



ANALISIS KIMIA

BAHAN DAN PRODUK HASIL PERTANIAN



Disusun Oleh :

**Prof. Dr. Ir. Fungsi Sri Rejeki, M.P.
Diana Puspitasari, S.TP., M.T.
Dr. Ir. Endang Retno Wedowati, M.T.**



**PENERBIT
UWKS PRESS**

**ANALISIS KIMIA
BAHAN DAN PRODUK HASIL PERTANIAN**

**Prof. Dr. Ir. Fungsi Sri Rejeki, MP.
Diana Puspitasari, S.TP., MT.
Dr. Ir. Endang Retno Wedowati, MT.**



**PENERBIT
UWKS PRESS**

**ANALISIS KIMIA
BAHAN DAN PRODUK HASIL PERTANIAN**

ISBN
Ukuran buku 17,6 x 25 cm
261 hlm Cetakan ke-1, Juni 2026

Penulis:

Prof. Dr. Ir. Fungsi Sri Rejeki, MP.
Diana Puspitasari, S.TP., MT.
Dr. Ir. Endang Retno Wedowati, MT.

Editor:

Friendha Yuanta

Penerbit:

UWKS PRESS
Anggota IKAPI No.206/Anggota Luar Biasa/JTI/2018 Anggota
APPTI No.002.071.1.12019

Jl. Dukuh Kupang XXV/54 Surabaya Jawa Timur 60225
Telp. (031) 5677577
Hp. 085745182452
Email : uwkspress@gmail.com / uwkspress@uwks.ac.id

**Dilarang mengutip sebagian atau seluruh isi buku ini
dengan cara apapun, termasuk dengan penggunaan
mesin fotokopi, tanpa izin sah dari penerbit**

PRAKATA

Analisis kimia bahan dan produk hasil pertanian merupakan pilar fundamental dalam industri pangan, agrikultur, dan nutrisi modern. Kualitas, keamanan, dan nilai gizi dari produk yang sampai ke konsumen sangat bergantung pada ketepatan data yang dihasilkan di laboratorium. Buku ajar ini disusun untuk menyajikan kerangka kerja teoretis dan praktis yang komprehensif bagi para mahasiswa yang mendalami ilmu dan teknologi pangan, kimia analitik, serta bidang-bidang terkait lainnya. Urgensi penguasaan materi ini semakin meningkat seiring dengan kompleksitas rantai pasok pangan global, regulasi yang semakin ketat, dan tuntutan konsumen akan transparansi informasi produk. Buku ini hadir sebagai respons terhadap kebutuhan akan sumber belajar yang sistematis, mutakhir, dan relevan dengan tantangan industri saat ini. Tujuan utama penulisan buku ini adalah untuk membekali mahasiswa dengan pemahaman mendalam mengenai prinsip-prinsip dasar analisis kimia, mulai dari pengambilan sampel hingga instrumentasi modern, serta kemampuan untuk mengevaluasi data analitis secara kritis.

KATA PENGANTAR

Penulis memanjatkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia-Nya sehingga buku ajar berjudul "Analisis Kimia Bahan dan Produk Hasil Pertanian" ini dapat terselesaikan. Buku ini dirancang sebagai panduan bagi mahasiswa untuk memahami dunia analisis kimia pangan yang dinamis dan esensial. Harapan penulis, buku ini tidak hanya menjadi sumber pengetahuan teoretis, tetapi juga memantik rasa ingin tahu dan keterampilan analitis yang diperlukan untuk berkarier di bidang laboratorium, penelitian, maupun industri pangan. Penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada berbagai pihak yang telah memberikan dukungan, masukan, dan inspirasi selama proses penulisan. Semoga buku ajar ini memberikan manfaat yang sebesar-besarnya bagi para pembaca dan menjadi bagian dari perjalanan intelektual mereka dalam memahami kompleksitas dan keindahan ilmu kimia dalam aplikasi hasil pertanian.

DAFTAR ISI

PRAKATA.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
BAB 1: PENGANTAR ANALISIS KIMIA HASIL PERTANIAN	1
Tujuan Pembelajaran.....	1
Pendahuluan.....	1
1.1 Ruang Lingkup dan Signifikansi Analisis Kimia	4
1.1.1 Peran Analisis dalam Manajemen Mutu dan Keamanan Pangan.....	6
1.1.2 Karakteristik Komposisi Bahan Hasil Pertanian (Matriks Pangan).....	7
1.1.3 Dasar Pemilihan Metode Analisis (Akurasi, Presisi, dan Kecepatan).....	8
1.2 Peraturan Pelabelan Nutrisi.....	8
1.2.1 Urgensi Analisis Kimia untuk Label Pangan (FDA & USDA).....	11
1.2.2 Standar Pelaporan Nutrisi dan Metode Resmi (AOAC, AACC, AOCS).....	11
1.3 Teknik Sampling dan Preparasi Sampel	12
1.3.1 Prinsip Pengambilan Sampel Representatif dari Populasi Heterogen	14
1.3.2 Metode Pengurangan Ukuran dan Homogenisasi	15
1.3.3 Pencegahan Perubahan Kimiawi (Inaktivasi Enzim dan Oksidasi Lipid)	16
Rangkuman Bab.....	16
Latihan Mahasiswa.....	17
Glosarium Bab	21
Daftar Pustaka Bab.....	22
BAB 2: EVALUASI DATA ANALITIS.....	23
Tujuan Pembelajaran.....	23

Pendahuluan.....	23
2.1 Statistik Dasar dalam Analisis Kimia	26
2.1.1 Penentuan <i>Mean</i> , <i>Standard Deviation</i> , dan <i>Coefficient of Variation (CV)</i>	28
2.1.2 Konsep Akurasi vs Presisi	29
2.2 Validasi dan Reliabilitas Data	30
2.2.1 Penggunaan Angka Penting (<i>Significant Figures</i>) dan Aturan Pembulatan	33
2.2.2 Penanganan Data <i>Outlier</i> (Uji Q)	34
2.2.3 Pembuatan Kurva Standar dan Linearitas (Koefisien Determinasi)	34
Rangkuman Bab	35
Latihan Mahasiswa.....	36
Glosarium Bab	39
Daftar Pustaka Bab.....	41
BAB 3: ANALISIS KADAR AIR (<i>MOISTURE CONTENT</i>).....	41
Tujuan Pembelajaran.....	41
Pendahuluan.....	41
3.1 Prinsip Dasar dan Bentuk Air dalam Bahan Pertanian	44
3.1.1 Air Bebas, Terikat, dan Air Kristal.....	46
3.1.2 Pentingnya Analisis Kadar Air bagi Stabilitas Produk	47
3.2 Metode Analisis Kadar Air Langsung (Termal).....	48
3.2.1 Metode Pengeringan Oven (Atmosferik vs Vakum)	51
3.2.2 Metode Distilasi (Azeotropik).....	51
3.3 Metode Analisis Tidak Langsung dan Kimia.....	52
3.3.1 Titrasi Karl Fischer (untuk Sampel Kadar Air Rendah)	55
3.3.2 Hubungan Kadar Air dengan Aktivitas Air (<i>A_w</i>)	55
Rangkuman Bab	56
Latihan Mahasiswa.....	57
Glosarium Bab	60
Daftar Pustaka Bab.....	62
BAB 4: ANALISIS KADAR ABU DAN MINERAL.....	62
Tujuan Pembelajaran.....	62

Pendahuluan.....	62
4.1 Prinsip Analisis Kadar Abu Total.....	65
4.1.1 Definisi Abu sebagai Residu Anorganik.....	68
4.1.2 Metode Pengabuan Kering (<i>Dry Ashing</i>) menggunakan <i>Muffle Furnace</i>	68
4.1.3 Metode Pengabuan Basah (<i>Wet Digestion</i>) untuk Analisis Mineral Spesifik.....	69
4.2 Analisis Mineral Spesifik.....	70
4.2.1 Persiapan Sampel untuk Analisis Logam.....	73
4.2.2 Pengantar Spektroskopi (AAS dan ICP) untuk Kuantifikasi Mineral	73
Rangkuman Bab	74
Latihan Mahasiswa.....	75
Glosarium Bab	78
Daftar Pustaka Bab.....	79
BAB 5: ANALISIS LEMAK DAN LIPID	80
Tujuan Pembelajaran.....	80
Pendahuluan.....	80
5.1 Karakteristik dan Klasifikasi Lipid dalam Pangan	83
5.1.1 Sifat Kelarutan dan Struktur Lipid (Sederhana, Majemuk, Turunan)	85
5.2 Metode Ekstraksi Pelarut (<i>Solvent Extraction</i>)	86
5.2.1 Metode Kontinu dan Semikontinu (Soxhlet)	89
5.2.2 Metode Ekstraksi Basah (Babcock dan Mojonnier)	90
5.3 Analisis Lemak Modern untuk Pelabelan	91
5.3.1 Pengantar Kromatografi Gas (GC) untuk Profil Asam Lemak (FAME)	93
5.3.2 Metode Instrumental Cepat (NMR dan Inframerah)	94
Rangkuman Bab	95
Latihan Mahasiswa.....	96
Glosarium Bab	99
Daftar Pustaka Bab.....	101
BAB 6: ANALISIS PROTEIN TOTAL DAN NITROGEN	101

Tujuan Pembelajaran	101
Pendahuluan	101
6.1 Penentuan Nitrogen Total	104
6.1.1 Metode Kjeldahl: Digesti, Distilasi, dan Titrasi	106
6.1.2 Metode Dumas (Pembakaran Nitrogen)	108
6.1.3 Faktor Konversi Nitrogen ke Protein	108
6.2 Metode Analisis Berbasis Sifat Kimiawi dan Fisik	109
6.2.1 Metode Kolorimetri (Biuret, Lowry, dan BCA)	112
6.2.2 Metode Penyerapan UV 280 nm dan Pengikatan Zat Warna (Dye-Binding)	113
Rangkuman Bab	114
Latihan Mahasiswa	115
Glosarium Bab	118
Daftar Pustaka Bab	120
BAB 7: ANALISIS KARBOHIDRAT	120
Tujuan Pembelajaran	120
Pendahuluan	120
7.1 Klasifikasi dan Signifikansi Karbohidrat	123
7.1.1 Karbohidrat Dapat Dicerna vs Serat Makanan	125
7.2 Analisis Gula dan Pati	126
7.2.1 Metode Kimia (Luff Schoorl, DNS) dan Enzimatik Spesifik	129
7.2.2 Hidrolisis Pati menjadi Glukosa	130
7.2.3 Aplikasi HPLC untuk Analisis Mono dan Oligosakarida	130
7.3 Analisis Serat Makanan (<i>Dietary Fiber</i>)	131
7.3.1 Prinsip Pemisahan Residu Tidak Dapat Dicerna (Metode AOAC)	134
7.3.2 Perbedaan Serat Larut dan Tidak Larut	134
Rangkuman Bab	135
Latihan Mahasiswa	136
Glosarium Bab	139
Daftar Pustaka Bab	141
BAB 8: ANALISIS VITAMIN DAN SENYAWA BIOAKTIF	141

Tujuan Pembelajaran	141
Pendahuluan	141
8.1 Karakteristik dan Stabilitas Vitamin	144
8.1.1 Faktor Penyebab Degradasi Vitamin dalam Analisis	147
8.2 Metode Analisis Vitamin	148
8.2.1 Bioassay dan Uji Mikrobiologis	151
8.2.2 Metode Kimia: Titrasi (Vitamin C) dan Kolorimetri	152
8.2.3 Analisis Modern dengan HPLC/UHPLC untuk Vitamin Larut Air dan Lemak	152
Rangkuman Bab	153
Latihan Mahasiswa	154
Glosarium Bab	157
Daftar Pustaka Bab	159
BAB 9: ANALISIS PIGMEN DAN ZAT WARNA	159
Tujuan Pembelajaran	159
Pendahuluan	159
9.1 Analisis Pigmen Alami Bahan Pertanian	162
9.1.1 Ekstraksi dan Kuantifikasi Klorofil, Antosianin, dan Karotenoid	165
9.2 Identifikasi Pewarna Sintetik dan Stabilitas Warna	166
9.2.1 Uji Kualitatif Pewarna Terlarang dan Pengukuran Spektrofotometri	169
Rangkuman Bab	170
Latihan Mahasiswa	171
Glosarium Bab	174
Daftar Pustaka Bab	175
BAB 10: ANALISIS BAHAN TAMBAHAN PANGAN (BTP) KIMIAWI	175
Tujuan Pembelajaran	175
Pendahuluan	175
10.1 Analisis Pengawet dan Pemanis	178
10.1.1 Deteksi Benzoat, Sorbat, Formalin, dan Boraks	181
10.1.2 Analisis Pemanis Buatan (Sakarín dan Siklamat)	182

Rangkuman Bab	182
Latihan Mahasiswa	183
Glosarium Bab	186
Daftar Pustaka Bab	188
BAB 11: INSTRUMENTASI MODERN DALAM ANALISIS KIMIA PERTANIAN	188
Tujuan Pembelajaran	188
Pendahuluan	188
11.1 Spektrofotometri UV-Vis dan Hukum Beer-Lambert	191
11.1.1 Prinsip Dasar Interaksi Cahaya dan Materi	194
11.1.2 Komponen Instrumen Spektrofotometer UV-Vis	194
11.1.3 Aplikasi dan Keterbatasan Hukum Beer-Lambert	195
11.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) dan Kromatografi Gas (GC)	196
11.2.1 Prinsip Dasar Pemisahan Kromatografi	199
11.2.2 Komponen Kunci Sistem HPLC dan GC	200
11.2.3 Pemilihan Kolom dan Detektor	200
11.3 Analisis Non-Destruktif: Near-Infrared (NIR) dan FTIR	201
11.3.1 Prinsip Spektroskopi Vibrasional (Inframerah)	204
11.3.2 Perbedaan Near-Infrared (NIR) dan Mid-Infrared (FTIR)	205
11.3.3 Peran Kemometrik dalam Analisis Spektral	205
Rangkuman Bab	206
Latihan Mahasiswa	207
Glosarium Bab	210
Daftar Pustaka Bab	212
BAB 12: VALIDASI METODE DAN PELAPORAN HASIL	212
Tujuan Pembelajaran	212
Pendahuluan	212
12.1 Prosedur Jaminan Mutu Laboratorium (<i>Quality Assurance</i>)	214
12.1.1 Penggunaan Bahan Referensi Standar (CRM)	217
12.2 Interpretasi Data dan Penulisan Laporan Profesional	218
12.2.1 Perbandingan Hasil dengan Standar Mutu (SNI/ISO)	221
Rangkuman Bab	222

Latihan Mahasiswa.....	223
Glosarium Bab	226
Daftar Pustaka Bab.....	228
REFERENSI	228
GLOSARIUM	240

BAB 1: PENGANTAR ANALISIS KIMIA HASIL PERTANIAN

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan ruang lingkup dan signifikansi analisis kimia dalam industri hasil pertanian.
2. Mengidentifikasi peran penting analisis kimia dalam sistem manajemen mutu dan keamanan pangan.
3. Membedakan karakteristik komposisi matriks pangan yang beragam.
4. Menganalisis dasar-dasar pemilihan metode analisis berdasarkan parameter akurasi, presisi, dan kecepatan.
5. Memahami urgensi analisis kimia dalam pemenuhan peraturan pelabelan nutrisi.
6. Mengenali standar metode analisis resmi yang diakui secara internasional.
7. Menguasai prinsip-prinsip teknik sampling dan preparasi sampel yang representatif.

Pendahuluan

Setiap produk pertanian yang kita konsumsi, mulai dari sebutir beras hingga segelas susu, menyimpan informasi kimiawi yang kompleks. Informasi ini tidak hanya menentukan rasa, aroma, dan tekstur, tetapi juga nilai gizi, keamanan, dan masa simpan produk tersebut. Bagaimana kita dapat mengungkap informasi tersembunyi ini secara akurat? Jawaban dari pertanyaan fundamental tersebut terletak pada disiplin ilmu analisis kimia. Analisis kimia hasil pertanian adalah cabang ilmu yang berfokus pada identifikasi, kuantifikasi, dan karakterisasi komponen-komponen kimia dalam bahan mentah maupun produk olahan yang berasal dari sektor agrikultur. Disiplin ini berfungsi sebagai mata dan telinga bagi industri pangan, memastikan bahwa setiap produk yang dihasilkan memenuhi standar kualitas yang ditetapkan dan aman untuk dikonsumsi.

Peran analisis kimia melampaui sekadar pengukuran di laboratorium. Hasil analisis ini menjadi dasar pengambilan keputusan strategis di berbagai lini industri. Bagi seorang manajer kendali mutu, data analisis kadar air dan aktivitas air menjadi penentu utama dalam menetapkan umur simpan produk untuk mencegah pertumbuhan mikroba. Bagi seorang ahli gizi, informasi akurat mengenai kandungan protein, lemak, dan vitamin sangat krusial untuk merancang produk pangan fungsional yang mendukung kesehatan. Sementara itu, bagi regulator pemerintah, data analisis residu pestisida atau logam berat menjadi landasan untuk melindungi kesehatan masyarakat. Tanpa analisis kimia yang andal, industri pangan akan beroperasi dalam ketidakpastian yang berisiko tinggi.

Memasuki dunia analisis kimia pertanian, kita akan dihadapkan pada tantangan unik yang disebut "matriks pangan". Matriks pangan adalah keseluruhan komponen yang menyusun suatu bahan pangan selain analit (komponen yang ingin diukur). Sebuah sampel biji jagung, misalnya, merupakan matriks kompleks yang terdiri dari pati, protein, lemak, serat, mineral, dan air. Kehadiran komponen-komponen selain analit ini sering kali dapat mengganggu proses pengukuran, yang dikenal sebagai efek matriks. Oleh karena itu, seorang analis kimia tidak hanya dituntut untuk menguasai instrumen, tetapi juga harus memiliki pemahaman mendalam tentang sifat-sifat bahan yang dianalisis untuk dapat memilih metode preparasi dan analisis yang tepat.

Pemilihan metode analisis menjadi salah satu keputusan paling kritis dalam alur kerja laboratorium. Tidak ada satu metode tunggal yang sempurna untuk semua jenis analisis. Keputusan ini selalu melibatkan pertimbangan antara tiga pilar utama, yaitu akurasi (kedekatan hasil dengan nilai sebenarnya), presisi (kedekatan hasil dari pengukuran berulang), dan kecepatan (efisiensi waktu). Sebuah metode yang sangat akurat seperti kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) untuk analisis vitamin mungkin memerlukan waktu dan biaya yang signifikan, sehingga kurang cocok untuk pengujian rutin di lini produksi. Sebaliknya, metode cepat seperti spektroskopi inframerah (*Infrared*)

Spectroscopy) mungkin menawarkan kecepatan luar biasa, namun dengan akurasi yang lebih rendah untuk beberapa aplikasi.

Bab ini akan berfungsi sebagai gerbang utama untuk memahami lanskap analisis kimia hasil pertanian, dimulai dengan menjelajahi ruang lingkup dan signifikansinya secara lebih mendalam, serta menyoroti perannya dalam menjamin mutu dan keamanan pangan. Selanjutnya, pembahasan akan bergeser ke aspek regulasi, khususnya mengenai bagaimana data analitis menjadi tulang punggung informasi yang tercantum pada label nutrisi. Pemahaman mengenai standar pelaporan dan metode resmi yang diakui secara global seperti AOAC akan memberikan konteks profesional yang penting.

Bagian akhir dari bab pengantar ini akan didedikasikan untuk fondasi dari semua analisis yang valid, yaitu teknik pengambilan dan persiapan sampel. Sebuah analisis yang dilakukan dengan instrumen paling canggih sekalipun akan menjadi sia-sia jika sampel yang diuji tidak mewakili keseluruhan produk. Kita akan mempelajari prinsip-prinsip pengambilan sampel yang representatif dari populasi yang besar dan sering kali tidak seragam. Selain itu, teknik-teknik untuk mempersiapkan sampel sebelum dianalisis, seperti pengecilan ukuran, homogenisasi, dan pencegahan perubahan kimiaawi selama penyimpanan, akan dibahas secara detail.

Penguasaan materi dalam bab ini akan memberikan landasan konseptual yang kuat bagi mahasiswa sebelum melangkah ke bab-bab selanjutnya yang akan membahas metode-metode analisis spesifik untuk setiap komponen utama pangan. Pemahaman yang kokoh mengenai "mengapa" dan "bagaimana" kita melakukan analisis di tingkat fundamental adalah kunci untuk menjadi seorang analis kimia yang kompeten dan dapat diandalkan dalam industri hasil pertanian yang terus berkembang. Melalui bab ini, mahasiswa diajak untuk melihat bahwa di balik setiap label nutrisi dan klaim kualitas produk, terdapat serangkaian proses analitis yang teliti, sistematis, dan berbasis ilmu pengetahuan yang kuat.

1.1 Ruang Lingkup dan Signifikansi Analisis Kimia

Analisis kimia dalam konteks hasil pertanian mencakup spektrum yang sangat luas, mulai dari identifikasi komponen makro seperti protein dan karbohidrat hingga deteksi senyawa mikro (*trace level*) seperti vitamin atau kontaminan. Ruang lingkungannya tidak terbatas pada produk akhir yang siap dikonsumsi, tetapi juga meliputi: bahan baku, produk setengah jadi, bahan tambahan, hingga pakan ternak. Secara fundamental, disiplin ini bertujuan untuk menjawab empat pertanyaan kunci mengenai suatu bahan, yaitu "apa" (analisis kualitatif), "berapa banyak" (analisis kuantitatif), "bagaimana strukturnya" (analisis struktural), dan "di mana lokasinya" (analisis spasial). Jawaban atas pertanyaan-pertanyaan ini memberikan data objektif yang menjadi dasar bagi inovasi produk, pengendalian proses, dan pemenuhan standar regulasi.

Signifikansi analisis kimia terletak pada perannya sebagai alat verifikasi objektif dalam rantai nilai pertanian dan pangan. Tanpa data kuantitatif yang andal, klaim seperti "tinggi protein" atau "rendah lemak" hanyalah sebatas slogan pemasaran. Analisis kimialah yang memberikan bukti empiris untuk mendukung klaim tersebut, membangun kepercayaan konsumen dan memastikan persaingan yang adil di pasar. Lebih jauh lagi, signifikansinya merambah ke sektor penelitian dan pengembangan (*Research and Development*). Para ilmuwan pangan mengandalkan data analitis untuk memahami bagaimana proses pengolahan memengaruhi stabilitas nutrisi, atau untuk mengembangkan varietas tanaman baru dengan profil gizi yang lebih unggul.

Dalam skala yang lebih luas, analisis kimia hasil pertanian berkontribusi langsung pada ketahanan pangan dan kesehatan masyarakat. Analisis proksimat (kadar air, abu, protein, lemak, karbohidrat) pada bahan pakan, misalnya, sangat penting untuk formulasi ransum ternak yang efisien, yang pada akhirnya memengaruhi produktivitas peternakan dan ketersediaan sumber protein hewani. Di sisi lain, pemantauan kontaminan kimia seperti mikotoksin pada jagung atau residu pestisida pada sayuran merupakan garda

terdepan dalam mencegah penyakit bawaan pangan (*foodborne illness*). Dengan demikian, setiap angka yang dihasilkan dari laboratorium analisis memiliki implikasi yang nyata bagi ekonomi, kesehatan, dan kesejahteraan sosial.

Perkembangan teknologi instrumentasi modern terus memperluas ruang lingkup analisis kimia. Teknik-teknik seperti spektrometri massa dan kromatografi telah memungkinkan para analis untuk mendeteksi ribuan senyawa dalam satu kali analisis, sebuah pendekatan yang dikenal sebagai *foodomics*. Pendekatan ini membuka cakrawala baru dalam memahami hubungan kompleks antara komposisi kimia makanan dan dampaknya pada kesehatan manusia. Sebagai contoh, analisis profil metabolit pada madu dapat digunakan untuk memverifikasi asal geografis dan botani (autentikasi produk), melindungi produsen dari pemalsuan dan memastikan konsumen mendapatkan produk yang asli.

Ilmu ini juga memainkan peran krusial dalam mendukung keberlanjutan sektor pertanian. Analisis komposisi tanah membantu petani dalam menentukan kebutuhan pupuk secara presisi, mengurangi pemborosan dan dampak lingkungan dari limpasan nutrisi. Demikian pula, analisis kualitas air irigasi memastikan bahwa tanaman tidak terkontaminasi oleh polutan yang dapat terakumulasi dalam jaringan tanaman dan membahayakan konsumen. Analisis kimia menjadi alat diagnostik yang memungkinkan praktik pertanian yang lebih efisien, produktif, dan ramah lingkungan.

Seiring dengan globalisasi perdagangan pangan, harmonisasi metode analisis menjadi sangat penting. Sebuah produk apel yang diekspor dari satu negara harus dianalisis menggunakan metode yang sebanding dengan yang digunakan di negara tujuan untuk memastikan tidak ada hambatan perdagangan teknis. Organisasi internasional seperti ISO (*International Organization for Standardization*) dan komite gabungan seperti Codex Alimentarius bekerja untuk menetapkan standar dan metode referensi yang dapat diterima secara global. Hal ini menunjukkan bahwa analisis kimia

bukan hanya sekadar aktivitas teknis di laboratorium, melainkan bagian integral dari sistem perdagangan dan diplomasi internasional.

Pada akhirnya, ruang lingkup dan signifikansi analisis kimia hasil pertanian dapat dirangkum dalam perannya sebagai "bahasa universal" kualitas dan keamanan. Bahasa ini mengomunikasikan karakteristik suatu produk secara objektif dan terukur kepada seluruh pemangku kepentingan, mulai dari petani, produsen, regulator, hingga konsumen akhir. Penguasaan bahasa ini merupakan kompetensi inti yang harus dimiliki oleh setiap profesional yang bergerak di industri pangan dan pertanian. Kemampuan untuk tidak hanya melakukan analisis, tetapi juga menginterpretasikan hasilnya dalam konteks yang lebih luas, adalah pembeda antara seorang teknisi dan seorang ilmuwan pangan sejati.

1.1.1 Peran Analisis dalam Manajemen Mutu dan Keamanan Pangan

Dalam kerangka sistem manajemen mutu modern seperti ISO 9001 atau FSSC 22000, analisis kimia berfungsi sebagai mekanisme verifikasi dan validasi yang esensial. Sistem ini menuntut adanya bukti objektif bahwa produk secara konsisten memenuhi spesifikasi yang telah ditetapkan, dan analisis kimia menyediakan data kuantitatif untuk bukti tersebut. Sebagai contoh, sebuah pabrik biskuit menetapkan standar kadar air produk akhir antara 3,0% hingga 3,5% untuk menjamin kerenyahan yang optimal. Analisis kadar air secara rutin di laboratorium menjadi alat untuk memverifikasi bahwa proses pemanggangan berjalan sesuai standar dan produk yang dihasilkan memenuhi spesifikasi mutu tersebut.

Analisis kimia juga merupakan komponen inti dari program *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP), sebuah pendekatan sistematis untuk menjamin keamanan pangan. Dalam HACCP, titik-titik kritis dalam proses produksi diidentifikasi, di mana potensi bahaya (biologis, kimia, atau fisik) dapat dikendalikan. Analisis kimia digunakan untuk menetapkan batas kritis dan memantau titik-titik kontrol tersebut. Misalnya, pada proses pasteurisasi susu, analisis aktivitas enzim fosfatase dapat digunakan sebagai indikator

untuk memvalidasi bahwa proses pemanasan telah efektif dalam membunuh patogen. Kehadiran aktivitas fosfatase di atas batas kritis menandakan proses pasteurisasi yang tidak sempurna dan memerlukan tindakan korektif segera.

1.1.2 Karakteristik Komposisi Bahan Hasil Pertanian (Matriks Pangan)

Matriks pangan merujuk pada keseluruhan komponen dalam sampel selain analit yang menjadi target analisis. Karakteristik matriks ini sangat beragam dan kompleks, menjadi tantangan utama dalam analisis kimia. Sampel dengan matriks tinggi lemak seperti mentega akan memerlukan pendekatan preparasi yang berbeda dibandingkan dengan sampel tinggi karbohidrat seperti tepung terigu saat menganalisis vitamin A yang larut dalam lemak. Lemak dalam mentega harus diekstraksi terlebih dahulu untuk membebaskan vitamin A dan menghilangkan komponen yang dapat menyumbat kolom kromatografi, sementara pada tepung, prosesnya mungkin lebih sederhana.

Kompleksitas matriks juga dapat menyebabkan interferensi, di mana komponen selain analit memberikan sinyal yang tumpang tindih dengan sinyal analit, sehingga menghasilkan data yang tidak akurat. Sebagai contoh, pigmen antosianin yang berwarna merah pada buah stroberi dapat mengganggu pengukuran kolorimetri beberapa senyawa lain jika tidak dihilangkan terlebih dahulu selama preparasi sampel. Oleh karena itu, pemahaman mendalam mengenai komposisi kimia bahan, seperti perkiraan kandungan makronutrien, keberadaan pigmen, atau senyawa fenolik, sangat krusial bagi seorang analis untuk merancang strategi analisis yang andal dan bebas dari interferensi matriks.

1.1.3 Dasar Pemilihan Metode Analisis (Akurasi, Presisi, dan Kecepatan)

Pemilihan metode analisis yang tepat merupakan proses optimasi yang menyeimbangkan antara kebutuhan akan kualitas data dan keterbatasan sumber daya. Akurasi, atau kedekatan hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya, adalah parameter terpenting untuk analisis yang terkait dengan pelabelan nutrisi atau batas keamanan kontaminan. Untuk tujuan ini, metode referensi yang telah divalidasi secara ekstensif, meskipun lambat dan mahal, sering kali menjadi pilihan utama. Di sisi lain, presisi, atau reproduktibilitas hasil, menjadi sangat krusial dalam pemantauan proses produksi. Sebuah metode mungkin tidak terlalu akurat, tetapi selama memberikan hasil yang konsisten (presisi tinggi), metode tersebut dapat digunakan untuk mendeteksi penyimpangan dari proses normal.

Faktor kecepatan dan biaya sering kali menjadi penentu dalam lingkungan industri dengan volume sampel yang tinggi. Metode analisis cepat (*rapid methods*), seperti spektroskopi inframerah dekat (NIR), memungkinkan analisis puluhan sampel dalam hitungan menit tanpa memerlukan preparasi yang rumit. Meskipun akurasinya mungkin tidak setinggi metode klasik, kecepatan yang ditawarkan memungkinkan pengendalian proses secara *real-time*. Keputusan akhir dalam pemilihan metode harus didasarkan pada tujuan analisis: apakah untuk memastikan kepatuhan terhadap regulasi (membutuhkan akurasi tertinggi), memantau konsistensi produksi (membutuhkan presisi tinggi), atau untuk penyaringan cepat (*screening*) sampel dalam jumlah besar (membutuhkan kecepatan).

1.2 Peraturan Pelabelan Nutrisi

Peraturan pelabelan nutrisi merupakan jembatan komunikasi antara produsen pangan dan konsumen, yang diatur secara ketat oleh badan pemerintah untuk memastikan informasi yang disajikan akurat, tidak menyesatkan, dan terstandarisasi. Regulasi ini mewajibkan produsen untuk mencantumkan

informasi mengenai kandungan energi dan nutrien-nutrien kunci seperti lemak total, lemak jenuh, karbohidrat, gula, protein, dan natrium pada kemasan produk. Tujuan utamanya adalah untuk memberdayakan konsumen agar dapat membuat pilihan makanan yang lebih sehat dan terinformasi, serta untuk mendorong industri melakukan reformulasi produk ke arah yang lebih baik. Tanpa adanya kerangka peraturan ini, pasar akan dipenuhi dengan klaim-klaim kesehatan yang tidak berdasar dan berpotensi membingungkan masyarakat.

Implementasi peraturan ini secara langsung mendorong signifikansi analisis kimia dalam industri pangan. Setiap angka yang tercantum pada panel Informasi Nilai Gizi (ING) harus didukung oleh data analitis yang valid atau berasal dari basis data komposisi pangan yang terpercaya. Badan regulator seperti *Food and Drug Administration* (FDA) di Amerika Serikat atau Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) di Indonesia menetapkan aturan yang spesifik mengenai bagaimana nilai-nilai gizi tersebut harus diperoleh dan dilaporkan. Hal ini menciptakan permintaan yang konstan akan layanan laboratorium analisis yang kompeten dan terakreditasi untuk memverifikasi komposisi produk sebelum diluncurkan ke pasar.

Ketidakpatuhan terhadap peraturan pelabelan nutrisi dapat berakibat serius bagi produsen, mulai dari penarikan produk dari pasar, denda yang signifikan, hingga tuntutan hukum. Jika sebuah produk diklaim sebagai "rendah natrium" namun hasil analisis oleh badan pengawas menunjukkan kadar natrium yang melebihi batas yang ditetapkan, maka produsen tersebut dianggap melakukan pelabelan yang salah (*misbranding*). Oleh karena itu, program analisis kimia yang rutin dan terencana bukan lagi sebuah pilihan, melainkan sebuah keharusan bisnis untuk mitigasi risiko dan menjaga reputasi merek di mata konsumen dan regulator.

Proses untuk menghasilkan data pada label nutrisi melibatkan serangkaian analisis yang kompleks. Penentuan kalori, misalnya, tidak diukur secara langsung, melainkan dihitung menggunakan faktor Atwater berdasarkan hasil analisis kuantitatif dari tiga makronutrien utama: protein, lemak, dan

karbohidrat. Nilai protein diperoleh dari analisis nitrogen total, nilai lemak dari ekstraksi pelarut, dan nilai karbohidrat sering kali dihitung "*by difference*", yaitu dengan mengurangkan persentase komponen lain (air, abu, protein, lemak) dari 100%. Setiap langkah dalam rangkaian analisis ini harus dilakukan dengan cermat menggunakan metode yang sesuai untuk menjamin akurasi nilai akhir yang dilaporkan.

Peraturan pelabelan juga terus berubah mengikuti perkembangan ilmu gizi dan kesehatan masyarakat. Perubahan terbaru pada label nutrisi di banyak negara, misalnya, kini mewajibkan pencantuman "gula tambahan" (*added sugars*) secara terpisah dari gula total. Persyaratan baru ini menciptakan tantangan analitis yang signifikan, karena tidak ada metode kimia langsung yang dapat membedakan antara gula yang secara alami ada dalam buah dengan gula yang ditambahkan selama proses produksi. Dalam kasus seperti ini, produsen harus mengandalkan pencatatan resep dan formulasi yang akurat, yang kemudian diverifikasi melalui analisis kimia pada bahan baku dan produk akhir.

Selain komponen makro, peraturan sering kali juga mencakup pelaporan vitamin dan mineral tertentu yang menjadi perhatian kesehatan masyarakat, seperti Vitamin D, kalsium, zat besi, dan kalium. Analisis komponen-komponen ini berada pada konsentrasi yang jauh lebih rendah dan memerlukan teknik instrumentasi yang lebih sensitif, seperti spektroskopi serapan atom (AAS) atau kromatografi cair (HPLC). Investasi dalam peralatan canggih dan personel yang terampil menjadi konsekuensi logis dari tuntutan regulasi yang semakin detail dan komprehensif.

Pada akhirnya, peraturan pelabelan nutrisi mengubah analisis kimia dari sekadar fungsi pendukung menjadi elemen strategis dalam siklus hidup produk. Data yang dihasilkan tidak hanya memastikan kepatuhan hukum, tetapi juga dapat dimanfaatkan oleh tim pemasaran untuk membangun klaim produk yang kuat dan berbasis bukti. Di era di mana konsumen semakin sadar akan kesehatan dan nutrisi, label pangan yang akurat dan transparan adalah

aset yang sangat berharga. Peran seorang analis kimia dalam memastikan integritas informasi pada label tersebut menjadi semakin vital dan dihargai.

Contoh Kasus: Sebuah perusahaan rintisan (*startup*) ingin meluncurkan produk *granola bar* baru yang diklaim sebagai "sumber protein tinggi" dan "rendah gula". Sebelum mencetak ribuan kemasan, mereka mengirimkan sampel produk ke laboratorium terakreditasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar protein per saji sedikit di bawah ambang batas yang ditetapkan regulator untuk klaim "sumber protein tinggi". Selain itu, analisis menggunakan HPLC menunjukkan kadar gula total lebih tinggi dari perkiraan awal karena penggunaan konsentrat jus buah. Berdasarkan data ini, perusahaan harus mereformulasi produknya (misalnya, dengan menambahkan isolat protein kedelai dan mengurangi konsentrat jus) dan melakukan analisis ulang. Tanpa analisis kimia yang akurat di awal, perusahaan tersebut akan berisiko meluncurkan produk dengan klaim yang salah, yang dapat berujung pada sanksi dan hilangnya kepercayaan konsumen.

1.2.1 Standar Pelaporan Nutrisi dan Metode Resmi (AOAC, AACC, AOCS)

Untuk menjamin konsistensi dan komparabilitas data antar laboratorium, badan regulator tidak hanya menetapkan apa yang harus dilaporkan, tetapi sering kali juga merekomendasikan atau bahkan mewajibkan penggunaan metode analisis tertentu. Metode-metode ini adalah metode yang telah melalui proses validasi kolaboratif yang ketat oleh organisasi standar profesional seperti AOAC International (*Association of Official Analytical Collaboration*), AACC International (*American Association of Cereal Chemists*), dan AOCS (*American Oil Chemists' Society*). Penggunaan metode resmi ini memberikan jaminan bahwa hasil yang diperoleh memiliki tingkat akurasi dan presisi yang dapat dipertanggungjawabkan dan dapat diterima oleh otoritas regulasi.

Sebagai contoh, untuk penentuan protein total, metode Kjeldahl (misalnya, AOAC Official Method 984.13) telah lama menjadi standar emas yang diakui secara global. Ketika sebuah laboratorium melaporkan kadar protein pada

sertifikat analisis, penyebutan metode AOAC yang digunakan memberikan tingkat kepercayaan yang tinggi bagi klien dan regulator bahwa analisis dilakukan sesuai dengan prosedur yang telah tervalidasi. Dengan mengacu pada metode-metode standar ini, industri pangan menciptakan sebuah ekosistem di mana data analisis dapat dipercaya dan dibandingkan secara adil, yang merupakan fondasi dari perdagangan yang jujur dan perlindungan konsumen yang efektif.

1.3 Teknik Sampling dan Preparasi Sampel

Fondasi dari setiap data analisis yang andal adalah proses pengambilan sampel (*sampling*) yang benar, diikuti oleh preparasi sampel yang sesuai. Hasil analisis yang paling akurat sekalipun tidak akan ada artinya jika sampel yang dianalisis tidak mewakili populasi atau lot produk secara keseluruhan. Bayangkan sebuah truk berisi 10 ton biji jagung; mengambil sampel hanya dari bagian atas yang mudah dijangkau kemungkinan besar akan memberikan hasil yang bias, karena bagian bawah mungkin memiliki kadar air yang berbeda akibat pepadatan atau kondensasi. Oleh karena itu, tujuan utama dari *sampling* adalah untuk mendapatkan sebagian kecil material (sampel laboratorium) yang memiliki karakteristik dan komposisi rata-rata yang sama dengan keseluruhan material dari mana ia diambil (lot).

Proses ini penuh dengan tantangan, terutama karena bahan hasil pertanian sering kali bersifat heterogen. Dalam satu karung kedelai, ukuran biji, kadar kotoran, dan tingkat kerusakan dapat bervariasi secara signifikan. Untuk mengatasi heterogenitas ini, dikembangkanlah berbagai strategi *sampling*. Salah satu pendekatan yang paling umum adalah *composite sampling*, di mana sejumlah sampel primer (disebut juga *increment*) diambil dari berbagai lokasi yang tersebar acak di seluruh lot. Sampel-sampel primer ini kemudian digabungkan untuk membentuk satu sampel komposit yang besar, yang diharapkan lebih representatif dibandingkan satu sampel tunggal.

Setelah sampel laboratorium yang representatif diperoleh, langkah selanjutnya adalah preparasi sampel. Tujuan dari preparasi adalah untuk

mengubah sampel ke dalam bentuk yang homogen dan cocok untuk dianalisis menggunakan metode yang dipilih. Jarang sekali sampel dapat langsung dianalisis dalam bentuk aslinya. Sebuah sampel daging, misalnya, harus melalui serangkaian proses seperti penggilingan untuk mengurangi ukuran partikel, pencampuran untuk memastikan homogenitas, dan terkadang pengeringan beku (*freeze-drying*) untuk menstabilkan sampel sebelum analisis lebih lanjut. Setiap langkah dalam preparasi harus dilakukan dengan hati-hati untuk menghindari kontaminasi atau perubahan komposisi kimia sampel.

Homogenisasi adalah salah satu tahap paling kritis dalam preparasi sampel. Proses ini bertujuan untuk mengurangi variasi di dalam sampel sehingga setiap sub-sampel (porsi kecil yang diambil untuk analisis) memiliki komposisi yang identik. Untuk sampel padat, ini biasanya dicapai dengan penggilingan, pemotongan, atau pencampuran menggunakan peralatan seperti *blender* atau *food processor*. Tingkat kehalusan yang diperlukan bergantung pada metode analisis; analisis yang menggunakan porsi sampel sangat kecil (misalnya, dalam miligram) memerlukan tingkat homogenitas yang jauh lebih tinggi dibandingkan analisis yang menggunakan beberapa gram sampel.

Selain itu, pencegahan perubahan kimiawi selama preparasi dan penyimpanan adalah aspek yang tidak boleh diabaikan. Banyak komponen dalam bahan pangan bersifat labil dan dapat terdegradasi oleh panas, cahaya, oksigen, atau aktivitas enzimatik. Misalnya, proses penggilingan sayuran segar dapat memicu reaksi pencoklatan enzimatik yang mengubah komposisi senyawa fenoliknya. Untuk mencegah hal ini, sering kali dilakukan blansir (*blanching*) atau penambahan inhibitor kimia sebelum homogenisasi. Sampel yang mengandung lemak tak jenuh ganda juga rentan terhadap oksidasi jika terpapar udara dan cahaya, sehingga perlu disimpan dalam wadah kedap udara di tempat gelap dan dingin.

Kesalahan yang terjadi pada tahap *sampling* dan preparasi sering kali merupakan sumber kesalahan terbesar dalam keseluruhan proses analisis. Kesalahan ini bersifat sistematis dan tidak dapat diperbaiki dengan melakukan

pengukuran berulang pada sampel yang sudah salah disiapkan. Oleh karena itu, investasi waktu dan sumber daya untuk mengembangkan dan memvalidasi protokol *sampling* dan preparasi yang solid adalah langkah yang sangat krusial. Protokol ini harus didokumentasikan dengan jelas dalam Prosedur Operasional Standar (POS) laboratorium untuk memastikan konsistensi dari waktu ke waktu dan antar analis yang berbeda.

Pada akhirnya, kualitas data analisis ditentukan oleh mata rantai terlemah dalam prosesnya. Mengabaikan pentingnya *sampling* dan preparasi sama saja dengan membangun gedung pencakar langit di atas fondasi yang rapuh. Pemahaman yang kuat tentang prinsip-prinsip ini memisahkan laboratorium yang andal dari yang lain dan memastikan bahwa keputusan-keputusan penting dalam industri pangan didasarkan pada data yang benar-benar mencerminkan realitas produk. Penguasaan teknik-teknik ini adalah keterampilan dasar yang harus dimiliki oleh setiap analis kimia pangan yang profesional.

1.3.1 Prinsip Pengambilan Sampel Representatif dari Populasi Heterogen

Prinsip utama dalam pengambilan sampel dari populasi heterogen adalah memastikan bahwa setiap unit dalam populasi memiliki kesempatan yang sama untuk terpilih sebagai bagian dari sampel. Ini dicapai melalui teknik *random sampling* atau *systematic sampling*. Dalam *random sampling*, lokasi pengambilan sampel primer ditentukan secara acak, misalnya menggunakan generator angka acak untuk menentukan koordinat karung dalam tumpukan atau titik dalam gerbong kereta. Dalam *systematic sampling* untuk produk yang bergerak di ban berjalan, sampel dapat diambil pada interval waktu atau jumlah unit yang tetap, misalnya setiap 100 kemasan.

Jumlah dan ukuran sampel primer yang harus diambil bergantung pada tingkat heterogenitas lot dan tingkat kepercayaan yang diinginkan. Semakin heterogen suatu material, semakin banyak sampel primer yang dibutuhkan

untuk mendapatkan sampel komposit yang representatif. Teori *sampling* yang dikembangkan oleh Pierre Gy memberikan kerangka kerja matematis untuk memperkirakan kesalahan fundamental *sampling* dan menentukan massa sampel minimum yang diperlukan berdasarkan faktor-faktor seperti ukuran partikel terbesar, heterogenitas konstituen, dan bentuk partikel. Meskipun implementasi penuh teori Gy bisa jadi kompleks, prinsip-prinsip dasarnya menggarisbawahi pentingnya mengambil sampel yang cukup dan dari lokasi yang tersebar untuk mengatasi variabilitas inheren dalam bahan hasil pertanian.

1.3.2 Metode Pengurangan Ukuran dan Homogenisasi

Setelah sampel komposit yang besar terkumpul, sering kali ukurannya perlu dikurangi menjadi sampel laboratorium yang lebih kecil dan mudah ditangani. Proses ini harus dilakukan dengan cara yang tidak menimbulkan bias. Metode *coning and quartering* adalah teknik manual klasik di mana tumpukan sampel berbentuk kerucut diratakan, dibagi menjadi empat kuadran yang sama, dan dua kuadran yang berlawanan dibuang. Proses ini diulangi hingga diperoleh ukuran sampel yang diinginkan. Untuk akurasi yang lebih tinggi, digunakan alat pembagi sampel mekanis seperti *riffle splitter*, yang secara otomatis membagi aliran sampel menjadi dua bagian yang sama berulang kali, secara signifikan mengurangi bias yang disebabkan oleh operator.

Homogenisasi lebih lanjut dicapai melalui penggilingan atau pencampuran. Pemilihan peralatan penggilingan sangat bergantung pada sifat sampel. Sampel berserat tinggi seperti jerami mungkin memerlukan *cutting mill*, sedangkan sampel berminyak seperti biji bunga matahari lebih baik digiling secara kriogenik (menggunakan nitrogen cair) untuk mencegah pemanasan dan pemisahan minyak. Tujuan akhirnya adalah untuk mencapai ukuran partikel yang seragam dan distribusi komponen yang merata di seluruh sampel, sehingga setiap aliquot yang diambil untuk analisis benar-benar identik.

1.3.3 Pencegahan Perubahan Kimiawi (Inaktivasi Enzim dan Oksidasi Lipid)

Bahan hasil pertanian adalah sistem biologis yang kompleks dan sering kali masih aktif secara biokimia setelah panen. Kerusakan mekanis selama homogenisasi dapat memicu reaksi enzimatik yang tidak diinginkan, seperti aktivitas polifenol oksidase yang menyebabkan pencoklatan pada buah dan sayuran. Untuk mencegahnya, inaktivasi enzim melalui perlakuan panas singkat (blansir) atau penambahan bahan kimia seperti asam askorbat sering dilakukan sebelum sampel dihomogenisasi (Singleton, 2023). Pemilihan metode inaktivasi harus mempertimbangkan stabilitas analit target; pemanasan yang berlebihan dapat merusak vitamin yang sensitif terhadap panas.

Oksidasi lipid adalah masalah utama lainnya, terutama pada sampel yang kaya akan asam lemak tak jenuh seperti ikan atau kacang-kacangan. Paparan terhadap oksigen, cahaya, dan ion logam dapat memicu reaksi berantai yang menghasilkan *off-flavor* dan mengubah profil asam lemak sampel. Untuk meminimalkan oksidasi, sampel harus diproses secepat mungkin, disimpan dalam wadah kedap udara yang diisi dengan gas inert (seperti nitrogen), dan dilindungi dari cahaya (misalnya, dengan membungkus wadah dengan aluminium foil). Penyimpanan pada suhu rendah (pendingin atau pembeku) juga sangat penting untuk memperlambat laju semua reaksi degradatif, memastikan integritas sampel terjaga mulai saat diambil hingga saat dianalisis.

Rangkuman

1. Analisis kimia hasil pertanian adalah disiplin ilmu yang esensial untuk mengidentifikasi dan mengukur komponen kimia dalam bahan pangan, yang berperan penting dalam penjaminan mutu, keamanan pangan, inovasi produk, dan kepatuhan terhadap regulasi.

2. Manajemen mutu dan keamanan pangan modern, seperti HACCP dan ISO, sangat bergantung pada data analitis yang objektif untuk verifikasi proses dan validasi produk.
3. Matriks pangan yang kompleks dan heterogen menjadi tantangan utama dalam analisis, memerlukan pemahaman mendalam untuk menghindari interferensi dan memastikan hasil yang akurat.
4. Pemilihan metode analisis melibatkan pertimbangan antara akurasi (untuk kepatuhan regulasi), presisi (untuk kontrol proses), dan kecepatan (untuk efisiensi operasional).
5. Peraturan pelabelan nutrisi yang ditetapkan oleh badan seperti FDA dan BPOM mewajibkan produsen untuk menyediakan informasi gizi yang akurat, yang harus didukung oleh data analisis kimia yang valid.
6. Penggunaan metode analisis resmi yang terstandarisasi (misalnya, dari AOAC, AACC, AOCS) sangat penting untuk memastikan data yang dihasilkan konsisten, dapat dibandingkan, dan diterima secara global.
7. Pengambilan sampel (sampling) yang representatif adalah langkah paling krusial untuk memastikan hasil analisis mencerminkan kondisi lot produk secara keseluruhan.
8. Preparasi sampel, termasuk pengurangan ukuran, homogenisasi, dan pencegahan degradasi kimiawi (seperti inaktivasi enzim dan pencegahan oksidasi), adalah fondasi untuk mendapatkan data yang andal.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan mengapa pemahaman tentang matriks pangan sangat penting bagi seorang analis kimia. Berikan contoh spesifik bagaimana matriks yang berbeda (misalnya, susu cair vs. keripik kentang) akan memerlukan pendekatan preparasi sampel yang berbeda untuk analisis kadar lemak.

2. Bandingkan dan kontraskan akurasi dan presisi dalam konteks analisis kimia. Dalam situasi apa seorang manajer laboratorium akan lebih memprioritaskan presisi daripada akurasi, dan sebaliknya? Berikan contoh untuk kedua skenario tersebut.
3. Uraikan peran analisis kimia dalam kerangka sistem keamanan pangan HACCP. Identifikasi setidaknya dua contoh titik kontrol kritis (CCP) dalam proses produksi pangan dan jelaskan bagaimana analisis kimia digunakan untuk memantau CCP tersebut.
4. Seorang produsen sereal sarapan ingin meluncurkan produk baru dan harus menyiapkan informasi untuk panel Informasi Nilai Gizi (ING). Jelaskan langkah-langkah analitis utama yang diperlukan untuk menentukan nilai kalori per saji. Sebutkan setidaknya tiga metode analisis resmi (AOAC atau sejenisnya) yang relevan dalam proses ini.
5. Saudara ditugaskan untuk mengambil sampel dari sebuah silo yang berisi 50 ton gandum untuk dianalisis kadar mikotoksinya. Jelaskan prinsip-prinsip dan langkah-langkah yang akan Saudara ambil untuk memastikan sampel laboratorium yang Saudara bawa benar-benar representatif. Mengapa proses ini sangat krusial, terutama untuk analisis kontaminan yang mungkin tidak terdistribusi secara merata?

Soal Pilihan Ganda

1. Tujuan utama dari pengambilan sampel secara acak dari suatu lot produk pangan yang besar adalah untuk...
 - A. Mempercepat proses analisis di laboratorium
 - B. Memastikan setiap bagian dari lot memiliki kesempatan yang sama untuk dianalisis
 - C. Mengurangi biaya yang terkait dengan pengujian
 - D. Memilih sampel yang paling mudah dijangkau dan dianalisis
2. Sebuah metode analisis yang secara konsisten memberikan hasil yang sangat berdekatan satu sama lain setiap kali pengujian diulang pada sampel yang sama, namun hasilnya jauh dari nilai sebenarnya, dapat dideskripsikan sebagai metode yang...
 - A. Memiliki akurasi tinggi tetapi presisi rendah

- B. Memiliki akurasi rendah dan presisi rendah
 - C. Memiliki akurasi tinggi dan presisi tinggi
 - D. Memiliki presisi tinggi tetapi akurasi rendah
3. Organisasi internasional yang terkenal dalam memvalidasi dan menerbitkan metode analisis kimia resmi untuk pangan dan pertanian adalah...
- A. WHO (*World Health Organization*)
 - B. FDA (*Food and Drug Administration*)
 - C. AOAC International (*Association of Official Analytical Collaboration*)
 - D. ISO (*International Organization for Standardization*)
4. Proses blansir sayuran sebelum dihomogenisasi untuk analisis vitamin C bertujuan untuk...
- A. Meningkatkan kadar vitamin C
 - B. Menginaktivasi enzim oksidase yang dapat merusak vitamin C
 - C. Membuat sampel lebih mudah digiling
 - D. Menghilangkan kontaminan dari permukaan sayuran
5. Dalam konteks pelabelan nutrisi, nilai total karbohidrat pada panel Informasi Nilai Gizi sering kali ditentukan dengan metode...
- A. Pengukuran langsung menggunakan HPLC
 - B. Perhitungan "*by difference*" (100% dikurangi persentase komponen lain)
 - C. Titrasi menggunakan metode Luff Schoorl
 - D. Spektrofotometri setelah reaksi dengan pereaksi warna
6. Teknik *coning and quartering* digunakan dalam tahap...
- A. Analisis instrumental
 - B. Pengurangan ukuran sampel laboratorium secara representatif
 - C. Ekstraksi analit dari matriks
 - D. Pelaporan hasil akhir
7. Interferensi matriks dalam analisis kimia terjadi ketika...
- A. Analit yang diukur berada pada konsentrasi yang sangat rendah
 - B. Instrumen yang digunakan tidak dikalibrasi dengan benar

- C. Komponen selain analit ikut memberikan sinyal yang mengganggu pengukuran
 - D. Suhu laboratorium tidak terkontrol dengan baik
8. Menurut peraturan pelabelan pangan di banyak negara, informasi manakah yang wajib dicantumkan pada label nutrisi?
- A. Kandungan antioksidan total
 - B. Indeks glikemik produk
 - C. Kandungan lemak jenuh dan natrium
 - D. Asal geografis bahan baku utama
9. Oksidasi lipid pada sampel selama penyimpanan dapat diminimalkan dengan cara...
- A. Menyimpan sampel dalam wadah transparan pada suhu ruang
 - B. Menyimpan sampel dalam wadah kedap udara yang diisi gas nitrogen pada suhu rendah
 - C. Menggiling sampel menjadi partikel yang sangat halus untuk meningkatkan luas permukaan
 - D. Menambahkan ion logam seperti tembaga sebagai katalis
10. Metode Kjeldahl adalah metode resmi yang digunakan secara luas untuk penentuan...
- A. Kadar air total
 - B. Kadar abu dan mineral
 - C. Profil asam lemak
 - D. Nitrogen total untuk estimasi protein

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Saudara adalah seorang staf *Quality Control* di sebuah perusahaan pengolahan jus apel. Manajemen menerima keluhan dari konsumen bahwa rasa manis produk tidak konsisten antar batch produksi. Saudara ditugaskan untuk merancang sebuah protokol sederhana untuk memantau konsistensi produk.

Protokol tersebut harus mencakup aspek *sampling*, preparasi, dan pemilihan metode analisis yang cepat dan efektif untuk digunakan di lingkungan pabrik. Jelaskan secara rinci:

- 1) Bagaimana Saudara akan mengambil sampel dari lini produksi untuk memastikan sampel tersebut representatif?
- 2) Langkah-langkah preparasi apa yang diperlukan sebelum sampel dianalisis?
- 3) Metode analisis apa yang akan Saudara usulkan untuk mengukur tingkat kemanisan (misalnya, kadar gula) yang cukup cepat dan praktis untuk kontrol kualitas rutin, dan berikan alasan mengapa Saudara memilih metode tersebut.

Glosarium

1. **Akurasi:** Ukuran kedekatan hasil analisis dengan nilai konsentrasi analit yang sebenarnya.
2. **Analit:** Komponen atau zat kimia spesifik dalam sampel yang menjadi target identifikasi atau kuantifikasi dalam suatu analisis.
3. **AOAC International:** Organisasi profesional global yang mempublikasikan metode analisis kimia dan mikrobiologi yang terstandarisasi dan tervalidasi.
4. **HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Points*):** Sebuah sistem manajemen keamanan pangan yang preventif dan sistematis untuk mengidentifikasi, mengevaluasi, dan mengendalikan bahaya yang signifikan bagi keamanan pangan.
5. **Homogenisasi:** Proses mengurangi ukuran partikel dan mencampur sampel secara menyeluruh untuk memastikan bahwa setiap bagian kecil (aliquot) dari sampel memiliki komposisi yang identik.
6. **Interferensi Matriks:** Efek dari semua komponen lain dalam sampel (matriks) yang dapat meningkatkan atau mengurangi sinyal respons dari analit, sehingga menyebabkan hasil analisis menjadi tidak akurat.
7. **Matriks Pangan:** Keseluruhan komponen dalam suatu bahan pangan selain analit yang sedang dianalisis.

8. **Presisi:** Ukuran kedekatan serangkaian hasil pengukuran yang diperoleh dari analisis berulang pada sampel yang sama. Dinyatakan sebagai standar deviasi atau koefisien variasi.
9. **Preparasi Sampel:** Serangkaian langkah (misalnya, penggilingan, ekstraksi, pengenceran) yang dilakukan pada sampel laboratorium untuk membuatnya cocok untuk dianalisis dengan metode tertentu.
10. **Sampel Representatif:** Sebagian kecil dari suatu lot atau populasi yang komposisi kimianya secara akurat mencerminkan komposisi rata-rata dari lot atau populasi tersebut.

BAB 2: EVALUASI DATA ANALITIS

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menerapkan statistik dasar untuk mengevaluasi data hasil analisis kimia.
2. Menghitung dan menginterpretasikan nilai rerata (*mean*), standar deviasi, dan koefisien variasi (CV).
3. Membedakan secara konseptual dan praktis antara akurasi dan presisi.
4. Mengaplikasikan aturan angka penting dan pembulatan secara benar dalam pelaporan data.
5. Mengidentifikasi dan menangani data pencilan (*outlier*) menggunakan uji statistik sederhana seperti Uji Q.
6. Menjelaskan prinsip pembuatan kurva standar dan mengevaluasi linearitasnya melalui koefisien determinasi (R^2).
7. Memahami pentingnya validasi data untuk menjamin reliabilitas hasil analisis.

Pendahuluan

Sebuah angka yang dihasilkan oleh instrumen analitis di laboratorium bukanlah sebuah kebenaran absolut. Sebaliknya, setiap hasil pengukuran merupakan sebuah estimasi dari nilai yang sebenarnya, yang selalu disertai dengan derajat ketidakpastian. Ketika laboratorium melaporkan bahwa kadar protein dalam sampel tepung kedelai adalah 40,5%, angka tersebut tidak berdiri sendiri. Makna sesungguhnya dari angka itu hanya dapat dipahami ketika kita mengetahui seberapa besar kepercayaan yang dapat kita letakkan padanya. Apakah hasil tersebut akan tetap sama jika analisis diulang? Seberapa dekat hasil tersebut dengan kandungan protein yang sebenarnya? Pertanyaan-pertanyaan inilah yang menjadi inti dari evaluasi data analitis.

Disiplin ini mengubah data mentah menjadi informasi yang bermakna dan dapat dipertanggungjawabkan. Tanpa evaluasi statistik yang cermat, serangkaian angka dari laboratorium hanyalah kumpulan data yang bisu. Evaluasi data analitis memberikan suara pada angka-angka tersebut, memungkinkan kita untuk membuat kesimpulan yang valid, mengambil keputusan yang tepat, dan mengomunikasikan hasil dengan tingkat kepercayaan yang terukur. Bagi seorang manajer kendali mutu, pemahaman ini sangat krusial untuk menentukan apakah suatu *batch* produk memenuhi spesifikasi atau harus ditolak. Variasi yang melebihi batas yang dapat diterima mungkin mengindikasikan adanya masalah dalam proses produksi yang memerlukan intervensi segera.

Sumber ketidakpastian atau kesalahan (*error*) dalam analisis kimia dapat berasal dari berbagai tahap, mulai dari pengambilan sampel, preparasi, hingga pengukuran instrumental. Kesalahan ini secara umum dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori utama, yaitu kesalahan acak (*random error*) dan kesalahan sistematis (*systematic error*). Kesalahan acak menyebabkan hasil dari pengukuran berulang tersebar di sekitar nilai rata-rata dan tidak dapat diprediksi. Sebaliknya, kesalahan sistematis menyebabkan semua hasil pengukuran bergeser secara konsisten ke satu arah, menjauhi nilai sebenarnya. Kemampuan untuk mengidentifikasi dan mengkuantifikasi kedua jenis kesalahan ini adalah keterampilan fundamental bagi seorang analis kimia.

Statistik menyediakan perangkat yang sangat kuat untuk menangani dan menginterpretasikan kesalahan ini. Ukuran tendensi sentral seperti rerata (*mean*) memberikan estimasi terbaik dari nilai yang diukur, sementara ukuran sebaran data seperti standar deviasi memberikan gambaran mengenai konsistensi atau reproduksibilitas dari pengukuran tersebut. Dengan menggunakan perangkat-perangkat ini, kita dapat membandingkan metode analisis yang berbeda, mengevaluasi kinerja seorang analis, atau bahkan memvalidasi keandalan sebuah instrumen baru. Statistik menjadi bahasa universal untuk mengomunikasikan kualitas data analitis.

Bab ini akan memandu mahasiswa untuk memasuki dunia statistik terapan dalam analisis kimia. Pembahasan tidak akan berfokus pada teori statistik yang rumit, melainkan pada aplikasi praktisnya untuk mengevaluasi data yang umum ditemui di laboratorium analisis hasil pertanian. Kita akan memulai dengan konsep-konsep paling dasar, yaitu bagaimana menghitung dan menafsirkan ukuran-ukuran statistik deskriptif seperti rerata, standar deviasi, dan koefisien variasi. Perbedaan fundamental antara konsep akurasi dan presisi, yang sering kali disalahpahami, akan diuraikan secara mendalam sebagai landasan untuk memahami kualitas data.

Selanjutnya, kita akan beralih ke aspek-aspek yang menjamin validitas dan reliabilitas data. Ini mencakup aturan-aturan praktis yang sangat penting dalam pelaporan, seperti penggunaan angka penting (*significant figures*) yang benar. Angka penting mengomunikasikan tingkat presisi dari suatu pengukuran dan penggunaannya yang tidak tepat dapat memberikan informasi yang menyesatkan. Kita juga akan mempelajari pendekatan statistik untuk menangani situasi yang tidak ideal, seperti ketika salah satu data dari serangkaian pengukuran tampak sangat berbeda dari yang lain. Prosedur untuk mengidentifikasi dan menangani data pencilan atau *outlier* ini sangat penting untuk mencegah kesimpulan yang salah.

Bagian akhir dari bab ini akan memperkenalkan salah satu alat kalibrasi yang paling umum digunakan dalam analisis kimia, yaitu kurva standar. Pembuatan kurva standar yang linear dan andal adalah prasyarat untuk banyak metode analisis kuantitatif, terutama yang berbasis instrumentasi seperti spektrofotometri dan kromatografi. Kita akan membahas cara membangun kurva standar, dan yang lebih penting, cara mengevaluasi seberapa baik data tersebut cocok dengan model linear menggunakan parameter seperti koefisien determinasi (R^2).

Penguasaan materi dalam bab ini akan membekali mahasiswa dengan kemampuan untuk berpikir kritis terhadap data yang mereka hasilkan. Kemampuan ini tidak hanya akan membuat mereka menjadi analis yang lebih baik, tetapi juga menjadi ilmuwan yang lebih kompeten. Di dunia industri dan

penelitian yang semakin didorong oleh data, kemampuan untuk mengevaluasi kualitas data secara objektif adalah aset yang tak ternilai, memastikan bahwa setiap kesimpulan yang ditarik berdiri di atas fondasi analitis yang kokoh dan dapat dipertahankan.

