

## **BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1. Ikan**

Secara umum yang dimaksud dengan ikan adalah hewan vertebrata yang berdarah dingin yang hidup di air, perkembangan dan keseimbangan menggunakan sirip pada umumnya, bernapas dengan insang sedangkan ilmu pengetahuan yang membahas tentang ikan dan segala aspek yang berhubungan dengannya adalah Ikhtiologi (Ridwan, 1980). Ikan juga merupakan hewan yang bertulang belakang (vertebrata) yang berdarah dingin (poikilothermal) dimana hidupnya dilingkungan air, pergerakan dan keseimbangan dengan menggunakan sirip serta pada umumnya bernapas dengan insang. (Raharjo, 1980). Menurut Nelson (1984) Ikan adalah kelompok vertebrata yang paling besar jumlahnya. Ikan mendominasi kehidupan perairan diseluruh permukaan bumi. Jumlah spesies ikan yang telah berhasil dicatat adalah sekitar 21000 spesies dan diperkirakan berkembang mencapai 28000 spesies. Jumlah spesies ikan yang hidup dipermukaan bumi adalah 21.723 spesies, sementara jumlah spesies vertebrata yang ada diperkirakan sekitar 43.173 spsies.

Ikan merupakan makanan manusia yang paling utama sejak awal abad dari sejarah manusia. Daging ikan banyak mengandung protein dan lemak, seperti juga pada daging-daging hewan ternak. Daging ikan mudah dicerna dibandingkan tumbuh-tumbuhan. Kadar protein dalam ikan dapat mencapai 13-20%, sedangkan 50-80% berupa air dan selebihnya lemak. Daging ikan banyak mengandung vitamin terutama hatinya. Vitamin tersebut dapat diperoleh dari plankton secara langsung maupun tidak langsung, yang menjadi makanan ikan. Mengingat bahwa  $\frac{3}{4}$  dari permukaan bumi tertutup dari lautan dan banyak perairan tawar yang dihuni bermacam-macam ikan.

Secara teori para ahli memperkirakan ada sekitar dua puluh ribu sampai dengan empat puluh ribu spesies yang mendiami permukaan bumi ini, dan empat ribu diantaranya menghuni perairan Indonesia baik laut, payau, dan perairan tawar. Jumlah spesies ikan yang tercatat di daerah Riau diperkirakan mencapai

tiga ratus spesies ikan. Dari jumlah tersebut antara spesies yang satu dengan yang lainnya



sudah tentu memiliki beberapa kesamaan dan identifikasi, yang pada dasarnya dapat dijadikan sebagai dasar pengklasifikasian.

Dalam perairan Indonesia yang sangat luas ini mengandung  $\pm$  6000 jenis ikan yang belum teridentifikasi dan ini merupakan Sumberdaya hayati perikanan yang potensial bila dikelola secara maksimal. Tanpa mengganggu kelestarian sumberdaya tersebut sehingga akan memberikan sumbangan yang berarti bagi kesejahteraan masyarakat.

Ikan banyak mengandung unsur organik dan anorganik, yang berguna bagi manusia. Ikan perlu ditanganidenganbaikagar tetap dalam kondisi yang layak dikonsumsi oleh masyarakat. Namun ikan juga cepat mengalami proses pembusukan setelah ditangkap dan mati. Hal itu disebabkan ikan memiliki kandungan air yang cukup tinggi sehingga dengan cepat mengalami pembusukan. Adapun komposisi kandungan ikan sebagai berikut:

**Tabel 2.1. Komposisi Ikan**

No	Kandungan	Besaran (%)
1	Protein	16– 24
2	Lemak	0,2– 2,2
3	Air	56-80
4	Mineral (Ca, Na, K, J, Mn), Vitamin(A, B, D) dll	2,5– 4,5

Sumber: Susanto, 2006.

### **Ikan Sepat**

Sepat siam (*Trichopodus pectoralis*) adalah sejenis ikan air tawar anggotasuku (spesis) gurami (Butler, 1994). Gambar dibawah ini merupakan contoh dari ikan sepat yang ada diperairan Indonesia.



**Gambar 2.1. Ikan Sepat**

Sepat siam merupakan ikan konsumsi yang penting, terutama sebagai sumber protein di daerah pedesaan. Selain dijual dalam keadaan segar di pasar, sepat siam kerap diawetkan dalam bentuk ikan asin dan diperdagangkan antar pulau di Indonesia.

