

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit Pisang

Pemanfaatan tanaman pisang pada saat ini hanya sebatas dikonsumsi buahnya dan menjadikan daun pisang sebagai bungkus makanan. Sedangkan bagian yang lainnya seperti bonggol pisang dan kulit pisang akan dibuang begitu saja.

Kulit pisang biasanya dibuang saja tanpa dimanfaatkan sama sekali. Kulit pisang yang buahnya banyak ditanam dan menjadi konsumsi di negeri ini adalah buah dan makanan populer. Adanya upaya pemanfaatan limbah pisang ini telah memberikan banyak pilihan untuk mendayagunakannya dari sekedar sampah saja.



Gambar 1. Kulit Pisang

Sumber: (<http://dewisworld.com>)

Dari satu buah pisang yang dijual dipasaran (misal pisang kepok) terdapat sekitar 40 gram limbah yang akan dibuang yaitu kulit pisang. Dari kenyataan tersebut dapat dibandingkan apabila konsumsi pisang terus bertambah maka penumpukan kulit pisang pun akan terjadi yang akan berdampak pada lingkungan sekitar. Maka dibutuhkan pengolahan limbah tersebut agar lebih bermanfaat misalnya dalam pembuatan sirup glukosa.

Hasil analisis kimia pada kulit pisang kepok menunjukkan bahwa komposisi kulit pisang mengandung air yaitu 68,90% dan karbohidrat sebesar 18,50%. Komposisi kulit pisang kepok dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 1. Komposisi Kulit Pisang Kepok Per 100 Gram Bahan

No.	Zat Gizi	Kadar
1	Air (g)	68,90
2	Karbohidrat (g)	18,50
3	Lemak (g)	2,11
4	Protein (g)	0,32
5	Kalsium (mg)	715
6	Fosfor (mg)	117
7	Zat besi (mg)	1,60
8	Vitamin B (mg)	0,12
9	Vitamin C (mg)	17,50

Sumber: Balai Penelitian dan Pengembangan Industri, (1982).

Karbohidrat atau Hidrat Arang yang dikandung kulit pisang adalah amilum. Amilum atau pati ialah jenis polisakarida karbohidrat (karbohidrat kompleks). Amilum (pati) tidak larut dalam air, berwujud bubuk putih, tawar dan tidak berbau. Pati merupakan bahan utama yang dihasilkan oleh tumbuhan untuk menyimpan kelebihan glukosa (sebagai produk fotosintesis) dalam jangka panjang. Hewan dan manusia juga menjadikan pati sebagai sumber energi yang penting. Amilum merupakan sumber energi utama bagi orang dewasa di seluruh penduduk dunia, terutama di negara berkembang oleh karena di konsumsi sebagai bahan makanan pokok.

2.2 Hidrolisis Pati Menjadi Glukosa

Pati adalah karbohidrat yang berbentuk polisakarida berupa polimer anhidro monosakarida dengan rumus umum $(C_6H_{10}O_5)_n$. Secara kimia, karbohidrat adalah senyawa yang tersusun oleh unsur karbon, hidrogen dan oksigen, dengan rumus empirik $C_n(H_2O)_m$.

Berdasarkan jumlah karbohidrat sederhana yang dihasilkan pada proses hidrolisis, karbohidrat dapat digolongkan menjadi :

a. Monosakarida

Monosakarida adalah karbohidrat yang tidak dapat dihidrolisis menjadi bentuk yang lebih sederhana. Macam – macam monosakarida antara lain: glukosa, fruktosa, galaktosa dan mannososa.

b. Disakarida

Disakarida adalah karbohidrat yang tersusun dari 2 molekul monosakarida yang dihubungkan oleh ikatan glikosida. Macam – macam disakarida antara lain: maltosa, sellobiosa, sukrosa dan laktosa.

c. Polisakarida

Polisakarida merupakan polimer monosakarida, mengandung banyak satuan monosakarida yang dihubungkan oleh ikatan glikosida. Hidrolisis lengkap dari polisakarida akan menghasilkan monosakarida. Macam – macam polisakarida antara lain: amilum, glikogen dan selulosa.

