

# Analisis Karbohidrat





# Metode Analisis

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



# Karbohidrat dalam bahan pangan

---

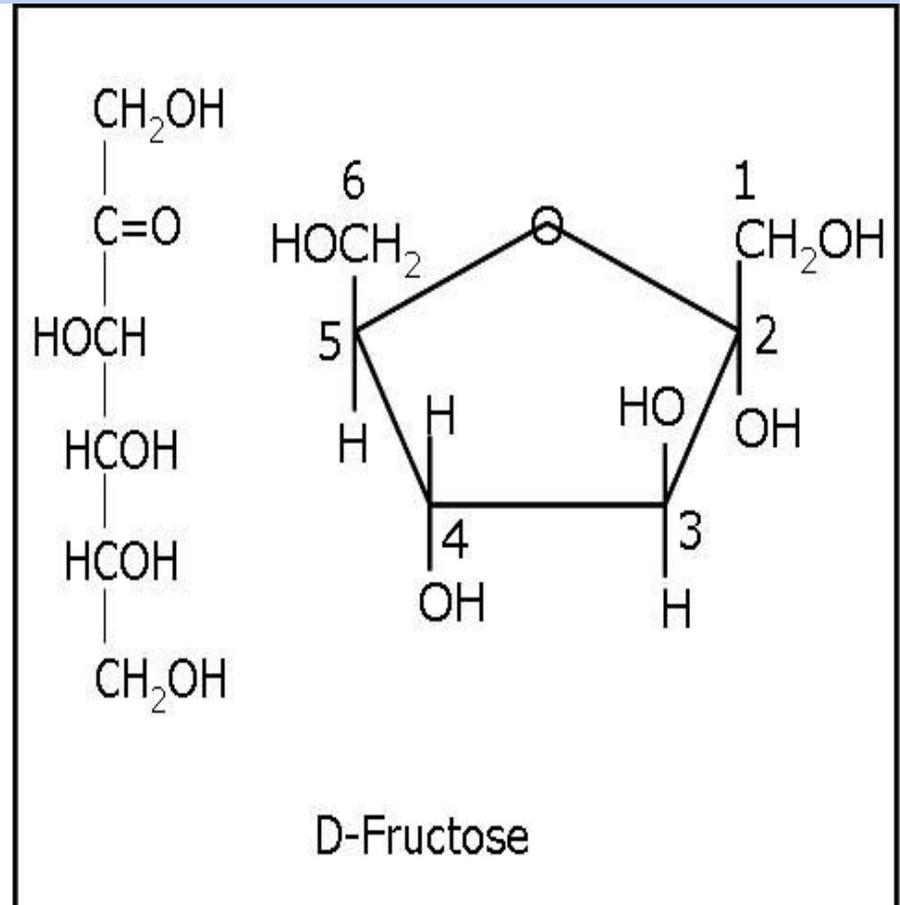
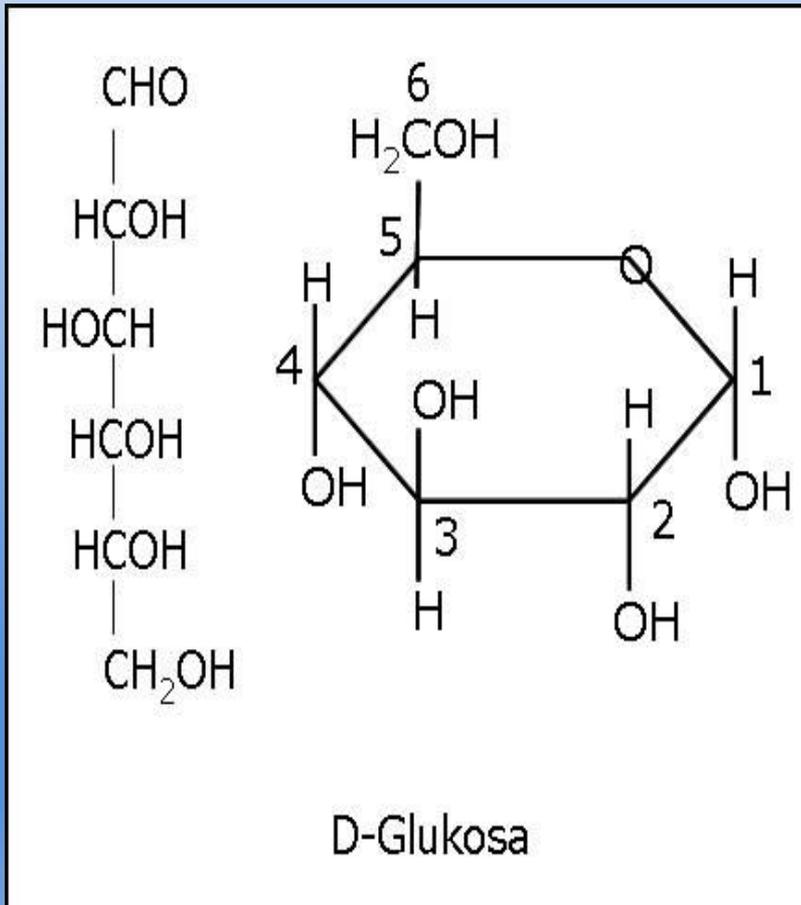
- Berdasarkan struktur kimianya, karbohidrat dapat dikelompokkan menjadi:
  - karbohidrat dengan struktur yang sederhana (seperti mono-sakarida dan disakarida)
  - oligosakarida (seperti stakiosa, rafinosa, fruktooligosakarida, galaktooligosakarida)
  - polisakarida (seperti pati, glikogen, selulosa dan serat pangan).

