lahan)
- b) Larutan kalium persulfat (AR) jenuh; 7 gr K persulfat dilarutkan dalam 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ .
- c) Larutan KSCN 40%
- d) Larutan standar zat besi; 0,7022 gr Fe ammonium sulfat (AR) dilarutkan dalam 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ . tambahkan 5 ml HCl 1 : 1 kemudian encerkan menjadi 1 liter. Kocok homogen (1 ml = 0,1 mg Fe). Larutan standar harus segar (max 6 bl). Working standar dibuat dengan mengencerkan larutan standar 10 kali (1 ml larutan working standar = 0,01 mg Fe).

Catatan : dalam penentuan kadar zat besi, semua reagen dan aquadest sebaiknya bebas ion-ion Fe.

### 3. Prosedur

- a) Pipet tepat 5 ml larutan bahan/mineral, masukkan kedalam tabung reaksi.
- b) Tambahkan 1 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  30% kocok.
- c) Tambahkan 1 ml larutan K persulfat jenuh, kocok.
- d) Tambahkan 1,5 ml larutan KSCN 40% kocok.
- e) Tambah  $\text{H}_2\text{O}$  sampai volume menjadi 10 ml.
- f) Baca warna yang terbentuk pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm.
- g) Buat blanko dengan prosedur yang sama tetapi tanpa larutan bahan. Larutan bahan diganti dengan  $\text{H}_2\text{O}$
- h) Buat kurva standart dengan prosedur yang sama tanpa larutan bahan tetapi diganti dengan berbagai konsentrasi larutan working standar.

## PRAKTIKUM 16

## PENENTUAN KADAR VITAMIN C CARA TITRASI DYE

---

### 1. Prinsip

Vitamin C dalam suasana sam akan mereduksi larutan 2 – 6 dichloropenol indophenol (dye) menjadi dehidro asam askorbat yang tidak berwarna. Kelebihan dye dalam suasana asam akan berwarna merah jambu.

### 2. Bahan/Reagen

a). Lima produk komersial yang berbeda untuk masing-masing kelompok. Kelompok 1 berupa minuman jus; kelompok 2 berupa tablet vitamin C *solid*; kelompok 3 berupa minuman kemasan *liquid*; kelompok 4 berupa minuman kemasan serbuk.

b) Reagen

1. Larutan dye (2,6 didhlorophenolindophenol); timbang 50 mg kristal dye dan 42 mg  $\text{NaHCO}_3$ , larutkan  $\text{NaHCO}_3$  dalam 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$  kemudian masukkan kristal dye. Aduk sampai larut, tambahkan aquadest sampai menjadi 200 ml. saring dan simpan dalam botol coklat bertutup di lemari es. Larutan dye perlu diuji; uji larutan dye adalah sebagai berikut:

Ambil 10 ml larutan dye, tambahkan larutan vitamin c dalam  $\text{HPO}_3$  asam asetat sebanding 5 mg vitamin C. kalau berwarna merah/coklat berarti larutan sudah rusak dan harus diganti yang baru. Bila larutan dye menjadi tidak berwarna berarti larutan masih baik.

2. Larutan  $\text{HPO}_3$ -asam asetat; timbang 15 mg asam  $\text{HPO}_3$  glasial, larutkan dalam 40 ml asam asetat dan 200 ml, kocok kuat-kuat. Encerkan menjadi 500 ml dengan  $\text{H}_2\text{O}$  kemudian disaring. Simpan dalam botol berwarna bertutup dilemari es.

3. Larutan standar vitamin C; timbang kwantitatif 100 mg vitamin C standart, larutkan dengan larutan  $\text{HPO}_3$ -asam asetat sampai 100 ml (gunakan labu seukuran). 1 ml larutan standart setara 1 mg vitamin C.

### 3. Prosedur

- a) Timbang teliti +5 gr bahan, hancurkan dalam mortar dan tambahkan kurang 25 ml larutan  $\text{HPO}_3$ -asam asetat.
- b) Pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu seukuran 100 ml, tambahkan larutan  $\text{HPO}_3$  asam asetat sampai tanda batas. Kocok sampai homogen.
- c) Saring larutan bahan residu dibuang.
- d) Pipet volumetrik 2-5 ml filtrat bahan, masukkan kedalam erlenmeyer yang sudah diisi dengan larutan  $\text{HPO}_3$  asam asetat. Volume total untuk titrasi adalah 7 ml sehingga apabila dipipet 5 ml larutan bahan diperlukan 2 ml larutan  $\text{HPO}_3$  asam asetat.
- e) Titrasi dengan larutan dye sampai warna merah jambu yang tidak hilang dalam 5 detik atau lebih.
- f) Lakukan standarisasi larutan dye dengan memipet 2 ml larutan standart vitamin C. ikuti prosedur diatas kecuali penambahan larutan bahan.