Pati merupakan salah satu jenis polisakarida yang amat luas tersebar di alam dan disimpan oleh tanaman sebagai cadangan makanan di dalam biji buah maupun di dalam umbi batang dan umbi akar. Unit terkecil dari rantai pati adalah glukosa yang merupakan hasil fotosintesis di dalam bagian tubuh tumbuh-tumbuhan yang mengandung klorofil. Pati tersusun atas ikatan α - D-glikosida. Molekul glukosa pada pati dan selulosa berbeda dalam ikatannya, α dan β , juga sifat-sifat kimia kedua senyawa ini sangat jauh berbeda (Trifosa, 2007). Proses hidrolisis pati yaitu pengubahan molekul pati menjadi monomernya atau unit-unit penyusunnya seperti glukosa.

Glukosa ($C_6H_{12}O_6$) merupakan monosakarida yang paling banyak terdapat di alam sebagai produk dari proses fotosintesis. Dalam bentuk bebas terdapat dalam buah – buahan, tumbuh – tumbuhan dan madu. Glukosa juga dapat dihasilkan melalui hidrolisis disakarida dan polisakarida.

Berikut ini merupakan sifat – sifat dari glukosa, yaitu:

a. Sifat Fisik

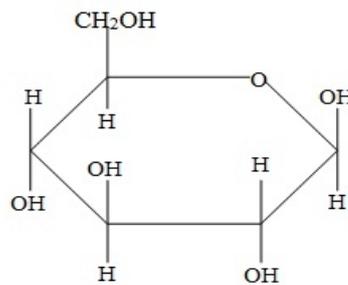
1. Berbentuk padat pada suhu kamar
2. Mempunyai warna putih dan rasa yang manis
3. Dapat memutar bidang polarisasi cahaya kekanan sebesar 90°

4. Bila dipanaskan melebihi titik didihnya akan terbentuk karamel (cairan)

b. Sifat Kimia

1. Tersusun atas unsur karbon, hidrogen dan oksigen
2. Merupakan reduktor kuat
3. Dapat difermentasi menghasilkan etil alkohol dan gas CO₂
4. Merupakan sumber energi utama bagi tubuh
5. Dapat larut dalam air
6. Dapat terbentuk melalui hidrolisa secara enzimatik dan non-enzimatik

Dibawah ini adalah gambar struktur glukosa:



Gambar 2. Struktur Glukosa

Glukosa yang dalam penggunaannya mempunyai peranan penting khususnya di bidang farmasi, pengawetan makanan, pembuatan minuman beralkohol dan juga merupakan salah satu bahan baku pada pembuatan gula sintesis yang digunakan pada penderita diabetes mellitus.

Tabel 2. Syarat Mutu Sirup Glukosa

Faktor Penentu	Syarat
Kadar air	% Maks. 20
Kadar gula	% Maks. 30
Kadar abu	% Maks. 1
Warna	Tidak berwarna sampai kekuningan

Sumber : SII.0418-81

Hidrolisis adalah istilah umum yang dipergunakan untuk menyebut reaksi suatu zat dengan air. Hidrolisis atau dalam bahasa Inggris disebut sebagai “*Hydrolysis*” berasal dari kata “*hydro*” artinya air dan “*lysis*” artinya penguraian, jadi hidrolisis bisa diartikan sebagai penguraian oleh air. Hidrolisis adalah pemecahan molekul gula, pati dan selulosa yang kompleks menjadi molekul monosakarida, mudah dilakukan dalam laboratorium dengan mendidihkan larutan atau suspensi karbohidrat itu dengan larutan asam encer (Pujaatmaka, 1986).

Hidrolisis pati dapat dilakukan dengan bantuan asam atau enzim pada suhu, pH dan waktu reaksi tertentu. Pemotongan rantai pati oleh asam lebih tidak teratur dibandingkan dengan hasil pemotongan rantai pati oleh enzim. Hasil pemotongan oleh asam adalah campuran dekstrin, maltosa dan glukosa. Sementara enzim bekerja secara spesifik sehingga hasil hidrolisis dapat dikendalikan (Trifosa, 2007). Aplikasi hasil hidrolisis pati antara lain:

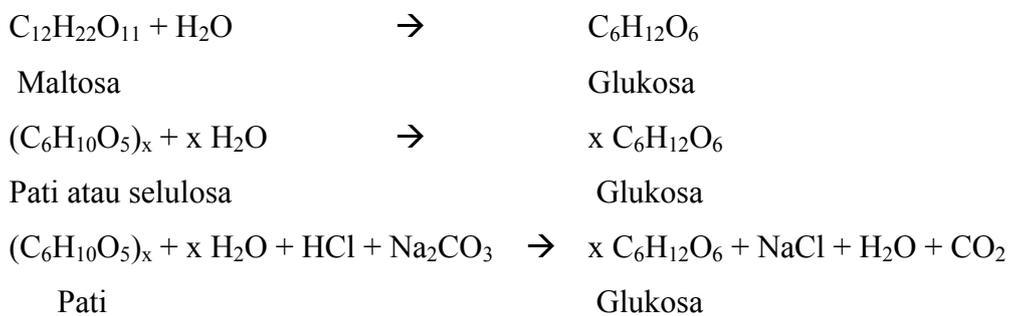
1. Industri makanan dan minuman menggunakan sirup glukosa hasil hidrolisis pati sebagai pemanis.
2. Produk akhir hidrolisis pati adalah glukosa yang dapat dijadikan bahan baku untuk produksi fruktosa dan sorbitol.
3. Banyak digunakan dalam industri obat-obatan.
4. Glukosa yang dihasilkan dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan Bioetanol.

2.2.1 Hidrolisis Secara Non – Enzimatik

Pati dapat diubah menjadi glukosa (gula) dengan proses hidrolisi menggunakan asam. Proses hidrolisis asam lebih sederhana dan biayanya lebih murah. Hidrolisis dapat menggunakan HCl encer atau H_2SO_4 encer. Jika hidrolisis dengan HCl maka larutan gula dinetralkan dengan Na_2CO_3 dan akan membentuk NaCl yang akan mempengaruhi dari gula yang dihasilkan karena garam tersebut kelarutannya dalam air sangat besar. Bila dilakukan dengan menggunakan H_2SO_4 akan dinetralkan menggunakan $Ca(OH)_2$ dan akan membentuk $CaSO_4$ yang tidak larut dalam air panas tetapi sedikit larut dalam air dingin sehingga diperlukan saringan khusus untuk pencucian berulang-ulang. Asam klorida disini selain

sebagai pelarut juga berfungsi sebagai katalis. Hidrolisis pati dengan asam memerlukan suhu tinggi, namun hidrolisis dapat dilakukan pada suhu rendah tetapi konsentrasi asam yang digunakan sangat tinggi. Hidrolisis tepung pisang dengan konsentrasi 0 N – 0,15 N dan temperatur 80°C – 100°C diperoleh kadar glukosa optimum sebesar 29,49% (Fadilla, 2008).

Pembuatan glukosa dengan menggunakan maltosa, pati dan selulosa membentuk hanya glukosa pada hidrolisis sempurna, reaksinya dapat ditulis sebagai berikut:



Salah satu jenis asam yang dapat digunakan pada proses hidrolisis pati secara non-enzimatik adalah asam klorida. Asam klorida merupakan asam monoprotik yang paling sulit menjalani reaksi redoks dan juga merupakan asam kuat yang paling tidak berbahaya untuk ditangani dibandingkan dengan asam kuat lainnya. Walaupun bersifat asam, asam klorida mengandung ion klorida yang tidak reaktif dan tidak beracun. Asam klorida dalam konsentrasi menengah cukup stabil untuk disimpan dan terus mempertahankan konsentrasinya. Oleh karena alasan inilah asam klorida merupakan reagen pengasam yang sangat baik. Lebih dari 90% HCl dibuat sebagai produk samping klorinasi senyawa organik.

2.2.2 Hidrolisis Secara Enzimatik

Proses hidrolisis secara enzimatik adalah penguraian suatu senyawa menjadi senyawa lain dengan bantuan enzim. Dalam proses ini digunakan enzim amilase yang berfungsi memecah pati. Amilase dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan enzim, yaitu α -amilase terdapat pada tanaman, jaringan mamalia dan mikroba. α -amilase murni dapat diperoleh dari sumbernya, misalnya dari malt

(*barley*), ludah manusia dan pankreas. Enzim ini akan dapat aktif pada kondisi suhu 60 - 90°C dan pH 6 – 6,5.