# Monosakarida

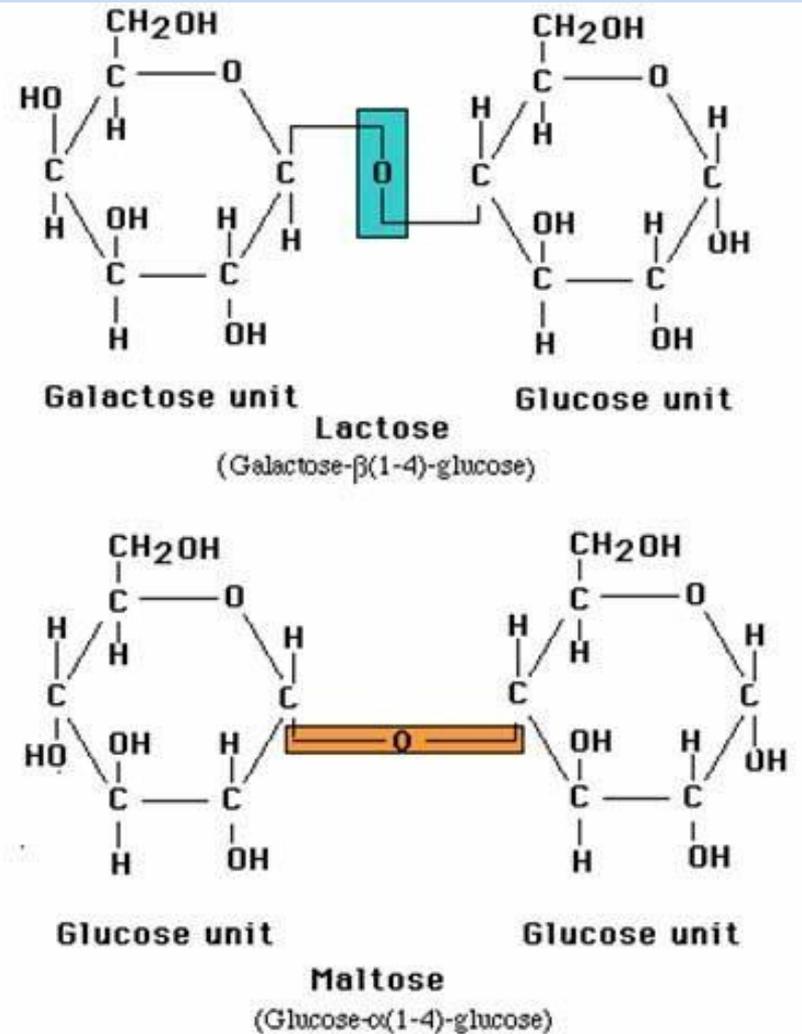
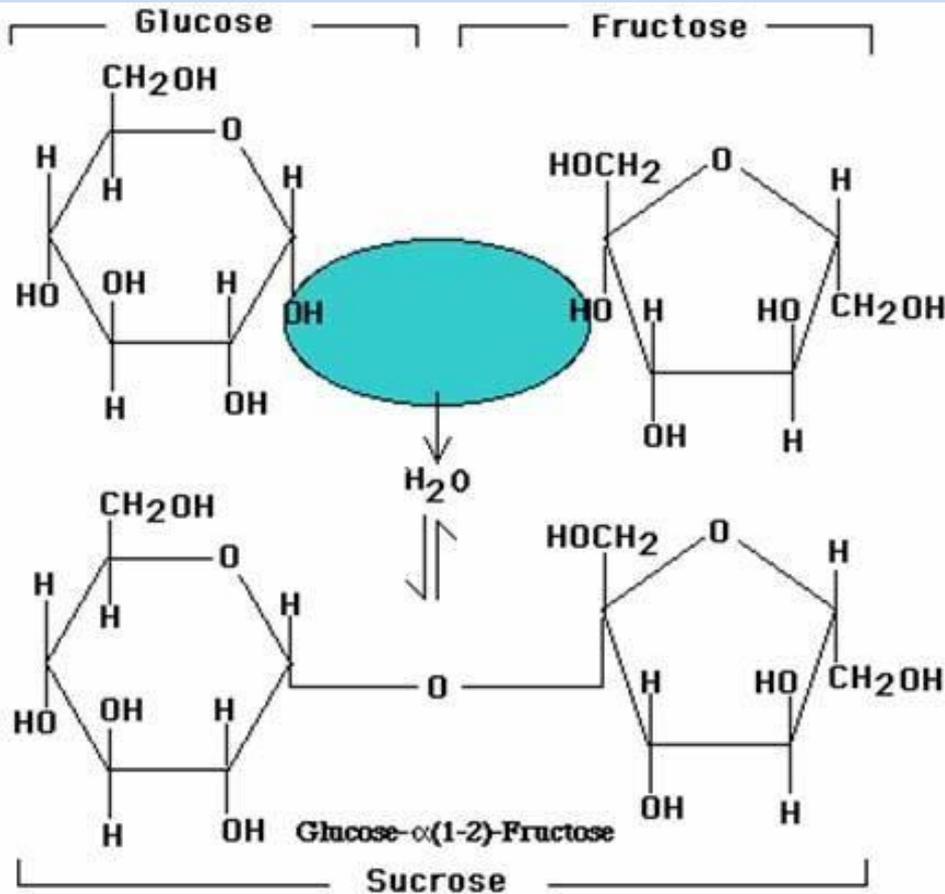
---

- Struktur monosakarida ada yang memiliki gugus fungsional aldehida (seperti glukosa dan galaktosa) dan yang memiliki gugus keton (seperti fruktosa).
- Gula yang memiliki gugus aldehida bebas umumnya memiliki sifat mereduksi (disebut juga gula pereduksi).
- Struktur kimia monosakarida dapat dinyatakan sebagai struktur garis (proyeksi Fischer) atau struktur cincin (proyeksi Haworth).
- Struktur cincin glukosa dan galaktosa adalah piranosa (segi 6), sedangkan fruktosa adalah furanosa (segi 5).