Ikan sepat biasanya hidup di rawa dimana ikan ini bertubuh sedang, panjang total mencapai 25cm dengan lebar pipih, dan mulut agak meruncing. Sirip-sirip punggung (*dorsal*), ekor, sirip dada dan sirip dubur berwarna gelap. Sepasang jari-jari terdepan pada sirip perut berubah menjadi alat peraba yang menyerupai cambukatau pecut, yang memanjang hingga ke ekornya, dilengkapi oleh sepasang duri dan 2-3 jumbai pendek. Ikan ini berwarna perak kusam kehitaman sampai agak kehijauan pada hampir seluruh tubuhnya. Terkadang sisi tubuh bagian belakang nampak agak terang berbelang-belang miring. Sejalur bintik besar kehitaman, yang hanya terlihat pada individu berwarna terang, terdapat di sisi tubuh mulai dari belakang mata hingga ke pangkal ekor.

## 2.2 Pengawetan Makanan

Pengawetan makanan adalah cara yang digunakan untuk membuat makanan memiliki daya simpan yang lama dan mempertahankan sifat-sifat fisik dan kimia makanan.

Secara prosesnya teknik pengawetan pangan bisa dibagi menjadi 3 metode yaitu:

1. Cara pengawetan alami

Proses pengawetan alami yang meliputi pemanasan dan pendinginan. Keduanya dilakukan bisa dengan cara modern atau tradisional.

2. Cara pengawetan biologis

Contoh proses pengawetan secara biologis adalah dengan peragian atau fermentasi.

### 3. Cara pengawetan kimiawi

Cara Pengawetan Kimia dengan menggunakan bahan-bahan kimia, seperti gula pasir, garam dapur, nitrat, nitrit, natrium benzoat, asam propionat, asam sitrat, garam sulfat, dan lain-lain.

Terkait dengan sifat ikan yang mudah membusuk ditemukan banyaknya tindakan curang oknum penjual terkait upaya pengawetan agar bisa bertahan lama saat pasar sedang mengalami panen ikan yang melimpah maupun penawaran lebih besar dibandingkan permintaan sehingga mengakibatkan ikan tidak langsung dapat terjual. Ikan yang tidak diawetkan hanya layak untuk dikonsumsi dalam waktu sehari setelah ditangkap. Berbagai cara pengawetan ikan telah banyak dilakukan, tetapi sebagian diantaranya tidak mampu mempertahankan sifat-sifat ikan yang alami. Tindakan yang dilakukan oleh penjual yaitu menambahkan zat kimiaberbahaya agar ikan yang dijual bisa terhindar dari membusuk dan diantaranya zat pengawet formalin. Selain berbahaya bagi tubuh orang yang mengonsumsi, zat kimia ini secara tidak langsung akan mematikan sektor perikanan dan merusak kepercayaan masyarakat (Khairanita, 2013).

Oleh karena itu, perlu dilakukan pengawetan ikan agar memiliki daya simpan lama yang tidak berbahaya bagi kesehatan. Pengawetan ikan secara tradisional bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam tubuh ikan, sehingga tidak memberikan kesempatan bagi bakteri untuk berkembang biak (Mareta, 2011).

Di Indonesia, pengolahan ikan secara tradisional dilakukan oleh para nelayan dan keluarganya di sepanjang pantai tempat pendaratan ikan dengan cara pengolahan yang diwariskan secara turun-temurun. Produk ikan olahan tradisional mempunyai sebaran distribusi yang luas karena pada umumnya produk relatif stabil walaupun pengawetan dan pengemasannya sangat sederhana (Heruwati, 2002).

Metode pengawetan yang paling sederhana adalah dengan memproses ikan yang ditaburi garam lalu dikeringkan sehingga menjadikan asin. Dapat juga dilakukan pengawetan ikan salah satunya dengan dibuat bekasam. Ikan yang

terlampau banyak sampai tak terbebani pengolahannya secara pengasinan cepat-cepat dibekasam (Soeseno, 1978).

### 2.3. Fermentasi Ikan

Fermentasi merupakan suatu cara pengolahan melalui proses memanfaatkan penguraian senyawa dari bahan-bahan protein kompleks. Protein kompleks tersebut terdapat dalam tubuh ikan yang diubah menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana dengan bantuan enzim yang berasal dari tubuh ikan atau mikroorganisme serta berlangsung dalam keadaan yang terkontrol atau teratur.

