

# ANALISIS LIPIDA SEDERHANA DAN LIPIDA KOMPLEKS

Oleh: C. Budimarwanti

## I. Pendahuluan

Lipida adalah golongan senyawa organik yang sangat heterogen yang menyusun jaringan tumbuhan dan hewan. Lipida merupakan golongan senyawa organik kedua yang menjadi sumber makanan, merupakan kira-kira 40% dari makanan yang dimakan setiap hari. Lipida mempunyai sifat umum sebagai berikut:

- tidak larut dalam air
- larut dalam pelarut organik seperti benzena, eter, aseton, kloroform, dan karbontetraklorida
- mengandung unsur-unsur karbon, hidrogen, dan oksigen, kadang-kadang juga mengandung nitrogen dan fosfor
- bila dihidrolisis akan menghasilkan asam lemak
- berperan pada metabolisme tumbuhan dan hewan.

Berbeda dengan karbohidrat dan protein, lipida bukan suatu polimer, tidak mempunyai satuan yang berulang. Pembagian yang didasarkan atas hasil hidrolisisnya, lipida digolongkan menjadi lipida sederhana, lipida majemuk, dan sterol.

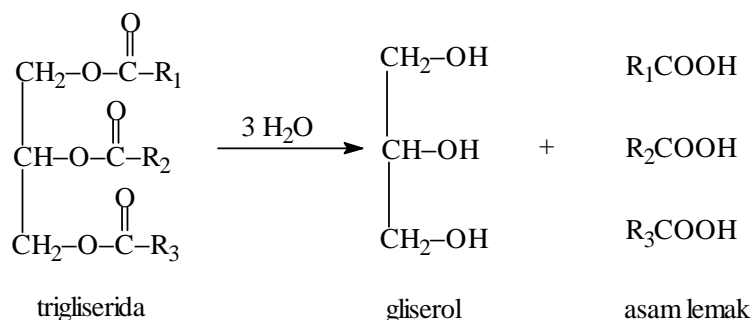
### A. Lipida Sederhana

Minyak dan lemak termasuk dalam golongan lipida sederhana. Minyak dan lemak yang telah dipisahkan dari jaringan asalnya mengandung sejumlah kecil komponen selain trigliserida, yaitu: lipida kompleks (lesitin, sephalin, fosfatida lainnya, glikolipida), sterol yang berada dalam keadaan bebas atau terikat dengan asam lemak, asam lemak bebas, lilin, pigmen yang larut dalam lemak, dan hidrokarbon. Komponen tersebut mempengaruhi warna dan flavor produk.

Lemak dan minyak terdiri dari trigliserida campuran, yang merupakan ester dari gliserol dan asam lemak rantai panjang. Minyak nabati terdapat dalam buah-buahan, kacang-kacangan, biji-bijian, akar tanaman, dan sayur-sayuran. Dalam jaringan hewan lemak terdapat di seluruh badan, tetapi jumlah terbanyak terdapat dalam jaringan adipose dan sumsum tulang.

Secara kimia yang diartikan dengan lemak adalah trigliserida dari gliserol dan asam lemak. Berdasarkan bentuk strukturnya trigliserida dapat dipandang sebagai hasil kondensasi ester dari satu molekul gliseril dengan tiga molekul asam lemak, sehingga

senyawa ini sering juga disebut sebagai triasilgliserol. Jika ketiga asam lemak penyusun lemak itu sama disebut trigliserida paling sederhana. Tetapi jika ketiga asam lemak tersebut tidak sama disebut dengan trigliserida campuran. Pada umumnya trigliserida alam mengandung lebih dari satu jenis asam lemak. Trigliserida jika dihidrolisis akan menghasilkan 3 molekul asam lemak rantai panjang dan 1 molekul gliserol. Reaksi hidrolisis trigliserida dapat digambarkan sebagai berikut:



Lemak yang sebagian besar tersusun dari gliserida asam lemak jenuh akan berwujud padat pada suhu kamar. Kebanyakan lemak binatang tersusun atas asam lemak jenuh sehingga berupa zat padat. Lemak yang sebagian besar tersusun dari gliserida asam lemak tidak jenuh berupa zat cair pada suhu kamar, contohnya adalah minyak tumbuhan. Lemak jika dikenakan pada jari akan terasa licin, dan pada kertas akan membentuk titik transparan.