# Struktur glukosa dan fruktosa dalam bentuk proyeksi Fischer dan Haworth



# DISAKARIDA



# Kadar Karbohidrat

---

- Kadar karbohidrat berdasar analisis proksimat dihitung secara *by difference* ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$100 - (\% \text{ air} + \% \text{ abu} + \% \text{ lemak} + \% \text{ protein})$$

- Kadar karbohidrat yang dapat dicerna dihitung secara *by difference* ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$100 - (\% \text{ air} + \% \text{ abu} + \% \text{ lemak} + \% \text{ protein} + \% \text{ serat pangan})$$



# Analisis Karbohidrat

## Uji Kualitatif Karbohidrat



# Uji Molisch

- Uji KH secara umum
- Uji Molisch dinamai sesuai penemunya yaitu Hans Molisch, seorang ahli botani dari Australia.
- Prosedur Kerja :
  - a. Masukkan ke dalam tabung reaksi 1 ml sample
  - b. Tambahkan 2 tetes reagen Molish dan dikocok.
  - c. Tambahkan 1 ml  $H_2SO_4$
  - d. Amati hasilnya

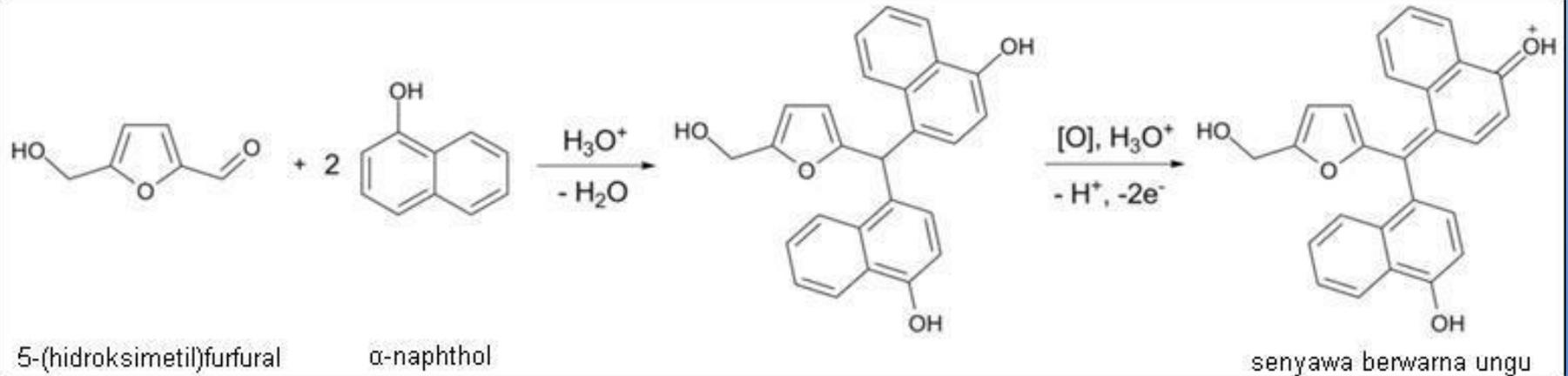
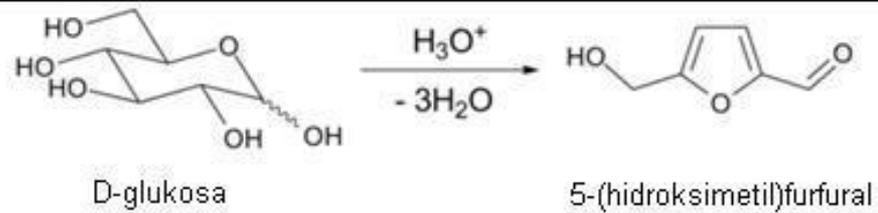


# Uji Molisch

- Uji ini didasari oleh reaksi dehidrasi karbohidrat oleh asam sulfat membentuk cincin furfural yang berwarna ungu.
- Reaksi positif ditandai dengan munculnya cincin ungu di permukaan antara lapisan asam dan lapisan sampel
- Sampel yang diuji dicampur dengan reagent Molisch, yaitu  $\alpha$ -naphthol yang terlarut dalam etanol.
- Setelah pencampuran atau homogenisasi,  $H_2SO_4$  pekat perlahan-lahan dituangkan melalui dinding tabung reaksi agar tidak sampai bercampur dengan larutan atau hanya membentuk lapisan.



