



Penetapan Kadar Glukosa Total Hasil Hidrolisis Limbah Air Kelapa Tua (*Cocos nucifera* L.) Secara Spektrofotometri UV-Vis

* Neri Fadjria dan Lidya Puspita Sari

Sekolah Tinggi Sains Dwi Farma Bukittinggi

*Alamat Korespondensi: nerifadjria1607@gmail.com

Abstract: This study was conducted to identify and quantify the glucose content present in waste from old coconut water (*Cocos nucifera* L.) employing the phenol-sulfuric acid method analyzed by UV-Vis spectrophotometry. Prior to measurement, the sample underwent hydrolysis using 3% HCl, followed by neutralization and clarification. Qualitative analysis was carried out with Fehling's reagent, whereas quantitative determination was performed at a wavelength of 490 nm using glucose standard solutions within the concentration range of 0.01–0.05 mg/mL. The resulting calibration curve demonstrated a strong linear correlation, described by the regression equation $\hat{y} = 9.25x + 0.3587$ with a correlation coefficient (r) of 0.9794. The glucose level in the old coconut water waste was determined to be $2.11\% \pm 0.015\%$ (w/v). These findings suggest that the phenol-sulfuric acid method offers adequate sensitivity and accuracy, making it appropriate for glucose determination in old coconut water waste samples.

Keywords: glucose, phenol-sulfuric acid, UV-Vis spectrophotometry, old coconut water waste

Abstrak: Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi serta mengukur kadar glukosa yang terkandung dalam limbah air kelapa tua (*Cocos nucifera* L.) dengan memanfaatkan metode fenol-asam sulfat melalui analisis spektrofotometri UV-Vis. Sampel terlebih dahulu mengalami proses hidrolisis menggunakan larutan HCl 3%, kemudian dinetralkan dan dijernihkan sebelum tahap analisis. Uji kualitatif dilakukan menggunakan pereaksi Fehling, sementara penentuan kadar secara kuantitatif dilakukan pada panjang gelombang 490 nm dengan menggunakan larutan standar glukosa dalam rentang konsentrasi 0,01–0,05 mg/mL. Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan linear yang kuat dengan persamaan regresi $\hat{y} = 9,25x + 0,3587$ dan koefisien korelasi (r) sebesar 0,9794. Kadar glukosa yang diperoleh sebesar $2,11\% \pm 0,015\%$ b/v. Hasil ini menunjukkan bahwa metode fenol-asam sulfat memiliki akurasi dan sensitivitas yang baik sehingga layak digunakan untuk penetapan kadar glukosa dalam limbah air kelapa tua.

Kata kunci: Glukosa, fenol-asam sulfat, Spektrofotometri UV-Vis, Air kelapa tua

PENDAHULUAN

Limbah air kelapa tua (*Cocos nucifera* L.) adalah salah satu hasil sampingan dari industri kelapa yang sering kali diabaikan dan dibuang tanpa pemanfaatan yang maksimal. Air kelapa tua mengandung sejumlah senyawa, termasuk karbohidrat seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa (Azra, et.al, 2023). Limbah air kelapa dapat diolah menjadi produk nata de coco, yang merupakan produk makanan populer dengan nilai ekonomi tinggi. Ini menunjukkan bahwa limbah air kelapa tidak hanya bisa dimanfaatkan, tetapi juga memiliki potensial untuk meningkatkan kesejahteraan masyarakat melalui pengolahan yang baik (Ainia, Q., 2017).

Identifikasi glukosa dapat dilakukan melalui metode iodometri dengan reagen luff school (Fadjria, et al., 2024) serta HPLC (Galant, A., 2015). Namun, metode iodometri tersebut masih dianggap konvensional, sedangkan HPLC termasuk mahal, maka diperlukan identifikasi kuantitatif glukosa dengan spektrofotometri (Lam, H., et.al, 2021). Penentuan kadar glukosa dengan teknik spektrofotometri memiliki banyak reagen yang dapat digunakan, salah satunya adalah phenol-sulfat (Saroh, S, & Kusuma, M.N, 2022). Metode fenol-asam sulfat adalah salah satu teknik analitis yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi glukosa dengan tingkat ketepatan yang tinggi. Metode ini mencakup reaksi kimia antara glukosa, fenol, dan asam sulfat pekat, yang menghasilkan senyawa berwarna yang dapat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis. Metode fenol-asam sulfat mampu mengidentifikasi karbohidrat dalam sampel dengan tingkat presisi yang sangat tinggi. Warna yang terbentuk sebanding dengan kadar glukosa dalam sampel, sehingga membantu pengukuran kuantitatif. Pengukuran glukosa dengan metode fenol-asam sulfat yang dikenal sebagai metode TS (total sugar) digunakan untuk menentukan total gula (DuBois, et.al, 1956).