## B. Lipida Majemuk

Lipida majemuk jika dihidrolisis akan menghasilkan gliserol, asam lemak dan zat lain. Secara umum lipida kompleks dikelompokkan menjadi dua, yaitu fosfolipida dan glikolipida. Fosfolipida adalah suatu lipida yang jika dihidrolisis akan menghasilkan asam lemak, gliserol, asam fosfat serta senyawa nitrogen. Contoh senyawa yang termasuk dalam golongan ini adalah lesitin dan sephalin.

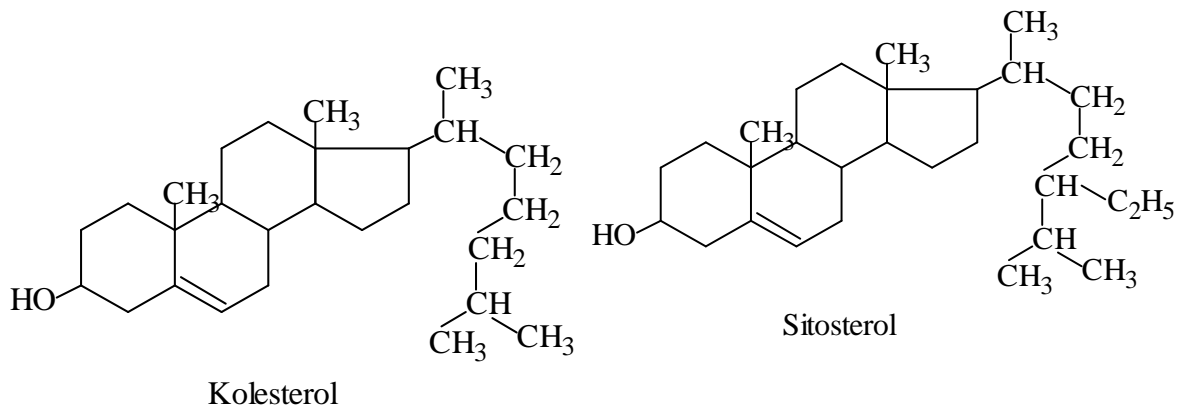
Glikolipida adalah suatu lipida kompleks yang mengandung karbohidrat. Salah satu contoh senyawa yang termasuk dalam golongan ini adalah serebrosida. Serebrosida terutama terbentuk dalam jaringan otak, senyawa ini merupakan penyusun kurang lebih 7 % berat kering otak, dan pada jaringan syaraf.

## C. Sterol

Sterol sering ditemukan bersama-sama dengan lemak. Sterol dapat dipisahkan dari lemak setelah penyabunan. Oleh karena sterol tidak tersabunkan maka senyawa ini terdapat

dalam residu. Lebih dari 30 jenis sterol telah dijumpai di alam, terdapat pada jaringan binatang dan tumbuhan, ragi, jamur, tetapi jarang ditemukan dalam bakteri.

Persenyawaan sterol yang terdapat dalam minyak terdiri dari kolesterol dan fitosterol. Senyawa kolesterol umumnya terdapat dalam lemak hewani, sedangkan fitosterol terdapat dalam minyak nabati.



Kolesterol merupakan penyusun utama batu empedu. Kolesterol berfungsi membantu absorpsi asam lemak dari usus kecil, juga merupakan prazat (*precursor*) bagi pembentukan asam empedu, hormon steroid, dan vitamin D (Harper, 1979).