# Reaksi





# Uji Molisch





# Uji Benedict

- Uji kimia untuk mengetahui kandungan gula (karbohidrat) pereduksi. Gula pereduksi meliputi semua jenis monosakarida dan beberapa disakarida seperti laktosa dan maltosa
- Prosedur Kerja:
  - a. Masukkan ke dalam tabung reaksi 2 tetes sampel
  - b. Tambahkan 1 ml Benedict.
  - c. Panaskan dalam penangas air.
  - d. Amati hasilnya

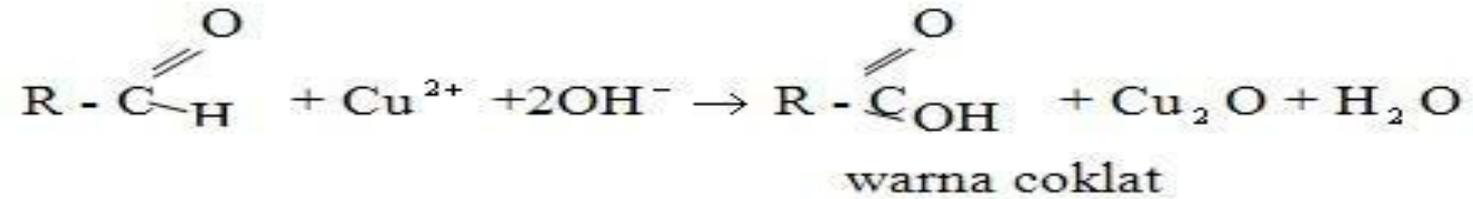


# Uji Benedict

- Pada uji Benedict, pereaksi ini akan bereaksi dengan gugus aldehid, kecuali aldehid dalam gugus aromatik, dan alpha hidroksi keton.
- Oleh karena itu, meskipun fruktosa bukanlah gula pereduksi, namun karena memiliki gugus alpha hidroksi keton, maka fruktosa akan berubah menjadi glukosa dan mannosa dalam suasana basa dan memberikan hasil positif dengan pereaksi benedict



# Uji Benedict





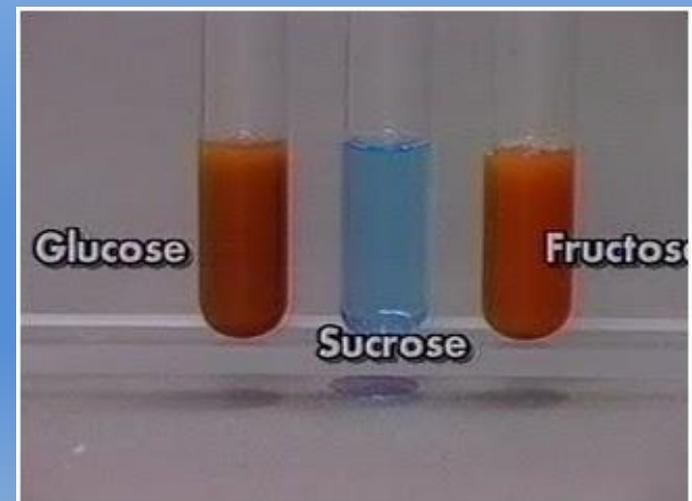
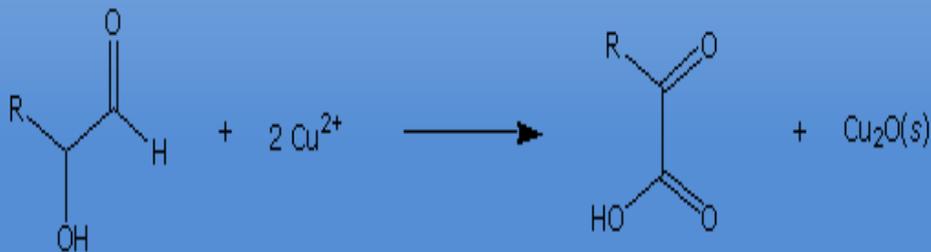
# Uji Barfoed

- Adalah uji untuk membedakan monosakarida dan disakarida dengan mengontrol kondisi pH serta waktu pemanasan.
- Prosedur Kerja :
  - a. masukkan 5 tetes larutan sample ke dalam tabung reaksi.
  - a. tambahkan 1 ml reagen Barfoed.
  - b. panaskan dalam penangas air, hitung waktu sampai terbentuk perubahan warna merah bata.
  - c. amati hasilnya.



# Uji Barfoed

- Prinsipnya berdasarkan reduksi  $\text{Cu}^{2+}$  menjadi  $\text{Cu}^+$
- Sampel monosakarida mempunyai waktu yang lebih cepat membentuk warna merah bata pada uji barfoed





# Uji Yodium

- Pati dan iodium membentuk ikatan kompleks berwarna biru.
- Prosedur kerja:
  - a.1 tetes sample di atas druppel plate.
  - b. tambahkan 1 tetes larutan yodium.
  - c. amati warna yang terjadi.





# Uji Yodium

- Pati dalam suasana asam bila dipanaskan dapat terhidrolisis menjadi senyawa yang lebih sederhana, hasil pemecahan pati jika diuji dengan iodium akan memberikan warna biru, coklat, kuning sampai tidak berwarna





# Analisis Karbohidrat

## Uji Kuantitatif Karbohidrat



# Analisis Karbohidrat

## Persiapan Sampel

(Analisis Total Gula dan Gula Reduksi)