Enzim β -amilase ini terdapat pada berbagai hasil tanaman, tetapi tidak terdapat pada mamalia dan mikroba. Secara murni dapat diisolasi dari kecambah *barley*, ubi jalar dan kacang kedelai. Enzim ini dapat aktif pada pH 5 – 6 dan temperatur 60°C dan mempunyai sifat fisik lebih berat dari enzim α -amilase. Enzim glukoamilase ini dapat aktif pada pH 4 – 5 dan suhu optimal 50 – 60°C.

Secara umum hidrolisis enzimatik memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan hidrolisis asam, tetapi hidrolisis enzimatik juga memiliki beberapa masalah. Seringkali hidrolisis enzimatik memerlukan waktu beberapa hari, sedangkan untuk hidrolisis asam hanya memerlukan waktu beberapa menit saja. Harga enzim cukup mahal dibandingkan dengan asam klorida atau asam sulfat yang murah.

Tabel 3. Perbandingan Antara Hidrolisis Asam dan Hidrolisis Enzimatik

Variabel Pembanding	Hidrolisis	Hidrolisis
	Asam	Enzimatik
Kondisi hidrolisis yang 'lunak' (mild)	Tidak	Ya
Hasil hidrolisis tinggi	Tidak	Ya
Penghambatan produk selama hidrolisis	Tidak	Ya
Pembentukan produk samping yang menghambat	Ya	Tidak
Katalis yang murah	Ya	Tidak
Waktu hidrolisis yang singkat	Ya	Tidak

Sumber : Taherzadeh & Karimi, 2006.

Faktor-faktor yang berpengaruh pada proses hidrolisis antara lain:

a. Suhu Reaksi

Suhu mempengaruhi jalanya reaksi hidrolisis, terutama pada kecepatan reaksinya. Hidrolisis dari pati mengikuti persamaan reaksi orde satu dengan kecepatan reaksi yang berbeda-beda untuk setiap jenis pati. Untuk kisaran suhu 90-100°C, kecepatan reaksi meningkat dua kali lebih cepat setiap kenaikan suhu 5°C. Sedangkan secara keseluruhan, pada umumnya kecepatan reaksi hidrolisis

akan meningkat dua kali lebih cepat setiap kenaikan suhu 10°C . Dengan penggunaan suhu yang lebih tinggi, maka waktu reaksi dapat diminimalkan (Groggins, 1958). Penggunaan suhu tinggi juga dapat meminimalkan penggunaan katalisator sehingga biaya operasional lebih ekonomis. Tapi jika suhu yang dipakai terlalu tinggi, konversi akan menurun. Hal ini disebabkan adanya glukosa yang pecah menjadi arang.

b. Waktu Reaksi

Waktu reaksi mempengaruhi konversi yang dihasilkan. Semakin lama waktu reaksi, maka semakin tinggi pula konversi yang dihasilkan. Hal ini disebabkan oleh kesempatan zat reaktan untuk saling bertumbukan dan bereaksi semakin besar, sehingga konversi yang dihasilkan semakin tinggi.

c. Konsentrasi Katalis

Penggunaan katalisator pada reaksi hidrolisis dilakukan pertama kali oleh Braconnot pada 1819. Beliau menghidrolisis linen (selulosa) menjadi gula fermentasi dengan menggunakan asam sulfat pekat. Setelah itu ditemukan bahwa asam dapat digunakan sebagai katalisator untuk mempercepat reaksi hidrolisis (Groggins, 1958). Katalisator yang biasa digunakan berupa asam, yaitu asam klorida, asam sulfat, asam sulfit, asam nitrat, atau yang lainnya. Makin banyak asam yang dipakai sebagai katalisator, makin cepat jalannya reaksi hidrolisa. Penggunaan katalisator dengan konsentrasi kecil (larutan encer) lebih disukai karena akan memudahkan pencampuran sehingga reaksi dapat berjalan merata dan efektif. Penggunaan konsentrasi katalisator yang kecil dapat mengurangi kecepatan reaksi. Namun hal ini dapat diatasi dengan menaikkan suhu reaksi.

d. Kadar Suspensi Selulosa

Perbandingan antara air dan selulosa dapat membuat reaksi hidrolisis berjalan dengan cepat. Bila air berlebihan, maka tumbukan antara selulosa dan air akan berkurang dan akan memperlambat jalannya reaksi.

e. Netralisasi

Proses hidrolisis yang dilakukan dalam penelitian ini merupakan proses hidrolisis partial, sehingga diperlukan penghentian reaksi agar tak terjadi pemecahan senyawa lebih lanjut. Proses hidrolisis diakhiri dengan menghentikan

pemanasan yang dilakukan dalam autoclave, dan menetralisasi suasana asam. Kondisi asam oleh asam klorida dinetralisasi dengan larutan natrium karbonat.