Dalam studi ini, kami berfokus pada identifikasi dan pengukuran kadar glukosa dalam limbah air kelapa tua melalui reagen fenol-asam sulfat dengan teknik spektrofotometri UV-Vis. Temuan dari penelitian ini diharapkan mampu menjadi landasan ilmiah untuk pengembangan pemanfaatan limbah air kelapa tua sebagai bahan baku alternatif yang memiliki nilai tambah, terutama dalam sektor pangan dan mikrobiologi, serta mendukung inisiatif pengelolaan limbah yang berkelanjutan dan ramah lingkungan (Nur, S.R., 2024).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian yang bersifat eksperimental *Posttest Only Design* dengan melakukan pengujian kadar karbohidrat pada limbah air

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, sebuah alat Spektrofotometer UV-Visibel, timbangan analitik, pipet volume, bola hisap, beaker gelas, penangas air, labu ukur, gelas ukur, tabung reaksi, pipet tetes, lampu spritus, botol semprot aquades.

Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah Limbah air kelapa tua, HCl, NaOH, Pb asetat ($Pb(C_2H_3O_2)_2$), amonium hidrogen fosfat $NaHPO_4$, Fenol (C_6H_5OH), Larutan asam sulfat pekat (H_2SO_4), Fehling A, Fehling B, baku pembanding glukosa murni, aquades.

Metode

Pengolahan Sampel

Ambil 5 mL limbah air kelapa tua masukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan HCl 3% sebanyak 4 mL, panaskan di penangas selama 10 menit. Setelah itu didinginkan, kemudian di netralkan dengan NaOH 4%. Setelah itu masukan ke dalam labu ukur 100 mL, tambahkan aquades sampai tanda batas. Sehingga konsentrasi air kelapa tua yaitu 50 mg/mL (Yenrina, Rina, 2015).

Uji Kualitatif Glukosa

Sebanyak 1 mL larutan Fehling A dan 1 mL larutan Fehling B dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dicampur hingga homogen. Setelah itu, ditambahkan 1 mL sampel limbah air kelapa tua ke dalam campuran tersebut. Larutan kemudian dipanaskan menggunakan lampu spiritus selama ± 1 menit hingga terjadi perubahan warna dari biru tua menjadi endapan merah bata (Fitri & Fitriana, 2020).

Pembuatan Kurva Standar Larutan Glukosa

Larutan induk glukosa dengan konsentrasi 0,1 mg/mL disiapkan dengan melarutkan 10 mg glukosa dalam akuades hingga volume mencapai 100 mL menggunakan labu ukur. Dari larutan tersebut kemudian diambil masing-masing 1, 2, 3, 4, dan 5 mL, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda batas, sehingga diperoleh deret larutan standar dengan konsentrasi 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; dan 0,05 mg/mL.

Selanjutnya, dari setiap larutan standar dipipet sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan fenol 5% dan dikocok hingga homogen. Setelah itu, ditambahkan secara cepat 5 mL asam sulfat pekat dengan cara menuangkannya tegak lurus ke permukaan larutan. Campuran dibiarkan selama 10 menit, kemudian dikocok kembali dan diinkubasi dalam penangas air hangat selama 15 menit. Absorbansi larutan kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm (Wiyantoko dkk., 2017).

Analisis Kadar Glukosa Total Pada Limbah Air Kelapa Tua

Larutan hasil hidrolisis dipipet 2 mL, masukkan kedalam labu ukur 100 mL. Tambahkan 2 mL Pb asetat jenuh, dan 6 mL amonium fosfat 10%. Tambahkan aquades sampai tanda batas,

lalu diamkan sampai mengendap. Sehingga diperoleh konsentrasi air kelapa tua yaitu 1 mg/mL. Kemudian pipet 1 mL masukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL larutan fenol 5% dan dikocok hingga homogen. Setelah itu, ditambahkan secara cepat 5 mL asam sulfat pekat dengan cara menuangkannya tegak lurus ke permukaan larutan. Campuran dibiarkan selama 10 menit, kemudian dikocok kembali dan diinkubasi dalam penangas air hangat selama 15 menit. Absorbansi larutan kemudian diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 490 nm (Wiyantoko dkk., 2017).