## PRAKTIKUM 17

### PENENTUAN KADAR PHOSFOR (P)

---

#### 1. Prinsip

Phospor yang ada dalam larutan abu direaksikan dengan ammonium molibdat, akan membentuk fosfomolibdat yang berwarna biru. Warna yang timbul diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm.

#### 2. Reagen

- a) Larutan ammonium molibdat – asam sulfat : 25 gr ammonium molibdat dilarutkan dalam 300 ml H<sub>2</sub>O. ukur 5 ml lebih asam sulfat pekat, larutkan dengan H<sub>2</sub>O menjadi 200 ml. Masukkan larutan ini kedalam larutan ammonium molibdat.
- b) Larutan hidroquinon; 0,5 gr hidroquinon dilarutkan dalam 100 ml H<sub>2</sub>O. tambahkan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.
- c) Larutan Natrium sulfat; larutkan 200 gr Na<sub>2</sub>SO<sub>2</sub> dalam 1 liter H<sub>2</sub>O, saring bila perlu.
- d) Larutan standart fosfat; timbang 0,9394 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, larutkan dalam 1 liter H<sub>2</sub>O masukkan dalam labu seukuran 1000 ml larutan working standart 10 ml larutan standar dilarutkan menjadi 100 ml. 1 ml setara dengan 0,01 mg P.

#### 3. Prosedur

- a) Pipet 10,00 ml larutan mineral, masukkan dalam erlenmeyer.
- b) Tambahkan 1 ml larutan ammonium molibdat, 1 ml larutan hidroquinon dan 1 ml Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> dengan urutan diatas. Setiap kali penambahan reagen kocok dengan baik.
- c) Tambah H<sub>2</sub>O sampai volume menjadi 15 ml.
- d) Diamkan selama 30 menit.
- e) Buat blanko dengan prosedur yang sama kecuali penambahan bahan.
- f) Buat kurva standart untuk menghitung konsentrasi P (standart berkisar antara 0,01 – 0,1 mg P) dengan prosedur diatas.



#### 4. Perhitungan

$$\frac{\text{serapan contoh} - \text{serapan blanko}}{\text{serapan standar} - \text{serapan blanko}} \times \frac{\text{konsentrasi std}}{\text{berat contoh}} \times f_p \times 100\%$$

$f_p$  = faktor pengenceran

---

#### Quote for Today

**Minimal, jika tidak bisa membantu jangan mengganggu**

**Tidak bisa berkata baik, jangan mencaci**

**Tidak bisa membersihkan, jangan mengotori**

**Tidak bisa memelihara, jangan merusak**

---

## PRAKTIKUM 18

### PENENTUAN FORMALIN SECARA KUALITATIF

---

Formalin dengan rumus kimia  $\text{CH}_2\text{O}$  merupakan bahan yang berbentuk cairan dalam suhu ruang, tidak berwarna, bau sangat menyengat, mudah larut dalam air dan alkohol. Formalin berfungsi sebagai desinfektan, cairan pembalsem, pengawet jaringan, dan digunakan di industri tekstil dan kayu lapis. Kemampuan formalin dalam mengawetkan suatu bahan disalah gunakan oleh beberapa pedagang untuk bahan makanan. Formalin bersifat racun bila terhirup. Uapnya dapat membuat iritasi pada saluran pernapasan dan kulit. Paparan larutan formalin dapat membuat rasa terbakar pada mata dan kulit. Secara kualitatif, beberapa metode berikut dapat menunjukkan adanya formalin dalam bahan makanan.

#### **a. Fenilhidrazina**

Ditimbang sebanyak 10 gram sampel kemudian potong kecil-kecil, dan masukkan ke dalam labu destilat, tambahkan aquadest 100 ml ke dalam labu destilat, destilasi dan filtrat ditampung menggunakan labu ukur 50 ml. Ambil 2-3 tetes hasil destilat sampel, diteteskan pada plat tetes, dan tambahkan 2 tetes Fenilhidrazina hidroklorida, 1 tetes kalium heksasioferat (III), dan 5 tetes HCl. Jika terjadi perubahan warna merah terang (positif formalin).