# Sampel Cair

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



# Sampel Padat

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



# Analisis Total gula

## Metode Anthrone

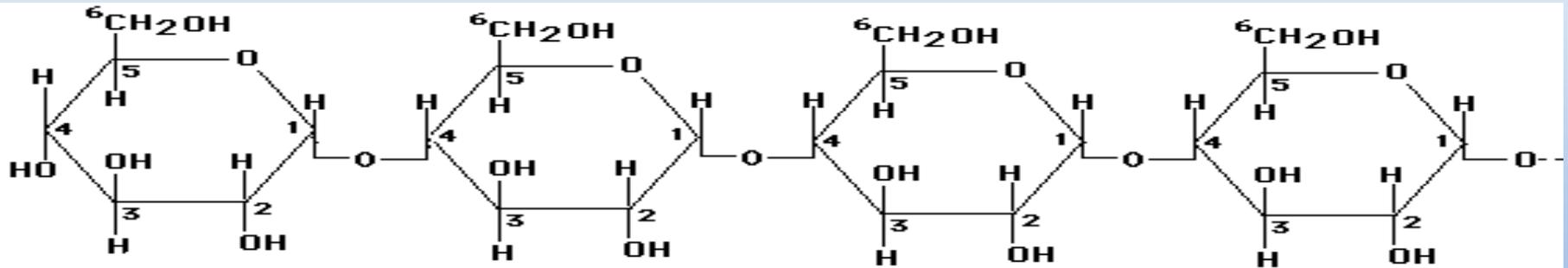
- Karbohidrat dalam asam sulfat akan dihidrolisis menjadi monosakarida dan selanjutnya monosakarida mengalami dehidrasi oleh asam sulfat menjadi furfural atau hidroksil metil furfural.
- Selanjutnya senyawa furfural ini dengan anthrone (9, 10 dihidro-9-oxoanthracene) membentuk senyawa kompleks yang berwarna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

# PATI

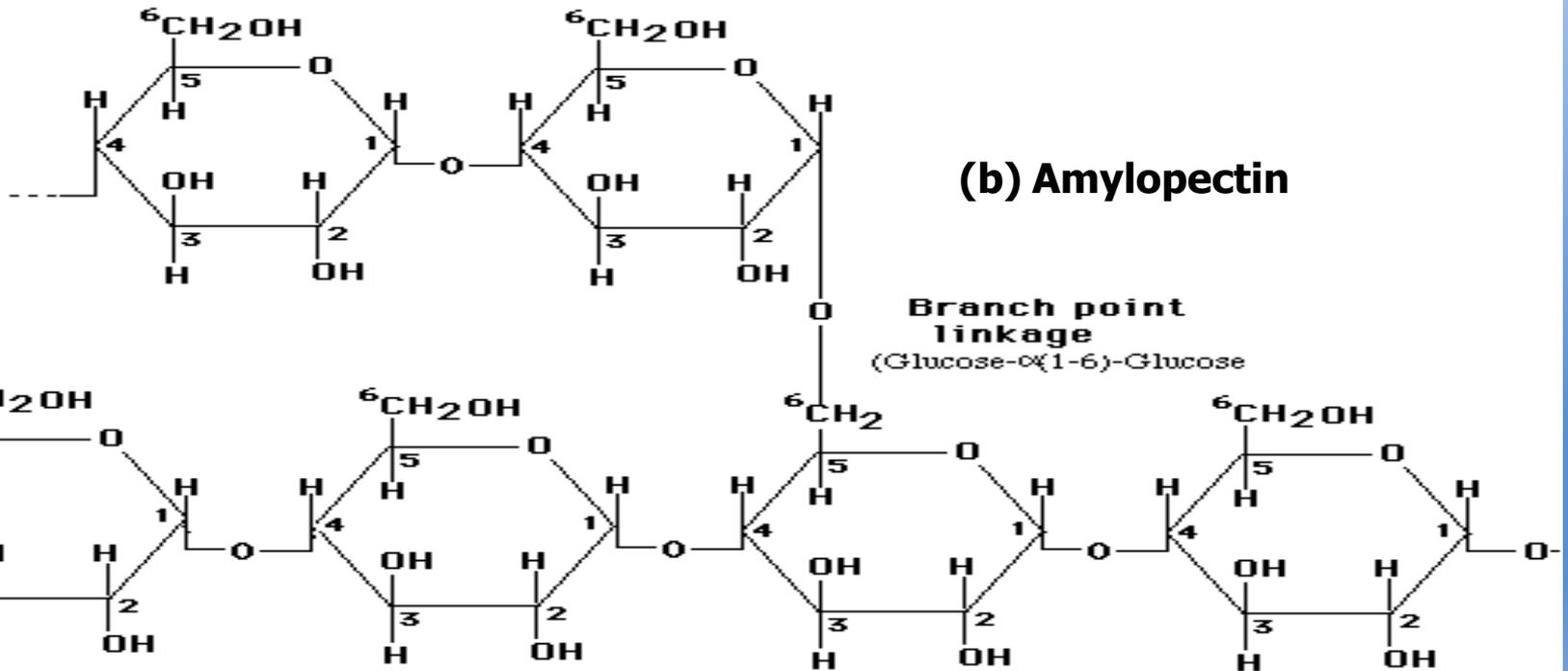
---

- Pati tersusun dari dua makromolekul, yaitu amilosa dan amilopektin yang komposisinya berbeda untuk setiap jenis pati.
- Kedua makro-molekul ini dibentuk dari monomer D-glukosa dan berada dalam bentuk granula.
- Amilosa memiliki struktur linear dimana D-glukosa dihubungkan melalui ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik.
- amilopektin tersusun oleh monomer D-glukosa yang memiliki gugus percabangan yang dibentuk dari ikatan  $\alpha$ -1,6-glikosidik di samping ikatan  $\alpha$ -1,4-glikosidik yang membentuk struktur linear.
- Rasio amilosa dan amilo-pektin dalam pati menentukan sifat gelatinisasi pati (kemampuan mengentalkan dan membentuk gel).