Akhir-akhir ini kolesterol banyak menarik perhatian karena diduga ada hubungan antara kadar kolesterol dalam darah dengan penyakit jantung koroner, dan pengerasan pembuluh darah (*atherosclerosis*). Kolesterol di dalam darah beredar tidak dalam keadaan bebas, akan tetapi berada dalam partikel-partikel lipoprotein. Lipoprotein merupakan senyawa kompleks antara lemak dan protein. Dalam serum darah lipoprotein terdiri atas 4 jenis, yaitu kilomikron, *very low density lipoprotein (VLDL)*, *low density lipoprotein (LDL)*, dan *high density lipoprotein (HDL)* (Devlin, 1992:67). Kilomikron mengandung 96 % trigliserida; 1,7 % protein; 1,75 % kolesterol; dan 0,6 % fosfolipida. Kilomikron berfungsi sebagai pengangkut lemak dari usus ke tempat-tempat yang membutuhkan. *VLDL* mengandung 60 trigliserida; 15 % kolesterol; 10 % protein; dan 15 % fosfolipida. *VLDL* berfungsi sebagai pengangkut trigliserida endogen dari tempat-tempat pembentukannya ke tempat yang membutuhkan. *LDL* mengandung 10 % trigliserida; 45 % kolesterol; 25 % protein; dan 20 % fosfolipida. *LDL* berfungsi mengangkut kolesterol dari sel yang satu ke sel lainnya dimana kolesterol tersebut diperlukan untuk pembentukan hormon sterol dan steroid. *HDL* mengandung 3 % trigliserida; 18 % kolesterol; 50 % protein, dan 30 % fosfolipida. *HDL* berfungsi mengangkut kolesterol ke hati untuk didegradasi menjadi asam empedu dan dibuang dalam kantong empedu.

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa *LDL* mengandung kolesterol yang cukup tinggi, hal ini berarti bahwa dengan peningkatan kadar *LDL* di dalam darah selalu disertai hiperkolesterolemia. Apabila kadar *HDL* di dalam serum darah rendah maka kolesterol yang dimetabolisme relatif sedikit, sehingga banyak kolesterol yang tertimbun. Akibat penimbunan ini terjadi hiperkolesterolemia, dan lebih lanjut akan menjadi *atherosclerosis*, yaitu terjadi pengendapan kolesterol dan lipida lainnya pada dinding arteri, dan lebih lanjut akan terjadi pengerasan dinding arteri tersebut (Mathews dan van Holde, 1991:627). Dari hasil penelitian diperoleh suatu kenyataan bahwa *HDL* mempunyai sifat spesifik, karena hubungannya yang bersifat negatif terhadap *atherosclerosis* dan hiperkolesterolemia. Semakin tinggi kadar kolesterol-*HDL* dalam serum darah maka akan semakin kecil kemungkinan individu tersebut mengalami penyakit *atherosclerosis* (Sunaryo, dkk, 1985). Lebih lanjut Linder (1985) mengatakan bahwa orang yang mempunyai kadar kolesterol sekitar 260 mg/100 ml darah mempunyai kemungkinan dua kali lebih besar untuk terkena penyakit jantung koroner dari pada orang yang kadar kolesterolnya di bawah 220 mg/100 ml.

## **II. ANALISIS LIPIDA**

### **A. Penentuan Kadar Minyak/Lemak**

Penentuan kadar minyak atau lemak suatu bahan dapat dilakukan dengan alat ekstraktor Soxhlet. Ekstraksi dengan alat Soxhlet merupakan cara ekstraksi yang efisien, karena pelarut yang digunakan dapat diperoleh kembali. Dalam penentuan kadar minyak atau lemak, bahan yang diuji harus cukup kering, karena jika masih basah selain memperlambat proses ekstraksi, air dapat turun ke dalam labu dan akan mempengaruhi dalam perhitungan (Ketaren, 1986:36). Sebagai contoh adalah ekstraksi minyak dalam kemiri, dengan prosedur sebagai berikut:

Timbang 15 gram kemiri, diiris-iris sampai lembut. Selanjutnya dibungkus dengan kertas saring bebas lemak, ujung atas maupun ujung bawah ditutup dengan kapas bebas lemak. Kemudian masukkan ke dalam alat Soxhlet, masukkan pelarut petroleum eter sebanyak 60% dari volume labu ekstraksi dan lakukan ekstraksi selama 1,5 jam. Proses ekstraksi selesai apabila petroleum eter sudah jernih. Ekstrak yang diperoleh ditambah dengan natrium sulfat anhidrat, saring. Kemudian filtrat didistilasi biasa, atau petroleum eter diuapkan dengan evaporator berputar sampai semua petroleum eter habis. Kadar minyak dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar minyak (\%)} = \frac{(B - A) 100}{\text{berat bahan (gr)}}$$

**Keterangan:**

A= berat labu kosong

B= berat labu dan ekstrak minyak (gr)

**B. Penentuan Angka Peroksida Minyak/Lemak**

Angka peroksida sangat penting untuk identifikasi tingkat oksidasi minyak. Minyak yang mengandung asam- asam lemak tidak jenuh dapat teroksidasi oleh oksigen yang menghasilkan suatu senyawa peroksida. Cara yang sering digunakan untuk menentukan angka peroksida adalah dengan metoda titrasi iodometri. Dalam metoda ini minyak dilarutkan ke dalam larutan asam asetat glacial-kloroform (3:2) yang kemudian ditambahkan KI. Dalam campuran tersebut akan terjadi reaksi KI dalam suasana asam dengan peroksida yang akan membebaskan I<sub>2</sub>. Kemudian I<sub>2</sub> yang dibebaskan selanjutnya dititrasi dengan larutan standar natrium tiosulfat (Anwar, 1996:396).