#### **b. Asam Kromatofat**

Sebanyak 10 gram sampel yang telah dihaluskan dicampur dengan 50 ml air, lalu diaduk. Campuran dipindahkan ke dalam labu destilat dan diasamkan dengan  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Labu destilat dihubungkan dengan pendingin dan didestilasi. Hasil destilasi ditampung.

Larutan pereaksi Asam kromatofat 0,5% dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$  60% (asam 1,8 dihidroksinaftalen 3,6 disulfonat) sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 ml larutan hasil destilasi sambil diaduk. Tabung reaksi dimasukkan dalam penangas air yang mendidih selama 15 menit dan amati

perubahan warna yang terjadi. Adanya HCHO ditunjukkan dengan adanya warna ungu terang sampai ungu tua.

c. Larutan Schiff

Timbang 10 gram sampel dan dipotong potong kemudian dimasukkan kedalam labu destilat, ditambahkan 50 ml air, kemudian diasamkan dengan 1 ml  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Labu destilat dihubungkan dengan pendingin dan didestilasi. Hasil destilasi ditampung labu ukur 50 ml. Diambil 1 ml hasil destilat dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1:1 ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat) lewat dinding, kemudian ditambahkan 1 ml larutan schiff, jika terbentuk warna ungu maka positif formalin.

## PRAKTIKUM 19

### PENENTUAN BORAKS SECARA KUALITATIF

---

**Boraks** dengan rumus kimia  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  atau  $\text{Na}_2[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$  adalah campuran garam mineral konsentrasi tinggi yang dipakai pada beberapa makanan tradisional, seperti karak dan gendar. Nama lain Boraks ialah *natrium biborat*, *natrium piroborat*, *natrium tetraborat*. Dalam dunia industri, boraks menjadi bahan solder, bahan pembersih, pengawet dan antiseptik kayu, serta pengontrol kecoa. Penentuan Boraks dapat dilakukan dengan beberapa cara berikut:

#### a. Uji Nyala

Sampel yang telah di oven ditimbang sebanyak 5gr dan dipotong-potong kecil, lalu dimasukkan ke dalam cawan porselin, dipijarkan pada pemijar pada suhu  $600^\circ\text{C}$  selama 5 jam, kemudian sisa Pemijaran ditambahkan 1-2 tetes asam sulfat pekat dan 5-6 tetes metanol, kemudian dibakar. (hijau kekuningan positif adanya boraks)

#### b. Uji warna kertas kurkuma

Sampel yang telah di oven ditimbang sebanyak 5gr dan dipotong-potong kecil, lalu sampel ditambahkan 5 gr  $\text{CaCO}_3$ , lalu dimasukkan ke dalam cawan porselin, dipijarkan pada pemijar pada suhu  $600^\circ\text{C}$  selama 5 jam, kemudian sisa pemijaran ditambahkan 3 ml HCl 10%, kemudian celupkan kertas kurkuma. (warna orange kemerahan positif boraks).

## PRAKTIKUM 20

### PENENTUAN RHODAMIN B SECARA KUALITATIF

---

Rhodamin B dengan rumus kimia  $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$  dalam dunia industri digunakan sebagai pewarna sintetik. Pewarna ini sering digunakan pedagang untuk mewarnai makanan karena warnanya yang menarik. Tetapi senyawa ini beracun karena kandungan klorinnya. Untuk menentukan ada atau tidaknya rhodamin, uji berikut dapat dilakukan.

#### **Preparasi sampel**

Beberapa ml atau gr sampel ditimbang. Untuk sampel cair (minuman) diasamkan dengan asam asetat, jika sampel makanan larut dalam air (saus) dilarutkan dalam 30 mL air.

#### **Pengujian**

Reaksi khusus untuk Rhodamin B

1. Ditambahkan 1 mL NaOH 10% ke dalam kedua sampel sampai basa.
2. Ditambahkan 2 mL eter, lalu digojog dan dipisahkan. Ambil lapisan eternya.
3. Ditambahkan 2 mL HCl 10% secukupnya. Amati hasil yang terjadi.