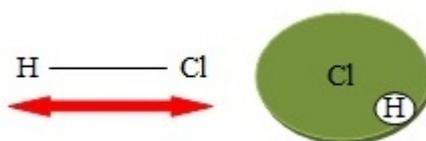


Penambahan larutan natrium karbonat sebanyak 15 ml dengan konsentrasi tertentu sesuai dengan perhitungan berdasarkan konsentrasi dari HCl yang berbeda-beda, sampai kondisi larutan menjadi netral ($\text{pH} \pm 7$).

2.3 Asam Klorida / Hidrogen Klorida (HCl)

a. Definisi

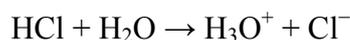
Asam klorida adalah larutan akuatik dari gas hidrogen klorida (HCl). Ia adalah asam kuat, dan merupakan komponen utama dalam asam lambung. Senyawa ini juga digunakan secara luas dalam industri. Asam klorida harus ditangani dengan wewanti keselamatan yang tepat karena merupakan cairan yang sangat korosif.



Gambar 3. Struktur HCl

b. Sifat Kimia Asam Klorida (HCl)

Hidrogen klorida (HCl) adalah asam monoprotik, yang berarti bahwa ia dapat berdisosiasi melepaskan satu H^+ hanya sekali. Dalam larutan asam klorida, H^+ ini bergabung dengan molekul air membentuk ion hidronium, H_3O^+



Ion lain yang terbentuk adalah ion klorida, Cl^- . Asam klorida oleh karenanya dapat digunakan untuk membuat garam klorida, seperti natrium klorida. Asam klorida adalah asam kuat karena ia berdisosiasi penuh dalam air.

Asam monoprotik memiliki satu tetapan disosiasi asam, K_a , yang mengindikasikan tingkat disosiasi zat tersebut dalam air. Untuk asam kuat seperti HCl, nilai K_a cukup besar. Beberapa usaha perhitungan teoritis telah dilakukan

untuk menghitung nilai K_a HCl. Ketika garam klorida seperti NaCl ditambahkan ke larutan HCl, ia tidak akan mengubah pH larutan secara signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa Cl^- adalah konjugat basa yang sangat lemah dan HCl secara penuh berdisosiasi dalam larutan tersebut. Untuk larutan asam klorida yang kuat, asumsi bahwa molaritas H^+ sama dengan molaritas HCl cukuplah baik, dengan ketepatan mencapai empat digit angka bermakna.

Dari tujuh asam mineral kuat dalam kimia, asam klorida merupakan asam monoprotik yang paling sulit menjalani reaksi redoks. Ia juga merupakan asam kuat yang paling tidak berbahaya untuk ditangani dibandingkan dengan asam kuat lainnya. Walaupun asam, ia mengandung ion klorida yang tidak reaktif dan tidak beracun. Asam klorida dalam konsentrasi menengah cukup stabil untuk disimpan dan terus mempertahankan konsentrasinya. Oleh karena alasan inilah, asam klorida merupakan reagen pengasam yang sangat baik.

Asam klorida merupakan asam pilihan dalam titrasi untuk menentukan jumlah basa. Asam yang lebih kuat akan memberikan hasil yang lebih baik oleh karena titik akhir yang jelas. Asam klorida azeotropik (kira-kira 20,2%) dapat digunakan sebagai standar primer dalam analisis kuantitatif, walaupun konsentrasinya bergantung pada tekanan atmosfernya ketika dibuat.

