

BAB IV

PROSEDUR KERJA

4.1. Pengumpulan Sampel

Sampel berupa lima merk produk madu pahit dan satu merk produk madu manis murni yang diperoleh di pasaran wilayah Kota Bandung. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak satu kali.

4.2. Uji Hidroksimetilfurfural (HMF)

4.2.1. Persiapan Pereaksi

- a. Larutan Carrez I: 15 g kalium feroksianida $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ ditimbang dan dilarutkan dengan air, kemudian diencerkan sampai 100 mL.
- b. Larutan Carrez II: 30 g seng asetat $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ditimbang dan dilarutkan dengan air, kemudian diencerkan sampai 100 mL.
- c. Natrium bisulfit ($NaHSO_3$) 0,20 %: 0,20 g $NaHSO_3$ ditimbang dan dilarutkan dengan air, kemudian diencerkan sampai 100 mL.

4.2.2. Cara Kerja

Sebanyak 5 g madu ditimbang dengan teliti (sampai ketelitian 1 mg) dalam gelas kimia, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dibilas dengan air sampai volume larutan 25 mL. Ditambahkan 0,50 mL larutan Carrez I, dikocok, dan ditambahkan 0,50 mL larutan Carrez II, dikocok kembali dan diencerkan dengan air sampai dengan tanda garis. Setetes alkohol ditambahkan untuk menghilangkan

busa pada permukaan, kemudian disaring melalui kertas saring, dan 10 mL saringan pertama dibuang.

Sebanyak 5 mL saringan dipipet dan masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi. 5 mL air dipipet kemudian dimasukkan ke dalam salah satu tabung dan 5 mL Natrium bisulfit 0,20% ke dalam tabung lainnya (pembanding). Setelah itu dikocok sampai tercampur dan absorban sampel ditetapkan terhadap pembanding pada panjang gelombang 284 nm dan 336 nm. Bila absorban lebih tinggi dari 0,6 untuk memperoleh hasil yang teliti, larutan contoh diencerkan dengan air sesuai kebutuhan. Demikian juga dengan larutan pembanding, diencerkan dengan cara sama dengan menggunakan larutan NaHSO_3 0,1%, nilai absorban yang diperoleh dikalikan dengan faktor pengenceran sebelum perhitungan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{HMF (mg/100 g madu)} = \frac{(A_{284} - A_{336}) \times 14,97 \times 5}{\text{Bobot sampel (g)}}$$

$$\text{Faktor: } \frac{126 \times 1000 \times 100}{16830 \times 10 \times 5}$$

Keterangan:

126 = bobot molekul HMF

16830 = absorbansifitas molar HMF panjang gelombang 284 nm

1000 = mg/g

10 = sentiliter/L

100 = gram madu yang dilaporkan

5 = bobot sampel yang diambil dalam gram

(AOAC Official Method 980.23-1999)

4.3. Uji Kadar Air

Pengujian kadar air dilaksanakan di Laboratorium Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan. Dengan prosedur sebagai berikut: sebanyak 1 g – 2 g sampel ditimbang dengan seksama pada sebuah botol timbang bertutup yang sudah diketahui bobotnya. Untuk sampel berupa cairan, botol timbang dilengkapi dengan pengaduk dan pasir kuarsa/kertas saring berlipat. Sampel dikeringkan pada oven suhu 105°C selama 3 jam, kemudian didinginkan dalam eksikator. Sampel ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Dengan perhitungan kadar sebagai berikut:

$$\text{Kadar air: } \frac{W}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

W = bobot sampel sebelum dikeringkan (g)

W₁ = kehilangan bobot setelah dikeringkan (g)

(SNI 01-2891-1992)

4.4. Uji Kadar Sukrosa

4.4.1. Pembuatan Pereaksi

Larutan Luff Schoorl: 143,8 g Na₂CO₃ anhidrat dilarutkan dalam kira-kira 300 mL aquadest. Sambil diaduk, ditambahkan 50 g asam sitrat yang telah dilarutkan dengan 50 mL aquadest. Kemudian ditambahkan 25 g CuSO₄.5H₂O yang telah dilarutkan dengan 100 mL aquadest. Larutan tersebut dipindahkan ke

dalam labu 1 L dan tepatkan sampai tanda garis dengan aquadest, kemudian dikocok. Biarkan semalam dan saring bila perlu.

Larutan Pb asetat setengah basa: Terdiri dari Pb asetat : PbO : aquadest (3 : 1 : 10). Berdasarkan Farmakope Indonesia, larutan Pb asetat memiliki kadar 9,5% b/v dalam air bebas karbondioksida P. Dengan perhitungan perbandingan diatas, Pb asetat ditimbang sebanyak 1,224 gram, PbO ditimbang sebanyak 0,408 gram, serta aquadest sebanyak 42,853 mL (~ 43 mL) untuk 6 sampel yang dikerjakan secara duplo.

Indikator fenolftalein: 200 mg fenolftalein dilarutkan dalam 60 mL etanol kemudian ditambahkan aquadest secukupnya sampai 100 mL.