Warna merah di lapisan bawah (lapisan asam) menandakan positif rhodamin B



## PRAKTIKUM 21

### PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PANGAN

---

Salah satu metode penentuan aktivitas antioksidan adalah metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl*) (Mollineux 2004). Metode ini memperlihatkan karakteristik spektrum dimana absorbansi maksimum berada pada  $\lambda$  520 nm dalam solven organik. Dalam mekanisme pengujian aktivitas antioksidan, antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH secara langsung dan memulihkannya melalui transfer elektron maupun hidrogen.

#### Preparasi dan Pengujian Sampel

1. Pembuatan larutan 0,4 mM DPPH dilakukan dengan cara menimbang 16 mg DPPH (BM = 394.33) dan dilarutkan dalam 100 mL metanol p.a, dihomogenkan kemudian ditempatkan dalam botol gelap.
2. Selanjutnya dilakukan pembuatan larutan blanko dengan cara memipet larutan DPPH 0.4 mM sebanyak 1 mL lalu di masukan ke dalam labu volumetrik 5 mL ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas kemudian dihomogenkan.
3. Pembuatan larutan uji dilakukan dengan cara menimbang 10 mg sampel menggunakan timbangan analitik, dilarutkan dengan metanol p.a sampai 10 mL (1000 ppm) dalam tabung tertutup.
4. Larutan sampel kemudian diaduk dengan menggunakan *shaker* selama 2 jam.
5. Selanjutnya dipisahkan filtrat dan residu sampel menggunakan alat sentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit.
6. Lakukan pemisahan filtrat dengan residu secara berulang sampai warna filtrat bening.
7. Filtrat kemudian dipisahkan dengan alat *rotaporator*.
8. Hasil dari pemekatan filtrat selanjutnya ditambahkan methanol pa hingga mencapai volume 5 mL.
9. Filtrat yang telah melalui prosedur di atas kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 20  $\mu$ l lalu ditambahkan larutan DPPH (1 mM sebanyak 1 mL dan ditambahkan air bebas ion sampai volume mencapai 5 mL.

10. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C atau suhu ruang selama 30 menit.
11. Reaksi dilakukan di ruangan redup (gelap), selanjutnya serapannya diukur pada panjang gelombang 516 nm.

### Perhitungan

Satuan aktivitas antioksidan dinyatakan dalam *Half Maximal Inhibitory Concentration* (IC<sub>50</sub>).

$$\text{Persen efektivitas penghambatan (\%)} = (1 - A_{\text{sampel 516nm}} / A_{\text{kontrol 516nm}}) \times 100$$

IC<sub>50</sub> dihitung melalui persamaan *linear equation* kurva persen penghambatan berupa  $y = ax + b$ ;

$$\text{IC}_{50}(x) = (y - b) / a, \text{ dengan } y = 50$$

Pengkategorian aktivitas antioksidan (Omisore *et al.* 2005)

---

<i>Moderate antioxidant activity</i>	$\geq 0.05 \text{ mg/mL}$
--------------------------------------	---------------------------

<i>High antioxidant activity</i>	$< 0.05 \text{ mg/mL}$
----------------------------------	------------------------

---

**DAFTAR PUSTAKA**

1. Day, RA and Underwood, AL. (2002). *Analysis Kimia Kuantitatif* 6<sup>th</sup> Edition. Jakarta : Penerbit Erlangga.
2. Mollyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 26: 211–219.
3. Nielsen, S.S. (2010). *Food Analysis. Food Science Text Series.* Springer Science-Business Media.
4. Omisore N O A, Adewunmi C O, Iwalewa E O, Ngadjui B T, Adenowo T K, Abegaz B M, Ojewole J A, Watchueng J. (2005). Antitrichomonal and antioxidant activities of *Dorstenia barteri* and *Dorstenia convexa*. *Braz J Med Biol Res.* 38:1087 - 1094.
5. Puwastien P, Siong T E, Kantasubrata J, Craven G, Feliciano RR, Judprasong K. (2011). *ASEAN Manual of Food Analysis.* Institute of Nutrition, Mahidol University.

Lampiran 1. Contoh penyajian hasil dengan tabel

<b>Bahan Makanan</b>	<b>Satuan/Unit (misal: %, g, ml, dsb)</b>	<b>U1<sup>a</sup></b>	<b>U2</b>	<b>U3</b>	<b>Rataan±SD<sup>b</sup></b>	<b>Metode<sup>c</sup></b>

<sup>a</sup>= ulangan, <sup>b</sup>=standar deviasi, <sup>c</sup>=tuliskan metode yang digunakan jika lebih dari satu, jika sama isi dengan ‘-‘