Cara fermentasi ikan pada dasarnya hanya dapat dibedakan menjadi dua, yaitu :

1. Proses fermentasi yang memungkinkan terjadinya penguraian atau transformasi yang nantinya akan mampu menghasilkan suatu produk dengan bentuk dan sifat yang sama sekali berbeda (berubah) dari keadaan awalnya, misalnya saja dalam pengolahan terassi, kecap ikan, dan ikan peda.
2. Proses fermentasi yang menghasilkan senyawa-senyawa secara nyata akan memiliki kemampuan atau daya awet dalam produk yang diolah tersebut.

Proses fermentasi yang terjadi pada ikan merupakan proses penguraian secara biologis atau semibiologis terhadap senyawa-senyawa kompleks terutama protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dalam keadaan terkontrol. Selama proses fermentasi, protein ikan akan terhidrolisis menjadi asam-asam amino dan peptida, kemudian asam-asam amino akan terurai lebih lanjut menjadi komponen-komponen lain yang berperan dalam pembentukan cita rasa produk.

Proses fermentasi ikan yang merupakan proses biologis atau semibiologis pada prinsipnya dibedakan atas empat golongan, yaitu sebagai berikut :

1. Fermentasi menggunakan kadar garam tinggi, misalnya dalam pembuatan kecap ikan, terasi dan bekasam.

2. Fermentasi menggunakan asam-asam organik, misalnya dalam pembuatan silase ikan dengan menambahkan asam-asam propionat dan format.
3. Fermentasi menggunakan asam-asam mineral, misalnya dalam pembuatan silase ikan menggunakan asam-asam kuat.
4. Fermentasi menggunakan bakteri, misalnya dalam pembuatan bekasem.

Produk fermentasi yang menggunakan kadar garam tinggi mengakibatkan rasa asin, sehingga sumber protein yang diambil mengalami penurunan, sedangkan fermentasi dengan menggunakan asam-asam organik belum populer di kalangan nelayan. Cara pengolahan menggunakan prinsip fermentasi yang paling mudah dilakukan adalah menggunakan bakteri asam laktat. Pada proses fermentasi bakteri asam laktat juga ditambahkan garam sebagai perangsang pertumbuhan bakteri asam laktat. Fermentasi asam laktat pada ikan merupakan gabungan dari fermentasi garam dengan fermentasi asam laktat, contoh produk fermentasi asam laktat diantaranya adalah bekasam, wadi, dan ronto.

### 2.3.1 Fermentasi Garam

Fermentasi garam dapat dibedakan dengan dua cara yaitu :

- a. Fermentasi dengan cara penggaraman ikan-ikan yang mempunyai kandungan lemak yang rendah.
- b. Fermentasi dengan cara penggaraman basah, yaitu merendam di dalam larutan garam dan cara tersebut biasanya dilakukan pada ikan-ikan berlemak tinggi.

Fermentasi dengan cara penggaraman basa biasanya terjadi fermentasi laktat. Pada cara itu, sering ditambahkan cuka, bumbu-bumbu dan bahan pengawet lainnya.

Penambahan garam dalam fermentasi ikan mempunyai beberapa fungsi antara lain :

- Meningkatkan rasa ikan.

- Membentuk tektus yang diinginkan.
- Mengontrol mikroorganismenya, yaitu merangsang pertumbuhan mikroorganismenya yang diinginkan berperan dalam fermentasi, dan menghambat pertumbuhan mikroorganismenya pembusuk dan patogen.

### 2.3.2 Fermentasi Laktat

Fermentasi asam laktat dapat terjadi sebagai akibat aktivitas bakteri asam laktat yang dibedakan menjadi dua kelompok yaitu :

1. Bakteri asam laktat homofermentatif.

Bakteri ini dapat mengubah 95% dari glukosa atau heksosa lainnya menjadi asam laktat. Karbondioksida dan asam-asam volatil lainnya juga dihasilkan, tetapi dalam jumlah yang sangat kecil.

Reaksi hemofermentatif



2. Bakteri asam laktat heterofermentatif.

Bakteri ini mengubah glukosa dan heksosa lainnya menjadi asam laktat, ethanol, asam asetat, asam format dan CO<sub>2</sub> dalam jumlah yang hampir sama.

