

## PENGEMBANGAN METODE ANALISIS GLUKOSA PRODUK MAKANAN RENDAH GULA

*Dra. Lilis Tuslinah, M.Si., Apt.*

*Program Studi SIFarmasi  
STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya*

### ABSTRAK

Telah dilakukan pengembangan metode analisis kuantitatif Glukosa dengan Natrium Pikrat menggunakan metode Spektrofotometri UV – Vis. Dari hasil penelitian diperoleh panjang gelombang maksimal ( $\lambda_{\max}$ ) senyawa derivat glukosa standar dan Natrium Pikrat adalah 471,5 nm dan persamaan garis linear  $y = 0,008x - 0,142$  dengan  $r = 0,980$  yang menunjukkan adanya korelasi yang tepat antara konsentrasi dengan absorbansi. Uji validasi dilakukan dengan metode spiked larutan glukosa standar dengan konsentrasi 4 ppm, 8 ppm, 12 ppm, 16 ppm dan 20 ppm. Diperoleh hasil uji validasi yaitu persamaan regresi  $y = 0,050x - 0,031$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,989 ; batas deteksi (BD) 2,24 ppm dan batas kuantisasi (BK) 5,32 ppm. Pada uji keseksamaan pada konsentrasi 8 ppm ; 10 ppm; dan 12 ppm diperoleh simpangan baku (SB) 1,21 dan simpangan baku relatif (SBR) 1,161%. Nilai rata – rata perolehan kembali (*recovery*) adalah 107,66%. Metode yang telah divalidasi diaplikasikan pada sampel makanan yang di klaim “*free sugar*” dan diperoleh hasilnya adalah 11.152.

Kata Kunci: Glukosa, Spektrofotometri UV-Vis, Spiked, Na – Pikrat, Validasi metode.

### PENDAHULUAN

Dalam memenuhi pola hidup sehat banyak produk – produk makanan yang diklaim sebagai “*sugar free*” atau “*no sugar added*”. “*No sugar added*” artinya tidak ada bahan dasar mengandung gula yang ditambahkan selama proses pengolahannya. Sedangkan “*sugar free*” artinya makanan tersebut tidak mengandung gula, tetapi mungkin menambahkan pemanis buatan.

Untuk membuktikan bahwa produk makanan yang diklaim “*sugar free* atau *no sugar added*”, maka diperlukan metode analisis kuantitatif glukosa yang sensitif karena mungkin saja pada produk

makanan tersebut masih mengandung glukosa dengan kadar yang sangat kecil.

Untuk memperoleh metode analisis yang sensitif diperlukan validasi metode analisis yang mampu membuktikan bahwa metode analisis tersebut valid dalam mendeteksi keberadaan analit dalam jumlah yang sangat kecil. Hasil pengembangan metode analisis divalidasi untuk membuktikan bahwa metode tersebut dapat digunakan untuk penentuan kadar glukosa pada konsentrasi rendah.

Glukosa adalah salah satu monosakarida sederhana yang mempunyai rumus molekul  $C_6H_{12}O_6$ . Kata glukosa diambil dari bahasa Yunani yaitu *glukus*

yang berarti manis, karena memang nyata bahwa glukosa mempunyai rasa manis. Nama lain dari glukosa antara lain dekstrosa, D-glukosa atau gula buah karena glukosa banyak terdapat pada buah-buahan. Glukosa merupakan suatu aldoheksosa yang mempunyai sifat dapat memutar cahaya terpolarisasi ke arah kanan.

Angka kebutuhan gizi harian untuk karbohidrat sebesar 300 gram. Terdapat beberapa hal yang harus diperhatikan dalam memilih sumber karbohidrat, yaitu Indeks Glikemik. Indeks Glikemik merupakan angka yang menunjukkan potensi suatu bahan pangan untuk meningkatkan kadar glukosa darah. Semakin tinggi nilai Indeks Glikemik, maka semakin cepat bahan makanan tersebut meningkatkan kadar gula darah.