Perhitungan Kadar Glukosa

$$\text{Kadar Glukosa (\%)} = \frac{[\text{sampel kurva}]}{[\text{sampel diukur}]} \times 100\%$$

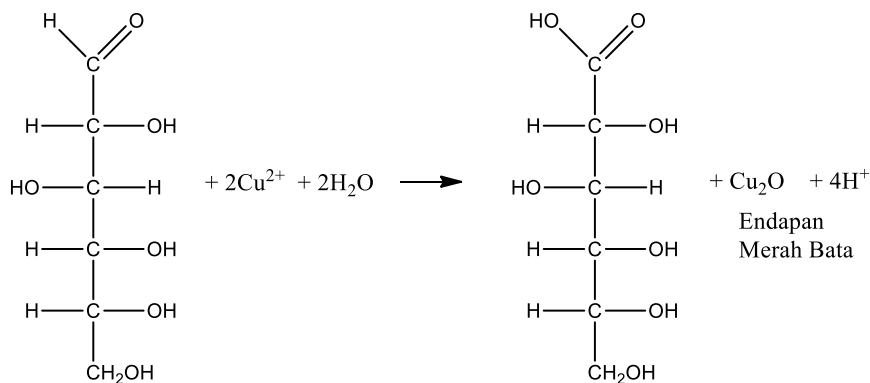
HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menetapkan kadar glukosa dalam limbah air kelapa tua (*Cocos nucifera L.*) dengan memanfaatkan metode fenol–asam sulfat melalui spektrofotometri UV-Vis. Air kelapa tua dikenal memiliki berbagai jenis karbohidrat, terutama glukosa, fruktosa, dan sukrosa. Sebagai akibatnya, langkah awal penelitian dilaksanakan melalui proses hidrolisis memakai larutan HCl 3% dengan pemanasan untuk memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Harti, 2014) di mana ikatan glikosidik antara glukosa dan fruktosa terputus. Sesudah hidrolisis, sampel dinetralkan dengan larutan NaOH sampai mencapai pH netral agar tidak memengaruhi proses analisis selanjutnya (Yenrina, 2015).

Sampel limbah air kelapa tua menunjukkan kekeruhan yang cukup tinggi, sehingga proses penjernihan perlu dilakukan sebelum analisis kuantitatif dilaksanakan. Penjernihan dilakukan dengan menambahkan larutan Pb asetat untuk mengendapkan zat-zat pengganggu serta komponen non-karbohidrat yang bisa memengaruhi hasil pengukuran. Ion Pb^{2+} yang lebih banyak kemudian diendapkan dengan larutan amonium hidrogen fosfat agar tidak memengaruhi pembacaan absorbansi (Yenrina, 2015).

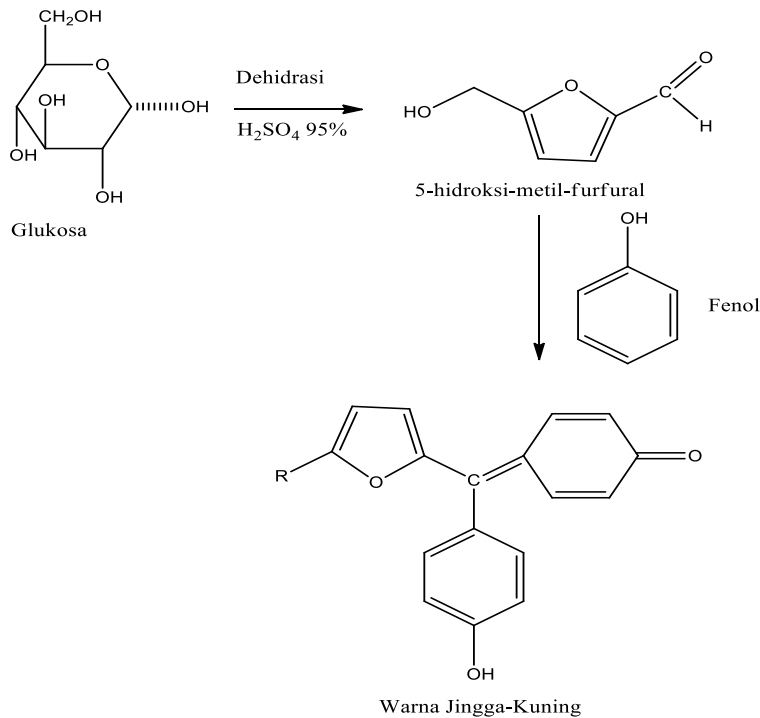
Identifikasi kualitatif glukosa dilakukan dengan menggunakan reagen Fehling A dan Fehling B. Hasil pengujian menunjukkan terbentuknya endapan merah bata yang menunjukkan adanya gula pereduksi dalam sampel, seperti yang terlihat pada gambar 1. Glukosa yang merupakan monosakarida dapat mereduksi ion Cu^{2+} menjadi Cu_2O yang memiliki warna

