

PENETAPAN KADAR LEMAK SECARA KOMPLEKSOMETRI MENGUNAKAN LARUTAN BAKU BARIUM (Ba^{2+})

FAT ASSAY BY BARIUM ION COMPLEXOMETRY

Ibnu Gholib Gandjar
Fakultas Farmasi UGM

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian pengembangan dan perbandingan metode penetapan kadar lemak dalam makanan secara kompleksometri. Perbandingan dilakukan antara metode penetapan kadar lemak menurut Bligh dan kompleksometri dengan berbagai macam indikator. Data penelitian yang diperoleh dilakukan uji statistika yang meliputi ketelitian, ketepatan, dan perolehan kembali.

Metode kompleksometri dikerjakan dengan melakukan titrasi kembali kelebihan larutan baku Ba^{2+} dari cuplikan yang telah dihidrolisis secara alkalis menggunakan larutan baku EDTA yang ditambah dengan indikator Murexide, Eriochrome Black T dan Eriochrome Black T yang didahului dengan penambahan garam magnesium kalium EDTA (MgKEDTA).

Metode kompleksometri dengan larutan baku Ba^{2+} menggunakan indikator Eriochrome Black T yang didahului dengan penambahan garam MgKEDTA mempunyai ketepatan, ketelitian, dan uji perolehan kembali yang lebih baik dibanding metode Bligh, kompleksometri dengan indikator Murexide, dan Eriochrome Black T saja. Metode ini berhasil diterapkan untuk analisis lemak dalam berbagai cuplikan makanan baik yang berbentuk padat maupun cair.

Kata kunci : lemak, kompleksometri, Ba^{2+} , Eriochrome Black T MgKEDTA, makanan

ABSTRACT

A study had been performed to develop a complexometric method for determination of fat. The present method was also compared with that of Bligh method and other complexometry using some indicators. The results of precision, accuracy, and recovery were statistically compared.

The complexometric methods done by titrating the excess of Ba^{2+} standard solution as alkaline hydrolyze sample, using standard of EDTA solution and adding some of indicators i.e.: Murexide, Eriochrome Black T, and Eriochrome Black T added with salt of MgKEDTA.

The complexometric method with Eriochrome Black T added with salt of MgKEDTA had precision, accuracy and recovery was better than the other methods. The present method was successfully applied in the assay of fat in foods.

Key-words : *fat, complexometry, Ba²⁺, Eriochrom Black T MgKEDTA, food*

PENDAHULUAN

Penetapan kadar lemak dalam makanan biasanya dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut organik dan selanjutnya dilakukan penguapan dan penimbangan (Bligh & Dyer, 1959). Cara ini kurang tepat dan kurang selektif karena beberapa senyawa seperti steroid, vitamin, zat warna, dan pigmen ikut terekstraksi dan tertetapan.

Lemak dapat dihidrolisis menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Ketaren, 1986 ; Woodman, 1959). Hidrolisis ini dapat terjadi dalam suasana netral atau alkalis. Atas dasar hasil hidrolisis ini dikembangkan metode analisis lemak dengan cara kompleksometri menggunakan larutan baku Ca²⁺. Kelebihan ion kalsium ditetapkan secara titrasi kembali dengan larutan baku EDTA dengan indikator yang sesuai (Hernandez & Villanova, 1974).

Kelemahan analisis dengan menggunakan ion kalsium sebagai pengendap asam lemak bebas, reaksi yang terjadi tidak kuantitatif dan perlu pengaturan pH yang ketat, disamping itu ion kalsium juga sering terdapat dalam bahan makanan yang ditetapkan (Beckett & Stenlake, 1968). Atas dasar kelemahan pada metode tersebut, maka penelitian ini digunakan ion barium (Ba²⁺). Diharapkan ion barium akan terjadi reaksi pengendapan yang lebih sempurna dan kuantitatif. Selain itu kemungkinan terdapatnya ion Ba²⁺ dalam makanan kecil, sehingga hasil analisis menunjukkan kadar sebenarnya dari lemak yang diteliti.

Tujuan penelitian adalah mengembangkan metode analisis lemak secara kompleksometri, metode yang dikembangkan diharapkan peka, teliti, dan tepat.

METODOLOGI

Jalan Penelitian

Larutan baku yang mengandung ion Ba²⁺ : Sebanyak 4,88 g serbuk BaCl₂ 2H₂O yang ditimbang saksama dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter dan dilarutkan dalam air suling sampai diperoleh volume tertentu.

Standardisasi larutan baku Ba²⁺ : Larutan BaCl₂ (25,0 ml) diencerkan dengan air suling bebas logam sampai diperoleh volume 100,0 ml. Kepada larutan ditambahkan 3 sampai dengan 6 ml larutan NaOH 1M sampai pH larutan antara 11,5 sampai dengan 12,7. Kemudian ditambahkan 50 mg campuran indikator biru timol metil/KNO₃ (Methyl Thymol Blue/ KNO₃) dan dititrasi dengan larutan baku EDTA sampai terjadi perubahan warna dari biru menjadi abu-abu (Basset, *et al.*, 1978)

Penetapan lemak dalam makanan :**a. Menurut metode gravimetri (Bligh & Dyer 1959)**

Sebanyak 10,0 g cuplikan yang ditimbang saksama, dicampur dengan 100 ml kloroform dan 200 ml metanol kemudian dihaluskan. Ditambahkan kloroform dan air suling masing-masing sebanyak 100 ml dan dihaluskan selama 30 detik. Homogenat yang diperoleh disaring melalui kertas saring Whatman No 1 menggunakan corong Buchner yang diikuti dengan penghisapan dengan pompa hampa. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu ukur, kemudian didiamkan beberapa menit supaya terjadi pemisahan. Jumlah volume kloroform dicatat. Diambil sejumlah volume tertentu filtrat kloroform dan dimasukkan kedalam cawan penguap yang telah diketahui bobotnya. Uapkan cairan dalam cawan pada suhu 40-50 °C sambil dialiri gas nitrogen. Setelah kering cawan ditimbang maka diperoleh bobot residu lemak. Kadar lemak dapat dihitung dengan rumus :

$$\frac{\text{berat residu} \times \text{volume lapisan kloroform}}{\text{volume kloroform yang diuapkan}}$$

b. Metode kompleksometri :

1). Sampel lemak atau minyak (padat atau cair) : Lebih kurang 10,0 gram minyak ditimbang saksama dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer. Ditambahkan berturut-turut 80 ml KOH 8 %, 0,200 gram kalium karbonat dan 0,5 gram hidrosilamonium klorida, kemudian dipanaskan pada penangas air selama 20 menit. Larutan diencerkan dengan 25 ml etanol 40 %, didinginkan dan disaring, kemudian hasil saringan dicuci dengan larutan KOH 0,1 %. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml dan ditambahkan air suling sampai volume. Sebanyak 50,0 ml filtrat dipindahkan ke dalam beker gelas dan ditambahkan 15 ml asam klorida 2 M, dan selanjutnya campuran larutan dididihkan selama 10 menit, dan didinginkan. Setelah larutan menjadi dingin ditambahkan 5 ml larutan amonia pekat. Larutan diaduk secara perlahan-lahan dan kemudian ditambahkan 25,0 ml larutan baku Ba^{2+} . Larutan didiamkan selama kurang lebih 10 menit, disaring dan endapannya dicuci dengan 30 ml larutan amonia 0,05 M sebanyak 2 kali. Kepada filtrat yang diperoleh ditambahkan 1 ml larutan amonia pekat dan dengan cara yang sama, digunakan 3 macam indikator : *Murexide* (M), *Eriochrom Black T* (E), dan *Eriochrom Black T* yang didahului oleh penambahan 50 mg garam MgKEDTA (EMK). Larutan dititrasi dengan larutan baku EDTA sampai timbul warna.

2). Sampel susu : Lebih kurang 10,0 ml susu dimasukkan ke dalam beker gelas, kemudian dilakukan seperti percobaan 1).

Cara perhitungan:

a. Berat molekul relatif dari trigliserida yang terdapat dalam lemak dihitung berdasar komposisi asam lemak. Hal ini dapat didapatkan dari beberapa pustaka (Triebold & Aurand, 1963), seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel I. Bobot molekul rata-rata relatif asam lemak dan trigliserida (Triebold and Aurand, 1963).

Lemak/minyak	Asam Lemak	Trigliserida
<i>Almond</i>	281,09	881,27
Mentega	254,28	800,91
Kelapa	211,61	672,90
Jagung	279,94	877,89
<i>Hazelnut</i>	281,26	881,78
<i>Lard</i>	274,38	861,21
Biji kapas	276,09	866,34
Zaitun	280,05	878,22
Sawit	270,35	849,12
Sesami	279,97	877,98
Kedelai	279,97	876,03
Bunga matahari	280,61	879,50
Kacang tanah	284,07	890,28

- b. Perbandingan stoikiometri tidak langsung antara trigliserida dan ion Ba^{2+} yang digunakan sebagai pengendap. Sebagaimana diketahui stoikiometri dari reaksi antara Ba^{2+} dan gugus anionik dari asam lemak adalah 1:2, sehingga disimpulkan bahwa 1 mol Ba sebanding dengan 2/3 mol trigliserida. Berdasar pada kedua hal tersebut, maka untuk menentukan jumlah lemak cuplikan digunakan rumus berikut (Hernandez & Villanova, 1974):

$$\text{Lemak (\%)} = \frac{(B-E) T \times 333,3}{P}$$

dimana : B = jumlah (dlm mmol) dari Ca^{2+} yang ditambahkan kedalam 50,0 ml filtrat (dalam penelitian ini digunakan Ba^{2+}). E = jumlah (dlm mmol) EDTA yang digunakan. T = bobot molekul rata-rata relatif trigliserida. P = berat cuplikan. Untuk cuplikan berupa susu faktor 333,3 harus diganti dengan 353,7 dikarenakan 7,2 % asam lemak dalam susu mempunyai bobot molekul relatif yang rendah (Hernandez & Villanova, 1974)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengembangan dan perbandingan beberapa metode penetapan kadar lemak.

Dalam pengembangan metode ini ditetapkan kadar lemak dalam minyak kelapa (Merk M) dengan metode Bligh, kompleksometri dengan indikator *Murexide (M)*, *Eriochrom Black T (E)*, dan *Eriochrome Black T* yang didahului dengan penambahan garam magnesium kalium EDTA (EMK). Metode Bligh adalah metode perbandingan yang dasarnya adalah ekstraksi lemak dalam cuplikan dengan pelarut

organik, dalam penelitian ini digunakan cara penyarian menggunakan alat Sohlet. Hasil pengembangan metode tersebut disajikan dalam tabel II.

Tabel II. Kadar lemak (dalam %) dari cuplikan minyak kelapa (M^R) yang ditetapkan dengan metode Bligh dan kompleksometri dengan berbagai macam indikator

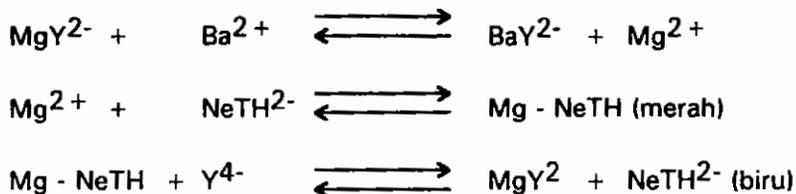
Parameter statistik	Bligh	M	E	EMK
Purata (%)	36,84	31,40	31,60	34,35
Standard deviasi	1,348	1,539	1,144	0,236
Koefisien variasi	3,654	3,981	3,508	0,687
Batas kesalahan	0,549	0,532	0,567	0,096
Jumlah penetapan (n)	6	6	6	6

M = digunakan indikator Murexide. E = digunakan indikator Eriochrom Black T.
EMK = digunakan indikator Eriochrom Black T dan garam Magnesium Kalium EDTA

Dari tabel tersebut terlihat bahwa hasil penetapan kadar menggunakan metode kompleksometri dengan indikator *Murexide* menunjukkan hasil yang paling kecil, kemudian diikuti indikator *Eriochrom Black T* dan *Eriochrom Black T* yang ditambah dengan garam MgKEDTA.

Berdasar hasil analisis statistika yang telah dilakukan maka metode kompleksometri dengan indikator *Eriochrome Black T* dengan penambahan garam MgKEDTA merupakan metode yang paling baik dan pilihan untuk penetapan kadar lemak. Metode pilihan ini menunjukkan ketelitian yang paling baik berdasar pada standard deviasi yang dimilikinya dibanding dengan ketiga metode yang lain (tabel II). Sedangkan berdasar pada koefisien variasinya maka dapat disimpulkan bahwa ketepatan metode kompleksometri dengan indikator *Eriochrome Black T* yang didahului dengan penambahan garam MgKEDTA memberikan ketepatan yang juga paling baik. Walaupun antara metode kompleksometri dengan indikator *Eriochrome Black T* dengan penambahan garam MgKEDTA tidak berbeda nyata dengan metode kompleksometri tanpa penambahan garam tersebut, namun melihat standard deviasi dan koefisien variasi yang diperoleh maka metode kompleksometri dengan indikator *Eriochrome Black T* dengan penambahan garam MgKEDTA merupakan metode terbaik untuk penetapan kadar lemak dalam makanan. Perubahan warna indikator *Eriochrome Black T* ternyata kurang jelas sehingga kurang tepat dalam penentuan titik akhir titrasi, berbeda jika kedalam larutan ditambahkan garam MgKEDTA. Penambahan garam MgKEDTA ternyata perubahan warna lebih tajam, penentuan titik akhir lebih mudah dan peka, reaksi lebih cepat, dan kompleks yang terbentuk lebih stabil.

Menurut Hernandez dan Villanova (1974) kompleks antara *Eriochrome Black T* dan ion bervalensi dua kurang stabil dan penambahan garam magnesium kalium EDTA dapat membantu penentuan titik akhir yang jelas melalui reaksi berikut :



Y^{4-} = ethylene diamine tetraacetate

NeTH^{2-} = anion bivalent Eriochrome Black T

Penerapan Metode Kompleksometri dengan Indikator Eriochrome Black T yang didahului dengan penambahan garam MgK EDTA.

Metode yang telah dikembangkan digunakan untuk penetapan kadar bahan makanan yang diperoleh dari pasaran di Kotamadya Yogyakarta. Bahan makanan yang dianalisis berbentuk cairan dan padat. Hasil yang diperoleh disajikan dalam tabel III.

Tabel III. Hasil penetapan kadar lemak (dlm %) dalam makanan dengan metode kompleksometri dengan indikator *Eriochrome Blak T* yang didahului dengan penambahan garam MgKEDTA

Jenis makanan	Kadar lemak	SD	CV
Minyak kelapa M	34,35	0,234	0,687
Minyak kelapa B	32,79	0,364	1,110
Minyak kelapa P	35,66	0,789	2,213
Minyak kedelai HS	41,12	0,518	1,259
Minyak jagung T	44,35	0,634	1,429
Kacang tanah	6,69	0,657	1,407
Susu sapi segar B	3,35	0,104	3,104
Susu sapi segar D	3,09	0,098	3,172
Susu skim S	0,61	0,019	3,115
Susu skim N	0,86	0,034	3,953

Keterangan :

1. Pengulangan analisis dilakukan sebanyak 6 kali
2. SD = simpangan baku
3. CV = koefisien variasi

Hasil penerapan metode kompleksometri dengan indikator *Eriochrome Blak T* yang didahului dengan penambahan garam MgKEDTA untuk analisis berbagai makanan baik dalam bentuk cairan dan padat menunjukkan bahwa metode tersebut layak dan tepat untuk penetapan kadar lemak dalam makanan. Melihat besarnya standard deviasi dan koefisien variasi (kurang dari batas ketervarian = 5 %)

menunjukkan bahwa metode kompleksometri yang dikembangkan mempunyai ketelitian dan ketepatan yang memadai untuk analisis lemak dalam makanan.

Keuntungan yang dapat diambil dari metode analisis lemak dengan cara kompleksometri dibanding dengan cara Bligh adalah metode kompleksometri dapat digunakan langsung untuk penetapan kadar lemak dalam cuplikan makanan baik dalam bentuk padat atau cairan. Selain itu metode titrimetri kompleksometri ini adalah bebas dari gangguan sterol, vitamin dan pigmen atau zat warna. Disamping itu dalam metode titrimetri tidak digunakan pelarut organik yang umumnya toksis terhadap kesehatan.

KESIMPULAN

Berdasar pada penelitian yang dikerjakan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Metode kompleksometri dengan larutan baku Ba^{2+} dengan indikator *Eriochrom Black T* yang didahului dengan penambahan garam magnesium kalium EDTA mempunyai ketelitian dan ketepatan yang lebih baik dibanding dengan metode kompleksometri dengan indikator *Murexide*, *Eriochrome Black T*, dan metode *Bligh*
2. Lemak dalam cuplikan makanan (bentuk padat dan cair) dapat ditetapkan kadarnya dengan cara kompleksometri dengan larutan baku Ba^{2+} dengan indikator *Eriochrom Black T* yang didahului dengan penambahan garam magnesium kalium EDTA.

Ucapan terima kasih.

Ditujukan kepada Pimpinan Proyek OPF (Operasi Perawatan dan Fasilitas) Universitas Gadjah Mada atas persetujuan dan pembiayaan yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Basset, J., Denny, R.C., Jeffrey, G.H. and Mendham, J., 1978, *Vogel's Textbook of Quantitative Inorganic Analysis including Elementary Instrumental Analysis*, 4th Ed., Longman Inc., New York, 319-320
- Becket, A.H., and Stenlake, J.B., 1968, *Practical Pharmaceutical Chemistry*, Second Edition, Part One, The Athlone Press, London, 201-225
- Bligh, E.G., and Dyer, W.J., 1959, A rapid method of total lipid extraction and purification, *Canadian J. of Biochem. and Phys.*, 37, 911.
- Hernandez, S.A., and Villanova, G.R., 1974, *Proceedings of the Internat. Congr. of the Pharm. Society of the Mediterraneo Latino*, Volume 15, 3-12, Barcelona
- Ketaren, S., 1986, *Minyak dan Lemak Pangan*, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, 26-34 & 298-304
- Triebold, H.O., and Aurand, L.W., 1963, *Food Composition and Analysis*, Van Nostrand, New York, 103.
- Woodman, A.G., 1959, *Food Analysis*, Fourth Edition, McGraw-Hill Book Co. Inc., New York, 170-197.