# Struktur amilosa (a) dan amilopektin (b)



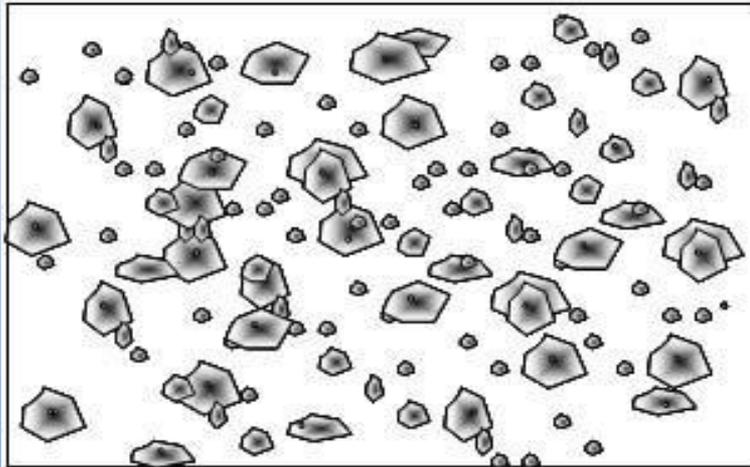
**(a) Amylose**  
(Glucose- $\alpha$ (1-4)-Glucose)



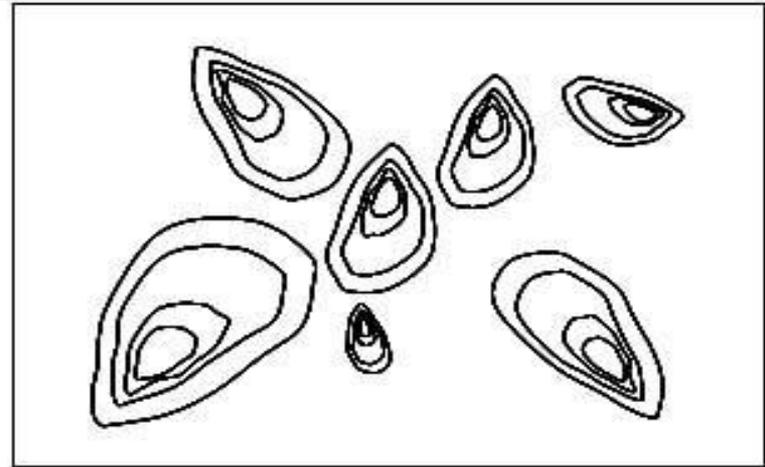
**(b) Amylopectin**

**Branch point linkage**  
(Glucose- $\alpha$ (1-6)-Glucose)

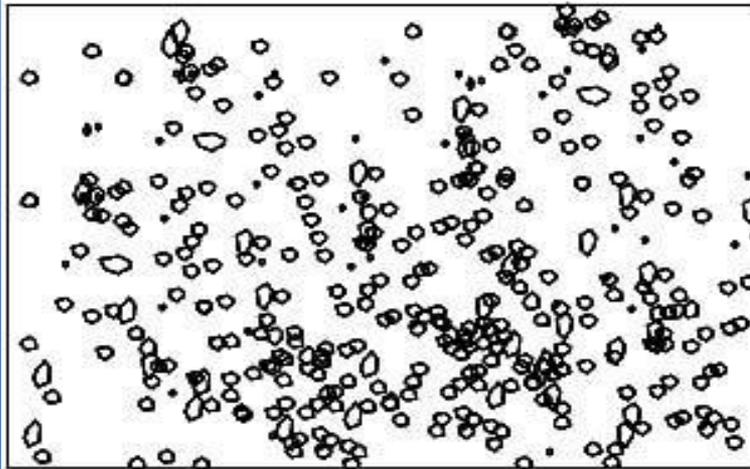
# Bentuk granula pati dari berbagai sumber (birefringence)



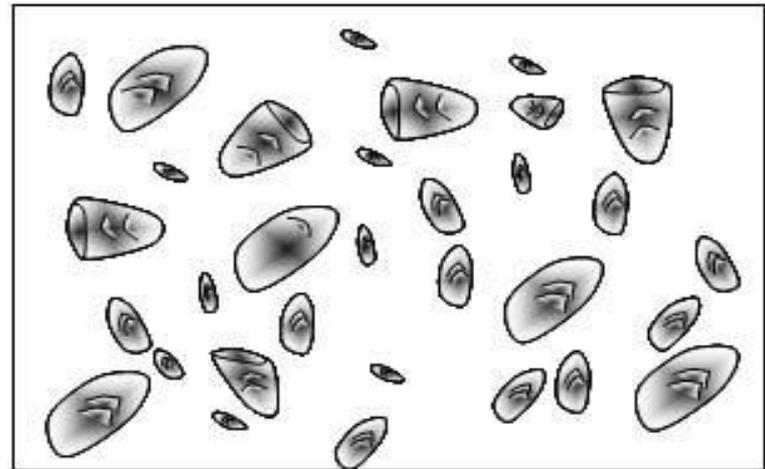
Jagung



Kentang



Beras



Tapioka

# Analisis Pati



- Prinsip analisis: pati dihidrolisis oleh asam/enzim, dan hasil hidrolisis pati dianalisis dengan metode gula reduksi. Jumlah gula reduksi ekuivalen dengan jumlah pati
- Kadar pati = kadar gula reduksi x 0.9
- $BM \text{ pati} / BM \text{ gula} = (m \times 162) / (m \times 180) = 0.9$
- Untuk bahan yang mengandung pati dan dekstrin

# Analisis Pati



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

# Analisis Pati



- **Gula Reduksi**
- Golongan gula (KH) yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron, contohnya adalah glukosa dan fruktosa
- Ujung dari suatu gula pereduksi adalah ujung yang mengandung gugus aldehida atau keto bebas. Semua monosakarida dan disakarida kecuali sukrosa termasuk sebagai gula pereduksi.