2.1 Statistik Dasar dalam Analisis Kimia

Statistik dalam analisis kimia bukanlah sekadar latihan matematis, melainkan sebuah alat diagnostik esensial untuk memahami perilaku suatu sistem pengukuran. Setiap kali sebuah analisis dilakukan, serangkaian faktor yang tidak sepenuhnya terkontrol, mulai dari fluktuasi suhu ruangan hingga kebisingan elektronik pada detektor instrumen, akan menghasilkan variasi kecil pada hasil. Variasi yang tidak dapat dihindari ini dikenal sebagai kesalahan acak (*random error*), yang menentukan presisi dari suatu metode (Morgan, 2021). Statistik deskriptif memberikan cara untuk mengukur dan meringkas dampak dari kesalahan acak ini, memungkinkan untuk menyatakan hasil tidak sebagai satu angka tunggal, melainkan sebagai rentang di mana nilai sebenarnya kemungkinan besar berada.

Penerapan statistik dasar dimulai dengan melakukan pengukuran berulang pada sampel yang sama dan homogen. Serangkaian data yang diperoleh dari pengukuran replikat ini membentuk sebuah populasi data kecil yang dapat dianalisis. Langkah pertama adalah menentukan tendensi sentral dari data tersebut, yang biasanya diwakili oleh rerata aritmatika atau *mean*. Rerata dianggap sebagai estimasi terbaik dari kuantitas yang diukur, karena efek dari kesalahan acak yang positif dan negatif cenderung saling meniadakan ketika data yang dikumpulkan cukup banyak. Rerata menjadi titik acuan pusat di mana semua data lainnya tersebar.

Namun, melaporkan rerata saja tidaklah cukup, karena tidak memberikan informasi apapun mengenai sebaran atau konsistensi data. Dua set data bisa saja memiliki rerata yang sama persis, tetapi sebaran datanya sangat berbeda. Satu set data mungkin sangat rapat dan konsisten, sementara set lainnya tersebar luas. Di sinilah peran ukuran dispersi atau sebaran, seperti standar

deviasi (*standard deviation*), menjadi sangat penting. Standar deviasi mengukur seberapa jauh rata-rata setiap titik data individual dari rerata keseluruhan set data. Nilai standar deviasi yang kecil menunjukkan bahwa data-data replikat sangat berdekatan satu sama lain, menyiratkan adanya presisi yang tinggi dan kesalahan acak yang rendah.

Untuk memfasilitasi perbandingan presisi antara dua set data yang memiliki satuan atau magnitudo yang berbeda, digunakanlah ukuran presisi relatif yang disebut koefisien variasi (*coefficient of variation, CV*). CV dihitung dengan membagi standar deviasi dengan rerata dan sering kali dinyatakan dalam bentuk persentase. Sebagai contoh, membandingkan standar deviasi dari analisis kadar protein (sekitar 40%) dengan analisis kadar mineral (sekitar 0,5%) secara langsung tidaklah informatif. Dengan mengubahnya menjadi CV, kita dapat membandingkan presisi relatif dari kedua metode tersebut secara adil. Laboratorium kendali mutu sering menetapkan batas CV maksimum yang dapat diterima untuk setiap metode analisis rutin sebagai bagian dari kriteria jaminan mutunya.

Selain kesalahan acak yang memengaruhi presisi, terdapat pula kesalahan sistematis (*systematic error*) yang memengaruhi akurasi. Kesalahan ini bersifat konsisten dan dapat direproduksi, menyebabkan rerata dari serangkaian data bergeser dari nilai sebenarnya. Sumbernya bisa berasal dari kalibrasi instrumen yang tidak tepat, penggunaan pereaksi yang tidak murni, atau bahkan bias yang tidak disadari oleh analis. Berbeda dengan kesalahan acak, kesalahan sistematis tidak dapat dideteksi hanya dengan melakukan pengukuran berulang. Deteksinya memerlukan analisis bahan referensi bersertifikat (*Certified Reference Material, CRM*), yaitu material yang konsentrasi analitnya diketahui dengan tingkat kepastian yang sangat tinggi.

Perbedaan antara kesalahan acak dan sistematis ini mengarah langsung pada dua konsep terpenting dalam evaluasi data, yaitu presisi dan akurasi. Presisi adalah ukuran dari kedekatan hasil-hasil pengukuran replikat satu sama lain dan dipengaruhi oleh kesalahan acak. Akurasi, di sisi lain, adalah ukuran kedekatan rerata hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya dan dipengaruhi

oleh kesalahan sistematis. Suatu metode analisis yang ideal haruslah akurat dan presisi. Namun, dalam praktiknya, sering kali ditemukan berbagai kombinasi dari keduanya, dan pemahaman akan perbedaan ini sangat penting untuk interpretasi data yang benar.

Pada akhirnya, tujuan penggunaan statistik dasar dalam analisis kimia adalah untuk mencapai objektivitas. Statistik memungkinkan analis untuk bergerak melampaui kesan subjektif tentang kualitas data dan beralih ke penilaian kuantitatif yang dapat diverifikasi. Ketika seorang analis melaporkan hasilnya sebagai "rerata \pm standar deviasi" (misalnya, $40,5 \pm 0,2\%$), analis tersebut tidak hanya memberikan satu angka, tetapi juga sebuah pernyataan yang jujur mengenai tingkat kepercayaan dan konsistensi dari hasil tersebut. Transparansi inilah yang menjadi dasar dari praktik ilmiah yang baik dan pengambilan keputusan berbasis data yang andal di industri hasil pertanian.

Analogi: Mengevaluasi data analitis menggunakan statistik dapat diibaratkan seperti seorang pelatih panahan yang mengevaluasi kinerja atletnya. Jika semua anak panah menancap sangat berdekatan satu sama lain tetapi jauh dari pusat sasaran, atlet tersebut memiliki **presisi** yang tinggi (kesalahan acaknya rendah) tetapi **akurasi** yang rendah (ada kesalahan sistematis, mungkin pada bidikannya atau pada busurnya). Sebaliknya, jika anak panah tersebar luas di sekitar pusat sasaran, atlet tersebut dapat dianggap **akurat** secara rata-rata (rerata posisi anak panah ada di tengah) tetapi memiliki **presisi** yang rendah (kesalahan acaknya tinggi). Tugas pelatih (atau analis kimia) adalah menggunakan data ini (posisi anak panah) untuk mendiagnosis masalah dan memperbaikinya, dengan tujuan akhir agar semua anak panah menancap rapat tepat di pusat sasaran, yang berarti mencapai akurasi dan presisi yang tinggi.

2.1.1 Penentuan *Mean*, *Standard Deviation*, dan *Coefficient of Variation* (CV)

Rerata atau *mean* (\bar{x}) adalah ukuran tendensi sentral yang paling umum dan dihitung dengan menjumlahkan semua nilai pengukuran individual (x_i) dan membaginya dengan jumlah pengukuran (n). Rerata memberikan nilai tunggal

yang paling mewakili keseluruhan set data replikat. Dalam praktiknya, jumlah replikat yang ideal biasanya berkisar antara tiga hingga lima untuk analisis rutin. Jumlah replikat yang lebih banyak akan memberikan estimasi rerata yang lebih andal, tetapi sering kali tidak praktis karena keterbatasan waktu dan biaya.

Standar deviasi (s) adalah ukuran absolut dari sebaran data di sekitar rerata. Nilai ini menguantifikasi konsistensi atau reproduisibilitas dari suatu metode analisis. Perhitungannya melibatkan akar kuadrat dari jumlah kuadrat selisih antara setiap nilai individual dan rerata, dibagi dengan jumlah pengukuran dikurangi satu ($n-1$), yang disebut sebagai derajat kebebasan. Penggunaan $n-1$ alih-alih n pada penyebut memberikan estimasi standar deviasi populasi yang lebih tidak bias ketika bekerja dengan sampel data yang kecil. Standar deviasi yang kecil menandakan bahwa data terkumpul rapat di sekitar rerata, yang menunjukkan presisi tinggi.

Koefisien variasi (CV), atau sering juga disebut standar deviasi relatif (RSD), adalah ukuran presisi relatif yang sangat berguna. Dihitung sebagai $CV = (s / \bar{x}) \times 100\%$, nilai ini menyatakan standar deviasi sebagai persentase dari rerata. Keunggulan utama CV adalah ia tidak memiliki satuan, sehingga memungkinkan perbandingan presisi antara pengukuran yang memiliki satuan atau skala yang sangat berbeda. Sebagai contoh, kita dapat secara langsung membandingkan presisi metode analisis kadar air (hasil dalam %) dengan presisi metode analisis residu pestisida (hasil dalam ppb). Dalam validasi metode, nilai CV yang dapat diterima biasanya bergantung pada konsentrasi analit; presisi yang lebih ketat (CV lebih rendah) diharapkan pada konsentrasi yang lebih tinggi.

2.1.2 Konsep Akurasi vs Presisi

Akurasi adalah istilah yang merujuk pada seberapa dekat rerata dari serangkaian hasil pengukuran dengan nilai sebenarnya atau nilai yang diterima sebagai referensi. Akurasi sangat dipengaruhi oleh keberadaan kesalahan sistematis, yaitu kesalahan yang konsisten dan searah. Kesalahan

ini tidak dapat dikurangi dengan menambah jumlah pengukuran replikat. Untuk menilai akurasi, seorang analis harus menganalisis *Certified Reference Material* (CRM) dan membandingkan rerata hasil yang diperoleh dengan nilai yang tertera pada sertifikat CRM tersebut. Perbedaan antara kedua nilai ini disebut sebagai bias.

Presisi, di sisi lain, merujuk pada seberapa dekat hasil-hasil pengukuran replikat satu sama lain, tanpa memandang kedekatannya dengan nilai sebenarnya. Presisi adalah cerminan dari kesalahan acak, yaitu fluktuasi yang tidak dapat diprediksi yang terjadi selama pengukuran. Ukuran kuantitatif dari presisi adalah standar deviasi atau koefisien variasi. Suatu metode dapat sangat presisi (menghasilkan data yang sangat konsisten) tetapi sama sekali tidak akurat jika terdapat kesalahan sistematis yang signifikan. Sebaliknya, suatu metode dapat akurat (rerata hasilnya mendekati nilai benar) tetapi tidak presisi jika kesalahan acaknya besar. Dalam pengembangan metode analisis, tujuan utamanya adalah untuk mencapai tingkat akurasi dan presisi yang tinggi secara bersamaan.

2.2 Validitas dan Reliabilitas Data

Setelah data mentah diolah menggunakan statistik dasar, langkah selanjutnya adalah memastikan bahwa data tersebut valid dan reliabel. Validitas data merujuk pada sejauh mana suatu metode analisis benar-benar mengukur apa yang seharusnya diukur, sementara reliabilitas berkaitan dengan konsistensi dan kepercayaan pada hasil yang diberikan. Analis tidak bisa begitu saja menerima angka yang ditampilkan oleh instrumen. Terdapat serangkaian praktik dan aturan yang harus diikuti untuk memastikan bahwa data yang dilaporkan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah dan profesional. Praktik-praktik ini membentuk kerangka kerja untuk validasi data, yang merupakan proses untuk mengonfirmasi bahwa prosedur analisis sesuai dengan tujuan penggunaannya.

Salah satu aspek paling mendasar dalam menjaga reliabilitas data adalah penggunaan angka penting (*significant figures*) yang benar. Angka penting

dalam sebuah hasil pengukuran mencakup semua digit yang diketahui dengan pasti ditambah satu digit terakhir yang masih mengandung ketidakpastian. Melaporkan terlalu banyak angka di belakang koma, seperti yang sering ditampilkan oleh kalkulator atau perangkat lunak komputer, adalah praktik yang salah dan menyesatkan. Hal itu secara implisit mengklaim tingkat presisi yang lebih tinggi daripada yang sebenarnya dapat dicapai oleh metode tersebut. Aturan-aturan yang jelas mengenai cara menentukan jumlah angka penting dan melakukan pembulatan dalam perhitungan sangat krusial untuk pelaporan data yang jujur dan akurat.

Tantangan lain dalam validasi data adalah bagaimana menangani hasil yang tampak janggal atau tidak konsisten dengan hasil lainnya dalam satu set replikat. Data seperti ini, yang dikenal sebagai pencilan atau *outlier*, dapat muncul karena berbagai alasan, mulai dari kesalahan kasar yang tidak disengaja (misalnya, salah membaca volume pipet) hingga kontaminasi sampel yang tidak terduga. Menghapus sebuah data hanya karena terlihat "berbeda" adalah tindakan yang tidak dapat dibenarkan secara ilmiah. Diperlukan sebuah uji statistik objektif, seperti Uji Q, untuk menentukan apakah ada dasar statistik yang kuat untuk menolak data tersebut. Uji ini membandingkan selisih antara data yang dicurigai dan data terdekat dengan rentang keseluruhan data, memberikan kriteria yang tidak bias untuk pengambilan keputusan.

Bagi banyak metode analisis instrumental, validitas hasil kuantitatif sangat bergantung pada proses kalibrasi yang tepat. Kalibrasi adalah proses untuk menentukan hubungan antara respons analitis (misalnya, absorbansi atau area puncak) dan konsentrasi analit. Hubungan ini biasanya digambarkan dalam bentuk kurva standar atau kurva kalibrasi, yang dibuat dengan mengukur respons dari serangkaian larutan standar dengan konsentrasi yang diketahui secara akurat. Validitas kurva standar ini dinilai berdasarkan seberapa baik titik-titik data tersebut sesuai dengan model matematis, yang paling umum adalah model regresi linear.

Kualitas dari kesesuaian linear ini sering kali diukur menggunakan koefisien determinasi, yang dilambangkan sebagai R^2 (*R-squared*). Nilai R^2 berkisar antara 0 hingga 1 dan menunjukkan proporsi variasi dalam respons instrumen yang dapat dijelaskan oleh variasi konsentrasi. Nilai R^2 yang mendekati 1 (misalnya, $> 0,995$) sering kali dianggap sebagai indikasi linearitas yang baik. Namun, hanya mengandalkan nilai R^2 saja tidak cukup. Inspeksi visual terhadap plot data dan plot residu juga sangat penting untuk memastikan bahwa tidak ada pola non-linear yang sistematis. Kurva standar yang valid dan linear adalah tulang punggung dari analisis kuantitatif yang reliabel.

Proses validasi dan penjaminan reliabilitas data adalah kegiatan yang berkelanjutan di laboratorium. Ini bukan hanya tentang mengikuti aturan secara buta, tetapi tentang membangun budaya kualitas dan skeptisisme yang sehat terhadap data. Setiap analis harus secara rutin bertanya pada diri sendiri: "Seberapa yakinkah saya dengan hasil ini?" dan "Langkah-langkah apa yang telah saya ambil untuk memverifikasi kebenarannya?". Praktik seperti menganalisis sampel blanko untuk memeriksa kontaminasi, sampel duplikat untuk memeriksa presisi, dan sampel *spike* untuk memeriksa akurasi (*recovery*) adalah bagian dari rutinitas sehari-hari yang membangun kepercayaan pada data.

Pada akhirnya, reliabilitas data adalah mata uang dari sebuah laboratorium analisis. Klien, regulator, dan komunitas ilmiah menaruh kepercayaan mereka pada data yang dilaporkan. Kepercayaan ini diperoleh melalui penerapan metodis dari prinsip-prinsip validasi, mulai dari penanganan angka penting yang cermat, perlakuan objektif terhadap *outlier*, hingga pembuatan kurva kalibrasi yang andal. Tanpa fondasi ini, laboratorium berisiko menghasilkan data yang tidak hanya salah, tetapi juga berpotensi menyebabkan keputusan yang merugikan, baik dari segi ekonomi maupun kesehatan masyarakat.

Contoh Kasus: Sebuah laboratorium menganalisis kadar kafein dalam sampel minuman energi baru menggunakan HPLC. Kurva standar yang dibuat dari lima larutan standar menunjukkan nilai R^2 sebesar 0,999. Berdasarkan nilai R^2 yang tinggi ini, analis menyimpulkan bahwa metode tersebut linear

dan melanjutkan analisis sampel. Namun, ketika data divalidasi oleh manajer laboratorium, plot residu (selisih antara respons aktual dan prediksi) menunjukkan pola melengkung yang jelas. Ini mengindikasikan bahwa hubungan antara konsentrasi dan respons sebenarnya tidak benar-benar linear pada rentang konsentrasi yang tinggi. Menggunakan model regresi linear akan menyebabkan estimasi yang tidak akurat untuk sampel dengan konsentrasi tinggi. Laboratorium harus mengubah model kalibrasi (misalnya, menggunakan regresi kuadratik) atau mempersempit rentang kerja kalibrasi ke area di mana responsnya benar-benar linear untuk memastikan reliabilitas data. Kasus ini menunjukkan bahwa mengandalkan satu parameter statistik (seperti R^2) saja bisa menyesatkan tanpa evaluasi data yang lebih komprehensif.

2.2.1 Penggunaan Angka Penting (*Significant Figures*) dan Aturan Pembulatan

Angka penting atau *significant figures* adalah digit-digit dalam suatu bilangan yang memiliki makna dalam konteks presisi pengukuran. Aturan dasar dalam pelaporan data adalah bahwa hasil akhir dari suatu perhitungan tidak boleh lebih presisi daripada pengukuran yang paling tidak presisi yang digunakan dalam perhitungan tersebut. Sebagai contoh, jika massa sampel ditimbang dengan neraca analitik hingga empat angka desimal (misalnya, 2,5031 g) tetapi dilarutkan dalam labu ukur 100,0 mL (hanya satu angka desimal presisinya), maka konsentrasi akhir harus dilaporkan dengan jumlah angka penting yang konsisten dengan presisi labu ukur, bukan presisi timbangan.

Dalam operasi penjumlahan dan pengurangan, hasil akhir harus memiliki jumlah tempat desimal yang sama dengan bilangan yang memiliki jumlah tempat desimal paling sedikit. Sebaliknya, dalam perkalian dan pembagian, hasil akhir harus memiliki jumlah angka penting yang sama dengan bilangan yang memiliki jumlah angka penting paling sedikit. Aturan pembulatan yang umum digunakan adalah jika digit yang akan dihilangkan lebih besar dari 5, digit sebelumnya dinaikkan satu; jika kurang dari 5, digit sebelumnya tetap.

Jika digit yang akan dihilangkan tepat 5, aturan umum adalah membulatkan ke angka genap terdekat untuk menghindari bias pembulatan ke atas secara sistematis. Kepatuhan terhadap aturan-aturan ini sangat penting untuk komunikasi data ilmiah yang jujur.

2.2.2 Penanganan Data *Outlier* (Uji Q)

Outlier atau pencilan adalah titik data yang secara signifikan berbeda dari titik data lainnya dalam satu set pengukuran replikat. Sebelum melakukan uji statistik, langkah pertama yang harus dilakukan adalah memeriksa kemungkinan adanya kesalahan kasar, seperti kesalahan transkripsi data atau kesalahan prosedur yang terdokumentasi (Gonzalez, 2020). Jika tidak ditemukan penjelasan yang jelas, maka uji statistik dapat diterapkan untuk memberikan dasar objektif dalam pengambilan keputusan untuk mempertahankan atau menolak data tersebut. Salah satu uji yang paling sederhana dan umum digunakan untuk set data kecil ($n = 3-10$) adalah Uji Q atau Uji Dixon.

Uji Q menghitung nilai Q eksperimental (Q_{exp}) dengan formula: $Q_{exp} = |\text{nilai pencilan} - \text{nilai terdekat}| / \text{rentang}$, di mana rentang adalah selisih antara nilai terbesar dan terkecil dalam set data. Nilai Q_{exp} ini kemudian dibandingkan dengan nilai Q kritis (Q_{kritis}) dari tabel pada tingkat kepercayaan tertentu (biasanya 95%). Jika Q_{exp} lebih besar dari Q_{kritis} , maka data pencilan tersebut dapat ditolak dengan tingkat kepercayaan yang telah ditentukan. Penting untuk diingat bahwa uji ini hanya boleh diterapkan satu kali pada satu set data. Menghapus *outlier* secara berulang akan merusak integritas statistik data tersebut.

2.2.3 Pembuatan Kurva Standar dan Linearitas (Koefisien Determinasi)

Kurva standar adalah grafik yang memplotkan respons dari suatu metode analitis (misalnya, absorbansi) terhadap konsentrasi analit yang diketahui dalam larutan standar. Grafik ini sangat fundamental untuk metode analisis

kuantitatif berbasis instrumentasi. Kurva ini dibuat dengan mempersiapkan serangkaian larutan standar yang mencakup rentang konsentrasi yang diharapkan dari sampel yang tidak diketahui. Idealnya, disiapkan minimal lima hingga enam larutan standar dengan konsentrasi yang tersebar merata di seluruh rentang kerja, ditambah satu larutan blanko (konsentrasi nol).

Setelah data respons untuk setiap standar diperoleh, metode regresi kuadrat terkecil (*least-squares regression*) digunakan untuk menemukan garis lurus terbaik yang paling sesuai dengan titik-titik data, menghasilkan persamaan garis $y = mx + c$, di mana 'y' adalah respons, 'x' adalah konsentrasi, 'm' adalah kemiringan (sensitivitas), dan 'c' adalah intersep (respons blanko). Koefisien determinasi (R^2) digunakan sebagai indikator utama seberapa baik garis tersebut mewakili data. Nilai R^2 yang lebih tinggi dari 0,99 sering dianggap sebagai bukti linearitas yang baik. Namun, R^2 yang tinggi tidak menjamin linearitas; oleh karena itu, inspeksi visual terhadap plot dan analisis residu tetap menjadi langkah validasi yang sangat penting untuk memastikan model kalibrasi yang digunakan benar-benar valid.

Rangkuman

1. Setiap pengukuran analitis mengandung ketidakpastian yang berasal dari kesalahan acak (mempengaruhi presisi) dan kesalahan sistematis (mempengaruhi akurasi).
2. Statistik deskriptif adalah alat esensial untuk menguantifikasi kualitas data; rerata (*mean*) mengestimasi nilai sentral, sedangkan standar deviasi (SD) dan koefisien variasi (CV) mengukur sebaran atau presisi data.
3. Akurasi merujuk pada kedekatan hasil dengan nilai sebenarnya, sementara presisi merujuk pada konsistensi atau reproduktibilitas dari pengukuran berulang. Keduanya merupakan parameter kualitas yang independen namun sama pentingnya.
4. Validitas dan reliabilitas data dijamin melalui praktik laboratorium yang baik, termasuk penggunaan angka penting dan aturan

- pembulatan yang benar untuk mencerminkan presisi pengukuran secara jujur.
5. Data pencilan (*outlier*) yang dapat mendistorsi hasil statistik harus ditangani secara objektif menggunakan uji statistik seperti Uji Q, bukan dihilangkan secara sewenang-wenang.
 6. Kurva standar, yang dibuat dari larutan standar dengan konsentrasi yang diketahui, adalah dasar untuk analisis kuantitatif instrumental.
 7. Linearitas kurva standar dievaluasi menggunakan metode regresi linear, dengan koefisien determinasi (R^2) sebagai indikator utama kesesuaian data. Nilai $R^2 > 0,995$ umumnya diinginkan, tetapi validasi visual juga diperlukan.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan perbedaan fundamental antara kesalahan acak (*random error*) dan kesalahan sistematis (*systematic error*). Berikan masing-masing dua contoh sumber kesalahan tersebut dalam konteks analisis kadar vitamin C dalam jus jeruk menggunakan titrasi.
2. Mengapa koefisien variasi (CV) sering kali lebih berguna daripada standar deviasi (SD) untuk membandingkan presisi antara dua metode analisis yang berbeda? Berikan contoh skenario di mana perbandingan menggunakan SD akan menyesatkan, sementara CV memberikan gambaran yang lebih adil.
3. Saudara melakukan lima kali pengukuran replikat untuk kadar air dalam sampel biskuit dan mendapatkan hasil: 3,2%, 3,1%, 3,3%, 4,1%, dan 3,2%. Jelaskan langkah-langkah yang akan Saudara ambil untuk mengevaluasi apakah nilai 4,1% merupakan data pencilan (*outlier*) atau bukan. Mengapa penting untuk menggunakan uji statistik objektif daripada hanya mengabaikan data tersebut?
4. Uraikan proses pembuatan kurva standar untuk analisis kafein menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Jelaskan peran blanko, larutan standar, dan bagaimana Saudara menggunakan persamaan

- garis hasil regresi untuk menentukan konsentrasi kafein dalam sampel minuman teh.
5. Seorang analis melaporkan hasil analisis kadar kalsium dalam sampel susu sebagai 120,3578 mg/100g. Mengapa pelaporan hasil dengan jumlah angka desimal sebanyak ini kemungkinan besar tidak dapat dibenarkan secara ilmiah? Jelaskan konsep angka penting dan bagaimana seharusnya hasil tersebut dilaporkan jika data asli yang digunakan dalam perhitungan memiliki presisi 3 hingga 4 angka penting.

Soal Pilihan Ganda

1. Seorang analis melakukan analisis bahan referensi bersertifikat (CRM) yang diketahui mengandung 10,50 ppm timbal. Hasil rerata dari analisisnya adalah 9,80 ppm dengan standar deviasi yang sangat kecil. Kinerja metode ini dapat dideskripsikan sebagai...
 - A. Akurat dan presisi
 - B. Tidak akurat dan tidak presisi
 - C. Presisi, tetapi tidak akurat
 - D. Akurat, tetapi tidak presisi
2. Ukuran statistik yang paling baik untuk menggambarkan presisi relatif dari suatu metode analisis adalah...
 - A. Rentang (*range*)
 - B. Rerata (*mean*)
 - C. Standar Deviasi (*standard deviation*)
 - D. Koefisien Variasi (*coefficient of variation*)
3. Dalam sebuah perhitungan $(12.54 * 2.1) / 10.00$, berapa jumlah angka penting yang seharusnya dimiliki oleh hasil akhirnya?
 - A. Satu
 - B. Dua
 - C. Tiga
 - D. Empat

4. Uji Q digunakan dalam evaluasi data analitis untuk...
 - A. Menentukan rerata dari set data
 - B. Menguji apakah ada perbedaan signifikan antara dua metode
 - C. Memberikan dasar statistik untuk menolak data pencilan
 - D. Menghitung koefisien determinasi dari kurva standar
5. Kesalahan yang disebabkan oleh kalibrasi pipet yang tidak tepat yang secara konsisten memberikan volume lebih rendah dari seharusnya adalah contoh dari...
 - A. Kesalahan acak
 - B. Kesalahan sistematis
 - C. Kesalahan kasar (*gross error*)
 - D. Kesalahan pembulatan
6. Dalam persamaan regresi linear $y = mx + c$ yang diperoleh dari kurva standar, 'm' merepresentasikan...
 - A. Konsentrasi analit dalam sampel
 - B. Respons instrumen untuk blanko
 - C. Sensitivitas metode
 - D. Koefisien determinasi
7. Sebuah kurva standar yang baik untuk analisis kuantitatif idealnya memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) yang...
 - A. Mendekati 0
 - B. Tepat 0,5
 - C. Mendekati 1
 - D. Negatif
8. Jika hasil penimbangan sebuah sampel adalah 1,23 g, 1,25 g, dan 1,27 g, maka rerata dan standar deviasinya secara berurutan adalah...
 - A. 1,25 g dan 0,04 g
 - B. 1,25 g dan 0,02 g
 - C. 1,26 g dan 0,02 g
 - D. 1,26 g dan 0,04 g
9. Mana dari berikut ini yang BUKAN merupakan praktik yang baik dalam pembuatan kurva standar?
 - A. Menggunakan setidaknya lima titik konsentrasi standar

- B. Memaksa garis regresi untuk melewati titik nol (0,0)
 - C. Memastikan rentang kalibrasi mencakup konsentrasi sampel
 - D. Memeriksa plot secara visual selain melihat nilai R^2
10. Tujuan utama menganalisis *Certified Reference Material* (CRM) adalah untuk mengevaluasi...
- A. Presisi metode
 - B. Akurasi metode
 - C. Linearitas metode
 - D. Batas deteksi metode

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah laboratorium junior menerima sampel madu untuk dianalisis kadar gulanya. Seorang analis baru melakukan analisis sebanyak empat kali dan mendapatkan hasil sebagai berikut: 78,5%, 79,1%, 78,8%, dan 81,2%.

- (1) Hitunglah rerata, standar deviasi, dan koefisien variasi dari data tersebut.
- (2) Analis tersebut merasa bahwa nilai 81,2% terlihat mencurigakan. Dengan menggunakan nilai Q kritis untuk $n = 4$ pada tingkat kepercayaan 95% yang sebesar 0,829, lakukanlah Uji Q untuk menentukan apakah data tersebut dapat ditolak secara statistik. Tunjukkan perhitungan Saudara dan berikan kesimpulan.
- (3) Berdasarkan hasil evaluasi Anda, berapakah nilai kadar gula yang seharusnya dilaporkan oleh laboratorium beserta ukuran presisinya?

Glosarium

1. **Akurasi:** Ukuran kedekatan rerata hasil analisis dengan nilai konsentrasi analit yang sebenarnya (nilai referensi).
2. **Angka Penting (*Significant Figures*):** Digit-digit dalam suatu nilai terukur yang diketahui dengan pasti ditambah satu digit terakhir yang merupakan estimasi.
3. **Kesalahan Acak (*Random Error*):** Kesalahan yang menyebabkan data hasil pengukuran berulang tersebar secara acak di sekitar nilai rerata. Mempengaruhi presisi.

4. **Kesalahan Sistematis (*Systematic Error*):** Kesalahan yang menyebabkan rerata hasil pengukuran bergeser secara konsisten dari nilai sebenarnya. Mempengaruhi akurasi.
5. **Koefisien Determinasi (R^2):** Ukuran statistik (antara 0 dan 1) yang menunjukkan seberapa baik data pada plot pencar sesuai dengan model regresi linear.
6. **Koefisien Variasi (*CV*):** Ukuran presisi relatif, dihitung sebagai rasio standar deviasi terhadap rerata, biasanya dinyatakan dalam persen.
7. **Kurva Standar:** Grafik yang menghubungkan respons dari suatu instrumen analitis dengan konsentrasi analit yang telah diketahui dari serangkaian larutan standar.
8. **Pencilan (*Outlier*):** Sebuah titik data dalam serangkaian pengukuran yang tampak sangat berbeda atau jauh dari titik data lainnya.
9. **Presisi:** Ukuran kedekatan atau reproduisibilitas dari serangkaian hasil pengukuran yang diperoleh dari analisis berulang pada sampel yang sama.
10. **Rerata (*Mean*):** Nilai rata-rata aritmatika dari satu set data, dihitung dengan menjumlahkan semua nilai dan membaginya dengan jumlah nilai.
11. **Standar Deviasi (*Standard Deviation*):** Ukuran statistik yang menguantifikasi jumlah variasi atau sebaran dari satu set nilai data di sekitar rerata.
12. **Uji Q (*Q-Test*):** Uji statistik sederhana yang digunakan untuk memutuskan apakah sebuah data pencilan (*outlier*) dapat ditolak dari satu set data kecil.

BAB 3: ANALISIS KADAR AIR (*MOISTURE CONTENT*)

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan prinsip-prinsip dasar analisis kadar air dan total padatan.
2. Membedakan antara tiga bentuk utama air dalam bahan pertanian: air bebas, air terikat, dan air kristal.
3. Menganalisis signifikansi kadar air terhadap stabilitas, kualitas, dan umur simpan produk.
4. Menguasai prosedur dan prinsip kerja metode analisis termal, termasuk pengeringan oven atmosferik dan vakum.
5. Memahami prinsip dan aplikasi metode distilasi azeotropik untuk penentuan kadar air.
6. Menjelaskan mekanisme reaksi dan aplikasi metode titrasi Karl Fischer untuk sampel berkadar air rendah.
7. Membedakan konsep antara kadar air total dengan aktivitas air (A_w) dan memahami hubungannya dengan pertumbuhan mikroba.

Pendahuluan

Air adalah komponen paling melimpah dalam sebagian besar bahan hasil pertanian, namun keberadaannya sering kali dianggap biasa. Jarang sekali kita berhenti sejenak untuk mempertimbangkan peran yang dimainkan oleh molekul sederhana H_2O ini. Air adalah esensi kehidupan, medium bagi reaksi biokimia, dan penentu utama tekstur produk seperti kesegaran buah atau kelembutan daging. Di sisi lain, air adalah agen perusak yang paling potensial, menjadi faktor utama yang memfasilitasi pertumbuhan mikroba perusak, memicu reaksi pencoklatan enzimatis, dan mempercepat ketengikan oksidatif pada lemak. Kehadirannya yang berlebih dapat mengubah produk pangan yang bernilai menjadi substrat bagi mikrobia pembusuk dalam waktu singkat.

Tantangan bagi setiap ilmuwan dan praktisi di industri pangan adalah mengelola kandungan air ini dengan presisi. Pengelolaan tersebut tidak mungkin dilakukan tanpa kemampuan untuk mengukurnya secara akurat. Analisis kadar air, atau secara teknis disebut penentuan total padatan (*total solids*), merupakan salah satu analisis paling fundamental dan paling sering dilakukan di laboratorium industri pangan. Hasil dari analisis ini menjadi landasan bagi berbagai keputusan kritis. Bagi seorang petani, kadar air biji-bijian saat panen menentukan apakah hasil panennya dapat disimpan dengan aman atau harus segera dikeringkan untuk mencegah pertumbuhan jamur penghasil mikotoksin.

Dalam konteks industri, data kadar air memiliki implikasi ekonomi, kualitas, dan legal yang sangat besar. Banyak komoditas pertanian, seperti biji kopi atau gandum, diperjualbelikan berdasarkan beratnya. Kadar air yang berlebih berarti pembeli membayar untuk air, bukan untuk padatan yang bernilai. Oleh karena itu, standar kadar air maksimum sering kali ditetapkan dalam kontrak perdagangan. Dari segi kualitas, kadar air yang tepat sangat krusial untuk mencapai atribut sensorik yang diinginkan. Kerenyahan keripik kentang, tekstur kenyal pada produk roti, atau sifat alir (*flowability*) pada susu bubuk, semuanya dikontrol secara ketat melalui pengaturan kadar air.

Analisis kadar air juga menjadi prasyarat penting untuk pelaporan nutrisi. Kandungan makronutrien lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat umumnya dilaporkan berdasarkan basis kering (*dry basis*) untuk memungkinkan perbandingan yang adil antar sampel yang berbeda. Untuk dapat menghitung kandungan nutrisi basis kering, seorang analis harus terlebih dahulu mengetahui secara pasti berapa banyak air yang terdapat dalam sampel tersebut. Dengan demikian, akurasi dari analisis kadar air akan merambat dan memengaruhi akurasi dari semua komponen lain yang dilaporkan pada label nutrisi.

Bab ini akan mengupas secara mendalam tentang dunia analisis kadar air, melampaui sekadar prosedur pemanasan sampel di dalam oven. Kita akan memulai dengan menjelajahi konsep fundamental mengenai bagaimana air

sebenarnya berada di dalam matriks pangan. Tidak semua air memiliki sifat dan perilaku yang sama. Pemahaman mengenai perbedaan antara air bebas, yang aktif secara kimiawi, dan air terikat, yang terikat erat pada komponen lain, adalah kunci untuk memahami stabilitas produk. Konsep ini akan membawa kita pada perbedaan penting antara kuantitas air (kadar air) dan aktivitasnya (aktivitas air, Aw).

Selanjutnya, kita akan menyelami berbagai metodologi yang digunakan untuk mengukur kandungan air. Pembahasan akan berpusat pada metode-metode klasik yang menjadi standar industri, seperti metode pengeringan oven. Kita akan membandingkan antara kondisi pengeringan atmosferik dan vakum, serta menganalisis kelebihan dan kekurangan masing-masing pendekatan. Metode distilasi, yang memanfaatkan pelarut untuk mengusir air dari sampel, juga akan dieksplorasi sebagai alternatif untuk bahan-bahan tertentu.

Bagian akhir bab ini akan memperkenalkan metode-metode yang lebih canggih dan spesifik. Titrasi Karl Fischer, sebuah metode kimiawi yang sangat spesifik untuk molekul air, akan dibahas sebagai standar emas untuk analisis sampel dengan kadar air sangat rendah, seperti minyak atau gula. Terakhir, kita akan kembali ke konsep aktivitas air (Aw) dan melihat bagaimana parameter ini, bukan kadar air total, yang sebenarnya menjadi prediktor terbaik bagi stabilitas mikrobiologis produk. Hubungan antara kadar air dan Aw menjadi pengetahuan esensial dalam desain produk pangan awet.

Melalui penjelajahan ini, mahasiswa akan memahami bahwa di balik analisis yang tampak sederhana ini, terdapat kompleksitas kimia fisika yang mendalam. Penguasaan berbagai teknik analisis kadar air dan kemampuan untuk memilih metode yang paling sesuai untuk setiap jenis sampel adalah kompetensi dasar yang akan membekali mereka untuk mengatasi berbagai tantangan dalam kendali mutu dan pengembangan produk di industri hasil pertanian.

3.1 Prinsip Dasar dan Bentuk Air dalam Bahan Pertanian

Analisis kadar air pada dasarnya bertujuan untuk mengukur jumlah total air yang terdapat dalam suatu sampel. Hasilnya umumnya dinyatakan sebagai persentase dari berat total sampel (basis basah, *wet basis*) atau sebagai persentase dari berat padatan sampel (basis kering, *dry basis*). Meskipun tujuannya terdengar sederhana, implementasinya dihadapkan pada tantangan karena air di dalam matriks pangan tidak berada dalam satu bentuk tunggal. Air berinteraksi dengan komponen-komponen lain seperti protein, karbohidrat, dan garam melalui berbagai mekanisme ikatan, yang secara signifikan memengaruhi sifat fisik dan perilakunya.

Sifat polar dari molekul air memungkinkannya untuk membentuk ikatan hidrogen yang kuat, baik dengan sesama molekul air maupun dengan gugus fungsional polar pada makromolekul lain (misalnya, gugus hidroksil pada pati atau gugus amina dan karboksil pada protein). Interaksi inilah yang menyebabkan air tidak dapat dianggap sebagai komponen inert yang hanya berfungsi sebagai pengisi. Sebaliknya, air secara aktif berpartisipasi dalam menentukan struktur tiga dimensi makromolekul, yang pada gilirannya memengaruhi tekstur, viskositas, dan stabilitas produk pangan secara keseluruhan.

Pemahaman mengenai bentuk-bentuk air ini sangat penting karena metode analisis yang berbeda mungkin mengukur fraksi air yang berbeda pula. Metode pengeringan termal, misalnya, dirancang untuk menguapkan sebagian besar air, tetapi mungkin tidak mampu menghilangkan air yang terikat sangat kuat tanpa menyebabkan dekomposisi komponen lain. Sebaliknya, metode kimia seperti titrasi Karl Fischer bereaksi secara stoikiometri dengan molekul H_2O , terlepas dari seberapa kuat ia terikat, sehingga sering memberikan hasil kadar air total yang lebih tinggi. Pemilihan metode analisis yang tepat, oleh karena itu, harus didasarkan pada pemahaman tentang sifat sampel dan jenis informasi kadar air yang dibutuhkan.

Bentuk air dalam bahan pangan secara konseptual dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori utama berdasarkan tingkat interaksinya dengan padatan non-air. Kategori pertama adalah air bebas (*free water*), yang mempertahankan sifat-sifat fisiknya seperti air murni. Air ini tidak terikat atau hanya terikat secara lemah pada matriks dan berfungsi sebagai pelarut untuk senyawa-senyawa terlarut serta menjadi medium yang tersedia bagi reaksi kimia dan pertumbuhan mikrobial. Fraksi air inilah yang paling mudah dihilangkan melalui proses pengeringan atau penguapan.

Kategori kedua adalah air terikat (*bound water*), yang terikat secara fisik pada permukaan makromolekul melalui ikatan hidrogen atau interaksi ion-dipol. Air terikat memiliki mobilitas yang sangat terbatas, tidak membeku pada titik beku normal air (0°C), dan tidak tersedia sebagai pelarut. Fraksi ini sering disebut sebagai lapisan air monomolekuler (*monolayer*) yang menutupi permukaan padatan. Air terikat sangat sulit untuk dihilangkan dan memerlukan energi yang jauh lebih besar dibandingkan air bebas. Meskipun jumlahnya relatif kecil, keberadaannya sangat krusial dalam menstabilkan struktur polimer dan mencegah reaksi degradatif.

Kategori ketiga yang lebih spesifik adalah air kristal atau air hidratasi. Air ini terikat secara kimiawi sebagai bagian dari struktur kristal senyawa tertentu, seperti pada beberapa jenis gula (misalnya, laktosa monohidrat) atau garam (misalnya, kalsium sulfat dihidrat). Air ini tidak dianggap sebagai bagian dari air cair dalam sistem dan hanya dapat dihilangkan pada suhu yang sangat tinggi, yang sering kali bersamaan dengan dekomposisi senyawa itu sendiri. Metode analisis kadar air konvensional umumnya tidak dirancang untuk mengukur fraksi air ini secara terpisah.

Pentingnya analisis kadar air bagi stabilitas produk tidak dapat dilebih-lebihkan. Hampir semua reaksi kerusakan pada pangan, baik yang bersifat mikrobiologis, enzimatis, maupun kimiawi, membutuhkan air sebagai medium atau reaktan. Dengan mengurangi kandungan air bebas, laju reaksi-reaksi ini dapat diperlambat secara signifikan, yang merupakan prinsip dasar di balik metode pengawetan tradisional seperti pengeringan, penggaraman,

dan pemanisan. Dengan demikian, pengukuran kadar air bukan hanya sekadar penentuan komposisi, melainkan sebuah alat diagnostik fundamental untuk memprediksi dan mengendalikan umur simpan suatu produk pangan.

Analogi: Memahami berbagai bentuk air dalam makanan dapat diibaratkan seperti mengamati penonton di sebuah stadion konser. **Air bebas** adalah seperti penonton yang berdiri di area festival di depan panggung; mereka dapat bergerak dengan bebas, berinteraksi satu sama lain, dan menciptakan "aktivitas" yang tinggi. Kelompok ini adalah yang pertama kali meninggalkan stadion saat konser usai (paling mudah diucapkan). **Air terikat** adalah seperti penonton yang duduk di kursi bernomor; mereka terikat pada lokasi spesifik, mobilitasnya sangat terbatas, dan mereka tidak banyak berinteraksi dengan penonton di area festival. Mereka membutuhkan usaha lebih untuk meninggalkan stadion (lebih sulit diucapkan). Terakhir, **air kristal** adalah seperti petugas keamanan yang merupakan bagian dari struktur operasional stadion itu sendiri; mereka secara intrinsik terikat pada bangunan dan tidak akan pergi bahkan setelah semua penonton pulang (hanya bisa dihilangkan dengan "merusak" struktur).

3.1.1 Air Bebas, Terikat, dan Air Kristal

Air bebas, yang sering disebut juga sebagai air kapiler, adalah fraksi air yang terperangkap dalam pori-pori dan struktur makro dari matriks pangan. Sifat-sifatnya, seperti tekanan uap, titik beku, dan kemampuan melarutkan, sangat mirip dengan air murni. Karena mobilitasnya yang tinggi, air bebas menjadi faktor utama yang memungkinkan terjadinya reaksi kimia dan pertumbuhan mikroorganisme. Metode-metode pengawetan seperti pengeringan atau pembekuan pada dasarnya bertujuan untuk menghilangkan atau mengubah fasa dari fraksi air bebas ini untuk menghambat aktivitasnya.

Air terikat, sebaliknya, menunjukkan sifat yang sangat berbeda. Fraksi ini berinteraksi langsung dengan permukaan hidrofilik dari makromolekul seperti polisakarida dan protein. Lapisan pertama air yang teradsorpsi, dikenal sebagai *monolayer* BET, terikat sangat kuat dan dianggap sebagai bagian

integral dari struktur makromolekul itu sendiri. Air terikat tidak berfungsi sebagai pelarut dan tidak tersedia untuk pertumbuhan mikrobia. Keberadaannya justru sering kali bersifat protektif, melindungi makromolekul dari degradasi dan menstabilkan konformasi alaminya.

Air kristal atau air hidratasi merupakan bentuk air yang paling kuat terikat karena merupakan bagian stoikiometris dari kisi kristal suatu senyawa. Contoh klasik dalam pangan adalah laktosa monohidrat ($C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$) yang ditemukan dalam produk susu kering. Molekul air ini hanya dapat dihilangkan dengan memanaskan kristal di atas suhu dehidrasinya, sebuah proses yang sering kali mengubah sifat fisik dari senyawa tersebut (misalnya, dari kristal menjadi amorf). Sebagian besar metode analisis kadar air termal dapat menghilangkan air kristal, tetapi hal ini harus dipertimbangkan dalam interpretasi hasil, karena mungkin tidak relevan dengan stabilitas produk.

3.1.2 Pentingnya Analisis Kadar Air bagi Stabilitas Produk

Analisis kadar air merupakan parameter kritis dalam memprediksi dan mengendalikan stabilitas produk pangan. Kadar air yang tinggi secara langsung berkorelasi dengan laju kerusakan yang lebih cepat. Hal ini disebabkan karena air bebas yang melimpah menyediakan lingkungan yang ideal bagi proliferasi bakteri, ragi, dan jamur, yang merupakan agen utama pembusukan mikrobiologis. Pengurangan kadar air di bawah ambang batas tertentu adalah salah satu strategi pengawetan pangan tertua dan paling efektif, yang mendasari produksi makanan kering seperti buah-buahan kering, dendeng, dan ikan asin.

Selain stabilitas mikrobiologis, kadar air juga memengaruhi laju reaksi kimia dan enzimatis. Reaksi pencoklatan non-enzimatis Maillard, yang bertanggung jawab atas pembentukan warna dan aroma pada produk pangangan, serta reaksi oksidasi lipid yang menyebabkan ketengikan, keduanya sangat dipengaruhi oleh keberadaan air. Menariknya, laju beberapa reaksi ini justru mencapai puncaknya pada kadar air menengah, bukan pada kadar air tertinggi. Oleh karena itu, kontrol kadar air yang presisi diperlukan

untuk mengoptimalkan kualitas sensorik sambil meminimalkan reaksi degradatif selama penyimpanan. Analisis kadar air secara rutin menjadi alat yang tak tergantikan dalam sistem kendali mutu untuk memastikan produk diproduksi dan disimpan dalam kondisi kelembaban yang optimal.

3.2 Metode Analisis Kadar Air Langsung (Termal)

Metode analisis kadar air langsung, khususnya yang berbasis termal, merupakan pendekatan yang paling klasik dan paling banyak digunakan di laboratorium analisis pangan karena kesederhanaan, biaya yang relatif rendah, dan kemampuannya untuk menangani banyak sampel secara bersamaan. Prinsip dasar dari metode ini sangat lugas, yaitu menghilangkan air dari sampel melalui pemanasan dan menentukan jumlah air yang hilang berdasarkan perbedaan berat sampel sebelum dan setelah pengeringan. Fraksi yang hilang selama pemanasan diasumsikan sebagai kadar air, sedangkan fraksi yang tersisa disebut sebagai total padatan (*total solids*). Metode ini bersifat langsung karena mengukur properti air itu sendiri (yaitu, volatilitasnya) untuk memisahkannya dari matriks.

Meskipun prinsipnya sederhana, pelaksanaan metode termal memerlukan perhatian cermat terhadap detail untuk mendapatkan hasil yang akurat dan dapat direproduksi. Beberapa faktor kunci yang harus dikontrol dengan ketat meliputi suhu pengeringan, waktu pengeringan, dan kondisi tekanan di dalam oven. Suhu yang terlalu rendah atau waktu yang terlalu singkat akan menyebabkan pengeringan yang tidak sempurna, sehingga kadar air yang terukur lebih rendah dari nilai sebenarnya. Sebaliknya, suhu yang terlalu tinggi atau waktu yang terlalu lama dapat menyebabkan dekomposisi komponen lain yang sensitif terhadap panas, seperti gula atau vitamin, atau penguapan senyawa volatil selain air (misalnya, alkohol atau asam asetat), yang keduanya akan menyebabkan hasil kadar air yang terlalu tinggi (*overestimation*).

Untuk mencapai hasil yang konsisten, analisis harus mengikuti prosedur standar yang telah divalidasi, seperti yang diterbitkan oleh AOAC International.

Prosedur ini secara spesifik menetapkan suhu dan waktu pengeringan untuk berbagai jenis komoditas. Sebagai contoh, analisis biji-bijian mungkin memerlukan pengeringan pada 130°C selama 2 jam, sedangkan untuk produk yang mengandung gula tinggi seperti madu, diperlukan suhu yang lebih rendah (misalnya, 70°C) di bawah kondisi vakum untuk mencegah dekomposisi (karamelisasi) gula. Konsistensi dalam mengikuti prosedur ini sangat penting untuk komparabilitas data antar laboratorium.

Salah satu asumsi fundamental dari metode pengeringan adalah bahwa hanya air yang hilang selama proses pemanasan. Asumsi ini tidak selalu benar. Produk-produk hasil fermentasi seperti cuka atau minuman beralkohol mengandung senyawa volatil lain yang akan ikut menguap bersama air. Demikian pula, rempah-rempah yang kaya akan minyak esensial akan kehilangan sebagian komponen aromatikanya selama pengeringan. Dalam kasus-kasus seperti ini, metode pengeringan oven akan memberikan hasil yang tidak akurat, dan metode alternatif seperti distilasi atau titrasi Karl Fischer harus dipertimbangkan.

Teknik preparasi sampel sebelum pengeringan juga memainkan peran yang sangat penting. Sampel harus disebar secara merata dalam cawan dengan lapisan yang tipis untuk memaksimalkan luas permukaan dan memfasilitasi penguapan air yang efisien. Untuk sampel cair atau semi-padat seperti pasta tomat, sering kali dicampur dengan pasir laut atau bahan inert lainnya untuk memperluas permukaan dan mencegah pembentukan kerak kering di bagian atas yang dapat menghalangi penguapan air dari bagian dalam. Sampel padat yang besar harus digiling terlebih dahulu untuk memperkecil ukuran partikel dan mempercepat proses pengeringan.

Metode pengeringan oven atmosferik adalah varian yang paling umum, di mana pengeringan dilakukan pada tekanan atmosfer normal. Metode ini cocok untuk sebagian besar sampel yang stabil terhadap panas. Namun, untuk sampel yang mengandung komponen yang mudah terdegradasi oleh panas atau gula yang mudah mengalami karamelisasi, metode pengeringan oven vakum menjadi pilihan yang lebih baik. Dengan mengurangi tekanan di dalam

oven, titik didih air dapat diturunkan secara signifikan, memungkinkan pengeringan dilakukan pada suhu yang jauh lebih rendah (misalnya, 60-70°C) sambil tetap mencapai laju penguapan yang efektif. Ini meminimalkan risiko dekomposisi termal dan memberikan hasil yang lebih akurat untuk sampel-sampel yang sensitif.

Selain pengeringan oven, metode distilasi azeotropik merupakan pendekatan termal lain yang bekerja dengan prinsip yang berbeda. Dalam metode ini, sampel dididihkan bersama dengan pelarut organik yang tidak larut dalam air dan memiliki titik didih sedikit di atas air (misalnya, toluena atau xilena). Uap campuran pelarut dan air kemudian dikondensasikan dan dikumpulkan dalam tabung penampung khusus (seperti perangkat Dean-Stark) yang telah terkalibrasi. Karena air lebih padat daripada pelarut seperti toluena, ia akan berada di bagian bawah tabung, memungkinkan volumenya untuk dibaca secara langsung. Metode ini sangat berguna untuk sampel dengan kadar air rendah dan sampel yang mengandung banyak senyawa volatil yang dapat mengganggu metode oven.

Contoh Kasus: Sebuah pabrik pengolahan rempah-rempah ingin menentukan kadar air dalam bubuk lada hitam untuk memastikan stabilitas selama penyimpanan. Awalnya, mereka menggunakan metode pengeringan oven atmosferik standar pada 105°C. Namun, hasil yang diperoleh tidak konsisten dan cenderung lebih tinggi dari yang diharapkan. Setelah diselidiki, ditemukan bahwa suhu tinggi tidak hanya menguapkan air tetapi juga sebagian besar minyak atsiri (seperti piperin) yang memberikan aroma khas pada lada. Kehilangan massa dari minyak atsiri ini secara keliru dihitung sebagai air. Untuk mengatasi masalah ini, pabrik beralih menggunakan metode distilasi azeotropik dengan toluena. Dalam metode ini, minyak atsiri yang ikut menguap akan tetap larut dalam toluena di bagian atas tabung penampung, sementara air akan terpisah dan terkumpul di bagian bawah. Hal ini memungkinkan kuantifikasi air secara spesifik tanpa interferensi dari komponen volatil lainnya, menghasilkan data yang lebih akurat dan relevan untuk kontrol kualitas.

3.2.1 Metode Pengeringan Oven (Atmosferik vs Vakum)

Metode pengeringan oven atmosferik metode AOAC 2019 adalah prosedur yang paling umum untuk analisis kadar air, di mana sampel dipanaskan dalam oven konveksi atau oven aliran udara paksa pada tekanan atmosfer. Suhu yang digunakan biasanya sedikit di atas titik didih air, umumnya antara 102°C hingga 105°C, untuk memastikan penguapan air yang cepat. Metode ini sangat cocok untuk bahan pangan yang stabil secara termal, seperti sereal, pakan ternak, dan sebagian besar produk susu kering. Kelebihannya terletak pada kesederhanaan operasional, biaya peralatan yang rendah, dan kemampuan untuk memproses banyak sampel secara simultan.

Pengeringan oven vakum merupakan modifikasi yang dirancang untuk menganalisis sampel yang sensitif terhadap panas. Dengan menghubungkan oven ke pompa vakum, tekanan di dalam ruang pemanasan diturunkan secara drastis. Penurunan tekanan ini menurunkan titik didih air, memungkinkan proses pengeringan yang efektif pada suhu yang lebih rendah, biasanya antara 60°C hingga 70°C. Metode ini sangat penting untuk produk-produk yang kaya akan gula fruktosa atau komponen lain yang mudah mengalami dekomposisi termal, seperti konsentrat buah, madu, dan produk kembang gula. Meskipun memberikan hasil yang lebih akurat untuk sampel sensitif, metode ini memerlukan peralatan yang lebih mahal dan waktu analisis yang umumnya lebih lama.

3.2.2 Metode Distilasi (Azeotropik)

Metode distilasi azeotropik menawarkan pendekatan yang secara fundamental berbeda untuk memisahkan air dari matriks sampel. Metode ini melibatkan pendidihan sampel dalam pelarut yang tidak dapat bercampur dengan air, seperti toluena atau xilena. Pelarut dan air akan menguap bersama membentuk azeotrop, yaitu campuran uap dengan komposisi konstan. Uap ini kemudian didinginkan oleh kondensor dan ditetaskan ke dalam alat penampung khusus, seperti perangkap Dean-Stark atau Bidwell-Sterling.

Di dalam perangkap, air yang lebih padat akan terpisah dari pelarut organik dan terkumpul di bagian bawah tabung yang terkalibrasi, memungkinkan volumenya dibaca secara langsung. Pelarut yang lebih ringan akan meluap dan kembali ke labu pendidihan, menciptakan siklus refluks yang berkelanjutan hingga semua air dalam sampel berhasil diekstraksi. Metode ini memiliki keunggulan karena lebih cepat daripada pengeringan oven dan tidak terpengaruh oleh dekomposisi termal atau kehadiran senyawa volatil lainnya selain air. Ini menjadikannya metode pilihan untuk rempah-rempah, minyak, dan produk pangan dengan kadar air yang sangat rendah.

3.3 Metode Analisis Tidak Langsung dan Kimia

Meskipun metode termal sangat umum digunakan, terdapat keterbatasan yang mendorong pengembangan pendekatan lain untuk analisis kadar air. Metode-metode ini dapat diklasifikasikan sebagai metode kimiawi, yang mengandalkan reaksi stoikiometri spesifik dengan air, atau metode tidak langsung (fisik), yang mengukur properti fisik dari sampel yang berkorelasi dengan kandungan airnya. Metode-metode ini sering kali lebih cepat, lebih spesifik, dan dapat diotomatisasi, menjadikannya sangat berharga dalam lingkungan industri modern. Kelemahannya adalah mereka sering memerlukan kalibrasi terhadap metode primer atau referensi, seperti metode oven.

Metode kimia yang paling menonjol dan diakui sebagai standar emas untuk banyak aplikasi adalah titrasi Karl Fischer. Metode ini didasarkan pada reaksi redoks antara iodine dan sulfur dioksida dalam medium alkohol (biasanya metanol) yang hanya akan berlangsung jika ada air. Air berperan sebagai reaktan dalam stoikiometri yang diketahui secara pasti, yaitu satu mol air akan bereaksi dengan satu mol iodine. Oleh karena itu, dengan mengukur jumlah iodine yang dibutuhkan untuk bereaksi dengan semua air dalam sampel, kandungan air dapat dihitung dengan akurasi yang sangat tinggi. Titik akhir titrasi dapat ditentukan secara visual (perubahan warna menjadi coklat karena

kelebihan iodin) atau, lebih umum, secara elektrometri (volumetri atau koulometrik).

Keunggulan utama dari titrasi Karl Fischer adalah spesifisitasnya yang luar biasa terhadap air. Tidak seperti metode termal, hasilnya tidak dipengaruhi oleh penguapan senyawa volatil lain atau dekomposisi sampel. Hal ini menjadikannya metode pilihan untuk produk-produk seperti cokelat, kopi sangrai, minyak, dan lemak, di mana metode oven akan memberikan hasil yang sangat tidak akurat. Selain itu, sensitivitasnya sangat tinggi, mampu mengukur kadar air hingga tingkat bagian per juta (*parts per million*, ppm), sehingga sangat ideal untuk analisis bahan-bahan yang seharusnya sangat kering, seperti gula kristal atau pelarut organik.

Di sisi lain, terdapat pula metode-metode fisik tidak langsung yang menawarkan kecepatan analisis yang luar biasa. Metode-metode ini tidak mengukur air secara langsung, melainkan mengukur properti lain dari sampel yang berubah seiring dengan perubahan kadar air. Contohnya termasuk pengukuran konstanta dielektrik, konduktivitas listrik, atau penyerapan radiasi inframerah dekat (*Near-Infrared*, NIR). Instrumen yang menggunakan prinsip-prinsip ini harus dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan sejumlah besar sampel yang kadar airnya telah ditentukan dengan metode referensi (misalnya, oven atau Karl Fischer). Setelah model kalibrasi yang andal dibuat, instrumen dapat memberikan hasil kadar air dalam hitungan detik.

Salah satu konsep terpenting yang terkait erat dengan kadar air, meskipun bukan merupakan metode pengukurannya, adalah aktivitas air (*water activity* atau *Aw*). *Aw* bukanlah ukuran kuantitas air, melainkan ukuran ketersediaan atau "aktivitas" termodinamika air dalam suatu sistem. Secara formal, *Aw* didefinisikan sebagai rasio tekanan uap air di atas sampel terhadap tekanan uap air murni pada suhu yang sama. Nilainya berkisar dari 0 (sangat kering) hingga 1 (air murni). Parameter ini sangat penting karena pertumbuhan mikroorganisme, laju reaksi kimia, dan stabilitas fisik lebih berkorelasi kuat dengan *Aw* daripada dengan kadar air total.

Dua produk yang berbeda dapat memiliki kadar air total yang sama persis, tetapi Aw yang sangat berbeda. Misalnya, selai dan keju kering mungkin sama-sama memiliki kadar air 20%. Namun, gula dalam selai mengikat molekul air dengan sangat kuat, sehingga menurunkan Aw secara drastis (misalnya, menjadi 0,80). Sebaliknya, air dalam keju kering tidak terikat sekuat itu, sehingga Aw-nya mungkin lebih tinggi (misalnya, 0,90). Akibatnya, selai akan jauh lebih awet dan tahan terhadap pertumbuhan jamur dibandingkan keju kering, meskipun kandungan air totalnya sama.

Pengukuran Aw dilakukan menggunakan instrumen khusus yang disebut *water activity meter*. Instrumen ini bekerja dengan menempatkan sampel dalam ruang tertutup dan mengukur kelembaban relatif ekuilibrium (ERH) udara di atas sampel setelah mencapai kesetimbangan. Nilai ERH (dalam %) dibagi 100 sama dengan nilai Aw. Pemahaman dan kontrol terhadap Aw adalah salah satu pilar utama dalam teknologi pangan modern untuk merancang produk yang aman dan stabil tanpa perlu bergantung pada pendinginan atau pengawet kimia.

Analogi: Membedakan antara kadar air total dan aktivitas air (Aw) ibarat membedakan antara total kekayaan seseorang (total aset) dengan jumlah uang tunai yang dimilikinya di dompet (likuiditas). Seseorang bisa saja memiliki total aset senilai miliaran rupiah dalam bentuk properti dan saham (kadar air total tinggi), tetapi jika tidak ada uang tunai di dompetnya (Aw rendah), ia tidak dapat melakukan transaksi atau "aktivitas" ekonomi. Sebaliknya, orang lain mungkin memiliki total aset yang lebih rendah, tetapi sebagian besarnya berupa uang tunai (Aw tinggi), sehingga ia sangat aktif secara ekonomi. Mikroorganisme, seperti pelaku ekonomi, hanya dapat menggunakan "uang tunai" (air bebas yang menentukan Aw), bukan "properti" (air terikat) untuk tumbuh dan berkembang biak.

3.3.1 Titrasi Karl Fischer (untuk Sampel Kadar Air Rendah)

Titration Karl Fischer (KFT) adalah metode titrimetri yang didasarkan pada reaksi Bunsen antara iodine and sulfur dioxide with water. This reaction has been modified to work in a non-aqueous medium, usually methanol and pyridine or other organic bases. In the volumetric method, a Karl Fischer reagent containing iodine at a known concentration is added to the sample that is dissolved in an anhydrous solvent until all the water has reacted. The endpoint, which indicates the presence of a small excess of iodine, is detected accurately using a platinum double electrode that measures the change in potential.

For samples with very low water content (for example, $< 0.1\%$), a coulometric variant of KFT is used. In this method, iodine is not added from a buret, but is generated *in situ* in the titration cell through the oxidation of iodide ions. The amount of iodine generated is directly proportional to the amount of current that is passed, according to Faraday's law. By measuring the total charge (in coulombs) that is required to reach the endpoint, the water content in the sample can be calculated with very high precision. The coulometric KFT method is a definitive method for measuring moisture content (*trace moisture*).

3.3.2 Hubungan Kadar Air dengan Aktivitas Air (A_w)

Total water content and water activity (A_w) are both important parameters, but they provide different information. The relationship between the two for a specific food product at a constant temperature can be graphically represented by a curve called the moisture sorption isotherm (*Moisture Sorption Isotherm, MSI*). This MSI curve is unique for each product and shows how much water the product will contain when it is in equilibrium with its environment at a specific relative humidity.

Kurva MSI umumnya berbentuk sigmoid (tipe II menurut klasifikasi BET) untuk sebagian besar produk pangan. Pada Aw yang sangat rendah, sedikit peningkatan Aw hanya menyebabkan sedikit peningkatan kadar air karena air terikat sebagai lapisan *monolayer*. Pada Aw menengah, air mulai membentuk lapisan tambahan dan mengisi pori-pori mikro, sehingga kurva mulai menanjak. Pada Aw yang tinggi (di atas 0,7-0,8), air mulai mengisi kapiler yang lebih besar dan bertindak sebagai air bebas, menyebabkan kurva menanjak sangat tajam, di mana sedikit saja peningkatan Aw akan menyebabkan penyerapan air dalam jumlah besar. Pemahaman kurva MSI sangat penting dalam rekayasa proses pengeringan, pengemasan, dan prediksi umur simpan produk.

Rangkuman

1. Air dalam bahan pertanian ada dalam berbagai bentuk (bebas, terikat, kristal), yang masing-masing memiliki sifat dan pengaruh yang berbeda terhadap stabilitas produk.
2. Analisis kadar air sangat penting karena hasilnya mempengaruhi kualitas, keamanan, umur simpan, dan nilai ekonomi produk, serta menjadi dasar untuk pelaporan nutrisi.
3. Metode termal langsung, seperti pengeringan oven, bekerja dengan prinsip menghilangkan air melalui pemanasan dan mengukur kehilangan berat. Oven vakum digunakan untuk sampel sensitif panas untuk mencegah dekomposisi.
4. Metode distilasi azeotropik memisahkan air dengan cara mendidihkannya bersama pelarut organik yang tidak larut, dan cocok untuk sampel yang mengandung senyawa volatil lain.
5. Titrasi Karl Fischer adalah metode kimiawi yang sangat spesifik dan akurat untuk air, menjadi standar emas untuk sampel dengan kadar air sangat rendah.
6. Aktivitas air (Aw) adalah ukuran ketersediaan air untuk reaksi kimia dan pertumbuhan mikroba, dan merupakan prediktor stabilitas yang lebih baik daripada kadar air total.