Makanan yang mengandung Indeks Glikemik (IG) tinggi antara lain glukosa dan sukrosa. Sedangkan makanan yang mengandung Indeks Glikemik (IG) rendah yaitu nasi merah dan gandum. Makanan dengan IG rendah memberikan rasa kenyang lebih lama sehingga dapat mencegah asupan kalori berlebih, sehingga tidak akan meningkatkan kadar gula darah secara drastis sehingga cocok untuk penderita Diabetes.

Spektrofotometer ultraviolet dan cahaya tampak merupakan instrument yang digunakan pada penentuan struktur molekul organik pada analisis kualitatif dan analisis kuantitatif. Prinsip dasar metode spektrofotometer ini adalah

pelewatan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu melalui suatu sampel. Cahaya tersebut kemudian sebagian diserap oleh sampel berwarna dan sebagian lagi diteruskan lalu ditangkap oleh alat pendeteksi atau pengukur cahaya yang disebut fotometer. Intensitas cahaya yang diukur oleh fotometer dikonversi menjadi satuan serapan (absorbansi) (Creswell *et al*, 2005).

Validasi metode analisis menurut *United States Pharmacopea* (USP) dilakukan untuk menjamin bahwa metode analisis akurat, spesifik, reproduibel, dan tahan pada kisaran analit yang akan dianalisis. Alasan suatu metode analisis harus divalidasi yaitu untuk melakukan verifikasi bahwa parameter - parameter kinerjanya cukup mampu untuk mengatasi problem analisis (Ganjar, IG dan Abdul R, 2007).

## **BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Spektrofotometri UV-Vis Tipe , Glukosa pa, Asam Pikrat, NaOH, Na-Pikrat, Talk, Alat – alat gelas, Timbangan analitik, lampu spirtus, statif dan klem serta Sentrifuga.

### **Prosedur Kerja**

#### **Penentuan panjang gelombang maksimal**

Buat larutan glukosa standar 50 ppm. Pipet 10 mL larutan standar, kemudian ditambahkan 6 ml Natrium Pikrat lalu dipanaskan sampai terjadi

perubahan warna yang tetap. Kemudian ukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

#### **Pembuatan kurva kalibrasi Standar Baku**

Buat larutan standar glukosa dalam beberapa deret konsentrasi, yaitu: 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm dan 90 ppm, kemudian ditambahkan 6 ml Natrium Pikrat lalu dipanaskan sampai terjadi perubahan warna yang tetap. Kemudian ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimalnya.

#### **Penentuan Kurva Kalibrasi Standar Adisi**

Buat sampel simulasi yang mengandung glukosa kemudian lakukan isolasi glukosa menggunakan air sampai seluruh glukosa terekstraksi. Ekstrak yang terbentuk di *spiked* dengan larutan standar glukosa masing 0 ppm, 4 ppm, 12 ppm, 16 ppm dan 20 ppm kemudian ditambahkan 5 ml Natrium Pikrat lalu dipanaskan sampai terjadi perubahan warna yang tetap. Kemudian ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimalnya.

$$\text{persen perolehan kembali} = \frac{C_t - C_a}{C'_a} \times 100 \%$$

Keterangan :

$C_t$  = konsentrasi total analit yang diperoleh dari pengukuran

$C_a$  = konsentrasi analit sebenarnya

$C'_a$  = konsentrasi analit yang ditambahkan

#### **Uji Presisi (Keseksamaan)**

Banyaknya data yang direkomendasikan untuk penentuan presisi

### **Validasi Metode**

#### **Uji Linieritas**

Uji linieritas dilakukan dari enam konsentrasi *spiked* glukosa yaitu: 0 ppm; 4ppm; 8ppm; 12ppm; 16ppm dan 20ppm Ukur absorbansi pada panjang gelombang maksimumnya, kemudian dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi ( $x$ ) terhadap absorbansi ( $y$ ). Selanjutnya diperoleh persamaan linier  $y = bx + a$ , nilai koefisien korelasi ( $r$ ), dan koefisien variasi fungsi ( $V_{x0}$ ).

#### **Uji Batas Deteksi dan Batas Kuantisasi**

Secara statistik batas deteksi (BD) dan batas kuantisasi (BK) dapat dihitung melalui persamaan linier dari kurva kalibrasi.