Asam klorida sering digunakan dalam analisis kimia untuk "mencerna" sampel-sampel analisis. Asam klorida pekat melarutkan banyak jenis logam dan menghasilkan logam klorida dan gas hidrogen. Ia juga bereaksi dengan senyawa dasar semacam kalsium karbonat dan tembaga (II) oksida, menghasilkan klorida terlarut yang dapat dianalisa.

c. Sifat Fisika Asam Klorida (HCl)

Ciri-ciri fisika asam klorida, seperti titik didih, titik leleh, massa jenis, dan pH tergantung pada konsentrasi atau molaritas HCl dalam larutan asam tersebut. Sifat-sifat ini berkisar dari larutan dengan konsentrasi HCl mendekati 0% sampai dengan asam klorida berasap 40% HCl.

d. Kegunaan Asam Klorida dalam kehidupan

1. HCl merupakan bahan baku pembuatan besi (III) klorida (FeCl_3) dan polyaluminium chloride (PAC), yaitu bahan kimia yang digunakan sebagai bahan baku koagulan dan flokulan. Koagulan dan flokulan digunakan pada pengolahan air.
2. Sebagai bahan baku pembuatan vinyl klorida, yaitu monomer untuk pembuatan plastik polyvinyl chloride atau PVC.
3. Asam klorida digunakan pada industri logam untuk menghilangkan karat atau kerak besi oksida dari besi atau baja.
4. Asam klorida dimanfaatkan pula untuk mengatur pH (keasaman) air limbah cair industri, sebelum dibuang ke badan air penerima.
5. HCl digunakan pada proses produksi gelatin dan bahan aditif pada makanan.
6. Di laboratorium, asam klorida biasa digunakan untuk titrasi penentuan kadar basa dalam sebuah larutan.
7. Asam klorida juga berguna sebagai bahan pembuatan cairan pembersih porselen.
8. HCl digunakan pula dalam proses regenerasi resin penukar kation (*cation exchange resin*).
9. Kegunaan-kegunaan lain dari asam klorida diantaranya adalah pada proses produksi baterai, kembang api dan lampu blitz kamera.
10. Campuran asam klorida dan asam nitrat (HNO_3) atau biasa disebut dengan aqua regia, adalah campuran untuk melarutkan emas.
11. Pada skala industri, HCl juga digunakan dalam proses pengolahan kulit.

2.4 Analisa Glukosa

2.4.1 Analisa Kualitatif

Karbohidrat dengan zat tertentu akan menghasilkan warna tertentu yang dapat digunakan untuk analisa kuantitatif. Bila karbohidrat direaksikan dengan larutan naftol dalam alkohol, kemudian ditambahkan H_2SO_4 pekat secara hati-hati, pada batas cairan akan berbentuk furfural yang berwarna ungu. Reaksi ini disebut reaksi *molisch* dan merupakan reaksi umum bagi karbohidrat.

- a. Uji *Molisch*
Dengan prinsip karbohidrat direaksikan dengan α -naftol dalam alkohol kemudian ditambah dengan asam sulfat pekat melalui dinding tabung, (+) bila terbentuk cincin ungu (Sawhney, 2005).
- b. Uji *Barfoed*
Pereaksi terdiri dari Cu-asetat dan asam asetat. Sampel ditambah pereaksi kemudian dipanaskan, endapan merah bata menunjukkan (+) monosakarida (Krause, 2006).
- c. Uji *Benedict*
Pereaksi terdiri dari Cu-sulfat, Na-sitrat dan Na-karbonat. Sampel ditambah pereaksi dan dipanaskan adanya endapan merah coklat menunjukkan adanya gula reduksi.
- d. Uji *Iodium*
Larutan sampel diasamkan dengan HCl kemudian ditambah iodine dalam larutan KI. Warna biru berarti (+) adanya pati kalau warna merah (+) glikogen.
- e. Uji *Seliwanoff*
Pereaksi 3.5 ml resocinol 0,5 % dengan 12 ml HCl pekat diencerkan 3,5 ml dengan aquades setelah sampel ditambah pereaksi dipanaskan. Warna merah cerri menunjukkan positif adanya fruktosa dalam makanan (Winarno, 2004).
- f. Uji *Antron*
Prinsip uji Antron sama dengan uji *Seliwanoff* dan *Molisch* yaitu menggunakan senyawa H_2SO_4 untuk membentuk senyawa furfural lalu membentuk kompleks dengan pereaksi Antron sehingga terbentuk warna biru kehijauan.
- g. Uji *Fehling*
Pereaksi terdiri dari Cu-sulfat dalam suasana alkalis, NaOH, ditambah *Chelating Agent* (kalium natrium tartrat). Sampel ditambah pereaksi dan dipanaskan adanya endapan berwarna merah coklat menunjukkan adanya gula reduksi.