merah bata, sehingga hasil dari uji Fehling ini membuktikan adanya glukosa dalam limbah air kelapa tua (Fitri & Fitriana, 2020).



Gambar 1. Reaksi Kimia Glukosa + Fehling A dan Fehling B

Pengukuran kadar glukosa secara kuantitatif dilakukan dengan metode fenol–asam sulfat menggunakan larutan standar glukosa dalam lima macam konsentrasi, yaitu 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; dan 0,05 mg/mL. Interaksi antara larutan glukosa, fenol 5%, dan H₂SO₄ pekat menghasilkan senyawa berwarna ungu yang kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm. Glukosa akan terdehidrasi ketika asam sulfat pekat ditambahkan, menghasilkan furfural/hidroksimetilfurfural, yang bereaksi dengan fenol dan menghasilkan warna jingga kuning (warna terlihat ungu atau coklat kehitaman), reaksi seperti pada gambar 2. Panjang gelombang 490 nm dipilih karena optimal untuk mengidentifikasi heksosa, yaitu gula yang terdiri dari enam atom karbon (C₆H₁₂O₅), seperti D-glukosa, D-fruktosa, dan D-galaktosa. Pada panjang gelombang 480 nm digunakan untuk mengidentifikasi pentosa dan asam uronat, yaitu gula yang memiliki lima atom karbon (C₅H₁₀O₅) seperti D-ribosa dan 2-deoksiribosa (Tarigan, dkk, 2024).



Gambar 2. Reaksi glukosa dengan metode fenol-asam sulfat (Yue,et.al, 2022)

Kurva kalibrasi yang didapatkan menghasilkan persamaan regresi $\hat{y} = 9,25x + 0,3587$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9592 serta koefisien korelasi (r) sebesar 0,9794. Nilai tersebut menunjukkan hubungan linear yang sangat erat antara konsentrasi glukosa dan absorbansi (Wiyantoko, dkk, 2017), sehingga kurva kalibrasi memenuhi kriteria untuk digunakan dalam analisis kuantitatif.

Proses validasi metode dilaksanakan dengan menetapkan nilai deviasi standar (SD), batas deteksi (BD), dan batas kuantifikasi (BK). Standar deviasi menunjukkan sejauh mana data tersebar dari nilai rata-ratanya, sedangkan batas deteksi adalah konsentrasi minimum analit yang masih bisa terdeteksi secara signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas kuantitasi menunjukkan konsentrasi minimum analit yang masih dapat dianalisis dengan tepat dan akurat. Perhitungan menunjukkan nilai SD sebesar 0,015, BD sebesar 0,0048 mg/mL, dan BK sebesar 0,0162 mg/mL, yang menandakan bahwa metode yang diterapkan memiliki sensitivitas dan ketepatan yang baik (Harmita, 2004).

Berdasarkan analisis terhadap contoh limbah air kelapa tua yang telah dihidrolisis, kadar glukosa yang diperoleh adalah $2,11\% \pm 0,015\%$ b/v. Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan kandungan glukosa dalam air kelapa tua sekitar 2,12% (Azra, dkk, 2023). Keselarasan hasil itu menunjukkan bahwa metode fenol–asam sulfat

melalui spektrofotometri UV-Vis dapat diandalkan untuk identifikasi dan penentuan kadar glukosa dalam air limbah kelapa tua.