#### **Uji Akurasi (Kecermatan)**

Uji akurasi dilakukan dilakukan dari tiga yaitu konsentrasi 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm. Akurasi diukur sebagai persen perolehan kembali (*%recovery*) analit yang ditambahkan pada pengukuran.

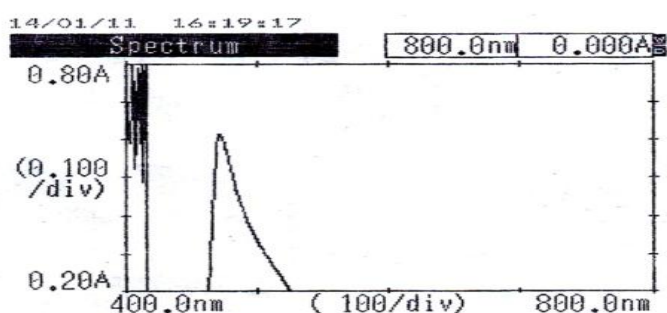
adalah enam kali penentuan dengan tiga tingkat konsentrasi, tiga kali pengulangan (ICH, 2005). Uji presisi dilakukan dengan mengukur absorbansi sampel pada konsentrasi 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm. Data hasil absorbansi dihitung simpangan baku (SB) dan persen simpangan baku relatif (SBR).

### Pengukuran kadar Glukosa pada sampel makanan free glukosa

Timbang 5 gram sampel, dilarutkan dengan aquadest, *spiked* dengan larutan standar glukosa 10 ppm kemudian di add aquadest 100 mL. Pipet 10 mL filtrat lalu ditambahkan 6 ml Natrium Pikrat, dipanaskan sampai terjadi perubahan warna yang tetap. Kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimalnya

### HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN

Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang dimana terjadi eksitasi elektronik yang memberikan absorbansi maksimum. Diperoleh hasil panjang gelombang maksimum senyawa derivat glukosa dengan reagen natrium pikrat adalah 471,5 nm.



**Gambar 3.** Panjang Gelombang Maksimal Senyawa Derivat Glukosa dan Natrium Pikrat

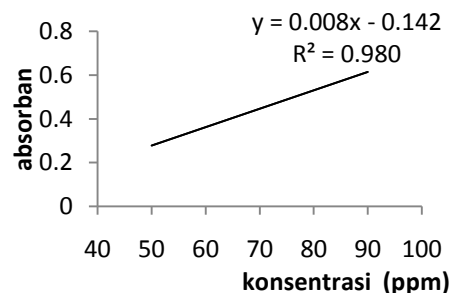
Pembuatan kurva standar baku bertujuan untuk mengetahui hubungan linier konsentrasi senyawa derivat glukosa dan Na - Pikrat terhadap absorbansi. Persamaan kurva baku yang diperoleh adalah

$$y = 0,008x - 0,142 \text{ dan } r = 0,980.$$

Berdasarkan data Tabel 4.1 dapat disimpulkan bahwa nilai koefisien korelasi sebesar 0,980 menunjukkan linieritas yang sangat baik, karena mendekati nilai 1 yang menunjukkan adanya korelasi yang tepat antara konsentrasi dengan absorbansi (Cristian,1994).

**Tabel 4.1** Data Absorbansi Seri Larutan Baku Glukosa

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
50	0,298
60	0,343
70	0,443
80	0,514
90	0,633



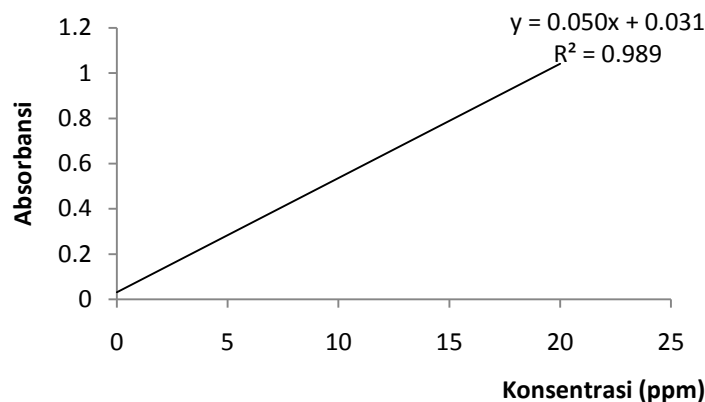
**Gambar 4.** Kurva Hubungan Konsentrasi Glukosa dengan Pereaksi Natrium Pikrat