Penentuan besarnya angka peroksida dilakukan dengan titrasi iodometri, melalui tahap-tahap sebagai berikut (Slamet Sudarmaji, 1989:123):

**1. Pembuatan larutan standar natrium tiosulfat 0,01N**

Ditimbang 2,5 gram Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O dilarutkan dengan akuades, dipindahkan ke dalam labu ukur 1 liter, diencerkan dengan akuades sampai tanda. Larutan ini disimpan tertutup untuk dipakai, sebelumnya distandarisasi dengan larutan K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.

**2. Standarisasi larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> dengan K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>7</sub>.**

Ditimbang 0,5 gram kristal K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> dan dimasukkan ke dalam labu ukur 1 liter kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda. Dari larutan K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> tersebut diambil 10 ml dengan pipet volum, dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer serta ditambahkan 3 ml HCl pekat dan 10 ml larutan KI 0,1 N. Iodium yang dibebaskan dititrasi dengan larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0,01N yang telah dibuat, menggunakan indikator amilum. Pada titik ekuivalen warna berubah dari biru tua menjadi hijau. Standarisasi dilakukan dengan pengulangan 3 kali. Normalitas Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sesungguhnya dihitung dengan rumus:

$$N_s = \frac{a}{v} \times \frac{6}{294} \times \frac{10}{1000}$$

Keterangan:

$N_s$  = normalitas larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sesudah distandarisasi

$A$  = massa  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  dalam miligram

$V$  = volum larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  yang dibutuhkan untuk titrasi.

### 3. Pembuatan indikator amilum 1 %

Ditimbang 1 gram amilum, dilarutkan dalam 100 ml akuades dalam gelas piala. Kemudian dipanaskan di atas kompor listrik sampai mendidih dan dibiarkan mendidih sampai 3 menit. Larutan ini digunakan setelah dingin.

### 4. Pembuatan pelarut asam asetat glasial : kloroform dengan perbandingan 3 : 2

Untuk membuat pelarut asam asetat glasial : kloroform dengan perbandingan 3 : 2 sebanyak 1 liter, dicampurkan 600 ml asam asetat glasial dengan 400 ml kloroform dalam botol berwarna gelap.

### 5. Penentuan angka peroksida

Ditimbang minyak sebanyak  $(5,00 \pm 0,05)$  gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer serta ditambahkan 30 ml pelarut asam asetat glasial : kloroform (3 :2), dikocok sampai minyak larut. Setelah minyak larut ditambahkan 0,5 ml larutan KI jenuh dan ditutup rapat sambil dikocok. Kemudian didiamkan 1-2 menit, selanjutnya ditambahkan 30 ml akuades. Campuran tersebut kemudian dititrasi dengan larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  yang telah distandarisasi sampai warna kuning hampir hilang. Kemudian ditambah 0,5 ml indikator amilum 1 %. Titrasi dilanjutkan sampai titik ekuivalen yaitu tepat saat warna biru hilang. Volum titran dicatat. Dengan cara yang sama dibuat juga titrasi larutan blanko.

Rumus perhitungan angka peroksida dalam minyak adalah sebagai berikut:

$$\text{Angka peroksida} = \frac{(a-b) \times N \times 1000}{G}$$

**Keterangan :**

Angka peroksida dinyatakan dalam milligram ekuivalen per 1000 gram minyak.

$a$  = jumlah ml larutan natrium tiosulfat untuk titrasi sampel

$b$  = jumlah ml larutan natrium tiosulfat untuk titrasi blanko

$N$  = normalitas larutan natrium tiosulfat setelah distandarisasi

$G$  = masa minyak dalam gram.