### 2.4. Bekasam

Bekasam adalah produk ikan fermentasi tradisional yang pada awalnya diolah oleh penduduk bermukim di Muara Sungai Bengawan Solo dan Surabaya, tetapi kemudian menyebar ke Jawa Tengah, Sumatera Selatan, dan Kalimantan Tengah. Pengolahan bekasam dilakukan dengan menambahkan sumber karbohidrat dan dalam kondisi anaerobik. Karbohidrat didekomposisi melalui proses fermentasi menjadi gula-gula sederhana dan kemudian dikonversi menjadi alkohol dan asam yang berperan sebagai pengawet dan memberikan rasa dan bau spesifik pada bekasam (Murtini, 1992).

Pada dasarnya, semua ikan air tawar dapat diolah menjadi bekasam, tetapi setiap daerah mempunyai pertimbangan tersendiri di dalam memilih jenis ikan air tawar yang digunakan sebagai bahan mentah. Ikan yang telah umum digunakan untuk pengolahan bekasam adalah ikan lele, ikan mas, bader, nila, mujahir dan ikan sepat. (Afrianto dan Liviawaty, 1989).

Cara membuat bekasam itu sendiri sangatlah mudah. Pertama-tama, kepala ikan di buang, lalu, dibersihkan sisik dan isi perutnya. Ikan kemudian dibelah menjadi bentuk kupu-kupu dan dicuci. Ikan yang telah dicuci selanjutnya ditaburi sedikit garam untuk mengawetkannya dan ditambahkan nasi dengan perbandingan 1 : 2 atau 1 : 3 dengan ikan yang akan dibuat bekasam. Campuran tersebut sedikit dirapatkan kemudian disusun dengan rapi didalam toples untuk disimpan atau di fermentasi sesuai keinginan.

Metoda ini akan menghasilkan proses penetrasi garam ke dalam daging ikan yang lebih cepat. Garam yang digunakan sebaiknya tidak lebih dari 20% dari berat ikan, kalau lebih akan dihasilkan bekasam yang sangat asin. Secara tradisional, proses fermentasi dilakukan dalam wajan. Secara organoleptik, bekasam yang baik adalah yang diolah dengan menggunakan nasi sebagai sumber karbohidrat. Kadar asam laktat bekasam meningkat tajam pada fermentasi minggu kedua dan kemudian cenderung menurun.

Nilai pH bekasam cenderung konstan sampai fermentasi minggu keempat dan fermentasi lebih lanjut menghasilkan peningkatan nilai pH produk yang mungkin disebabkan oleh penurunan kecepatan pembentukan asam laktat dan meningkatnya kecepatan senyawa bersifat basa. Kandungan asam laktat bekasam meningkat setelah melalui proses fermentasi dan kecepatan peningkatannya secara nyata dipengaruhi oleh sumber karbohidrat yang digunakan. Bekasam merupakan produk olahan ikan dengan cara fermentasi menggunakan bakteri asam laktat dan kadar garam tertentu. Bekasam memiliki komposisi gizi yang cukup baik dan dikonsumsi sebagai pelengkap lauk pauk. Sayangnya, bekasam belum cukup dikenal sebagai produk fermentasi komersial seperti kecap ikan atau peda. Rasa bekasam yang asam dan asin membuat produk ini memiliki rasa cita khas yang tidak dimiliki oleh produk olahan lainnya. Pembuatan bekasam dapat dijadikan

salah satu alternatif pengolahan bahan pangan sehingga umur simpan pangan dapat lebih lama. Bekasam dihasilkan melalui proses fermentasi oleh bakteri asam laktat.

Berikut ini merupakan gambar bekasam yang dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2.2. Bekasam Ikan**

Berdasarkan gambar diatas posisi penempatan bekasam untuk disimpan yaitu ikan berada di bagian bawah kemudian ditaburkan nasi di sekitarnya, lalu ditumpuk dengan ikan lagi, dan di taburkan nasi kembali begitupun seterusnya sampai wadah sampel penuh dan ditutup rapat.

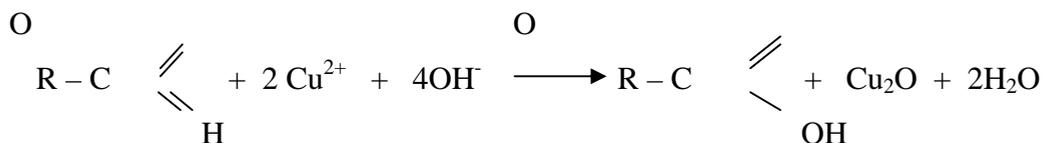
## **2.5. Karbohidrat**

Karbohidrat adalah golongan senyawa – senyawa yang terdiri dari unsur – unsur karbon (C), hidrogen (H), dan oksigen (O). Senyawa - senyawa ini dapat didefinisikan sebagai senyawa - senyawa polihidroksialdehid atau polihidroksiketon.