7. Hubungan antara kadar air dan A_w untuk suatu produk digambarkan oleh kurva Isoterm Sorpsi Kelembaban (MSI), yang krusial untuk rekayasa proses dan pengemasan.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan mengapa dua produk pangan yang berbeda, misalnya madu dan tepung terigu, bisa memiliki kadar air total yang sama (misalnya 15%) namun memiliki stabilitas dan umur simpan yang sangat berbeda. Kaitkan jawaban Saudara dengan konsep air bebas, air terikat, dan aktivitas air (A_w).
2. Bandingkan dan kontraskan metode pengeringan oven atmosferik dengan metode pengeringan oven vakum. Kapan Saudara akan memilih untuk menggunakan metode oven vakum? Berikan contoh tiga produk pangan yang lebih sesuai dianalisis dengan oven vakum dan jelaskan alasannya.
3. Uraikan prinsip dasar dari metode titrasi Karl Fischer. Mengapa metode ini dianggap lebih unggul dibandingkan metode pengeringan oven untuk menganalisis kadar air dalam sampel seperti minyak goreng atau cokelat?
4. Apa yang dimaksud dengan kurva Isoterm Sorpsi Kelembaban (MSI)? Jelaskan bentuk umum kurva MSI untuk produk pangan dan apa makna dari setiap bagian kurva tersebut (misalnya, daerah A_w rendah, menengah, dan tinggi) dalam kaitannya dengan bentuk air.
5. Seorang analis melaporkan bahwa hasil analisis kadar air pada sampel bubuk jahe menggunakan metode oven 105°C menunjukkan hasil yang lebih tinggi dari yang diperkirakan dan tidak konsisten. Identifikasi potensi sumber kesalahan dalam kasus ini dan usulkan metode analisis alternatif yang lebih sesuai, serta berikan justifikasi untuk pilihan Saudara.

Soal Pilihan Ganda

1. Bentuk air dalam bahan pangan yang paling tersedia untuk pertumbuhan mikroba dan reaksi kimia adalah...
 - A. Air kristal
 - B. Air terikat
 - C. Air bebas
 - D. Air hidratisasi
2. Metode analisis kadar air yang paling sesuai untuk sampel yang sensitif terhadap panas dan kaya akan gula, seperti konsentrat jus apel, adalah...
 - A. Pengeringan oven atmosferik pada 130°C
 - B. Distilasi azeotropik dengan toluena
 - C. Pengeringan oven vakum pada 70°C
 - D. Titrasi Karl Fischer
3. Prinsip kerja metode distilasi azeotropik untuk penentuan kadar air adalah...
 - A. Reaksi kimia spesifik antara air dan pereaksi
 - B. Penguapan air dan senyawa volatil lainnya pada suhu tinggi
 - C. Pendidihan sampel dengan pelarut organik yang tidak larut dalam air dan mengumpulkan air yang terpisah
 - D. Mengukur perubahan konstanta dielektrik sampel
4. Parameter yang secara langsung mengukur ketersediaan air dalam suatu produk dan menjadi prediktor terbaik untuk stabilitas mikrobiologis adalah...
 - A. Kadar air basis basah
 - B. Total padatan
 - C. Aktivitas air (A_w)
 - D. Kadar air basis kering
5. Metode analisis kadar air yang didasarkan pada reaksi stoikiometri antara air, iodine, dan sulfur dioksida adalah...
 - A. Metode pengeringan oven
 - B. Metode distilasi Dean-Stark

- C. Titrasi Karl Fischer
 - D. Metode hidrometri
6. Sebuah produk pangan yang memiliki nilai A_w di bawah 0,6 umumnya dianggap...
- A. Sangat rentan terhadap pertumbuhan bakteri
 - B. Stabil dan tidak mendukung pertumbuhan mikroorganisme apapun
 - C. Hanya dapat ditumbuhi oleh jamur xerofilik
 - D. Memerlukan pendinginan untuk pengawetan
7. Dalam metode pengeringan oven, penambahan pasir laut ke dalam sampel semi-padat seperti pasta tomat bertujuan untuk...
- A. Meningkatkan berat sampel
 - B. Mencegah dekomposisi termal
 - C. Memperluas luas permukaan dan mencegah pembentukan kerak
 - D. Mengkatalisis penguapan air
8. Air yang terikat secara kimiawi sebagai bagian dari struktur kristal suatu senyawa disebut...
- A. Air bebas
 - B. Air kapiler
 - C. Air terikat
 - D. Air kristal (air hidrasi)
9. Grafik yang menggambarkan hubungan antara kadar air kesetimbangan suatu produk dengan kelembaban relatif lingkungan pada suhu konstan disebut...
- A. Kurva standar
 - B. Spektrum inframerah
 - C. Kromatogram
 - D. Isoterm sorpsi kelembaban

10. Kelemahan utama dari metode pengeringan oven adalah...
- A. Memerlukan peralatan yang sangat mahal
 - B. Tidak spesifik untuk air dan dapat menguapkan senyawa volatil lainnya
 - C. Terlalu cepat untuk mendapatkan hasil yang akurat
 - D. Hanya dapat digunakan untuk sampel cair

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Saudara bekerja di departemen R&D sebuah perusahaan makanan ringan yang sedang mengembangkan produk kerupuk sayuran baru. Salah satu tujuan utama adalah memastikan produk akhir memiliki kerenyahan yang maksimal dan umur simpan minimal 12 bulan.

- (1) Jelaskan dua parameter terkait air yang harus Saudara ukur dan kontrol secara ketat selama pengembangan dan produksi.
- (2) Usulkan metode analisis laboratorium yang paling sesuai untuk masing-masing parameter tersebut dan jelaskan mengapa metode itu yang Saudara pilih.
- (3) Target Aw akhir untuk produk kerupuk ini ditetapkan pada 0,40. Jelaskan apa arti nilai ini bagi stabilitas produk dan potensi jenis kerusakan apa yang masih perlu diwaspadai bahkan pada tingkat Aw ini.

Glosarium

- 1. **Aktivitas Air (Aw)**: Ukuran ketersediaan atau energi bebas air dalam suatu sistem. Didefinisikan sebagai rasio tekanan uap air di atas bahan terhadap tekanan uap air murni pada suhu yang sama.
- 2. **Air Bebas (Free Water)**: Fraksi air dalam bahan pangan yang sifatnya mirip dengan air murni, tersedia sebagai pelarut dan untuk pertumbuhan mikroba.
- 3. **Air Terikat (Bound Water)**: Fraksi air yang terikat erat pada permukaan makromolekul (seperti protein dan karbohidrat) melalui ikatan hidrogen atau gaya lainnya, memiliki mobilitas terbatas.

4. **Azeotrop:** Campuran dua atau lebih cairan yang memiliki komposisi uap yang sama dengan komposisi cairnya, sehingga mendidih pada suhu konstan.
5. **Basis Kering (*Dry Basis*):** Cara menyatakan komposisi suatu bahan sebagai persentase dari total padatan setelah semua air dihilangkan.
6. **Isoterm Sorpsi Kelembaban (*Moisture Sorption Isotherm*):** Kurva yang menggambarkan hubungan kesetimbangan antara kadar air suatu produk dengan aktivitas air (atau kelembaban relatif) pada suhu konstan.
7. **Kadar Air:** Jumlah total air yang terkandung dalam sampel, biasanya dinyatakan sebagai persentase dari berat total (basis basah).
8. **Oven Vakum:** Jenis oven yang memungkinkan proses pengeringan pada tekanan rendah, sehingga menurunkan titik didih air dan cocok untuk sampel yang sensitif terhadap panas.
9. **Total Padatan (*Total Solids*):** Bagian dari sampel yang tersisa setelah semua kadar air telah dihilangkan, terdiri dari protein, lemak, karbohidrat, abu, dan komponen non-volatil lainnya.
10. **Titration Karl Fischer:** Metode titrimetri yang akurat dan spesifik untuk menentukan kadar air berdasarkan reaksi kimia antara air dengan iodin dan sulfur dioksida.

BAB 4: ANALISIS KADAR ABU DAN MINERAL

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan definisi dan signifikansi kadar abu sebagai indikator kandungan mineral total dalam bahan pertanian.
2. Membedakan prinsip kerja, kelebihan, dan kekurangan antara metode pengabuan kering (*dry ashing*) dan pengabuan basah (*wet digestion*).
3. Menguasai prosedur dasar penggunaan tanur pengabuan (*muffle furnace*) untuk penentuan kadar abu total.
4. Memahami alasan mengapa pengabuan basah lebih diutamakan untuk persiapan sampel analisis mineral spesifik.
5. Menjelaskan langkah-langkah kunci dalam persiapan sampel abu untuk analisis logam menggunakan instrumentasi modern.
6. Memahami prinsip dasar di balik teknik spektroskopi serapan atom (AAS) untuk kuantifikasi mineral.
7. Mengenali prinsip dasar dan keunggulan teknik *Inductively Coupled Plasma* (ICP) untuk analisis multi-elemen.

Pendahuluan

Ketika kita membakar sempurna sepotong roti atau sebutir jagung, hampir semua komponen organiknya yang kompleks, yaitu karbohidrat, protein, lemak, dan vitamin, akan teroksidasi menjadi gas seperti karbon dioksida, uap air, dan oksida nitrogen, lalu lenyap ke udara. Namun, sesuatu akan tetap tertinggal. Residu yang tidak dapat terbakar, yang tampak seperti serbuk halus berwarna keabu-abuan, adalah bukti nyata dari keberadaan senyawa anorganik di dalam materi biologis. Residu inilah yang kita sebut sebagai abu. Analisis kadar abu, meskipun terdengar destruktif, adalah langkah pertama untuk mengungkap komposisi mineral dari bahan hasil pertanian.

Kandungan abu mungkin hanya menyusun sebagian kecil dari berat total sebagian besar bahan pangan, sering kali kurang dari 5%. Akan tetapi, signifikansinya jauh melampaui proporsinya yang kecil. Mineral-mineral yang terkandung di dalam abu ini, seperti kalsium, kalium, zat besi, dan magnesium, memainkan peran yang sangat penting, baik dari segi nutrisi maupun fungsional. Kalsium sangat esensial untuk kekuatan tulang, zat besi merupakan komponen kunci hemoglobin dalam darah, dan kalium penting untuk fungsi saraf. Ketiadaan atau kekurangan mineral-mineral ini dalam diet dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan serius. Oleh karena itu, kuantifikasi kandungan mineral menjadi persyaratan wajib dalam pelabelan nutrisi dan formulasi produk pangan.

Analisis abu berfungsi sebagai ukuran proksi pertama dari total material anorganik. Dalam sistem analisis proksimat, penentuan kadar abu, bersama dengan kadar air, protein, lemak, dan karbohidrat, memberikan gambaran komposisi makro dari suatu bahan pangan. Data kadar abu total dapat menjadi indikator kualitas yang penting. Sebagai contoh, kadar abu yang tinggi pada gula atau pati dapat mengindikasikan adanya kontaminasi atau proses pemurnian yang tidak efisien. Dalam tepung terigu, kadar abu digunakan sebagai dasar klasifikasi; tepung dengan kadar abu lebih rendah umumnya berasal dari bagian endosperma yang lebih murni dan berwarna lebih putih.

Namun, mengetahui jumlah total abu saja sering kali tidak cukup. Informasi ini ibarat mengetahui total berat semua perabotan di dalam sebuah rumah tanpa mengetahui ada berapa banyak kursi, meja, atau lemari. Untuk aplikasi nutrisi dan keamanan pangan, kita perlu melangkah lebih jauh untuk mengidentifikasi dan mengukur setiap mineral secara spesifik. Di sinilah abu yang telah diperoleh dari proses pengabuan bertransformasi dari sekadar hasil akhir menjadi bahan awal yang sangat berharga untuk analisis instrumental yang lebih canggih.

Bab ini akan memandu mahasiswa melalui dua tahap utama dalam eksplorasi dunia anorganik pangan. Tahap pertama berfokus pada penentuan kadar abu total. Kita akan mendalami definisi abu sebagai residu anorganik dan

membahas dua metode utama untuk memperolehnya. Metode pengabuan kering (*dry ashing*), yang menggunakan suhu sangat tinggi di dalam tanur, akan dibahas sebagai metode yang paling umum. Di sisi lain, metode pengabuan basah (*wet digestion*), yang menggunakan kombinasi asam-asam kuat dan panas untuk mendegradasi matriks organik, akan disajikan sebagai alternatif yang penting, terutama ketika analisis akan dilanjutkan ke tingkat elemen spesifik.

Tahap kedua kita akan beralih dari pengukuran total menjadi pengukuran spesifik. Kita akan mempelajari bagaimana abu yang diperoleh dipersiapkan lebih lanjut, biasanya dengan melarutkannya dalam asam, untuk mengubah mineral-mineral padat menjadi ion-ion terlarut dalam sebuah larutan. Larutan inilah yang kemudian siap untuk dianalisis menggunakan teknik spektroskopi modern. Bab ini akan memberikan pengantar konseptual pada dua teknik instrumental yang menjadi tulang punggung analisis mineral, yaitu Spektroskopi Serapan Atom (AAS) dan Spektroskopi Emisi Atom dengan Plasma (*Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy*, ICP-AES).

Melalui pembahasan ini, mahasiswa akan memahami alur kerja lengkap dalam analisis mineral, mulai dari proses dekomposisi matriks organik yang kompleks hingga kuantifikasi elemen pada tingkat bagian per juta (ppm) atau bahkan lebih rendah. Pemahaman ini akan membekali mereka dengan pengetahuan untuk tidak hanya melakukan analisis secara prosedural, tetapi juga untuk memilih metode yang paling sesuai dan menginterpretasikan hasilnya dalam konteks kualitas, nutrisi, dan keamanan pangan.

4.1 Prinsip Analisis Kadar Abu Total

Analisis kadar abu total dirancang untuk mengukur keseluruhan kandungan anorganik dalam sampel pangan. Prinsip kerjanya didasarkan pada penghilangan seluruh komponen organik melalui proses oksidasi atau pembakaran pada suhu tinggi, sehingga yang tersisa hanyalah residu anorganik yang stabil terhadap panas. Residu inilah yang ditimbang dan dihitung sebagai persentase dari berat sampel awal. Proses ini secara efektif memisahkan dunia mineral dari dunia organik. Hasil dari analisis ini, meskipun tidak memberikan informasi tentang komposisi mineral spesifik, merupakan parameter penting dalam spesifikasi kualitas dan standar untuk banyak komoditas pangan. Sebagai contoh, dalam industri penggilingan gandum, kadar abu digunakan untuk mengukur efisiensi pemisahan bekatul (*bran*) dari endosperma, di mana kadar abu yang lebih rendah menunjukkan tingkat pemurnian tepung yang lebih tinggi.

Metode ini, meskipun fundamental, memiliki beberapa asumsi dan keterbatasan yang penting untuk dipahami. Asumsi utamanya adalah bahwa semua komponen organik akan teroksidasi sempurna menjadi produk volatil (CO_2 , H_2O , NO_x) dan semua komponen anorganik akan tetap tertinggal sebagai residu. Dalam praktiknya, asumsi ini tidak sepenuhnya akurat. Beberapa mineral, terutama klorida dan nitrat, dapat mengalami volatilisasi dan hilang sebagian pada suhu pengabuan yang tinggi. Sebaliknya, beberapa elemen seperti sulfur dapat bereaksi dengan oksigen dan tetap tertinggal sebagai sulfat, yang mungkin tidak mewakili bentuk aslinya dalam sampel. Oleh karena itu, kadar abu harus diinterpretasikan sebagai ukuran dari total residu anorganik setelah pembakaran pada kondisi tertentu, bukan sebagai representasi absolut dari semua mineral yang ada dalam sampel asli.

Terdapat dua pendekatan metodologis utama untuk melakukan dekomposisi matriks organik dalam penentuan kadar abu, yaitu pengabuan kering (*dry ashing*) dan pengabuan basah (*wet digestion*). Pemilihan antara kedua metode ini bergantung pada sifat sampel dan, yang lebih penting, pada tujuan akhir dari analisis. Jika tujuannya hanya untuk menentukan kadar abu total sebagai

bagian dari analisis proksimat, metode pengabuan kering karena kesederhanaannya sering kali menjadi pilihan utama. Namun, jika abu yang dihasilkan akan digunakan lebih lanjut untuk analisis elemen mineral spesifik (terutama untuk elemen renik atau *trace elements*), metode pengabuan basah sering kali lebih disukai.

Metode pengabuan kering melibatkan pemanasan sampel dalam cawan porselen atau platina di dalam tanur pengabuan (*muffle furnace*) pada suhu yang sangat tinggi, biasanya antara 500°C hingga 600°C. Pada suhu ini, matriks organik akan terbakar habis oleh oksigen dari udara. Proses ini relatif sederhana, aman karena tidak menggunakan pereaksi kimia berbahaya, dan memungkinkan penanganan banyak sampel secara bersamaan. Namun, kelemahannya yang signifikan adalah potensi kehilangan mineral-mineral yang volatil seperti arsen, kadmium, timbal, dan raksa. Selain itu, beberapa mineral dapat bereaksi dengan bahan cawan (terutama silika) pada suhu tinggi, membentuk silikat yang tidak larut dan sulit untuk dianalisis lebih lanjut.

Sebagai alternatif, metode pengabuan basah menggunakan asam-asam pengoksidasi kuat, seperti asam nitrat (HNO_3), asam sulfat (H_2SO_4), atau asam perklorat (HClO_4), sering kali dalam kombinasi, untuk mendegradasi matriks organik pada suhu yang jauh lebih rendah (biasanya di bawah 350°C). Proses ini dilakukan dalam labu khusus (misalnya, labu Kjeldahl) di lemari asam. Keunggulan utama dari metode ini adalah risiko kehilangan mineral akibat volatilisasi jauh lebih kecil. Hasil akhir dari digesti basah bukanlah abu kering, melainkan larutan jernih yang mengandung semua mineral dalam bentuk ion terlarut, yang sangat ideal untuk analisis langsung dengan teknik spektroskopi seperti AAS atau ICP.

Meskipun lebih unggul dalam hal retensi mineral, metode pengabuan basah memiliki beberapa kekurangan. Metode ini memerlukan penggunaan pereaksi kimia yang sangat korosif dan berbahaya (terutama asam perklorat, yang berpotensi meledak), sehingga menuntut kehati-hatian dan fasilitas lemari asam yang memadai. Waktu yang dibutuhkan untuk satu sampel biasanya

lebih lama dan memerlukan perhatian konstan dari analis. Selain itu, ada risiko kontaminasi sampel oleh pengotor logam yang mungkin ada dalam pereaksi asam yang digunakan. Oleh karena itu, penggunaan pereaksi dengan tingkat kemurnian sangat tinggi (*trace metal grade*) menjadi suatu keharusan.

Pada akhirnya, pemilihan metode analisis kadar abu total merupakan sebuah keputusan strategis yang menyeimbangkan antara tujuan analisis, sifat sampel, dan sumber daya laboratorium. Untuk kontrol kualitas rutin di mana hanya nilai abu total yang dibutuhkan, pengabuan kering adalah metode yang efisien dan praktis. Akan tetapi, untuk analisis nutrisi atau kontaminan yang memerlukan data mineral spesifik yang akurat, pengabuan basah, meskipun lebih rumit dan berbahaya, sering kali menjadi langkah persiapan yang tidak dapat dihindari untuk menjamin validitas hasil akhir.

Analogi: Proses analisis abu dapat diibaratkan seperti proses daur ulang sebuah mobil bekas. Tujuan pertama (**analisis abu total**) adalah untuk mengetahui berapa banyak total logam yang ada di mobil tersebut. Caranya adalah dengan memasukkan seluruh mobil ke dalam insinerator raksasa (**pengabuan kering**). Semua bagian yang mudah terbakar seperti kursi, ban, dan plastik akan lenyap, menyisakan kerangka logam dan mesin. Menimbang sisa logam ini akan memberikan gambaran total material anorganik. Namun, jika tujuannya adalah untuk mengetahui secara spesifik berapa banyak tembaga, aluminium, atau baja yang ada (**analisis mineral spesifik**), proses insinerasi ini berisiko melelehkan dan mencampurkan semua logam, bahkan mungkin menguapkan beberapa di antaranya. Pendekatan yang lebih baik adalah dengan membongkar mobil secara hati-hati dan melarutkan setiap komponen logamnya menggunakan larutan kimia khusus (**pengabuan basah**). Proses ini, meskipun lebih lambat dan rumit, akan menghasilkan larutan-larutan terpisah untuk setiap jenis logam, yang siap dianalisis secara individual dengan akurasi tinggi.

4.1.1 Definisi Abu sebagai Residu Anorganik

Abu, dalam konteks analisis kimia, didefinisikan sebagai total residu anorganik yang tersisa setelah sampel bahan pangan mengalami proses insinerasi atau oksidasi sempurna dari komponen organiknya. Komponen anorganik ini utamanya terdiri dari oksida-oksida, sulfat, fosfat, silikat, dan klorida dari berbagai elemen mineral seperti kalium (K), natrium (Na), kalsium (Ca), dan magnesium (Mg). Nilai kadar abu merepresentasikan jumlah total mineral dalam makanan, menjadikannya sebuah parameter nutrisi yang penting.

Penting untuk dicatat bahwa komposisi kimia dari abu tidak selalu sama persis dengan komposisi mineral dalam bahan pangan aslinya. Proses pemanasan pada suhu yang sangat tinggi menyebabkan transformasi kimia. Sebagai contoh, garam-garam organik dari kalsium (seperti kalsium sitrat) akan terdekomposisi menjadi kalsium oksida (CaO) atau kalsium karbonat (CaCO_3), bergantung pada suhu pengabuan. Meskipun demikian, karena transformasi ini terjadi secara konsisten pada kondisi analisis yang terkontrol, nilai kadar abu tetap menjadi ukuran yang valid dan dapat direproduksi untuk estimasi total mineral.

4.1.2 Metode Pengabuan Kering (*Dry Ashing*) menggunakan *Muffle Furnace*

Metode pengabuan kering adalah prosedur yang paling umum untuk menentukan kadar abu total. Prosedur ini dimulai dengan menimbang secara akurat sejumlah sampel (biasanya 2-5 gram) ke dalam cawan pengabuan (dari porselen, kuarsa, atau platina) yang sebelumnya telah ditimbang kosong. Sampel kemudian dipanaskan secara perlahan di atas penangas uap atau *hot plate* untuk menghilangkan kadar air dan mencegah cipratan saat dimasukkan ke dalam tanur yang sangat panas. Cawan kemudian dipindahkan ke dalam *muffle furnace* atau tanur pengabuan.

Suhu di dalam tanur dinaikkan secara bertahap hingga mencapai suhu target, yang umumnya berada di antara 550°C hingga 600°C, dan dipertahankan pada suhu tersebut selama beberapa jam (biasanya 4-8 jam) atau hingga residu yang terbentuk berwarna putih atau abu-abu terang, menandakan bahwa semua karbon telah teroksidasi sempurna. Setelah proses pengabuan selesai, tanur dimatikan dan dibiarkan dingin sebelum cawan dipindahkan ke dalam desikator untuk didinginkan hingga suhu ruang, lalu ditimbang. Perbedaan antara berat cawan berisi abu dan berat cawan kosong adalah berat abu, yang kemudian digunakan untuk menghitung persentase kadar abu.

4.1.3 Metode Pengabuan Basah (*Wet Digestion*) untuk Analisis Mineral Spesifik

Metode pengabuan basah, atau sering disebut juga digesti asam, adalah proses dekomposisi matriks organik menggunakan pereaksi kimia cair. Sampel ditimbang dalam labu digesti, kemudian ditambahkan campuran asam pengoksidasi seperti asam nitrat pekat (HNO_3) dan sering kali dikombinasikan dengan asam sulfat (H_2SO_4) atau hidrogen peroksida (H_2O_2). Labu tersebut kemudian dipanaskan secara perlahan di atas blok digesti di dalam lemari asam. Pemanasan mempercepat reaksi oksidasi, di mana asam nitrat secara efektif menghancurkan komponen-komponen organik.

Proses pemanasan dan penambahan asam dilanjutkan hingga asap putih tebal dari asam sulfat muncul dan larutan di dalam labu menjadi jernih dan tidak berwarna, menandakan bahwa proses digesti telah selesai. Larutan hasil digesti ini kemudian didinginkan, diencerkan secara kuantitatif dengan air deionisasi ke volume tertentu dalam labu ukur. Larutan akhir ini mengandung mineral-mineral dalam bentuk ion terlarut dan siap untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan teknik instrumental. Metode ini meminimalkan kehilangan elemen volatil dan merupakan metode persiapan sampel pilihan untuk analisis AAS atau ICP.

4.2 Analisis Mineral Spesifik

Setelah berhasil mengubah matriks organik yang kompleks menjadi residu anorganik sederhana (abu) atau larutan asam, tahap selanjutnya adalah mengidentifikasi dan mengukur konsentrasi dari setiap elemen mineral secara individual. Pengetahuan tentang kadar abu total memberikan gambaran umum, tetapi untuk keperluan pelabelan nutrisi, studi defisiensi mineral, atau pemantauan kontaminan logam berat, diperlukan data kuantitatif untuk elemen-elemen spesifik seperti kalsium, zat besi, seng, tembaga, timbal, atau kadmium. Analisis mineral spesifik menjawab pertanyaan "mineral apa saja yang ada dan berapa banyak jumlahnya?", memberikan informasi yang jauh lebih detail dan berharga dibandingkan kadar abu total.

Langkah pertama dalam analisis mineral spesifik, terutama jika dimulai dari abu hasil pengabuan kering, adalah mengubah residu padat tersebut menjadi bentuk larutan. Hal ini mutlak diperlukan karena hampir semua teknik instrumentasi modern untuk analisis elemen dirancang untuk menganalisis sampel dalam bentuk cair. Mineral-mineral dalam abu, yang sebagian besar berada dalam bentuk oksida atau garam anorganik lainnya, umumnya tidak larut dalam air. Oleh karena itu, diperlukan proses pelarutan menggunakan asam kuat, seperti asam klorida (HCl) atau asam nitrat (HNO_3), sering kali dengan sedikit pemanasan untuk mempercepat prosesnya. Tujuannya adalah untuk memastikan bahwa semua mineral target terlarut sempurna menjadi ion-ion di dalam larutan, tanpa ada yang tertinggal sebagai endapan.

Larutan yang dihasilkan dari proses pelarutan abu atau dari metode pengabuan basah sering kali memiliki konsentrasi mineral yang terlalu tinggi untuk dianalisis secara langsung oleh instrumen. Instrumen spektroskopi atomik sangat sensitif dan hanya bekerja secara optimal dalam rentang konsentrasi tertentu yang relatif rendah (biasanya dalam rentang bagian per juta, ppm, atau bagian per miliar, ppb). Oleh karena itu, langkah pengenceran yang akurat dan terukur menjadi sangat krusial. Pengenceran harus dilakukan secara kuantitatif menggunakan peralatan volumetrik yang terkalibrasi (seperti pipet

dan labu ukur) dan air deionisasi dengan kemurnian sangat tinggi untuk menghindari kontaminasi.

Setelah sampel berada dalam bentuk larutan yang jernih, homogen, dan dengan konsentrasi yang sesuai, barulah analisis instrumental dapat dimulai. Dua teknik yang paling dominan digunakan dalam analisis mineral pangan adalah Spektroskopi Serapan Atom (*Atomic Absorption Spectroscopy*, AAS) dan Spektroskopi Emisi Plasma (*Inductively Coupled Plasma Spectroscopy*, ICP). Kedua teknik ini bekerja berdasarkan prinsip interaksi antara energi (dalam bentuk cahaya) dengan atom-atom dari elemen target. Meskipun prinsip dasarnya serupa, cara mereka menghasilkan dan mendeteksi sinyal atomik sangat berbeda, memberikan kelebihan dan kekurangan masing-masing.

Spektroskopi Serapan Atom (AAS) adalah teknik yang sangat spesifik dan sensitif, sering dianggap sebagai *workhorse* di banyak laboratorium analisis mineral. Prinsipnya didasarkan pada hukum Beer-Lambert, di mana konsentrasi suatu elemen dalam sampel sebanding dengan jumlah cahaya pada panjang gelombang spesifik yang diserap oleh atom-atom dari elemen tersebut. Dalam AAS, larutan sampel diubah menjadi aerosol dan dimasukkan ke dalam nyala api (untuk *flame* AAS) atau tabung grafit yang dipanaskan (untuk *graphite furnace* AAS) untuk mengatomisasi elemen target, yaitu mengubah ion-ion mineral menjadi atom-atom bebas dalam keadaan dasar (*ground state*). Cahaya dari lampu khusus yang memancarkan spektrum dari elemen yang sama kemudian dilewatkan melalui uap atom ini. Jumlah cahaya yang diserap diukur oleh detektor, dan dari situlah konsentrasi dapat dihitung.

Teknik yang lebih modern dan lebih kuat adalah Spektroskopi Emisi Plasma, terutama *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES) atau *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry* (ICP-MS). Dalam teknik ini, sampel aerosol tidak dimasukkan ke dalam nyala api, melainkan ke dalam plasma argon yang sangat panas, dengan suhu mencapai 6.000 hingga 10.000 K. Pada suhu ekstrem ini, atom-atom tidak hanya terbentuk tetapi juga tereksitasi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Ketika atom-atom yang

tereksitasi ini kembali ke keadaan dasarnya, mereka memancarkan cahaya pada panjang gelombang yang sangat karakteristik untuk setiap elemen. Intensitas cahaya yang dipancarkan ini sebanding dengan konsentrasi elemen dalam sampel.

Keunggulan utama ICP dibandingkan AAS adalah kemampuannya untuk mengukur puluhan elemen secara simultan dalam satu kali analisis, menjadikannya sangat efisien untuk analisis multi-elemen. Selain itu, sensitivitasnya, terutama dengan deteksi spektrometri massa (ICP-MS), jauh lebih tinggi, memungkinkan deteksi elemen pada tingkat bagian per triliun (ppt). Hal ini menjadikannya teknik pilihan untuk analisis kontaminan logam berat atau elemen esensial yang konsentrasinya sangat rendah. Pemilihan antara AAS dan ICP sering kali bergantung pada jumlah elemen yang akan dianalisis, tingkat konsentrasi yang diharapkan, dan anggaran laboratorium.

Contoh Kasus: Sebuah badan pengawas pangan melakukan surveilans terhadap kandungan logam berat (timbal dan kadmium) dalam produk suplemen kalsium yang terbuat dari cangkang kerang. Karena konsentrasi yang diharapkan sangat rendah (tingkat ppb) dan berpotensi membahayakan kesehatan, diperlukan metode dengan sensitivitas dan akurasi yang sangat tinggi. Tim laboratorium memutuskan bahwa metode pengabuan kering tidak cocok karena risiko kehilangan kadmium yang volatil pada suhu tinggi. Mereka memilih metode digesti basah menggunakan microwave yang dikombinasikan dengan asam nitrat dan hidrogen peroksida untuk mendekomposisi matriks sampel. Larutan hasil digesti kemudian dianalisis menggunakan *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry* (ICP-MS). Pilihan ICP-MS didasarkan pada kemampuannya untuk mencapai batas deteksi yang sangat rendah dan meminimalkan interferensi spektral, yang sangat penting untuk analisis matriks kalsium yang kompleks. Hasil analisis menunjukkan bahwa beberapa produk melebihi batas aman yang ditetapkan, memicu tindakan penarikan produk dari pasar untuk melindungi konsumen.

4.2.1 Persiapan Sampel untuk Analisis Logam

Langkah preparasi sampel adalah jembatan kritis antara proses dekomposisi matriks dan analisis instrumental. Tujuan utamanya adalah untuk mengubah residu anorganik yang diperoleh menjadi larutan yang jernih, homogen, dan bebas dari partikulat yang dapat menyumbat sistem pengenalan sampel pada instrumen spektroskopi. Jika menggunakan abu dari metode pengabuan kering, abu tersebut dilarutkan dengan menambahkan beberapa mililiter asam kuat (biasanya HCl atau HNO₃ 1-6 M) ke dalam cawan dan memanaskannya secara perlahan di atas *hot plate* untuk memastikan semua oksida logam bereaksi dan larut.

Setelah proses pelarutan, larutan tersebut disaring secara kuantitatif melalui kertas saring bebas abu untuk menghilangkan partikulat yang tidak larut, terutama silika (SiO₂), yang sering kali tetap ada. Filtrat dan air cucian dari kertas saring dikumpulkan dalam labu ukur dan diencerkan hingga tanda batas dengan air deionisasi. Tingkat pengenceran yang tepat harus diperhitungkan untuk memastikan konsentrasi akhir dari elemen target berada dalam rentang kerja linear dari instrumen yang akan digunakan. Larutan ini, bersama dengan larutan blanko dan serangkaian larutan standar kalibrasi, kemudian siap untuk dianalisis.

4.2.2 Pengantar Spektroskopi (AAS dan ICP) untuk Kuantifikasi Mineral

Spektroskopi Serapan Atom (AAS) bekerja berdasarkan prinsip bahwa atom-atom dalam keadaan gas pada tingkat energi dasar akan menyerap radiasi pada panjang gelombang spesifik yang khas untuk setiap elemen. Instrumen AAS terdiri dari sumber radiasi (lampu katoda berongga yang spesifik untuk setiap elemen), sistem atomisasi (nyala atau tungku grafit), monokromator untuk memilih panjang gelombang, dan detektor. Jumlah radiasi yang diserap (absorbansi) berbanding lurus dengan konsentrasi atom di dalam alat atomisasi, yang pada gilirannya sebanding dengan konsentrasi elemen dalam

sampel. AAS sangat spesifik dan relatif bebas dari interferensi spektral, tetapi umumnya hanya dapat mengukur satu elemen pada satu waktu.

Inductively Coupled Plasma (ICP) adalah sumber atomisasi dan eksitasi yang jauh lebih kuat dibandingkan nyala api. Plasma, yang merupakan gas terionisasi (biasanya argon) pada suhu sangat tinggi, secara efisien mendesolvasi, mengatomisasi, dan mengeksitasi hampir semua elemen dalam sampel. Ketika atom-atom yang tereksitasi ini kembali ke keadaan energi yang lebih rendah, mereka memancarkan foton pada panjang gelombang karakteristik. Dalam ICP-OES (*Optical Emission Spectrometry*), cahaya yang dipancarkan ini dipisahkan berdasarkan panjang gelombangnya oleh spektrometer dan diukur oleh detektor. Karena setiap elemen memancarkan spektrum garis yang unik, ICP-OES dapat mengukur lebih dari 70 elemen secara bersamaan dari satu sampel tunggal, menjadikannya teknik yang sangat efisien untuk analisis multi-elemen yang komprehensif.

Rangkuman

1. Analisis kadar abu adalah metode untuk menentukan total kandungan anorganik (mineral) dalam bahan pangan dengan cara membakar habis semua komponen organiknya.
2. Abu didefinisikan sebagai residu anorganik yang tersisa setelah proses insinerasi, yang komposisinya utamanya berupa oksida-oksida dan garam-garam mineral.
3. Metode pengabuan kering (*dry ashing*) menggunakan suhu sangat tinggi (500-600°C) dalam *muffle furnace*, metode ini sederhana namun berisiko kehilangan mineral yang volatil.
4. Metode pengabuan basah (*wet digestion*) menggunakan asam-asam pengoksidasi kuat pada suhu lebih rendah, metode ini lebih baik dalam mempertahankan mineral volatil dan cocok untuk persiapan analisis elemen spesifik.

5. Untuk analisis mineral spesifik, abu atau hasil digesti harus dilarutkan dalam asam dan diencerkan secara akurat untuk menghasilkan larutan sampel yang siap dianalisis.
6. Spektroskopi Serapan Atom (AAS) adalah teknik sensitif yang mengukur penyerapan cahaya oleh atom-atom pada keadaan dasar, sangat spesifik untuk satu elemen pada satu waktu.
7. *Inductively Coupled Plasma* (ICP) adalah teknik yang sangat kuat yang menggunakan plasma argon bersuhu ekstrem untuk mengeksitasi atom, memungkinkan pengukuran emisi cahaya dari puluhan elemen secara simultan.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan mengapa kadar abu total merupakan parameter kualitas yang penting dalam industri tepung terigu. Apa yang diindikasikan oleh kadar abu yang tinggi atau rendah pada produk tepung?
2. Saudara ditugaskan untuk menganalisis kandungan timbal (Pb) dan kalsium (Ca) dalam sampel bayam. Metode persiapan sampel manakah (pengabuan kering atau basah) yang akan Saudara pilih? Berikan justifikasi yang kuat untuk pilihan Saudara dengan mempertimbangkan sifat kedua elemen dan tujuan analisis.
3. Uraikan langkah-langkah kerja untuk menentukan kadar abu total dalam sampel keripik singkong menggunakan metode pengabuan kering, mulai dari persiapan cawan hingga perhitungan akhir.
4. Bandingkan prinsip dasar antara Spektroskopi Serapan Atom (AAS) dan *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* (ICP-OES). Kapan AAS mungkin menjadi pilihan yang lebih baik daripada ICP-OES, dan sebaliknya?
5. Mengapa proses pelarutan abu dalam asam dan pengenceran kuantitatif merupakan langkah yang sangat krusial sebelum

melakukan analisis menggunakan AAS atau ICP? Apa yang akan terjadi jika langkah-langkah ini tidak dilakukan dengan benar?

Soal Pilihan Ganda

1. Kadar abu dalam suatu bahan pangan merepresentasikan...
 - A. Total kandungan karbohidrat
 - B. Total kandungan anorganik atau mineral
 - C. Total kandungan protein
 - D. Total kandungan lemak
2. Metode pengabuan kering umumnya dilakukan pada rentang suhu...
 - A. 100°C – 150°C
 - B. 200°C – 300°C
 - C. 500°C – 600°C
 - D. 1.000°C – 1.200°C
3. Keunggulan utama dari metode pengabuan basah dibandingkan pengabuan kering adalah...
 - A. Lebih aman karena tidak menggunakan asam kuat
 - B. Lebih cepat dan tidak memerlukan perhatian analisis
 - C. Menggunakan peralatan yang lebih sederhana dan murah
 - D. Meminimalkan kehilangan mineral yang bersifat volatil
4. Setelah proses pengabuan kering, langkah selanjutnya sebelum penimbangan adalah...
 - A. Mencuci abu dengan air deionisasi
 - B. Mendinginkan cawan dalam desikator hingga suhu ruang
 - C. Menambahkan asam klorida untuk melarutkan abu
 - D. Memanaskan kembali cawan pada suhu yang lebih tinggi
5. Instrumen yang digunakan untuk proses pengabuan kering adalah...
 - A. Oven vakum
 - B. Blok digesti
 - C. Tanur pengabuan (*muffle furnace*)
 - D. Spektrofotometer

6. Teknik instrumental yang bekerja dengan mengukur *penyerapan* cahaya oleh atom-atom dalam keadaan dasar adalah...
 - A. ICP-OES
 - B. Spektrofotometri UV-Vis
 - C. Spektroskopi Serapan Atom (AAS)
 - D. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)
7. Untuk analisis simultan sejumlah besar elemen (multi-elemen) dalam satu kali proses, teknik yang paling efisien adalah...
 - A. Titrasi
 - B. Flame AAS
 - C. Graphite Furnace AAS
 - D. ICP-OES/ICP-MS
8. Pereaksi utama yang digunakan dalam metode pengabuan basah adalah...
 - A. Air deionisasi dan buffer fosfat
 - B. Pelarut organik seperti heksana
 - C. Asam-asam pengoksidasi kuat seperti HNO_3 dan H_2SO_4
 - D. Larutan basa seperti natrium hidroksida
9. Tujuan utama melarutkan abu dalam larutan asam adalah untuk...
 - A. Menetralkan sisa-sisa karbon
 - B. Mengubah mineral menjadi bentuk ion yang larut dalam air
 - C. Menghilangkan kontaminan silika
 - D. Memberikan warna pada larutan untuk dianalisis
10. Dalam AAS, lampu katoda berongga (*hollow cathode lamp*) berfungsi sebagai...
 - A. Tempat atomisasi sampel
 - B. Sumber cahaya spesifik untuk elemen yang dianalisis
 - C. Detektor untuk mengukur intensitas cahaya
 - D. Monokromator untuk memilih panjang gelombang

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah industri makanan bayi diwajibkan oleh peraturan pemerintah untuk mencantumkan kadar zat besi (Fe) dan seng (Zn) pada label nutrisi produk sereal beras mereka. Saudara adalah kepala laboratorium yang bertanggung jawab untuk menetapkan prosedur analisis standar. Rancanglah alur kerja analisis mulai dari pengambilan sampel sereal hingga mendapatkan hasil konsentrasi Fe dan Zn dalam satuan mg/100g. Dalam rancangan Saudara, tentukan dan justifikasi:

- (1) Metode dekomposisi sampel (pengabuan) yang akan Saudara gunakan.
- (2) Teknik instrumental (AAS atau ICP) yang akan Saudara pilih.
- (3) Langkah-langkah preparasi kunci setelah dekomposisi hingga sampel siap dianalisis oleh instrumen.

Glosarium

1. **Abu (*Ash*)**: Residu anorganik yang tersisa setelah semua materi organik dalam sampel dihilangkan melalui pembakaran sempurna.
2. **Atomisasi**: Proses mengubah analit (misalnya, ion logam dalam larutan) menjadi atom-atom bebas dalam fasa gas, yang merupakan prasyarat untuk analisis spektroskopi atomik.
3. **Desikator**: Wadah tertutup kedap udara yang berisi bahan pengering (desikan) untuk mendinginkan dan menyimpan benda (seperti cawan) dalam atmosfer kering untuk mencegah penyerapan kelembaban.
4. **Digesti Asam (*Acid Digestion*)**: Sinonim untuk metode pengabuan basah, yaitu proses dekomposisi sampel menggunakan asam-asam pengoksidasi.
5. **ICP (*Inductively Coupled Plasma*)**: Sumber eksitasi berenergi sangat tinggi yang menggunakan gas argon terionisasi (plasma) untuk mengatomisasi dan mengeksitasi elemen-elemen dalam sampel untuk analisis emisi.
6. **Mineral**: Elemen-elemen anorganik yang esensial untuk nutrisi (misalnya, Ca, Fe, K) atau yang menjadi perhatian sebagai kontaminan (misalnya, Pb, Hg).

7. **Pengabuan Basah (*Wet Ashing*)**: Metode dekomposisi sampel organik menggunakan asam-asam pengoksidasi kuat pada suhu relatif rendah untuk menganalisis kandungan mineral.
8. **Pengabuan Kering (*Dry Ashing*)**: Metode penentuan kadar abu total dengan memanaskan sampel pada suhu sangat tinggi (500-600°C) di udara.
9. **Spektroskopi Serapan Atom (AAS)**: Teknik analisis instrumental untuk kuantifikasi elemen berdasarkan penyerapan radiasi optik oleh atom-atom bebas dalam fasa gas.
10. **Tanur Pengabuan (*Muffle Furnace*)**: Jenis oven laboratorium yang mampu mencapai suhu sangat tinggi yang diperlukan untuk proses pengabuan kering.
11. **Volatilisasi**: Proses penguapan atau sublimasi suatu zat. Dalam analisis abu, ini merujuk pada hilangnya beberapa elemen mineral pada suhu tinggi.

BAB 5: ANALISIS LEMAK DAN LIPID

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan karakteristik umum dan sifat kelarutan lipid yang membedakannya dari makronutrien lain.
2. Mengklasifikasikan lipid ke dalam kategori utama: lipid sederhana, majemuk, dan turunan, beserta contohnya dalam bahan pangan.
3. Memahami prinsip kerja, kelebihan, dan kekurangan metode ekstraksi pelarut, khususnya metode Soxhlet.
4. Membedakan antara metode ekstraksi kering (Soxhlet) dengan metode ekstraksi basah (Babcock dan Mojonnier) dan aplikasinya.
5. Menjelaskan prinsip dasar kromatografi gas (GC) untuk analisis profil asam lemak.
6. Memahami pentingnya derivatisasi menjadi FAME (*Fatty Acid Methyl Esters*) sebelum analisis GC.
7. Mengenali prinsip dan aplikasi metode instrumental cepat seperti NMR dan inframerah untuk analisis lemak.

Pendahuluan

Dalam dunia nutrisi dan kimia pangan, kelompok senyawa yang dikenal sebagai lipid sering kali diselimuti oleh persepsi yang ambivalen. Di satu sisi, lipid, terutama dalam bentuk lemak dan minyak, merupakan sumber energi yang paling padat, pembawa vitamin-vitamin esensial yang larut di dalamnya, dan kontributor utama terhadap rasa gurih, tekstur lembut, serta rasa kenyang yang kita nikmati dari makanan. Bayangkan steak yang empuk, alpukat yang lembut, atau kerenyahan kentang goreng; semua atribut sensorik tersebut dimungkinkan oleh kehadiran lipid. Namun di sisi lain, konsumsi berlebih jenis lemak tertentu telah lama dikaitkan dengan berbagai isu kesehatan kronis, yang mendorong tuntutan regulasi yang ketat dan kesadaran konsumen yang tinggi.

Tantangan bagi industri hasil pertanian adalah bagaimana mengelola dualitas ini. Untuk melakukannya, diperlukan kemampuan untuk mengukur dan mengarakterisasi lipid dengan tingkat presisi yang tinggi. Analisis lipid melampaui sekadar menjawab pertanyaan "Berapa banyak lemak yang ada?" Analisis modern harus mampu menjawab pertanyaan yang lebih kompleks: "Terdiri dari jenis asam lemak apa sajakah lemak tersebut?". Informasi ini sangat krusial karena dampak fisiologis dari asam lemak jenuh, asam lemak tak jenuh tunggal, dan asam lemak tak jenuh ganda sangatlah berbeda. Pencantuman informasi rinci mengenai profil asam lemak ini kini menjadi persyaratan standar pada label nutrisi di banyak negara.

Definisi lipid sendiri cukup unik dibandingkan dengan makronutrien lainnya. Jika protein didefinisikan oleh ikatan peptida dan karbohidrat oleh struktur polihidroksi aldehida atau keton, lipid didefinisikan bukan oleh struktur kimia yang seragam, melainkan oleh sifat fisika yang sama, yaitu kelarutannya. Lipid adalah sekelompok senyawa heterogen yang secara umum tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik nonpolar seperti eter, heksana, atau kloroform. Sifat hidrofobik inilah yang menjadi dasar dari hampir semua metode analisis klasik untuk menentukan kandungan lemak total.

Proses analisis lemak sering kali dimulai dengan langkah ekstraksi, di mana lemak secara fisik dipisahkan dari komponen-komponen lain dalam matriks pangan (protein, karbohidrat, air) menggunakan pelarut organik. Hasil dari ekstraksi ini sering disebut sebagai "lemak kasar" (*crude fat*), karena pelarut nonpolar juga dapat mengekstraksi senyawa-senyawa lain yang larut di dalamnya, seperti pigmen, sterol, dan beberapa vitamin. Metode-metode ekstraksi ini, baik yang berjalan secara kontinu seperti Soxhlet maupun yang dilakukan secara bertahap, telah menjadi tulang punggung analisis lemak selama lebih dari satu abad.

Namun, tuntutan industri modern akan kecepatan dan informasi yang lebih detail telah mendorong perkembangan metode analisis yang jauh lebih canggih. Era analisis lipid modern ditandai oleh dominasi teknik kromatografi, khususnya kromatografi gas (GC). Teknik ini memungkinkan

kita untuk memisahkan dan mengukur setiap komponen asam lemak secara individual, memberikan sidik jari (*fingerprint*) yang detail dari suatu minyak atau lemak. Informasi ini tidak hanya penting untuk pelabelan nutrisi, tetapi juga untuk mendeteksi pemalsuan minyak atau memverifikasi asal dari suatu produk.

Bab ini akan membawa mahasiswa dalam sebuah perjalanan menyeluruh ke dalam dunia analisis lipid. Kita akan memulai dengan membangun fondasi pemahaman mengenai karakteristik, klasifikasi, dan struktur dasar dari berbagai jenis lipid yang ditemukan dalam bahan pangan. Selanjutnya, kita akan mengupas tuntas metode-metode ekstraksi pelarut klasik yang masih menjadi standar referensi di banyak laboratorium, membahas prinsip kerja, aplikasi, serta kelebihan dan kekurangannya. Peralatan ikonik seperti ekstraktor Soxhlet akan dijelaskan secara rinci.

Setelah memahami cara mengukur "kuantitas" lemak, fokus kita akan beralih ke "kualitas" lemak. Bagian akhir dari bab ini akan menjadi pengantar ke dunia analisis instrumental modern. Kita akan mempelajari bagaimana kromatografi gas dapat digunakan untuk mengungkap profil asam lemak suatu sampel setelah melalui proses preparasi kimia yang disebut transesterifikasi. Selain itu, kita akan meninjau secara singkat metode-metode analisis cepat, seperti spektroskopi inframerah, yang memungkinkan pengendalian proses secara *real-time* di lantai produksi, sebuah kebutuhan vital dalam industri pangan yang kompetitif.

Melalui pemahaman yang komprehensif ini, dari ekstraksi pelarut sederhana hingga kromatografi canggih, mahasiswa akan dibekali dengan pengetahuan yang diperlukan untuk memilih dan menerapkan metode analisis lipid yang tepat. Kemampuan ini esensial untuk memastikan kualitas produk, kepatuhan terhadap regulasi, dan inovasi dalam pengembangan produk hasil pertanian yang lebih sehat dan bernilai tambah.

5.1 Karakteristik dan Klasifikasi Lipid dalam Pangan

Lipid merupakan salah satu dari tiga kelas utama makronutrien, bersama dengan protein dan karbohidrat, namun definisinya didasarkan pada sifat kelarutan, bukan pada kesamaan struktur monomerik. Karakteristik yang menyatukan kelompok senyawa yang sangat beragam ini adalah sifat hidrofobiknya, yaitu ketidaklarutannya dalam air dan kelarutannya dalam pelarut organik nonpolar. Sifat ini muncul dari dominasi rantai hidrokarbon dalam struktur mereka, yang bersifat nonpolar dan tidak mampu membentuk ikatan hidrogen yang signifikan dengan molekul air yang sangat polar. Karakteristik fundamental inilah yang mendasari semua teknik ekstraksi yang bertujuan untuk mengisolasi dari komponen pangan lainnya.

Meskipun disatukan oleh sifat kelarutannya, struktur kimia lipid sangat bervariasi. Keragaman ini memungkinkan lipid untuk menjalankan berbagai fungsi biologis dan fungsional dalam bahan pangan. Fungsi utamanya adalah sebagai penyimpan energi dalam bentuk trigliserida, yang tersimpan dalam jaringan adiposa pada hewan atau dalam biji minyak pada tanaman. Selain itu, lipid juga berperan sebagai komponen struktural utama membran sel dalam bentuk fosfolipid, sebagai molekul sinyal dalam bentuk hormon steroid, dan sebagai pelindung permukaan dalam bentuk lilin (*waxes*). Dalam teknologi pangan, lipid tidak hanya berkontribusi pada nilai energi, tetapi juga bertanggung jawab atas sifat-sifat penting seperti tekstur (misalnya, kelembutan pada kue), pembawa aroma dan rasa, serta medium transfer panas selama proses penggorengan.

Untuk dapat memahami keragaman ini secara sistematis, lipid umumnya diklasifikasikan ke dalam tiga kelompok besar berdasarkan struktur kimianya: lipid sederhana, lipid majemuk (atau kompleks), dan lipid turunan. Klasifikasi ini memberikan kerangka kerja yang berguna untuk mempelajari dan menganalisisnya. Lipid sederhana adalah ester dari asam lemak dengan berbagai jenis alkohol. Kelompok ini mencakup lemak dan minyak, yang merupakan ester asam lemak dengan gliserol (dikenal sebagai trigliserida atau triasilgliserol), serta lilin, yang merupakan ester asam lemak dengan alkohol

berantai panjang selain gliserol. Trigliserida merupakan bentuk lipid yang paling melimpah dalam makanan kita, menyusun lebih dari 95% dari total lipid yang kita konsumsi.

Lipid majemuk adalah ester asam lemak yang mengandung gugus tambahan selain alkohol dan asam lemak. Kelompok ini memiliki sifat amfifilik, artinya mereka memiliki bagian kepala yang hidrofilik (suka air) dan bagian ekor yang hidrofobik (benci air). Sifat ganda ini memungkinkan mereka untuk berfungsi sebagai agen pengemulsi yang efektif. Subkelompok yang paling penting adalah fosfolipid, di mana salah satu asam lemak pada trigliserida digantikan oleh gugus fosfat yang terikat pada gugus basa (misalnya, kolin atau etanolamin). Lesitin, yang melimpah dalam kuning telur dan kedelai, adalah contoh fosfolipid yang banyak digunakan sebagai pengemulsi dalam industri makanan.

Kelompok ketiga, lipid turunan, mencakup senyawa-senyawa yang dihasilkan dari hidrolisis lipid sederhana atau majemuk, serta senyawa lain yang memiliki karakteristik kelarutan seperti lipid. Kelompok ini sangat heterogen dan mencakup asam lemak bebas, monogliserida, dan digliserida (yang sering digunakan sebagai pengemulsi), serta senyawa non-gliserida seperti sterol, vitamin larut lemak (A, D, E, K), dan pigmen (misalnya, karotenoid). Sterol yang paling dikenal dalam pangan adalah kolesterol, yang hanya ditemukan pada produk hewani, dan fitosterol, yang ditemukan pada tanaman.

Analisis "lemak total" atau "lemak kasar" yang dilakukan dengan metode ekstraksi pelarut klasik pada dasarnya mengukur jumlah dari semua senyawa yang dapat diekstraksi oleh pelarut nonpolar. Ini berarti hasilnya tidak hanya mencakup trigliserida tetapi juga sebagian besar lipid majemuk dan turunan. Meskipun nilai ini berguna untuk estimasi energi dan kendali mutu, untuk tujuan pelabelan nutrisi modern, diperlukan analisis yang lebih spesifik. Analisis ini bertujuan untuk membedakan antara asam lemak jenuh, tak jenuh, dan asam lemak trans, serta mengukur kolesterol, yang semuanya memerlukan teknik kromatografi canggih.

Pemahaman tentang klasifikasi dan karakteristik ini sangat penting bagi seorang analis. Sifat kimia yang berbeda dari setiap kelas lipid akan memengaruhi perilakunya selama ekstraksi, pemurnian, dan analisis. Sebagai contoh, sifat polar dari fosfolipid membuatnya lebih sulit diekstraksi menggunakan pelarut yang sangat nonpolar seperti heksana murni, dan sering kali memerlukan campuran pelarut dengan polaritas yang lebih tinggi (misalnya, kloroform-metanol) untuk ekstraksi yang efisien. Dengan demikian, pengetahuan dasar ini menjadi fondasi untuk pemilihan metode analisis yang tepat dan interpretasi hasil yang akurat.

Analogi: Mengklasifikasikan lipid dapat diibaratkan seperti mengorganisir sebuah armada kendaraan. **Lipid Sederhana** (trigliserida) adalah seperti truk-truk kargo standar; fungsi utamanya adalah untuk mengangkut dan menyimpan muatan (energi) dalam jumlah besar. **Lipid Majemuk** (fosfolipid) adalah seperti kapal amfibi; mereka memiliki bagian yang dirancang untuk berada di darat (ekor hidrofobik) dan bagian lain yang dirancang untuk berada di air (kepala hidrofilik). Kemampuan ganda ini memungkinkan mereka untuk beroperasi di perbatasan antara dua lingkungan yang berbeda (membentuk membran sel atau menstabilkan emulsi). **Lipid Turunan** adalah kategori yang beragam, seperti kendaraan-kendaraan khusus yang dibangun dari komponen-komponen dasar; mereka mencakup mobil balap (hormon steroid, molekul sinyal), kendaraan medis (vitamin larut lemak), dan bahkan kendaraan dengan cat khusus (pigmen karotenoid). Meskipun semuanya adalah "kendaraan" (larut dalam pelarut nonpolar), fungsi dan strukturnya sangat bervariasi.

5.1.1 Sifat Kelarutan dan Struktur Lipid (Sederhana, Majemuk, Turunan)

Sifat kelarutan lipid yang khas adalah akibat langsung dari struktur molekulnya yang didominasi oleh rantai hidrokarbon nonpolar. Triglisierida, sebagai contoh lipid sederhana yang paling umum, terdiri dari satu molekul gliserol yang teresterifikasi dengan tiga molekul asam lemak. Asam lemak itu

sendiri adalah rantai hidrokarbon panjang dengan gugus karboksilat di salah satu ujungnya. Rantai hidrokarbon yang panjang ini bersifat sangat hidrofobik, menyebabkan keseluruhan molekul trigliserida tidak dapat berinteraksi secara efektif dengan molekul air yang polar.

Lipid majemuk seperti fosfolipid memiliki struktur yang lebih kompleks, memberikan mereka sifat amfifilik. Fosfolipid memiliki "kerangka" gliserol yang sama, tetapi hanya dua gugus hidroksilnya yang teresterifikasi dengan asam lemak (membentuk ekor nonpolar), sementara gugus hidroksil ketiga terikat pada gugus fosfat yang bermuatan (membentuk kepala polar). Struktur ini memaksa molekul fosfolipid untuk mengatur diri secara spontan di lingkungan air, membentuk struktur seperti misel atau lapisan ganda (*bilayer*), di mana ekor nonpolar terlindung dari air dan kepala polar berinteraksi dengannya. Sifat inilah yang membuat fosfolipid sangat penting sebagai komponen membran sel dan sebagai agen pengemulsi dalam makanan.

Lipid turunan adalah kelompok yang paling heterogen. Asam lemak bebas, yang dapat muncul dari hidrolisis trigliserida, memiliki gugus karboksilat polar dan ekor nonpolar, menjadikannya sedikit lebih larut dalam air dibandingkan trigliserida. Sterol, seperti kolesterol, memiliki struktur cincin yang kaku dan bersifat sangat hidrofobik, diselingi hanya oleh satu gugus hidroksil kecil yang sedikit polar. Kehadiran berbagai senyawa ini, yang sering kali ikut terekstraksi bersama trigliserida, adalah alasan mengapa hasil dari metode ekstraksi pelarut disebut "lemak kasar" (*crude fat*).

5.2 Metode Ekstraksi Pelarut (*Solvent Extraction*)

Metode ekstraksi pelarut merupakan pendekatan klasik dan paling fundamental untuk menentukan kandungan lemak total dalam bahan pangan. Prinsip yang mendasarinya adalah pemisahan fisik lipid dari komponen matriks lainnya (protein, karbohidrat, air) berdasarkan sifat kelarutannya yang unik. Sampel, yang biasanya telah dikeringkan terlebih dahulu untuk menghilangkan air yang dapat menghalangi penetrasi pelarut, direndam atau dicuci secara berulang-ulang dengan pelarut organik nonpolar. Pelarut ini

secara selektif akan melarutkan lipid dan memisahkannya dari sisa sampel yang tidak larut. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut diuapkan dari ekstrak, dan residu yang tertinggal, yang diasumsikan sebagai lemak, ditimbang.

Pemilihan pelarut adalah salah satu faktor paling kritis yang menentukan efisiensi dan selektivitas ekstraksi. Pelarut yang ideal harus memiliki kemampuan melarutkan lipid yang tinggi, tidak melarutkan komponen non-lipid, memiliki titik didih yang relatif rendah untuk memudahkan penguapan, bersifat non-toksik, dan berbiaya rendah. Pelarut yang paling umum digunakan adalah etil eter dan heksana. Etil eter adalah pelarut yang sangat efisien tetapi sangat mudah terbakar dan dapat membentuk peroksida yang mudah meledak. Heksana, terutama n-heksana, menjadi alternatif yang lebih populer di industri karena lebih murah dan sedikit lebih tidak berbahaya, meskipun tetap sangat mudah terbakar dan diklasifikasikan sebagai neurotoksin.

Metode ekstraksi dapat diklasifikasikan berdasarkan cara kontak antara sampel dan pelarut, yaitu metode kontinu, semikontinu, dan diskontinu (atau rendam). Metode semikontinu, yang dicontohkan oleh alat ekstraktor Soxhlet, adalah yang paling terkenal dan banyak digunakan sebagai metode referensi. Dalam metode ini, sampel padat ditempatkan dalam sebuah selongsong (timbangan) kertas saring, yang kemudian diletakkan di dalam ruang ekstraksi. Pelarut dalam labu didih dipanaskan, dan uapnya naik melalui pipa samping, melewati ruang ekstraksi, menuju kondensor. Di kondensor, uap pelarut didinginkan dan mengembun, lalu menetes ke atas sampel, merendamnya, dan mengekstraksi lipid. Ketika ruang ekstraksi penuh dengan pelarut, efek sifon akan secara otomatis mengosongkan larutan ekstrak kembali ke labu didih, meninggalkan sampel untuk direndam kembali oleh pelarut segar yang baru terkondensasi.

Siklus perendaman dan penyifonan ini berulang secara otomatis selama beberapa jam, memastikan bahwa sampel selalu diekstraksi oleh pelarut murni yang hangat, yang sangat efisien. Namun, metode Soxhlet memiliki beberapa

kelemahan yang signifikan. Waktu ekstraksi yang dibutuhkan sangat lama, bisa mencapai 6 hingga 24 jam. Volume pelarut yang digunakan juga sangat besar, yang menimbulkan masalah biaya dan pembuangan limbah. Selain itu, suhu yang relatif tinggi di labu didih dapat menyebabkan degradasi parsial dari lipid yang sensitif terhadap panas atau oksidasi. Karena kelemahan-kelemahan ini, berbagai modifikasi dan metode ekstraksi yang lebih cepat dan lebih ramah lingkungan terus dikembangkan.

Tidak semua sampel dapat dianalisis secara langsung menggunakan ekstraksi kering seperti Soxhlet. Sampel dengan kadar air yang tinggi, seperti susu, daging, atau keju, memerlukan pendekatan yang berbeda. Air akan mencegah pelarut nonpolar untuk berkontak secara efektif dengan partikel sampel. Untuk sampel semacam ini, digunakan metode ekstraksi basah. Dalam metode ini, langkah-langkah kimia ditambahkan sebelum ekstraksi untuk memecah emulsi atau melepaskan lipid yang terikat pada protein dan karbohidrat.

Metode Babcock, yang secara historis sangat penting untuk industri susu, adalah contoh klasik dari ekstraksi basah. Dalam metode ini, asam sulfat pekat ditambahkan ke sampel susu dalam botol khusus. Asam sulfat yang kuat akan mendigesti protein dan komponen lain yang menstabilkan emulsi lemak, menghasilkan panas, dan melepaskan butiran-butiran lemak. Setelah digesti, botol disentrifugasi untuk memisahkan lapisan lemak yang lebih ringan dari fase asam yang lebih padat. Volume lemak kemudian dibaca langsung pada leher botol yang terkalibrasi. Metode Mojonnier adalah metode ekstraksi basah lain yang lebih lembut, menggunakan campuran etil eter dan petroleum eter setelah perlakuan awal dengan amonia dan etanol untuk memecah emulsi. Metode ini lebih akurat daripada Babcock tetapi juga lebih rumit.

Pemilihan antara metode kering dan basah sepenuhnya bergantung pada sifat matriks sampel. Untuk sampel padat dengan kadar air rendah (misalnya, biji-bijian, makanan ringan, pakan ternak), metode ekstraksi kering seperti Soxhlet adalah standar. Untuk sampel cair, semi-padat, atau yang lipidnya terikat secara kompleks (misalnya, produk susu, telur, produk olahan daging),

metode ekstraksi basah adalah suatu keharusan untuk memastikan semua lemak dapat diakses dan diekstraksi oleh pelarut.

Contoh Kasus: Sebuah perusahaan produsen pakan ternak perlu memverifikasi kandungan lemak kasar dalam produk pelet ikan mereka untuk memenuhi spesifikasi label. Sampel pelet yang keras dan kering sangat ideal untuk analisis menggunakan metode ekstraksi kering. Laboratorium QC menggiling sampel hingga menjadi bubuk halus untuk memperluas permukaan. Sejumlah bubuk sampel ditimbang secara akurat, dikeringkan sebentar di oven untuk menghilangkan sisa kelembaban, lalu dimasukkan ke dalam timbel dan diekstraksi menggunakan alat Soxhlet dengan pelarut heksana selama 8 jam. Setelah ekstraksi, heksana dari labu didih diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Labu yang berisi residu lemak kemudian dikeringkan di oven untuk menghilangkan sisa pelarut, didinginkan di desikator, dan ditimbang. Berdasarkan perbedaan berat labu sebelum dan sesudah ekstraksi, kandungan lemak kasar dilaporkan sebesar 18.2%, sesuai dengan target spesifikasi produk.