### C. Penentuan Bilangan Penyabunan Minyak/Lemak

Penentuan bilangan penyabunan meliputi langkah-langkah sebagai berikut:

#### 1. Pembuatan KOH alkoholis 0,5 N

Ditimbang 6 gram tablet KOH murni, dilarutkan dengan etanol 95% sampai volume 250 ml. Larutan itu dibiarkan semalam dalam botol tertutup. Kemudian disaring dan distandarisasi dengan HCl 0,5 N menggunakan indikator pp.

#### 2. Standarisasi KOH alkoholis 0,5 N

Diambil 10 ml KOH alkoholis 0,5 N yang telah dibuat menggunakan pipet ukur, masukkan dalam erlenmeyer. Titrasi menggunakan HCl 0,5 N menggunakan indikator pp. Titrasi dilakukan tiga kali (triplo).

#### 3. Penentuan angka penyabunan

Timbang 0,5 – 1,0 gram minyak/lemak, masukkan dalam labu alas bulat volume 100 ml. Tambahkan 50 ml larutan KOH alkoholis 0,5 N yang sudah distandarisasi. Kemudian direfluk dengan pemanas sampai larutan menjadi jernih ( $\pm 1,5 - 2$  jam). Setelah refluk selesai dinginkan dan encerkan sampai 250 ml. Diambil 25 ml larutan hasil pengenceran, titrasi menggunakan HCl 0,1 N menggunakan indikator pp. Titrasi dilakukan tiga kali.

#### 4. Perhitungan angka penyabunan

Misal:

Berat minyak/lemak yang ditentukan angka penyabunannya = W gram

Untuk menitrasi 25 ml larutan hasil penyabunan memerlukan = V ml HCl 0,1N

Maka:

Untuk menitrasi 250 ml larutan hasil penyabunan memerlukan:

$$= 250/25 \times V \text{ ml HCl } 0,1 \text{ N}$$

$$= \frac{10 \times V \times 0,1}{0,5} \text{ ml HCl } 0,5 \text{ N}$$

$$0,5$$

$$= 2 V \text{ ml HCl } 0,5 \text{ N}$$

Volume KOH 0,5 N yang diperlukan untuk penyabunan =  $(50 - 2 V)$  ml

Dalam setiap 1000 ml KOH 1 N terdapat = 56 gram KOH, maka dalam 1000 ml KOH 0,5 N terdapat = 28 gram KOH

Maka dalam  $(50 - 2 V)$  ml KOH 0,5 N terdapat =  $(50 - 2V) \times 28/1000$  gram KOH

W gram minyak/lemak membutuhkan  $(50 - 2 V) \times 28/1000$  gram KOH

Sehingga 1 gram minyak/lemak membutuhkan =

$$\frac{(50 - 2 V)}{1000} \times \frac{28}{W} \text{ gram KOH atau}$$

$$\frac{(50 - 2 V)}{1000} \times \frac{28}{W} \quad 1000 \text{ mgram KOH}$$

#### **D. Analisis Lipida Kompleks**

##### **1. Ekstraksi dan Pemisahan Kolesterol**

Tambahkan 4 volume aseton (200 ml) pada 50 gram sample otak kambing, blender selama 1 menit. Pindahkan suspensi yang terjadi ke dalam beaker gelas dan bilas blender dengan 25 ml aseton. Campur hasil bilasan dengan suspensi dalam beaker dan diamkan homogenat ini selama 5 menit sambil kadang-kadang diaduk dengan pengaduk.

Saring suspensi menggunakan penyaring Buchner. Residu yang tertinggal diblender lagi dengan 100 ml aseton, kemudian setelah didiamkan selama 5 menit, saring dengan penyaring Buchner seperti pengerjaan sebelumnya.

Bilas blender dengan 50 ml aseton, tuangkan ke dalam penyaring Buchner yang masih mengandung residu. Filtrat dicampur dengan filtrat pertama, filtrat ini mengandung kolesterol.

Hilangkan aseton dari filtrat dengan jalan destilasi di atas penangas air, atau menggunakan evaporator berputar. Dinginkan larutan sisa (residu) dengan air leidend, dan kumpulkan *crude* kolesterol yang terjadi dengan jalan menyaring menggunakan corong Buchner.