Linieritas dilakukan untuk membuktikan adanya hubungan linier antara konsentrasi analit dengan respon instrumen. Prosedur pembuatan kurva standar adisi untuk

menunjukkan linieritas dilakukan dalam kondisi yang sama dengan kondisi analisis terhadap sampel (Ibrahim. 2005)

**Tabel 4.2** Penentuan linieritas

<b>Konsentrasi</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>Rata – rata Absorbansi</b>	<b>SB</b>	<b>SBR</b>
0	0,0823	0,0788	0,003006	3,815028
	0,0827			
	0,0757			
	0,0772			
	0,0765			
	0,0783			
4	0,1820	0,1841	0,002195	1,192582
	0,1867			
	0,1867			
	0,1823			
	0,1843			
	0,1824			
8	0,4563	0,4450	0,008507	1,911521
	0,4553			
	0,4417			
	0,4410			
	0,4373			
	0,4385			
12	0,6163	0,6168	0,001237	0,200513
	0,6160			
	0,6163			
	0,6193			
	0,6167			
	0,6163			
16	0,8103	0,8102	0,002119	0,261594
	0,8095			
	0,8113			
	0,8077			
	0,8137			
	0,8087			
20	1,1013	1,0822	0,013111	1,211534
	1,0863			
	1,0623			
	1,0883			
	1,0780			
	1,0770			



**Gambar 5.** Kurva Linieritas Standar Adisi Glukosa

Linieritas metode diperoleh persamaan garis linier  $y = 0,050x + 0,031$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) = 0,989. Batas deteksi (BD) dan Batas kuantitasi (BK) ditentukan dari data linieritas menggunakan metode Deutsches Institut for Normung (DIN) yaitu  $BD = 2,24$  ppm dan  $BK = 5,32$  ppm.

Keseksamaan atau presisi adalah ukuran yang menunjukkan kedekatan hasil analisis masing – masing sampel terhadap

analisis yang dilakukan berulang kali, dinyatakan sebagai Koefisien Variasi atau Simpangan Baku Relatif (SBR). Presisi dilakukan pada sampel dengan konsentrasi 80%, 100% dan 120% (Harmita. 2004).

Dari Hasil uji keseksamaan atau presisi dari data tabel 4.2 adalah  $SB = 1,21$  dan  $SBR = 1,16$  %. Nilai  $SBR < 2$  % menunjukkan bahwa metode yang digunakan mempunyai presisi yang baik (Harmita, 2004).

**Tabel 4.3** Hasil Uji Keseksamaan Glukosa

Konsentrasi (ppm)	Absorban	Persen Kadar (%)	SB	SBR (%)
8	0,37	99,33	2,38	2,35
8	0,37	99,08		
8	0,37	100,68		
8	0,37	100,50		
8	0,39	104,58		
8	0,39	104,08		
10	0,54	114,20	0,61	0,53
10	0,54	114,34		
10	0,55	115,54		
10	0,54	115,06		
10	0,54	114,74		
10	0,55	115,66		
12	0,62	107,88	0,65	0,61
12	0,61	106,17		
12	0,61	106,88		
12	0,61	106,72		
12	0,61	106,28		
12	0,61	106,22		

Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali analit yang ditambahkan. Dalam uji kecermatan dilakukan metode *spiked* pada sampel simulasi yang mengandung 50 ppm glukosa di *spiked* dengan larutan standar glukosa pada rentang 4 – 20 ppm.

Nilai perolehan kembali berdasarkan persamaan garis  $y = 0,050x + 0,031$  pada tiap konsentrasi standar yang ditambahkan diperoleh nilai rata – rata yaitu 107,66%. Hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan memenuhi persyaratan *recovery* yang baik yaitu 80–120 % (Harmita,2004).