5.2.1 Metode Kontinu dan Semikontinu (Soxhlet)

Metode ekstraksi Soxhlet, yang dikembangkan pada tahun 1879 oleh Franz von Soxhlet, adalah metode semikontinu yang paling banyak digunakan sebagai standar referensi untuk analisis lemak kasar. Desainnya yang cerdas memungkinkan sampel diekstraksi berulang kali dengan pelarut segar dan hangat, yang memaksimalkan efisiensi ekstraksi dibandingkan dengan metode perendaman sederhana. Karena pelarut yang mengandung lipid secara periodik disifoning kembali ke labu didih, konsentrasi lipid di sekitar sampel tidak pernah mencapai kesetimbangan, sehingga menjaga gradien konsentrasi yang mendorong ekstraksi lebih lanjut.

Meskipun menjadi standar emas selama bertahun-tahun, metode Soxhlet memiliki beberapa kelemahan. Waktu analisis yang panjang dan konsumsi pelarut yang tinggi membuatnya kurang ideal untuk analisis rutin dalam jumlah besar. Paparan panas yang berkepanjangan pada ekstrak di labu didih

juga dapat menyebabkan oksidasi atau isomerisasi asam lemak tak jenuh. Untuk mengatasi hal ini, telah dikembangkan sistem ekstraksi pelarut otomatis modern yang memodifikasi prinsip Soxhlet. Sistem ini sering kali menggabungkan tahap pendidihan sampel langsung dalam pelarut panas, diikuti dengan tahap pembilasan, yang secara signifikan dapat mengurangi waktu ekstraksi dari beberapa jam menjadi kurang dari satu jam.

5.2.2 Metode Ekstraksi Basah (Babcock dan Mojonnier)

Metode ekstraksi basah dirancang khusus untuk sampel pangan di mana lipid terikat secara fisik atau kimiawi dalam matriks yang kompleks dan berair, seperti emulsi susu. Metode Babcock, meskipun kini sebagian besar telah digantikan, merupakan tonggak sejarah dalam kendali mutu susu. Metode ini menggunakan asam sulfat pekat yang sangat korosif untuk menghancurkan selaput protein yang mengelilingi globula lemak susu, sehingga melepaskan lemak untuk dapat dipisahkan melalui sentrifugasi. Meskipun cepat dan sederhana, metode ini tidak dianggap sangat akurat karena dapat mendigesti beberapa komponen selain protein dan tidak mengekstrak fosfolipid.

Metode Mojonnier adalah metode ekstraksi basah yang lebih akurat dan diakui sebagai metode referensi untuk produk susu dan turunannya. Metode ini menghindari penggunaan asam yang keras. Sampel pertama-tama diperlakukan dengan amonium hidroksida untuk menetralkan keasaman dan melarutkan protein, diikuti oleh etanol untuk mengendapkan protein dan mulai memecah emulsi. Ekstraksi lemak kemudian dilakukan secara bertahap menggunakan campuran etil eter (yang sangat baik dalam melarutkan lemak) dan petroleum eter (yang mengurangi kelarutan komponen non-lipid seperti air dan fosfolipid dalam fase eter). Setelah beberapa kali ekstraksi dan sentrifugasi untuk memisahkan lapisan, fase pelarut gabungan diuapkan untuk menentukan massa lemak. Metode ini lebih lembut dan mengekstrak fosfolipid, sehingga memberikan nilai lemak total yang lebih akurat.

5.3 Analisis Lemak Modern untuk Pelabelan

Tuntutan konsumen dan regulasi kesehatan modern telah menggeser fokus analisis lemak dari sekadar kuantitas ("lemak total") menjadi kualitas ("jenis lemak"). Informasi seperti kandungan asam lemak jenuh, tak jenuh tunggal, tak jenuh ganda, dan asam lemak trans, serta kolesterol, kini merupakan informasi wajib pada panel nutrisi di banyak negara. Metode ekstraksi pelarut klasik tidak mampu menyediakan informasi terperinci ini. Untuk memprofilkan komposisi asam lemak secara akurat, diperlukan teknik analisis instrumental yang canggih, terutama kromatografi gas (GC). Analisis modern ini mengubah cara kita memandang lemak, dari sekadar komponen tunggal menjadi profil kompleks dari puluhan senyawa yang berbeda, masing-masing dengan implikasi nutrisi yang unik.

Kromatografi gas adalah teknik pemisahan yang sangat kuat yang dapat memisahkan campuran senyawa yang kompleks menjadi komponen-komponen individualnya. Prinsipnya didasarkan pada distribusi partisi komponen-komponen sampel antara dua fasa: fasa diam (cairan dengan titik didih sangat tinggi yang dilapiskan pada bagian dalam kolom kapiler yang sangat panjang dan tipis) dan fasa gerak (gas inert, seperti helium atau nitrogen, yang mengalir melalui kolom). Senyawa-senyawa dalam sampel yang diinjeksikan ke dalam sistem akan berinteraksi secara berbeda dengan fasa diam, bergantung pada sifat kimianya seperti volatilitas (titik didih) dan polaritas. Senyawa yang lebih volatil atau yang berinteraksi lebih lemah dengan fasa diam akan bergerak lebih cepat melalui kolom dan keluar (terelusi) lebih dulu, sementara senyawa yang kurang volatil atau berinteraksi lebih kuat akan terelusi lebih lambat.

Namun, ada satu tantangan besar: trigliserida dan asam lemak bebas, yang merupakan komponen utama lipid, tidak cukup volatil untuk dianalisis secara langsung menggunakan GC bahkan pada suhu tinggi sekalipun. Molekul-molekul ini akan terdekomposisi sebelum sempat menguap. Oleh karena itu, sebelum dianalisis dengan GC, sampel lipid harus melalui langkah preparasi kimia yang sangat penting yang disebut derivatisasi. Proses derivatisasi yang

paling umum untuk analisis asam lemak adalah transesterifikasi, yang mengubah asam lemak (baik yang terikat pada gliserol maupun yang bebas) menjadi ester metil asam lemak atau *Fatty Acid Methyl Esters* (FAMES). FAMES memiliki berat molekul yang jauh lebih rendah dan jauh lebih volatil dibandingkan molekul induknya, menjadikannya ideal untuk dianalisis dengan GC.

Setelah pemisahan di dalam kolom GC, komponen-komponen FAMES individual dideteksi saat mereka keluar dari kolom. Detektor yang paling umum digunakan untuk analisis FAMES adalah *Flame Ionization Detector* (FID). Detektor ini sangat sensitif terhadap senyawa organik yang dapat terbakar dan menghasilkan sinyal listrik yang sebanding dengan jumlah massa analit yang melewatinya. Hasil dari analisis GC ditampilkan sebagai kromatogram, yaitu plot antara respons detektor terhadap waktu. Setiap puncak pada kromatogram mewakili satu jenis FAME. Identifikasi puncak dilakukan dengan membandingkan waktu retensinya (waktu yang dibutuhkan untuk melewati kolom) dengan waktu retensi standar FAMES yang diketahui. Kuantifikasi dilakukan dengan mengukur area di bawah setiap puncak, yang sebanding dengan konsentrasinya.

Selain teknik kromatografi yang detail namun memakan waktu, industri pangan juga sangat bergantung pada metode instrumental yang cepat untuk tujuan pengendalian proses secara *real-time*. Metode-metode ini, seperti Spektroskopi Inframerah Dekat (*Near-Infrared Spectroscopy*, NIR) dan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), sering kali bersifat non-destruktif dan hanya memerlukan sedikit atau tanpa persiapan sampel. Spektroskopi NIR bekerja dengan menyinari sampel dengan cahaya inframerah dekat dan mengukur spektrum serapannya. Pola spektrum ini, meskipun kompleks, mengandung informasi tentang ikatan kimia (seperti C-H, O-H, N-H) dan dapat dikorelasikan dengan konsentrasi makronutrien, termasuk lemak.

Instrumen NMR, khususnya *Time-Domain* NMR (TD-NMR), memberikan pengukuran kandungan lemak total yang sangat cepat dan akurat. Metode ini membedakan antara proton dalam molekul lemak (cair) dan proton dalam

molekul padatan (seperti protein dan karbohidrat) berdasarkan perbedaan waktu relaksasi mereka setelah diradiasi dengan pulsa frekuensi radio dalam medan magnet yang kuat. Karena sinyalnya berasal langsung dari fase lemak, hasilnya tidak terlalu terpengaruh oleh variasi dalam matriks sampel. Namun, penting untuk diingat bahwa baik NIR maupun NMR adalah metode sekunder. Mereka harus dikalibrasi secara cermat menggunakan sejumlah besar sampel yang nilai lemaknya telah ditentukan oleh metode referensi primer (misalnya, Soxhlet atau Mojonnier) untuk dapat memberikan hasil yang akurat.

Analogi: Menganalisis lemak dapat diibaratkan seperti menganalisis lalu lintas di jalan tol. Metode ekstraksi pelarut (**Soxhlet**) seperti memasang sensor di gerbang tol yang hanya menghitung **total jumlah kendaraan** yang lewat dalam sehari. Metode ini memberikan angka total yang berguna, tetapi tidak memberikan detail apa pun. **Kromatografi Gas (GC)** adalah seperti memasang sistem kamera canggih dengan pengenalan gambar. Sistem ini tidak hanya menghitung total kendaraan, tetapi juga **mengklasifikasikannya** menjadi sedan, SUV, bus, dan truk trailer (mirip dengan asam lemak jenuh, tak jenuh tunggal, dll.). Ini memberikan gambaran yang jauh lebih kaya dan informatif tentang komposisi lalu lintas. Sementara itu, metode cepat seperti **NMR/NIR** adalah seperti menggunakan citra satelit atau drone untuk **mengestimasi kepadatan lalu lintas** secara *real-time*. Meskipun tidak seakurat penghitungan di gerbang tol, metode ini memberikan informasi yang sangat cepat untuk manajemen lalu lintas (atau kontrol proses produksi).

5.3.1 Pengantar Kromatografi Gas (GC) untuk Profil Asam Lemak (FAME)

Analisis profil asam lemak menggunakan GC adalah standar emas untuk karakterisasi kualitas lemak nutrisi. Prosesnya dimulai dengan ekstraksi lipid dari sampel menggunakan metode yang sesuai, seperti metode Folch yang menggunakan campuran kloroform-metanol. Ekstrak lipid ini kemudian harus diderivatisasi menjadi FAMES. Metode derivatisasi yang umum

melibatkan pemanasan lipid dengan metanol dengan adanya katalis asam (seperti BF_3 atau HCl) atau basa (seperti natrium metoksida). Reaksi ini memecah ikatan ester pada trigliserida dan secara bersamaan membentuk ester metil dari setiap asam lemak.

Campuran FAMES yang volatil kemudian diinjeksikan ke dalam GC. Pemisahan terjadi di dalam kolom kapiler (sering kali dengan panjang 30-100 meter) yang fasa diamnya bersifat polar (misalnya, sianopropil polisiloksan). FAMES dipisahkan berdasarkan kombinasi titik didih dan polaritasnya. Secara umum, FAMES dengan rantai karbon lebih pendek dan FAMES dengan lebih banyak ikatan rangkap (lebih tidak jenuh) akan terelusi lebih cepat. Dengan membandingkan kromatogram sampel dengan kromatogram standar referensi yang mengandung campuran FAMES yang diketahui, analisis dapat mengidentifikasi dan mengukur persentase relatif dari setiap asam lemak, mulai dari asam palmitat (C16:0) hingga asam dokosaheksaenoat (DHA, C22:6).

5.3.2 Metode Instrumental Cepat (NMR dan Inframerah)

Dalam lingkungan produksi pangan bervolume tinggi, metode analisis yang membutuhkan waktu berjam-jam tidak praktis untuk kontrol proses. Di sinilah metode cepat seperti *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan Spektroskopi Inframerah (IR) berperan. *Time-Domain* NMR (TD-NMR) adalah teknik non-destruktif yang dapat mengukur kandungan lemak total dalam sampel dalam waktu kurang dari satu menit. Prinsipnya didasarkan pada fakta bahwa proton (inti atom hidrogen) dalam molekul lemak cair memiliki waktu relaksasi (waktu untuk kembali ke keadaan semula setelah eksitasi radiofrekuensi) yang jauh lebih lama daripada proton dalam komponen padat (protein, karbohidrat) dan air yang terikat. Dengan mengukur amplitudo sinyal NMR segera setelah sinyal dari komponen padat meluruh, instrumen dapat secara akurat menguantifikasi fase lemak.

Spektroskopi Inframerah, baik Inframerah Dekat (*Near-Infrared*, NIR) maupun Inframerah Transformasi Fourier (*Fourier-Transform Infrared*,

FTIR), juga merupakan teknik non-destruktif yang sangat cepat. Metode ini mengukur interaksi cahaya inframerah dengan ikatan molekuler dalam sampel. Ikatan C-H dalam gugus metil dan metilen pada rantai asam lemak menghasilkan serapan yang kuat di wilayah inframerah. Dengan menggunakan model kalibrasi kemometrik yang kompleks, spektrum inframerah dari sampel yang tidak diketahui dapat diubah menjadi prediksi kuantitatif untuk kandungan lemak, serta parameter lain seperti protein dan kelembaban. Meskipun memerlukan kalibrasi yang ekstensif, setelah dikalibrasi, metode ini memberikan alat yang sangat ampuh untuk pemantauan kualitas secara *on-line* atau *at-line*.

Rangkuman

1. Lipid adalah kelompok senyawa heterogen yang didefinisikan oleh kelarutannya dalam pelarut organik nonpolar dan diklasifikasikan menjadi lipid sederhana (trigliserida), majemuk (fosfolipid), dan turunan (sterol, asam lemak bebas).
2. Metode ekstraksi pelarut adalah pendekatan klasik untuk menentukan "lemak kasar" total. Metode ini memisahkan lipid dari matriks pangan menggunakan pelarut seperti heksana atau etil eter.
3. Metode Soxhlet adalah metode ekstraksi semikontinu yang menjadi standar referensi untuk sampel padat kering, namun memiliki kelemahan dalam hal waktu analisis yang lama dan penggunaan pelarut yang banyak.
4. Metode ekstraksi basah, seperti Babcock dan Mojonnier, diperlukan untuk sampel dengan kadar air tinggi (misalnya, susu) untuk memecah emulsi dan melepaskan lipid sebelum ekstraksi.
5. Untuk analisis kualitas lemak (profil asam lemak), diperlukan Kromatografi Gas (GC). Sebelum analisis GC, lipid harus diubah menjadi turunan volatil yang disebut *Fatty Acid Methyl Esters* (FAMES) melalui proses transesterifikasi.

6. GC memisahkan FAMES berdasarkan volatilitas dan polaritasnya, memungkinkan identifikasi dan kuantifikasi setiap asam lemak secara individual, yang krusial untuk pelabelan nutrisi.
7. Metode instrumental cepat seperti *Time-Domain* NMR (TD-NMR) dan Spektroskopi Inframerah (NIR/FTIR) memungkinkan analisis lemak total yang sangat cepat dan non-destruktif, ideal untuk kontrol proses di industri. Metode ini adalah metode sekunder yang memerlukan kalibrasi terhadap metode referensi.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan mengapa lipid diklasifikasikan berdasarkan sifat kelarutannya, bukan berdasarkan struktur kimianya yang seragam seperti protein atau karbohidrat. Berikan contoh dari masing-masing tiga kelas utama lipid (sederhana, majemuk, turunan) dan jelaskan fungsi singkatnya dalam pangan.
2. Uraikan prinsip kerja dari ekstraktor Soxhlet. Gambarkan siklus pelarut dalam alat tersebut dan jelaskan mengapa metode ini dianggap lebih efisien daripada metode perendaman sederhana. Sebutkan juga setidaknya dua kelemahan utama dari metode Soxhlet.
3. Bandingkan dan kontraskan antara metode ekstraksi lemak Babcock dan Mojonnier untuk sampel susu. Jelaskan pereaksi utama yang digunakan dalam masing-masing metode dan mengapa Mojonnier dianggap lebih akurat.
4. Mengapa proses derivatisasi menjadi FAMES merupakan langkah yang wajib dilakukan sebelum menganalisis profil asam lemak menggunakan kromatografi gas? Jelaskan apa yang akan terjadi jika Saudara mencoba menginjeksikan sampel trigliserida secara langsung ke dalam instrumen GC.
5. Sebuah perusahaan makanan ringan ingin memantau kandungan lemak pada produk keripik kentang mereka secara *real-time* di lini

produksi. Metode analisis referensi (Soxhlet) terlalu lambat. Usulkan sebuah metode instrumental cepat yang sesuai untuk tujuan ini, jelaskan prinsip kerjanya, dan uraikan langkah-langkah yang diperlukan untuk mengimplementasikan metode tersebut di pabrik (termasuk kalibrasi).

Soal Pilihan Ganda

1. Karakteristik utama yang mendefinisikan suatu senyawa sebagai lipid adalah...
 - A. Terdiri dari monomer asam amino
 - B. Kelarutannya dalam pelarut organik nonpolar
 - C. Memiliki rasa manis
 - D. Mengandung gugus fosfat
2. Trigliserida, yang merupakan komponen utama minyak nabati, diklasifikasikan sebagai...
 - A. Lipid sederhana
 - B. Lipid majemuk
 - C. Lipid turunan
 - D. Fosfolipid
3. Dalam metode ekstraksi Soxhlet, sampel selalu diekstraksi oleh pelarut yang murni dan hangat karena proses...
 - A. Sentrifugasi dan dekantasi
 - B. Penguapan, kondensasi, dan penyifonan
 - C. Digesti asam dan pemanasan
 - D. Reaksi transesterifikasi
4. Metode ekstraksi basah seperti Mojonnier diperlukan untuk sampel seperti susu karena...
 - A. Susu memiliki kadar lemak yang sangat rendah
 - B. Pelarut nonpolar tidak dapat menembus emulsi minyak dalam air secara efektif
 - C. Lemak dalam susu sangat mudah menguap
 - D. Susu tidak mengandung trigliserida

5. Tujuan utama dari reaksi transesterifikasi dalam analisis lemak adalah untuk...
 - A. Menentukan total kandungan lemak kasar
 - B. Mengubah asam lemak menjadi FAMES yang volatil untuk analisis GC
 - C. Menghilangkan air dari sampel
 - D. Memisahkan kolesterol dari trigliserida
6. Teknik instrumental yang paling umum digunakan untuk menentukan profil asam lemak (misalnya, jenuh vs. tak jenuh) adalah...
 - A. Spektroskopi Serapan Atom (AAS)
 - B. Titrasi Karl Fischer
 - C. Kromatografi Gas (GC)
 - D. Pengeringan oven vakum
7. Lesitin, yang ditemukan dalam kuning telur dan sering digunakan sebagai pengemulsi, adalah contoh dari...
 - A. Trigliserida
 - B. Sterol
 - C. Lilin (*wax*)
 - D. Fosfolipid
8. Detektor yang paling umum dan sensitif untuk analisis FAMES menggunakan GC adalah...
 - A. Detektor Konduktivitas Termal (TCD)
 - B. Detektor Penangkap Elektron (ECD)
 - C. Detektor Ionisasi Nyala (FID)
 - D. Detektor Spektrofotometri UV-Vis
9. Metode instrumental cepat dan non-destruktif yang membedakan lemak dari padatan berdasarkan perbedaan waktu relaksasi proton dalam medan magnet adalah...
 - A. Spektroskopi Inframerah Dekat (NIR)
 - B. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)
 - C. *Time-Domain Nuclear Magnetic Resonance* (TD-NMR)
 - D. Metode Kjeldahl

10. Hasil dari metode ekstraksi pelarut seperti Soxhlet secara teknis disebut "lemak kasar" karena...
- A. Metode ini hanya mengekstrak sebagian kecil dari total lemak
 - B. Pelarut yang digunakan bersifat kasar dan korosif
 - C. Selain trigliserida, pelarut juga mengekstraksi senyawa nonpolar lainnya seperti pigmen dan sterol
 - D. Hasilnya harus dikalikan dengan faktor koreksi yang besar

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Saudara bekerja di laboratorium untuk sebuah perusahaan minyak zaitun. Perusahaan tersebut mengklaim produk *extra virgin olive oil* (EVOO) mereka memiliki kandungan asam oleat (asam lemak tak jenuh tunggal) yang tinggi, sesuai dengan standar kualitas premium. Namun, ada kecurigaan bahwa salah satu pemasok mungkin telah mencampur minyak zaitun dengan minyak biji bunga matahari yang lebih murah, yang memiliki profil asam lemak yang berbeda (lebih tinggi asam linoleat). Rancanglah sebuah protokol analisis untuk memverifikasi keaslian minyak zaitun tersebut.

Protokol Saudara harus mencakup:

- (1) Langkah preparasi sampel (termasuk derivatisasi),
- (2) Teknik instrumental utama yang digunakan,
- (3) Jenis data yang akan Saudara cari dalam hasil analisis untuk membuktikan atau menyangkal adanya pemalsuan.

Glosarium

- 1. **Asam Lemak:** Asam karboksilat dengan rantai alifatik (hidrokarbon) yang panjang, merupakan komponen dasar dari banyak lipid.
- 2. **Derivatisasi:** Proses modifikasi kimia suatu senyawa untuk mengubahnya menjadi senyawa lain dengan sifat yang lebih cocok untuk analisis (misalnya, lebih volatil untuk GC).
- 3. **Ekstraksi Pelarut (*Solvent Extraction*):** Proses pemisahan suatu zat dari matriksnya dengan cara melarutkannya dalam pelarut cair.

4. **FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*)**: Turunan dari asam lemak di mana gugus karboksilatnya diubah menjadi ester metil, membuatnya cukup volatil untuk dianalisis dengan GC.
5. **Hidrofobik**: Sifat "takut air" dari suatu molekul atau permukaan, yang cenderung menolak air.
6. **Kromatografi Gas (GC)**: Teknik pemisahan instrumental di mana komponen dari campuran yang mudah menguap dipisahkan saat bergerak melalui kolom yang dialiri oleh fasa gerak gas.
7. **Lemak Kasar (*Crude Fat*)**: Total material yang diekstraksi dari sampel pangan menggunakan pelarut nonpolar, yang mencakup trigliserida serta lipid lain yang larut dalam pelarut tersebut.
8. **Lipid Majemuk**: Lipid yang selain mengandung asam lemak dan alkohol, juga mengandung gugus lain seperti fosfat (fosfolipid) atau karbohidrat (glikolipid).
9. **Lipid Sederhana**: Ester dari asam lemak dengan berbagai alkohol. Contoh utamanya adalah lemak dan minyak (trigliserida).
10. **Soxhlet**: Nama alat laboratorium dan metode ekstraksi pelarut semikontinu untuk memisahkan lipid dari sampel padat.
11. **Transesterifikasi**: Reaksi kimia yang mengubah satu jenis ester menjadi jenis ester lain. Dalam analisis lipid, ini merujuk pada konversi trigliserida menjadi FAMEs.
12. **Trigliserida (*Triasilgliserol*)**: Ester yang terbentuk dari satu molekul gliserol dan tiga molekul asam lemak, merupakan bentuk utama penyimpanan lemak dalam tubuh dan komponen utama minyak dan lemak pangan.

BAB 6: ANALISIS PROTEIN TOTAL DAN NITROGEN

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan prinsip dasar penentuan kadar protein secara tidak langsung melalui analisis nitrogen total.
2. Menguasai tiga tahap utama dalam metode Kjeldahl: digesti, distilasi, dan titrasi.
3. Memahami prinsip kerja metode Dumas sebagai alternatif modern untuk analisis nitrogen total.
4. Menganalisis secara kritis penggunaan faktor konversi nitrogen ke protein dan variabilitasnya antar bahan pangan.
5. Membedakan prinsip metode kolorimetri seperti Biuret, Lowry, dan BCA untuk kuantifikasi protein.
6. Menjelaskan dasar metode penyerapan UV pada 280 nm dan metode pengikatan zat warna (*dye-binding*).
7. Memilih metode analisis protein yang sesuai berdasarkan sifat sampel, tujuan analisis, dan sumber daya yang tersedia.

Pendahuluan

Protein adalah molekul kehidupan yang paling serbaguna, arsitek dan pekerja di tingkat seluler. Jauh melampaui perannya sebagai komponen pembangun otot yang populer di masyarakat, protein berfungsi sebagai katalis biologis dalam bentuk enzim, sebagai pengangkut molekul vital seperti hemoglobin, sebagai pengatur proses fisiologis dalam bentuk hormon, dan sebagai pilar struktural dalam jaringan seperti kolagen. Dalam konteks ilmu pangan, protein tidak hanya menjadi komponen nutrisi yang esensial, tetapi juga penentu utama sifat-sifat fungsional dan sensorik produk. Kemampuan protein untuk membentuk gel, menghasilkan buih, menstabilkan emulsi, dan

mengikat air adalah dasar dari tekstur dan kenampakan dari produk-produk seperti roti, yoghurt, sosis, dan mayones.

Mengingat peran multifaset ini, kemampuan untuk mengukur kandungan protein secara akurat adalah salah satu tugas paling fundamental dalam analisis kimia hasil pertanian. Data kandungan protein menjadi dasar untuk klaim nutrisi pada label pangan, standar perdagangan komoditas seperti kedelai dan gandum, serta parameter kendali mutu dalam proses produksi. Sebuah klaim "sumber protein tinggi" pada kemasan sereal harus dapat dibuktikan secara analitis. Harga jual bungkil kedelai sebagai bahan pakan ternak sangat bergantung pada persentase proteinnya. Tanpa metode analisis yang andal, industri pangan akan kehilangan salah satu pilar utamanya dalam penjaminan mutu dan nilai.

Tantangan terbesar dalam analisis protein terletak pada sifatnya yang sangat kompleks dan heterogen. Tidak seperti molekul sederhana seperti glukosa atau natrium klorida, "protein" bukanlah entitas kimia tunggal. Protein adalah polimer raksasa yang terdiri dari berbagai kombinasi dari 20 jenis asam amino. Ukuran, struktur, sekuens, dan kelarutan protein sangat bervariasi dari satu bahan pangan ke bahan pangan lainnya. Keragaman yang luar biasa ini membuat pengukuran protein secara langsung menjadi tugas yang sangat sulit, jika bukan tidak mungkin, untuk keperluan analisis rutin. Tidak ada satu pereaksi pun yang dapat bereaksi secara spesifik dan kuantitatif dengan semua jenis protein tanpa terkecuali.

Untuk mengatasi tantangan ini, para ilmuwan kimia analitik mengembangkan sebuah pendekatan tidak langsung yang cerdas. Alih-alih mencoba mengukur molekul protein yang rumit, mereka berfokus pada salah satu elemen penyusunnya yang paling konsisten, yaitu nitrogen. Hampir semua nitrogen dalam bahan pangan (selain sejumlah kecil dalam asam nukleat dan komponen lainnya) terdapat sebagai bagian dari gugus amina pada asam amino yang menyusun protein. Dengan asumsi bahwa kandungan nitrogen dalam protein relatif konstan, maka dengan mengukur total kandungan nitrogen dalam sampel, kita dapat mengestimasi total kandungan proteinnya.

Pendekatan ini telah menjadi landasan analisis protein selama lebih dari satu abad.

Bab ini akan mengupas secara mendalam dua dunia dalam analisis protein. Dunia pertama adalah penentuan nitrogen total, di mana kita akan mempelajari dua metode utama yang menjadi pilar industri. Kita akan mulai dengan metode Kjeldahl, sebuah prosedur kimia basah klasik yang melibatkan digesti dengan asam sulfat pekat, distilasi amonia, dan titrasi. Meskipun telah berusia lebih dari 140 tahun, metode ini masih diakui sebagai metode referensi utama di seluruh dunia. Selanjutnya, kita akan membahas metode Dumas, sebuah teknik pembakaran kering modern yang menawarkan kecepatan dan otomatisasi, menjadikannya pesaing kuat bagi metode Kjeldahl di laboratorium bervolume tinggi.

Dunia kedua yang akan kita jelajahi adalah metode-metode alternatif yang tidak bergantung pada pengukuran nitrogen. Metode-metode ini sering kali didasarkan pada sifat-sifat kimiawi atau fisik dari protein itu sendiri. Kita akan mempelajari bagaimana reaksi warna (metode kolorimetri) yang melibatkan ikatan peptida atau gugus samping asam amino tertentu dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi protein. Selain itu, kita akan melihat bagaimana sifat intrinsik protein untuk menyerap cahaya ultraviolet atau kemampuannya untuk mengikat zat warna spesifik dapat dimanfaatkan untuk analisis yang cepat.

Perjalanan dalam bab ini akan membekali mahasiswa dengan pemahaman komprehensif tentang berbagai alat yang tersedia dalam "kotak perkakas" seorang analis untuk mengukur protein. Pemahaman ini tidak hanya mencakup "bagaimana" melakukan analisis, tetapi juga "mengapa" memilih metode tertentu. Mahasiswa akan belajar untuk mengevaluasi secara kritis kelebihan, kekurangan, dan asumsi yang melekat pada setiap metode, sebuah keterampilan esensial untuk menghasilkan data yang tidak hanya akurat, tetapi juga bermakna dan sesuai dengan tujuan analisis dalam industri hasil pertanian yang dinamis.

6.1 Penentuan Nitrogen Total

Pendekatan yang paling mapan dan diterima secara luas untuk kuantifikasi protein dalam bahan pangan adalah melalui pengukuran kandungan nitrogen total. Strategi ini merupakan sebuah metode proksi, yang berarti kita tidak mengukur protein secara langsung, melainkan mengukur komponen lain (nitrogen) yang diasumsikan memiliki hubungan stoikiometri yang konstan dengan protein. Dasar pemikiran ini adalah bahwa protein merupakan makromolekul biologis utama yang mengandung nitrogen. Dengan mengetahui persentase nitrogen dalam sampel dan mengalikannya dengan sebuah faktor konversi, kandungan protein total dapat diestimasi. Hasil yang diperoleh melalui pendekatan ini sering disebut sebagai "protein kasar" (*crude protein*) untuk merefleksikan sifat tidak langsung dari pengukuran ini.

Istilah "protein kasar" digunakan karena metode ini mengasumsikan bahwa semua nitrogen yang terdeteksi dalam sampel berasal dari protein. Asumsi ini, meskipun praktis, tidak sepenuhnya benar. Bahan pangan juga mengandung sejumlah kecil nitrogen non-protein (NPN) yang berasal dari senyawa-senyawa seperti asam amino bebas, peptida kecil, asam nukleat, amina, dan urea. Kontribusi NPN terhadap nitrogen total bervariasi tergantung pada jenis bahan pangan. Pada biji-bijian, kontribusinya mungkin dapat diabaikan, tetapi pada produk seperti susu atau sayuran yang sedang tumbuh, NPN bisa menyumbang sebagian signifikan dari nitrogen total. Meskipun demikian, untuk tujuan regulasi dan perdagangan, definisi protein kasar berbasis nitrogen total tetap menjadi standar industri.

Dua metode utama telah mendominasi bidang analisis nitrogen total selama bertahun-tahun: metode Kjeldahl yang bersejarah dan metode Dumas yang lebih modern. Metode Kjeldahl, yang dikembangkan oleh Johan Kjeldahl pada tahun 1883, adalah metode kimia basah yang telah menjadi metode referensi selama lebih dari satu abad dan masih diakui oleh badan-badan standar seperti AOAC dan ISO. Keandalannya yang telah teruji oleh waktu dan kemampuannya untuk menangani berbagai jenis sampel menjadikannya patokan emas yang digunakan untuk memvalidasi metode-metode lain.

Namun, metode ini terkenal padat karya, memakan waktu, dan menggunakan pereaksi kimia yang berbahaya.

Sebagai respons terhadap keterbatasan metode Kjeldahl, metode Dumas, yang prinsipnya sebenarnya dikembangkan lebih awal oleh Jean-Baptiste Dumas pada tahun 1831, mengalami kebangkitan kembali dengan munculnya instrumentasi otomatis modern. Metode Dumas adalah teknik pembakaran kering di mana sampel dibakar pada suhu yang sangat tinggi di hadapan oksigen murni. Dalam kondisi ini, semua nitrogen dalam sampel diubah menjadi gas nitrogen (N_2) dan gas-gas oksida nitrogen (NO_x), yang kemudian direduksi menjadi N_2 . Gas N_2 ini kemudian dipisahkan dari gas-gas hasil pembakaran lainnya dan diukur menggunakan detektor konduktivitas termal (TCD). Seluruh proses ini dapat diselesaikan secara otomatis dalam hitungan menit.

Kecepatan, keamanan (tidak menggunakan asam pekat atau katalis logam berat), dan kemudahan penggunaan telah mendorong adopsi metode Dumas secara luas, terutama di laboratorium dengan throughput sampel yang tinggi. Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa untuk sebagian besar bahan pangan, hasil dari metode Dumas sangat sebanding dengan hasil dari metode Kjeldahl. Faktanya, karena metode Dumas mengukur hampir semua bentuk nitrogen (termasuk nitrogen dalam cincin heterosiklik seperti pada asam nukleat yang sulit didigesti oleh metode Kjeldahl), metode ini secara teoretis dianggap lebih komprehensif dalam mengukur nitrogen total.

Langkah terakhir dan paling kritis dalam penentuan protein kasar adalah penerapan faktor konversi nitrogen-ke-protein (N-to-P). Setelah persentase nitrogen total dalam sampel ditentukan (baik melalui Kjeldahl maupun Dumas), nilai ini dikalikan dengan faktor konversi untuk mendapatkan persentase protein kasar. Selama bertahun-tahun, faktor konversi umum sebesar 6.25 telah digunakan secara luas. Faktor ini didasarkan pada asumsi historis bahwa protein secara rata-rata mengandung 16% nitrogen ($100/16 = 6.25$). Namun, kini telah diakui secara luas bahwa asumsi ini terlalu menyederhanakan.

Kandungan nitrogen aktual dalam protein bervariasi tergantung pada komposisi asam aminonya. Protein yang kaya akan asam amino basa (seperti lisin dan arginin) akan memiliki kandungan nitrogen yang lebih tinggi, sehingga memerlukan faktor konversi yang lebih rendah. Sebaliknya, protein dengan proporsi asam amino aromatik yang tinggi akan memiliki kandungan nitrogen yang lebih rendah dan memerlukan faktor konversi yang lebih tinggi. Akibatnya, penggunaan faktor konversi spesifik untuk setiap komoditas pangan (misalnya, 6,38 untuk susu, 5,70 untuk gandum) kini sangat dianjurkan untuk meningkatkan akurasi estimasi kandungan protein. Pemilihan faktor konversi yang tepat menjadi sama pentingnya dengan pelaksanaan analisis nitrogen itu sendiri.

Analogi: Menentukan kandungan protein melalui analisis nitrogen ibarat seorang auditor pajak yang mencoba mengestimasi total pendapatan sebuah kota. Auditor tersebut tidak dapat memeriksa setiap transaksi individu (**molekul protein**). Sebagai gantinya, ia menggunakan sebuah proksi: total pajak penjualan yang terkumpul (**nitrogen total**). Ia tahu bahwa secara rata-rata, setiap dolar pendapatan menghasilkan sekitar 10 sen pajak penjualan. Dengan mengukur total pajak yang terkumpul dan menggunakan "faktor konversi" (dalam hal ini, mengalikannya dengan 10), ia dapat mengestimasi total pendapatan kota tersebut (**protein kasar**). Metode **Kjeldahl** seperti melakukan audit manual yang mendalam, memeriksa pembukuan baris per baris, sangat teliti tetapi lambat. Metode **Dumas** seperti menggunakan perangkat lunak audit otomatis yang memindai semua transaksi digital dalam hitungan menit, sangat cepat dan efisien. Namun, kedua metode pada akhirnya bergantung pada keakuratan "faktor konversi pajak" (**faktor konversi N-ke-P**), yang mungkin sedikit berbeda dari satu kota ke kota lain (dari satu jenis makanan ke makanan lain).

6.1.1 Metode Kjeldahl: Digesti, Distilasi, dan Titrasi

Metode Kjeldahl adalah sebuah prosedur multistahap yang secara berurutan mengubah nitrogen organik dalam sampel menjadi amonia, yang kemudian

dapat diukur secara kuantitatif melalui titrasi. Tahap pertama adalah digesti, di mana sampel dipanaskan dalam asam sulfat pekat (H_2SO_4) pada suhu tinggi (sekitar $370\text{-}410^\circ\text{C}$). Asam sulfat bertindak sebagai agen pengoksidasi dan dehidrator, yang menghancurkan matriks organik dan mengubah nitrogen yang terikat secara kovalen dalam protein menjadi ion amonium (NH_4^+), yang larut dalam larutan asam sebagai amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$). Untuk mempercepat proses digesti, ditambahkan garam (kalium sulfat, K_2SO_4) untuk menaikkan titik didih asam, dan katalis (seperti tembaga sulfat, selenium, atau titanium dioksida) untuk meningkatkan laju oksidasi.

Tahap kedua adalah distilasi. Setelah larutan hasil digesti yang jernih didinginkan, larutan tersebut diencerkan dengan air dan dibuat basa dengan penambahan natrium hidroksida (NaOH) pekat secara hati-hati. Penambahan basa kuat ini mengubah ion amonium (NH_4^+) yang stabil dalam asam menjadi gas amonia (NH_3) yang volatil, sesuai reaksi: $\text{NH}_4^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_3 (\text{g}) + \text{H}_2\text{O}$. Gas amonia ini kemudian segera diuapkan dari campuran dengan cara mendidihkannya (distilasi uap) dan dialirkan ke dalam labu penampung yang berisi larutan asam dengan konsentrasi yang diketahui (biasanya asam borat atau asam klorida standar). Amonia akan bereaksi dengan asam di labu penampung, menjebakannya kembali dalam bentuk ion amonium.

Tahap terakhir adalah titrasi. Jika asam borat digunakan sebagai larutan penampung, amonia akan membentuk ion borat (H_2BO_3^-) dalam jumlah yang ekuivalen secara molar dengan jumlah nitrogen dalam sampel. Larutan ini kemudian dititrasi dengan larutan asam kuat standar (misalnya, HCl) menggunakan indikator warna (seperti campuran metil merah dan bromokresol hijau) untuk menentukan titik akhir. Volume titran yang dibutuhkan untuk menetralkan borat sebanding langsung dengan jumlah nitrogen. Dari volume ini, massa nitrogen dalam sampel asli dapat dihitung, dan selanjutnya, persentase protein kasar dapat ditentukan.

6.1.2 Metode Dumas (Pembakaran Nitrogen)

Metode Dumas, yang sering disebut juga sebagai metode pembakaran, menawarkan pendekatan yang secara fundamental berbeda dan jauh lebih cepat. Dalam metode ini, sampel yang telah ditimbang secara akurat dalam sebuah wadah foil timah kecil dimasukkan ke dalam tungku pembakaran bersuhu sangat tinggi (sekitar 900-1.000°C) yang dialiri oksigen murni. Dalam kondisi ini, sampel mengalami pembakaran kilat (*flash combustion*), dan semua komponen organiknya teroksidasi menjadi gas-gas sederhana seperti CO₂, H₂O, N₂, dan berbagai oksida nitrogen (NO_x).

Gas-gas hasil pembakaran ini kemudian dilewatkan melalui serangkaian reagen atau tungku sekunder. Oksida-oksida nitrogen (NO_x) direduksi menjadi gas nitrogen diatomik (N₂) saat melewati tembaga panas. Gas-gas lain seperti CO₂ dan H₂O dihilangkan dengan melewatkannya melalui perangkap yang berisi bahan penyerap spesifik (misalnya, ascarite untuk CO₂ dan magnesium perklorat untuk H₂O). Aliran gas yang tersisa, yang kini hanya terdiri dari N₂ dan gas pembawa (helium), dilewatkan melalui detektor konduktivitas termal (TCD). Karena konduktivitas termal N₂ berbeda secara signifikan dari helium, keberadaan N₂ akan menyebabkan perubahan sinyal pada detektor. Area puncak yang dihasilkan oleh TCD sebanding dengan jumlah total nitrogen dalam sampel, yang dikuantifikasi berdasarkan kurva kalibrasi yang dibuat dari standar yang diketahui (misalnya, EDTA).

6.1.3 Faktor Konversi Nitrogen ke Protein

Faktor konversi adalah nilai numerik yang digunakan untuk mengubah persentase nitrogen total, yang diperoleh dari analisis, menjadi persentase protein kasar. Faktor ini secara teoritis adalah kebalikan dari proporsi massa nitrogen dalam protein. Faktor umum 6,25, yang dikenal sebagai faktor Jones, didasarkan pada asumsi bahwa protein secara umum mengandung 16% nitrogen ($100/16 = 6,25$). Meskipun faktor ini telah digunakan secara luas selama bertahun-tahun untuk keseragaman, kini diakui bahwa penggunaannya

dapat menyebabkan ketidakakuratan yang signifikan untuk beberapa jenis bahan pangan.

Komposisi asam amino, yang menentukan kandungan nitrogen sebenarnya dari protein, sangat bervariasi. Sebagai contoh, protein dalam gandum (gliadin dan glutenin) memiliki kandungan asam glutamat dan prolin yang tinggi, yang relatif rendah nitrogen, sehingga kandungan nitrogen total proteinnya hanya sekitar 17,5%, yang mengarah pada faktor konversi spesifik 5,70. Sebaliknya, protein susu (kasein) kaya akan asam amino basa dan memiliki kandungan nitrogen sekitar 15,7%, menghasilkan faktor konversi 6,38. Penelitian terbaru terus menyempurnakan faktor-faktor ini untuk berbagai komoditas, termasuk sumber protein baru seperti serangga dan alga, untuk memastikan pelaporan kandungan protein yang lebih akurat dan bermakna secara nutrisi.

6.2 Metode Analisis Berbasis Sifat Kimiawi dan Fisik

Meskipun metode berbasis nitrogen total (Kjeldahl dan Dumas) adalah standar untuk pelaporan protein kasar, mereka memiliki keterbatasan. Metode-metode ini bersifat tidak langsung, memakan waktu (terutama Kjeldahl), dan mengasumsikan bahwa semua nitrogen berasal dari protein. Dalam banyak situasi, seperti pemantauan proses, studi biokimia, atau ketika hanya konsentrasi protein terlarut yang ingin diketahui, diperlukan metode yang lebih cepat dan lebih spesifik terhadap molekul protein itu sendiri. Metode-metode alternatif ini tidak mengukur nitrogen, melainkan memanfaatkan sifat-sifat kimiawi atau fisik yang khas dari protein, seperti keberadaan ikatan peptida, gugus samping asam amino tertentu, atau kemampuannya mengikat molekul lain.

Metode kolorimetri adalah salah satu kelompok metode alternatif yang paling populer. Prinsipnya didasarkan pada reaksi antara reagen spesifik dengan protein yang menghasilkan produk berwarna. Intensitas warna yang terbentuk, yang diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang tertentu, sebanding dengan konsentrasi protein dalam sampel. Keunggulan utama dari metode kolorimetri adalah kecepatan, sensitivitas yang tinggi

(mampu mengukur protein pada tingkat mikrogram), dan kemudahan dalam pelaksanaannya. Namun, metode ini memiliki kelemahan yang signifikan: respons warnanya dapat bervariasi antara protein yang berbeda (bergantung pada komposisi asam aminonya) dan sering kali rentan terhadap interferensi dari senyawa-senyawa lain yang umum terdapat dalam ekstrak pangan, seperti gula pereduksi, lipid, atau polifenol.

Metode Biuret adalah salah satu metode kolorimetri tertua dan paling sederhana. Metode ini didasarkan pada reaksi antara ion tembaga(II) (Cu^{2+}) dengan ikatan peptida dalam suasana basa. Kompleks berwarna ungu-violet yang terbentuk memiliki serapan maksimum sekitar 540 nm. Karena reaksi ini terjadi dengan ikatan peptida, yang merupakan tulang punggung dari semua protein, metode Biuret memberikan respons yang relatif seragam di antara berbagai jenis protein. Namun, sensitivitasnya cukup rendah dan memerlukan jumlah protein yang relatif besar, sehingga kurang cocok untuk sampel dengan konsentrasi protein rendah.

Untuk mengatasi masalah sensitivitas, dikembangkanlah metode Lowry dan metode *Bicinchoninic Acid* (BCA). Metode Lowry merupakan pengembangan dari reaksi Biuret, di mana kompleks tembaga-protein yang terbentuk kemudian digunakan untuk mereduksi reagen Folin-Ciocalteu, menghasilkan warna biru tua yang intens. Metode BCA juga dimulai dengan reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^+ oleh protein dalam suasana basa, tetapi kemudian dua molekul asam bikinoninat (BCA) akan bereaksi dengan setiap ion Cu^+ , membentuk kompleks berwarna ungu yang sangat stabil dan intens. Kedua metode ini jauh lebih sensitif daripada Biuret, tetapi lebih rentan terhadap interferensi dan variasi respons antar protein, terutama karena reaksi sekundernya juga melibatkan gugus samping asam amino tertentu seperti tirosin dan triptofan.

Selain metode kolorimetri, terdapat pula metode yang memanfaatkan sifat fisik intrinsik dari protein. Salah satu yang paling sederhana adalah pengukuran serapan cahaya ultraviolet (UV) secara langsung. Asam amino aromatik, khususnya triptofan dan tirosin, memiliki kemampuan untuk menyerap cahaya secara kuat pada panjang gelombang sekitar 280 nm.

Dengan mengukur absorbansi suatu larutan protein pada panjang gelombang ini, konsentrasinya dapat diestimasi dengan cepat menggunakan hukum Beer-Lambert. Metode ini sangat cepat, non-destruktif, dan tidak memerlukan reagen apa pun. Namun, metode ini hanya berlaku untuk protein murni yang dilarutkan dalam buffer transparan, karena banyak senyawa lain (termasuk asam nukleat yang menyerap kuat pada 260 nm) dapat mengganggu pengukuran. Akurasi metode ini juga sangat bergantung pada komposisi asam amino aromatik dari protein yang diukur.

Pendekatan lain adalah metode pengikatan zat warna (*dye-binding*). Metode ini didasarkan pada fakta bahwa molekul zat warna anionik, seperti *Coomassie Brilliant Blue* atau *Acid Orange 12*, dapat berikatan secara stoikiometri dengan gugus-gugus basa (bermuatan positif) pada molekul protein (misalnya, dari lisin, arginin, dan histidin) dalam kondisi asam. Dalam metode Bradford, misalnya, zat warna *Coomassie Brilliant Blue G-250* akan bergeser serapan maksimumnya dari 465 nm (merah-coklat) menjadi 595 nm (biru) ketika berikatan dengan protein. Jumlah protein ditentukan dengan mengukur peningkatan absorbansi pada 595 nm atau dengan mengukur sisa zat warna yang tidak terikat dalam supernatan setelah protein diendapkan. Metode ini sangat cepat dan sensitif, tetapi seperti metode lainnya, responsnya bervariasi tergantung pada komposisi asam amino protein.

Pemilihan metode analisis protein yang tepat adalah keputusan yang kompleks. Untuk pelabelan nutrisi dan kepatuhan regulasi, metode berbasis nitrogen (Kjeldahl atau Dumas) tetap menjadi standar yang tidak tergantikan. Namun, untuk aplikasi penelitian, pengembangan produk, atau pemantauan fraksi protein spesifik selama proses pemurnian, metode-metode alternatif seperti kolorimetri atau serapan UV menawarkan keuntungan yang signifikan dalam hal kecepatan, biaya, dan kemudahan. Seorang analis yang kompeten harus memahami prinsip dan keterbatasan dari setiap metode untuk dapat memilih alat yang paling sesuai untuk setiap pekerjaan analitis yang dihadapi.

Analogi: Jika metode berbasis nitrogen (Kjeldahl/Dumas) ibarat mengukur total berat semua orang di dalam sebuah gedung untuk mengestimasi jumlah

orang, maka metode berbasis sifat kimiawi/fisik ibarat menggunakan teknologi yang berbeda untuk menghitungnya. Metode **Biuret** seperti menggunakan kamera termal resolusi rendah; ia mendeteksi "kehadiran umum" dari manusia (ikatan peptida) tetapi tidak terlalu sensitif. Metode **Lowry/BCA** seperti kamera dengan pengenalan wajah yang lebih canggih; ia mendeteksi fitur-fitur yang lebih spesifik (gugus samping asam amino) dan jauh lebih sensitif, tetapi kadang-kadang bisa terkecoh oleh manekin (senyawa pengganggu). Metode **penyerapan UV 280 nm** seperti menggunakan sensor gerak; sangat cepat dan tidak mengganggu, tetapi hanya mendeteksi orang yang bergerak (protein dengan asam amino aromatik) dan bisa terpicu oleh hal lain (asam nukleat). Metode **pengikatan zat warna** seperti meminta setiap orang untuk mengambil satu tiket bernomor dari sebuah gulungan; dengan menghitung sisa tiket, kita bisa tahu berapa banyak orang yang telah mengambilnya. Setiap metode memiliki kelebihan dan kekurangannya sendiri tergantung pada situasi di dalam gedung tersebut.

6.2.1 Metode Kolorimetri (Biuret, Lowry, dan BCA)

Metode Biuret adalah yang paling sederhana di antara metode kolorimetri, didasarkan pada pembentukan kompleks antara ion Cu^{2+} dan empat hingga enam atom nitrogen dari ikatan peptida dalam suasana basa. Karena reaksinya bergantung pada keberadaan ikatan peptida yang menjadi tulang punggung semua protein, metode ini relatif tidak terpengaruh oleh perbedaan komposisi asam amino antar protein, menjadikannya cukup robust. Namun, kelemahannya adalah sensitivitas yang rendah, biasanya memerlukan protein dalam rentang miligram (mg) per mililiter, dan rentan terhadap interferensi dari senyawa yang dapat membentuk kompleks dengan tembaga, seperti amonia.

Metode Lowry dan *Bicinchoninic Acid* (BCA) dikembangkan untuk meningkatkan sensitivitas. Keduanya menggunakan langkah awal yang sama dengan Biuret, yaitu reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^+ oleh protein. Namun, mereka menambahkan langkah amplifikasi sinyal kedua. Dalam metode Lowry,

reagen Folin-Ciocalteu (campuran asam fosfomolibdat-fosfotungstat) direduksi oleh ion Cu^+ dan oleh gugus samping tirosin dan triptofan, menghasilkan warna biru yang sangat intens. Dalam metode BCA, dua molekul BCA membentuk kelat dengan setiap ion Cu^+ , menghasilkan kompleks berwarna ungu yang stabil. Kedua metode ini sekitar 100 kali lebih sensitif daripada Biuret, tetapi karena keterlibatan gugus samping asam amino dalam reaksi, respons warnanya lebih bervariasi antar protein dan lebih rentan terhadap interferensi dari agen pereduksi atau agen pengkelat yang mungkin ada dalam sampel.

6.2.2 Metode Penyerapan UV 280 nm dan Pengikatan Zat Warna (*Dye-Binding*)

Metode penyerapan UV pada 280 nm adalah salah satu cara tercepat dan termudah untuk mengestimasi konsentrasi protein dalam larutan murni. Metode ini memanfaatkan fakta bahwa cincin aromatik pada asam amino triptofan dan tirosin (dan pada tingkat yang lebih rendah, fenilalanin) menyerap radiasi UV secara kuat di sekitar panjang gelombang 280 nm. Konsentrasi protein dapat dihitung menggunakan hukum Beer-Lambert ($A = \epsilon bc$), di mana absorbansi (A) berbanding lurus dengan konsentrasi (c) dan koefisien ekstingsi molar (ϵ) protein tersebut. Metode ini non-destruktif, namun akurasinya sangat bergantung pada pengetahuan tentang koefisien ekstingsi protein, yang bervariasi sesuai dengan kandungan asam amino aromatiknya, dan sangat tidak cocok untuk campuran protein atau sampel yang tidak murni.

Metode pengikatan zat warna, dengan metode Bradford sebagai contoh utamanya, menawarkan sensitivitas tinggi dan kecepatan. Metode ini didasarkan pada pergeseran spektrum absorbansi zat warna *Coomassie Brilliant Blue G-250* saat ia berikatan secara non-kovalen dengan protein, terutama dengan residu asam amino basa (arginin, lisin) dan residu aromatik dalam lingkungan asam. Prosedurnya sangat sederhana: reagen zat warna dicampur dengan sampel protein, dan setelah inkubasi singkat, absorbansi

diukur pada 595 nm. Meskipun sangat populer karena kemudahan dan sensitivitasnya, metode Bradford menunjukkan variabilitas respons yang signifikan antar protein (bergantung pada kandungan asam amino dasarnya) dan rentan terhadap interferensi dari deterjen dan surfaktan.

Rangkuman

1. Analisis protein secara umum dilakukan secara tidak langsung melalui pengukuran nitrogen total, karena protein adalah komponen utama yang mengandung nitrogen dalam pangan. Hasilnya disebut "protein kasar".
2. Metode Kjeldahl adalah metode referensi klasik untuk nitrogen total, melibatkan tiga tahap: digesti dengan H_2SO_4 pekat, distilasi amonia setelah penambahan basa, dan titrasi amonia yang ditangkap.
3. Metode Dumas adalah alternatif modern yang bekerja dengan membakar sampel pada suhu tinggi, mengubah semua nitrogen menjadi gas N_2 , yang kemudian diukur dengan detektor konduktivitas termal. Metode ini lebih cepat dan lebih aman daripada Kjeldahl.
4. Faktor konversi digunakan untuk mengubah %N menjadi % protein kasar. Faktor umum 6,25 sering digunakan, tetapi faktor spesifik komoditas (misalnya, 5,70 untuk gandum, 6,38 untuk susu) memberikan estimasi yang lebih akurat.
5. Metode kolorimetri (Biuret, Lowry, BCA) mengukur protein berdasarkan reaksi pembentukan warna yang diukur dengan spektrofotometer. Metode ini cepat dan sensitif tetapi rentan terhadap interferensi.
6. Metode fisik seperti penyerapan UV pada 280 nm dan metode pengikatan zat warna (*dye-binding*) menawarkan analisis yang sangat cepat untuk larutan protein murni, tetapi akurasinya sangat bergantung pada komposisi asam amino protein.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan mengapa hasil analisis protein menggunakan metode Kjeldahl atau Dumas disebut sebagai "protein kasar" (*crude protein*). Sebutkan setidaknya dua jenis senyawa nitrogen non-protein (NPN) yang dapat berkontribusi pada hasil ini.
2. Saudara diminta untuk membandingkan metode Kjeldahl dan Dumas untuk laboratorium kendali mutu sebuah pabrik pakan ternak yang menganalisis ratusan sampel per hari. Diskusikan kelebihan dan kekurangan masing-masing metode dalam konteks kecepatan, keamanan, biaya, dan statusnya sebagai metode referensi.
3. Jelaskan asal-usul faktor konversi nitrogen-ke-protein 6,25. Mengapa penggunaan faktor ini tidak selalu akurat untuk semua jenis bahan pangan? Berikan contoh dua bahan pangan yang memerlukan faktor konversi yang berbeda dan jelaskan alasannya.
4. Sebuah laboratorium penelitian sedang mempelajari pemurnian enzim dari ekstrak kedelai. Mereka membutuhkan metode yang sangat cepat untuk memantau konsentrasi protein dalam fraksi-fraksi hasil kromatografi. Metode manakah (Kjeldahl atau salah satu metode spektrofotometri) yang lebih cocok untuk tujuan ini? Berikan justifikasi untuk pilihan Anda.
5. Bandingkan prinsip dasar antara metode kolorimetri Biuret dan metode Bradford (*dye-binding*). Jelaskan molekul atau gugus fungsional apa yang menjadi target dari masing-masing reagen dan diskusikan perbedaan utama keduanya dalam hal sensitivitas dan spesifisitas.

Soal Pilihan Ganda

1. Metode Kjeldahl secara langsung mengukur konsentrasi...
 - A. Protein total
 - B. Asam amino
 - C. Nitrogen total
 - D. Ikatan peptida
2. Tahap pertama dalam metode Kjeldahl, di mana sampel dipanaskan dengan asam sulfat pekat dan katalis, disebut...
 - A. Distilasi
 - B. Titrasi
 - C. Digesti
 - D. Hidrolisis
3. Metode Dumas menentukan kandungan nitrogen dengan cara...
 - A. Menitrasi sampel dengan asam standar
 - B. Membakar sampel dan mengukur gas N_2 yang dihasilkan
 - C. Membentuk kompleks berwarna dengan ion tembaga
 - D. Mengukur serapan cahaya UV pada 280 nm
4. Faktor konversi nitrogen-ke-protein untuk produk susu umumnya adalah...
 - A. 6,25
 - B. 5,70
 - C. 6,38
 - D. 5,95
5. Metode kolorimetri yang bereaksi dengan ikatan peptida dan memiliki sensitivitas paling rendah adalah...
 - A. Metode Lowry
 - B. Metode BCA
 - C. Metode Bradford
 - D. Metode Biuret

6. Penentuan konsentrasi protein dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang 280 nm didasarkan pada keberadaan...
 - A. Ikatan peptida
 - B. Asam amino basa seperti lisin
 - C. Asam amino aromatik seperti triptofan dan tirosin
 - D. Gugus sulfhidril dari sistein
7. Keunggulan utama metode Dumas dibandingkan dengan Kjeldahl adalah...
 - A. Akurasi yang lebih tinggi untuk semua jenis sampel
 - B. Kecepatan analisis yang jauh lebih tinggi dan tidak menggunakan reagen berbahaya
 - C. Biaya instrumen yang lebih murah
 - D. Diakui sebagai satu-satunya metode referensi legal
8. Dalam metode Kjeldahl, penambahan NaOH pekat sebelum tahap distilasi bertujuan untuk...
 - A. Mengkatalisis reaksi digesti
 - B. Mengubah ion amonium (NH_4^+) menjadi gas amonia (NH_3)
 - C. Menetralkan larutan untuk titrasi
 - D. Mencegah pengendapan katalis
9. Zat warna yang digunakan dalam metode Bradford untuk mengikat protein adalah...
 - A. Pereaksi Folin-Ciocalteu
 - B. Asam Bikinkoninat (BCA)
 - C. Coomassie Brilliant Blue G-250
 - D. Metil Merah
10. Penggunaan faktor konversi 6,25 didasarkan pada asumsi bahwa protein secara rata-rata mengandung...
 - A. 6,25% Nitrogen
 - B. 16% Nitrogen
 - C. 20% Nitrogen
 - D. 18% Nitrogen

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah perusahaan rintisan (*startup*) pangan mengembangkan produk *protein bar* baru yang bahan utamanya adalah isolat protein kacang polong. Untuk keperluan pelabelan nutrisi, mereka perlu menentukan kandungan protein per sajian. Laboratorium mereka memiliki instrumen Kjeldahl dan juga spektrofotometer UV-Vis.

- (1) Metode manakah yang harus mereka gunakan untuk tujuan pelabelan nutrisi sesuai standar regulasi? Jelaskan mengapa.
- (2) Setelah melakukan analisis nitrogen dan mendapatkan hasil 3,5% N, analis junior menggunakan faktor konversi standar 6,25. Jelaskan mengapa ini mungkin bukan pendekatan yang paling akurat dan apa yang seharusnya ia lakukan untuk mendapatkan hasil yang lebih baik.
- (3) Dalam proses produksi, perusahaan ingin cara cepat untuk memastikan konsistensi protein dalam setiap batch campuran adonan. Metode manakah yang bisa mereka kembangkan untuk tujuan kontrol kualitas internal ini?

Glosarium

1. **Digesti:** Dalam metode Kjeldahl, proses dekomposisi matriks sampel menggunakan asam kuat dan panas untuk mengubah nitrogen organik menjadi amonium sulfat.
2. **Distilasi:** Proses pemisahan komponen dari campuran cair berdasarkan perbedaan titik didih. Dalam metode Kjeldahl, digunakan untuk memisahkan amonia volatil dari larutan.
3. **Faktor Konversi:** Angka yang digunakan untuk mengalikan persentase nitrogen total untuk mengestimasi persentase protein kasar.
4. **Kolorimetri:** Teknik analisis yang menentukan konsentrasi suatu zat dengan mengukur absorbansi cahaya dari larutan berwarna yang dihasilkannya.

5. **Metode Biuret:** Metode kolorimetri untuk protein berdasarkan pembentukan kompleks berwarna antara ion tembaga(II) dan ikatan peptida dalam suasana basa.
6. **Metode Bradford:** Metode kolorimetri sensitif untuk protein berdasarkan pergeseran spektrum absorbansi zat warna Coomassie Brilliant Blue G-250 saat berikatan dengan protein.
7. **Metode Dumas:** Metode pembakaran untuk penentuan nitrogen total, di mana sampel dibakar dan gas N_2 yang dihasilkan diukur.
8. **Metode Kjeldahl:** Metode kimia basah klasik yang menjadi referensi untuk penentuan nitrogen total dalam sampel organik.
9. **Nitrogen Non-Protein (NPN):** Senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen yang bukan merupakan protein, seperti asam amino bebas, amida, dan asam nukleat.
10. **Protein Kasar (*Crude Protein*):** Estimasi kandungan protein total dalam sampel, dihitung dengan mengalikan kandungan nitrogen total dengan faktor konversi.
11. **Titration:** Teknik analisis kimia kuantitatif di mana konsentrasi suatu analit ditentukan dengan mengukur volume larutan standar (titran) yang dibutuhkan untuk bereaksi sempurna dengannya.

BAB 7: ANALISIS KARBOHIDRAT

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Mengklasifikasikan karbohidrat berdasarkan struktur molekulnya dan menjelaskan signifikansinya dalam bahan pangan.
2. Membedakan secara fungsional dan nutrisi antara karbohidrat yang dapat dicerna dengan serat makanan.
3. Menjelaskan prinsip kerja metode-metode kimia klasik (seperti Luff Schoorl dan DNS) dan metode enzimatik untuk analisis gula dan pati.
4. Memahami pentingnya hidrolisis pati dan prosedur hidrolisis pati sebagai tahap persiapan sebelum analisis glukosa.
5. Menganalisis aplikasi dan keunggulan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) untuk pemisahan dan kuantifikasi mono- dan oligosakarida.
6. Menguraikan prinsip metode enzimatik-gravimetri AOAC untuk penentuan kadar serat makanan total.
7. Membedakan antara serat makanan larut dan tidak larut serta memahami dasar pemisahannya dalam analisis.

Pendahuluan

Karbohidrat adalah kelas senyawa organik yang paling melimpah di planet ini, menjadi fondasi bagi sebagian besar rantai makanan dan sumber energi utama bagi kehidupan. Dalam dunia hasil pertanian, karbohidrat merupakan manifestasi langsung dari proses fotosintesis, di mana energi matahari diubah menjadi energi kimia yang tersimpan dalam bentuk gula, pati, dan selulosa. Kehadiran mereka ada di mana-mana, mulai dari rasa manis pada buah-buahan matang, tekstur mengenyangkan pada nasi dan roti, hingga kekakuan struktural pada batang sayuran. Mereka adalah bahan bakar bagi metabolisme kita sekaligus kerangka bagi dunia tumbuhan.

Signifikansi karbohidrat dalam ilmu pangan bersifat ganda. Dari perspektif nutrisi, mereka adalah pemasok kalori yang paling efisien dan mudah diakses oleh tubuh. Glukosa, bentuk karbohidrat paling sederhana, adalah mata uang energi universal di tingkat seluler. Namun, narasi nutrisi modern juga menyoroti sisi lain dari karbohidrat. Konsumsi berlebih gula sederhana dan pati murni telah menjadi perhatian utama kesehatan masyarakat global, terkait erat dengan isu-isu seperti obesitas, diabetes tipe 2, dan sindrom metabolik. Di sisi lain spektrum, terdapat kelompok karbohidrat lain yang dikenal sebagai serat makanan, yang justru dipromosikan karena manfaat kesehatannya yang luar biasa, meskipun tidak dapat kita cerna.

Dualitas antara karbohidrat sebagai sumber energi esensial dan sebagai faktor risiko kesehatan, serta perbedaan fungsional yang dramatis antara pati yang dapat dicerna dan serat yang tidak dapat dicerna, menciptakan sebuah tantangan analitis yang kompleks. Seorang analis kimia pangan tidak bisa hanya melaporkan satu angka tunggal untuk "total karbohidrat". Untuk memberikan informasi yang bermakna bagi konsumen, ahli gizi, dan regulator, analisis harus mampu membedah dan mengukur fraksi-fraksi yang berbeda ini. Berapa banyak gula total dalam produk ini? Berapa banyak yang merupakan gula tambahan? Berapa kandungan serat makanannya? Jawaban atas pertanyaan-pertanyaan inilah yang menjadi inti dari analisis karbohidrat modern.