# Analisis Pati



## Analisis Gula Reduksi (Nelson-Somogyi)

- Hasil reduksi kuprooksida yang bereaksi dengan arsenomolybdat dan akan mereduksi menjadi molybdine blue dan warna biru inilah yang akan diukur nilai absorbansinya. Intensitas warna biru yang terbentuk ekuivalen dengan jumlah gula reduksi dalam sampel



# Analisis Pati

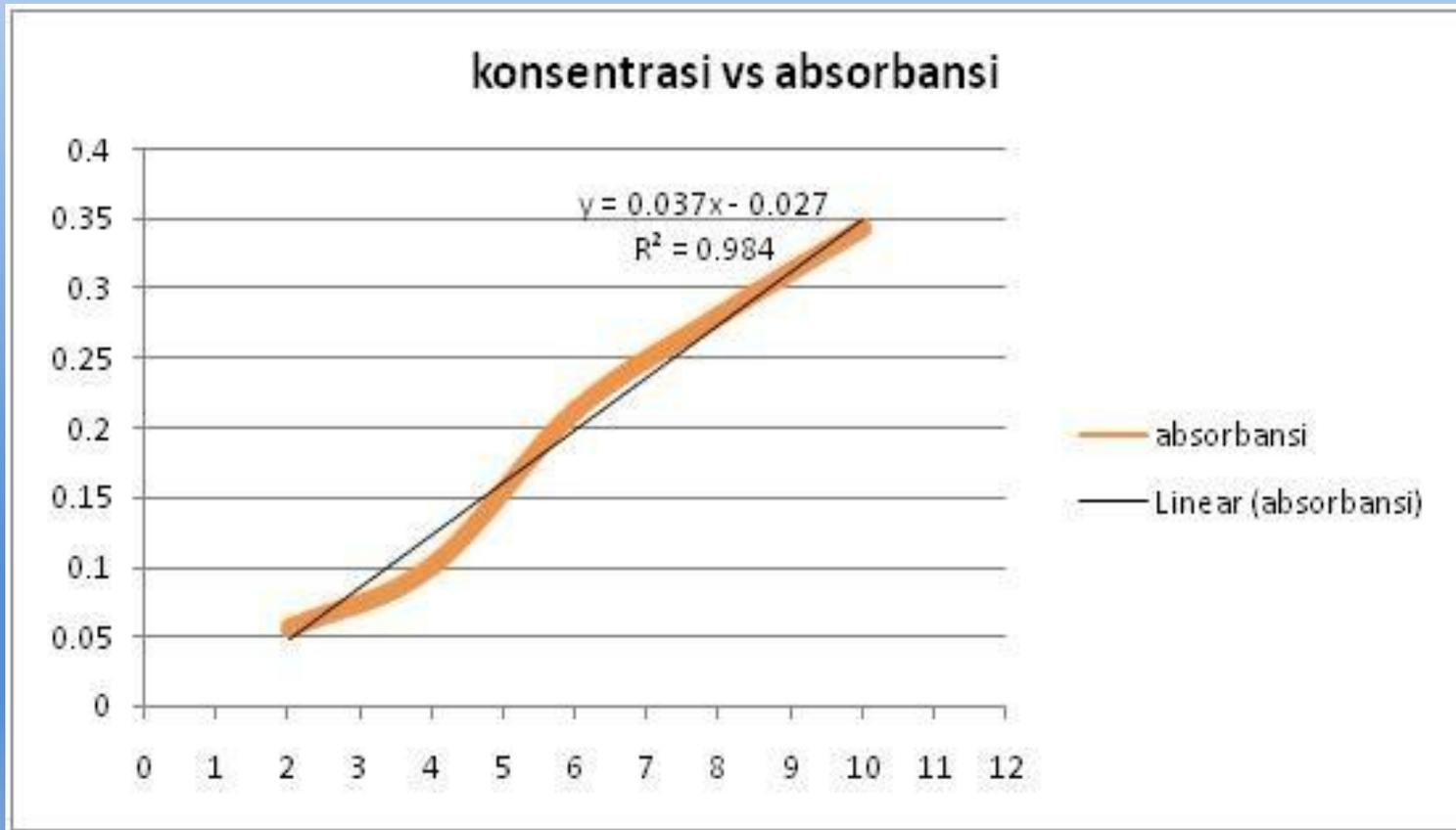


Konsentrasi	Absorbansi
blanko	0.089
2 mg/100ml	$0.146 - 0.089 = 0.057$
4 mg/100ml	$0.189 - 0.089 = 0.100$
6 mg/100ml	$0.301 - 0.089 = 0.212$
8 mg/100ml	$0.370 - 0.089 = 0.281$
10 mg/100ml	$0.432 - 0.089 = 0.343$

# Analisis Pati



- Kurva Standart



# Analisis Pati



- Contoh Soal :
- Berdasarkan kurva glukosa standar tersebut, hitung konsentrasi gula reduksi hasil hidrolisis sampel pati jika nilai absorbansi yang didapat adalah 0.5



# SERAT

- **Serat kasar** adalah residu dari bahan pangan yang telah diperlakukan dengan asam dan alkali mendidih.
- Serat kasar ditentukan dengan cara menentukan residu setelah contoh bahan pangan diperlakukan dengan asam dan basa kuat.
- **Serat pangan** adalah bagian dari komponen bahan pangan nabati yang tidak dapat dicerna oleh saluran pencernaan manusia.
- Serat pangan dapat ditentukan dengan menganalisis kadar *acid detergent fiber* (ADF), *neutral detergent fiber* (NDF), lignin dan substansi