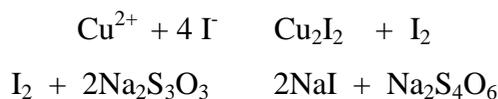
Ditinjau dari segi gizi, karbohidrat merupakan segolongan senyawa - senyawa penting karena merupakan sumber energi yang paling ekonomis dan paling tersebar luas. Bahan pangan yang dihasilkan di dunia sebagian besar terdiri dari bahan pangan yang kaya akan karbohidrat.

Metode luff schoorl adalah berdasarkan proses reduksi dari larutan luff schoorl oleh gula – gula pereduksi (semua monoksida, laktosa dan maltosa). Hidrolisis karbohidrat menjadi monosakarida yang dapat mereduksi  $\text{Cu}^{2+}$  menjadi  $\text{Cu}^{1+}$ .

Reaksi yang terjadi dalam metode luff schoorl :

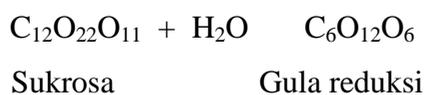


Gula reduksi luff schoorl



Sukrosa tidak memiliki sifat – sifat mereduksi, karena itu untuk menentukan kadar sukrosa harus dilakukan inversi terlebih dahulu menjadi glukosa dan fruktosa.

Dalam hal ini kadar sukrosa harus diperhitungkan dengan faktor 0,95 karena pada hidrolisis berubah menjadi gula inver.



Karbohidrat terdiri dari bermacam – macam dan menurut ukuran molekul dapat dibagi dalam tiga golongan, yaitu :

1. Monosakarida yaitu karbohidrat yang paling sederhana susunan molekulnya dan tidak dapat diuraikan lagi. Yang termasuk dalam golongan ini antara lain glukosa dan fruktosa.
2. Disakarida yaitu karbohidrat yang terdiri dari 2 molekul monosakarida. Yang termasuk dalam golongan ini antara lain sukrosa, maltosa, dan laktosa.

- Polisakarida yaitu karbohidrat yang terdiri dari banyak molekul monosakarida. Yang termasuk dalam golongan ini antara lain adalah pati, glikogen dan selulosa.

Karbohidrat dengan kata lain merupakan senyawa yang mengandung gugus hidroksi. Ditinjau dari gugus fungsi karbohidrat yang diikat :

- Aldosa, karbohidrat yang mengikat gugus aldehyd. Contohnya glukosa, galaktosa, dan ribose
- Ketosa, karbohidrat yang mengikat gugus keton, contohnya fruktosa.

#### 1. Glukosa

Glukosa dapat diperoleh dari hidrolisis sukrosa (gula tebu) atau pati (amylum). Didalam glukosa terdapat buah-buahan dan madu lebah. Dalam alam glukosa dihasilkan dari reaksi antara karbondioksida dan air dengan bantuan sinar matahari dan klorofil dalam daun serta mempunyai sifat :

- Memutar bidang polarisasi cahaya kekanan (+52,70)
- Dapat mereduksi larutan fehling dan membuat larutan merah bata.
- Dapat difermentasikan menghasilkan alkohol (etanol) dengan reaksi



#### 2. Fruktosa

Fruktosa adalah suatu ketoheksosa yang mempunyai sifat memutar cahaya terpolarisasi ke kiri dan karenanya disebut juga levulosa. Fruktosa mempunyai rasa lebih manis dari pada gula tebu atau sukrosa. Fruktosa dapat dibedakan dari glukosa dengan pereksi Seliwanot, yaitu larutan (1,3 dihidroksibenzena) dalam HCL. Disebut juga gula buah diperoleh dari hidrolisis sukrosa dan mempunyai sifat :

- Memutar bidang polarisasi ke kiri (-92.40)
- Dapat mereduksi larutan fehling dan membentuk endapan merah bata.
- Dapat difermentasi.

Contoh disakarida yang penting yaitu laktosa. Laktosa memiliki gugus karbonil yang berpotensi bebas pada residu glukosa. Laktosa adalah disakarida

pereduksi selama proses pencernaan, laktosa mengalami proses hidrolisis enzimatis oleh laktosa dari sel-sel mukosa usus.