Indikator kanji: 500 mg kanji dimasukkan ke dalam aquadest 100 mL yang telah mendidih, kemudian diaduk sampai larut.

Pembakuan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$: 200 mg $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dilarutkan dengan 100 mL aquadest, digoyang-goyangkan hingga larut sempurna kemudian ditambahkan 3 g KI padat, 2 g NaHCO_3 , dan 5 ml HCl pekat. Labu ditutup dan digoyangkan hingga bercampur, dibiarkan di tempat gelap selama 10 menit. Tutup labu dan dinding labu sebelah dalam dibilas dengan air dan dititrasi dengan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 0,1 N hingga berwarna kuning hijau tepat hilang. Didapatkan normalitas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,047 N (perhitungan pembakuan dapat dilihat pada lampiran 3).

4.4.2. Cara Kerja

Sebanyak 2 gram sampel ditimbang dengan seksama dan dimasukkan ke dalam labu ukur 250 mL, ditambahkan air dan dikocok. Kemudian ditambahkan 5 mL Pb. asetat setengah basa dan digoyangkan. Diteteskan 1 tetes larutan

$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 10% (bila timbul endapan putih maka penambahan Pb. asetat setengah basa sudah cukup. Lalu ditambahkan 15 mL larutan $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 10%. Untuk menguji apakah Pb asetat setengah basa sudah diendapkan seluruhnya, teteskan 1-2 tetes $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 10%, apabila tidak timbul endapan berarti penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 10% sudah cukup. Larutan digoyangkan dan ditambahkan dengan aquadest sampai tanda garis, dikocok 12 kali, kemudian dibiarkan dan disaring.

Sebanyak 50 mL saringan pada penetapan gula pereduksi ke dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan 25 mL HCl 25%, termometer dipasang dan dilakukan hidrolisis di atas pemanas listrik. Apabila suhu mencapai 68°C - 70°C suhu dipertahankan 10 menit tepat. Gelas kimia diangkat dan termometer dibilas dengan aquadest, didinginkan. Larutan ditambahkan NaOH 30% sampai netral (warna merah jambu) dengan indikator fenolftalein dan ditambahkan aquadest sampai tanda tera, dikocok 12 kali. 10 mL larutan tersebut dipipet dan dimasukkan ke dalam labu takar, kemudian ditambahkan 15 mL aquadest dan 25 mL larutan Luff Schoorl serta beberapa butir batu didih. Labu tersebut dihubungkan dengan kondensor dan dipanaskan di atas *hotplate*. Dipanaskan terus sampai 10 menit kemudian diangkat dan didinginkan (tidak digoyang). Setelah dingin ditambahkan 10 mL larutan KI 20% dan 25 mL H_2SO_4 25%, dititar dengan larutan Na-thiosulfat 0,1 N yang telah dibakukan dengan $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dengan bantuan indikator kanji 0,5%. Dilakukan juga penetapan blanko dengan 25 mL larutan Luff (SNI 01-2892-1992).

4.5. Uji Padatan Tak Larut Dalam Air

Sebanyak lebih kurang 20 g sampel ditimbang dengan seksama, dimasukkan ke dalam gelas kimia 400 mL, ditambahkan 200 mL air panas, diaduk hingga larut. Dalam keadaan panas, larutan sampel disaring, kemudian gelas kimia dan kertas saring dibilas dengan air panas dan kertas saring dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 2 jam, didinginkan dan ditimbang sampai bobot tetap (SNI 01-2891-1992, 1992).

4.6. Uji Cemar Logam

Pengujian menggunakan spektrofotometer serapan atom dengan cara pengabuan kering. Sebanyak 25 gram sampel ditimbang dengan seksama kemudian diuapkan di atas *hotplate* sampai kering. Sampel yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam tanur yang telah diatur suhunya yaitu 250°C. Perlahan-lahan suhu dinaikkan (setiap kenaikan 50°C) menjadi 350°C sampai tidak terbentuk asap lagi. Suhu dinaikkan lagi menjadi 500°C dengan setiap kenaikan kira-kira 75°C (sampel tidak boleh terbakar) sampai sampel menjadi abu. Krus dikeluarkan dari dalam tanur dan dibiarkan menjadi dingin. Abu harus putih dan pada dasarnya harus bebas karbon. Abu dilarutkan dalam 5,0 mL HNO₃ 1,0 N, kemudian dihangatkan di atas *hotplate* selama 2-3 menit. Jika perlu disaring ke dalam labu ukur 50 ml. Pencucian residu diulangi dengan penambahan 5,0 mL HNO₃ 1,0 N kemudian disaring dan dijadikan satu dengan saringan sebelumnya, diencerkan dengan HNO₃ 0,1 N sampai 50 ml. Dibuat larutan standar Pb dan Cu 100 ppm kemudian diencerkan kembali sampai 10 ppm sebagai larutan

intermediet. Dari larutan intermediet tersebut dibuat konsentrasi larutan standar yang terdiri dari 0,1 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; 0,75 ppm; 1,0 ppm; dan 2,0 ppm. Masing-masing larutan standar diukur terlebih dahulu absorbansinya, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran sampel madu.