# Analisis Serat Kasar

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



# Analisis Serat Kasar

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



# Analisis Serat Kasar

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



# Analisis Serat Kasar

- Tambahkan 200 ml larutan  $H_2SO_4$  mendidih ( $125 \text{ g } H_2SO_4 \text{ pekat}/100 \text{ ml} = 0.255 \text{ N } H_2SO_4$ ) dan tutuplah dengan pendingin balik, dididihkan selama 30 menit dengan kadangkala digoyang-goyangkan.
- Saring suspensi melalui kertas saring dan residu yang tertinggal dalam erlenmeyer dicuci dengan aquades mendidih. Cucilah residu dalam kertas saring sampai air cucian tidak bersifat asam lagi (uji dengan kertas lakmus).
- Pindahkan secara kuantitatif residu dari kertas saring ke dalam erlenmeyer kembali dengan spatula dan sisanya dicuci dengan larutan  $NaOH$  mendidih ( $1.25 \text{ g } NaOH/100 \text{ ml} = 0,313 \text{ N } NaOH$ ) sebanyak 200 ml sampai semua residu masuk ke dalam erlenmeyer. Dididihkan dengan pendingin balik sambil kadangkala digoyang-goyangkan selama 30 menit.

# Analisis Serat Pangan



## *Serat Pangan (Dietary Fiber)*

- Analisis selulosa, hemiselulosa, lignin dan substansi pektat, meliputi :
- Metode ADF (*Acid Detergent Fiber*)
- Metode NDF (*Neutral Detergent Fiber*)
- Penetapan Lignin
- Penetapan Substansi Pektat

# NDF : Neutral Detergent Fiber

- Prinsip penetapan NDF adalah dengan mengekstrak contoh dengan larutan NDF yang terdiri dari campuran EDTA,  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ , lauril sulfat,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dan 2-etoksi-etanol) sehingga seluruh komponen selain komponen NDF larut.
- Komponen yang tidak larut kemudian disaring, dikeringkan, ditimbang dan dikoreksi dengan kandungan mineralnya.

# ADF : Acid Detergent Fiber

---

- Prinsip penetapan ADF adalah dengan mengekstrak contoh dengan larutan ADF (setiltrimetil amonium bromida dalam  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1N), sehingga seluruh komponen selain komponen ADF larut.
- Komponen yang tidak larut kemudian disaring, dikeringkan, ditimbang dan dikoreksi dengan kandungan mineralnya.

# Analisis Serat Pangan



## *Serat Pangan (Dietary Fiber)*

- Analisis metode deterjen (NDF dan ADF) didasarkan pada kemampuan deterjen melarutkan lemak, komponen mengandung N, gula dan bbrp jenis pati.
- ADF : sebagian besar selulosa dan lignin
- NDF : sebagian besar selulosa, hemiselulosa dan lignin

# Analisis Serat Pangan



Sehingga :

- Kadar hemiselulosa = kadar NDF – ADF
- Kadar selulosa = kadar ADF – kadar lignin
- Total serat pangan = kadar NDF + substansi pektat

# Analisis Serat Pangan



## *Metode ADF*

- Ekstraksi contoh sampel dengan larutan ADF (setilmetil amonium bromida dalam  $H_2SO_4$  1 N)
- Komponen selain ADF larut, komponen tak larut disaring, dikeringkan dan ditimbang
- Dikoreksi kandungan mineralnya dengan pengabuan kering
- Kadar ADF = selisih berat residu setelah diabukan dengan berat sampel awal

# Analisis Serat Pangan



## *Metode NDF*

- Untuk sampel mengandung pati, hidrolisis dg alfa amilase terlebih dahulu
- Ekstraksi contoh sampel dengan larutan NDF (campuran EDTA,  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ , lauril sulfat,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dan 2-etoksi etanol) hingga seluruh komponen non NDF larut
- Komponen tak larut disaring, dikeringkan, ditimbang dan dikoreksi kandungan mineralnya dg pengabuan kering
- Kadar NDF = selisih berat residu setelah diabukan dengan berat sampel awal

# Analisis Serat Pangan



## *Penetapan Lignin*

- Ekstraksi contoh sampel dengan larutan NDF (sehingga seluruh komponen selain selulosa dan lignin larut)
- Selulosa dlm residu dihidrolisis dengan  $H_2SO_4$  72%, hingga hanya lignin yg ada dlm residu
- Komponen tak larut disaring, dikeringkan, ditimbang dan dikoreksi kandungan mineralnya dg pengabuan kering
- Kadar lignin = selisih berat residu setelah diabukan dengan berat sampel awal

# Analisis Serat Pangan



## *Penetapan Substansi Pektat*

- 1. Reaksi antara O-hidroksi difenil dengan anhidrogalakuronat yang menghasilkan warna yang dapat diukur pada panjang gelombang 520nm... atau
- 2. Metode gravimetri : pektin yg telah diekstrak dr sampel, disaponifikasi dengan alkali dan diendapkan sebagai kalsium pektat (dg penambahan kalsium klorida dlm kondisi asam) Endapan kalsium pektat dicuci sampai bebas klorida dikeringkan dan ditimbang residu nya



# Analisis Total KH

- ***By difference***
- Penjumlahan matematis KH dikurangi komponen lain dalam bahan pangan
- Total KH =  $100 - (\text{kdr air} + \text{abu} + \text{lemak} + \text{prot})$
- KH dpt dicerna  
=  $100 - (\text{kdr air} + \text{abu} + \text{lemak} + \text{prot} + \text{serat})$