2.4.2 Analisa Kuantitatif

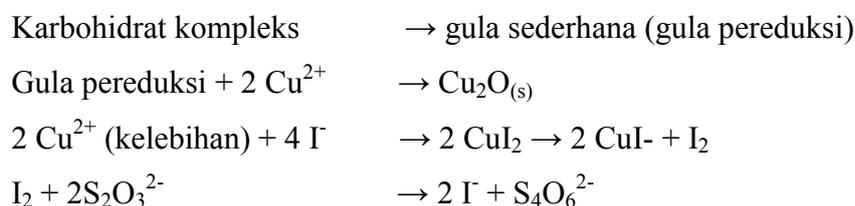
Banyak cara yang dapat digunakan untuk menemukan banyaknya karbohidrat dalam suatu bahan yaitu antara lain dengan cara kimiawi, cara fisik, cara enzimatik atau biokimiawi dan cara kromatografi. Penentuan karbohidrat yang termasuk polisakarida maupun oligosakarida memerlukan perlakuan pendahuluan sehingga diperoleh monosakarida. Untuk keperluan ini, maka bahan dihidrolisis dengan asam atau enzim pada suatu keadaan tertentu.

a. Metode *Luff-Schoorl*

Uji karbohidrat yang resmi ditetapkan oleh BSN dalam SNI 01-2891-1992 yaitu analisis total karbohidrat dengan menggunakan metode *Luff-Schoorl*. Pada tahun 1936, *International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis* mempertimbangkan metode *Luff-Schoorl* sebagai salah satu metode yang digunakan untuk menstandarkan analisis gula pereduksi karena metode *Luff-Schoorl* saat itu menjadi metode yang resmi dipakai di pulau Jawa.

Seluruh senyawa karbohidrat yang ada dipecah menjadi gula-gula sederhana (monosakarida) dengan bantuan asam, yaitu HCl, dan panas. Monosakarida yang terbentuk kemudian dianalisis dengan metode *Luff-Schoorl*. Prinsip analisis dengan metode *Luff-Schoorl* yaitu reduksi Cu^{2+} menjadi Cu^{1+} oleh monosakarida. Monosakarida bebas akan mereduksi larutan basa dari garam logam menjadi bentuk oksida atau bentuk bebasnya. Kelebihan Cu^{2+} yang tidak tereduksi kemudian dikuantifikasi dengan titrasi iodometri (SNI 01-2891-1992).

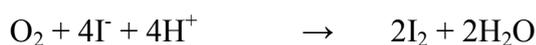
Reaksi yang terjadi :



Osborne dan Voogt (1978) mengatakan bahwa Metode *Luff-Schoorl* dapat diaplikasikan untuk produk pangan yang mengandung gula dengan bobot molekuler yang rendah dan pati alami atau modifikasi. Kemampuan mereduksi dari gugus aldehid dan keton digunakan sebagai landasan dalam mengkuantitasi

gula sederhana yang terbentuk. Tetapi reaksi reduksi antara gula dan tembaga sulfat sepertinya tidak stoikiometris dan sangat tergantung pada kondisi reaksi. Faktor utama yang mempengaruhi reaksi adalah waktu pemanasan dan kekuatan reagen. Penggunaan luas dari metode ini dalam analisis gula adalah berkat kesabaran para ahli kimia yang memeriksa sifat empiris dari reaksi dan oleh karena itu dapat menghasilkan reaksi yang reproduibel dan akurat (Southgate, 1976).

Pereaksi yang digunakan dalam metode *Luff-Schoorl* adalah CH₃COOH 3%, *Luff Schoorl*, KI 20%, Na₂S₂O₃ 0,1 N, NaOH 30%, H₂SO₄ 25%, dan HCl 3%. HCl digunakan untuk menghidrolisis pati menjadi monosakarida, yang akan bereaksi dengan larutan uji *Luff Schoorl* dengan mereduksi ion Cu²⁺ menjadi ion Cu⁺. Setelah proses hidrolisis selesai dilakukan, maka akan ditambahkan NaOH, yang berfungsi untuk menetralkan larutan sampel ditambahkan HCl. Asam asetat digunakan setelah proses penetralan dengan NaOH dengan maksud untuk menciptakan suasana yang sedikit asam. Dalam metode *Luff-Schoorl*, pH harus diperhatikan dengan cermat. Suasana yang terlalu asam akan menimbulkan *overestimated* pada tahap titrasi sebab akan terjadi reaksi oksidasi ion iodide menjadi I₂ (Harjadi, 1994).