Beberapa sifat laktosa :

- Hidrolisis laktosa menghasilkan molekul glukosa dan galaktosa
- Hanya terdapat pada binatang mamalia dan manusia.
- Dapat diperoleh dari hasil samping pembuatan keju
- Bereaksi positif terdapat pereaksi fehling, benedict, tolluens.

Contoh polisakarida yang paling penting yaitu pati atau amyllum. Pati atau amyllum merupakan senyawa polimer dari glukosa. Apabila dilarutkan dalam air panas, pati dapat dipisahkan menjadi amilosa dan amipektin. Amipektin ini merupakan polimer yang lebih besar dari amilosa. Amilosa jika dihidrolisis parsial akan menghasilkan amilosa sedangkan jika dihidrolisis lengkap akan menghasilkan glukosa.

Berdasarkan sifat – sifat karbohidrat dan reaksi kimia yang spesifik , karbohidrat dapat dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif.

### **A. Analisa Kualitatif**

#### 1. Reaksi warna

##### a. Uji Molish

dengan prinsip karbohidrat direaksikan dengan  $\alpha$ -naftol dalam alkohol kemudian ditambah dengan asam sulfat pekat melalui dinding tabung ,(+) bila terbentuk cincin ungu.

##### b. Uji Barfoed

Pereaksi terdiri dari Cu-asetat dan asam asetat. Sampel ditambah pereaksi kemudian dipanaskan, endapan merah bata menunjukkan + monosakarida

##### 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 iodin dalam larutan KI. Warna biru berarti (+) adanya pati kalau warna merah (+) glikogen

#### e. Uji Seliwanoff

Pereaksi 3.5 ml resocsinol 0,5 % dengan 12 ml HCl pekat diencerkan 3,5 ml dengan aquades setelah sampel ditambah pereaksi dipanaskan. Warna merah cerri menunjukkan (+)adanya fruktosa.

#### f. Uji Antron

Prinsip uji Antron sama dengan uji Seliwanof 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. Uji Pembentukan Ozazon

Prinsipnya :

ke dalam larutan aldosa/ ketosa ditambah dengan larutan fenilhidrasin lalu dipanaskan, maka akan terbentuk hidrazon (osazon) yang berupa kristal berwarna kuning. Larutan dekstroksa ditambah dengan larutan 2-fenilhirazin akan dihasilkan dekstrosazon,  $2H_2O$  dan  $CO_2$ .

### 3. Kromatografi Lapis Tipis

Fase diam yang sering digunakan adalah selulosa, silika, silika 50.000 dan amino yang terikat pada silika. Karena kompleksanya karbohidrat maka tidak ada sistem fase gerak yang universal yang telah dioptimasi untuk memperoleh profil masing - masing karbohidrat. Sistem fase gerak yang berbeda dengan menggunakan campuran - campuran air, nasetonitril, alkohol - alkohol (metanol, etanol, 1- propanol, 2-propanol, 1-butanol) aseton, asama asetat, piridin



#### 4. Kromatografi Gas

untuk cara ini senyawa yang dianalisis harus mudah menguap. Jika tidak mudah menguap maka harus dilakukan derivatisasi menjadi senyawa yang mudah menguap misal menggunakan etertrimetilsilil.

#### 5. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Pada prinsipnya sama dengan kromatografi gas, yakni dengan membandingkan waktu retensi ( $t_r$ ) sampel dengan nilai  $t_r$  baku karbohidrat.

### B. Analisa Kuantitatif

Ada beberapa macam metode yang dapat kita gunakan untuk analisa kadar gula reduksi secara kuantitatif yaitu :

#### 1. Metode Fisika

Salah satu metode yang paling sering digunakan adalah polarimetri.

#### 2. Metode Kimia

##### a. Cara Luff Schoorl

Prinsip: Monosakarida dioksidasi oleh CuO dari reagen Luff Schoorl menjadi Cu<sub>2</sub>O. kemudian kelebihan CuO dari reagen luff Schoorl akan bereaksi dengan KI suasana asam membentuk I<sub>2</sub> yang akan bereaksi dengan cara dititrasi dengan Na- tiosulfat dengan indikator amilum .