**Tabel 4.4** Hasil Perolehan Kembali (Kecermatan) Berdasarkan Persamaan  $y = 0,050x + 0,031$

Konsentrasi (ppm)	Absorban	Konsentrasi Hitungan	Recovery (%)	Rata-rata Recovery (%)	SB	SBR
8	0,366	7,946	99,33	101,37	2,378	2,35
8	0,365	7,926	99,08			
8	0,372	8,054	100,68			
8	0,371	8,040	100,50			
8	0,387	8,366	104,58			
8	0,385	8,326	104,08			
10	0,540	11,420	114,20	114,92	0,606	0,53
10	0,541	11,434	114,34			
10	0,547	11,554	115,54			
10	0,544	11,506	115,06			
10	0,543	11,474	114,74			
10	0,547	11,566	115,66			
12	0,616	12,946	107,88	106,69	0,652	0,61
12	0,606	12,740	106,17			
12	0,610	12,826	106,88			
12	0,609	12,806	106,72			
12	0,607	12,754	106,28			
12	0,606	12,746	106,22			

Metode yang telah divalidasi diaplikasikan pada penentuan kadar glukosa pada makanan yang diklaim “*free sugar*”. Pada sampel dilakukan *spiked* larutan pembanding glukosa 10 ppm dan diperoleh absorbansinya 0,588, dan kadar sampel dihitung berdasarkan persamaan garis  $y = 0,050x + 0,031$ . Kadar glukosa

dalam sampel diperoleh adalah 11,152 ppm. Karena nilainya jauh dibawah  $BD = 2,24$  ppm maka dapat dipastikan bahwa sampel masih mengandung glukosa.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh panjang gelombang maksimal ( $\lambda_{max}$ ) senyawa derivat Glukosa standar dan

Natrium Pikrat adalah 471,5 nm dan persamaan garis linear  $y = 0,008x - 0,142$  dengan  $r = 0,980$  yang menunjukkan adanya kolerasi yang tepat antara konsentrasi dengan absorbansi. Uji validasi dilakukan dengan metode spiked larutan glukosa standar pada konsentrasi 4 ppm, 8 ppm, 12 ppm, 16 ppm dan 20 ppm, diperoleh persamaan garis  $y = 0,050x - 0,031$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) 0,989 ; batas deteksi (BD) 2,24 ppm; dan batas kuantisasi (BK) 5,32 ppm. Uji keseksamaan pada konsentrasi 8 ppm; 10 ppm ; dan 12 ppm adiperoleh Simpangan baku (SB) 1,21 dan Simpangan Baku Relatif (SBR) 1,161%. Nilai rata – rata perolehan kembali (*recovery*) adalah 107,66%. Metode yang telah divalidasi diaplikasikan pada sampel makanan yang di klaim “*free sugar*” dan diperoleh kadar glukosa adalah 11.15 ppm sehingga sampel pada produk makanan tersebut masih mengandung glukosa.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

Apriyantono, A. 1989. *Penuntun Praktikum Analisis Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi*. IPB. Bogor.

- Belitz, H.D, W. Grosch., 1987, *Food Chemistry*, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany
- Buckle K.A., R.A. Edward, G.H Fleet, dan M.Wooton.1985. *Ilmu Pangan (terjemahan)*. Jakarta: UI Press.
- Fardiaz, D., A. Apriyantono, S. Yasni, S. Budiyo dan N.L. Puspitasari. 1992. Muchtadi,T.R.dan Sugiyono. 1989. *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Harmita, 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 1, No. 3, 117-135.
- Ibrahim, Slamet. 2005. Berbagai Pendekatan Pengujian Kelinearan Kurva Baku pada Metode Instrumental. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol. 30, No. 1, 30 – 34 .
- Lehninger, Albert L. 1982. “ Dasar – Dasar Biokimia Jilid I”. Jakarta: Erlangga.
- Martoharsono, Soeharsono. 2006. “Biokimia I”. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Ngili, Yohanis. 2010. “Biokimia Dasar”. Bandung: Rekayasa Sains.

- Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Poedjiadi, Anna. 1994. "Dasar – Dasar Biokimia". Jakarta:UI – Press.
- Pomeranz, Y. & C.E. Meloan. 1994. Food Analysis Theory and Practice (3rd ed.). Chapman & Hall, New York
- Sitorus, Marham. 2009. "Spektrofotometri Eludasi Struktur Molekul Organik". Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sudarmadji S., Bambang H., danSuhardi. 1984. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta.