

**ABSTRAK**  
**ANALISIS KADAR GLUKOSA PADA SINGKONG REBUS**  
**(*Manihot esculenta* Crantz) DAN SINGKONG FERMENTASI**  
**MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI**  
**VISIBLE DENGAN PEREAKSI NATRIUM PIKRAT**

**Oleh :**  
**Ninih Sugiarti**  
**13151027**

Glukosa merupakan monosakarida yang paling banyak terdapat di dalam buah-buahan dan tumbuh-tumbuhan. Glukosa juga dapat di hasilkan melalui hidrolisis polasakarida atau disakarida baik menggunakan asam atau enzim. Pada proses fermentasi biasanya mengandung banyak glukosa hal ini dikarenakan terjadinya penguraian pati menjadi gula-gula pereduksi dengan bantuan enzim yang ada pada mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar glukosa pada singkong rebus dan tape singkong menggunakan spektrofotometri *visible* dengan pereaksi natrium pikrat. Hasil yang diperoleh dari validasi metode dengan serangkaian konsentrasi glukosa 10-60 bpj diperoleh persamaan kurva yaitu  $Y = 0,0051x + 0,2467$  dengan nilai *r*, *BD* dan *BK* berturut-turut adalah 0,997; 4,1899 bpj dan 13,9664 bpj. Untuk uji ketelitian diperoleh nilai *SD* dan *KV* berturut-turut adalah 0,191 dan 1,218 %. Sedangkan untuk nilai rata-rata perolehan kembali (*recovery*) dengan metode sampel adisi diperoleh hasil sebesar 109,66%. Hasil penetapan kadar glukosa pada singkong rebus diperoleh nilai sebesar 2,35 % sedangkan pada tape singkong fermentasi hari ke-1 sampai dengan hari ke-5 berturut-turut adalah 3,072 %; 3,683 %; 4,272 %; 5,098 % dan 4,045%. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa metode yang digunakan dapat menentukan kadar glukosa pada singkong fermentasi.

Kata kunci : Fermentasi, Glukosa, Natrium pikrat, Singkong, Spektrofotometri *Visible*.

**ABSTRACT**  
**DETERMINATION OF GLUCOSE LEVEL ON BOILED CASSAVA (*Manihot Esculenta Crantz*) and FERMENTED CASSAVA USING VISIBLE SPECTROPHOTOMETRIC METHOD WITH SODIUM PICRATE REAGENT**

**By :**  
**Ninih Sugiarti**  
**13151027**

Glucose is the most abundant monosaccharide found in fruits and vegetation. Glucose can also be produced by the hydrolysis of polasakarida or disaccharide using both acids and enzymes. In the fermentation process usually contains a lot of glucose this is due to the decomposition of starch into reducing sugars with the help of enzymes that exist in microbes. This research is intended to determine the glucose level in boiled cassava and cassava tape using visible spectrophotometry with sodium picrat reagent. The result obtained from the validation method with the score of 10-60 bpj glucose concentration obtained the equation of curve that is  $Y = 0,0051x + 0,2467$  with the value of r, BD and BK respectively is 0,997; 4.1899 bpj and 13.9664 bpj. For accuracy test, SD and KV were 0.191 and 1.218%, respectively. For. (Recovery) by method. Results 109.66%. The result of determination of glucose level on boiled cassava was obtained by 2.35% while in the fermented cassava ribbon on the 1 st day until the 5th day was 3.072%; 3.683%; 4.272%; 5.098% and 4.045%. The results obtained by a method that can be used to determine the level of glucose in fermented cassava.

**Keywords:** Fermentation, Glucose, Sodium pikrat, Cassava, Visible Spectrophotometry.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin...

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Panyayang, penulis panjatkan puja dan puji syukur atas kehadirat-Nya, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan judul **“PENETAPAN KADAR GLUKOSA PADA SINGKONG REBUS (*Manihot esculenta* Crantz) DAN SINGKONG FERMENTASI MENGGUNAKAN METODE SPEKTROFOTOMETRI *VISIBLE* DENGAN PEREAKSI NATRIUM PIKRAT”**. Laporan tugas akhir ini merupakan salah satu persyaratan wajib bagi mahasiswa program pendidikan Strata Satu (S1) untuk mengikuti Sidang Akhir di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung (STFB). Penyusunan laporan tugas akhir ini tentunya tidak terlepas dari partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih, terutama kepada :

1. Allah SWT Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyang, atas segala rahmat, hidayah serta nikmat dan karunia-Nya yang telah diberikan kepada penulis.
2. Orang tua tercinta, yang tak henti-hentinya memberikan dukungan berupa do'a, kasih sayang, semangat dan materil sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini.
3. Bapak Muhammad Nur Abdillah, M. Si., Apt selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan, bimbingan, dan motivasi yang

membangun kepada penulis hingga laporan tugas akhir ini terselesaikan dengan baik.

4. Bapak Ivan Andriansyah, M.pd selaku dosen pembimbing serta atas ketulusan hati dan kesabarannya dalam membimbing, mendukung, dan mengarahkan penulis hingga laporan tugas akhir ini terselesaikan dengan baik.
5. Serta berbagai pihak yang belum tertulis dan yang tidak mungkin disebutkan satu persatu yang telah berperan dalam penyusunan laporan tugas akhir ini. Penulis hanya bisa berdoa, semoga Allah membalas kebaikan-kebaikan mereka dengan setimpal. Amin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan, karena keterbatasan pengetahuan maupun pengalaman penulis. Oleh karena itu penulis mohon maaf bila ada kesalahan dalam penulisan proposal penelitian dan penulis mengharapkan segala bentuk kritik maupun saran yang bersifat membangun dari pembaca.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

ABSTRAK .....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
Bab I Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	2
I.3 Tujuan Penelitian .....	2
I.4 Manfaat Penelitian .....	3
I.5 Tempat Dan Waktu Penelitian .....	3
Bab II Tinjauan Pustaka .....	4
II.1 Klasifikasi Singkong.....	4
II.2 Karbohidrat .....	5
II.3 Glukosa .....	5
II.4 Indeks Glikemik.....	6
II.5 Fermentasi .....	7
II.6 Tape .....	8
II.7 Proses Pembuatan Tape .....	8
II.8 Validasi Metode Analisis.....	10
II.9 Spektrofotometri UV-Vis .....	12
II.10 Prinsip Spektrofotometri UV-Vis .....	13

II.11 Instrumen Spektrofotometri .....	14
Bab III Metodologi Penelitian .....	17
Bab IV Prosedur Penelitian .....	18
IV.1 Alat Dan Bahan .....	18
IV.2 Determinasi Tanaman .....	18
IV.3 Pembuatan Tape Singkong.....	18
IV.4 Preparasi Sampel .....	18
IV.5 Uji Kualitatif .....	19
IV.6 Pembuatan Reagent Natrium Pikrat .....	20
IV.7 Pembuatan Larutan Baku 500 Bpj.....	20
IV.8 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Baku Glukosa.....	20
IV.9 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Sampel .....	20
IV.10 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Standar Adisi.....	21
IV.11 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Blanko ...	21
IV.12 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Baku .....	21
IV.13 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Adisi.....	21
IV.13 Validasi Metode .....	22
IV.14 Analisis Kadar Glukosa Pada Sampel .....	22
Bab V Hasil Dan Pembahasan.....	24
V.1 Determinasi Tanaman.....	24
V.2 Uji Kualitatif.....	24
V.3 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum .....	25
V.4 Uji Selektifitas .....	26
V.5 Kurva Kalibrasi Baku Glukosa .....	26
V.6 Kurva Kalibrasi Metode Adisi Standar.....	28
V.7 Penentuan Akurasi Metode.....	28

V.8 Penentuan Presisi Metode.....	29
V.9 Analisis Kadar Glukosa .....	30
Bab IV Kesimpulan Dan Saran .....	32
VI.1 Kesimpulan .....	32
VI.2 Saran.....	32
Daftar Pustaka .....	34
Lampiran .....	37

## DAFTAR GAMBAR

Gambar V.1 Kurva Kalibrasi Baku Glukosa .....	28
---	----

## DAFTAR TABEL

Tabel V.1 Data Uji Kualitatif Singkong Rebus .....	25
Tabel V.2 Data Uji Kualitatif Singkong Fermentasi .....	25
Tabel V.3 Data Absorbansi Seri Larutan Baku Glukosa .....	27
Tabel V.4 data hasil pengukuran panjang gelombang serapan maksimum .....	26
Tabel V.5 Data Akurasi Standar Adisi Glukosa .....	28
Tabel V.6 Data Hasil Penentuan Presisi .....	29
Tabel V.7 Data Analisis Kadar Glukosa.....	30

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Tanaman.....	37
Lampiran 2 Hasil Uji Kualitatif.....	38
Lampiran 3 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimu .....	40
Lampiran 4 Hasil Perhitungan Kurva Kalibrasi Baku Glukosa.....	41
Lampiran 5 Hasil Perhitungan Kurva Kalibrasi Adisi.....	43
Lampiran 6 Hasil Perhitungan Akurasi .....	44
Lampiran 7 Hasil Perhitungan Presisi .....	46
Lampiran 8 Hasil Perhitungan Kadar Glukosa.....	49

## DAFTAR SINGKATAN

<b>SINGKATAN</b>	<b>NAMA</b>
BD	Batas Deteksi
BK	Batas Kuantitasi
Bpj	Bagian Per-Juta
KV	Koefisien Variasi
SD	Standar Deviasi
UV-Vis	Ultraviolet Visibel

## **Bab I Pendahuluan**

### **I.1 Latar Belakang**

Singkong atau ubi kayu, tergolong dalam famili *Euphorbiaceae*, genus *Manihot* dengan spesies *esculenta* Crantz merupakan satu dari sekian banyak bahan pangan yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbohidrat. Singkong atau ubi kayu menduduki urutan ketiga terbesar sebagai sumber karbohidrat setelah padi dan jagung (Badan Litbang Pertanian, 2011).

Karbohidrat mempunyai peranan penting bagi masyarakat karena menjadi sumber energi utama. Karbohidrat berfungsi sebagai cadangan makanan dan pemberi rasa manis pada makanan (Murray dkk., 2009). Sedangkan dalam tubuh, karbohidrat berguna untuk mencegah timbulnya ketosis, pemecahan protein tubuh yang berlebihan, kehilangan mineral, dan berguna untuk membantu metabolisme lemak dan protein (Winarno, 2002). Secara umum, rasa manis yang diperoleh dari makanan berasal dari penguraian karbohidrat (pati) oleh enzim amilase menjadi gula (Zhang dkk., 2002). Gula yang dihasilkan dari proses penguraian tersebut adalah glukosa, sukrosa dan fruktosa. Karbohidrat merupakan bahan baku yang menunjang dalam proses fermentasi, dimana prinsip dasar fermentasi adalah degradasi komponen pati oleh enzim (Zainal dkk., 2016).

Fermentasi merupakan suatu proses perubahan kimia pada substrat organik sebagai akibat aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroba (Mollendorff, 2008). Karbohidrat yang terdapat pada singkong yang

diolah dengan cara fermentasi akan meningkatkan nilai indeks glikemik dalam tubuh (Ragnhild dkk., 2004).

Indeks glikemik (IG) merupakan pengelompokkan bahan pangan berdasarkan efek fisiologisnya terhadap kadar glukosa darah setelah makanan dikonsumsi. Bahan pakan dicerna dengan kecepatan berbeda-beda sehingga respon kadar glukosa dalam darah juga berbeda. Indeks glikemik merupakan salah satu cara secara ilmiah yang sesuai untuk penatalaksanaan diet bagi penderita DM (diabetes mellitus), orang yang berupaya menurunkan berat badan dan olahragawan yang memerlukan banyak energi (Siagian, 2004).

Menurut Badawi (2009) diabetes mellitus merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan kadar glukosa darah melebihi normal. Hal ini penting sekali bagi penderita DM untuk mengetahui indeks glikemik dalam mengontrol pola makan yang sehat.

Berdasarkan uraian di atas penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar glukosa dalam sampel singkong rebus dan tape singkong atau *peyeum* menggunakan metode spektrofotometri *visible* dengan pereaksi natrium pikrat .

## **I.2 Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

Berapa kadar glukosa pada singkong rebus dan singkong fermentasi pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-5 ?

## **I.3 Tujuan Penelitian**

Menentukan kadar glukosa pada singkong rebus dan singkong fermentasi. pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-5.

**I.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang kadar glukosa pada singkong rebus dan tape singkong.
2. Sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut tentang bahan pangan yang mengandung glukosa.

**I.5 Tempat Dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analisis Sekolah Tinggi Farmasi Bandung yang dilaksanakan pada bulan Maret-Juni 2017.

## Bab II Tinjauan Pustaka

### II.1 Klasifikasi Singkong

Singkong berasal dari benua Amerika, tepatnya Brazil dan Paraguay. Penyebarannya hampir ke seluruh Negara termasuk Indonesia. Singkong ditanam di wilayah Indonesia sekitar tahun 1810 yang diperkenalkan oleh orang Portugis dari Brazil. Singkong merupakan tanaman yang penting bagi negara beriklim tropis seperti Nigeria, Brazil, Thailand, dan juga Indonesia. Ke empat Negara tersebut merupakan negara penghasil singkong terbesar di dunia (Soelistijono, 2006). Singkong tergolong tanaman yang tidak asing lagi bagi sebagian besar masyarakat. Tumbuhan ini berdasarkan klasifikasi ilmiahnya tergolong dalam keluarga besar *Euphorbiaceae* dengan nama latin *Manihot esculenta*. Adapun klasifikasi singkong (*Euphorbiaceae*) sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae  
Divisio : Spermatophyta  
Kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Euphorbiales  
Familia : Euphorbiaceae  
Genus : Manihot  
Spesies : M. esculenta

Nama binominal : *Manihot esculenta* Crantz. (Hafidatul dkk, 2012).

Singkong merupakan jenis tanaman perdu yang dapat hidup sepanjang tahun. Singkong mudah ditanam dan dibudidayakan, dapat ditanam di lahan yang kurang subur, resiko gagal panen 5% dan tidak memiliki banyak hama. Tanaman ini mempunyai umur rata-

rata 7 hingga 12 bulan. Singkong mempunyai umbi atau akar pohon berdiameter rata-rata 5-10 cm lebih dan panjang 50-80 cm. Daging umbinya ada yang berwarna putih atau kekuning-kuningan (Soemarjo, 1992).

## **II.2 Karbohidrat**

Karbohidrat adalah senyawa yang mengandung karbon, hidrogen dan oksigen. Oksigen dan hidrogen yang ada dalam karbohidrat memiliki proporsi yang sama seperti di air. Karbohidrat adalah sumber utama energi bagi tubuh kita dan satu-satunya sumber energi bagi jaringan saraf kita. Karbohidrat terkandung dalam makanan nabati seperti laktosa dan ribose yang ada dalam air susu. Dalam berbagai bagian tanaman seperti daun, batang, buah, biji dan akar, karbohidrat disimpan sebagai pati dan gula (Begum, 2008).

## **II.3 Glukosa**

Glukosa adalah monosakarida yang paling banyak terdapat di dalam buah-buahan, tumbuh-tumbuhan, madu, darah, dan cairan binatang. Glukosa juga dapat di hasilkan melalui hidrolisis polasakarida atau disakarida baik menggunakan asam atau enzim.

Glukosa merupakan bahan baku yang menarik untuk industri kimia, farmasi, dan agroindustri lain. Hidrogenasi glukosa menghasilkan sorbitol yang banyak digunakan dalam industri pangan, minuman, dan formulasi bahan kosmetika. Glukosa juga bisa dijual atau dikomersialkan dalam bentuk cair, yaitu sebagai sirup glukosa. Sirup glukosa banyak digunakan sebagai pemanis pada industri pangan. Sedangkan dekstrosa monohidrat (glukosa kristal) lebih banyak

digunakan dalam industri farmasi yaitu sebagai bahan pembantu penabletan (Risnoyatiningasih, 2011).

Sebagai aldoheksosa, glukosa memiliki 6 atom karbon didalam rantai molekulnya. Salah satu ujung rantai nomer tersebut merupakan gugus aldehyd dan nomer 2 sampai nomer 5 adalah gugus chiral, dengan demikian terdapat 24 atau lebih kemungkinan konfigurasi isomer pada glukosa. Sebagian bebas di alam, oleh karena itu salah satu ujung rantai glukosa merupakan gugus aldehyde, maka glukosa memiliki sifat-sifat aldehyde (Risnoyatiningasih, 2011).

Glukosa merupakan salah satu famili Aldoheksosa yang memiliki dua bentuk isomer, yaitu D-glukose dan L-glukose. Di alam hanya ada 3 macam aldoheksosa yang memiliki bentuk isomer D-glukose, yaitu D-manosa, D-glukosa dan D-galaktosa.

#### **II.4 Indeks Glikemik**

Indeks Glikemik adalah tingkatan pangan menurut efeknya terhadap kadar gula darah. Dengan kata lain indeks glikemik adalah respon glukosa darah terhadap makanan dibandingkan dengan respon glukosa darah terhadap glukosa murni. Indeks glikemik berguna untuk menentukan respon glukosa darah terhadap jenis dan jumlah makanan yang dikonsumsi. Indeks glikemik bahan makanan berbeda-beda tergantung pada fisiologi, bukan pada kandungan bahan makanan (Rimbawan dan Siagian, 2004).

Penderita penyakit diabetes dianjurkan memilih pangan yang ber-IG rendah, sebab pangan tersebut tidak menaikkan kadar gula darah secara drastis (Rimbawan dan Siagian, 2004). Nilai IG pangan

berguna bagi penderita gangguan metabolisme glukosa seperti penderita diabetes dalam memilih jenis makanan yang tepat untuk dapat mengontrol kadar glukosa darah, dan bagi populasi umum untuk mencegah terjadinya kondisi tersebut (El, 1999).

## **II.5 Fermentasi**

Mollendorff (2008) mengungkapkan fermentasi merupakan proses perubahan biokimia dari substrat karena adanya aktivitas dari mikroba dan enzim yang dikeluarkan oleh mikroba tersebut. Pada proses fermentasi terjadi peningkatan nutrisi dan kualitas organoleptik. Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik sesuai. Fermentasi juga dapat berfungsi untuk mengawetkan bahan pangan, peningkatan nilai gizi, dan perbaikan cita rasa yang telah dilakukan mungkin sejak zaman prasejarah oleh manusia dan hampir semua peradaban. Fermentasi pada masa mendatang akan menjadi cara yang semakin penting untuk membuat jenis pangan baru, juga untuk maksud pengawetan yang bertambah nyata (Harris dan Karmas, 1989). Proses fermentasi dikenal juga dengan proses perombakan karbohidrat. yaitu dalam proses ini polisakarida akan dirombak atau dipecah menjadi disakarida, kemudian disakarida akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa dengan bantuan enzim amilase yang berasal dari kapang. Jika ragi yang semakin banyak maka enzim amilase juga akan semakin banyak sehingga glukosa dan fruktosa juga akan semakin banyak dan rasanya akan semakin manis. Dalam proses selanjutnya glukosa akan dirombak menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> oleh bantuan enzim invertase yang berasal dari khamir atau bakteri.

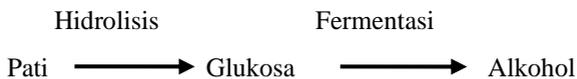
Jumlah glukosa semakin banyak maka akan semakin banyak juga alkohol yang dihasilkan, dan apabila fermentasi berlangsung lebih lama maka produksi alkohol juga akan semakin banyak, jika dilanjutkan dengan fermentasi dalam waktu yang cukup lama maka produksi asam asetat atau asam laktat juga akan meningkat, sebaliknya jika fermentasi sangat singkat maka produksi asam juga akan sedikit (Hidayat, 2006).

## II.6 Tape

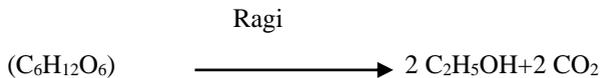
Menurut ganjar (2003) dalam proses fermentasi tapai, digunakan beberapa jenis mikroorganisme seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oryzae*, *Endomycopsis burtonii*, *Mucor sp.*, *Candida utilis*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *pediococcus*. Tapai hasil fermentasi dari *S. cerevisiae* umumnya berbentuk semi-cair, berasa manis keasaman, menandung alkohol, dan memiliki tekstur lengket. Umumnya, tapai diproduksi oleh industri kecil dan menengah sebagai hidangan pencuci mulut.

## II.7 Proses Pembuatan Tape

Proses pembuatan tape dari tinjauan Teknik Kimia merupakan proses konversi karbohidrat (pati) yang terkandung dalam talas menjadi gula kemudian berlanjut menjadi alkohol melalui proses biologi dan kimia (biokimia), alur proses fermentasi adalah sebagai berikut:



Fermentasi oleh ragi, misalnya *Saccharomyces cereviseae* dapat menghasilkan etil alkohol (etanol) dan CO<sub>2</sub> melalui reaksi sebagai berikut:



### 1. Hidrolisis (Perebusan)

Hidrolisis adalah suatu proses antara reaktan dengan air agar suatu senyawa pecah atau terurai. Dalam pembuatan tape, tahap hidrolisis diwakili oleh tahap perebusan substrat. Reaksi hidrolisis merupakan reaksi orde satu karena air yang digunakan berlebih, sehingga perubahan air dapat diabaikan. Reaksi hidrolisis dapat terjadi pada semua ikatan yang menghubungkan monomer yang satu dengan yang lainnya sehingga diperoleh produk berupa glukosa. Buckle (2003) menyatakan bahwa dalam proses fermentasi sederhana dari proses hidrolisis pati yaitu dengan perebusan. Perebusan penting untuk dilakukan untuk mempermudah proses fermentasi dan untuk meningkatkan nilai produksi.

### 2. Fermentasi Gula Menjadi Alkohol

Enzim yang mampu memecah glukosa menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub> adalah enzim kompleks yang disebut Zimase yang dihasilkan oleh genus *Saccharomyces*. Proses ini terus berlangsung dan akan terhenti jika kadar etanol sudah meningkat sampai tidak dapat diterima lagi oleh sel-sel khamir. Tingginya kandungan alkohol akan menghambat pertumbuhan khamir dan hanya mikroba yang toleran terhadap alkohol yang dapat tumbuh.

### 3. Pembentukan Asam

Apabila proses fermentasi tape terus berlanjut maka terbentuk asam asetat karena adanya bakteri *Acetobacter* yang sering terdapat pada ragi yang bersifat oksidatif. Metanol yang dihasilkan dari penguraian

glukosa akan dipecah oleh *Acetobacter* menjadi asam asetat, asam piruvat, dan asam laktat. Asam piruvat adalah produk antara yang terbentuk pada hidrolisis gula menjadi etanol. Asam piruvat dapat diubah menjadi etanol dan asam laktat.

#### 4. Pembentukan Ester

Alkohol yang dihasilkan dari penguraian glukosa oleh khamir akan dipecah menjadi asam asetat pada kondisi aerobik. Pada proses fermentasi lanjut, asam-asam organik yang terbentuk seperti asam asetat akan bereaksi dengan etanol membentuk suatu ester aromatik sehingga tape memiliki rasa yang khas.

## II.8 Validasi Metode Analisis

Validasi metode analisis adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Beberapa parameter dalam validasi metode analisis yaitu : (Harmita, 2004)

### II.8.1 Ketepatan (Akurasi)

Ketepatan (akurasi) adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Ketepatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan. Untuk mencapai ketepatan yang tinggi hanya dapat dilakukan dengan cara mengurangi galat sistematik tersebut seperti menggunakan peralatan yang telah dikalibrasi, menggunakan pereaksi dan pelarut yang baik, pengontrolan suhu, dan pelaksanaannya yang cermat, taat asas sesuai prosedur (Harmita, 2004).

### **II.8.2 Presisi (keseksamaan)**

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang dari sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004).

### **II.8.3 Selektivitas (Spesifisitas)**

Selektivitas adalah kemampuan suatu metode untuk hanya mengukur zat tertentu saja secara cermat dan seksama dengan adanya komponen lain yang mungkin ada dalam matriks sampel (Harmita, 2004).

### **II.8.4 Batas Deteksi (*Limit Of Detection*)**

Batas deteksi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang masih dapat dideteksi, meskipun tidak selalu dapat dikuantifikasi. LOD merupakan batas uji secara spesifik menyatakan apakah analit di atas atau di bawah nilai tertentu. Definisi batas deteksi yang paling umum digunakan dalam kimia analisis adalah bahwa batas deteksi merupakan kadar analit yang memberikan respon sebesar respon blanko ( $y_b$ ) ditambah dengan 3 simpangan baku blanko ( $3S_b$ ) (Harmita, 2004)..

### **II.8.5 Batas Kuantifikasi (*Limit Of Quantification*)**

Batas kuantifikasi didefinisikan sebagai konsentrasi analit terendah dalam sampel yang dapat ditentukan dengan presisi dan akurasi yang dapat diterima pada kondisi operasional metode yang digunakan. Sebagaimana LOD, LOQ juga diekspresikan sebagai konsentrasi

(dengan akurasi dan presisi juga dilaporkan) (Harmita, 2004).

### **II.8.6 Linieritas dan Rentang**

Linieritas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Rentang metode adalah pernyataan batas terendah dan tertinggi analit yang sudah ditunjukkan dapat ditetapkan dengan kecermatan, keseksamaan, dan linieritas yang dapat diterima (Harmita, 2004).

### **II.8.7 Ketangguhan (*Ruggedness*)**

Ketangguhan metode adalah derajat ketertiruan hasil uji yang diperoleh dari analisis sampel yang sama dalam berbagai kondisi uji normal, seperti laboratorium, analisis, instrumen, bahan pereaksi, suhu, hari yang berbeda. Ketangguhan biasanya dinyatakan sebagai tidak adanya pengaruh perbedaan operasi atau lingkungan kerja pada hasil uji. Ketangguhan metode merupakan ukuran ketertiruan pada kondisi operasi normal antara lab dan antar analisis (Harmita, 2004).

### **II.8.8 Ketahanan (*Robustness*)**

Ketahanan merupakan kapasitas metode untuk tetap tidak terpengaruh oleh adanya variasi parameter metode yang kecil. Ketahanan dievaluasi dengan melakukan variasi parameter-parameter metode seperti persentase pelarut organik, pH, kekuatan ionik, suhu, dan sebagainya (Harmita, 2004).

## II.9 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif, jika energi tersebut ditransmisikan atau direfleksikan sebagai fungsi dari panjang gelombang. Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber sinar tampak yang kontinu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembandingan (Khopkar, S.M, 2002).

Sinar UV-Vis memberikan energi yang cukup untuk terjadinya transisi elektronik, dengan demikian spektrogram UV-Vis dikatakan sebagai spektrogram elektronik. Keadaan energi yang paling rendah disebut dengan keadaan dasar, transisi-transisi elektronik akan meningkatkan energi molekular dari keadaan dasar ke satu atau lebih tingkat energi tereksitasi. Jika suatu molekul sederhana dikenakan radiasi elektromagnetik maka molekul tersebut akan menyerap radiasi elektromagnetik yang energinya sesuai. Interaksi antar molekul dengan radiasi elektromagnetik ini akan meningkatkan energi potensial elektron pada tingkat keadaan tereksitasi. Apabila pada molekul yang sederhana tadi hanya terjadi transisi elektronik pada satu macam gugus yang terdapat pada molekul, maka hanya akan terjadi satu absorpsi yang merupakan garis spektrum (Gandjar, 2015). Parameter yang sering digunakan dalam spektrofotometer UV-Vis adalah panjang gelombang (nm). Rentang panjang

gelombang UV mulai dari 200 nm sampai dengan 400 nm sedangkan rentang panjang gelombang *Visible* mulai dari 400 nm sampai dengan 800 nm.

## **II.10 Prinsip Spektrofotometri UV-Vis**

Radiasi yang berasal dari UV-Vis diabsorpsi oleh molekul organik aromatik terkonjugasi. Besarnya absorbansi radiasi tersebut sebanding dengan banyaknya molekul analit yang mengabsorpsi dan dapat digunakan untuk analisi kuantitatif.

Jumlah cahaya yang diserap oleh suatu zat dalam larutan berbanding lurus dengan konsentrasi zat dalam larutannya. Hubungan antara serapan cahaya dengan konsentrasi zat dalam larutan dapat dinyatakan dengan persamaan Lambert-Beer berikut ini :

$$A = a \cdot b \cdot c$$

Dimana :

A = absorbansi

a = absorptivitas molar (L/mol cm)

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi zat yang menyerap sinar (mol/L)

## **II.11 Instrumen Spektrofotometer**

### **II.11.1 Sumber cahaya**

Sumber cahaya yang digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm adalah deuterium, sementara untuk daerah visible pada panjang gelombang antara 350-900 nm sumber cahaya yang digunakan adalah halogen dan tungsten.

### **II.11.2 Monokromator**

Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang mengurangi radiasi polikromatik menjadi jalur yang efektif dengan memisahkan panjang gelombang-panjang gelombang yang terbentuk menjadi jalur yang lebih sempit.

### **II.11.3 Sampel Kontainer (kuvet)**

Kuvet adalah wadah untuk tempat larutan uji. Jenis kuvet berdasarkan bahan pembuatnya yaitu kuvet silika, kuvet gelas.

### **II.11.4 Detektor Radiasi**

Setelah sinar melalui sampel, maka penurunan intensitas apapun yang disebabkan oleh absorpsi diukur dengan detektor. Detektor berfungsi mengubah energi radiasi menjadi suatu sinyal yang bisa terukur.

### **II.11.5 Rekorder**

Energi radiasi yang telah diubah menjadi sinyal listrik kemudian diperkuat oleh amplifier akan menggerakkan jarum pembacaan atau pena rekorder. Dengan semakin berkembangnya teknologi, maka sekarang hasil pengukuran setelah selesai melalui detektor akan langsung di proses menjadi sinyal digital atau bisa ditampilkan pada layar monitor.

### **Bab III Metode Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar glukosa pada singkong rebus dan singkong fermentasi pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-5. Metode analisis kadar glukosa pada singkong dan singkong fermentasi yaitu dengan menggunakan instrumen spektrofotometri visibel dengan bantuan pereaksi natrium pikrat.

Pertama-tama singkong yang digunakan sebagai sampel dideterminasi terlebih dahulu untuk mengetahui varietasnya, kemudian masing-masing sampel dilakukan ekstraksi menggunakan etanol 80% . dilakukan dari hari ke-1 sampai dengan hari ke-5 pada proses fermentasi. Setelah itu dilakukan uji kualitatif pada sampel dan dilanjutkan dengan penentuan panjang gelombang serapan maksimum glukosa baku, penentuan panjang gelombang serapan maksimum adisi dan penentuan panjang gelombang serapan maksimum sampel, kemudian dilakukan validasi metode analisis yaitu untuk menentukan batas deteksi , batas kuantitasi, akurasi dan presisi. Validasi metode analisis didapat dari kurva kalibrasi.

Selanjutnya dilakukan analisis kadar terhadap sampel. Sebelum dilakukan pengukuran kadar, sampel terlebih dahulu direaksikan dengan pereaksi natrium pikrat dan sudah melalui pemanasan selama 10 menit. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.