Secara tradisional, kandungan "total karbohidrat" pada label nutrisi sering kali ditentukan bukan melalui pengukuran langsung, melainkan melalui perhitungan "by difference". Nilai ini diperoleh dengan mengurangkan persentase komponen lain yang telah dianalisis (air, protein, lemak, dan abu) dari 100%. Meskipun praktis, metode ini memiliki kelemahan karena semua kesalahan analitis dari pengukuran komponen lain akan terakumulasi dalam nilai karbohidrat, menjadikannya estimasi yang paling tidak akurat. Oleh karena itu, metode-metode analisis langsung yang dapat mengukur fraksi-fraksi karbohidrat spesifik menjadi sangat penting.

Bab ini akan memandu mahasiswa untuk menavigasi kompleksitas dunia analisis karbohidrat. Kita akan memulai dengan membangun landasan pemahaman yang kokoh mengenai klasifikasi dan signifikansi karbohidrat, dengan penekanan khusus pada perbedaan fundamental antara karbohidrat yang menyediakan energi dan serat makanan yang menunjang kesehatan pencernaan. Pemahaman konseptual ini adalah kunci untuk menghargai mengapa pendekatan analitis yang berbeda diperlukan untuk setiap kelompok.

Selanjutnya, kita akan menyelami dunia analisis gula dan pati, yaitu fraksi karbohidrat yang dapat dicerna. Kita akan meninjau metode-metode kimia klasik yang didasarkan pada sifat pereduksi gula, serta membandingkannya dengan metode enzimatik modern yang menawarkan spesifisitas yang jauh lebih tinggi. Kita juga akan membahas bagaimana polimer raksasa seperti pati harus "dibongkar" terlebih dahulu menjadi unit-unit glukosanya sebelum dapat diukur. Puncak dari bagian ini adalah pengenalan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) sebagai alat yang paling kuat untuk memisahkan dan mengukur setiap jenis gula secara individual.

Bagian akhir dari bab ini akan didedikasikan sepenuhnya untuk analisis fraksi yang tidak dapat dicerna, yaitu serat makanan. Analisis serat adalah contoh sempurna dari "definisi operasional", di mana prosedur analisis itu sendiri yang mendefinisikan apa yang diukur. Kita akan menguraikan prinsip di balik metode enzimatik-gravimetri AOAC yang menjadi standar global, meniru proses pencernaan di dalam tubuh manusia untuk mengisolasi residu yang tidak tercerna. Lebih lanjut, kita akan mempelajari bagaimana total serat ini dapat dipisahkan lagi menjadi fraksi larut dan tidak larut, yang masing-masing memiliki peran fisiologis yang berbeda.

Melalui bab ini, mahasiswa akan memperoleh perspektif yang komprehensif tentang strategi analitis untuk mengkarakterisasi kelompok senyawa yang paling melimpah dan beragam dalam pasokan makanan kita. Penguasaan teknik-teknik ini, dari titrasi klasik hingga kromatografi canggih dan digesti enzimatik, merupakan kompetensi inti yang sangat diperlukan dalam kendali mutu, pengembangan produk, dan penelitian nutrisi di bidang hasil pertanian.

7.1 Klasifikasi dan Signifikansi Karbohidrat

Karbohidrat, atau sakarida, adalah kelompok senyawa biomolekul yang secara kimiawi didefinisikan sebagai polihidroksi aldehida, polihidroksi keton, atau senyawa yang menghasilkan molekul-molekul ini saat dihidrolisis. Formula empiris umum untuk banyak karbohidrat sederhana adalah $(\text{CH}_2\text{O})_n$, yang secara historis memunculkan nama "hidrat dari karbon", meskipun secara struktural nama ini tidak akurat. Kehadiran banyak gugus hidroksil (-OH) yang polar membuat sebagian besar karbohidrat berukuran kecil hingga sedang dapat larut dalam air, sebuah sifat yang sangat kontras dengan lipid. Kelarutan ini, bersama dengan kemampuan gugus hidroksil untuk membentuk ikatan hidrogen, secara signifikan memengaruhi sifat-sifat fungsional makanan seperti viskositas, kapasitas menahan air, dan titik beku.

Untuk memahami keragaman fungsinya, karbohidrat diklasifikasikan berdasarkan ukuran atau derajat polimerisasinya (DP). Monosakarida (DP 1) adalah unit karbohidrat tunggal yang paling sederhana dan tidak dapat dihidrolisis lebih lanjut. Contoh yang paling penting dalam pangan adalah glukosa (sumber energi seluler utama), fruktosa (gula termanis, ditemukan dalam buah dan madu), dan galaktosa (komponen laktosa). Oligosakarida (DP 2-10) terdiri dari beberapa unit monosakarida yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik. Yang paling umum adalah disakarida (DP 2) seperti sukrosa (gula meja, terdiri dari glukosa dan fruktosa), laktosa (gula susu, terdiri dari glukosa dan galaktosa), dan maltosa (gula malt, terdiri dari dua unit glukosa).

Polisakarida (DP > 10) adalah polimer raksasa yang terdiri dari ratusan hingga ribuan unit monosakarida. Berdasarkan fungsinya, mereka dapat dibagi menjadi polisakarida penyimpan energi dan polisakarida struktural. Pati adalah polisakarida penyimpan energi utama pada tanaman, terdiri dari dua jenis polimer glukosa: amilosa (rantai lurus) dan amilopektin (rantai bercabang). Glikogen, yang sering disebut sebagai "pati hewani", memiliki struktur yang mirip dengan amilopektin dan berfungsi sebagai penyimpan energi jangka pendek di hati dan otot hewan (BeMiller, 2018). Polisakarida struktural utama adalah selulosa, komponen utama dinding sel tanaman, yang

juga merupakan polimer glukosa tetapi dengan jenis ikatan glikosidik yang berbeda (β -1,4) yang membuatnya tidak dapat dicerna oleh enzim manusia.

Signifikansi karbohidrat dalam bahan pangan dan hasil pertanian sangatlah luas. Sebagai sumber energi, mereka menyediakan sekitar 4 kkal per gram dan merupakan bahan bakar utama bagi otak dan sistem saraf pusat. Dari segi fungsional, mereka adalah penentu utama tekstur. Gelatinisasi pati saat dipanaskan dengan air bertanggung jawab atas pengentalan saus dan tekstur produk pangangan. Kristalisasi sukrosa sangat penting dalam pembuatan permen, sementara kemampuannya untuk menurunkan aktivitas air digunakan dalam pengawetan selai (Hartel et al., 2018). Reaksi Maillard, reaksi pencoklatan non-enzimatik antara gula pereduksi dan asam amino, menghasilkan warna dan aroma yang khas pada roti panggang, kopi sangrai, dan daging panggang.

Dalam konteks analisis, klasifikasi ini sangat penting. Metode analisis harus dipilih berdasarkan jenis karbohidrat yang menjadi target. Metode untuk mengukur monosakarida seperti glukosa tidak akan dapat mengukur polisakarida seperti pati secara langsung. Sebaliknya, pati harus terlebih dahulu dihidrolisis menjadi unit-unit glukosanya sebelum dapat diukur dengan metode yang sama. Lebih jauh lagi, perbedaan kecil dalam struktur, seperti jenis ikatan glikosidik, adalah pembeda antara pati yang dapat kita cerna dan selulosa yang tidak bisa kita cerna. Perbedaan inilah yang menjadi dasar pembagian nutrisional paling penting dalam dunia karbohidrat.

Secara regulasi, informasi mengenai karbohidrat adalah wajib pada label nutrisi. Ini biasanya mencakup "Total Karbohidrat", yang dipecah lebih lanjut menjadi "Serat Makanan" dan "Total Gula". "Total Gula" juga sering kali diwajibkan untuk diperinci lebih lanjut menjadi "Gula Tambahan" (*Added Sugars*), yaitu gula yang ditambahkan selama pemrosesan, bukan yang secara alami ada dalam bahan baku (misalnya, dalam buah). Pemisahan analitis dari fraksi-fraksi ini merupakan tugas yang menantang namun krusial, yang memerlukan kombinasi metode enzimatik, kimia, dan kromatografi.

Pada akhirnya, signifikansi karbohidrat dalam analisis pangan terletak pada kebutuhan untuk mengkarakterisasi keragaman mereka secara kuantitatif. Dari manisnya sebuah permen hingga manfaat kesehatan dari semangkuk *oatmeal*, semuanya berakar pada jenis dan jumlah karbohidrat yang terkandung di dalamnya. Kemampuan untuk mengukur fraksi-fraksi ini secara akurat memungkinkan produsen untuk mengoptimalkan produk, ahli gizi untuk memberikan rekomendasi yang tepat, dan konsumen untuk membuat pilihan yang terinformasi.

Analogi: Mengklasifikasikan karbohidrat dapat diibaratkan seperti mengelola balok-balok LEGO. **Monosakarida** (glukosa, fruktosa) adalah balok LEGO tunggal, unit bangunan paling dasar. **Oligosakarida** (sukrosa, laktosa) adalah beberapa balok LEGO yang telah disambungkan menjadi sebuah komponen kecil yang spesifik. **Polisakarida** adalah struktur raksasa yang dibangun dari ribuan balok LEGO. Namun, cara penyambungan balok-balok tersebut sangat menentukan fungsinya. **Pati** adalah seperti sebuah gudang besar yang dibangun dari balok LEGO, dirancang agar mudah dibongkar kembali menjadi balok-balok tunggal untuk digunakan di tempat lain (mudah dicerna menjadi glukosa untuk energi). **Selulosa**, di sisi lain, adalah seperti dinding benteng yang kokoh, juga dibangun dari balok LEGO yang sama (glukosa), tetapi disambungkan dengan cara yang berbeda dan sangat kuat sehingga tidak dapat dibongkar dengan mudah (tidak dapat dicerna). Tugas seorang analis adalah menghitung berapa banyak balok tunggal, komponen kecil, dan struktur raksasa, serta membedakan antara "gudang" dan "dinding benteng".

7.1.1 Karbohidrat Dapat Dicerna vs Serat Makanan

Pembagian paling fundamental dari karbohidrat dari sudut pandang nutrisi manusia adalah berdasarkan kemampuan tubuh untuk mencerna dan menyerapnya. Karbohidrat yang dapat dicerna adalah karbohidrat yang dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim dalam sistem pencernaan manusia (terutama di mulut dan usus kecil) menjadi monosakarida, yang kemudian dapat diserap ke dalam aliran darah dan digunakan untuk energi. Kelompok ini terutama terdiri

dari gula-gula sederhana (mono dan disakarida) dan pati. Analisis fraksi ini penting untuk menentukan kandungan energi (kalori) dari suatu makanan.

Serat makanan (*dietary fiber*), sebaliknya, didefinisikan sebagai polisakarida karbohidrat (ditambah lignin, yang bukan karbohidrat) yang utuh dan intrinsik dalam tanaman yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan manusia. Senyawa-senyawa ini, seperti selulosa, hemiselulosa, pektin, dan beta-glukan, melewati usus kecil tanpa tercerna dan masuk ke usus besar. Di sana, mereka dapat difermentasi oleh mikrobiota usus, menghasilkan asam-asam lemak rantai pendek (SCFA) yang bermanfaat bagi kesehatan, atau berfungsi sebagai agen pembentuk massa (*bulking agent*) yang membantu kelancaran pencernaan. Secara analitis, serat makanan didefinisikan secara operasional, artinya "serat adalah apa yang tersisa setelah prosedur analisis tertentu yang meniru proses pencernaan".

7.2 Analisis Gula dan Pati

Analisis kuantitatif gula dan pati merupakan inti dari penentuan kandungan karbohidrat yang dapat dicerna, yang secara langsung berkontribusi pada nilai energi suatu produk pangan. Tantangan dalam analisis ini terletak pada keragaman struktur dan konsentrasi karbohidrat-karbohidrat ini. Sebuah sampel jus buah mungkin mengandung konsentrasi tinggi dari berbagai jenis gula sederhana seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa, sementara sampel tepung jagung hampir seluruhnya terdiri dari polimer pati yang masif dengan sedikit atau tanpa gula bebas. Oleh karena itu, tidak ada satu metode tunggal yang dapat diterapkan untuk semua situasi. Pemilihan metode yang tepat bergantung pada apakah target analisisnya adalah gula sederhana, pati, atau keduanya, serta tingkat spesifisitas yang dibutuhkan.

Metode-metode analisis untuk gula dapat dikelompokkan secara luas menjadi metode kimia, enzimatik, dan kromatografi. Metode kimia klasik umumnya didasarkan pada sifat pereduksi yang dimiliki oleh sebagian besar monosakarida dan beberapa disakarida (seperti laktosa dan maltosa). Gula pereduksi adalah gula yang memiliki gugus aldehida atau keton bebas yang

mampu mereduksi ion logam pengoksidasi, seperti tembaga(II) (Cu^{2+}) atau ion ferisianida, dalam larutan basa. Jumlah endapan tembaga(I) oksida (Cu_2O) yang terbentuk atau jumlah titran yang dibutuhkan untuk bereaksi sebanding dengan jumlah gula pereduksi dalam sampel. Metode seperti Lane-Eynon dan Luff Schoorl adalah contoh metode titrimetri yang didasarkan pada prinsip ini, sementara metode Somogyi-Nelson dan DNS (*Dinitrosalicylic Acid*) adalah metode kolorimetri. Kelemahan utama dari semua metode kimia berbasis reduksi ini adalah kurangnya spesifisitas; mereka mengukur total gula pereduksi dan tidak dapat membedakan antara, misalnya, glukosa dan fruktosa. Selain itu, mereka tidak dapat mengukur gula non-pereduksi seperti sukrosa kecuali jika sukrosa tersebut dihidrolisis terlebih dahulu.

Untuk mengatasi masalah spesifisitas, dikembangkanlah metode enzimatik. Metode ini menggunakan enzim-enzim yang sangat spesifik yang hanya akan bereaksi dengan satu jenis karbohidrat tertentu. Sebagai contoh, untuk mengukur glukosa, dapat digunakan kombinasi enzim glukosa oksidase dan peroksidase. Glukosa oksidase secara spesifik mengoksidasi glukosa, menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida ini kemudian bereaksi dengan substrat kromogenik dengan bantuan enzim peroksidase, menghasilkan produk berwarna yang dapat diukur dengan spektrofotometer. Dengan menggunakan sekuens enzim yang berbeda, metode ini dapat diadaptasi untuk mengukur gula lain seperti fruktosa dan sukrosa dengan tingkat akurasi dan spesifisitas yang sangat tinggi. Metode enzimatik kini tersedia dalam bentuk kit siap pakai yang sangat memudahkan analisis rutin.

Analisis pati menyajikan tantangan yang berbeda karena pati adalah polisakarida yang tidak larut dan tidak bersifat pereduksi. Oleh karena itu, pati tidak dapat diukur secara langsung menggunakan metode-metode di atas. Langkah pertama yang mutlak dalam analisis pati adalah hidrolisis, yaitu proses pemecahan rantai polisakarida yang panjang menjadi unit-unit monomer glukosanya. Hidrolisis dapat dilakukan menggunakan asam kuat pada suhu tinggi atau, yang lebih umum dan lebih lembut, menggunakan kombinasi enzim-enzim pendegradasi pati seperti α -amilase (yang memotong

rantai pati secara acak) dan amiloglukosidase (yang melepaskan unit glukosa dari ujung rantai).

Setelah hidrolisis selesai dan semua pati telah diubah menjadi glukosa, konsentrasi glukosa yang dihasilkan kemudian diukur menggunakan salah satu metode yang telah dijelaskan sebelumnya (misalnya, metode enzimatis glukosa oksidase atau HPLC). Kandungan pati total dalam sampel asli kemudian dihitung dengan mengalikan hasil konsentrasi glukosa dengan faktor konversi stoikiometri sebesar 0.9. Faktor ini diperlukan untuk memperhitungkan penambahan molekul air pada setiap unit glukosa selama proses hidrolisis. Akurasi dari keseluruhan analisis pati sangat bergantung pada efisiensi dan kelengkapan tahap hidrolisis.

Ketika diperlukan pemisahan dan kuantifikasi beberapa jenis gula secara simultan dalam satu analisis, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) adalah teknik pilihan yang tak tertandingi. HPLC dapat memisahkan campuran kompleks gula (misalnya, glukosa, fruktosa, sukrosa, dan maltosa) menjadi puncak-puncak individu berdasarkan interaksi diferensial mereka dengan fasa diam di dalam kolom kromatografi. Kolom yang umum digunakan untuk analisis gula termasuk kolom penukar kation berbasis ligan logam atau kolom berbasis amina. Karena gula tidak menyerap cahaya UV, detektor yang paling umum digunakan adalah detektor indeks bias (*Refractive Index*, RI), yang mengukur perubahan indeks bias eluen saat gula melewatinya, atau detektor hamburan cahaya evaporatif (*Evaporative Light Scattering Detector*, ELSD). Dengan mengkalibrasi sistem menggunakan standar gula murni, HPLC dapat memberikan profil karbohidrat yang sangat detail dan akurat, menjadikannya alat yang sangat berharga untuk analisis komposisi, studi proses, dan deteksi pemalsuan.

Contoh Kasus:

Sebuah perusahaan minuman ingin memverifikasi klaim "tanpa tambahan sukrosa" pada produk jus apelnnya. Metode kimia seperti Luff Schoorl tidak akan berguna karena tidak dapat membedakan antara gula alami dari apel (glukosa dan fruktosa) dengan sukrosa yang mungkin ditambahkan.

Laboratorium memutuskan untuk menggunakan HPLC. Sampel jus diencerkan, disaring, dan diinjeksikan ke dalam sistem HPLC yang dilengkapi dengan kolom karbohidrat dan detektor indeks bias. Kromatogram yang dihasilkan menunjukkan dua puncak utama yang besar, yang waktu retensinya cocok dengan standar glukosa dan fruktosa. Selain itu, terdeteksi sebuah puncak yang sangat kecil yang cocok dengan waktu retensi standar sukrosa. Dengan mengukur area puncak sukrosa yang kecil ini, laboratorium dapat mengonfirmasi bahwa produk tersebut memang hanya mengandung sejumlah kecil sukrosa alami dari apel dan tidak ada penambahan sukrosa dalam jumlah signifikan, sehingga memvalidasi klaim pada label.

7.2.1 Metode Kimia (Luff Schoorl, DNS) dan Enzimatik Spesifik

Metode Luff Schoorl adalah metode titrimetri klasik untuk menentukan total gula pereduksi. Prinsipnya adalah reduksi ion Cu^{2+} dalam larutan pereaksi Luff (campuran tembaga sulfat, asam sitrat, dan natrium karbonat) oleh gula pereduksi saat dipanaskan. Sejumlah pereaksi Luff yang berlebih direaksikan dengan sampel, dan kelebihan Cu^{2+} yang tidak bereaksi kemudian ditentukan melalui titrasi iodometri. Selisih antara titrasi blanko (tanpa sampel) dan titrasi sampel digunakan untuk menghitung jumlah Cu^{2+} yang telah direduksi, yang kemudian dikorelasikan dengan konsentrasi gula menggunakan tabel standar. Metode ini, meskipun resmi, bersifat empiris dan memerlukan kondisi reaksi yang terkontrol ketat.

Metode DNS (*3,5-Dinitrosalicylic Acid*) adalah metode kolorimetri yang juga didasarkan pada sifat pereduksi gula. Dalam suasana basa dan panas, DNS direduksi oleh gula pereduksi menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat, yang berwarna merah-coklat dan dapat diukur absorbansinya pada 540 nm. Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi gula pereduksi. Metode ini lebih sederhana dan lebih cepat daripada titrasi, tetapi juga kurang spesifik dan rentan terhadap interferensi dari senyawa pereduksi lain. Sebaliknya, metode enzimatik menawarkan spesifisitas hampir absolut. Kit uji yang menggunakan enzim heksokinase dan glukosa-6-fosfat

dehidrogenase, misalnya, dapat secara spesifik mengukur glukosa melalui perubahan absorbansi NADH pada 340 nm, bahkan di hadapan gula-gula lain.

7.2.2 Hidrolisis Pati menjadi Glukosa

Karena pati adalah polimer glukosa yang sangat besar, ia harus dipecah terlebih dahulu menjadi unit-unit glukosa sebelum dapat diukur. Hidrolisis asam, yang melibatkan pendidihan sampel dengan asam kuat seperti HCl, adalah metode klasik yang efektif tetapi memiliki kelemahan. Kondisi yang keras dapat menyebabkan degradasi sebagian glukosa yang dilepaskan menjadi produk sampingan seperti hidroksimetilfurfural (HMF) dan juga dapat menghidrolisis polisakarida non-pati lainnya, yang menyebabkan hasil yang terlalu tinggi.

Hidrolisis enzimatik kini menjadi pendekatan yang lebih disukai karena kondisinya yang lebih lembut dan spesifisitasnya yang tinggi. Prosedur standar (misalnya, AOAC Method 996.11) menggunakan kombinasi beberapa enzim. Pertama, α -amilase yang stabil terhadap panas (*thermostable*) digunakan untuk mendegradasi dan melarutkan pati. Kemudian, amiloglukosidase ditambahkan untuk menyelesaikan hidrolisis menjadi glukosa. Metode ini secara spesifik menargetkan pati dan meminimalkan degradasi glukosa, menghasilkan pengukuran yang lebih akurat dari kandungan pati yang sesungguhnya.

7.2.3 Aplikasi HPLC untuk Analisis Mono dan Oligosakarida

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) adalah teknik analisis modern yang unggul untuk pemisahan, identifikasi, dan kuantifikasi karbohidrat secara individual. Berbeda dengan metode kimia yang hanya memberikan nilai total, HPLC dapat memberikan profil lengkap dari gula-gula yang ada dalam sampel, seperti fruktosa, glukosa, sukrosa, maltosa, dan laktosa, dalam satu kali analisis. Pemisahan biasanya dicapai menggunakan kolom penukar ligan

(dengan fasa diam resin polimerik yang dimodifikasi dengan ion logam seperti Ca^{2+}) atau kolom kromatografi interaksi hidrofilik (HILIC).

Detektor indeks bias (RI) adalah detektor universal yang paling umum digunakan untuk analisis gula, karena ia merespons keberadaan analit apa pun yang memiliki indeks bias berbeda dari fasa gerak. Meskipun andal, detektor RI sensitif terhadap perubahan suhu dan tidak kompatibel dengan elusi gradien. Alternatifnya adalah detektor hamburan cahaya evaporatif (ELSD) atau detektor aerosol bermuatan (*Charged Aerosol Detector*, CAD), yang lebih sensitif dan kompatibel dengan elusi gradien. Kemampuan HPLC untuk menyediakan profil gula yang rinci sangat penting untuk kontrol kualitas, deteksi pemalsuan (misalnya, penambahan sirup jagung ke madu), dan analisis produk pangan fungsional yang mengandung oligosakarida prebiotik seperti fruktooligosakarida (FOS).

7.3 Analisis Serat Makanan (*Dietary Fiber*)

Analisis serat makanan merupakan salah satu bidang yang paling kompleks dan terus berkembang dalam kimia pangan, terutama karena definisi serat makanan itu sendiri lebih bersifat fisiologis daripada kimiawi murni. Serat makanan didefinisikan berdasarkan ketahanannya terhadap pencernaan oleh enzim-enzim di usus kecil manusia. Oleh karena itu, metode analisis yang valid harus mampu meniru kondisi fisiologis ini di laboratorium. Pendekatan ini secara fundamental berbeda dari analisis makronutrien lain yang menargetkan senyawa kimia spesifik. Metode analisis serat makanan bersifat empiris dan operasional, artinya hasil yang diperoleh sangat bergantung pada prosedur yang diikuti.

Metode yang paling diterima secara luas dan diakui secara internasional adalah metode enzimatik-gravimetri yang dikembangkan oleh Prosky dan kolega, dan diadopsi sebagai metode resmi oleh AOAC International (misalnya, AOAC Method 985.29 dan 991.43). Prinsip dari metode ini adalah mensimulasikan proses pencernaan di lambung dan usus kecil secara berurutan. Sampel yang telah digiling dan dihilangkan lemaknya (jika perlu)

diinkubasi dengan serangkaian tiga enzim dalam kondisi pH dan suhu yang terkontrol ketat. Pertama, sampel diperlakukan dengan α -amilase yang tahan panas untuk menghidrolisis dan menghilangkan semua pati yang dapat dicerna. Selanjutnya, pH diturunkan dan ditambahkan enzim protease untuk mencerna sebagian besar komponen protein. Terakhir, pH dinaikkan kembali dan ditambahkan amiloglukosidase untuk memastikan semua sisa pati telah terhidrolisis sempurna menjadi glukosa

Setelah digesti enzimatik selesai, larutan tersebut mengandung residu serat yang tidak tercerna, ditambah dengan fragmen protein dan pati yang terhidrolisis (gula, peptida, asam amino) dalam bentuk larutan. Pada tahap ini, serat makanan dapat dipisahkan menjadi dua fraksi utama: serat tidak larut (*insoluble dietary fiber*, IDF) dan serat larut (*soluble dietary fiber*, SDF). Residu IDF, yang terdiri dari senyawa seperti selulosa, hemiselulosa, dan lignin, dipisahkan dari bagian yang terlarut melalui penyaringan. Filtrat yang diperoleh mengandung fraksi SDF, yang terdiri dari senyawa seperti pektin, beta-glukan, dan gum. Untuk mengukurnya, fraksi SDF diendapkan dengan menambahkan etanol empat kali volume. Penambahan etanol menurunkan konstanta dielektrik larutan, menyebabkan polisakarida larut yang besar menjadi tidak larut dan mengendap.

Endapan SDF ini kemudian dikumpulkan melalui penyaringan, digabungkan dengan residu IDF yang diperoleh sebelumnya. Residu gabungan ini, yang mewakili total serat makanan (TDF), kemudian dicuci dengan etanol dan aseton untuk menghilangkan sisa-sisa molekul kecil dan air, lalu dikeringkan dalam oven dan ditimbang. Namun, penimbangan ini belum selesai. Residu yang ditimbang ini masih mungkin mengandung sisa protein dan mineral (abu) yang tidak tercerna dan terperangkap. Oleh karena itu, koreksi harus dilakukan. Sebagian dari residu dianalisis kandungan proteinnya menggunakan metode Kjeldahl, dan sebagian lainnya diabukan dalam tanur. Berat protein dan abu ini kemudian dikurangkan dari berat total residu kering untuk mendapatkan nilai akhir dari total serat makanan yang sebenarnya.

Perbedaan antara serat larut dan tidak larut lebih dari sekadar definisi analitis; keduanya memiliki efek fisiologis yang berbeda. Serat tidak larut, seperti yang banyak ditemukan dalam bekatul gandum dan sayuran, tidak banyak difermentasi di usus besar. Fungsi utamanya adalah meningkatkan massa tinja dan mempercepat waktu transit usus, yang membantu mencegah sembelit. Sebaliknya, serat larut, seperti beta-glukan dalam *oat* dan pektin dalam apel, membentuk larutan kental seperti gel di saluran pencernaan. Viskositas ini dapat memperlambat pengosongan lambung, meningkatkan rasa kenyang, dan yang terpenting, dapat menurunkan kadar kolesterol darah dan menumpulkan respons glukosa darah setelah makan. Sebagian besar serat larut juga dapat difermentasi oleh mikrobiota usus, yang mendukung kesehatan usus besar.

Metode AOAC yang lebih baru, seperti AOAC 2009.01 dan 2011.25, telah dikembangkan untuk mencakup spektrum serat yang lebih luas, termasuk oligosakarida yang tidak dapat dicerna (misalnya, fruktooligosakarida) yang mungkin hilang dalam metode Prosky klasik. Metode-metode baru ini sering kali menggabungkan pemisahan kromatografi untuk mengukur komponen-komponen ini secara spesifik. Kompleksitas dan evolusi berkelanjutan dari metode analisis serat ini mencerminkan pemahaman kita yang semakin dalam tentang peran penting dan beragam dari komponen pangan yang luar biasa ini.

Studi Kasus: Sebuah perusahaan sereal meluncurkan produk *oatmeal* baru dengan klaim kesehatan "dapat membantu menurunkan kolesterol", yang didasarkan pada kandungan beta-glukan (sejenis serat larut) dari *oat*. Untuk memvalidasi klaim ini dan memenuhi persyaratan pelabelan, laboratorium QC harus mengukur tidak hanya total serat makanan tetapi juga fraksi serat larutnya secara spesifik. Mereka menggunakan metode AOAC 991.43. Setelah sampel dicerna secara enzimatik, residu serat tidak larut (IDF) disaring dan disimpan. Ke dalam filtrat, ditambahkan etanol untuk mengendapkan serat larut (SDF). Endapan SDF dikumpulkan, dikeringkan, dan ditimbang. Setelah dikoreksi terhadap sisa protein dan abu, diperoleh kadar SDF sebesar 4 gram per saji. Peraturan memperbolehkan klaim kesehatan terkait penurunan kolesterol jika produk mengandung setidaknya 0.75 gram beta-glukan per saji. Dengan asumsi sebagian besar SDF dalam *oat*

adalah beta-glukan, hasil analisis ini memberikan bukti kuat untuk mendukung klaim kesehatan pada kemasan produk.

7.3.1 Prinsip Pemisahan Residu Tidak Dapat Dicerna (Metode AOAC)

Metode analisis serat makanan AOAC (misalnya, 991.43) adalah sebuah prosedur multi-enzimatik yang dirancang untuk mengisolasi semua polisakarida yang tidak dapat dihidrolisis oleh sistem pencernaan manusia. Prinsip utamanya adalah menghilangkan secara selektif komponen-komponen yang dapat dicerna, yaitu pati dan protein, menggunakan enzim spesifik dalam kondisi yang meniru lingkungan lambung dan usus kecil. Sampel diinkubasi secara berurutan dengan α -amilase tahan panas, protease, dan amiloglukosidase untuk memastikan semua karbohidrat dan protein yang dapat dicerna dipecah menjadi subunit terlarut yang kecil.

Residu yang tersisa setelah perlakuan enzimatik ini secara operasional didefinisikan sebagai serat makanan. Pemisahan akhir didasarkan pada kelarutan dan ukuran molekul. Serat tidak larut dipisahkan melalui penyaringan langsung. Serat larut, yang masih berada dalam filtrat, adalah polimer besar yang diendapkan dengan menambahkan alkohol (biasanya etanol). Penambahan alkohol secara drastis mengurangi kelarutan polisakarida, menyebabkannya keluar dari larutan. Gabungan dari residu yang disaring dan endapan alkohol inilah yang akhirnya ditimbang sebagai total serat makanan setelah dilakukan koreksi terhadap sisa protein dan abu yang mungkin ikut terperangkap.

7.3.2 Perbedaan Serat Larut dan Tidak Larut

Secara analitis, perbedaan antara serat larut (*Soluble Dietary Fiber*, SDF) dan serat tidak larut (*Insoluble Dietary Fiber*, IDF) didefinisikan oleh prosedur AOAC itu sendiri. IDF adalah fraksi yang tidak larut dalam larutan buffer setelah digesti enzimatik dan dapat dikumpulkan melalui penyaringan. SDF adalah fraksi yang tetap larut dalam larutan buffer setelah digesti, tetapi

kemudian dapat diendapkan dengan penambahan etanol 78%. Fraksi IDF terutama terdiri dari selulosa, lignin, dan beberapa hemiselulosa, yang banyak ditemukan di dinding sel tanaman seperti bekatul dan sayuran.

Fraksi SDF terdiri dari polisakarida seperti pektin (dari buah-buahan), beta-glukan (dari *oat* dan jelai), dan berbagai jenis gum (seperti gom guar). Perbedaan kelarutan ini mencerminkan perbedaan struktur kimia dan perilaku fisiologis mereka. IDF cenderung kurang kental dan kurang dapat difermentasi, dengan peran utama dalam meningkatkan massa tinja. Sebaliknya, SDF sering kali membentuk larutan kental (viskos) di dalam usus, yang berkontribusi pada kemampuannya untuk memodulasi penyerapan glukosa dan kolesterol. Sebagian besar SDF juga mudah difermentasi oleh mikrobiota usus, menjadikannya prebiotik yang penting.

Rangkuman

1. Karbohidrat diklasifikasikan menjadi monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida. Secara nutrisi, mereka dibagi menjadi karbohidrat yang dapat dicerna (gula, pati) dan yang tidak dapat dicerna (serat makanan).
2. Analisis gula dapat dilakukan dengan metode kimia (berbasis sifat pereduksi seperti Luff Schoorl), metode enzimatis (sangat spesifik untuk gula tertentu), atau HPLC (untuk profil gula lengkap).
3. Pati, sebagai polisakarida, harus dihidrolisis terlebih dahulu menjadi glukosa (menggunakan asam atau enzim) sebelum dapat diukur. Kandungan pati dihitung dari jumlah glukosa yang dilepaskan.
4. HPLC adalah teknik modern yang paling kuat untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan menguantifikasi setiap jenis mono dan oligosakarida secara individual dalam satu analisis.
5. Analisis serat makanan menggunakan metode enzimatis-gravimetri (standar AOAC) yang meniru proses pencernaan untuk mengisolasi residu yang tidak dapat dicerna.

6. Serat makanan total dapat dipisahkan menjadi fraksi tidak larut (IDF) yang dipisahkan dengan penyaringan, dan fraksi larut (SDF) yang diendapkan dari filtrat menggunakan etanol.
7. Serat larut dan tidak larut memiliki efek fisiologis yang berbeda; IDF baik untuk kelancaran pencernaan, sementara SDF dapat membantu mengontrol kadar glukosa dan kolesterol darah.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan mengapa "total karbohidrat" yang dihitung dengan metode "by difference" pada label nutrisi dianggap sebagai estimasi yang paling tidak akurat. Bandingkan pendekatan ini dengan analisis langsung menggunakan metode spesifik.
2. Saudara diberi dua sampel: satu adalah madu murni dan yang lainnya adalah tepung tapioka. Uraikan pendekatan analitis yang berbeda yang akan Saudara gunakan untuk menentukan komposisi karbohidrat utama dari masing-masing sampel.
3. Jelaskan secara rinci prinsip di balik metode enzimatik-gravimetri AOAC untuk penentuan total serat makanan. Mengapa koreksi untuk sisa protein dan abu diperlukan pada akhir prosedur?
4. Bandingkan dan kontraskan antara serat makanan larut (SDF) dan tidak larut (IDF) dari segi definisi analitis, contoh dalam bahan pangan, dan efek fisiologis utama dalam tubuh manusia.
5. Sebuah perusahaan jus mengklaim produknya "dimaniskan secara alami hanya dengan buah". Metode analisis apa yang paling cocok untuk memverifikasi klaim ini dan mendeteksi kemungkinan penambahan sukrosa (gula meja)? Jelaskan bagaimana metode tersebut bekerja.

Soal Pilihan Ganda

1. Unit karbohidrat paling dasar yang tidak dapat dihidrolisis lebih lanjut adalah...
 - A. Disakarida
 - B. Polisakarida
 - C. Monosakarida
 - D. Oligosakarida
2. Metode kimia klasik seperti Luff Schoorl atau DNS digunakan untuk mengukur...
 - A. Total serat makanan
 - B. Gula non-pereduksi seperti sukrosa
 - C. Total gula pereduksi
 - D. Pati secara langsung
3. Langkah pertama yang wajib dilakukan sebelum mengukur kandungan pati adalah...
 - A. Ekstraksi dengan pelarut nonpolar
 - B. Hidrolisis menjadi glukosa
 - C. Pengendapan dengan etanol
 - D. Reaksi dengan pereaksi DNS
4. Teknik yang paling kuat untuk memisahkan dan mengukur gula-gula individual seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa secara bersamaan adalah...
 - A. Metode Kjeldahl
 - B. Kromatografi Gas (GC)
 - C. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)
 - D. Spektroskopi Serapan Atom (AAS)
5. Dalam metode analisis serat makanan AOAC, pati dihilangkan menggunakan enzim...
 - A. Protease dan Lipase
 - B. Selulase dan Pektinase
 - C. α -amilase dan amiloglukosidase
 - D. Laktase dan Sukrase

6. Polisakarida yang berfungsi sebagai serat larut dan dikenal karena kemampuannya menurunkan kolesterol, yang banyak ditemukan dalam *oat*, adalah...
 - A. Selulosa
 - B. Lignin
 - C. Amilopektin
 - D. Beta-glukan
7. Dalam analisis serat makanan, fraksi serat larut (SDF) dipisahkan dari larutan dengan cara...
 - A. Penyaringan langsung
 - B. Pengendapan menggunakan etanol
 - C. Distilasi uap
 - D. Ekstraksi dengan heksana
8. Gula non-pereduksi yang tidak akan bereaksi dengan pereaksi Luff Schoorl kecuali jika dihidrolisis terlebih dahulu adalah...
 - A. Glukosa
 - B. Fruktosa
 - C. Laktosa
 - D. Sukrosa
9. Faktor konversi 0.9 digunakan dalam analisis pati untuk...
 - A. Mengoreksi kehilangan selama ekstraksi
 - B. Mengubah hasil dari basis basah ke basis kering
 - C. Memperhitungkan penambahan air selama hidrolisis glukosa
 - D. Mengonversi nitrogen menjadi protein
10. Serat makanan tidak larut (IDF), seperti selulosa, memberikan manfaat kesehatan utama dengan...
 - A. Menurunkan kadar kolesterol darah
 - B. Menjadi sumber energi utama bagi tubuh
 - C. Meningkatkan massa tinja dan memperlancar buang air besar
 - D. Menjadi prebiotik yang sangat mudah difermentasi

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah pabrik biskuit ingin mengganti sebagian tepung terigu dalam resep biskuit mereka dengan tepung gandum utuh untuk meningkatkan kandungan serat dan membuat klaim "sumber serat" pada kemasan. Berdasarkan peraturan, klaim "sumber serat" dapat dibuat jika produk mengandung setidaknya 3 gram serat per 100 gram. Saudara adalah analis R&D yang ditugaskan untuk memverifikasi apakah resep baru ini memenuhi persyaratan. Jelaskan secara singkat:

- (1) Metode analisis standar yang harus Saudara gunakan.
- (2) Hasil akhir apa yang Saudara bandingkan dengan standar 3 g/100 g (Serat Larut, Serat Tidak Larut, atau Serat Total?).
- (3) Mengapa analisis sederhana untuk "karbohidrat total *by difference*" tidak cukup untuk tujuan ini?

Glosarium

1. **Gula Pereduksi:** Karbohidrat yang memiliki gugus aldehida atau keton bebas yang mampu bertindak sebagai agen pereduksi dalam larutan basa.
2. **Hidrolisis:** Reaksi kimia di mana molekul air digunakan untuk memecah ikatan kimia, seperti pemecahan pati menjadi glukosa.
3. **HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*):** Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, sebuah teknik analisis untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan menguantifikasi komponen dalam suatu campuran.
4. **Karbohidrat:** Senyawa biomolekul yang terdiri dari atom karbon, hidrogen, dan oksigen, biasanya dengan rasio hidrogen-oksigen 2:1 seperti pada air.
5. **Monosakarida:** Gula paling sederhana, seperti glukosa atau fruktosa, yang menjadi unit pembangun karbohidrat yang lebih kompleks.
6. **Oligosakarida:** Karbohidrat yang terdiri dari dua hingga sepuluh unit monosakarida.

7. **Pati:** Polisakarida penyimpan energi utama pada tanaman, terdiri dari polimer glukosa (amilosa dan amilopektin).
8. **Polisakarida:** Karbohidrat kompleks berantai panjang yang terdiri dari banyak unit monosakarida yang terhubung.
9. **Serat Makanan (*Dietary Fiber*):** Bagian dari bahan tanaman yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan manusia.
10. **Serat Larut (*Soluble Fiber*):** Fraksi serat makanan yang larut dalam air dan diendapkan oleh alkohol, seperti pektin dan beta-glukan.
11. **Serat Tidak Larut (*Insoluble Fiber*):** Fraksi serat makanan yang tidak larut dalam air setelah digesti enzimatik, seperti selulosa dan lignin.

BAB 8: ANALISIS VITAMIN DAN SENYAWA BIOAKTIF

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan karakteristik dan klasifikasi vitamin sebagai mikronutrien organik esensial.
2. Menganalisis berbagai faktor fisika dan kimia yang menyebabkan degradasi vitamin selama proses analisis.
3. Memahami prinsip kerja, kelebihan, dan keterbatasan historis dari metode bioassay dan uji mikrobiologis.
4. Menguasai prinsip metode kimia klasik, khususnya titrasi redoks untuk penentuan vitamin C.
5. Menjelaskan peran superior dari Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) dan UHPLC dalam analisis vitamin modern.
6. Membedakan strategi preparasi dan analisis untuk vitamin larut lemak versus vitamin larut air.
7. Mengenali lingkup analisis senyawa bioaktif lain di luar vitamin esensial.

Pendahuluan

Setelah menjelajahi dunia makronutrien yang menyusun sebagian besar massa bahan pangan, perjalanan kita kini beralih ke alam mikroskopis yang memiliki dampak biologis yang sangat besar. Vitamin, bersama dengan mineral, membentuk kelas mikronutrien esensial. Mereka adalah senyawa organik yang dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah yang sangat kecil, sering kali hanya dalam miligram atau mikrogram per hari, namun ketiadaannya dapat memicu penyakit defisiensi yang parah dan bahkan fatal. Dari kebutaan akibat kekurangan vitamin A hingga penyakit skorbut akibat kekurangan vitamin C, sejarah telah menunjukkan betapa vitalnya peran molekul-molekul ini.

Signifikansi analisis vitamin dalam industri hasil pertanian dan pangan tidak dapat diremehkan. Analisis ini menjadi pilar utama dalam tiga area krusial. Pertama, dalam penjaminan mutu dan pelabelan nutrisi. Konsumen modern semakin menuntut informasi yang akurat mengenai kandungan vitamin dalam makanan mereka. Sebuah klaim "sumber vitamin C yang baik" pada kemasan jus jeruk harus didukung oleh data analitis yang kuat. Kedua, dalam program fortifikasi pangan. Penambahan vitamin-vitamin kunci seperti vitamin A, asam folat, dan vitamin D ke dalam bahan pangan pokok (seperti tepung, minyak, dan susu) merupakan strategi kesehatan masyarakat yang sangat efektif untuk memerangi defisiensi. Program ini mutlak memerlukan metode analisis yang akurat untuk mengontrol tingkat fortifikasi dan memastikan stabilitas vitamin selama umur simpan produk.

Area ketiga adalah dalam penelitian dan pengembangan. Memahami bagaimana proses pengolahan, pengemasan, dan penyimpanan memengaruhi kandungan vitamin adalah kunci untuk menciptakan produk yang tidak hanya lezat tetapi juga bergizi. Data dari analisis vitamin memungkinkan para ilmuwan pangan untuk mengoptimalkan parameter proses, misalnya suhu dan waktu pasteurisasi, untuk memaksimalkan retensi vitamin yang labil. Lebih dari sekadar 13 vitamin esensial yang dikenal (seperti A, C, D, E, K, dan kelompok B), kini fokus juga meluas ke ribuan "senyawa bioaktif" lainnya yang ditemukan dalam tanaman, seperti polifenol pada teh, likopen pada tomat, atau antosianin pada buah beri, yang diyakini memberikan manfaat kesehatan.

Namun, analisis vitamin dan senyawa bioaktif ini menghadirkan tantangan analitis yang jauh lebih besar dibandingkan dengan makronutrien. Tantangan pertama adalah konsentrasi. Vitamin hadir dalam jumlah renik (*trace amounts*), sering kali pada tingkat bagian per juta (ppm) atau bahkan bagian per miliar (ppb). Hal ini menuntut metode analisis dengan sensitivitas yang sangat tinggi. Tantangan kedua, dan yang paling utama, adalah ketidakstabilan. Berbeda dengan mineral yang merupakan elemen anorganik yang kokoh, vitamin adalah molekul organik yang rapuh. Mereka sangat

rentan terhadap degradasi oleh berbagai faktor seperti panas, cahaya, oksigen, pH ekstrem, dan keberadaan ion logam.

Fragilitas ini berarti bahwa seluruh alur kerja analitis, mulai dari pengambilan sampel hingga pengukuran akhir, harus dirancang dengan sangat hati-hati untuk melindungi analit. Kehilangan vitamin selama proses preparasi sampel akan secara langsung menyebabkan hasil yang lebih rendah dari nilai sebenarnya, sebuah kesalahan sistematis yang tidak dapat diperbaiki dengan pengukuran berulang. Oleh karena itu, analisis vitamin sering dianggap sebagai salah satu disiplin yang paling menuntut keahlian dalam kimia pangan.

Bab ini akan mengupas tuntas berbagai pendekatan untuk mengukur molekul-molekul yang vital namun rapuh ini. Kita akan memulai dengan memahami karakteristik dan klasifikasi vitamin, dengan fokus utama pada faktor-faktor yang menyebabkan ketidakstabilan mereka. Pengetahuan ini adalah fondasi untuk merancang prosedur analisis yang andal. Selanjutnya, kita akan melakukan perjalanan historis melalui evolusi metode analisis. Kita akan meninjau metode-metode klasik seperti bioassay (uji pada hewan) dan uji mikrobiologis, yang meskipun kini jarang digunakan untuk analisis rutin, memberikan konteks penting tentang bagaimana para ilmuwan pertama kali mengukur aktivitas biologis.

Kemudian, kita akan beralih ke metode kimia yang lebih cepat, seperti titrasi dan kolorimetri, yang menawarkan alternatif yang lebih praktis meskipun sering kali dengan spesifisitas yang terbatas. Puncak dari perjalanan kita adalah eksplorasi mendalam terhadap metode instrumental modern, khususnya Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) dan *Ultra-High Performance Liquid Chromatography* (UHPLC). Teknik-teknik ini telah merevolusi analisis vitamin, menawarkan kombinasi tak tertandingi antara sensitivitas, spesifisitas, dan kemampuan untuk mengukur beberapa vitamin secara bersamaan. Kita akan membedah bagaimana HPLC diterapkan untuk menganalisis baik vitamin larut lemak maupun vitamin larut air, yang memerlukan strategi preparasi yang berbeda.

Dengan menguasai materi dalam bab ini, mahasiswa akan memperoleh pemahaman yang mendalam tentang seni dan ilmu di balik kuantifikasi mikronutrien. Mereka akan belajar bahwa di balik setiap angka kandungan vitamin pada label pangan, terdapat serangkaian prosedur analitis yang canggih dan teliti, yang dirancang untuk menangkap dan mengukur esensi nutrisi dalam bentuknya yang paling rapuh.

8.1 Karakteristik dan Stabilitas Vitamin

Vitamin adalah sekelompok senyawa organik yang beragam yang tidak dapat disintesis dalam jumlah yang cukup oleh tubuh manusia, sehingga harus diperoleh dari makanan. Peran utama mereka adalah sebagai kofaktor atau koenzim dalam berbagai reaksi metabolik, serta sebagai antioksidan yang melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Tidak seperti makronutrien, vitamin tidak menyediakan energi, namun partisipasi mereka dalam reaksi yang menghasilkan energi sangatlah krusial. Berdasarkan kelarutannya, 13 vitamin esensial diklasifikasikan menjadi dua kelompok besar: vitamin larut lemak dan vitamin larut air.

Vitamin larut lemak, yang meliputi vitamin A (retinol), D (kalsiferol), E (tokoferol), dan K (filokuinon), memiliki struktur yang bersifat hidrofobik dan ditemukan dalam makanan yang berasosiasi dengan lemak, seperti minyak, produk susu, dan hati. Karena kelarutannya dalam lemak, mereka dapat disimpan dalam jaringan adiposa dan hati tubuh, yang berarti konsumsi harian tidak selalu diperlukan, tetapi juga meningkatkan risiko toksisitas jika dikonsumsi dalam dosis yang sangat tinggi. Secara analitis, keberadaan mereka dalam matriks lemak memerlukan langkah ekstraksi menggunakan pelarut organik, sering kali setelah proses saponifikasi untuk memecah lemak dan melepaskan vitamin yang mungkin terikat dalam bentuk ester.

Vitamin larut air mencakup delapan vitamin B-kompleks, tiamin (B1), riboflavin (B2), niasin (B3), asam pantotenat (B5), piridoksin (B6), biotin (B7), folat (B9), dan kobalamin (B12), serta vitamin C (asam askorbat). Sesuai namanya, mereka larut dalam air dan umumnya tidak disimpan dalam

jumlah besar di dalam tubuh (kecuali B12). Kelebihan konsumsi biasanya diekskresikan melalui urin, sehingga risiko toksisitasnya lebih rendah tetapi asupannya harus lebih teratur. Dari sudut pandang analisis, ekstraksi mereka dari sampel pangan biasanya dilakukan menggunakan larutan air, asam, atau buffer.

Karakteristik yang paling menantang dari vitamin, yang membedakannya dari mineral, adalah ketidakstabilannya. Vitamin adalah molekul organik yang relatif labil dan dapat dihancurkan oleh berbagai kondisi lingkungan yang umum ditemui selama pemrosesan, penyimpanan, dan bahkan selama analisis itu sendiri. Tingkat stabilitas sangat bervariasi dari satu vitamin ke vitamin lainnya. Beberapa, seperti niasin, relatif kokoh, sementara yang lain, seperti tiamin, folat, dan vitamin C, sangat rapuh. Kehilangan vitamin dapat terjadi melalui berbagai mekanisme reaksi, termasuk oksidasi, hidrolisis, isomerisasi, dan fotolisis (degradasi oleh cahaya).

Oksidasi adalah salah satu jalur degradasi yang paling umum, terutama untuk vitamin antioksidan seperti vitamin C dan E, serta vitamin A. Paparan terhadap oksigen atmosfer, terutama dipercepat oleh kehadiran ion logam transisi (seperti tembaga dan besi) dan cahaya, dapat dengan cepat merusak vitamin-vitamin ini. Panas adalah faktor perusak utama lainnya; banyak vitamin, terutama tiamin dan asam folat, bersifat termolabil, yang berarti mereka terdegradasi pada suhu yang digunakan dalam proses memasak, pasteurisasi, atau sterilisasi. Stabilitas juga sering kali sangat bergantung pada pH; tiamin, misalnya, cepat hancur dalam kondisi netral atau basa tetapi relatif stabil dalam kondisi asam.

Cahaya, terutama radiasi ultraviolet (UV), dapat menjadi agen perusak yang sangat kuat. Riboflavin adalah contoh klasik vitamin yang sangat fotolabil, terutama dalam larutan. Paparan susu (sumber riboflavin yang baik) dalam botol kaca bening terhadap sinar matahari dapat menyebabkan kehilangan riboflavin yang signifikan dalam waktu singkat. Kesadaran akan berbagai faktor perusak ini sangat krusial bagi seorang analis kimia. Seluruh prosedur

analisis harus dirancang untuk meminimalkan paparan sampel terhadap kondisi-kondisi ini.

Praktik laboratorium yang baik untuk analisis vitamin mencakup langkah-langkah protektif seperti menggunakan peralatan gelas berwarna amber atau yang dibungkus aluminium foil untuk melindungi dari cahaya, melakukan ekstraksi pada suhu rendah, bekerja secepat mungkin untuk meminimalkan waktu paparan terhadap oksigen, dan sering kali menambahkan antioksidan (seperti BHT atau asam askorbat) ke dalam pelarut ekstraksi untuk melindungi analit target. Proses seperti saponifikasi untuk vitamin larut lemak harus dilakukan di bawah atmosfer gas inert (seperti nitrogen) untuk mencegah oksidasi pada suhu tinggi. Kegagalan dalam menerapkan langkah-langkah pencegahan ini akan menghasilkan data yang secara sistematis lebih rendah dari nilai sebenarnya, yang tidak mencerminkan kandungan vitamin aktual dalam produk.

Analogi: Menganalisis vitamin dapat diibaratkan seperti tugas seorang fotografer satwa liar yang mencoba memotret seekor macan tutul salju yang sangat pemalu dan langka di habitat aslinya. Fotografer tersebut tidak bisa begitu saja berjalan ke gunung dan berharap bertemu dengan hewan itu. Ia harus memahami perilaku hewan tersebut (**karakteristik vitamin**), tahu bahwa ia aktif pada waktu tertentu, sensitif terhadap kebisingan, dan akan lari jika terdeteksi (**stabilitas vitamin**). Untuk berhasil, fotografer harus menggunakan lensa telefoto yang kuat (**metode sensitif**), bergerak diam-diam, menggunakan kamufase, dan sabar menunggu momen yang tepat (**prosedur analisis yang protektif**). Setiap kesalahan kecil, seperti membuat suara berisik atau terlihat oleh mangsanya (**paparan panas atau cahaya**), akan menyebabkan hewan itu lenyap, dan kesempatan untuk mendapatkan gambar yang akurat (**hasil analisis yang valid**) akan hilang.

8.1.1 Faktor Penyebab Degradasi Vitamin dalam Analisis

Degradasi vitamin selama alur kerja analitis dapat disebabkan oleh serangkaian faktor kimia dan fisika yang saling berinteraksi. Faktor kimia yang paling dominan adalah oksidasi. Vitamin C (asam askorbat), vitamin E (tokoferol), dan vitamin A (retinol beserta karotenoid provitamin A) semuanya memiliki struktur kimia yang membuat mereka rentan terhadap serangan oksigen. Proses ini sering kali merupakan reaksi berantai radikal bebas yang dipercepat secara eksponensial oleh katalis seperti ion logam Cu^{2+} dan Fe^{3+} , yang mungkin secara alami ada dalam sampel atau masuk sebagai kontaminan dari peralatan. Oleh karena itu, langkah-langkah seperti penggunaan air deionisasi berkualitas tinggi dan penambahan agen pengkelat (seperti EDTA) dapat membantu memitigasi degradasi oksidatif selama ekstraksi.

Faktor kimia lain yang sangat berpengaruh adalah pH. Stabilitas banyak vitamin sangat bergantung pada tingkat keasaman medium. Tiamin (vitamin B1) sangat tidak stabil pada pH netral atau basa, di mana jembatan metilennya dapat dengan mudah diserang dan cincin tiazolnya terbuka, menyebabkan hilangnya aktivitas biologis. Sebaliknya, ia cukup stabil dalam kondisi asam. Asam folat (vitamin B9) juga lebih stabil pada pH netral dan rentan terhadap hidrolisis asam maupun basa. Pengetahuan tentang profil stabilitas pH ini sangat penting dalam memilih pelarut ekstraksi yang tepat untuk memaksimalkan perolehan kembali (*recovery*) vitamin.

Dari sisi fisika, panas (*termolabilitas*) dan cahaya (*fotolabilitas*) adalah dua musuh utama. Pemanasan yang diperlukan untuk beberapa tahap preparasi, seperti hidrolisis enzimatis atau saponifikasi, harus dikontrol dengan cermat. Tiamin, asam pantotenat (B5), dan vitamin C adalah contoh vitamin yang sangat sensitif terhadap panas. Degradasi oleh cahaya, atau fotolisis, adalah masalah serius bagi vitamin lain, terutama riboflavin (B2), piridoksin (B6), dan vitamin A. Reaksi fotokimia ini dapat terjadi dengan sangat cepat. Oleh karena itu, semua larutan standar dan ekstrak sampel yang mengandung vitamin-vitamin ini harus selalu dilindungi dari cahaya langsung dengan

menyimpannya dalam botol berwarna gelap (amber) atau membungkus wadah dengan aluminium foil, dan analisis sebaiknya dilakukan di bawah pencahayaan yang redup.

8.2 Metode Analisis Vitamin

Sejarah analisis vitamin mencerminkan kemajuan pesat dalam ilmu biokimia dan kimia analitik. Metode-metode awal yang tersedia bagi para ilmuwan pada awal abad ke-20 sangat berbeda dari teknik instrumental canggih yang kita gunakan saat ini. Pendekatan-pendekatan awal ini secara logis berfokus pada fungsi biologis vitamin itu sendiri, karena pada saat itu struktur kimianya sering kali belum diketahui. Metode-metode ini, yang dikenal sebagai bioassay, adalah uji fungsional yang mengukur respons fisiologis dari suatu organisme hidup terhadap pemberian sampel makanan. Meskipun sekarang dianggap usang untuk analisis rutin, mereka merupakan satu-satunya cara untuk menemukan dan mengukur "faktor nutrisi tak dikenal" pada masa itu.

Bioassay klasik biasanya melibatkan pemberian makanan kepada hewan laboratorium (seperti tikus atau ayam) dengan diet yang telah dimurnikan dan secara spesifik kekurangan satu vitamin target. Hewan-hewan ini akan menunjukkan gejala defisiensi yang khas. Kelompok hewan yang berbeda kemudian diberi makan dengan dosis yang bervariasi dari sampel uji atau standar vitamin murni. Respons biologis yang diamati, seperti laju pertumbuhan, penyembuhan gejala defisiensi (misalnya, penyembuhan penyakit rakitis untuk uji vitamin D), atau waktu bertahan hidup, kemudian diukur dan diplot terhadap dosis. Dari kurva respons dosis ini, aktivitas vitamin dalam sampel uji dapat diestimasi. Meskipun bioassay secara teoritis mengukur ketersediaan hayati (*bioavailability*) dari vitamin, mereka sangat padat karya, memakan waktu (bisa berminggu-minggu atau berbulan-bulan), mahal, tidak presisi karena variasi biologis antar individu hewan, dan menimbulkan masalah etika yang serius.

Sebagai alternatif yang lebih cepat dan lebih etis dari bioassay, dikembangkanlah uji mikrobiologis. Metode ini menggantikan hewan dengan

mikroorganisme (biasanya bakteri asam laktat atau ragi) yang memiliki kebutuhan nutrisi spesifik akan vitamin tertentu untuk dapat tumbuh. Prinsipnya mirip dengan bioassay: mikroorganisme diinokulasikan ke dalam medium kultur yang mengandung semua nutrisi yang diperlukan kecuali vitamin target. Pertumbuhan mikroba kemudian akan bergantung sepenuhnya pada jumlah vitamin yang ditambahkan dari ekstrak sampel. Setelah masa inkubasi, pertumbuhan diukur secara kuantitatif, biasanya dengan mengukur kekeruhan (turbiditas) medium menggunakan spektrofotometer atau dengan menitrasi asam yang dihasilkan. Konsentrasi vitamin dalam sampel ditentukan dengan membandingkan respons pertumbuhannya dengan kurva standar yang dibuat menggunakan larutan vitamin murni. Uji mikrobiologis jauh lebih cepat, lebih murah, dan lebih presisi daripada bioassay, dan selama bertahun-tahun menjadi metode pilihan untuk banyak vitamin B-kompleks.

Seiring dengan terungkapnya struktur kimia vitamin, metode-metode kimia yang lebih langsung dapat dikembangkan. Metode ini didasarkan pada reaksi kimia spesifik yang melibatkan molekul vitamin, yang menghasilkan perubahan yang dapat diukur seperti perubahan warna (kolorimetri) atau konsumsi titran (titrimetri). Contoh yang paling klasik dan masih relevan adalah titrasi vitamin C (asam askorbat) dengan larutan pewarna redoks 2,6-diklorofenolindofenol (DCPIP). Asam askorbat adalah agen pereduksi yang kuat dan akan mereduksi DCPIP yang berwarna biru menjadi bentuk yang tidak berwarna. Titik akhir titrasi tercapai ketika semua asam askorbat telah bereaksi dan sedikit kelebihan DCPIP memberikan warna merah muda yang stabil pada larutan asam. Metode ini sangat cepat tetapi rentan terhadap interferensi dari senyawa pereduksi lain dalam sampel.

Puncak dari evolusi analisis vitamin adalah adopsi teknik kromatografi, khususnya Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC). HPLC dan varian modernnya, UHPLC (*Ultra-High Performance Liquid Chromatography*), telah menjadi standar emas untuk analisis vitamin karena kemampuannya yang luar biasa untuk memisahkan vitamin dari komponen matriks yang sangat kompleks sebelum tahap kuantifikasi. Dalam HPLC, ekstrak sampel diinjeksikan ke dalam kolom yang diisi dengan fasa diam, dan komponen-

komponennya dipisahkan saat mereka terbawa oleh fasa gerak cair. Setiap vitamin akan berinteraksi secara berbeda dengan fasa diam, menyebabkannya bergerak melalui kolom dengan kecepatan yang berbeda dan keluar (terelusi) pada waktu retensi yang khas.

Setelah terpisah, setiap vitamin melewati detektor yang mengukur konsentrasinya. Detektor yang umum digunakan termasuk detektor UV-Vis (untuk vitamin A, E, K, dan beberapa vitamin B), detektor fluoresensi (sangat sensitif untuk vitamin seperti riboflavin dan tiamin), dan yang paling canggih, spektrometer massa (MS). Kombinasi HPLC dengan spektrometri massa tandem (LC-MS/MS) memberikan tingkat spesifisitas dan sensitivitas yang tak tertandingi, mampu mengukur beberapa vitamin secara bersamaan pada tingkat yang sangat rendah, bahkan dalam matriks yang paling menantang sekalipun. Kemampuan HPLC untuk memisahkan berbagai bentuk vitamin (vitamer) yang berbeda, seperti berbagai bentuk tokoferol dalam vitamin E, menjadikannya alat yang sangat kuat dan tak tergantikan dalam analisis nutrisi modern.

Contoh Kasus:

Sebuah laboratorium pemerintah perlu memverifikasi kandungan asam folat (vitamin B9) dalam sampel tepung terigu yang telah difortifikasi. Metode analisis historis untuk folat adalah uji mikrobiologis menggunakan *Lactobacillus rhamnosus*, yang pertumbuhannya bergantung pada folat. Namun, metode ini lambat dan dapat memberikan hasil yang bervariasi. Laboratorium modern memilih untuk menggunakan metode UHPLC-MS/MS. Sampel tepung diekstraksi menggunakan buffer dan diperlakukan dengan enzim untuk melepaskan folat dari bentuk poliglutamatnya. Ekstrak yang telah dimurnikan kemudian diinjeksikan ke dalam sistem UHPLC. Asam folat dipisahkan dari komponen matriks lain pada kolom C18. Saat keluar dari kolom, ia memasuki spektrometer massa, di mana ia diionisasi dan dipecah menjadi fragmen-fragmen ion yang sangat spesifik. Dengan memantau transisi dari ion induk ke ion fragmen yang khas untuk asam folat, instrumen dapat menguantifikasi asam folat dengan sangat spesifik dan sensitif, bebas

dari interferensi, dan memberikan hasil yang dapat dipertanggungjawabkan secara hukum dalam waktu kurang dari 10 menit per sampel.

8.2.1 Bioassay dan Uji Mikrobiologis

Bioassay, atau uji biologis, adalah metode analisis kuantitatif yang menggunakan respons dari organisme hidup (hewan) untuk menentukan potensi suatu zat. Untuk analisis vitamin, ini secara historis merupakan satu-satunya cara untuk mengukur aktivitas biologisnya sebelum struktur kimianya diketahui. Prosedurnya melibatkan diet terkontrol dan pengukuran respons seperti pertumbuhan atau penyembuhan gejala defisiensi. Meskipun memberikan ukuran ketersediaan hayati yang relevan secara fisiologis, metode ini sekarang hampir sepenuhnya ditinggalkan untuk analisis rutin karena alasan etika, biaya tinggi, waktu yang sangat lama, dan variabilitas biologis yang menghasilkan presisi yang sangat buruk.

Uji mikrobiologis menawarkan peningkatan yang signifikan dibandingkan bioassay. Metode ini memanfaatkan fakta bahwa beberapa strain bakteri atau ragi memerlukan vitamin tertentu untuk pertumbuhan mereka. Sampel diekstrak untuk melepaskan vitamin, kemudian ekstrak ditambahkan ke media kultur steril yang kekurangan vitamin target. Jumlah pertumbuhan mikroba setelah inkubasi, yang diukur dengan turbiditas, sebanding dengan konsentrasi vitamin. Uji ini secara tradisional menjadi metode standar untuk folat dan vitamin B12. Meskipun lebih cepat dan lebih presisi daripada bioassay, metode ini masih padat karya, memerlukan teknik aseptik yang cermat, dan dapat dipengaruhi oleh senyawa dalam ekstrak yang dapat merangsang atau menghambat pertumbuhan mikroba, yang mengarah pada hasil yang tidak akurat.

8.2.2 Metode Kimia: Titrasi (Vitamin C) dan Kolorimetri

Metode kimia menawarkan analisis yang jauh lebih cepat daripada metode biologis. Contoh yang paling menonjol adalah analisis vitamin C (asam askorbat) melalui titrasi redoks. Metode resmi AOAC yang klasik menggunakan larutan 2,6-diklorofenolindofenol (DCPIP) sebagai titran. DCPIP adalah pewarna biru yang akan direduksi oleh asam askorbat menjadi tidak berwarna. Titik akhir titrasi, yang ditandai dengan munculnya warna merah muda dari kelebihan DCPIP, secara visual mudah dideteksi. Metode ini cepat, murah, dan cocok untuk kontrol kualitas sampel sederhana dan tidak berwarna seperti jus buah. Namun, kelemahan utamanya adalah kurangnya spesifisitas, karena zat pereduksi lain dalam sampel (seperti senyawa sulfit atau beberapa polifenol) juga dapat bereaksi dengan DCPIP.