Kandungan glukosa yang cukup tinggi pada limbah air kelapa tua menunjukkan kemampuannya sebagai sumber karbon alternatif dalam pembuatan media mikrobiologi, terutama media MacConkey untuk pertumbuhan bakteri (Toruan, dkk, 2023). Penggunaan limbah ini diharapkan dapat menambah nilai bahan sisa sekaligus mendukung inovasi teknologi mikrobiologi yang berfokus pada prinsip efisiensi dan keberlanjutan.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa limbah air kelapa tua (*Cocos nucifera* L.) mengandung glukosa yang dapat diidentifikasi secara kualitatif sebagai gula pereduksi dan ditetapkan kadarnya secara kuantitatif menggunakan metode fenol–asam sulfat secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm, dengan hubungan linear yang sangat kuat antara konsentrasi dan absorbansi ($r = 0,9794$). Kadar glukosa yang diperoleh sebesar $2,11\% \pm 0,015\%$ b/v sejalan dengan data literatur, serta didukung oleh parameter validasi metode yang menunjukkan sensitivitas dan ketelitian yang baik, sehingga metode ini layak digunakan untuk analisis glukosa pada matriks limbah air kelapa tua. Sebagai pengembangan lebih lanjut, disarankan untuk mengoptimalkan tahap pretreatment dan hidrolisis serta menguji secara aplikatif pemanfaatan limbah air kelapa tua sebagai sumber karbon alternatif dalam formulasi media mikrobiologi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Azra, J. M., Setiawan, B., Nasution, Z., Sulaeman, A., & Estuningsih, S. (2023). Nutritional content and benefits of coconut water for the diabetes metabolism: a narrative review. *Amerta Nutrition*, 7(2), 317-325.
2. Ainia, Q. (2017). Pengolahan limbah air kelapa menjadi nata de coco oleh ibu kelompok tani di kabupaten kodus.
3. Fadjria, N., Arfiandi, A., & Azril, R. A. (2024). Analisis Kadar Karbohidrat Pati Biji Durian (*Durio zibethinus murr.*) Dengan Reagen Luff Schoorl Secara Iodometri. *Knowledge Industrial & Scientific Research*, 1(1), 28-33.

4. Galant, A. L., Kaufman, R. C., & Wilson, J. D. (2015). Glucose: Detection and analysis. *Food chemistry*, 188, 149-160.
5. Lam, H. H., Nguyen, T. M. T., Do, T. A. S., Dinh, T. H., & Dang-Bao, T. (2021, December). Quantification of total sugars and reducing sugars of dragon fruit-derived sugar-samples by UV-Vis spectrophotometric method. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 947, No. 1, p. 012041). IOP Publishing.)
6. DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry*, 28(3), 350-356.
7. Nur, S. R. (2024). Pemanfaatan Limbah Air Kelapa untuk Pembuatan Kecap Menggunakan Metode Experiment Design.
8. Yenrina, Rina, (2015). *Metode Analisis Bahan Pangan dan Komponen Bioaktif*. Andalas University Press, Padang.
9. Fitri, A. S., & Fitriana, Y. A. N. (2020). Analisis senyawa kimia pada karbohidrat. *Sainteks*, 17(1), 45-52.
10. Wiyantoko, B., Rusitasari, R., Putri, R. N., & Muhaimin, M. (2017). Identifikasi glukosa hasil hidrolisis serat daun nanas menggunakan metode fenol-asam sulfat secara spektrofotometri UV-visibel. In *Prosiding Seminar Nasional Kimia FMIPA Unesa, Surabaya: Universitas Negeri Surabaya* (pp. 124-131).
11. Harti, A. S. (2014). *Biokimia Kesehatan*. Yogyakarta: Nuha Medika.
12. Fitri, A. S., & Fitriana, Y. A. N. (2020). Analisis senyawa kimia pada karbohidrat. *Sainteks*, 17(1), 45-52.
13. Tarigan, R. E., Puspitasari, A., Rahayuningsih, C. K., Fahmi, M. I. W., Dewi, A. P., Martha, R. D., ... & Purb, T. H. (2024). *Analisis Makanan dan Minuman*. CV Eureka Media Aksara.
14. F. Yue, J. Zhang, J. Xu, T. Niu, X. Lü, and M. Liu, "Effects of monosaccharide composition on quantitative analysis of total sugar content by phenol-sulfuric acid method," *Front. Nutr.*, vol. 9, p. 963318, Aug. 2022, doi: 10.3389/fnut.2022.963318.
15. Harmita, H. (2004). Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3), 1.

16. Toruan, S. A. L., Manu, T. T., & Evriarti, P. R. (2023). Pemanfaatan Air Kelapa Muda Sebagai Media Alternatif MAC Concey Untuk Pertumbuhan Escherichia coli dan Salmonella typhi. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 4(1), 25-36.