Penentuan kadar karbohidrat dengan metode Luff schroorl.

$$\text{Kadar karbohidrat} = \frac{W_1 \times fp}{W} \times 100\%$$

Dimana :

$W_1$  = mg glukosa dari tabel diperoleh (ml titrasi blanko – titrasi sampel )

$W$  = mg cuplikan sampel

$fp$  = faktor pengenceran

**Tabel 2.2. Penetapan satuan karbohidrat menurut luff schroorl**

ml Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Glukosa
1	2,4
2	4,8
3	7,2
4	9,7
5	12,2
6	14,7
7	17,2
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,0
13	33,0
14	35,7
15	38,5

Sumber : Standar industri Indonesia, Departemen Perindustrian Republik Indonesia (1975).

b. Kolorimetri

3. Metode enzimatis

Menggunakan enzim spesifik untuk karbohidrat yang akan diuji. Contoh enzimnya yaitu glukosa oksidase dan heksokinase.

## 2.6. Lemak

Lemak merupakan bagian dari lipid yang mengandung asam lemak jenuh bersifat padat. Lemak merupakan senyawa organik yang terdapat di alam serta tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik nonpolar, misalnya dietil eter ( $C_2H_5OC_2H_5$ ), kloroform ( $CHCl_3$ ), benzena, hexana dan hidrokarbon lainnya. Lemak dapat larut dalam pelarut tersebut karena lemak mempunyai polaritas yang sama dengan pelarut.

Dalam mengetahui kadar lemak yang terdapat di bahan pangan dapat dilakukan dengan mengekstraksi lemak. Namun mengekstrak lemak secara murni sangat sulit dilakukan, sebab pada waktu mengekstraksi lemak, akan terekstraksi pula zat-zat yang larut dalam lemak seperti sterol, phospholipid, asam lemak bebas, pigmen karotenoid, khlorofil, dan lain-lain. Pelarut yang digunakan harus bebas dari air (pelarut anhydrous) agar bahan-bahan yang larut dalam air tidak terekstrak dan terhitung sebagai lemak dan keaktifan pelarut tersebut menjadi berkurang.

Sifat-sifat dari lemak dapat diidentifikasi dengan beberapa metode Terdapat dua metode untuk mengekstraksi lemak yaitu metode ekstraksi kering dan metode ekstraksi basah. Metode kering pada ekstraksi lemak mempunyai prinsip bahwa mengeluarkan lemak dan zat yang terlarut dalam lemak tersebut dari sampel yang telah kering benar dengan menggunakan pelarut anhydrous. Keuntungan dari metode kering ini, praktikum menjadi amat sederhana, bersifat universal dan mempunyai ketepatan yang baik. Kelemahannya metode ini membutuhkan waktu yang cukup lama, pelarut yang digunakan mudah terbakar dan adanya zat lain yang ikut terekstrak sebagai lemak.

## 2.7. Keasaman

Derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasahan yang dimiliki oleh suatu larutan. Skala Asam bukanlah skala absolut. Ia bersifat relatif terhadap sekumpulan larutan standar yang pH-nya ditentukan berdasarkan persetujuan internasional.

Bekasam merupakan salah satu contoh makanan yang mengandung tingkat keasaman. Asam ini berasal dari nasi sebagai karbohidrat yang di fermentasikan selama beberapa hari bersamaan dengan garam dan ikan. Asam yang terbentuk yaitu Asam laktat.

Asam laktat adalah senyawa kimia penting dalam beberapa proses biokimia. Seorang ahli kimia Swedia, Carl Wilhelm Scheele, pertama kali mengisolasinya pada tahun 1780. Secara struktur, asam karboksilat dengan satu gugus [hidroksil] yang menempel pada gugus karboksil. Dalam air, ia terlarut lemah dan melepas proton ( $H^+$ ), membentuk ion laktat. Asam ini juga larut dalam alkohol dan bersifat menyerap air (higroskopik).

Proses glikolisis dimulai dengan molekul glukosa dan diakhiri dengan terbentuknya asam laktat. Serangkaian reaksi-reaksi dalam proses glikolisis tersebut dinamakan juga jalur embden-Meyerhof. Reaksi-reaksi yang berlangsung pada proses glikolisis dapat dibagi dalam dua fase. Pada fase pertama, glukosa diubah menjadi triosafosfat dengan proses fosforilasi. Fase kedua dimulai dari reaksi oksidasi triosafosfat hingga terbentuk asam laktat. Perbedaan antara kedua fase ini terletak pada aspek energi yang berkaitan dengan reaksi-reaksi dalam kedua fase tersebut.

Asam laktat yang terjadi pada proses glikolisis dapat dibawa oleh darah ke hati. Di sini asam laktat di ubah menjadi glukosa kembali melalui serangkaian reaksi dalam suatu proses yang di sebut glukoneogenesis (pembentukan gula baru). Pada dasarnya glukoneogenesis ini adalah sintesis glukosa dari senyawa-senyawa bukan karbohidrat, misalnya asam laktat dan beberapa asam amino. Proses glukoneogenesis berlangsung terutama dalam hati. Walaupun proses glukoneogenesis ini adalah sintesis glukosa, namun bukan kebalikan dari proses glikolisis, karena ada tiga tahap reaksi dalam glikolisis yang tidak reversible, artinya diperlukan enzim lain untuk reaksi kebalikannya (Junqueira, C. Luis, 1982;61).

Untuk mengerti tes kadar asam laktat akan diulang kembali secara singkat bagaimana proses kimia dalam tubuh kita dalam mengubah energi kimia dalam makanan menjadi energi mekanik yang membuat otot kita berkontraksi. Energi

yang menggerakkan tubuh kita, termasuk membuat otot kita berkontraksi, berasal dari molekul yang disebut ATP (adenosin tri fosfat), gugus adenosin yang mengikat tiga gugus fosfat. Ketika satu gugus fosfat lepas dari ATP akan dilepas energi sebesar 30 kJ, yang dapat digunakan antara lain untuk menggerakkan otot.

Bakteri asam laktat adalah kelompok bakteri yang mampu mengubah karbohidrat (glukosa) menjadi asam laktat. Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan menjadi 3 sampai 4,5 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat (Amin dan Leksono, 2001). Pada umumnya mikroorganisme dapat tumbuh pada kisaran pH 6-8 (Buckle, dkk, 1987).

Bakteri asam laktat didefinisikan sebagai kelompok bakteri yang membentuk asam laktat, baik sebagai satu-satunya produk utama pada metabolisme karbohidrat. Beberapa ciri yang dimiliki oleh bakteri asam laktat adalah termasuk dalam gram positif, tidak membentuk spora, berbentuk bulat atau batang, dan pada umumnya tidak memiliki katalase. Bakteri asam laktat banyak ditemukan pada produk makanan olahan, baik produk hewani seperti daging, dan ikan yang difermentasi, susu yang difermentasi, maupun pada produk nabati seperti fermentasi sayuran dan buah-buahan, serta silase. Berdasarkan pada klasifikasi bakteri asam laktat revisi terbaru, ada 10 genera yang termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat, yaitu *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, dan *Vagococcus* (Rahayu dan Magino, 1997).

Bakteri asam laktat *Lactobacillus* spesies merupakan salah satu bakteri yang digunakan untuk fermentasi daging. Kultur starter *Lactobacillus* yang diisolasi dari dadih masih kurang adaptif dan kurang optimal untuk fermentasi daging ditandai dengan berfluktuasinya viabilitasnya selama proses. Oleh karena itu, diperlukan bakteri asam laktat yang mampu beradaptasi dan tumbuh dengan baik pada daging. Salah satunya melalui isolasi bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. dari daging segar

*Lactobacillus* adalah genus bakteri gram-positif, anaerobik fakultatif atau mikroaerofilik. Genus bakteri ini membentuk sebagian besar dari kelompok

bakteri asam laktat, dinamakan demikian karena kebanyakan anggotanya dapat merubah laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat. Kebanyakan dari bakteri ini umum dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Dalam manusia, bakteri ini dapat ditemukan di dalam vagina dan sistem pencernaan, dimana mereka bersimbiosis dan merupakan sebagian kecil dari flora usus. Banyak spesies dari *Lactobacillus* memiliki kemampuan membusukkan materi tanaman yang sangat baik. Produksi asam laktatnya membuat lingkungannya bersifat asam dan mengganggu pertumbuhan beberapa bakteri merugikan. Beberapa anggota genus ini telah memiliki genom sendiri.

Beberapa spesies *Lactobacillus* sering digunakan untuk industri pembuatan yogurt, keju, sauerkraut, acar, bir, anggur (minuman), cuka, kimchi, coklat, dan makanan hasil fermentasi lainnya, termasuk juga pakan hewan, seperti silase. Ada pula roti adonan asam, dibuat dengan "kultur awal", yang merupakan kultur simbiotik antara ragi dengan bakteri asam laktat yang berkembang di media pertumbuhan air dan tepung. Laktobasili, terutama *L. casei* dan *L. brevis*, adalah dua dari sekian banyak organisme yang membusukkan bir. Cara kerja spesies ini adalah dengan menurunkan pH bahan fermentasinya dengan membentuk asam laktat.