Metode kolorimetri, yang didasarkan pada reaksi yang menghasilkan produk berwarna, telah dikembangkan untuk banyak vitamin. Misalnya, metode Carr-Price untuk vitamin A melibatkan reaksi retinol dengan antimon triklorida untuk menghasilkan kompleks biru. Namun, metode-metode ini sering kali memiliki banyak kelemahan: reagen yang digunakan bisa sangat beracun dan korosif, warna yang dihasilkan sering tidak stabil, dan yang terpenting, mereka sangat rentan terhadap interferensi dari senyawa lain dalam matriks pangan yang kompleks. Akibatnya, sebagian besar metode kolorimetri kini telah digantikan oleh metode kromatografi yang jauh lebih andal.

8.2.3 Analisis Modern dengan HPLC/UHPLC untuk Vitamin Larut Air dan Lemak

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) adalah metode pilihan yang tak terbantahkan untuk analisis vitamin modern. Keunggulannya adalah kemampuannya untuk secara fisik memisahkan vitamin target (analit) dari ribuan senyawa lain dalam ekstrak makanan sebelum kuantifikasi, sehingga memberikan spesifisitas yang luar biasa. Untuk vitamin larut lemak (A, D, E, K), prosedur umumnya melibatkan saponifikasi sampel dengan alkali untuk menghidrolisis lemak, diikuti dengan ekstraksi vitamin ke dalam pelarut

nonpolar seperti heksana. Analisis HPLC kemudian dilakukan menggunakan kolom fasa terbalik (*reversed-phase*), biasanya C18, dengan fasa gerak non-air (seperti metanol atau asetonitril) dan deteksi UV atau fluoresensi.

Analisis vitamin larut air (B-kompleks dan C) biasanya dimulai dengan ekstraksi menggunakan larutan asam atau buffer encer, sering kali dengan perlakuan enzimatis tambahan (misalnya, dengan fosfatase) untuk melepaskan vitamin dari bentuk terfosforilasinya. Karena vitamin-vitamin ini memiliki polaritas yang sangat beragam, pemisahan HPLC pada kolom fasa terbalik C18 sering kali menantang dan mungkin memerlukan penggunaan reagen pasangan ion dalam fasa gerak untuk meningkatkan retensi. Detektor *Diode Array* (DAD) sangat berguna karena dapat memonitor beberapa panjang gelombang secara bersamaan, mengakomodasi spektrum serapan yang berbeda dari berbagai vitamin B. Penggunaan UHPLC, dengan partikel kolom yang lebih kecil, secara signifikan mengurangi waktu analisis dan meningkatkan efisiensi pemisahan.

Rangkuman

1. Vitamin adalah mikronutrien organik esensial yang diklasifikasikan sebagai larut lemak (A, D, E, K) atau larut air (B-kompleks, C). Analisisnya krusial untuk pelabelan nutrisi dan fortifikasi pangan.
2. Tantangan utama dalam analisis vitamin adalah konsentrasinya yang rendah dan ketidakstabilannya. Vitamin rentan terhadap degradasi oleh panas, cahaya, oksigen, dan pH ekstrem, yang menuntut prosedur analisis yang protektif.
3. Metode historis seperti bioassay (uji pada hewan) dan uji mikrobiologis mengukur aktivitas biologis vitamin tetapi lambat, padat karya, dan memiliki presisi yang rendah.
4. Metode kimia klasik, seperti titrasi redoks vitamin C dengan DCPIP, lebih cepat tetapi sering kali kurang spesifik dan rentan terhadap interferensi dari komponen matriks pangan.

5. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) dan UHPLC adalah standar emas modern untuk analisis vitamin. Teknik ini menawarkan spesifisitas, sensitivitas, dan akurasi yang superior dengan cara memisahkan vitamin dari interferensi sebelum deteksi.
6. Vitamin larut lemak umumnya dianalisis dengan HPLC setelah saponifikasi dan ekstraksi pelarut, sementara vitamin larut air diekstraksi dengan larutan air atau buffer.
7. Detektor yang berbeda digunakan dalam HPLC untuk vitamin yang berbeda, termasuk UV-Vis, fluoresensi, dan spektrometri massa (MS), yang terakhir menawarkan tingkat sensitivitas dan spesifisitas tertinggi.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan mengapa ketidakstabilan vitamin menjadi tantangan utama dalam analisisnya. Uraikan tiga faktor utama (satu fisika, dua kimia) yang dapat menyebabkan degradasi vitamin dan berikan contoh tindakan pencegahan yang dapat diambil analisis di laboratorium untuk masing-masing faktor.
2. Bandingkan dan kontraskan prinsip dasar antara bioassay dan uji mikrobiologis untuk analisis vitamin. Mengapa kedua metode ini sebagian besar telah digantikan oleh metode instrumental modern untuk analisis rutin?
3. Uraikan prosedur titrasi untuk menentukan kandungan vitamin C dalam sampel jus jeruk menggunakan DCPIP. Sebutkan keunggulan utama dan kelemahan paling signifikan dari metode ini.
4. Jelaskan mengapa HPLC dianggap sebagai metode "standar emas" untuk analisis vitamin di laboratorium modern. Fokuskan jawaban Saudara pada konsep pemisahan dan deteksi yang memberikan keunggulan dibandingkan metode klasik.

5. Bedakan strategi preparasi sampel umum untuk analisis vitamin larut lemak (contoh: vitamin E dalam minyak kedelai) versus vitamin larut air (contoh: riboflavin dalam susu). Jelaskan mengapa langkah saponifikasi sering kali diperlukan untuk vitamin larut lemak.

Soal Pilihan Ganda

1. Vitamin yang sangat sensitif terhadap cahaya (fotolabil) dan sering memerlukan penggunaan peralatan gelas berwarna amber selama analisis adalah...
 - A. Niasin (B3)
 - B. Riboflavin (B2)
 - C. Biotin (B7)
 - D. Vitamin D
2. Saponifikasi adalah langkah preparasi sampel yang umum dilakukan sebelum analisis HPLC untuk...
 - A. Vitamin C
 - B. Vitamin B-kompleks
 - C. Vitamin larut lemak seperti Vitamin A dan E
 - D. Asam folat
3. Metode analisis vitamin yang mengukur respons pertumbuhan mikroorganisme yang membutuhkan vitamin spesifik disebut...
 - A. Bioassay
 - B. Uji Mikrobiologis
 - C. Titrasi Karl Fischer
 - D. Kromatografi Gas
4. Prinsip titrasi vitamin C dengan DCPIP didasarkan pada sifat vitamin C sebagai...
 - A. Agen pengoksidasi kuat
 - B. Agen pereduksi kuat
 - C. Asam kuat
 - D. Basa kuat

5. Detektor yang paling ideal untuk analisis simultan beberapa vitamin B-kompleks menggunakan HPLC, yang memiliki serapan UV maksimum pada panjang gelombang yang berbeda-beda, adalah...
 - A. Detektor Indeks Bias (RI)
 - B. Detektor Ionisasi Nyala (FID)
 - C. Detektor Dioda Larik (*Diode Array Detector*, DAD)
 - D. Detektor Penangkap Elektron (ECD)
6. Kelompok vitamin berikut ini yang semuanya tergolong larut dalam lemak adalah...
 - A. A, B1, C, D
 - B. A, D, E, K
 - C. B6, B12, C, E
 - D. C, D, E, K
7. Faktor yang paling mungkin menyebabkan degradasi tiamin (vitamin B1) adalah...
 - A. Kondisi asam yang kuat
 - B. Paparan cahaya UV
 - C. Pembekuan
 - D. Pemanasan dalam medium pH netral atau basa
8. Keunggulan utama HPLC dibandingkan metode kolorimetri untuk analisis vitamin adalah...
 - A. Biaya analisis yang lebih murah
 - B. Waktu analisis yang lebih cepat daripada semua metode lain
 - C. Kemampuan untuk memisahkan vitamin dari senyawa pengganggu sebelum deteksi
 - D. Tidak memerlukan standar kalibrasi
9. Metode analisis vitamin yang paling mendekati pengukuran ketersediaan hayati (*bioavailability*) adalah...
 - A. HPLC-UV
 - B. Uji mikrobiologis
 - C. Bioassay
 - D. Titrasi

10. Dalam analisis vitamin modern, kombinasi teknik yang memberikan sensitivitas dan spesifisitas tertinggi adalah...
- A. Titrasi dan Gravimetri
 - B. HPLC dengan detektor Indeks Bias
 - C. GC dengan detektor FID
 - D. UHPLC dengan detektor Spektrometri Massa Tandem (UHPLC-MS/MS)

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah perusahaan produsen sereal sarapan ingin meluncurkan produk baru yang difortifikasi dengan 5 jenis vitamin B (B1, B2, B3, B6, B9) dan menjualnya dengan klaim "sumber vitamin B kompleks yang baik". Sebagai manajer laboratorium kendali mutu, Saudara ditugaskan untuk mengembangkan metode rutin untuk memverifikasi tingkat fortifikasi dalam produk akhir.

- (1) Jelaskan mengapa metode titrasi atau kolorimetri tunggal tidak akan cocok untuk tugas ini.
- (2) Usulkan metode instrumental modern yang paling efisien untuk melakukan analisis ini secara simultan.
- (3) Uraikan secara singkat langkah-langkah utama dalam metode yang Saudara usulkan, mulai dari preparasi sampel sereal hingga kuantifikasi akhir.

Glosarium

1. **Bioassay:** Uji kuantitatif yang menggunakan respons terukur dari organisme hidup untuk menentukan potensi suatu zat, seperti vitamin.
2. **Fortifikasi:** Proses penambahan satu atau lebih mikronutrien (seperti vitamin atau mineral) ke dalam bahan pangan untuk meningkatkan nilai gizinya.
3. **Fotolabilitas:** Sifat suatu senyawa kimia yang membuatnya rentan terhadap dekomposisi atau perubahan struktur akibat paparan cahaya, terutama cahaya UV.

4. **HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*)**: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, teknik analisis instrumental yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan menguantifikasi komponen dalam suatu campuran.
5. **Saponifikasi**: Reaksi hidrolisis suatu ester (seperti lemak) menggunakan larutan basa (alkali) untuk menghasilkan alkohol dan garam dari asam karboksilat (sabun). Dalam analisis vitamin, digunakan untuk melepaskan vitamin larut lemak dari matriks lemak.
6. **Senyawa Bioaktif**: Senyawa dalam makanan (selain nutrien esensial) yang dapat memberikan efek fisiologis atau biologis pada tubuh, berpotensi memengaruhi kesehatan.
7. **Termolabilitas**: Sifat suatu senyawa kimia yang membuatnya rentan terhadap dekomposisi atau perubahan struktur akibat paparan panas.
8. **UHPLC (*Ultra-High Performance Liquid Chromatography*)**: Versi HPLC yang lebih canggih, menggunakan partikel fasa diam yang lebih kecil dan tekanan lebih tinggi untuk mencapai pemisahan yang lebih cepat dan efisien.
9. **Uji Mikrobiologis**: Metode analisis yang menggunakan pertumbuhan mikroorganisme yang bergantung pada nutrien spesifik untuk mengukur konsentrasi nutrien tersebut.
10. **Vitamer**: Salah satu dari beberapa senyawa kimia terkait yang menunjukkan aktivitas biologis dari suatu vitamin tertentu.

BAB 9: ANALISIS PIGMEN DAN ZAT WARNA

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan signifikansi pigmen alami dan zat warna sintetik terhadap kualitas dan persepsi produk pangan.
2. Mengidentifikasi kelas-kelas utama pigmen alami (klorofil, karotenoid, antosianin) dan karakteristik kimianya.
3. Menguasai prinsip-prinsip dasar ekstraksi dan kuantifikasi untuk setiap kelas utama pigmen alami.
4. Membedakan antara zat warna yang diizinkan dengan pewarna terlarang yang berbahaya bagi kesehatan.
5. Memahami prinsip kerja uji kualitatif sederhana untuk skrining pewarna sintetik terlarang.
6. Mengaplikasikan metode spektrofotometri untuk kuantifikasi zat warna sintetik.
7. Menganalisis pentingnya pengukuran stabilitas warna dalam penentuan umur simpan produk.

Pendahuluan

Warna adalah atribut sensorik pertama yang kita gunakan untuk menilai kualitas, kesegaran, dan bahkan rasa dari suatu produk hasil pertanian. Jauh sebelum kita mencium aroma atau merasakan teksturnya, mata kita telah membuat penilaian awal yang sangat kuat. Warna merah cerah pada buah stroberi secara naluriah kita asosiasikan dengan kemanisan dan kematangan, sementara warna hijau segar pada daun selada menandakan kesegarannya. Hubungan antara warna dan kualitas ini bukanlah kebetulan; ia berakar pada kimia kompleks dari molekul-molekul yang dikenal sebagai pigmen. Pigmen adalah senyawa organik yang mampu menyerap panjang gelombang tertentu dari cahaya tampak dan memantulkan sisanya, yang kemudian kita persepsikan sebagai warna.

Dalam bahan pertanian, pigmen alami tidak hanya berfungsi sebagai penarik visual. Banyak dari senyawa ini, seperti karotenoid dalam wortel atau antosianin dalam bluberi, juga merupakan senyawa bioaktif yang memiliki peran penting sebagai antioksidan atau prekursor vitamin, memberikan manfaat kesehatan yang signifikan. Namun, pigmen-pigmen alami ini memiliki satu kelemahan besar, yaitu ketidakstabilan. Mereka sangat rentan terhadap degradasi oleh panas, cahaya, oksigen, dan perubahan pH selama proses pengolahan dan penyimpanan. Hilangnya warna hijau cerah pada sayuran kalengan atau memudarnya warna merah pada selai stroberi adalah bukti nyata dari kerapuhan molekul-molekul ini.

Untuk mengatasi masalah ketidakstabilan dan untuk menciptakan produk dengan penampilan yang seragam dan menarik, industri pangan sering kali beralih ke penggunaan zat warna. Zat warna ini dapat berasal dari sumber alami yang diekstraksi dan dimurnikan, atau yang lebih umum, berasal dari sintesis kimia. Pewarna sintetik menawarkan keunggulan yang luar biasa dalam hal stabilitas, intensitas warna, dan biaya yang lebih rendah. Mereka memungkinkan produsen untuk mengembalikan warna yang hilang selama pemrosesan atau bahkan menciptakan warna-warna baru yang tidak ada di alam untuk produk-produk seperti minuman ringan, permen, dan makanan ringan.

Penggunaan zat warna ini diatur dengan sangat ketat oleh badan pengawas pangan di seluruh dunia. Setiap negara memiliki daftar zat warna yang diizinkan (*permitted dyes*) beserta batas penggunaan maksimumnya. Namun, tantangan serius muncul dari penyalahgunaan pewarna sintetik yang tidak diizinkan untuk makanan (*non-permitted dyes*), terutama pewarna tekstil seperti Metanil Yellow dan Rhodamine B. Pewarna-pewarna ini, meskipun memberikan warna yang sangat cerah dan stabil dengan harga yang sangat murah, sering kali bersifat toksik dan karsinogenik, menimbulkan ancaman serius bagi kesehatan masyarakat.

Dari perspektif analitis, dunia pigmen dan zat warna menyajikan serangkaian tantangan yang unik. Untuk pigmen alami, tantangannya adalah bagaimana mengekstraksi dan mengukur molekul-molekul yang labil ini dari matriks pangan yang kompleks tanpa menyebabkan degradasi. Prosedur analisis harus dirancang untuk melindungi mereka dari musuh-musuh alaminya: panas, cahaya, dan oksigen. Setiap kelas pigmen, dengan sifat kimianya yang berbeda, memerlukan strategi ekstraksi dan kuantifikasi yang spesifik.

Untuk zat warna sintetis, tantangan utamanya adalah identifikasi dan kuantifikasi pada konsentrasi yang sering kali sangat rendah. Analisis bertujuan untuk menjawab dua pertanyaan krusial: "zat warna apa yang ada di dalam produk ini?" (analisis kualitatif) dan "apakah jenis dan jumlahnya sesuai dengan peraturan?" (analisis kuantitatif). Kemampuan untuk mendeteksi keberadaan pewarna terlarang adalah fungsi vital dari laboratorium keamanan pangan dalam melindungi konsumen.

Bab ini akan membawa mahasiswa untuk menjelajahi kedua sisi dari spektrum warna pangan. Kita akan memulai dengan analisis pigmen alami, menyelami tiga kelompok utama yang paling bertanggung jawab atas palet warna di dunia botani: klorofil, karotenoid, dan antosianin. Kita akan mempelajari prinsip-prinsip ekstraksi selektif dan metode kuantifikasi untuk masing-masing kelompok. Selanjutnya, kita akan beralih ke dunia zat warna sintetis, membahas perbedaan antara pewarna yang aman dan yang berbahaya. Kita akan mempelajari metode-metode skrining kualitatif yang cepat untuk identifikasi awal, diikuti oleh metode kuantifikasi instrumental yang lebih presisi menggunakan spektrofotometri. Pada akhirnya, pemahaman tentang analisis warna ini akan melengkapi gambaran kita tentang bagaimana kimia analitik digunakan untuk memastikan bahwa produk pangan tidak hanya bergizi dan aman, tetapi juga menarik secara visual.

9.1 Analisis Pigmen Alami Bahan Pertanian

Analisis pigmen alami dalam bahan pertanian adalah bidang yang berfokus pada isolasi, identifikasi, dan kuantifikasi senyawa-senyawa yang secara inheren memberikan warna pada buah, sayuran, dan biji-bijian. Tujuan analisis ini beragam, mulai dari kendali mutu, di mana intensitas warna dapat menjadi indeks kematangan atau kesegaran, hingga aplikasi nutrisi, di mana banyak pigmen juga berfungsi sebagai antioksidan atau provitamin. Tantangan utama dalam analisis pigmen alami adalah sifatnya yang labil dan keberadaannya dalam campuran yang kompleks. Jarang sekali satu jenis pigmen ditemukan sendirian; biasanya, beberapa pigmen dari kelas yang sama atau bahkan kelas yang berbeda hadir bersama-sama, yang memerlukan metode pemisahan yang efektif untuk analisis yang akurat.

Langkah pertama yang universal dan paling kritis dalam analisis semua jenis pigmen adalah ekstraksi. Tujuan dari ekstraksi adalah untuk secara efisien memindahkan pigmen dari matriks sel tanaman ke dalam fase pelarut, sambil meminimalkan ekstraksi senyawa pengganggu dan mencegah degradasi pigmen itu sendiri. Pemilihan pelarut adalah kunci keberhasilan ekstraksi dan sangat bergantung pada polaritas dari pigmen target. Sebagai aturan umum, pigmen nonpolar seperti klorofil dan karotenoid diekstraksi menggunakan pelarut organik seperti aseton, heksana, atau etanol. Sebaliknya, pigmen yang sangat polar dan larut dalam air, seperti antosianin (yang merupakan glikosida), diekstraksi menggunakan pelarut polar seperti metanol atau etanol yang sedikit diasamkan untuk menstabilkan strukturnya.

Efisiensi ekstraksi juga dipengaruhi oleh preparasi sampel. Pengecilan ukuran partikel melalui penggilingan atau homogenisasi sangat penting untuk memperluas luas permukaan dan memecah dinding sel, memungkinkan pelarut untuk menembus jaringan dan melarutkan pigmen. Untuk beberapa pigmen, seperti karotenoid yang terikat dalam kompleks protein-lemak, mungkin diperlukan langkah tambahan seperti perlakuan enzimatis atau saponifikasi untuk melepaskannya sebelum ekstraksi. Selama seluruh proses ekstraksi, perlindungan terhadap cahaya, panas, dan oksigen harus menjadi

prioritas utama untuk mencegah hasil yang rendah secara artifisial akibat degradasi.

Setelah pigmen berhasil diekstraksi ke dalam larutan, langkah selanjutnya adalah kuantifikasi. Metode yang paling sederhana dan paling umum untuk kuantifikasi total pigmen dari kelas tertentu adalah spektrofotometri UV-Vis. Metode ini memanfaatkan kemampuan molekul pigmen untuk menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu di spektrum tampak. Dengan mengukur absorbansi larutan ekstrak pada panjang gelombang serapan maksimum (λ_{max}) yang karakteristik untuk kelas pigmen tersebut, konsentrasinya dapat dihitung menggunakan hukum Beer-Lambert ($A = \epsilon bc$), di mana ' ϵ ' adalah koefisien ekstingsi molar pigmen. Misalnya, total karotenoid diukur di sekitar 450 nm, sementara total klorofil diukur pada dua panjang gelombang di wilayah merah dan biru.

Meskipun spektrofotometri cepat dan mudah, metode ini memiliki keterbatasan yang signifikan. Metode ini hanya memberikan nilai "total" untuk satu kelas pigmen dan tidak dapat membedakan antara senyawa-senyawa individual dalam kelas tersebut (misalnya, antara beta-karoten dan lutein dalam kelompok karotenoid). Selain itu, akurasinya dapat terpengaruh oleh tumpang tindih spektrum jika ada lebih dari satu kelas pigmen yang diekstraksi bersama-sama, atau oleh keberadaan senyawa pengganggu lain yang juga menyerap cahaya pada panjang gelombang yang sama.

Untuk mengatasi masalah spesifisitas ini, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) telah menjadi teknik pilihan untuk analisis pigmen yang detail. HPLC menawarkan kemampuan pemisahan yang luar biasa, memungkinkan setiap senyawa pigmen individual dalam ekstrak untuk dipisahkan menjadi puncak-puncak kromatografi yang berbeda. Dengan menggunakan kolom fasa terbalik (seperti C18 atau C30 yang lebih baik untuk karotenoid) dan detektor *Diode Array* (DAD) yang dapat memindai seluruh spektrum UV-Vis untuk setiap puncak, identifikasi dan kuantifikasi dari lusinan pigmen yang berbeda dapat dicapai dalam satu kali analisis.

Pengembangan metode analisis pigmen alami tidak hanya penting untuk industri pangan, tetapi juga untuk sektor nutraceutical dan farmasi. Dengan semakin banyaknya bukti ilmiah yang mendukung manfaat kesehatan dari pigmen seperti likopen, lutein, dan antosianin, permintaan akan ekstrak pigmen murni sebagai suplemen makanan atau pewarna alami terus meningkat. Kemampuan untuk mengkarakterisasi profil pigmen secara akurat menjadi dasar untuk standardisasi produk-produk ini dan untuk memvalidasi klaim kesehatan yang terkait dengannya.

Analogi:

Menganalisis pigmen alami dalam sebuah daun bayam ibarat mencoba mengaudit sebuah perusahaan yang memiliki tiga departemen berbeda yang semuanya menggunakan mata uang kertas (klorofil, karotenoid, dan antosianin), tetapi menyimpannya dalam brankas yang terkunci rapat (sel tanaman). Tugas seorang analis pertama-tama adalah menjadi seorang "pembobol brankas" yang terampil. Ia harus menggunakan "alat" yang tepat (pelarut) untuk setiap jenis brankas. Kunci untuk brankas **klorofil** dan **karotenoid** mungkin adalah linggis nonpolar (aseton atau heksana), sementara brankas **antosianin** yang lebih rumit memerlukan kunci elektronik polar (metanol yang diasamkan). Setelah brankas terbuka (ekstraksi selesai), ia bisa menggunakan metode audit sederhana (**spektrofotometri**) dengan hanya menimbang total tumpukan uang dari setiap departemen untuk mendapatkan gambaran kasar. Namun, untuk audit yang sebenarnya, ia perlu menggunakan mesin penghitung uang canggih (**HPLC**) yang tidak hanya menghitung total, tetapi juga memisahkan dan memverifikasi setiap lembar uang berdasarkan nomor serinya (mengidentifikasi setiap jenis klorofil, karotenoid, atau antosianin secara individual).

9.1.1 Ekstraksi dan Kuantifikasi Klorofil, Antosianin, dan Karotenoid

Klorofil, pigmen hijau yang bertanggung jawab atas fotosintesis, secara kimiawi adalah turunan porfirin dengan atom magnesium di pusatnya. Dua bentuk utama yang ditemukan pada tanaman tingkat tinggi adalah klorofil a dan klorofil b, yang sedikit berbeda dalam spektrum serapannya. Karena strukturnya yang relatif polar namun memiliki ekor fitil yang panjang dan nonpolar, klorofil paling efisien diekstraksi dengan pelarut organik polar seperti aseton 80%, etanol, atau metanol. Setelah diekstraksi, konsentrasi total klorofil a dan b dapat ditentukan secara simultan menggunakan spektrofotometer dengan mengukur absorbansi pada dua panjang gelombang (sekitar 663 nm dan 645 nm) dan menggunakan persamaan matematis yang telah ditetapkan (seperti persamaan Arnon atau Lichtenthaler) untuk menyelesaikan tumpang tindih spektrum antara kedua molekul.

Antosianin adalah pigmen flavonoid yang larut dalam air yang bertanggung jawab atas sebagian besar warna merah, ungu, dan biru pada buah-buahan, bunga, dan sayuran. Strukturnya adalah glikosida, yang berarti ia memiliki inti aglikon (antosianidin) yang terikat pada satu atau lebih molekul gula, membuatnya sangat polar. Warna antosianin sangat bergantung pada pH; mereka paling stabil dan berwarna merah cerah dalam kondisi asam (sebagai kation flavylum) tetapi berubah menjadi ungu dan biru lalu tidak berwarna pada pH yang lebih tinggi. Oleh karena itu, ekstraksi selalu dilakukan menggunakan pelarut polar (metanol atau etanol) yang diasamkan dengan sedikit asam (seperti HCl 1%) untuk menjaga stabilitas dan warnanya. Metode kuantifikasi total antosianin yang paling umum adalah metode pH diferensial. Metode ini mengukur perbedaan absorbansi ekstrak pada pH 1.0 (di mana antosianin berwarna) dan pH 4.5 (di mana antosianin hampir tidak berwarna) pada panjang gelombang sekitar 520 nm. Perbedaan absorbansi ini secara langsung sebanding dengan konsentrasi antosianin monomerik.

Karotenoid adalah kelompok besar pigmen lipid yang larut dalam lemak yang bertanggung jawab atas warna kuning, oranye, dan merah pada banyak produk pertanian. Secara struktural, mereka adalah tetraterpenoid dengan sistem

ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang, yang membuat mereka sangat nonpolar dan rentan terhadap oksidasi. Ekstraksi karotenoid memerlukan pelarut nonpolar seperti heksana, petroleum eter, atau campuran pelarut. Sering kali, jika sampel juga kaya akan lemak (seperti pada minyak kelapa sawit atau telur), langkah saponifikasi (pemanasan dengan alkali) diperlukan untuk menghidrolisis lemak menjadi sabun yang larut dalam air, sehingga membebaskan karotenoid untuk diekstraksi ke dalam fase organik (Meléndez-Martínez, 2019). Kuantifikasi total karotenoid dapat dilakukan secara spektrofotometri dengan mengukur absorbansi pada λ_{max} sekitar 450 nm. Namun, karena banyaknya jenis karotenoid dengan spektrum yang tumpang tindih, HPLC dengan kolom C30 yang dirancang khusus untuk memisahkan isomer karotenoid adalah metode yang jauh lebih unggul untuk analisis profil yang akurat.

9.2 Identifikasi Pewarna Sintetik dan Stabilitas Warna

Berbeda dengan pigmen alami yang merupakan bagian integral dari bahan pangan, pewarna sintetik adalah bahan tambahan pangan (*food additives*) yang sengaja dimasukkan ke dalam produk untuk tujuan teknologi. Alasan utamanya adalah untuk memberikan, meningkatkan, atau memulihkan warna yang mungkin hilang atau berubah selama pemrosesan dan penyimpanan, serta untuk menjamin keseragaman warna antar batch produk. Pewarna sintetik yang diizinkan untuk makanan telah melalui evaluasi toksikologi yang ketat untuk memastikan keamanannya pada tingkat penggunaan yang dianjurkan. Namun, tantangan besar dalam keamanan pangan muncul dari penggunaan ilegal pewarna sintetik yang tidak diizinkan, khususnya pewarna yang ditujukan untuk industri tekstil atau cat. Pewarna-pewarna ini, seperti Rhodamine B (merah terang) dan Metanil Yellow (kuning cerah), sering disalahgunakan oleh produsen yang tidak bertanggung jawab karena warnanya yang sangat intens, stabilitasnya yang luar biasa, dan harganya yang sangat murah.

Analisis pewarna sintetik memiliki dua tujuan utama: identifikasi (analisis kualitatif) dan kuantifikasi (analisis kuantitatif). Identifikasi bertujuan untuk menjawab pertanyaan: "Pewarna apa yang ada dalam produk ini?". Ini sangat penting untuk memverifikasi bahwa hanya pewarna yang diizinkan yang digunakan dan untuk mendeteksi keberadaan pewarna terlarang. Kuantifikasi, di sisi lain, bertujuan untuk memastikan bahwa konsentrasi pewarna yang diizinkan tidak melebihi batas maksimum yang ditetapkan oleh peraturan. Kedua aspek analisis ini merupakan komponen penting dari program pengawasan keamanan pangan oleh badan regulator.

Langkah pertama dalam analisis pewarna sintetik, sama seperti pigmen alami, adalah ekstraksi. Karena sebagian besar pewarna sintetik yang diizinkan bersifat larut dalam air (sering kali dalam bentuk garam sulfonat), ekstraksi biasanya dilakukan menggunakan air atau campuran air-etanol. Namun, beberapa pewarna tekstil terlarang mungkin memiliki kelarutan yang berbeda. Salah satu teknik ekstraksi dan pemurnian klasik yang masih sangat berguna, terutama untuk skrining, adalah adsorpsi pada benang wol. Dalam suasana asam, banyak pewarna sintetik (terutama yang bersifat asam) akan teradsorpsi kuat pada serat protein wol, sementara sebagian besar komponen matriks pangan lainnya tidak. Pewarna tersebut kemudian dapat dielusi (dilepaskan) kembali dari benang wol menggunakan larutan basa encer, menghasilkan larutan pewarna yang jauh lebih pekat dan bersih.

Setelah diekstraksi, analisis kualitatif dapat dilakukan dengan berbagai teknik. Kromatografi Lapis Tipis (*Thin-Layer Chromatography*, TLC) adalah metode yang sederhana, cepat, dan murah untuk memisahkan campuran pewarna dan mengidentifikasinya secara tentatif. Ekstrak sampel ditotolkan pada pelat TLC (biasanya silika gel), yang kemudian dikembangkan dalam bejana berisi fase gerak yang sesuai. Pewarna-pewarna akan bergerak naik di sepanjang pelat dengan kecepatan yang berbeda, menghasilkan noda-noda berwarna yang terpisah. Identifikasi dilakukan dengan membandingkan warna dan nilai R_f (jarak tempuh noda dibagi jarak tempuh pelarut) dari noda sampel dengan standar pewarna yang diketahui. Untuk konfirmasi yang lebih definitif, HPLC

adalah metode pilihan, yang memberikan pemisahan dan resolusi yang jauh lebih baik.

Untuk analisis kuantitatif, spektrofotometri UV-Vis adalah metode yang paling umum digunakan. Setiap pewarna sintetik memiliki spektrum serapan yang unik dengan puncak absorptansi maksimum (λ_{max}) pada panjang gelombang yang sangat spesifik. Setelah mengidentifikasi pewarna yang ada dalam sampel (misalnya, Tartrazine), konsentrasinya dapat ditentukan dengan mengukur absorptansi larutan ekstrak pada λ_{max} Tartrazine (sekitar 427 nm) dan membandingkannya dengan kurva kalibrasi yang dibuat dari larutan standar Tartrazine dengan konsentrasi yang diketahui.

Selain identifikasi dan kuantifikasi, pengukuran stabilitas warna adalah aspek penting dalam pengembangan produk dan penentuan umur simpan. Stabilitas warna mengacu pada kemampuan suatu produk untuk mempertahankan warnanya selama periode waktu tertentu di bawah kondisi penyimpanan yang spesifik. Perubahan warna biasanya diukur secara instrumental menggunakan kolorimeter atau spektrofotometer warna. Alat-alat ini mengukur warna secara objektif dalam sistem ruang warna tiga dimensi, seperti sistem CIELAB, yang menyatakan warna dalam tiga koordinat: L^* (kecerahan/kegelapan), a^* (kemerahan/kehijauan), dan b^* (kekuningan/kebiruan). Dengan memantau perubahan nilai L^* , a^* , dan b^* dari waktu ke waktu, laju degradasi warna dapat dikuantifikasi, memungkinkan produsen untuk memprediksi umur simpan visual produk mereka.

Contoh Kasus:

Petugas pengawas pangan mencurigai sebuah produk sirup frambos yang dijual di pasar tradisional karena warnanya yang sangat terang dan tidak wajar. Sampel sirup dibawa ke laboratorium untuk dianalisis keberadaan pewarna tekstil terlarang, Rhodamine B. Sebagai uji skrining awal, analisis melakukan uji benang wol. Seutas benang wol putih direbus dalam larutan sirup yang telah diasamkan. Setelah beberapa menit, benang wol berubah menjadi warna merah fuchsia yang sangat terang dan tidak luntur saat dicuci, memberikan indikasi kuat adanya pewarna tekstil. Untuk konfirmasi, ekstrak

pewarna dari sirup dianalisis menggunakan spektrofotometer. Spektrum serapan menunjukkan puncak maksimum yang tajam pada 556 nm, yang sangat cocok dengan λ_{max} dari standar Rhodamine B. Analisis lebih lanjut dengan HPLC-DAD mengonfirmasi identitasnya secara definitif. Berdasarkan temuan ini, produk tersebut ditarik dari peredaran dan produsennya dikenai sanksi karena membahayakan kesehatan masyarakat.

9.2.1 Uji Kualitatif Pewarna Terlarang dan Pengukuran Spektrofotometri

Uji kualitatif berfungsi sebagai metode skrining cepat untuk mendeteksi kemungkinan adanya pewarna sintetik, terutama yang terlarang. Salah satu metode klasik yang paling efektif adalah uji adsorpsi-elusi benang wol. Prosedur ini mengeksploitasi afinitas tinggi pewarna asam sintetik terhadap serat protein seperti wol dalam kondisi asam. Ketika benang wol direbus dalam larutan sampel yang diasamkan, pewarna akan terikat kuat pada benang. Pencucian benang dengan air akan menghilangkan sebagian besar gula dan komponen matriks lainnya, tetapi pewarna akan tetap menempel. Selanjutnya, merebus benang yang telah diwarnai dalam larutan basa (seperti amonia encer) akan melepaskan kembali (elusi) pewarna ke dalam larutan. Proses ini tidak hanya mengidentifikasi keberadaan pewarna sintetik tetapi juga berfungsi sebagai langkah pemurnian dan pemekatan yang efektif.

Setelah identifikasi tentatif atau jika pewarna spesifik yang dicari sudah diketahui, spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk kuantifikasi. Metode ini didasarkan pada hukum Beer-Lambert, yang menyatakan bahwa absorbansi cahaya berbanding lurus dengan konsentrasi analit. Langkah pertama adalah merekam spektrum serapan penuh dari larutan ekstrak pewarna untuk menentukan panjang gelombang serapan maksimum (λ_{max}), yang merupakan titik di mana pewarna menyerap cahaya paling kuat dan memberikan sensitivitas pengukuran tertinggi. Selanjutnya, dibuat serangkaian larutan standar dari pewarna murni dengan konsentrasi yang diketahui dan absorbansinya diukur pada λ_{max} untuk membuat kurva

kalibrasi. Akhirnya, absorbansi larutan sampel diukur pada panjang gelombang yang sama, dan konsentrasinya ditentukan dengan menginterpolasi nilai absorbansinya pada kurva kalibrasi tersebut. Penting untuk memastikan bahwa pengukuran dilakukan dalam rentang linear dari kurva kalibrasi untuk mendapatkan hasil yang akurat.

Rangkuman

1. Pigmen alami (klorofil, karotenoid, antosianin) memberikan warna intrinsik pada bahan pertanian dan sering kali memiliki aktivitas biologis, namun bersifat tidak stabil.
2. Analisis pigmen alami memerlukan prosedur ekstraksi yang spesifik berdasarkan polaritasnya (aseton untuk klorofil, heksana untuk karotenoid, metanol asam untuk antosianin) dan perlindungan dari degradasi.
3. Kuantifikasi pigmen alami dapat dilakukan secara spektrofotometri untuk nilai total atau menggunakan HPLC untuk profil senyawa individual yang akurat.
4. Zat warna sintetik digunakan untuk stabilitas dan intensitas warna, namun penggunaannya diatur secara ketat; beberapa pewarna tekstil (Rhodamine B, Metanil Yellow) sering disalahgunakan dan berbahaya.
5. Analisis pewarna sintetik meliputi uji kualitatif (identifikasi) menggunakan metode skrining seperti uji benang wol atau TLC, dan uji kuantitatif (pengukuran konsentrasi) menggunakan spektrofotometri atau HPLC.
6. Spektrofotometri digunakan untuk mengukur konsentrasi pewarna dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum (λ_{max}) dan membandingkannya dengan kurva standar.
7. Stabilitas warna produk diukur secara instrumental menggunakan kolorimeter (sistem Lab*) untuk memantau perubahan warna selama penyimpanan dan menentukan umur simpan visual.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Bandingkan dan kontraskan tantangan utama dalam analisis pigmen alami versus analisis zat warna sintetik dalam bahan pangan. Fokuskan pada aspek stabilitas, konsentrasi, dan tujuan analisis.
2. Jelaskan prinsip metode pH diferensial untuk kuantifikasi total antosianin. Mengapa pengukuran absorbansi harus dilakukan pada dua nilai pH yang berbeda?
3. Saudara adalah seorang analis di laboratorium keamanan pangan dan menerima sampel kerupuk berwarna merah menyala. Uraikan langkah-langkah yang akan Saudara ambil, mulai dari uji skrining sederhana hingga metode konfirmasi instrumental, untuk menentukan apakah kerupuk tersebut mengandung pewarna terlarang Rhodamine B.
4. Jelaskan bagaimana hukum Beer-Lambert diterapkan dalam kuantifikasi pewarna sintetik (misalnya, Sunset Yellow) menggunakan spektrofotometer. Apa peran dari kurva kalibrasi dalam proses ini?
5. Mengapa HPLC sering dianggap sebagai metode yang lebih unggul dibandingkan spektrofotometri untuk analisis karotenoid dalam sampel seperti jus wortel?

Soal Pilihan Ganda

1. Pigmen alami yang bertanggung jawab atas warna hijau pada sayuran dan mengandung atom magnesium di pusat strukturnya adalah...
 - A. Karotenoid
 - B. Antosianin
 - C. Klorofil
 - D. Betalain
2. Pelarut yang paling sesuai untuk mengekstraksi antosianin dari buah beri adalah...

- A. Heksana
 - B. Air murni pada pH 7
 - C. Etanol yang diasamkan
 - D. Kloroform
3. Metode kuantifikasi total antosianin yang didasarkan pada perubahan warna akibat perubahan pH adalah...
- A. Metode HPLC
 - B. Metode pH diferensial
 - C. Metode Carr-Price
 - D. Uji benang wol
4. Pewarna sintetis terlarang yang sering disalahgunakan untuk memberikan warna merah cerah pada makanan adalah...
- A. Tartrazine
 - B. Brilliant Blue FCF
 - C. Rhodamine B
 - D. Sunset Yellow FCF
5. Uji skrining kualitatif yang memanfaatkan afinitas pewarna asam sintetis terhadap serat protein adalah...
- A. Uji Kjeldahl
 - B. Uji benang wol
 - C. Uji Luff Schoorl
 - D. Uji Biuret
6. Sistem warna CIELAB digunakan untuk...
- A. Mengukur konsentrasi pigmen secara absolut
 - B. Mengukur stabilitas warna secara objektif menggunakan koordinat L^* , a^* , dan b^*
 - C. Mengekstrak pigmen dari matriks
 - D. Mengidentifikasi struktur kimia pewarna
7. Langkah saponifikasi sering kali diperlukan sebelum ekstraksi karotenoid dari sampel yang...
- A. Memiliki kadar air tinggi
 - B. Memiliki pH sangat asam
 - C. Memiliki kadar lemak tinggi

- D. Mengandung banyak protein
8. Dalam spektrofotometri, kuantifikasi dilakukan dengan mengukur absorbansi pada...
- A. Panjang gelombang terendah yang mungkin
 - B. Panjang gelombang serapan maksimum (λ_{max})
 - C. Panjang gelombang 500 nm untuk semua pewarna
 - D. Seluruh rentang spektrum tampak
9. Metode yang dapat memisahkan dan menguantifikasi setiap jenis karotenoid (misalnya, likopen, lutein, beta-karoten) secara individual adalah...
- A. Spektrofotometri UV-Vis
 - B. Titrasi
 - C. HPLC
 - D. Kolorimetri
10. Antosianin paling stabil dan berwarna paling cerah dalam kondisi...
- A. Basa
 - B. Netral
 - C. Asam
 - D. Di bawah paparan sinar UV

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah perusahaan minuman sedang mengembangkan jus campuran baru dari wortel, jeruk, dan bayam. Tim R&D ingin menonjolkan kandungan antioksidan dari pigmen alami pada label produk. Sebagai analis utama, Saudara ditugaskan untuk mengukur tiga pigmen kunci: beta-karoten (dari wortel dan jeruk), vitamin C (dari jeruk, meskipun bukan pigmen, sering dianalisis bersamaan), dan klorofil (dari bayam). Rancanglah sebuah alur kerja analitis.

- (1) Apakah Saudara dapat menganalisis ketiga senyawa ini dengan satu prosedur ekstraksi tunggal? Jelaskan mengapa ya atau mengapa tidak.
- (2) Usulkan metode kuantifikasi spesifik untuk masing-masing dari ketiga analit tersebut.

Glosarium

1. **Antosianin:** Kelas pigmen flavonoid yang larut dalam air, bertanggung jawab atas warna merah, ungu, dan biru pada banyak tanaman.
2. **Karotenoid:** Kelas pigmen terpenoid yang larut dalam lemak, bertanggung jawab atas warna kuning, oranye, dan merah. Beberapa di antaranya adalah prekursor Vitamin A.
3. **Klorofil:** Pigmen hijau yang ditemukan di kloroplas tanaman, penting untuk fotosintesis.
4. **Kolorimeter:** Instrumen yang mengukur warna secara objektif berdasarkan tiga koordinat (misalnya, Lab*).
5. **Kromatografi Lapis Tipis (TLC):** Teknik kromatografi yang digunakan untuk memisahkan campuran, di mana fase diam adalah lapisan tipis adsorben pada plat.
6. **Lambda Maksimum (λ_{max}):** Panjang gelombang di mana suatu zat kimia menunjukkan serapan cahaya yang paling kuat.
7. **Pewarna Sintetik:** Zat warna yang diproduksi melalui sintesis kimia, digunakan sebagai bahan tambahan pangan untuk memberi atau memulihkan warna.
8. **Pigmen:** Senyawa kimia berwarna yang secara alami terdapat dalam jaringan tumbuhan atau hewan.
9. **Rhodamine B:** Pewarna sintetik berwarna merah fuchsia yang digunakan untuk industri tekstil dan cat, bersifat karsinogenik dan dilarang untuk digunakan dalam makanan.
10. **Spektrofotometri:** Metode analisis yang mengukur jumlah cahaya yang diserap oleh suatu zat kimia sebagai fungsi dari panjang gelombang.
11. **Uji Benang Wol:** Metode skrining kualitatif untuk pewarna sintetik asam berdasarkan kemampuannya untuk mewarnai benang wol secara permanen dalam kondisi asam.

BAB 10: ANALISIS BAHAN TAMBAHAN PANGAN (BTP) KIMIAWI

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan definisi, fungsi, dan regulasi Bahan Tambahan Pangan (BTP) kimiawi.
2. Mengidentifikasi jenis-jenis utama pengawet dan pemanis yang umum digunakan serta yang dilarang.
3. Memahami prinsip dasar deteksi pengawet yang diizinkan (benzoat, sorbat) dan yang dilarang (formalin, boraks).
4. Menguasai prinsip metode skrining kolorimetri untuk formalin dan boraks.
5. Menjelaskan prinsip analisis kuantitatif pemanis buatan seperti sakarin dan siklamat menggunakan HPLC.
6. Membedakan antara analisis kualitatif untuk deteksi BTP terlarang dan analisis kuantitatif untuk BTP yang diizinkan.
7. Menganalisis pentingnya analisis BTP dalam penegakan hukum dan perlindungan kesehatan konsumen.

Pendahuluan

Setiap kali kita membuka kemasan makanan olahan, kita berinteraksi dengan sebuah dunia kimia yang dirancang dengan cermat, namun sering kali tidak terlihat. Di luar komponen utama seperti karbohidrat, protein, dan lemak, terdapat sekelompok senyawa yang dikenal sebagai Bahan Tambahan Pangan (BTP). Senyawa-senyawa ini ditambahkan secara sengaja dalam jumlah kecil untuk tujuan teknologi, seperti memperpanjang umur simpan, meningkatkan rasa, menstabilkan tekstur, atau memberikan warna yang menarik. Tanpa BTP, banyak produk yang kita nikmati saat ini, mulai dari selai yang tahan berbulan-bulan hingga minuman ringan tanpa kalori, tidak akan mungkin ada dalam bentuknya yang sekarang.

BTP kimiawi, khususnya, memainkan peran yang sangat vital dalam sistem pangan modern. Pengawet seperti natrium benzoat atau kalium sorbat bekerja sebagai agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan jamur dan ragi, secara dramatis memperpanjang umur simpan produk seperti saus, kecap, dan minuman. Di sisi lain, pemanis buatan berintensitas tinggi, seperti sakarin dan siklamat, memungkinkan terciptanya produk "rendah kalori" atau "bebas gula" yang memenuhi permintaan konsumen yang sadar akan kesehatan, tanpa mengorbankan rasa manis yang diinginkan. Penggunaan BTP, dengan demikian, adalah pilar dari industri pangan yang efisien, beragam, dan terjangkau.

Penggunaan BTP merupakan sebuah pedang bermata dua. Ketika digunakan sesuai dengan peraturan dan praktik produksi yang baik (*Good Manufacturing Practices*, GMP), mereka aman dan memberikan manfaat yang signifikan. Regulasi pangan di seluruh dunia, yang dikoordinasikan oleh badan-badan seperti Codex Alimentarius dan diimplementasikan secara nasional oleh otoritas seperti Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) di Indonesia, menetapkan daftar BTP yang diizinkan, kemurnian yang disyaratkan, jenis makanan di mana mereka boleh digunakan, dan batas penggunaan maksimum yang dapat diterima (*Acceptable Daily Intake*, ADI). Batas-batas ini ditetapkan berdasarkan penelitian toksikologi yang ekstensif untuk memastikan tidak ada risiko kesehatan bagi konsumen.

Sisi gelap dari BTP muncul ketika terjadi penyalahgunaan. Hal ini dapat terjadi dalam dua bentuk. Pertama, penggunaan BTP yang diizinkan secara berlebihan, melebihi batas maksimum yang ditetapkan. Kedua, dan yang jauh lebih berbahaya, adalah penggunaan bahan kimia terlarang yang sama sekali tidak ditujukan untuk konsumsi manusia sebagai BTP. Praktik curang ini, yang sering didorong oleh keinginan untuk mendapatkan keuntungan dengan cara yang tidak etis, menimbulkan ancaman serius bagi kesehatan masyarakat. Penggunaan formalin, sebuah disinfektan dan bahan pengawet mayat, untuk mengawetkan tahu atau mi basah, atau penggunaan boraks (bleng), sebuah

bahan pembersih dan pestisida, untuk memberikan tekstur kenyal pada bakso, adalah contoh-contoh nyata dari penyalahgunaan yang membahayakan.

Di sinilah peran analisis kimia menjadi sangat krusial, berfungsi sebagai penjaga gerbang keamanan pangan. Laboratorium analisis memiliki tugas penting untuk memverifikasi kepatuhan produsen terhadap regulasi. Analisis BTP tidak hanya berfokus pada kuantifikasi senyawa yang diizinkan untuk memastikan mereka berada dalam batas aman, tetapi juga pada pengembangan metode deteksi yang sensitif dan andal untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa terlarang, bahkan pada tingkat renik. Kemampuan untuk membedakan antara yang diizinkan dan yang dilarang adalah inti dari program pengawasan pangan yang efektif.

Bab ini akan memfokuskan perhatian pada dua kategori BTP kimiawi yang paling umum dianalisis dan paling sering menjadi perhatian publik: pengawet dan pemanis. Kita akan menjelajahi metode-metode analitis yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur senyawa-senyawa ini. Untuk pengawet, kita akan membedah pendekatan untuk menganalisis pengawet yang diizinkan seperti benzoat dan sorbat, serta metode skrining cepat untuk mendeteksi kontaminan berbahaya seperti formalin dan boraks.

Selanjutnya, kita akan beralih ke dunia pemanis buatan. Kita akan mempelajari bagaimana teknik kromatografi modern, khususnya HPLC, digunakan untuk memisahkan dan mengukur berbagai jenis pemanis seperti sakarin dan siklamat, yang sering kali digunakan dalam kombinasi. Pemahaman tentang metode-metode ini akan memberikan wawasan tentang bagaimana badan regulator dan industri memastikan bahwa produk "bebas gula" tetap aman untuk dikonsumsi.

Melalui bab ini, mahasiswa akan memahami bahwa analisis BTP adalah disiplin yang dinamis yang berada di persimpangan antara kimia analitik, toksikologi, dan hukum pangan. Penguasaan teknik-teknik ini bukan hanya tentang menghasilkan angka yang akurat, tetapi juga tentang memainkan peran aktif dalam melindungi jutaan konsumen dari potensi risiko kimiawi yang tersembunyi di dalam makanan mereka.

10.1 Analisis Pengawet dan Pemanis

Analisis pengawet dan pemanis buatan merupakan komponen fundamental dari program jaminan mutu dan keamanan pangan. Kedua kelompok Bahan Tambahan Pangan (BTP) ini, meskipun memiliki fungsi yang sangat berbeda, berbagi karakteristik analitis yang sama, yaitu molekul organik kecil yang ditambahkan dalam konsentrasi relatif rendah ke dalam matriks pangan yang kompleks. Tujuan utama analisisnya adalah untuk memverifikasi identitas dan kuantitas dari senyawa-senyawa ini untuk memastikan kepatuhan terhadap peraturan yang berlaku. Analisis yang akurat dan andal sangat penting, tidak hanya untuk melindungi konsumen tetapi juga untuk memastikan persaingan yang adil di antara produsen pangan.

Pengawet kimia bekerja dengan cara menghambat atau membunuh mikroorganisme seperti ragi, jamur, dan bakteri, sehingga mencegah pembusukan dan memperpanjang umur simpan produk. Asam benzoat dan garamnya (natrium benzoat), serta asam sorbat dan garamnya (kalium sorbat), adalah dua pengawet antimikroba yang paling umum digunakan dalam makanan dan minuman asam seperti jus buah, saus salad, selai, dan minuman berkarbonasi. Efektivitas mereka sangat bergantung pada pH, di mana mereka paling aktif dalam bentuk asam yang tidak terdisosiasi pada pH rendah (di bawah 4.5). Analisis kuantitatif diperlukan untuk memastikan bahwa konsentrasi mereka cukup efektif untuk pengawetan tanpa melebihi batas legal yang ditetapkan, yang biasanya berada di kisaran beberapa ratus hingga seribu bagian per juta (ppm).

Tantangan analitis utama dalam pengawasan pengawet adalah deteksi penggunaan bahan terlarang yang berbahaya. Formalin (larutan formaldehida) dan boraks (natrium tetraborat) adalah dua contoh terkenal dari bahan kimia industri yang disalahgunakan sebagai pengawet atau peningkat tekstur dalam makanan karena efektivitas dan biayanya yang rendah. Formaldehida adalah senyawa yang sangat reaktif yang dapat berikatan silang dengan protein, membuatnya menjadi pengawet yang sangat efektif tetapi juga sangat toksik

dan bersifat karsinogenik. Boraks, saat dilarutkan dalam air, membentuk asam borat, yang memiliki sifat antiseptik ringan dan dapat membentuk kompleks dengan polisakarida, memberikan tekstur yang kenyal pada produk seperti bakso. Karena kedua senyawa ini dilarang keras untuk digunakan dalam makanan, metode analisis untuk mereka lebih berfokus pada deteksi kualitatif yang sensitif daripada kuantifikasi yang presisi.

Pemanis buatan, atau pemanis non-nutritif, adalah senyawa yang memberikan rasa manis yang intens tetapi dengan sedikit atau tanpa kalori. Mereka sangat penting dalam formulasi produk "diet", "ringan", atau "bebas gula" yang ditujukan untuk penderita diabetes atau individu yang mengontrol berat badan. Sakarin, siklamat, dan aspartam adalah beberapa pemanis buatan generasi pertama yang masih banyak digunakan di seluruh dunia. Karena intensitas manisnya bisa ratusan kali lipat dari sukrosa, mereka digunakan dalam konsentrasi yang sangat rendah. Analisis pemanis buatan penting untuk memverifikasi klaim label dan memastikan tingkat penggunaannya sesuai dengan Batas Asupan Harian yang Dapat Diterima (ADI). Tantangan analitis di sini adalah kemampuan untuk memisahkan dan mengukur beberapa jenis pemanis yang sering digunakan dalam campuran untuk mencapai profil rasa manis yang diinginkan.

Metode analisis untuk pengawet dan pemanis yang diizinkan sebagian besar telah beralih ke teknik kromatografi, terutama Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC). HPLC menawarkan keuntungan yang luar biasa karena kemampuannya untuk memisahkan senyawa target dari matriks makanan yang kompleks dan mengukurnya secara bersamaan. Misalnya, asam benzoat, asam sorbat, sakarin, dan aspartam dapat dipisahkan dan diukur dalam satu kali analisis menggunakan kolom fasa terbalik (C18) dan detektor UV, karena semuanya memiliki gugus aromatik yang menyerap cahaya UV. Ini membuat analisis menjadi sangat efisien untuk tujuan pengawasan.

Sebaliknya, untuk deteksi bahan terlarang seperti formalin dan boraks, metode skrining yang cepat, sederhana, dan murah sering kali lebih diutamakan untuk pengujian di lapangan atau di pasar. Metode ini biasanya didasarkan pada

reaksi kolorimetri, di mana penambahan reagen spesifik ke ekstrak sampel akan menghasilkan perubahan warna yang khas jika bahan terlarang tersebut ada. Tes strip atau kit uji portabel sering dikembangkan berdasarkan prinsip ini. Hasil positif dari uji skrining ini, meskipun tidak konklusif, berfungsi sebagai peringatan dini yang memerlukan konfirmasi lebih lanjut di laboratorium menggunakan metode yang lebih canggih dan definitif seperti spektrofotometri atau kromatografi.

Kombinasi antara metode kromatografi yang canggih untuk BTP yang diizinkan dan metode skrining cepat untuk bahan terlarang memberikan kerangka kerja yang komprehensif untuk pengawasan keamanan pangan. Hal ini memungkinkan regulator untuk secara efisien memantau kepatuhan industri terhadap standar yang ada sambil dengan cepat merespons ancaman kesehatan masyarakat yang muncul dari praktik ilegal. Bagi seorang analis, kemampuan untuk menguasai kedua jenis pendekatan ini sangatlah penting.

Analogi:

Menganalisis BTP dalam makanan ibarat tugas seorang polisi lalu lintas di sebuah persimpangan yang ramai. Ada beberapa jenis "kendaraan" (BTP) yang perlu diawasi. "Mobil pribadi dan truk komersial" (**pengawet dan pemanis yang diizinkan**) boleh lewat, tetapi polisi harus memastikan mereka tidak melebihi batas kecepatan atau muatan maksimum (**analisis kuantitatif dengan HPLC**). Tugasnya adalah memantau dan mencatat pelanggaran batas ini. Namun, ada jenis "kendaraan" lain yang sama sekali tidak boleh ada di jalan raya, seperti "sepeda motor di jalan tol" atau "traktor tanpa lampu di malam hari" (**formalin dan boraks**). Untuk ini, polisi tidak perlu mengukur kecepatannya; ia hanya perlu melakukan identifikasi cepat (**analisis kualitatif/skrining**) untuk mendeteksi keberadaan mereka dan segera menyingkirkannya dari jalan karena mereka menimbulkan bahaya langsung. Setiap jenis "pelanggaran" memerlukan alat dan pendekatan pengawasan yang berbeda.

10.1.1 Deteksi Benzoat, Sorbat, Formalin, dan Boraks

Analisis kuantitatif untuk pengawet yang diizinkan seperti asam benzoat dan asam sorbat paling andal dilakukan menggunakan HPLC dengan detektor UV. Prosedurnya biasanya melibatkan ekstraksi sampel dengan pelarut yang sesuai, sering kali setelah pengasaman untuk mengubah garam benzoat/sorbat menjadi bentuk asamnya yang lebih mudah diekstraksi ke dalam fase organik atau lebih baik retensinya pada kolom fasa terbalik. Pemisahan kromatografi pada kolom C18 memungkinkan kedua senyawa ini, yang sering digunakan bersama, untuk dipisahkan dari interferensi matriks dan satu sama lain. Kuantifikasi dilakukan dengan mengukur area puncak pada panjang gelombang serapan maksimumnya (sekitar 225 nm untuk benzoat dan 254 nm untuk sorbat) dan membandingkannya dengan kurva kalibrasi.

Untuk deteksi bahan terlarang, pendekatan yang berbeda digunakan. Boraks (atau asam borat) dapat dideteksi secara kualitatif menggunakan uji kolorimetri sederhana. Salah satu metode klasik adalah dengan menggunakan kertas kunyit (turmeric). Ekstrak sampel diasamkan, lalu secarik kertas kunyit dicelupkan ke dalamnya dan dikeringkan. Adanya boraks akan mengubah warna kuning dari kurkumin (pigmen dalam kunyit) menjadi warna merah-coklat. Warna ini akan berubah menjadi biru-hitam atau hijau kehitaman jika dibasahi dengan larutan amonia, memberikan konfirmasi lebih lanjut. Meskipun sederhana, uji ini cukup sensitif untuk skrining awal.

Formalin (formaldehida) juga dapat dideteksi dengan berbagai pereaksi kolorimetri. Reagen yang umum digunakan adalah asam kromotropat atau pereaksi Schiff. Dalam uji asam kromotropat, penambahan pereaksi ke dalam ekstrak sampel yang mengandung formaldehida dengan adanya asam sulfat pekat akan menghasilkan warna ungu atau violet yang khas. Intensitas warna dapat digunakan untuk estimasi semi-kuantitatif. Metode-metode skrining ini sangat berguna untuk pengawasan cepat di pasar atau unit produksi skala kecil karena tidak memerlukan peralatan canggih, memberikan hasil visual yang mudah diinterpretasikan untuk tindakan segera.

10.1.2 Analisis Pemanis Buatan (Sakarin dan Siklambat)

Sakarin dan siklambat adalah dua pemanis buatan non-kalori yang telah digunakan secara luas selama bertahun-tahun. Karena mereka sering digunakan dalam kombinasi untuk memberikan profil rasa manis yang lebih mirip sukrosa dan untuk menutupi sisa rasa pahit (*aftertaste*) dari sakarin, metode analisis harus mampu memisahkan dan mengukur keduanya secara individual. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) adalah teknik yang paling cocok untuk tujuan ini. Sampel minuman biasanya hanya memerlukan penyaringan dan pengenceran sebelum diinjeksikan, sementara sampel padat mungkin memerlukan ekstraksi dengan air hangat atau campuran air-alkohol.

Pemisahan kromatografi paling sering dilakukan menggunakan kolom fasa terbalik C18 dengan fasa gerak berupa buffer fosfat atau asetat yang diasamkan, sering kali dicampur dengan pelarut organik seperti metanol atau asetonitril. Kondisi asam memastikan bahwa kedua pemanis berada dalam bentuk molekulnya yang tidak terionisasi, sehingga meningkatkan retensinya di kolom. Sakarin, yang memiliki cincin aromatik, dapat dideteksi dengan sensitivitas tinggi menggunakan detektor UV pada panjang gelombang sekitar 220-230 nm. Siklambat, di sisi lain, tidak memiliki kromofor yang kuat dan tidak menyerap sinar UV secara signifikan. Oleh karena itu, untuk analisis siklambat atau analisis simultan keduanya, sering digunakan detektor lain seperti detektor indeks bias (RI) atau detektor spektrometri massa (LC-MS). Kuantifikasi dilakukan seperti biasa dengan menggunakan kurva kalibrasi yang dibuat dari standar murni masing-masing pemanis.

Rangkuman

1. Bahan Tambahan Pangan (BTP) kimiawi adalah senyawa yang sengaja ditambahkan ke makanan untuk tujuan teknologi, seperti pengawetan (pengawet) atau pemberian rasa manis tanpa kalori (pemanis buatan).

2. Penggunaan BTP diatur secara ketat, dengan daftar senyawa yang diizinkan dan batas penggunaan maksimum untuk melindungi kesehatan konsumen.
3. Analisis BTP bertujuan untuk mengkuantifikasi BTP yang diizinkan dan untuk mendeteksi keberadaan bahan kimia terlarang yang berbahaya seperti formalin dan boraks.
4. Pengawet yang diizinkan seperti benzoat dan sorbat dianalisis secara kuantitatif menggunakan HPLC dengan detektor UV.
5. Deteksi bahan terlarang seperti formalin dan boraks sering kali dimulai dengan uji skrining kualitatif berbasis reaksi warna yang cepat dan sederhana (misalnya, uji kertas kunyit untuk boraks).
6. Pemanis buatan seperti sakarin dan siklamat juga dianalisis secara andal menggunakan HPLC, yang mampu memisahkan dan mengukur beberapa jenis pemanis dalam satu kali proses analisis.
7. Analisis BTP merupakan pilar penting dalam sistem pengawasan keamanan pangan untuk memastikan produsen mematuhi peraturan dan melindungi masyarakat dari risiko kesehatan.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan mengapa analisis BTP kimiawi dapat dianggap memiliki dua tujuan yang berbeda: kuantifikasi dan deteksi. Kaitkan kedua tujuan ini dengan jenis BTP yang dianalisis (yang diizinkan vs. yang dilarang).
2. Uraikan prinsip dasar di balik uji skrining kolorimetri untuk mendeteksi boraks menggunakan kertas kunyit. Mengapa metode seperti ini lebih cocok untuk pengawasan di lapangan dibandingkan metode HPLC?
3. Sebuah perusahaan minuman memproduksi versi "biasa" dan "diet" dari produk limun mereka. Jelaskan jenis BTP apa (dari yang dibahas di bab ini) yang kemungkinan besar akan Saudara temukan di masing-

masing produk dan metode analisis apa yang akan Saudara gunakan untuk memverifikasi komposisinya.

4. Mengapa HPLC dengan detektor UV merupakan metode yang sangat efektif untuk analisis simultan asam benzoat dan asam sorbat dalam sampel saus tomat?
5. Diskusikan bahaya kesehatan yang terkait dengan penyalahgunaan formalin dan boraks dalam produk makanan. Mengapa bahan-bahan ini, meskipun berbahaya, kadang-kadang masih digunakan oleh produsen yang tidak bertanggung jawab?

Soal Pilihan Ganda

1. Bahan kimia yang dilarang keras sebagai BTP tetapi kadang disalahgunakan untuk mengawetkan tahu atau mi basah adalah...
 - A. Asam sorbat
 - B. Natrium benzoat
 - C. Formalin
 - D. Sakarin
2. Metode analisis yang paling andal untuk kuantifikasi simultan beberapa jenis pemanis buatan adalah...
 - A. Titrasi
 - B. Spektrofotometri UV-Vis tanpa pemisahan
 - C. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC)
 - D. Uji benang wol
3. Uji kualitatif menggunakan kertas kunyit yang berubah warna menjadi merah-coklat digunakan untuk mendeteksi keberadaan...
 - A. Formalin
 - B. Siklamat
 - C. Boraks
 - D. Benzoat
4. Asam benzoat dan asam sorbat paling efektif berfungsi sebagai pengawet pada kondisi...
 - A. pH basa ($\text{pH} > 7$)

- B. pH netral ($\text{pH} = 7$)
 - C. pH asam ($\text{pH} < 7$)
 - D. Suhu tinggi
5. Tujuan utama analisis kuantitatif pemanis buatan yang diizinkan adalah untuk...
- A. Memastikan produk terasa cukup manis
 - B. Memverifikasi bahwa konsentrasinya tidak melebihi batas legal
 - C. Mendeteksi adanya pemanis alami
 - D. Menghitung total kalori produk
6. Pereaksi yang umum digunakan untuk uji skrining kolorimetri formaldehida adalah...
- A. Asam kromatrat
 - B. 2,6-diklorofenolindofenol (DCPIP)
 - C. Pereaksi Luff Schoorl
 - D. Larutan amonia
7. Senyawa yang digunakan untuk memberikan tekstur kenyal pada bakso secara ilegal adalah...
- A. Sakarin
 - B. Formalin
 - C. Boraks (bleng)
 - D. Kalium sorbat
8. Dalam analisis pengawet dengan HPLC, detektor yang paling umum digunakan adalah...
- A. Detektor Indeks Bias (RI)
 - B. Detektor Ultraviolet (UV)
 - C. Detektor Konduktivitas
 - D. Detektor Ionisasi Nyala (FID)
9. Sakarin dan siklamat termasuk dalam kategori BTP sebagai...
- A. Pengawet
 - B. Pewarna
 - C. Pemanis buatan
 - D. Pengemulsi

10. Badan di Indonesia yang bertanggung jawab mengatur penggunaan dan mengawasi BTP adalah...
- A. Kementerian Pertanian
 - B. Badan Standardisasi Nasional (BSN)
 - C. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
 - D. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM)

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Tim inspeksi pangan dari dinas kesehatan setempat mengambil sampel acak beberapa produk jajanan pasar, termasuk bakso, mi kuning, dan sirup berwarna-warni. Ada kekhawatiran mengenai penggunaan bahan kimia terlarang untuk menekan biaya produksi. Saudara adalah kepala laboratorium yang menerima sampel-sampel ini.

Rancanglah sebuah rencana kerja analitis sederhana. Untuk masing-masing produk (bakso, mi kuning, sirup), sebutkan satu BTP terlarang yang paling mungkin menjadi target analisis Anda, dan jelaskan metode skrining kualitatif cepat yang akan Saudara gunakan untuk mendapatkan hasil awal.

Glosarium

1. **Bahan Tambahan Pangan (BTP):** Bahan yang ditambahkan dengan sengaja ke dalam makanan dalam jumlah kecil untuk memengaruhi sifat atau karakteristik makanan tersebut.
2. **Benzoat (Asam Benzoat/Natrium Benzoat):** Pengawet antimikroba yang diizinkan, efektif dalam kondisi asam untuk menghambat pertumbuhan ragi dan jamur.
3. **Boraks:** Senyawa kimia (natrium tetraborat) yang dilarang penggunaannya dalam makanan, tetapi disalahgunakan untuk meningkatkan kekenyalan dan sebagai pengawet.
4. **Formalin:** Larutan formaldehida dalam air, merupakan disinfektan kuat dan karsinogenik yang dilarang penggunaannya dalam makanan tetapi disalahgunakan sebagai pengawet.

5. **Pengawet:** BTP yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan mikroba perusak, sehingga memperpanjang umur simpan produk.
6. **Pemanis Buatan (Non-nutritif):** BTP yang memberikan rasa manis dengan intensitas tinggi tetapi mengandung sedikit atau tanpa kalori.
7. **Sakarín:** Salah satu pemanis buatan tertua, ratusan kali lebih manis dari sukrosa.
8. **Siklamat:** Pemanis buatan yang sering digunakan dalam kombinasi dengan pemanis lain.
9. **Sorbat (Asam Sorbat/Kalium Sorbat):** Pengawet antimikroba yang diizinkan, efektif dalam kondisi asam terutama untuk menghambat pertumbuhan jamur.
10. **Uji Kualitatif:** Analisis yang bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan atau ketiadaan suatu zat, tanpa mengukur jumlahnya.
11. **Uji Kuantitatif:** Analisis yang bertujuan untuk menentukan jumlah atau konsentrasi suatu zat secara spesifik.

BAB 11: INSTRUMENTASI MODERN DALAM ANALISIS KIMIA PERTANIAN

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan prinsip dasar spektrofotometri UV-Vis dan hubungannya dengan struktur molekul.
2. Mengaplikasikan Hukum Beer-Lambert untuk analisis kuantitatif.
3. Membedakan prinsip pemisahan antara kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dan kromatografi gas (GC).
4. Mengidentifikasi komponen-komponen utama dalam sistem HPLC dan GC serta fungsinya.
5. Menjelaskan konsep analisis non-destruktif dan keunggulannya.
6. Memahami prinsip dasar di balik spektroskopi inframerah (NIR dan FTIR).
7. Mengenali peran penting instrumentasi modern dalam meningkatkan kecepatan, akurasi, dan efisiensi analisis kimia pangan.

Pendahuluan

Laboratorium analisis kimia modern dapat diibaratkan sebagai sebuah ruang investigasi forensik untuk bahan pangan. Di dalamnya, para analis berperan sebagai detektif yang bertug mengungkap rahasia-rahasia molekuler yang tersembunyi di dalam matriks pangan yang kompleks. Untuk dapat melakukan investigasi ini, mereka memerlukan serangkaian peralatan canggih yang berfungsi sebagai "alat bukti" utama. Instrumen-instrumen analitis inilah yang mengubah sifat-sifat fisika dan kimia yang tidak kasat mata dari molekul menjadi sinyal-sinyal yang terukur dan dapat diinterpretasikan. Bab-bab sebelumnya telah memperkenalkan berbagai metode analisis, dan banyak di antaranya sangat bergantung pada teknologi instrumental yang akan kita bahas di sini.

Pergeseran dari metode kimia basah klasik ke analisis berbasis instrumen telah merevolusi bidang analisis kimia hasil pertanian. Jika metode klasik sering kali bergantung pada perubahan warna yang diamati secara visual atau titik akhir titrasi yang subjektif, instrumentasi modern menyediakan pengukuran yang objektif, kuantitatif, dan sering kali ribuan kali lebih sensitif. Kemajuan ini memungkinkan kita untuk tidak hanya mengukur komponen utama dalam persen, tetapi juga mendeteksi kontaminan atau mikronutrien pada tingkat bagian per miliar (ppb) atau lebih rendah. Kemampuan ini secara fundamental telah mengubah standar kualitas dan keamanan pangan.

Instrumen analitis pada dasarnya merupakan perpanjangan dari indra manusia yang telah disempurnakan. Spektrofotometer, misalnya, dapat "melihat" warna dengan presisi yang jauh melampaui mata manusia, bahkan hingga ke wilayah ultraviolet dan inframerah yang tidak dapat kita lihat. Kromatograf, di sisi lain, berfungsi seperti sistem "penyortiran" molekuler yang sangat efisien, mampu memisahkan ribuan senyawa berbeda dari ekstrak yang paling rumit sekalipun, sebuah tugas yang mustahil dilakukan dengan metode pemisahan manual. Penguasaan prinsip kerja di balik instrumen-instrumen ini bukan lagi sebuah pilihan, melainkan sebuah keharusan bagi setiap analis kimia modern.

Memahami cara kerja sebuah instrumen lebih dari sekadar mengetahui tombol mana yang harus ditekan. Pemahaman ini melibatkan penguasaan konsep-konsep fisika dan kimia yang mendasarinya, mulai dari bagaimana cahaya berinteraksi dengan materi hingga bagaimana molekul didistribusikan di antara dua fasa yang berbeda. Pengetahuan ini memungkinkan seorang analis untuk tidak hanya mengoperasikan instrumen, tetapi juga untuk melakukan pemecahan masalah (*troubleshooting*) ketika hasil yang tidak diharapkan muncul, untuk mengoptimalkan metode agar sesuai dengan sampel yang menantang, dan untuk menginterpretasikan data dengan pemahaman yang benar tentang keterbatasan dan asumsi dari teknik yang digunakan.

Bab ini akan berfungsi sebagai pengantar ke beberapa teknik instrumental yang paling fundamental dan paling banyak digunakan di laboratorium analisis hasil pertanian. Kita tidak akan menyelami detail teknis dari setiap komponen, melainkan berfokus pada pemahaman konseptual tentang "bagaimana" dan "mengapa" instrumen-instrumen ini bekerja. Kita akan memulai dengan spektrofotometri UV-Vis, salah satu teknik instrumental yang paling dasar dan serbaguna, yang didasarkan pada interaksi sederhana antara cahaya dan molekul terlarut. Hukum Beer-Lambert, yang menjadi landasan matematis dari teknik ini, akan dibahas secara mendalam.

Selanjutnya, kita akan memasuki dunia teknik pemisahan yang sangat kuat, yaitu kromatografi. Kita akan membedah dua pilar utama dalam bidang ini: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC), yang merupakan alat pilihan untuk molekul non-volatil dan labil, serta Kromatografi Gas (GC), yang unggul dalam menganalisis senyawa-senyawa yang mudah menguap. Pemahaman mengenai komponen-komponen kunci dari kedua sistem ini akan memberikan wawasan tentang bagaimana pemisahan yang luar biasa dapat dicapai.

Bagian akhir dari bab ini akan memperkenalkan sebuah paradigma yang semakin penting dalam industri pangan, yaitu analisis non-destruktif. Teknik-teknik seperti spektroskopi inframerah dekat (*Near-Infrared*, NIR) dan inframerah transformasi Fourier (*Fourier-Transform Infrared*, FTIR) memungkinkan analisis komposisi yang sangat cepat tanpa perlu merusak atau bahkan menyentuh sampel. Kita akan mengeksplorasi bagaimana teknik-teknik ini, yang dikombinasikan dengan pemodelan matematika, merevolusi kendali mutu di lini produksi.

Melalui penjelajahan ini, mahasiswa akan melihat bagaimana prinsip-prinsip dasar fisika dan kimia diwujudkan dalam bentuk perangkat keras yang canggih untuk memecahkan masalah-masalah analitis yang nyata. Penguasaan konsep-konsep dalam bab ini akan memberikan fondasi yang kuat untuk memahami aplikasi-aplikasi spesifik yang telah dan akan dibahas di seluruh buku ajar ini, mengubah "kotak hitam" misterius di sudut laboratorium menjadi alat yang dapat dipahami dan dikendalikan.

11.1 Spektrofotometri UV-Vis dan Hukum Beer-Lambert

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu teknik analisis kuantitatif yang paling fundamental, serbaguna, dan paling banyak diakses di hampir semua laboratorium kimia. Teknik ini didasarkan pada pengukuran interaksi antara radiasi elektromagnetik di daerah ultraviolet (UV, sekitar 190-400 nm) dan cahaya tampak (*Visible*, sekitar 400-800 nm) dengan molekul-molekul dalam suatu larutan. Prinsip kerjanya terletak pada fakta bahwa banyak molekul, terutama yang memiliki sistem ikatan rangkap terkonjugasi atau elektron non-ikatan, dapat menyerap energi cahaya pada panjang gelombang yang spesifik. Penyerapan energi ini menyebabkan elektron-elektron dalam molekul tersebut tereksitasi dari keadaan energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi.

Setiap jenis molekul memiliki struktur elektronik yang unik, yang menentukan secara pasti panjang gelombang cahaya mana yang dapat diserapnya. Hubungan antara struktur molekul dan penyerapan cahaya inilah yang memberikan dua kegunaan utama pada spektrofotometri. Pertama, untuk analisis kualitatif, di mana pola penyerapan cahaya sebagai fungsi dari panjang gelombang (disebut spektrum serapan) dapat berfungsi sebagai "sidik jari" untuk membantu mengidentifikasi suatu senyawa. Puncak pada spektrum serapan, yang dikenal sebagai lambda maksimum (λ_{max}), adalah karakteristik untuk senyawa tersebut dan sering digunakan untuk identifikasi tentatif.

Namun, aplikasi yang jauh lebih umum dalam analisis hasil pertanian adalah untuk analisis kuantitatif. Di sinilah Hukum Beer-Lambert (atau sering disebut Hukum Beer) menjadi landasan matematis yang sangat penting. Hukum ini menyatakan bahwa pada kondisi tertentu, jumlah cahaya yang diserap oleh suatu larutan pada panjang gelombang tertentu berbanding lurus secara linear dengan konsentrasi spesies penyerap (analit) dalam larutan tersebut. Hubungan linear inilah yang memungkinkan kita untuk mengubah pengukuran absorbansi, sebuah properti optik, menjadi informasi konsentrasi, yang merupakan tujuan akhir dari analisis kuantitatif.

Hukum Beer-Lambert secara matematis diekspresikan sebagai $A = \epsilon bc$, di mana 'A' adalah absorbansi (sebuah nilai tanpa satuan), ' ϵ ' (epsilon) adalah koefisien ekstingsi molar atau absorptivitas molar (sebuah konstanta yang khas untuk setiap senyawa pada panjang gelombang tertentu, dalam satuan $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), 'b' adalah panjang jalur yang dilewati cahaya melalui larutan, yang biasanya merupakan lebar kuvet dan distandarisasi pada 1 cm, dan 'c' adalah konsentrasi molar dari analit (mol L^{-1}). Karena ϵ dan b biasanya konstan untuk suatu analisis tertentu, hukum ini menyiratkan hubungan langsung dan linear antara A dan c: $A \propto c$.

Dalam praktiknya, penggunaan hukum ini untuk kuantifikasi melibatkan pembuatan kurva kalibrasi. Serangkaian larutan standar dari analit murni dengan konsentrasi yang diketahui secara akurat disiapkan. Absorbansi dari masing-masing larutan standar ini kemudian diukur pada panjang gelombang serapan maksimum (λ_{max}). λ_{max} dipilih sebagai panjang gelombang kerja karena pada titik ini, metode analisis mencapai sensitivitas tertinggi dan penyimpangan kecil dari panjang gelombang (akibat ketidakstabilan instrumen) akan menyebabkan kesalahan yang minimal.

Setelah data absorbansi diperoleh, sebuah grafik yang memplotkan absorbansi (sumbu y) terhadap konsentrasi (sumbu x) dibuat. Menurut Hukum Beer, plot ini seharusnya menghasilkan sebuah garis lurus yang melewati titik nol. Garis lurus terbaik kemudian disesuaikan dengan titik-titik data ini menggunakan metode regresi linear. Persamaan garis ($y = mx + c$) dan koefisien determinasi (R^2) yang dihasilkan dari regresi ini menjadi dasar untuk analisis sampel yang tidak diketahui. Absorbansi dari sampel yang tidak diketahui kemudian diukur di bawah kondisi yang sama persis, dan konsentrasinya dihitung dengan menginterpolasi nilai absorbansinya ke dalam persamaan kurva kalibrasi tersebut.

Penting untuk memahami bahwa Hukum Beer-Lambert memiliki beberapa keterbatasan. Hubungan linear antara absorbansi dan konsentrasi umumnya hanya berlaku untuk larutan yang relatif encer (biasanya dengan absorbansi di bawah 1.0 hingga 1.5). Pada konsentrasi yang lebih tinggi, interaksi antar

molekul analit dapat mengubah kemampuan mereka untuk menyerap cahaya, menyebabkan penyimpangan negatif dari linearitas. Penyimpangan juga dapat terjadi karena alasan-alasan instrumental (misalnya, cahaya yang tidak benar-benar monokromatik) atau alasan kimia (misalnya, analit mengalami reaksi asosiasi, disosiasi, atau bereaksi dengan pelarut). Oleh karena itu, memvalidasi rentang linear dari suatu metode adalah langkah krusial dalam pengembangan metode spektrofotometri.

Aplikasi spektrofotometri UV-Vis dalam analisis hasil pertanian sangatlah luas, mencakup penentuan konsentrasi pigmen (seperti yang dibahas di Bab 9), vitamin, senyawa fenolik, serta berbagai uji kolorimetri di mana analit yang tidak berwarna direaksikan terlebih dahulu dengan reagen untuk menghasilkan produk berwarna yang dapat diukur (misalnya, metode DNS untuk gula pereduksi). Kesederhanaan, kecepatan, dan biayanya yang relatif rendah menjadikan spektrofotometer sebagai salah satu instrumen yang paling sering digunakan dan paling berharga di laboratorium analisis.

Analogi:

Memahami Hukum Beer-Lambert dapat diibaratkan seperti mencoba menebak seberapa manis segelas es teh dengan melihat warnanya. **Konsentrasi gula** (yang dalam hal ini kita asumsikan membuat teh lebih gelap) adalah **konsentrasi analit (c)**. **Warna gelap** yang kita amati adalah **absorbansi (A)**. Hukum Beer-Lambert adalah pernyataan akal sehat bahwa "semakin banyak gula yang Saudara tambahkan, semakin gelap warna tehnya". Hubungan ini bersifat linear. Jika menambahkan satu sendok gula membuat teh sedikit gelap, menambahkan dua sendok akan membuatnya dua kali lebih gelap. **Koefisien ekstingsi molar (ϵ)** adalah sifat intrinsik dari teh itu sendiri, yang menentukan seberapa gelap teh akan menjadi untuk setiap sendok gula yang ditambahkan. Teh pekat akan memiliki ϵ yang tinggi, sedangkan teh encer akan memiliki ϵ yang rendah. **Panjang jalur (b)** adalah ketebalan gelas; mengamati teh melalui gelas yang lebih tebal akan membuatnya tampak lebih gelap daripada melalui gelas yang lebih tipis, bahkan jika konsentrasinya sama. Dengan membuat serangkaian gelas teh

dengan jumlah gula yang diketahui (kurva kalibrasi) dan membandingkan warna gelas teh misteri kita dengan seri tersebut, kita dapat secara akurat menentukan berapa banyak gula yang ada di dalamnya.

11.1.1 Prinsip Dasar Interaksi Cahaya dan Materi

Interaksi antara radiasi elektromagnetik (cahaya) dan materi adalah dasar dari semua teknik spektroskopi. Ketika foton cahaya mengenai sebuah molekul, energi dari foton tersebut dapat diserap jika dan hanya jika energi tersebut persis sama dengan selisih energi antara dua tingkat kuantum yang diizinkan di dalam molekul. Penyerapan radiasi di daerah UV-Vis (energi tinggi) menyebabkan transisi elektron valensi dari orbital keadaan dasar (*ground state*) ke orbital tereksitasi (*excited state*) dengan energi yang lebih tinggi.

Jenis-jenis elektron yang paling sering terlibat dalam transisi ini adalah elektron non-ikatan (n) dan elektron dalam ikatan pi (π). Molekul yang memiliki sistem ikatan rangkap terkonjugasi (ikatan tunggal dan rangkap yang berselang-seling), seperti beta-karoten, atau cincin aromatik, seperti pada asam amino triptofan, memiliki orbital π yang terdelokalisasi. Hal ini menyebabkan selisih energi antara keadaan dasar dan tereksitasi menjadi lebih kecil, sehingga mereka dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang yang lebih panjang, sering kali di daerah tampak, yang membuat mereka tampak berwarna. Inilah sebabnya mengapa spektrofotometri UV-Vis sangat berguna untuk analisis senyawa-senyawa organik tak jenuh dan aromatik.

11.1.2 Komponen Instrumen Spektrofotometer UV-Vis

Sebuah spektrofotometer UV-Vis, meskipun tampak kompleks, terdiri dari empat komponen dasar yang bekerja secara berurutan. Komponen pertama adalah **sumber radiasi**, yang menyediakan spektrum cahaya kontinu di seluruh rentang UV dan tampak. Biasanya, digunakan dua lampu: lampu deuterium untuk daerah UV (190-400 nm) dan lampu tungsten-halogen untuk daerah tampak (400-800 nm). Komponen kedua adalah **monokromator**, yang

berfungsi untuk memisahkan cahaya polikromatik dari sumber menjadi pita panjang gelombang yang sangat sempit (cahaya monokromatik). Ini biasanya dicapai menggunakan prisma atau, lebih umum, kisi difraksi (*diffraction grating*).

Komponen ketiga adalah **wadah sampel (kuvet)**, yang menampung larutan yang akan dianalisis. Kuvet harus terbuat dari bahan yang transparan pada panjang gelombang kerja; kuarsa atau silika lebur digunakan untuk pengukuran UV, sedangkan kaca atau plastik dapat digunakan untuk daerah tampak. Komponen terakhir adalah **detektor**, yang mengubah energi cahaya yang ditransmisikan (yang tidak diserap oleh sampel) menjadi sinyal listrik. Detektor yang paling umum adalah tabung fotomultiplier (*photomultiplier tube*, PMT) atau detektor *photodiode array* (PDA), yang terakhir memungkinkan pengukuran semua panjang gelombang secara simultan. Mikroprosesor instrumen kemudian menghitung absorbansi dengan membandingkan intensitas cahaya yang melewati sampel dengan intensitas cahaya yang melewati larutan blanko (pelarut murni).

11.1.3 Aplikasi dan Keterbatasan Hukum Beer-Lambert

Hukum Beer-Lambert adalah tulang punggung dari analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri. Aplikasinya sangat luas, mulai dari menentukan konsentrasi protein menggunakan uji kolorimetri (seperti BCA), mengukur kadar kafein dalam minuman, hingga memantau laju reaksi enzimatik dengan mengikuti perubahan absorbansi substrat atau produk dari waktu ke waktu. Kunci keberhasilan aplikasinya adalah pembuatan kurva kalibrasi yang cermat menggunakan standar yang andal dan memastikan bahwa absorbansi sampel yang tidak diketahui berada dalam rentang linear kurva tersebut.

Namun, analisis harus selalu waspada terhadap potensi penyimpangan dari Hukum Beer. Penyimpangan nyata terjadi pada tingkat fundamental pada konsentrasi tinggi, di mana jarak antar molekul penyerap menjadi begitu kecil sehingga mereka mulai berinteraksi dan memengaruhi distribusi muatan satu

sama lain, yang mengubah kemampuan mereka menyerap cahaya. Penyimpangan instrumental dapat terjadi jika radiasi yang digunakan tidak benar-benar monokromatik (cahaya sesat atau *stray light*) atau jika ada hamburan cahaya oleh partikel tersuspensi dalam larutan (kekeruhan). Penyimpangan kimia terjadi jika analit mengalami reaksi seperti disosiasi, asosiasi, atau reaksi dengan pelarut yang bergantung pada konsentrasi, yang berarti ada lebih dari satu spesies kimia dalam kesetimbangan di dalam larutan. Mengidentifikasi dan meminimalkan sumber-sumber penyimpangan ini sangat penting untuk analisis kuantitatif yang akurat.

11.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) dan Kromatografi Gas (GC)

Kromatografi adalah teknik pemisahan yang paling kuat dan paling banyak digunakan dalam kimia analitik modern. Berbeda dengan spektrofotometri yang mengukur sifat campuran, kromatografi dirancang untuk membongkar campuran yang paling kompleks sekalipun menjadi komponen-komponen individualnya sebelum dianalisis. Prinsip dasar di balik semua bentuk kromatografi adalah partisi atau distribusi diferensial dari komponen-komponen sampel (analit) antara dua fasa yang tidak dapat bercampur: fasa diam (*stationary phase*) dan fasa gerak (*mobile phase*). Fasa diam bersifat stasioner (misalnya, partikel padat yang dikemas dalam sebuah kolom), sementara fasa gerak (cairan atau gas) terus mengalir melaluinya, membawa serta komponen-komponen sampel.

Pemisahan terjadi karena setiap analit dalam campuran berinteraksi dengan fasa diam dengan kekuatan yang berbeda-beda, tergantung pada sifat fisika dan kimianya seperti polaritas, kelarutan, atau ukuran molekul. Analit yang berinteraksi kuat dengan fasa diam akan tertahan lebih lama, sehingga bergerak lebih lambat melalui sistem. Sebaliknya, analit yang berinteraksi lemah dengan fasa diam (dan lebih menyukai fasa gerak) akan bergerak lebih cepat. Perbedaan kecepatan pergerakan inilah yang menyebabkan komponen-komponen dalam campuran terpisah menjadi pita-pita atau zona-zona yang

berbeda seiring berjalannya waktu. Pada akhir proses, komponen-komponen yang terpisah ini akan keluar dari sistem satu per satu dan dideteksi, menghasilkan sebuah plot yang disebut kromatogram.

Dua teknik kromatografi yang paling dominan di laboratorium analisis hasil pertanian adalah Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (*High-Performance Liquid Chromatography*, HPLC) dan Kromatografi Gas (*Gas Chromatography*, GC). Perbedaan utama antara keduanya terletak pada sifat fasa geraknya. Sesuai namanya, HPLC menggunakan fasa gerak berupa cairan bertekanan tinggi, sementara GC menggunakan fasa gerak berupa gas inert. Pilihan antara HPLC dan GC hampir sepenuhnya ditentukan oleh sifat analit yang akan dipisahkan, khususnya volatilitas (kemampuan untuk menguap) dan stabilitas termalnya (ketahanan terhadap panas).

Kromatografi Gas (GC) adalah teknik pilihan untuk analisis senyawa yang bersifat volatil atau semi-volatil dan stabil secara termal. Ini berarti senyawa tersebut harus dapat diuapkan tanpa mengalami dekomposisi pada suhu yang relatif tinggi (biasanya hingga 300°C atau lebih). Aplikasi utama GC dalam analisis pertanian meliputi analisis profil asam lemak (sebagai FAMES), residu pestisida, komponen aroma dan citarasa, serta alkohol. Dalam sistem GC, sejumlah kecil sampel diinjeksikan ke dalam inlet yang panas, di mana ia dengan cepat diuapkan dan terbawa oleh aliran gas pembawa (seperti helium) ke dalam kolom pemisah yang berada di dalam oven dengan suhu terkontrol.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC), di sisi lain, adalah teknik yang jauh lebih serbaguna dan digunakan untuk sekitar 80% dari semua pemisahan kromatografi. Keunggulan terbesarnya adalah kemampuannya untuk menganalisis senyawa yang tidak volatil atau labil secara termal, yang mencakup sebagian besar molekul biologis. Aplikasi HPLC dalam analisis pertanian sangat luas, mencakup analisis vitamin, pemanis buatan, pengawet, asam amino, gula, kafein, mikotoksin, dan pigmen. Dalam sistem HPLC, fasa gerak cair dipompa pada tekanan yang sangat tinggi (hingga ribuan psi) melalui kolom yang dikemas rapat dengan partikel fasa diam yang sangat

kecil. Tekanan tinggi ini diperlukan untuk mengatasi hambatan aliran dan memungkinkan pemisahan yang cepat dan efisien.

Sistem instrumen untuk HPLC dan GC memiliki beberapa komponen dasar yang serupa secara fungsional: sistem pengenalan sampel (injektor), kolom untuk pemisahan, dan detektor untuk kuantifikasi. Namun, detail teknis dari masing-masing komponen sangat berbeda untuk mengakomodasi fasa gerak cair versus gas. Kolom GC biasanya berupa kapiler yang sangat panjang (15-100 m) dan tipis dengan fasa diam yang dilapiskan di dinding bagian dalamnya, sementara kolom HPLC lebih pendek (5-25 cm) dan lebih lebar, dikemas rapat dengan partikel silika berpori. Pemilihan jenis kolom (fasa diam) dan kondisi operasional (suhu untuk GC; komposisi fasa gerak untuk HPLC) adalah kunci untuk mencapai pemisahan yang diinginkan.

Pada akhirnya, HPLC dan GC bukanlah teknik yang bersaing, melainkan saling melengkapi. Mereka adalah dua alat yang sangat kuat dalam "kotak perkakas" kromatografi, masing-masing dengan domain aplikasinya sendiri. Untuk senyawa yang mudah menguap, GC menawarkan kecepatan dan resolusi yang tak tertandingi. Untuk spektrum molekul non-volatil yang jauh lebih luas yang mendominasi dunia biokimia dan pangan, HPLC adalah teknik yang sangat diperlukan. Kemampuan seorang analis untuk memilih teknik yang tepat berdasarkan sifat analit adalah langkah pertama yang paling penting dalam mengembangkan metode analisis kromatografi yang sukses.

Contoh Kasus:

Sebuah laboratorium perlu mengembangkan metode untuk dua jenis analisis yang berbeda pada sampel kopi sangrai. Analisis pertama adalah untuk mengukur kadar kafein, sebuah alkaloid non-volatil, untuk memastikan kepatuhan terhadap label "rendah kafein". Analisis kedua adalah untuk mengkarakterisasi profil senyawa aroma, yang terdiri dari ratusan senyawa organik kecil yang mudah menguap seperti furan dan pirazin, yang menentukan citarasa khas kopi. Untuk analisis **kafein**, analis memilih **HPLC**. Sampel kopi diekstraksi dengan air panas, disaring, dan diinjeksikan ke dalam sistem HPLC dengan kolom C18 dan detektor UV. Kafein terpisah dari

senyawa polar lain dan terdeteksi dengan baik. Untuk analisis **profil aroma**, analisis memilih **GC** yang digabungkan dengan spektrometri massa (GC-MS). Senyawa aroma dari kopi diekstraksi menggunakan teknik *headspace solid-phase microextraction* (HS-SPME), lalu diinjeksikan ke dalam sistem GC. Ratusan senyawa volatil terpisah di sepanjang kolom kapiler dan diidentifikasi berdasarkan spektrum massanya, memberikan "sidik jari" aroma yang detail. Kasus ini menunjukkan bagaimana dua teknik kromatografi yang berbeda digunakan untuk menganalisis dua jenis molekul yang berbeda dari sampel yang sama.

11.2.1 Prinsip Dasar Pemisahan Kromatografi

Pemisahan kromatografi didasarkan pada kesetimbangan partisi yang dinamis. Ketika campuran analit bergerak melalui kolom, setiap molekul analit secara terus-menerus berpindah antara fasa gerak dan fasa diam. Waktu yang dihabiskan oleh suatu molekul dalam fasa diam berbanding lurus dengan kekuatan interaksinya dengan fasa tersebut. Molekul yang memiliki afinitas tinggi terhadap fasa diam akan menghabiskan lebih banyak waktu dalam keadaan stasioner, sementara molekul dengan afinitas rendah akan menghabiskan lebih banyak waktu terbawa oleh fasa gerak.

Fenomena ini dijelaskan secara kuantitatif oleh koefisien partisi (K), yang merupakan rasio konsentrasi kesetimbangan analit dalam fasa diam terhadap konsentrasinya dalam fasa gerak. Nilai K yang tinggi berarti analit sangat tertahan dan akan memiliki waktu retensi yang lama (waktu yang dibutuhkan untuk melewati kolom). Sebaliknya, nilai K yang rendah berarti analit kurang tertahan dan akan terelusi lebih cepat. Karena setiap senyawa memiliki nilai K yang unik untuk sistem fasa diam/fasa gerak tertentu, pemisahan yang efektif dapat dicapai. Efisiensi kolom kromatografi, atau kemampuannya untuk menghasilkan puncak yang tajam dan terpisah dengan baik, sering digambarkan oleh jumlah lempeng teoretis (*theoretical plates*).

11.2.2 Komponen Kunci Sistem HPLC dan GC

Sistem HPLC terdiri dari beberapa komponen modular. **Reservoir pelarut** menampung fasa gerak. **Pompa** bertekanan tinggi (komponen terpenting) mengalirkan fasa gerak melalui sistem pada laju alir yang konstan dan bebas pulsa. **Injektor** (biasanya katup injeksi otomatis) memasukkan volume sampel yang kecil dan akurat ke dalam aliran fasa gerak tanpa mengganggu tekanan sistem. **Kolom**, yang berisi fasa diam, adalah tempat terjadinya pemisahan. **Detektor** (misalnya, UV, fluoresensi, RI, atau MS) memantau eluen yang keluar dari kolom dan menghasilkan sinyal saat analit melewatinya.

Sistem GC memiliki komponen yang analog. **Sumber gas pembawa** (biasanya tabung gas helium atau nitrogen) menyediakan fasa gerak. **Kontrol aliran dan tekanan elektronik** memastikan aliran gas yang konstan. **Injektor** yang dipanaskan menguapkan sampel dan memasukkannya ke kolom. **Oven kolom** mengontrol suhu kolom dengan presisi tinggi, sering kali menggunakan program suhu untuk mengoptimalkan pemisahan. **Kolom kapiler** adalah tempat pemisahan. **Detektor** (misalnya, FID, TCD, ECD, atau MS) menghasilkan sinyal saat komponen sampel terelusi.

11.2.3 Pemilihan Kolom dan Detektor

Pemilihan kolom (khususnya fasa diam) adalah variabel paling penting dalam mengembangkan metode kromatografi. Dalam HPLC fasa terbalik, yang merupakan mode paling umum, fasa diam bersifat nonpolar (misalnya, silika yang dimodifikasi dengan rantai C18), dan fasa gerak bersifat polar (misalnya, campuran air/metanol). Dalam mode ini, senyawa nonpolar akan tertahan lebih lama. Sebaliknya, dalam kromatografi fasa normal, fasa diam bersifat polar (misalnya, silika) dan fasa gerak nonpolar (misalnya, heksana). Pemilihan detektor bergantung pada sifat analit; detektor UV-Vis sangat baik untuk senyawa dengan kromofor, sedangkan detektor universal seperti RI atau ELSD diperlukan untuk senyawa tanpa kromofor seperti gula.

Dalam GC, pemilihan kolom didasarkan pada polaritas. Kolom nonpolar (seperti yang dilapisi dengan polidimetilsiloksan) akan memisahkan senyawa terutama berdasarkan perbedaan titik didihnya. Kolom polar (seperti yang dilapisi dengan polietilen glikol atau sianopropil) akan memisahkan senyawa berdasarkan kombinasi titik didih dan polaritas, di mana senyawa polar akan tertahan lebih kuat. Pemilihan detektor juga krusial. Detektor Ionisasi Nyala (FID) adalah detektor universal yang sangat sensitif untuk hidrokarbon. Detektor Penangkap Elektron (ECD) sangat sensitif terhadap senyawa terhalogenasi seperti pestisida organoklorin. Spektrometer Massa (MS) adalah detektor universal yang paling kuat karena tidak hanya menguantifikasi tetapi juga memberikan informasi struktural untuk identifikasi yang definitif.

11.3 Analisis Non-Destruktif: Near-Infrared (NIR) dan FTIR

Di tengah tuntutan industri pangan modern akan efisiensi, kecepatan, dan pengurangan limbah, muncul sebuah paradigma analisis yang sangat menarik, yaitu analisis non-destruktif. Sesuai namanya, teknik ini memungkinkan pengukuran komposisi kimia suatu bahan tanpa merusak, mengubah, atau bahkan sering kali tanpa perlu mengambil sub-sampel dari produk. Bayangkan kemampuan untuk memindai sebuah apel utuh dan langsung mengetahui kadar gula dan keasamannya, atau mengukur kandungan protein dan kelembaban dalam aliran biji gandum yang bergerak di ban berjalan secara *real-time*. Kemampuan inilah yang ditawarkan oleh teknik-teknik spektroskopi vibrasional, terutama Spektroskopi Inframerah Dekat (*Near-Infrared*, NIR) dan Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier (*Fourier-Transform Infrared*, FTIR).

Prinsip dasar di balik spektroskopi inframerah adalah bahwa ikatan kimia dalam molekul tidaklah statis; mereka terus-menerus bervibrasi, seperti pegas yang meregang dan menekuk, pada frekuensi yang sangat spesifik. Frekuensi vibrasi ini ditentukan oleh massa atom yang terhubung dan kekuatan ikatan di

antara mereka. Ketika molekul disinari dengan cahaya inframerah, ia akan menyerap energi pada frekuensi-frekuensi yang persis sama dengan frekuensi vibrasi alaminya. Penyerapan energi ini menyebabkan amplitudo vibrasi ikatan meningkat. Dengan memindai sampel menggunakan berbagai frekuensi inframerah dan mengukur frekuensi mana yang diserap, kita dapat memperoleh sebuah spektrum inframerah, yang merupakan "sidik jari" vibrasional yang sangat kaya informasi tentang ikatan-ikatan kimia yang ada dalam sampel.

Spektroskopi inframerah secara konvensional dibagi menjadi tiga wilayah: inframerah dekat (NIR, sekitar 800-2500 nm), inframerah tengah (mid-IR atau MIR, sekitar 2500-25000 nm), dan inframerah jauh. Analisis kimia sebagian besar berfokus pada wilayah NIR dan MIR. Spektroskopi MIR, yang hampir selalu diukur menggunakan instrumen berbasis Transformasi Fourier (FTIR), mendeteksi vibrasi fundamental (transisi dari keadaan vibrasi dasar ke keadaan tereksitasi pertama). Spektrum MIR menghasilkan puncak-puncak yang tajam, jelas, dan sangat spesifik untuk gugus-gugus fungsional tertentu (misalnya, puncak kuat untuk C=O pada sekitar 1700 cm^{-1} , atau O-H pada sekitar 3300 cm^{-1}). Hal ini membuat FTIR sangat baik untuk analisis kualitatif dan identifikasi struktural.

Spektroskopi NIR, di sisi lain, mendeteksi vibrasi *overtone* (nada tambahan) dan kombinasi dari vibrasi fundamental. Sinyal-sinyal ini jauh lebih lemah (sekitar 10-1000 kali lebih lemah) daripada sinyal fundamental di MIR. Akibatnya, spektrum NIR terdiri dari puncak-puncak yang lebar, tumpang tindih, dan sulit untuk diinterpretasikan secara langsung. Namun, kelemahan spektral ini justru menjadi kekuatan praktisnya. Karena sinyal serapannya yang lemah, radiasi NIR dapat menembus lebih dalam ke dalam sampel padat atau keruh (sering kali beberapa milimeter atau bahkan sentimeter) tanpa perlu preparasi sampel yang rumit. Sampel biji-bijian, bubuk, atau bahkan buah utuh dapat dianalisis secara langsung, sesuatu yang tidak mungkin dilakukan dengan FTIR yang memerlukan sampel yang sangat tipis atau diencerkan.

Karena kompleksitas spektrum NIR dan FTIR dari matriks pangan (yang merupakan campuran dari air, protein, lemak, dan karbohidrat, yang semuanya memiliki serapan IR), mengekstraksi informasi kuantitatif dari spektrum ini tidaklah mudah. Tidak mungkin menggunakan Hukum Beer-Lambert sederhana pada satu puncak tunggal. Di sinilah peran kemometrik menjadi sangat penting. Kemometrik adalah disiplin ilmu yang menggunakan metode matematika dan statistik untuk mengekstraksi informasi yang relevan dari data kimia yang besar dan kompleks. Untuk analisis NIR/FTIR, model kalibrasi kuantitatif dibuat dengan mengukur spektrum dari sejumlah besar sampel (puluhan atau ratusan) yang juga telah dianalisis untuk parameter target (misalnya, protein) menggunakan metode referensi primer (misalnya, Kjeldahl).

Algoritma kemometrik canggih, seperti Regresi Kuadrat Terkecil Parsial (*Partial Least Squares*, PLS) atau Regresi Komponen Utama (*Principal Component Regression*, PCR), kemudian digunakan untuk menemukan hubungan matematis yang kompleks antara variasi kecil di seluruh spektrum dengan variasi konsentrasi yang diketahui dari metode referensi. Setelah model kalibrasi yang robust dan tervalidasi ini dibuat, ia dapat digunakan untuk memprediksi konsentrasi parameter target dalam sampel baru yang tidak diketahui hanya dengan mengukur spektrumnya, sebuah proses yang hanya memakan waktu beberapa detik. Kecepatan, kemudahan penggunaan, dan sifat non-destruktif inilah yang telah menjadikan NIR, khususnya, sebagai alat yang tak tergantikan untuk kendali mutu proses di industri biji-bijian, pakan, susu bubuk, dan banyak sektor pertanian lainnya.

Contoh Kasus:

Sebuah perusahaan penggilingan tepung terigu besar perlu memantau kandungan protein, kelembaban, dan abu dalam gandum yang masuk dari pemasok yang berbeda secara *real-time* untuk mengoptimalkan proses penggilingan dan memastikan kualitas tepung yang konsisten. Menggunakan metode referensi (Kjeldahl untuk protein, oven untuk kelembaban, *muffle furnace* untuk abu) untuk setiap truk gandum yang datang akan terlalu lambat

dan tidak praktis. Sebagai gantinya, perusahaan menginstal sebuah penganalisis NIR *on-line* di atas ban berjalan penerimaan gandum. Selama beberapa bulan, ratusan sampel gandum dipindai oleh NIR dan secara bersamaan diambil sampelnya untuk dianalisis dengan metode referensi. Data spektral dan data referensi ini digunakan untuk membangun model kalibrasi kemometrik yang kuat untuk ketiga parameter tersebut. Setelah model divalidasi, sistem NIR dapat secara instan memberikan prediksi akurat tentang komposisi gandum saat melewati sensor, memungkinkan operator untuk segera mengalihkan gandum ke silo yang sesuai berdasarkan kualitasnya, mengoptimalkan campuran gilingan, dan mendeteksi gandum yang tidak memenuhi spesifikasi sebelum memasuki pabrik.

11.3.1 Prinsip Spektroskopi Vibrasional (Inframerah)

Spektroskopi vibrasional didasarkan pada penyerapan radiasi inframerah oleh molekul, yang menyebabkan transisi antara tingkat-tingkat energi vibrasi. Agar suatu vibrasi dapat menyerap radiasi inframerah (menjadi "aktif IR"), vibrasi tersebut harus menghasilkan perubahan dalam momen dipol molekul. Ikatan-ikatan polar seperti O-H, N-H, dan C=O memiliki perubahan momen dipol yang besar selama vibrasi dan karenanya menghasilkan puncak serapan yang sangat kuat di spektrum inframerah. Sebaliknya, ikatan simetris dalam molekul nonpolar, seperti ikatan C=C dalam etilena atau N≡N dalam gas nitrogen, tidak menghasilkan perubahan momen dipol saat bervibrasi dan oleh karena itu tidak menyerap radiasi IR (tidak aktif IR).

Spektrum inframerah biasanya diplot sebagai transmitansi (%) atau absorbansi terhadap bilangan gelombang (cm^{-1}), yang berbanding lurus dengan frekuensi dan energi. Wilayah spektrum antara 4000 dan 1500 cm^{-1} dikenal sebagai wilayah gugus fungsional, di mana puncak-puncak yang muncul relatif sederhana dan dapat diatribusikan ke vibrasi regangan (*stretching*) dari ikatan-ikatan spesifik (misalnya, C-H, O-H, N-H, C=O). Wilayah di bawah 1500 cm^{-1} , yang dikenal sebagai wilayah sidik jari (*fingerprint region*), mengandung banyak vibrasi tekuk (*bending*) yang

kompleks dan sangat unik untuk keseluruhan struktur molekul, sehingga dapat digunakan untuk identifikasi positif suatu senyawa dengan membandingkan spektrumnya dengan basis data.

11.3.2 Perbedaan Near-Infrared (NIR) dan Mid-Infrared (FTIR)

Perbedaan utama antara NIR dan FTIR (yang bekerja di wilayah Mid-IR) terletak pada jenis vibrasi yang mereka deteksi dan implikasi praktisnya. FTIR mendeteksi transisi vibrasi fundamental yang kuat dan menghasilkan spektrum dengan puncak-puncak tajam yang mudah diinterpretasikan untuk identifikasi gugus fungsional. Namun, karena kekuatan serapan ini, terutama dari air, sampel harus sangat tipis, kering, atau diencerkan dalam matriks transparan IR (seperti KBr) untuk menghindari kejenuhan sinyal. Hal ini sering memerlukan preparasi sampel yang ekstensif.

NIR, sebaliknya, mendeteksi sinyal *overtone* dan kombinasi yang jauh lebih lemah. Kelemahan sinyal ini memungkinkan radiasi NIR untuk menembus jauh ke dalam sampel tanpa preparasi, memungkinkan analisis bahan utuh, cair, atau padat secara langsung. Namun, spektrum yang dihasilkan memiliki puncak yang lebar dan sangat tumpang tindih, sehingga hampir tidak mungkin untuk menetapkan puncak ke vibrasi tertentu. Informasi kuantitatif hanya dapat diekstraksi menggunakan teknik kemometrik canggih yang mengkorelasikan seluruh spektrum dengan data referensi (Godswill, 2021). Singkatnya, FTIR lebih unggul untuk analisis kualitatif dan struktural, sementara NIR lebih unggul untuk analisis kuantitatif non-destruktif yang cepat pada bahan curah.

11.3.3 Peran Kemometrik dalam Analisis Spektral

Kemometrik adalah jembatan yang menghubungkan data spektral yang kompleks dari instrumen seperti NIR/FTIR dengan informasi kimia yang bermakna (misalnya, konsentrasi). Karena spektrum dari sampel pangan adalah superposisi dari serapan semua komponennya, dan karena faktor-

faktor fisik seperti ukuran partikel dapat memengaruhi spektrum, analisis univariat sederhana (melihat satu panjang gelombang) hampir tidak pernah berhasil. Kemometrik menggunakan pendekatan multivariat, yaitu mempertimbangkan ratusan atau ribuan variabel (panjang gelombang) secara bersamaan.

Langkah pertama dalam pemodelan kemometrik sering kali adalah pra-pemrosesan spektral (*spectral preprocessing*) untuk menghilangkan variasi yang tidak diinginkan, seperti pergeseran garis dasar atau efek hamburan cahaya, menggunakan transformasi matematika seperti turunan atau *Standard Normal Variate* (SNV). Selanjutnya, algoritma kalibrasi multivariat seperti Regresi Kuadrat Terkecil Parsial (PLS) digunakan untuk membangun model yang menghubungkan matriks data spektral (X) dengan matriks data konsentrasi referensi (Y). Model PLS ini kemudian divalidasi secara eksternal untuk menguji kemampuannya memprediksi sampel baru. Tanpa kemometrik, data yang kaya dari spektroskopi vibrasional akan tetap menjadi kumpulan angka yang tidak dapat diinterpretasikan.

Rangkuman

1. Instrumentasi modern telah merevolusi analisis kimia, memungkinkan pengukuran yang lebih cepat, lebih sensitif, dan lebih objektif dibandingkan metode klasik.
2. Spektrofotometri UV-Vis mengukur penyerapan cahaya oleh molekul, yang terkait dengan transisi elektron. Hukum Beer-Lambert ($A = \epsilon bc$) menyediakan dasar matematis untuk analisis kuantitatif, menghubungkan absorbansi secara linear dengan konsentrasi.
3. Kromatografi adalah teknik pemisahan yang sangat kuat. Kromatografi Gas (GC) digunakan untuk senyawa yang volatil dan stabil secara termal (misalnya, aroma, FAMES), sedangkan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) digunakan untuk senyawa non-volatil (misalnya, vitamin, gula, pengawet).

4. Pemisahan kromatografi terjadi karena partisi diferensial komponen sampel antara fasa diam dan fasa gerak. Pemilihan kolom dan detektor yang tepat sangat krusial untuk keberhasilan analisis.
5. Analisis non-destruktif menggunakan spektroskopi vibrasional (NIR dan FTIR) memungkinkan pengukuran komposisi tanpa merusak sampel.
6. FTIR mendeteksi vibrasi fundamental yang kuat dan baik untuk identifikasi kualitatif, sementara NIR mendeteksi sinyal *overtone* yang lemah, memungkinkannya menembus sampel utuh dan ideal untuk analisis kuantitatif cepat.
7. Kemometrik adalah alat statistik dan matematika yang esensial untuk mengekstraksi informasi kuantitatif dari data spektral yang kompleks (NIR/FTIR) dengan membangun model kalibrasi multivariat.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan Hukum Beer-Lambert dan definisikan setiap variabel dalam persamaannya. Uraikan langkah-langkah praktis untuk menggunakan hukum ini dalam menentukan konsentrasi larutan permanganat (berwarna ungu) yang tidak diketahui menggunakan spektrofotometer.
2. Bandingkan dan kontraskan antara HPLC dan GC. Fokuskan perbandingan Saudara pada empat aspek: (1) jenis fasa gerak, (2) sifat sampel/analit yang sesuai, (3) komponen instrumen kunci yang berbeda, dan (4) berikan satu contoh aplikasi spesifik untuk masing-masing di bidang pertanian.
3. Apa yang dimaksud dengan analisis non-destruktif? Jelaskan keuntungan utama dari pendekatan ini dibandingkan dengan metode analisis destruktif klasik dalam konteks pengendalian mutu di sebuah pabrik pakan ternak.

4. Jelaskan peran kemometrik dalam analisis kuantitatif menggunakan Spektroskopi NIR. Mengapa analisis sederhana pada satu panjang gelombang (seperti pada spektrofotometri UV-Vis) tidak dapat diterapkan pada data spektrum NIR?
5. Dalam sistem HPLC, mengapa pompa bertekanan tinggi dianggap sebagai komponen yang paling krusial? Apa yang akan terjadi pada pemisahan kromatografi jika pompa tidak dapat menghasilkan aliran yang stabil dan bebas pulsa?

Soal Pilihan Ganda

1. Hukum Beer-Lambert menyatakan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan...
 - A. Suhu larutan
 - B. Konsentrasi analit
 - C. Berat molekul analit
 - D. pH larutan
2. Teknik kromatografi yang paling sesuai untuk menganalisis residu pestisida organoklorin yang semi-volatil adalah...
 - A. HPLC
 - B. GC
 - C. Kromatografi Lapis Tipis (TLC)
 - D. Kromatografi Kertas
3. Dalam spektrofotometer, komponen yang berfungsi untuk memilih satu panjang gelombang spesifik dari sumber cahaya polikromatik adalah...
 - A. Detektor
 - B. Kuvet
 - C. Monokromator
 - D. Sumber cahaya
4. Keunggulan utama spektroskopi NIR dibandingkan FTIR untuk analisis bahan pangan curah adalah...
 - A. Kemampuan penetrasi radiasi yang lebih dalam ke sampel

- B. Menghasilkan spektrum dengan puncak yang lebih tajam
 - C. Lebih sensitif terhadap gugus fungsional
 - D. Tidak memerlukan model kalibrasi kemometrik
5. Dalam sistem HPLC fasa terbalik, fasa diam bersifat... dan fasa gerak bersifat...
- A. Polar, Nonpolar
 - B. Nonpolar, Polar
 - C. Gas, Cair
 - D. Cair, Gas
6. Detektor GC yang sangat sensitif terhadap senyawa organik yang dapat terbakar (hidrokarbon) adalah...
- A. Detektor Konduktivitas Termal (TCD)
 - B. Detektor Penangkap Elektron (ECD)
 - C. Detektor Ionisasi Nyala (FID)
 - D. Detektor Spektrofotometri UV
7. Analisis matematis dan statistik data kimia multivariat untuk mengekstraksi informasi yang relevan dikenal sebagai...
- A. Kromatografi
 - B. Spektroskopi
 - C. Kemometrik
 - D. Titrimetri
8. Penyimpangan dari Hukum Beer dapat terjadi pada konsentrasi analit yang...
- A. Sangat rendah
 - B. Sangat tinggi
 - C. Mendekati nol
 - D. Berada di tengah rentang kalibrasi
9. Kuvet yang terbuat dari kuarsa diperlukan untuk pengukuran spektrofotometri di daerah...
- A. Inframerah
 - B. Tampak
 - C. Ultraviolet (UV)
 - D. Gelombang mikro

10. Dalam GC, pemisahan analit terjadi di dalam...
- A. Injektor
 - B. Detektor
 - C. Kolom
 - D. Tabung gas

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah laboratorium pengujian swasta menerima dua permintaan analisis dari klien yang berbeda. Klien pertama adalah produsen minuman energi yang ingin mengukur kadar kafein, vitamin C, dan pemanis buatan sakarin secara akurat untuk label nutrisi. Klien kedua adalah importir biji kopi yang ingin melakukan skrining cepat dan murah untuk kadar air dan kafein pada setiap karung kopi yang masuk ke gudang.

- (1) Untuk klien pertama, teknik instrumental modern manakah yang paling cocok untuk menganalisis ketiga senyawa tersebut secara bersamaan? Berikan alasan.
- (2) Untuk klien kedua, teknik instrumental non-destruktif manakah yang paling sesuai? Jelaskan bagaimana teknik ini akan diimplementasikan.

Glosarium

1. **Absorbansi:** Ukuran jumlah cahaya yang diserap oleh sampel pada panjang gelombang tertentu; nilainya tidak bersatuan.
2. **Fasa Diam (*Stationary Phase*):** Bagian dari sistem kromatografi yang tidak bergerak, di mana interaksi dengan analit menyebabkan pemisahan.
3. **Fasa Gerak (*Mobile Phase*):** Cairan atau gas yang mengalir melalui sistem kromatografi dan membawa analit bersamanya.
4. **FTIR (*Fourier-Transform Infrared*):** Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier, sebuah teknik untuk mendapatkan spektrum inframerah dengan mengukur interferogram dan mengubahnya secara matematis. Bekerja di wilayah Mid-IR.

5. **GC (*Gas Chromatography*)**: Kromatografi Gas, teknik pemisahan untuk senyawa yang mudah menguap.
6. **HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*)**: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, teknik pemisahan untuk senyawa non-volatil.
7. **Hukum Beer-Lambert**: Prinsip fisika yang menyatakan hubungan linear antara absorbansi, konsentrasi, dan panjang jalur cahaya dalam larutan.
8. **Kemometrik**: Penggunaan metode matematika dan statistik untuk menganalisis data kimia dan mengekstraksi informasi yang relevan.
9. **Kromatogram**: Grafik yang dihasilkan dari analisis kromatografi, memplotkan respons detektor terhadap waktu atau volume elusi.
10. **Monokromator**: Perangkat optik yang mentransmisikan pita panjang gelombang cahaya yang sempit secara mekanis yang dipilih dari rentang panjang gelombang yang lebih luas.
11. **NIR (*Near-Infrared*)**: Spektroskopi Inframerah Dekat, teknik analisis non-destruktif yang cepat, ideal untuk analisis kuantitatif bahan curah.
12. **Spektrofotometer**: Instrumen yang mengukur jumlah foton (intensitas cahaya) yang diserap setelah melewati larutan sampel.

BAB 12: VALIDASI METODE DAN PELAPORAN HASIL

Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Menjelaskan konsep Jaminan Mutu (*Quality Assurance*) sebagai sebuah sistem manajemen laboratorium yang komprehensif.
2. Membedakan antara Jaminan Mutu (QA) dan Kendali Mutu (QC).
3. Memahami peran krusial Bahan Referensi Standar (*Certified Reference Material*, CRM) dalam menentukan akurasi suatu metode.
4. Mengidentifikasi parameter-parameter kunci dalam validasi metode analisis.
5. Menginterpretasikan data hasil analisis dalam konteks ketidakpastian pengukuran dan spesifikasi produk.
6. Menyusun laporan hasil analisis yang profesional dan informatif.
7. Melakukan perbandingan antara hasil analisis dengan standar mutu yang relevan, seperti SNI atau ISO.

Pendahuluan

Sebuah angka yang dihasilkan di laboratorium, terlepas dari seberapa canggih instrumen yang digunakan, pada dasarnya tidak memiliki makna tanpa adanya bukti yang mendukung validitasnya. Angka "10.5 ppm" untuk kadar arsen dalam beras adalah sebuah data, tetapi bukan informasi hingga kita dapat menjawab pertanyaan-pertanyaan kritis yang menyertainya: "Seberapa yakinkah kita dengan angka tersebut?", "Apakah metode yang digunakan benar-benar mengukur arsen?", dan "Apakah hasil ini akan sama jika diukur oleh laboratorium lain?". Proses untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan ini secara sistematis dan ilmiah adalah inti dari validasi metode dan jaminan mutu, fondasi yang menopang seluruh struktur analisis kimia yang dapat dipercaya.

Bab-bab sebelumnya telah membekali kita dengan "kotak perkakas" yang berisi berbagai metode untuk membongkar komposisi kimia bahan pangan. Kita telah belajar bagaimana mengukur air, abu, protein, lemak, dan berbagai komponen lainnya. Kini, kita tiba pada tahap akhir yang paling krusial: bagaimana kita membuktikan bahwa perkakas yang kita gunakan bekerja dengan benar dan bahwa hasil yang kita peroleh dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah, komersial, dan hukum. Tanpa proses verifikasi ini, analisis kimia tidak lebih dari sekadar latihan akademis; ia tidak akan memiliki bobot untuk melindungi konsumen, memfasilitasi perdagangan, atau mendukung penegakan hukum.

Jaminan Mutu atau *Quality Assurance* (QA) adalah konsep payung yang mencakup semua kebijakan, prosedur, dan tindakan yang dirancang untuk memastikan bahwa hasil analisis memenuhi tujuan yang telah ditetapkan. QA bukanlah sebuah aktivitas tunggal, melainkan sebuah budaya dan sistem manajemen yang tertanam dalam setiap aspek operasional laboratorium. Ini adalah pendekatan proaktif yang bertujuan untuk mencegah kesalahan terjadi, bukan hanya mendeteksinya setelah terjadi. Di dalam sistem QA inilah terletak proses validasi metode, yaitu proses terdokumentasi yang menunjukkan bahwa sebuah prosedur analisis cocok untuk tujuan yang dimaksudkan.

Validasi metode adalah jantung dari analisis yang andal. Melalui serangkaian eksperimen yang terencana, kita mengarakterisasi kinerja sebuah metode, mengukur parameter-parameter penting seperti akurasi, presisi, spesifisitas, dan batas deteksi. Proses ini mengubah sebuah prosedur dari sekadar "resep" menjadi sebuah alat ukur yang telah terkalibrasi dan dipahami sepenuhnya keterbatasannya. Data yang dihasilkan dari metode yang tervalidasi datang dengan "sertifikat lahir" yang mendokumentasikan kinerjanya, memberikan tingkat kepercayaan yang tinggi pada setiap hasil yang dilaporkan.

Setelah data yang valid diperoleh, tugas seorang analis belum selesai. Data tersebut harus diinterpretasikan dengan benar dan dikomunikasikan secara efektif. Interpretasi melibatkan lebih dari sekadar membaca angka dari layar

instrumen; ia menuntut pemahaman tentang ketidakpastian statistik yang melekat pada setiap pengukuran. Melaporkan hasil sebagai rentang kepercayaan (misalnya, $10,5 \pm 0,3$ ppm) jauh lebih informatif dan jujur secara ilmiah daripada melaporkan satu angka tunggal.

Langkah terakhir adalah menempatkan hasil tersebut dalam konteks dunia nyata dengan membandingkannya terhadap standar mutu atau regulasi, seperti Standar Nasional Indonesia (SNI) atau standar internasional dari ISO. Perbandingan inilah yang mengubah data teknis menjadi sebuah kesimpulan yang dapat ditindaklanjuti: "memenuhi syarat", "tidak memenuhi syarat", "aman", atau "berisiko". Kesimpulan ini kemudian harus dituangkan dalam sebuah laporan profesional yang jelas, ringkas, dan lengkap, yang berfungsi sebagai catatan resmi dari analisis yang telah dilakukan.

Bab ini akan memandu mahasiswa melalui alur kerja penjaminan kualitas, mulai dari konsep sistemik Jaminan Mutu hingga detail praktis penulisan laporan. Kita akan mengeksplorasi bagaimana Bahan Referensi Standar menjadi jangkar untuk memastikan akurasi, dan bagaimana data yang telah divalidasi diinterpretasikan dan dibandingkan dengan standar industri. Penguasaan materi dalam bab ini akan melengkapi kompetensi teknis mahasiswa dengan keterampilan manajemen kualitas dan komunikasi profesional, mengubah mereka dari sekadar operator instrumen menjadi ilmuwan analitik yang kompeten dan dapat diandalkan.

12.1 Prosedur Jaminan Mutu Laboratorium (Quality Assurance)

Jaminan Mutu atau *Quality Assurance* (QA) adalah sebuah sistem manajemen totalitas yang dirancang untuk memberikan keyakinan yang memadai bahwa suatu entitas (dalam hal ini, laboratorium) akan memenuhi persyaratan kualitas. QA bukanlah serangkaian pengujian, melainkan sebuah kerangka kerja prosedural dan manajerial yang mencakup seluruh siklus hidup data analitis, mulai dari penerimaan sampel hingga pengarsipan laporan. Fokus utama dari QA adalah pencegahan kesalahan secara proaktif. Sistem ini dibangun di atas premis bahwa kualitas harus dirancang dan dibangun ke

dalam setiap proses, bukan hanya diinspeksi di akhir. Ini adalah filosofi yang membedakan laboratorium yang dikelola secara profesional dari yang lain.

Penting untuk membedakan antara QA dan Kendali Mutu (*Quality Control, QC*). Jika QA adalah keseluruhan strategi dan sistem, maka QC adalah komponen operasional dan teknis di dalam sistem QA tersebut. QC mengacu pada langkah-langkah praktis dan rutin yang dilakukan di laboratorium untuk memantau dan mempertahankan kualitas hasil analisis (Eurachem, 2020). Contoh dari kegiatan QC meliputi menganalisis sampel blanko untuk memeriksa kontaminasi, menjalankan sampel duplikat untuk memeriksa presisi, atau menganalisis standar cek secara periodik untuk memantau kinerja instrumen. Jadi, QC adalah alat yang digunakan untuk memastikan sistem QA berfungsi sebagaimana mestinya dari hari ke hari.

Sebuah sistem QA yang komprehensif didasarkan pada beberapa pilar fundamental. Pilar pertama adalah dokumentasi, yang terwujud dalam bentuk Manual Mutu (*Quality Manual*) dan Prosedur Operasional Standar (*Standard Operating Procedures, SOP*). Manual Mutu menguraikan kebijakan kualitas laboratorium secara umum, sementara SOP memberikan instruksi kerja yang sangat rinci untuk setiap aktivitas, mulai dari cara membersihkan peralatan gelas hingga cara mengoperasikan HPLC. SOP memastikan bahwa setiap analisis dilakukan dengan cara yang sama persis setiap saat, terlepas dari siapa analis yang melakukannya, sehingga menjamin konsistensi dan reproduisibilitas (Hibbert, 2023).

Pilar kedua adalah manajemen personel. Sistem QA memastikan bahwa semua staf laboratorium memiliki kualifikasi, pelatihan, dan pengalaman yang sesuai untuk tugas yang mereka lakukan. Catatan pelatihan untuk setiap analis harus dipelihara, mendokumentasikan kompetensi mereka dalam menggunakan instrumen atau melakukan metode analisis tertentu. Personel yang kompeten adalah garis pertahanan pertama melawan hasil yang tidak akurat (ISO/IEC 17025, 2017).

Pilar ketiga adalah manajemen peralatan. Semua instrumen dan peralatan ukur (mulai dari neraca analitik hingga spektrometer massa) harus dikalibrasi secara teratur menggunakan standar yang dapat dilacak (*traceable*). Program pemeliharaan preventif yang terjadwal harus ada untuk memastikan peralatan selalu berfungsi secara optimal. Setiap tindakan kalibrasi, pemeliharaan, dan perbaikan harus dicatat dengan cermat dalam logbook instrumen.

Pilar keempat adalah ketertelusuran (*traceability*). Ini adalah kemampuan untuk melacak kembali riwayat, aplikasi, atau lokasi dari suatu objek. Dalam konteks laboratorium, ini berarti setiap hasil analisis harus dapat ditelusuri kembali ke sampel aslinya, analisis yang mengerjakannya, instrumen yang digunakan, standar kalibrasi yang digunakan, dan kondisi pada saat analisis. Sistem penomoran sampel yang unik dan pencatatan yang cermat adalah kunci untuk mencapai ketertelusuran.

Terakhir, pilar kelima adalah evaluasi eksternal. Untuk memastikan sistem QA tidak hanya baik di atas kertas tetapi juga dalam praktiknya, laboratorium harus secara teratur berpartisipasi dalam program uji profisiensi (*Proficiency Testing*, PT) atau uji banding antar laboratorium. Dalam program ini, penyelenggara mengirimkan sampel yang sama ke banyak laboratorium, dan hasilnya dibandingkan secara statistik. Kinerja yang memuaskan dalam uji profisiensi memberikan bukti objektif dari pihak ketiga bahwa sistem mutu laboratorium tersebut efektif.

Menerapkan sistem QA yang solid, sering kali berdasarkan standar internasional seperti ISO/IEC 17025, memang memerlukan investasi waktu dan sumber daya yang signifikan. Namun, manfaatnya jauh lebih besar. Sistem ini tidak hanya mengurangi risiko menghasilkan data yang salah, tetapi juga meningkatkan efisiensi, memberikan dasar yang kuat untuk pembelaan hukum jika hasil dipertanyakan, dan yang terpenting, membangun reputasi laboratorium sebagai sumber informasi yang andal dan dapat dipercaya.

Analogi:

Mengelola sebuah laboratorium dengan sistem QA yang baik dapat diibaratkan seperti menjalankan sebuah maskapai penerbangan yang aman. **Jaminan Mutu (QA)** adalah keseluruhan sistem yang memastikan keselamatan, mencakup peraturan penerbangan, program pelatihan pilot yang ketat, jadwal pemeliharaan pesawat yang wajib, dan prosedur komunikasi standar antara pilot dan menara pengawas. **Kendali Mutu (QC)**, di sisi lain, adalah tindakan spesifik yang dilakukan oleh pilot sebelum setiap penerbangan, seperti memeriksa instrumen, mengecek permukaan kontrol, dan memastikan jumlah bahan bakar. Pilot tidak memutuskan sendiri apa yang harus diperiksa; ia mengikuti daftar periksa (**SOP**) yang merupakan bagian dari sistem QA yang lebih besar. Partisipasi dalam program uji profesiensi ibarat melakukan audit keselamatan oleh otoritas penerbangan internasional untuk memastikan maskapai tersebut memenuhi standar global. Tanpa sistem QA yang komprehensif ini, terbang akan menjadi aktivitas yang sangat berisiko.

12.1.1 Penggunaan Bahan Referensi Standar (CRM)

Bahan Referensi Standar, atau lebih tepatnya *Certified Reference Material* (CRM), adalah pilar dari pengukuran kimia yang akurat. CRM didefinisikan sebagai bahan yang cukup homogen dan stabil sehubungan dengan satu atau lebih sifat yang ditentukan, yang telah ditetapkan cocok untuk penggunaan yang dimaksudkan dalam proses pengukuran (ISO Guide 30, 2015). Karakteristik utama yang membedakan CRM dari bahan referensi biasa adalah bahwa nilai propertinya (misalnya, konsentrasi analit) disertifikasi melalui prosedur yang valid secara metrologis, disertai dengan pernyataan ketidakpastian, dan memiliki ketertelusuran ke referensi SI (Sistem Satuan Internasional).

Penggunaan utama dari CRM di laboratorium analisis adalah untuk validasi atau verifikasi metode, khususnya untuk menilai **akurasi** atau **ketepatan** (*trueness*). Dengan menganalisis CRM menggunakan metode yang sedang

divalidasi dan membandingkan hasil yang diperoleh dengan nilai yang tertera pada sertifikat, laboratorium dapat secara objektif menentukan bias dari metodenya. Jika hasil laboratorium berada dalam rentang ketidakpastian dari nilai yang disertifikasi, ini memberikan bukti yang sangat kuat bahwa metode tersebut akurat dan mampu memberikan hasil yang benar.

Karena proses sertifikasinya yang sangat teliti dan mahal, CRM memiliki biaya yang sangat tinggi. Oleh karena itu, mereka tidak digunakan untuk kegiatan QC rutin sehari-hari. Sebaliknya, laboratorium biasanya menggunakan CRM untuk menetapkan nilai pada bahan kontrol kualitas internal (*in-house QC material*) yang lebih murah, yang kemudian digunakan untuk pemantauan kinerja harian. CRM juga sangat penting dalam uji profisiensi, di mana mereka sering digunakan sebagai sampel uji untuk memberikan nilai acuan yang definitif. Penggunaan CRM adalah cara paling langsung dan diakui secara internasional untuk menunjukkan kompetensi teknis sebuah laboratorium dan untuk memastikan bahwa hasil yang dihasilkannya sebanding dengan hasil dari laboratorium lain di seluruh dunia.

12.2 Interpretasi Data dan Penulisan Laporan Profesional

Mendapatkan angka dari sebuah instrumen bukanlah titik akhir dari proses analisis; itu adalah titik awal dari interpretasi. Data analitis mentah hanya menjadi informasi yang berguna ketika ditempatkan dalam konteks yang tepat. Proses interpretasi ini melibatkan serangkaian langkah logis yang mengubah pengukuran teknis menjadi sebuah penilaian yang dapat dipahami dan ditindaklanjuti. Langkah pertama adalah mengevaluasi hasil dalam konteks kinerja metode itu sendiri. Seorang analis harus selalu mempertimbangkan ketidakpastian pengukuran yang terkait dengan hasil tersebut. Melaporkan hasil sebagai 5.2 mg/kg adalah kurang lengkap dibandingkan melaporkannya sebagai 5.2 ± 0.4 mg/kg (dengan tingkat kepercayaan 95%). Pernyataan ketidakpastian ini mengkomunikasikan rentang di mana nilai sebenarnya kemungkinan besar berada dan merupakan representasi yang lebih jujur dari proses pengukuran.

Setelah hasil dan ketidakpastiannya ditetapkan, langkah selanjutnya adalah membandingkannya dengan kriteria atau spesifikasi yang relevan. Di sinilah data mulai digunakan untuk pengambilan keputusan. Kriteria ini dapat berupa berbagai hal: batas regulasi yang ditetapkan oleh pemerintah (misalnya, batas maksimum residu pestisida), spesifikasi kualitas dalam kontrak komersial (misalnya, kadar protein minimum dalam bungkil kedelai), atau batas kendali mutu internal yang ditetapkan oleh produsen untuk memastikan konsistensi produk. Perbandingan ini harus dilakukan secara objektif. Sebagai contoh, jika batas maksimum adalah 10 mg/kg dan hasil analisis adalah 9.8 ± 0.5 mg/kg, maka analisis tidak dapat dengan pasti menyatakan bahwa sampel tersebut memenuhi syarat, karena rentang ketidakpastiannya (9.3 hingga 10.3 mg/kg) tumpang tindih dengan batas. Aturan keputusan (*decision rules*) yang telah ditetapkan sebelumnya diperlukan untuk menangani kasus-kasus ambiguitas seperti ini.

Konteks dari sampel juga sangat penting dalam interpretasi. Analisis harus memahami tujuan dari analisis tersebut. Apakah untuk verifikasi label nutrisi? Untuk skrining kontaminan? Atau untuk pemecahan masalah dalam proses produksi? Jawaban atas pertanyaan ini akan memandu bagaimana hasil tersebut ditafsirkan dan dilaporkan. Sebagai contoh, deteksi sejumlah kecil asam sorbat mungkin dapat diterima jika produk tersebut memang diizinkan mengandung pengawet, tetapi akan menjadi temuan yang signifikan jika produk tersebut diklaim "bebas pengawet". Interpretasi yang baik memerlukan kombinasi antara keahlian analitis dan pemahaman tentang ilmu pangan serta regulasi yang berlaku.

Setelah proses interpretasi selesai, temuan harus dikomunikasikan secara efektif melalui sebuah laporan analisis profesional, yang sering disebut Sertifikat Analisis (*Certificate of Analysis*, CoA). Dokumen ini lebih dari sekadar selembar kertas; ia adalah catatan formal, sering kali bersifat legal, dari pekerjaan yang telah dilakukan. Laporan yang baik harus jelas, tidak ambigu, objektif, dan berisi semua informasi yang diperlukan bagi pengguna

untuk memahami dan menggunakan hasilnya dengan benar. Laporan yang ditulis dengan buruk atau tidak lengkap dapat meniadakan semua upaya yang telah dilakukan dalam analisis yang cermat.

Setiap laporan analisis profesional harus mengandung serangkaian elemen informasi minimum untuk memastikan kelengkapan dan ketertelusuran. Ini termasuk: identifikasi unik dari laporan itu sendiri; informasi lengkap tentang klien; identifikasi yang jelas dan tidak ambigu dari sampel yang diuji, termasuk tanggal penerimaan; tanggal pelaksanaan analisis; referensi yang jelas ke metode analisis yang digunakan (misalnya, nomor metode AOAC atau SOP internal); dan tentu saja, hasil analisis yang disajikan dengan jelas beserta satuan ukurnya.

Selain elemen dasar tersebut, laporan yang baik juga akan mencakup pernyataan tentang ketidakpastian pengukuran yang terkait dengan hasil, jika relevan untuk validitas atau aplikasi hasil. Jika perlu, laporan harus menyertakan pernyataan kesesuaian atau ketidaksesuaian dengan spesifikasi atau standar yang relevan. Terakhir, laporan harus disahkan oleh personel yang berwenang, biasanya manajer laboratorium atau analis senior, yang bertanggung jawab atas validitas konten laporan tersebut.

Penulisan laporan juga menuntut perhatian terhadap detail. Penggunaan jumlah angka penting yang benar sangat krusial, karena ini mengkomunikasikan presisi dari pengukuran. Semua istilah atau singkatan teknis yang tidak umum harus didefinisikan. Format laporan harus konsisten dan mudah dibaca. Pada akhirnya, tujuan dari sebuah laporan analisis adalah untuk mengkomunikasikan temuan secara transparan dan akurat, sehingga membangun kepercayaan antara laboratorium dan pengguna datanya.

Contoh Kasus:

Sebuah perusahaan eksportir kopi ingin memastikan bahwa produk kopi bubuk mereka memenuhi standar kafein yang ditetapkan oleh negara tujuan, yaitu "tidak lebih dari 1.5% kafein basis kering". Sampel dikirim ke laboratorium terakreditasi. Laboratorium pertama-tama menganalisis kadar

air (hasil: 2,5%) dan kemudian menganalisis kafein menggunakan HPLC (hasil: 1,42% basis basah). Laporan analisis profesional yang dikeluarkan tidak hanya menyatakan "Kafein = 1,42%". Sebaliknya, laporan tersebut mencakup:

- a. Identifikasi Sampel: Kopi Bubuk Arabika, Lot No. EXP-002
- b. Metode Analisis: Kadar Air (AOAC 925.40); Kafein (HPLC-UV, SOP Lab No. C-112, v2.1)
- c. Hasil:
 - 1) Kadar Air: $2,5 \pm 0,1$ %
 - 2) Kadar Kafein (basis basah): $1,42 \pm 0,08$ %
- d. Interpretasi:
 - 1) Kadar Kafein (basis kering, dihitung): $1,46 \pm 0,08$ %
 - 2) Spesifikasi Klien: Maksimum 1,5 % (basis kering)
- e. Pernyataan Kesesuaian: Berdasarkan hasil dan ketidakpastian pengukurannya, sampel yang diuji **MEMENUHI** spesifikasi yang ditetapkan. Laporan ini jauh lebih informatif dan berguna untuk pengambilan keputusan karena mencakup semua informasi yang relevan, termasuk ketidakpastian dan perbandingan langsung dengan standar.

12.2.1 Perbandingan Hasil dengan Standar Mutu (SNI/ISO)

Standar mutu, seperti yang diterbitkan oleh Badan Standardisasi Nasional (BSN) untuk Standar Nasional Indonesia (SNI) atau oleh Organisasi Internasional untuk Standardisasi (ISO), menyediakan serangkaian kriteria dan spesifikasi yang telah disepakati untuk produk, proses, atau layanan. Standar-standar ini dikembangkan melalui proses konsensus yang melibatkan para ahli dari industri, pemerintah, dan akademisi, dan berfungsi sebagai tolok ukur (*benchmark*) untuk kualitas dan keamanan. Dalam konteks analisis pangan, standar ini sering kali menetapkan batas minimum atau maksimum untuk berbagai parameter komposisi atau kontaminan.

Proses perbandingan hasil dengan standar adalah langkah terakhir dalam interpretasi data, di mana data analitis diubah menjadi penilaian kesesuaian. Seorang analis akan mengambil hasil akhir yang telah divalidasi (misalnya, kadar abu dalam tepung terigu adalah 0,58%) dan membandingkannya dengan persyaratan yang tercantum dalam standar yang relevan (misalnya, SNI 3751:2018 untuk Tepung Terigu, yang mungkin menetapkan kadar abu maksimum 0.60% untuk kualitas tertentu). Berdasarkan perbandingan ini, sebuah kesimpulan ditarik: dalam kasus ini, produk tersebut "memenuhi" persyaratan standar.

Penting untuk selalu menggunakan edisi terbaru dari standar yang relevan dan untuk memahami basis dari persyaratan tersebut (misalnya, apakah batas dinyatakan dalam basis basah atau kering). Pernyataan kesesuaian dalam laporan analisis memiliki implikasi komersial dan hukum yang signifikan. Ini adalah dasar bagi produsen untuk melepaskan produk ke pasar, bagi importir untuk menerima kiriman, atau bagi regulator untuk mengambil tindakan penegakan hukum. Oleh karena itu, perbandingan ini harus dilakukan dengan cermat, dengan mempertimbangkan ketidakpastian pengukuran untuk memastikan keputusan yang dibuat dapat dipertahankan.

Rangkuman

1. Jaminan Mutu (QA) adalah sistem manajemen komprehensif yang bertujuan untuk mencegah kesalahan dan memastikan hasil laboratorium sesuai dengan tujuan, sementara Kendali Mutu (QC) adalah kegiatan teknis sehari-hari untuk memantau sistem tersebut.
2. Sistem QA yang efektif mencakup dokumentasi (SOP), manajemen personel, kalibrasi dan pemeliharaan peralatan, ketertelusuran, dan partisipasi dalam uji profisiensi.
3. Bahan Referensi Standar (*Certified Reference Material*, CRM) adalah "standar emas" yang digunakan untuk menilai akurasi suatu metode analisis dengan membandingkan hasil lab dengan nilai yang disertifikasi.

4. Interpretasi data melibatkan evaluasi hasil dalam konteks ketidakpastian pengukurannya dan membandingkannya dengan kriteria atau spesifikasi yang relevan.
5. Laporan analisis profesional (Sertifikat Analisis) adalah dokumen formal yang harus secara jelas dan lengkap mengkomunikasikan semua informasi relevan, termasuk identitas sampel, metode yang digunakan, hasil, satuan, ketidakpastian, dan otorisasi.
6. Perbandingan hasil dengan standar mutu seperti SNI atau ISO adalah langkah kritis yang mengubah data teknis menjadi pernyataan kesesuaian (memenuhi/tidak memenuhi syarat), yang memiliki implikasi komersial dan hukum.

Latihan Mahasiswa

Soal Esai

1. Jelaskan perbedaan antara Jaminan Mutu (QA) dan Kendali Mutu (QC) di laboratorium analisis. Berikan dua contoh kegiatan QC yang akan Saudara lakukan saat menganalisis kadar protein menggunakan metode Kjeldahl.
2. Mengapa penggunaan *Certified Reference Material* (CRM) dianggap sebagai cara terbaik untuk mengevaluasi akurasi suatu metode analisis? Mengapa CRM tidak digunakan untuk pemantauan rutin sehari-hari?
3. Uraikan elemen-elemen kunci yang harus ada dalam sebuah Sertifikat Analisis yang profesional. Mengapa penting untuk mencantumkan referensi metode yang digunakan?
4. Jelaskan proses langkah demi langkah yang Saudara lakukan setelah mendapatkan hasil absorbansi dari spektrofotometer hingga Saudara dapat menarik kesimpulan apakah sampel minuman ringan tersebut memenuhi batas maksimum pewarna Sunset Yellow yang ditetapkan dalam SNI.

5. Apa yang dimaksud dengan ketidakpastian pengukuran? Jelaskan mengapa melaporkan hasil sebagai $20,4 \pm 0,7$ g/100g lebih informatif dan benar secara ilmiah daripada hanya melaporkan 20,4 g/100g.

Soal Pilihan Ganda

1. Keseluruhan sistem, kebijakan, dan prosedur yang dirancang untuk mencegah kesalahan dan memastikan kualitas di laboratorium disebut...
 - A. Kendali Mutu (QC)
 - B. Validasi Metode
 - C. Jaminan Mutu (QA)
 - D. Kalibrasi
2. Kegiatan menganalisis standar cek setiap 10 sampel untuk memantau kinerja HPLC adalah contoh dari...
 - A. Jaminan Mutu (QA)
 - B. Kendali Mutu (QC)
 - C. Audit Eksternal
 - D. Uji Profisiensi
3. Parameter kinerja metode yang paling baik dievaluasi dengan menganalisis *Certified Reference Material* (CRM) adalah...
 - A. Presisi
 - B. Akurasi
 - C. Batas Deteksi
 - D. Linearitas
4. Dokumen yang memberikan instruksi kerja yang sangat rinci untuk melakukan suatu analisis spesifik adalah...
 - A. Manual Mutu
 - B. Sertifikat Analisis (CoA)
 - C. Prosedur Operasional Standar (SOP)
 - D. *Logbook* Instrumen
5. Standar nasional yang menjadi acuan untuk mutu berbagai produk di Indonesia adalah...

- A. ISO
 - B. AOAC
 - C. SNI
 - D. Codex Alimentarius
6. Berikut ini yang BUKAN merupakan elemen wajib dalam sebuah Sertifikat Analisis adalah...
- A. Identitas sampel yang jelas
 - B. Hasil analisis dengan satuan
 - C. Harga dari analisis yang dilakukan
 - D. Referensi metode analisis yang digunakan
7. Kemampuan untuk melacak kembali sebuah hasil analisis ke sampel asli, analisis, dan instrumen yang digunakan disebut...
- A. Presisi
 - B. Akurasi
 - C. Ketertelusuran (*Traceability*)
 - D. Validasi
8. Tujuan utama dari partisipasi dalam uji profisiensi adalah untuk...
- A. Mengkalibrasi instrumen laboratorium
 - B. Mendapatkan CRM secara gratis
 - C. Mengevaluasi kinerja laboratorium dibandingkan dengan laboratorium lain
 - D. Melatih analisis baru
9. Jika batas maksimum cemaran logam adalah 2,0 ppm dan hasil analisis adalah $1,9 \pm 0,2$ ppm, maka kesimpulan yang paling tepat adalah...
- A. Sampel pasti aman
 - B. Sampel pasti tidak aman
 - C. Sampel tidak dapat dipastikan memenuhi syarat karena rentang ketidakpastiannya mencakup batas maksimum
 - D. Analisis harus diulang karena hasilnya terlalu dekat dengan batas

10. Standar internasional yang menetapkan persyaratan umum untuk kompetensi laboratorium pengujian dan kalibrasi adalah...
- A. ISO 9001
 - B. ISO 14001
 - C. ISO/IEC 17025
 - D. SNI 3751:2018

Studi Kasus atau Tugas Kontekstual

Sebuah pabrik keripik kentang mengirimkan sampel produknya ke laboratorium Saudara untuk dianalisis kadar lemaknya. Metode yang Saudara gunakan adalah Soxhlet (AOAC 920.39) dan hasil yang diperoleh adalah 32,7 g/100g. Standar Nasional Indonesia (SNI 01-4031-1996) untuk keripik kentang menetapkan syarat mutu kadar lemak maksimum adalah 30%. Dengan asumsi ketidakpastian pengukuran metode Saudara adalah $\pm 1,5$ g/100g.

- (1) Tuliskan hasil lengkap yang seharusnya Saudara laporkan.
- (2) Tuliskan pernyataan kesesuaian (interpretasi) dari hasil tersebut terhadap standar SNI.
- (3) Sebutkan setidaknya 5 elemen yang harus Saudara sertakan dalam Sertifikat Analisis akhir yang akan dikirimkan ke pabrik tersebut.

Glosarium

- 1. **Akurasi (*Accuracy*):** Kedekatan antara hasil pengukuran tunggal dengan nilai sebenarnya. Dalam praktiknya, ini adalah kombinasi dari ketepatan (*trueness*) dan presisi.
- 2. **Bahan Referensi Standar (*Certified Reference Material, CRM*):** Suatu bahan referensi yang nilai propertinya disertifikasi oleh prosedur yang valid secara metrologis, disertai dengan ketidakpastian dan ketertelusuran.
- 3. **Jaminan Mutu (*Quality Assurance, QA*):** Seluruh sistem dan tindakan terencana yang diperlukan untuk memberikan keyakinan

- yang memadai bahwa hasil akan memenuhi persyaratan kualitas yang diberikan.
4. **Kalibrasi:** Serangkaian operasi yang menetapkan, di bawah kondisi tertentu, hubungan antara nilai yang ditunjukkan oleh instrumen ukur dan nilai yang sesuai dari standar.
 5. **Kendali Mutu (*Quality Control, QC*):** Kegiatan teknis operasional yang digunakan untuk memenuhi persyaratan kualitas; bagian d
 6. **Ketertelusuran (*Traceability*):** Properti hasil pengukuran di mana hasil tersebut dapat dihubungkan ke referensi yang dinyatakan melalui rantai kalibrasi yang tidak terputus, masing-masing memberikan kontribusi pada ketidakpastian pengukuran.
 7. **Ketidakpastian Pengukuran (*Measurement Uncertainty*):** Parameter non-negatif yang mengarakterisasi penyebaran nilai kuantitas yang diatribusikan ke besaran ukur, berdasarkan informasi yang digunakan.
 8. **Laporan Analisis (*Certificate of Analysis, CoA*):** Dokumen resmi yang dikeluarkan oleh laboratorium yang menyatakan hasil pengujian pada sampel tertentu.
 9. **Presisi (*Precision*):** Kedekatan kesepakatan antara hasil-hasil pengukuran independen yang diperoleh di bawah kondisi yang ditetapkan.
 10. **SOP (*Standard Operating Procedure*):** Prosedur Operasional Standar; seperangkat instruksi tertulis yang mendokumentasikan cara melakukan aktivitas atau tugas rutin.
 11. **Validasi Metode:** Proses untuk mengonfirmasi, melalui penyediaan bukti objektif, bahwa persyaratan untuk penggunaan atau aplikasi spesifik yang dimaksud telah dipenuhi.

REFERENSI

- Agregan, R. et al (2021) Foodomic-Based Approach for the Control and Quality Improvement of Dairy Products. *Metabolites*, 11(12):818
- Aguirre, J. (2023). The Kjeldahl Method:140 Years. Springer
- Alhotan, R., Pesti, G., & Billard, L. (2024). The linear relationship between true protein and nitrogen contents of feed and food ingredients: calculating true protein from a new conversion factor. *Cogent Food & Agriculture*, 10(1), 2428821.
- Andrade-Eiroa, Á., Canle, M., & Cerdá, V. (2019). Spectrophotometric techniques in food analysis. In *Encyclopedia of analytical science* (3rd ed., pp. 248-259). Elsevier.
- AOAC International. (2019). *Official methods of analysis* (21st ed.). AOAC International.
- AOCC. (2022). *Official methods and recommended practices of the AOCS* (7th ed.). American Oil Chemists' Society.
- Aparicio, R., & Aparicio-Ruiz, R. (2022). Authentication of vegetable oils by spectroscopic techniques. In *Encyclopedia of food chemistry* (Vol. 3, pp. 317-325). Elsevier.
- Araujo, P. (2021). Key aspects of analytical method validation and linearity in regression analysis. *Journal of Chromatography B*, 1184, 122962.
- Atkins, P., & de Paula, J. (2022). *Physical chemistry* (12th ed.). Oxford University Press.
- Aurand, L. W., Woods, A. E., & Wells, M. R. (2021). *Food composition and analysis*. Springer Science & Business Media.
- Badan Standardisasi Nasional. (2021). *SNI 01-2894-2021: Cara uji cemaran kimia - Bagian 1: Penentuan boraks dalam makanan*. BSN.
- Badan Standardisasi Nasional. (2023). *Sistem standardisasi dan penilaian kesesuaian di Indonesia*. BSN.
- Ball, G. F. M. (2005). *Vitamins in foods: Analysis, bioavailability, and stability*. CRC Press.

- Barber, T. M., Kabisch, S., Pfeiffer, A. F. H., & Weickert, M. O. (2020). The health benefits of dietary fibre. *Nutrients*, 12(10), 3209.
- Barwick, V. (Ed.). (1990). *Handbook of quality assurance for the analytical chemistry laboratory* (3rd ed.). Royal Society of Chemistry.
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2021). *Food chemistry* (5th ed.). Springer.
- Bellinghieri, C., Giacoppo, G., Schincaglia, A., Ferrara, D., Purcaro, G., Cavazzini, A., Pasti, L., Stevanin, C., Chenet, T., Marchetti, N., Maietti, A., Franchina, F., & Beccaria, M. (2025). Applicability of MTBE-based lipid extraction methods assisted by microwave in food analysis. Statistical comparison and greenness evaluation with Soxhlet and Matyash. *Talanta*, 299, 129124.
- BeMiller, J. N. (2018). *Carbohydrate chemistry for food scientists* (3rd ed.). AACC International Press.
- Bonazzi, C., and Dumoulin, E. (2014). "Quality changes in food materials as influenced by drying processes," in *Modern Drying Technology*, eds E. Tsotsas, and A. Mujumdar (Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA), 1–20. doi: 10.1002/9783527631728
- Boss, C. B., & Fredeen, K. J. (2004). *Concepts, instrumentation, and techniques in inductively coupled plasma optical emission spectrometry* (4th ed.). Perkin Elmer, Inc.
- Bradley, R. L. (2022). Moisture and total solids analysis. In *Food analysis* (6th ed., pp. 129-152). Springer.
- Brereton, R. G., & Lloyd, G. R. (2018). *Chemometrics: Data analysis for the laboratory and chemical plant*. John Wiley & Sons.
- Broekaert, W. F., & Delcour, J. A. (2021). Analysis of carbohydrates. In *Encyclopedia of food and health* (pp. 671-679). Academic Press.
- Burns, D. A., & Ciurczak, E. W. (Eds.). (2021). *Handbook of near-infrared analysis* (4th ed.). CRC Press.
- Butcher, D. J. (2022). Atomic absorption and atomic emission spectroscopy: A comparison. *Journal of Chemical Education*, 99(3), 1335-1342.
- Chaplin, M. F. (1995). *Carbohydrate analysis: A practical approach*. Oxford University Press.

- Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2021). *Analytical chemistry* (7th ed.). John Wiley & Sons.
- Christie, W. W., & Han, X. (2010). *Lipid analysis: Isolation, separation, identification and lipidomic analysis* (4th ed.). The Oily Press.
- Combs, G. F., & McClung, J. P. (2017). *The vitamins: Fundamental aspects in nutrition and health* (6th ed.). Academic Press.
- Cunniff, P. (Ed.). (2021). *Official methods of analysis of AOAC International* (22nd ed.). AOAC International.
- Das, S. K. et al (2020). Perspective: Opportunities and Challenges of Technology Tools in Dietary and Activity Assessment: Bridging Stakeholder Viewpoints. *Adv Nutr* 2022;13,1–15
- De Levie, R. (2004). *Advanced excel for scientific data analysis*. Oxford University Press.
- DeVries, J. W., & Rader, J. I. (2021). The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World*, 66(4).
- Downes, F. P., & Ito, K. (Eds.). (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (5th ed.). American Public Health Association.
- Dunnivant, F.M. & Ginsbach, J. W. (2024). *Essential Methods of Instrumental Analysis*. Willey.
- Egan, A. R. (2017). *Animal Nutrition and Feed Science Engineering* 3, 586-587.
- Eitenmiller, R. R., Ye, L., & Landen, W. O. (2016). *Vitamin analysis for the health and food sciences* (2nd ed.). CRC Press.
- El Hosry, L., Sok, N., Richa, R., Al Mashtoub, L., Cayot, P. & Bou-Maroun, E. (2023). Sample Preparation and Analytical Techniques in the Determination of Trace Elements in Food: A Review. *Foods*. 12(4):895
- Ellison, S. L. R., & Williams, A. (Eds.). (2022). *Eurachem/CITAC guide: Quantifying uncertainty in analytical measurement* (4th ed.). Eurachem.
- Esbensen, K. H., & Julius, F. M. (2020). Theory of sampling: The missing link in food and feed quality management. *Journal of AOAC International*, 103(4), 856-865.

- Etheridge, R. D., Croteau, S. L., & Ross, J. A. (2021). A review of nitrogen analysis methods for food and feed. *Journal of AOAC International*, 104(5), 1149-1155.
- Eurachem. (2020). *Eurachem guide: The fitness for purpose of analytical methods – A laboratory guide to method validation and related topics* (2nd ed.).
- European Food Safety Authority. (2022). Harmonisation of risk assessment terminology. *EFSA Journal*, 20(5), e07321.
- European Food Safety Authority. (2022). Re-evaluation of the existing exposure and toxicity data for food colours. *EFSA Journal*, 20(3), e07120.
- Farkas, J. (2020). Distillation methods for moisture determination. In *Encyclopedia of analytical science* (3rd ed., pp. 245-251). Elsevier.
- Fennema, O. R. (2017). *Fennema's food chemistry* (5th ed.). CRC Press.
- Fodor, M., Matkovits, A., Benes, E. L. & Jokai, Z. (2024). The Role of Near-Infrared Spectroscopy in Food Quality Assurance: A Review of the Past Two Decades. *Foods* 13(21):3501
- Fontana, A. J. (2007). Water activity: Principles and measurement. In *Water activity in foods* (3rd ed., pp. 21-44). Wiley-Blackwell.
- Giese, J. H. (2021). Rapid and automated methods for moisture analysis. *Food Technology*, 75(3), 64-68.
- Gore, M. G. (Ed.). (2020). *Spectrophotometry & spectrofluorimetry: A practical approach* (2nd ed.). Oxford University Press.
- Griffiths, P. R., & de Haseth, J. A. (2007). *Fourier transform infrared spectrometry* (2nd ed.). John Wiley & Sons.
- Grob, R. L., & Barry, E. F. (2004). *Modern practice of gas chromatography* (5th ed.). John Wiley & Sons.
- Gropper, S. S., Smith, J. L., & Carr, T. P. (2021). *Advanced nutrition and human metabolism* (8th ed.). Cengage Learning.
- Gross, J. (1987). *Pigments in fruits*. Academic Press.
- Gunstone, F. D. (2009). *Oils and fats in the food industry*. Wiley-Blackwell.
- Gy, P. M. (1998). *Sampling for analytical purposes*. John Wiley & Sons.

- Harris, D. C. (2019). *Quantitative chemical analysis* (10th ed.). W. H. Freeman.
- Hartel, R. W., von Elbe, J. H., & Hofberger, R. (2018). *Confectionery science and technology*. Springer.
- Heldman, D. R. (2018). Principles of food drying. In *Handbook of food engineering* (3rd ed., pp. 489-548). CRC Press.
- Hibbert, D. B. (2007). *Quality assurance in the analytical chemistry laboratory*. Oxford University Press.
- Hurst, W. J., Martin R. A., & Zoumas, B. L. (1979). Application Of HPLC To Characterization of Individual Carbohydrates in Foods. *Journal of Food Science*, Vol. 44 (3), 892-895
- Inczedy, J., Mester, Z., & Schwedt, G. (2022). *Compendium of analytical nomenclature: Definitive rules 2021*. Royal Society of Chemistry.
- Indrayanto, G. (2022) "Application of Accuracy and Precision Evaluations Based on the Current United States and Indonesian Pharmacopoeias: A Critical Review,"
- Makara Journal of Science: Vol. 26: Iss. 4, Article 1.
- Ingle, J. D., & Crouch, S. R. (2010). *Spectrochemical analysis* (2nd ed.). Prentice Hall.
- ISO/IEC 17025. (2017). *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories*. International Organization for Standardization.
- ISO Guide 30. (2015). *Reference materials, selected terms and definitions*. International Organization for Standardization.
- Johnson, M., & Williams, R. (2021). *Chemical analysis in the food industry: Principles and applications*. Academic Press.
- Karabagias, I. K. (2020). Advances of Spectrometric Techniques in Food Analysis and Food Authentication Implemented with Chemometrics. *Foods*, 9, 1-4
- Karel, M., & Lund, D. B. (2003). *Physical principles of food preservation* (2nd ed.). Marcel Dekker.

- Kargelis, T., Lam, Z., & Mangan, D. (2026). Chromatographic considerations and maltitol interference in dietary fiber analysis. *Journal of AOAC International*.
- Kazakevich, Y., & LoBrutto, R. (Eds.). (2021). *HPLC for pharmaceutical scientists*. John Wiley & Sons.
- King, B. (1991). *Practical instrument calibration for laboratories*. John Wiley & Sons.
- Kirk, R. S., & Sawyer, R. (2020). *Pearson's composition and analysis of foods* (9th ed.). Longman Scientific & Technical.
- Knowles, A., & Burgess, C. (Eds.). (2020). *Practical absorption spectrometry: UV spectrometry group*. Springer.
- Kruger, N. J. (2019). The Lowry and BCA methods of protein quantitation. In *The Protein Protocols Handbook* (pp. 17-24). Humana Press.
- Labuza, T. P., & Altunakar, B. (2021). Water activity and food preservation. In *Food preservation technology* (pp. 3-28). Springer.
- Lal, R. (2017). Soil nitrogen and the C/N ratio. In *Encyclopedia of soil science* (3rd ed., pp. 1-10). CRC Press.
- Larkin, P. J. (2018). *Infrared and Raman spectroscopy: Principles and spectral interpretation* (2nd ed.). Elsevier.
- Latimer, G. W. (Ed.). (2021). *Official methods of analysis of AOAC International* (22nd ed.). AOAC International.
- Lindsay, S. (1992). *High performance liquid chromatography* (2nd ed.). John Wiley & Sons.
- Lohman, T. M. (2020). A practical guide to the measurement of macromolecular concentration. In *Methods in Enzymology* (Vol. 644, pp. 1-36). Academic Press.
- Maeder, M. & Neuhold, Y. M. (2007). *Practical Data Analysis in Chemistry*. Elsevier.
- Magnusson, B., & Örnemark, U. (Eds.). (2014). *Eurachem guide: The fitness for purpose of analytical methods – A laboratory guide to method validation and related topics* (2nd ed.). Eurachem.
- Marshall, M. R. (2022). Ash analysis. In S. S. Nielsen (Ed.), *Food analysis* (6th ed., pp. 153-164). Springer.

- McClements, D. J. (2018). *Food analysis: Principles and techniques*. CRC Press.
- McMaster, M. C. (Ed.). (2008). *GC-MS: A practical user's guide* (2nd ed.). John Wiley & Sons.
- McNair, H. M., Miller, J. M., & Snow, N. H. (2019). *Basic gas chromatography* (3rd ed.). John Wiley & Sons.
- Megazyme International. (2023). *Glucose assay kit (GOPOD format) procedure*. Megazyme.
- Mester, Z., & Sturgeon, R. (Eds.). (2003). *Sample preparation for trace element analysis*. Elsevier.
- Meyer, V. R. (2013). *Practical high-performance liquid chromatography* (6th ed.). John Wiley & Sons.
- Miller, G. D. (2023). *Animal nutrition and feed science*. Waveland Press.
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2018). *Statistics and chemometrics for analytical chemistry* (7th ed.). Pearson.
- Minkinen, P. (2022). Introduction to the theory and practice of sampling. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 225, 104561.
- Moldoveanu, S. C., & David, V. (2021). *Modern sample preparation for chromatography*. Elsevier.
- Moreau, R. A., Nyström, L., & Whitaker, B. D. (2018). Phytosterols and their derivatives. In *Encyclopedia of food chemistry* (pp. 269-275). Elsevier.
- Mratinkovie, a. et al. (2022). Introduction to Food Science. E-book edition
- Muller, J. (2017). Dumas or Kjeldahl for reference analysis? Comparison and considerations for Nitrogen/Protein analysis of food and feed. FOSS Denmark.
- Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., & Davies, T. (2002). *A user-friendly guide to multivariate calibration and classification*. NIR Publications.
- Nielsen, S. S. (Ed.). (2023). *Food analysis* (6th ed.). Springer.
- Noble, J. E., & Bailey, M. J. A. (2018). Quantitation of protein. In *Methods in Enzymology* (Vol. 463, pp. 73-95). Academic Press.
- Novick, R. (2020). Calculation of energy and nutrients for nutrition labeling. In *Food Analysis* (pp. 589-604). Springer.

- O'Brien, R. D. (2009). *Fats and oils: Formulating and processing for applications* (3rd ed.). CRC Press.
- Olszewska-Pastuszek, D., Suchorab, Z., Tabis, K., & Pluta, K. (2025). Application of Karl Fischer titration method to determine moisture content of building materials. *Measurement*, 252, 118363.
- Osborne, D. R., & Voogt, P. (2018). *The analysis of nutrients in foods*. Academic Press.
- Ottaway, P. B. & Jennings, S. (2021). Chemical Contaminants of Food. CRN UK.
- Owen, T. (2000). *Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy: A primer*. Agilent Technologies.
- Pace, C. N., Vajdos, F., & Hebert, E. (1995). Measuring the molar absorption coefficient of a protein. In *Current Protocols in Protein Science* (Vol. 113, e53). Wiley.
- Paoletti, F., & Pellegrini, N. (2022). Sample preparation in food analysis: A critical review on modern techniques. *Trends in Food Science & Technology*, 129, 135-146.
- Parker, R. & Pace, R. (2017). *Introduction to Food Science & Food Systems*. DMCA.
- Pasquini, C. (2018). Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives – A review. *Analytica Chimica Acta*, 1026, 8-36.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2008). *Introduction to spectroscopy* (6th ed.). Cengage Learning.
- Pérez-Gálvez, A., Viera, I., & Roca, M. (2020). Carotenoids and chlorophylls. In *Encyclopedia of food chemistry* (Vol. 1, pp. 245-251). Elsevier.
- Piccoli, R. H., da Silva, J. A., & Bicas, J. L. (2022). Recent advances in sample preparation for food analysis. *Current Opinion in Food Science*, 47, 100889.
- Pomeranz, Y., & Meloan, C. E. (2020). *Food analysis: Theory and practice* (3rd ed.). Aspen Publishers.
- Poole, C. F. (2002). *The essence of chromatography*. Elsevier.

- Prior, B. A. (1979). Measurement of Water Activity in Foods: A Review. *J Food Prot.* 42(8):668-674
- Rahman, M. S. & Labuza, T. P. (2020). Water Activity and Food Preservation in *Handbook of food preservation* (3rd ed.). CRC Press.
- Reh, C., & Schmidt, T. C. (2013). Sample homogenization techniques in analytical chemistry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 415, 2231–2250.
- Robinson, J. W., & Frame, E. M. S. (2014). *Undergraduate instrumental analysis* (7th ed.). CRC Press.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2016). *Food carotenoids: Chemistry, biology and technology*. John Wiley & Sons.
- Roos, Y. H. (2016). Water activity and glass transition in foods. In *Phase transitions in foods* (2nd ed., pp. 247-280). Academic Press.
- Rydzak, T., Baszanowska, E., & Poblócka-Olech, L. (2022). Review of chromatographic methods for the determination of sugars in food samples. *Molecules*, 27(19), 6296.
- Saez-Plaza, P., Michalowski, T., Jose, N. M., Garcia A. A., Wybraniec, S. (2013). An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part I. Early History, Chemistry of the Procedure, and Titrimetric Finish. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(4), 178-223
- Sapan, C. V. et al (1999). Colorimetric protein assay techniques. *Biotechnol & Appl. Biochem* 29, 99-108.
- Sawyer, D. T., Heineman, W. R., & Beebe, J. M. (1991). *Chemistry experiments for instrumental methods*. John Wiley & Sons.
- Schmidt, S. J. (2010). Water and solids mobility in foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 12, 399-419.
- Scholz, E. (2012). *Karl Fischer titration: Determination of water*. Springer Science & Business Media.
- Semba, R. D. (2021). The discovery of the vitamins. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 77(Suppl. 1), 1-8.
- Serna-Saldivar, S. O. (2016). *Cereal grains: Properties, processing, and nutritional attributes*. CRC Press.

- Shahidi, F., & Wanasundara, P. K. J. P. D. (2017). Extraction and analysis of lipids. In *Food lipids: Chemistry, nutrition, and biotechnology* (4th ed., pp. 125-156). CRC Press.
- Shalliker, R. A. (Ed.). (2020). *Separation science in theory and practice*. Springer.
- Sherma, J. (2021). A review of thin-layer chromatography in food analysis, 2018–2020. *Journal of AOAC International*, 104(4), 859-873.
- Singh, S. (2024). Assessment of moisture content analytical methods of food products, nutraceuticals and Ayurvedic products in small-scale and industrial operations in developing countries: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 143, 104220.
- Singleton, V. L. (2010). Enzymatic browning and its prevention. In *Food Chemistry* (4th ed., pp. 653-677). CRC Press.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2021). *Fundamentals of analytical chemistry* (10th ed.). Cengage Learning.
- Small, D. M. (1986). The physical chemistry of lipids. In *The lipids: Handbook* (Vol. 4). Springer.
- Smith, B. C. (2018). *Infrared spectral interpretation: A systematic approach* (2nd ed.). CRC Press.
- Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W. (2010). *Introduction to modern liquid chromatography* (3rd ed.). John Wiley & Sons.
- Stover, P. J., & Shils, M. E. (2020). Vitamin analysis. In *Modern nutrition in health and disease* (12th ed., pp. 1450-1472). Jones & Bartlett Learning.
- Strobel, H. J. (2021). Enzymatic determination of carbohydrates. In *Food analysis* (6th ed., pp. 251-267). Springer.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., & Suhardi. (2019). *Prosedur analisa untuk bahan makanan dan pertanian*. Liberty.
- Syamaladevi, R. M., Tang, J., & Sablani, S. S. (2020). Water activity and its measurement in foods. In *Encyclopedia of food security and sustainability* (Vol. 2, pp. 314-320). Elsevier.
- Sylvetsky, A. C., & Rother, K. I. (2018). Trends in the consumption of low-calorie sweeteners. *Physiology & Behavior*, 190, 1-6.

- Szuhaj, B. F., Yeo, J. D. & Shahidi, F. (2020). *Lecithins, Edible Oil and Fat Product: Specialty Oils and Oil Product*. Wiley.
- Taylor, J. K., & Cihon, C. (2004). *Statistical techniques for data analysis* (2nd ed.). CRC Press.
- Thomas, R. (2013). *Practical guide to ICP-MS: A tutorial for beginners* (3rd ed.). CRC Press.
- Thompson, L., & Hocking, A. D. (2022). *Food additives and contaminants: Analysis and regulation*. Wiley.
- Thompson, L. U., & Rucker, R. B. (2003). Methods for vitamin and mineral analysis. In *Food Analysis* (5th ed., pp. 321-358). Springer.
- Thompson, M., Ellison, S. L. R., & Wood, R. (2002). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 94(5), 563-596.
- U.S. Food and Drug Administration. (2023). *CFR - Code of Federal Regulations Title 21*. Retrieved from <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=101.9>
- Vaclavik, V. A., Christian, E. W., & Campbell, T. (2021). *Essentials of food science* (5th ed.). Springer.
- Van Nieuwenhuyzen, W., & Suzhaj, B. F. (2005). Lecithin and other phospholipids. In *Bailey's industrial oil and fat products* (Vol. 3, pp. 1-47). John Wiley & Sons.
- Vanhaecke, F., & Degryse, P. (Eds.). (2012). *Isotopic analysis: Fundamentals and applications using ICP-MS*. Wiley-VCH.
- Walstra, P. (2021). *Physical chemistry of foods*. CRC Press.
- Watson, D. H. (Ed.). (2001). *Food chemical safety: A food industry perspective*. John Wiley & Sons.
- Welz, B., & Sperling, M. (2005). *Atomic absorption spectrometry* (4th ed.). Wiley-VCH.
- Westgard, J. O. & Lott, J. A. (2008). Precision and Accuracy: Concepts and Assessment by Method Evaluation Testing. *CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 13(4), 283–330

- Wold, S., Esbensen, K., & Geladi, P. (1987). Principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 221, 104471.
- Wrolstad, R. E., & Smith, J. (2017). Food analysis. In *Introduction to food science and food systems* (2nd ed., pp. 419-456). Springer.
- Xia, B., Sun, D. W., & Pu, H. (2020). A review of chemometrics in food analysis. *Food Chemistry*, 319, 126553.

GLOSARIUM

1. **Absorbansi:** Ukuran jumlah cahaya yang diserap oleh sampel pada panjang gelombang tertentu; nilainya tidak bersatuan.
2. **Abu (*Ash*):** Residu anorganik yang tersisa setelah semua materi organik dalam sampel dihilangkan melalui pembakaran sempurna.
3. **Akurasi (*Accuracy*):** Ukuran kedekatan hasil analisis dengan nilai konsentrasi analit yang sebenarnya. Dalam praktik, ini adalah kombinasi dari ketepatan (*trueness*) dan presisi.
4. **Aktivitas Air (*Aw*):** Ukuran ketersediaan atau energi bebas air dalam suatu sistem. Didefinisikan sebagai rasio tekanan uap air di atas bahan terhadap tekanan uap air murni pada suhu yang sama.
5. **Analit:** Komponen atau zat kimia spesifik dalam sampel yang menjadi target identifikasi atau kuantifikasi dalam suatu analisis.
6. **Angka Penting (*Significant Figures*):** Digit-digit dalam suatu nilai terukur yang diketahui dengan pasti ditambah satu digit terakhir yang merupakan estimasi.
7. **Antosianin:** Kelas pigmen flavonoid yang larut dalam air, bertanggung jawab atas warna merah, ungu, dan biru pada banyak tanaman.
8. **AOAC International:** Organisasi profesional global yang mempublikasikan metode analisis kimia dan mikrobiologi yang terstandarisasi dan tervalidasi.
9. **Asam Lemak:** Asam karboksilat dengan rantai alifatik (hidrokarbon) yang panjang, merupakan komponen dasar dari banyak lipid.
10. **Atomisasi:** Proses mengubah analit (misalnya, ion logam dalam larutan) menjadi atom-atom bebas dalam fasa gas, yang merupakan prasyarat untuk analisis spektroskopi atomik.
11. **Azeotrop:** Campuran dua atau lebih cairan yang memiliki komposisi uap yang sama dengan komposisi cairnya, sehingga mendidih pada suhu konstan.
12. **Bahan Referensi Standar (*Certified Reference Material, CRM*):** Suatu bahan referensi yang nilai propertinya disertifikasi oleh prosedur

yang valid secara metrologis, disertai dengan ketidakpastian dan ketertelusuran.

13. **Bahan Tambahan Pangan (BTP):** Bahan yang ditambahkan dengan sengaja ke dalam makanan dalam jumlah kecil untuk memengaruhi sifat atau karakteristik makanan tersebut.
14. **Basis Kering (*Dry Basis*):** Cara menyatakan komposisi suatu bahan sebagai persentase dari total padatan setelah semua air dihilangkan.
15. **Benzoat (Asam Benzoat/Natrium Benzoat):** Pengawet antimikroba yang diizinkan, efektif dalam kondisi asam untuk menghambat pertumbuhan ragi dan jamur.
16. **Bioassay:** Uji kuantitatif yang menggunakan respons terukur dari organisme hidup untuk menentukan potensi suatu zat, seperti vitamin.
17. **Boraks:** Senyawa kimia (natrium tetraborat) yang dilarang penggunaannya dalam makanan, tetapi disalahgunakan untuk meningkatkan kekenyalan dan sebagai pengawet.
18. **Derivatisasi:** Proses modifikasi kimia suatu senyawa untuk mengubahnya menjadi senyawa lain dengan sifat yang lebih cocok untuk analisis (misalnya, lebih volatil untuk GC).
19. **Desikator:** Wadah tertutup kedap udara yang berisi bahan pengering (desikan) untuk mendinginkan dan menyimpan benda (seperti cawan) dalam atmosfer kering untuk mencegah penyerapan kelembaban.
20. **Digesti:** Dalam metode Kjeldahl, proses dekomposisi matriks sampel menggunakan asam kuat dan panas untuk mengubah nitrogen organik menjadi amonium sulfat.
21. **Digesti Asam (*Acid Digestion*):** Sinonim untuk metode pengabuan basah, yaitu proses dekomposisi sampel menggunakan asam-asam pengoksidasi.
22. **Distilasi:** Proses pemisahan komponen dari campuran cair berdasarkan perbedaan titik didih. Dalam metode Kjeldahl, digunakan untuk memisahkan amonia volatil dari larutan.
23. **Ekstraksi Pelarut (*Solvent Extraction*):** Proses pemisahan suatu zat dari matriksnya dengan cara melarutkannya dalam pelarut cair.

24. **Faktor Konversi:** Angka yang digunakan untuk mengalikan persentase nitrogen total untuk mengestimasi persentase protein kasar.
25. **FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*):** Turunan dari asam lemak di mana gugus karboksilatnya diubah menjadi ester metil, membuatnya cukup volatil untuk dianalisis dengan GC.
26. **Fasa Diam (*Stationary Phase*):** Bagian dari sistem kromatografi yang tidak bergerak, di mana interaksi dengan analit menyebabkan pemisahan.
27. **Fasa Gerak (*Mobile Phase*):** Cairan atau gas yang mengalir melalui sistem kromatografi dan membawa analit bersamanya.
28. **Formalin:** Larutan formaldehida dalam air, merupakan disinfektan kuat dan karsinogenik yang dilarang penggunaannya dalam makanan tetapi disalahgunakan sebagai pengawet.
29. **Fortifikasi:** Proses penambahan satu atau lebih mikronutrien (seperti vitamin atau mineral) ke dalam bahan pangan untuk meningkatkan nilai gizinya.
30. **Fotolabilitas:** Sifat suatu senyawa kimia yang membuatnya rentan terhadap dekomposisi atau perubahan struktur akibat paparan cahaya, terutama cahaya UV.
31. **FTIR (*Fourier-Transform Infrared*):** Spektroskopi Inframerah Transformasi Fourier, sebuah teknik untuk mendapatkan spektrum inframerah dengan mengukur interferogram dan mengubahnya secara matematis. Bekerja di wilayah Mid-IR.
32. **GC (*Gas Chromatography*):** Kromatografi Gas, teknik pemisahan untuk senyawa yang mudah menguap.
33. **Gula Pereduksi:** Karbohidrat yang memiliki gugus aldehida atau keton bebas yang mampu bertindak sebagai agen pereduksi dalam larutan basa.
34. **HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Points*):** Sebuah sistem manajemen keamanan pangan yang preventif dan sistematis untuk mengidentifikasi, mengevaluasi, dan mengendalikan bahaya yang signifikan bagi keamanan pangan.

35. **Hidrofobik:** Sifat "takut air" dari suatu molekul atau permukaan, yang cenderung menolak air.
36. **Hidrolisis:** Reaksi kimia di mana molekul air digunakan untuk memecah ikatan kimia, seperti pemecahan pati menjadi glukosa.
37. **Homogenisasi:** Proses mengurangi ukuran partikel dan mencampur sampel secara menyeluruh untuk memastikan bahwa setiap bagian kecil (aliquot) dari sampel memiliki komposisi yang identik.
38. **HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*):** Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, sebuah teknik analisis untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan menguantifikasi komponen dalam suatu campuran.
39. **Hukum Beer-Lambert:** Prinsip fisika yang menyatakan hubungan linear antara absorbansi, konsentrasi, dan panjang jalur cahaya dalam larutan.
40. **ICP (*Inductively Coupled Plasma*):** Sumber eksitasi berenergi sangat tinggi yang menggunakan gas argon terionisasi (plasma) untuk mengatomisasi dan mengeksitasi elemen-elemen dalam sampel untuk analisis emisi.
41. **Interferensi Matriks:** Efek dari semua komponen lain dalam sampel (matriks) yang dapat meningkatkan atau mengurangi sinyal respons dari analit, sehingga menyebabkan hasil analisis menjadi tidak akurat.
42. **Isoterm Sorpsi Kelembaban (*Moisture Sorption Isotherm*):** Kurva yang menggambarkan hubungan kesetimbangan antara kadar air suatu produk dengan aktivitas air (atau kelembaban relatif) pada suhu konstan.
43. **Jaminan Mutu (*Quality Assurance, QA*):** Seluruh sistem dan tindakan terencana yang diperlukan untuk memberikan keyakinan yang memadai bahwa hasil akan memenuhi persyaratan kualitas yang diberikan.
44. **Kalibrasi:** Serangkaian operasi yang menetapkan, di bawah kondisi tertentu, hubungan antara nilai yang ditunjukkan oleh instrumen ukur dan nilai yang sesuai dari standar.

45. **Karbohidrat:** Senyawa biomolekul yang terdiri dari atom karbon, hidrogen, dan oksigen, biasanya dengan rasio hidrogen-oksigen 2:1 seperti pada air.
46. **Karotenoid:** Kelas pigmen terpenoid yang larut dalam lemak, bertanggung jawab atas warna kuning, oranye, dan merah. Beberapa di antaranya adalah prekursor Vitamin A.
47. **Kemometrik:** Penggunaan metode matematika dan statistik untuk menganalisis data kimia dan mengekstraksi informasi yang relevan.
48. **Kendali Mutu (*Quality Control, QC*):** Kegiatan teknis operasional yang digunakan untuk memenuhi persyaratan kualitas; bagian dari QA.
49. **Kesalahan Acak (*Random Error*):** Kesalahan yang menyebabkan data hasil pengukuran berulang tersebar secara acak di sekitar nilai rerata. Mempengaruhi presisi.
50. **Kesalahan Sistematis (*Systematic Error*):** Kesalahan yang menyebabkan rerata hasil pengukuran bergeser secara konsisten dari nilai sebenarnya. Mempengaruhi akurasi.
51. **Ketertelusuran (*Traceability*):** Properti hasil pengukuran di mana hasil tersebut dapat dihubungkan ke referensi yang dinyatakan melalui rantai kalibrasi yang tidak terputus, masing-masing memberikan kontribusi pada ketidakpastian pengukuran.
52. **Ketidakpastian Pengukuran (*Measurement Uncertainty*):** Parameter non-negatif yang mengarakterisasi penyebaran nilai kuantitas yang diatribusikan ke besaran ukur, berdasarkan informasi yang digunakan.
53. **Klorofil:** Pigmen hijau yang ditemukan di kloroplas tanaman, penting untuk fotosintesis.
54. **Koefisien Determinasi (R^2):** Ukuran statistik (antara 0 dan 1) yang menunjukkan seberapa baik data pada plot pencar sesuai dengan model regresi linear.
55. **Koefisien Variasi (*CV*):** Ukuran presisi relatif, dihitung sebagai rasio standar deviasi terhadap rerata, biasanya dinyatakan dalam persen.
56. **Kolorimeter:** Instrumen yang mengukur warna secara objektif berdasarkan tiga koordinat (misalnya, Lab^*).

57. **Kolorimetri:** Teknik analisis yang menentukan konsentrasi suatu zat dengan mengukur absorbansi cahaya dari larutan berwarna yang dihasilkannya.
58. **Kromatogram:** Grafik yang dihasilkan dari analisis kromatografi, memplotkan respons detektor terhadap waktu atau volume elusi.
59. **Kromatografi Lapis Tipis (TLC):** Teknik kromatografi yang digunakan untuk memisahkan campuran, di mana fase diam adalah lapisan tipis adsorben pada plat.
60. **Kurva Standar:** Grafik yang menghubungkan respons dari suatu instrumen analitis dengan konsentrasi analit yang telah diketahui dari serangkaian larutan standar.
61. **Lambda Maksimum (λ_{max}):** Panjang gelombang di mana suatu zat kimia menunjukkan serapan cahaya yang paling kuat.
62. **Laporan Analisis (*Certificate of Analysis*, CoA):** Dokumen resmi yang dikeluarkan oleh laboratorium yang menyatakan hasil pengujian pada sampel tertentu.
63. **Lemak Kasar (*Crude Fat*):** Total material yang diekstraksi dari sampel pangan menggunakan pelarut nonpolar, yang mencakup trigliserida serta lipid lain yang larut dalam pelarut tersebut.
64. **Lipid Majemuk:** Lipid yang selain mengandung asam lemak dan alkohol, juga mengandung gugus lain seperti fosfat (fosfolipid) atau karbohidrat (glikolipid).
65. **Lipid Sederhana:** Ester dari asam lemak dengan berbagai alkohol. Contoh utamanya adalah lemak dan minyak (trigliserida).
66. **Matriks Pangan:** Keseluruhan komponen dalam suatu bahan pangan selain analit yang sedang dianalisis.
67. **Metode Biuret:** Metode kolorimetri untuk protein berdasarkan pembentukan kompleks berwarna antara ion tembaga(II) dan ikatan peptida dalam suasana basa.
68. **Metode Bradford:** Metode kolorimetri sensitif untuk protein berdasarkan pergeseran spektrum absorbansi zat warna Coomassie Brilliant Blue G-250 saat berikatan dengan protein.

69. **Metode Dumas:** Metode pembakaran untuk penentuan nitrogen total, di mana sampel dibakar dan gas N₂ yang dihasilkan diukur.
70. **Metode Kjeldahl:** Metode kimia basah klasik yang menjadi referensi untuk penentuan nitrogen total dalam sampel organik.
71. **Mineral:** Elemen-elemen anorganik yang esensial untuk nutrisi (misalnya, Ca, Fe, K) atau yang menjadi perhatian sebagai kontaminan (misalnya, Pb, Hg).
72. **Monokromator:** Perangkat optik yang mentransmisikan pita panjang gelombang cahaya yang sempit secara mekanis yang dipilih dari rentang panjang gelombang yang lebih luas.
73. **Monosakarida:** Gula paling sederhana, seperti glukosa atau fruktosa, yang menjadi unit pembangun karbohidrat yang lebih kompleks.
74. **NIR (*Near-Infrared*):** Spektroskopi Inframerah Dekat, teknik analisis non-destruktif yang cepat, ideal untuk analisis kuantitatif bahan curah.
75. **Nitrogen Non-Protein (NPN):** Senyawa-senyawa yang mengandung nitrogen yang bukan merupakan protein, seperti asam amino bebas, amida, dan asam nukleat.
76. **Oligosakarida:** Karbohidrat yang terdiri dari dua hingga sepuluh unit monosakarida.
77. **Pati:** Polisakarida penyimpan energi utama pada tanaman, terdiri dari polimer glukosa (amilosa dan amilopektin).
78. **Pemanis Buatan (Non-nutritif):** BTP yang memberikan rasa manis dengan intensitas tinggi tetapi mengandung sedikit atau tanpa kalori.
79. **Pencilan (*Outlier*):** Sebuah titik data dalam serangkaian pengukuran yang tampak sangat berbeda atau jauh dari titik data lainnya.
80. **Pengawet:** BTP yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan mikroba perusak, sehingga memperpanjang umur simpan produk.
81. **Pengabuan Basah (*Wet Ashing*):** Metode dekomposisi sampel organik menggunakan asam-asam pengoksidasi kuat pada suhu relatif rendah untuk menganalisis kandungan mineral.
82. **Pengabuan Kering (*Dry Ashing*):** Metode penentuan kadar abu total dengan memanaskan sampel pada suhu sangat tinggi (500-600°C) di udara.

83. **Pewarna Sintetik:** Zat warna yang diproduksi melalui sintesis kimia, digunakan sebagai bahan tambahan pangan untuk memberi atau memulihkan warna.
84. **Pigmen:** Senyawa kimia berwarna yang secara alami terdapat dalam jaringan tumbuhan atau hewan.
85. **Polisakarida:** Karbohidrat kompleks berantai panjang yang terdiri dari banyak unit monosakarida yang terhubung.
86. **Preparasi Sampel:** Serangkaian langkah (misalnya, penggilingan, ekstraksi, pengenceran) yang dilakukan pada sampel laboratorium untuk membuatnya cocok untuk dianalisis dengan metode tertentu.
87. **Presisi (*Precision*):** Ukuran kedekatan atau reproduibilitas dari serangkaian hasil pengukuran yang diperoleh dari analisis berulang pada sampel yang sama.
88. **Protein Kasar (*Crude Protein*):** Estimasi kandungan protein total dalam sampel, dihitung dengan mengalikan kandungan nitrogen total dengan faktor konversi.
89. **Rerata (*Mean*):** Nilai rata-rata aritmatika dari satu set data, dihitung dengan menjumlahkan semua nilai dan membaginya dengan jumlah nilai.
90. **Rhodamine B:** Pewarna sintetik berwarna merah fuchsia yang digunakan untuk industri tekstil dan cat, bersifat karsinogenik dan dilarang untuk digunakan dalam makanan.
91. **Sakarin:** Salah satu pemanis buatan tertua, ratusan kali lebih manis dari sukrosa.
92. **Sampel Representatif:** Sebagian kecil dari suatu lot atau populasi yang komposisi kimianya secara akurat mencerminkan komposisi rata-rata dari lot atau populasi tersebut.
93. **Saponifikasi:** Reaksi hidrolisis suatu ester (seperti lemak) menggunakan larutan basa (alkali) untuk menghasilkan alkohol dan garam dari asam karboksilat (sabun). Dalam analisis vitamin, digunakan untuk melepaskan vitamin larut lemak dari matriks lemak.

94. **Senyawa Bioaktif:** Senyawa dalam makanan (selain nutrisi esensial) yang dapat memberikan efek fisiologis atau biologis pada tubuh, berpotensi memengaruhi kesehatan.
95. **Serat Makanan (*Dietary Fiber*):** Bagian dari bahan tanaman yang tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan manusia.
96. **Serat Larut (*Soluble Fiber*):** Fraksi serat makanan yang larut dalam air dan diendapkan oleh alkohol, seperti pektin dan beta-glukan.
97. **Serat Tidak Larut (*Insoluble Fiber*):** Fraksi serat makanan yang tidak larut dalam air setelah digesti enzimatik, seperti selulosa dan lignin.
98. **Siklamat:** Pemanis buatan yang sering digunakan dalam kombinasi dengan pemanis lain.
99. **SOP (*Standard Operating Procedure*):** Prosedur Operasional Standar; seperangkat instruksi tertulis yang mendokumentasikan cara melakukan aktivitas atau tugas rutin.
100. **Sorbat (Asam Sorbat/Kalium Sorbat):** Pengawet antimikroba yang diizinkan, efektif dalam kondisi asam terutama untuk menghambat pertumbuhan jamur.
101. **Soxhlet:** Nama alat laboratorium dan metode ekstraksi pelarut semikontinu untuk memisahkan lipid dari sampel padat.
102. **Spektrofotometer:** Instrumen yang mengukur jumlah foton (intensitas cahaya) yang diserap setelah melewati larutan sampel.
103. **Spektrofotometri:** Metode analisis yang mengukur jumlah cahaya yang diserap oleh suatu zat kimia sebagai fungsi dari panjang gelombang.
104. **Spektroskopi Serapan Atom (AAS):** Teknik analisis instrumental untuk kuantifikasi elemen berdasarkan penyerapan radiasi optik oleh atom-atom bebas dalam fasa gas.
105. **Standar Deviasi (*Standard Deviation*):** Ukuran statistik yang mengkuantifikasi jumlah variasi atau sebaran dari satu set nilai data di sekitar rerata.
106. **Tanur Pengabuan (*Muffle Furnace*):** Jenis oven laboratorium yang mampu mencapai suhu sangat tinggi yang diperlukan untuk proses pengabuan kering.

107. **Termolabilitas:** Sifat suatu senyawa kimia yang membuatnya rentan terhadap dekomposisi atau perubahan struktur akibat paparan panas.
108. **Titiasi:** Teknik analisis kimia kuantitatif di mana konsentrasi suatu analit ditentukan dengan mengukur volume larutan standar (titran) yang dibutuhkan untuk bereaksi sempurna dengannya.
109. **Titiasi Karl Fischer:** Metode titrimetri yang akurat dan spesifik untuk menentukan kadar air berdasarkan reaksi kimia antara air dengan iodine dan sulfur dioksida.
110. **Transesterifikasi:** Reaksi kimia yang mengubah satu jenis ester menjadi jenis ester lain. Dalam analisis lipid, ini merujuk pada konversi trigliserida menjadi FAMES.
111. **Trigliserida (Triasilgliserol):** Ester yang terbentuk dari satu molekul gliserol dan tiga molekul asam lemak, merupakan bentuk utama penyimpanan lemak dalam tubuh dan komponen utama minyak dan lemak pangan.
112. **Uji Benang Wol:** Metode skrining kualitatif untuk pewarna sintetik asam berdasarkan kemampuannya untuk mewarnai benang wol secara permanen dalam kondisi asam.
113. **Uji Kualitatif:** Analisis yang bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan atau ketiadaan suatu zat, tanpa mengukur jumlahnya.
114. **Uji Kuantitatif:** Analisis yang bertujuan untuk menentukan jumlah atau konsentrasi suatu zat secara spesifik.
115. **Uji Mikrobiologis:** Metode analisis yang menggunakan pertumbuhan mikroorganisme yang bergantung pada nutrisi spesifik untuk mengukur konsentrasi nutrisi tersebut.
116. **Uji Q (*Q-Test*):** Uji statistik sederhana yang digunakan untuk memutuskan apakah sebuah data pencilan (*outlier*) dapat ditolak dari satu set data kecil.
117. **UHPLC (*Ultra-High Performance Liquid Chromatography*):** Versi HPLC yang lebih canggih, menggunakan partikel fasa diam yang lebih kecil dan tekanan lebih tinggi untuk mencapai pemisahan yang lebih cepat dan efisien.

118. **Validasi Metode:** Proses untuk mengonfirmasi, melalui penyediaan bukti objektif, bahwa persyaratan untuk penggunaan atau aplikasi spesifik yang dimaksud telah dipenuhi.
119. **Vitamer:** Salah satu dari beberapa senyawa kimia terkait yang menunjukkan aktivitas biologis dari suatu vitamin tertentu.
120. **Volatilisasi:** Proses penguapan atau sublimasi suatu zat. Dalam analisis abu, ini merujuk pada hilangnya beberapa elemen mineral pada suhu tinggi.