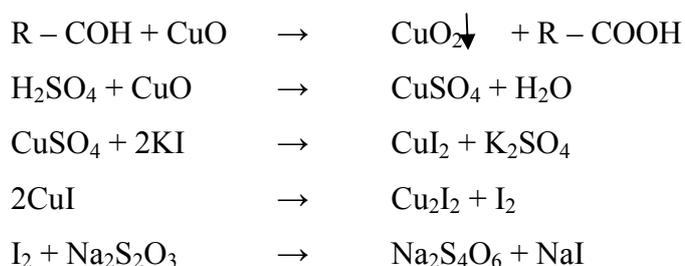


Apabila pH terlalu tinggi (terlalu basa), maka hasil titrasi akan menjadi lebih rendah daripada sebenarnya, karena pada pH tinggi akan terjadi resiko kesalahan, yaitu terjadinya reaksi I₂ yang terbentuk dengan air (hidrolisis). H₂SO₄ ditambahkan untuk mengikat ion tembaga yang terbentuk dari hasil reduksi monosakarida dengan pereaksi *Luff-Schoorl*, kemudian membentuk CuSO₄. KI akan bereaksi dengan tembaga sulfat membentuk buih coklat kehitaman. Langkah terakhir yang dilakukan dalam metode *Luff Schoorl* adalah titrasi dengan natrium tiosulfat (Harjadi, 1994).

Pada penentuan metode ini, yang ditentukan bukanlah kuprooksida yang mengendap tapi kuprioksida dalam larutan sebelum direaksikan dengan gula reduksi (titrasi blanko) dan sesudah direaksikan dengan sampel gula reduksi (titrasi sampel). Penentuan titrasi dilakukan dengan menggunakan Na-tiosulfat.

Selisih titrasi blanko dengan titrasi sampel ekuivalen atau sama dengan jumlah kuprooksida yang terbentuk dan sama dengan jumlah gula reduksi yang ada dalam bahan / larutan. Reaksi yang terjadi selama penentuan karbohidrat cara ini mula-mula kuprooksida yang ada dalam reagen akan membebaskan iod dari garam K-iodida. Banyaknya iod yang dibebaskan ekuivalen dengan banyaknya kuprioksida. Banyaknya iod dapat diketahui dengan titrasi dengan menggunakan Na-tiosulfat. Untuk mengetahui bahwa titrasi sudah cukup maka diperlukan indikator amilum. Apabila larutan berubah warnanya dari biru menjadi putih, adalah menunjukkan bahwa titrasi sudah selesai.

Menurut Sudarmadji (1989), Reaksi yang terjadi dalam penentuan gula menurut luff schoorl dapat diitulisikan sebagai berikut :



b. Metode Enzimatis

Penentuan gula dengan cara enzimatis sangat tepat terutama tujuan penentuan gula tertentu yang ada dalam suatu campuran berbagai macam gula. Cara kimiawi mungkin sulit untuk penentuan secara individual yang ada dalam campuran itu, tetapi dengan cara enzimatis ini penentuan gula tertentu tidak akan mengalami kesulitan karena tiap enzim sudah sangat spesifik untuk gula yang tertentu (Sudarmadji, dkk. 2003).

c. Metode Kromatografi

Perlakuan dengan mengisolasi dan mengidentifikasi karbohidrat dalam suatu campuran ialah cara untuk menentukan karbohidrat dengan cara kromatografi. Isolasi karbohidrat ini berdasarkan prinsip pemisahan suatu campuran berdasarkan atas perbedaan distribusi rasionya pada fase tetap dengan fase bergerak. Fase bergerak dapat berupa zat cair atau gas, sedang fase tetap

dapat berupa zat padat atau zat cair. Apabila zat padat sebagai fase tetapnya maka disebut kromatografi serapan, sedangkan bila zat cair sebagai fase tetapnya maka disebut kromatografi partisi atau sebagian (Sudarmadji, dkk. 2003).