Rekristalisasi kolesterol yang terjadi dengan melarutkan dalam sedikit mungkin etanol panas, lalu dengan segera filtrat disaring (masih dalam keadaan panas) ke dalam Erlenmeyer kecil yang ditempatkan di dalam penangas air didih. Biarkan filtrat di dalam Erlenmeyer mendidih sehingga etanol akan berkondensasi.

Keringkan kolesterol yang terjadi di udara, timbang dan catat beratnya. Tentukan titik lelehnya (titik leleh kolesterol murni 149-151<sup>0</sup>C). Untuk identifikasi adanya senyawa kolesterol dapat digunakan uji Salkowski dan uji Libermann-Buchard.



### **Uji Salkowski:**

Sediakan 3 tabung reaksi sebagai berikut:

- Tabung no. 1 diisi dengan 1 ml kloroform
- Tabung no. 2 diisi dengan 10 mg kolesterol hasil isolasi dalam 1 ml kloroform
- Tabung no. 3 diisi dengan 10 mg kolesterol murni dalam 1 ml kloroform

Tambahkan 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat pada ketiga tabung tersebut melalui dinding tabung hingga lapisan asam sulfat ada di bagian bawah tabung. Perhatikan warna yang terbentuk!

### **Uji Libermann-Buchard:**

Sediakan 3 tabung reaksi sebagai berikut:

- Tabung no.1 diisi dengan 2 ml kloroform
- Tabung no. 2 diisi dengan 5 – 15 mg kolesterol hasil isolasi dalam 2 ml kloroform
- Tabung no. 3 diisi dengan 5 – 15 mg kolesterol murni dalam 2 ml kloroform

### **Perhatikan: hindarkan adanya air/kelembaban**

Tambahkan 1 ml asam asetat anhidrida ke dalam tabung-tabung tersebut, aduk dengan baik. Kemudian tambahkan 2 ml asam sulfat pekat, aduk dengan hati-hati. Catat warna yang timbul setelah didiamkan 30 menit.

### **Peringatan:**

Pelarut-pelarut yang dipakai kebanyakan mudah terbakar, untuk itu harus hati-hati, jangan ada api bebas! Untuk semua pemanasan pakailah penangas air didih! Juga dalam penggunaan blender dengan pelarut-pelarut yang mudah terbakar harus hati-hati, sebab pelarut dapat merembes ke tempat motor dan menyebabkan nyala!

## **2. Penentuan Kolesterol Total Serum Darah**

### **Prinsip Dasar:**

Anhidrid asetat bereaksi dengan kolesterol dalam larutan kloroform menghasilkan suatu larutan berwarna hijau kebiruan yang karakteristik. Sampai saat ini belum diketahui secara pasti gugus kromofor yang menimbulkan warna tersebut, namun diduga melibatkan reaksi esterifikasi gugus hidroksi pada posisi ketiga seperti terlihat pada susunan molekulnya.

Darah atau serum darah diekstraksi dengan campuran alkohol-aseton yang bertujuan memindahkan kolesterol dan lipida-lipida lain serta mengendapkan protein. Kemudian pelarut organik dievaporasi pada penangas air (*waterbath*). Residu keringnya

kemudian dilarutkan dalam kloroform. Campuran kloroform kemudian ditentukan secara klorimetri menggunakan reagen Lieberman-Burchard.

Kolesterol serum darah secara normal berkisar dari 100 – 250 mg/100 ml. Rata-rata jumlah kolesterol dalam serum darah adalah 200 mg/100 ml, pada usia 25 tahun yang lebih lanjut meningkat secara perlahan dengan meningkatnya usia sampai usia 40 – 50 tahun. Wanita umumnya menunjukkan kadar kolesterol yang lebih rendah dari pada pria sampai dicapai saat menopause.

Penentuan kolesterol total dapat dilakukan dengan alat spektronik-20 atau alat spektrofotometer lain yang lebih canggih (mis: Shimadzu UV-Vis Recording Spectrophotometer UV-160).

**Bahan:**

1. Serum darah
2. Campuran alkohol-aseton (1 : 1)
3. Kloroform
4. Campuran asam asetat anhidrid – asam sulfat pekat (30 : 1) dibuat sebelum dipakai.
5. Larutan stok kolesterol (2 mg kolesterol dalam 1 ml kloroform)
6. Larutan kolesterol kerja, dibuat dengan mengencerkan larutan stok kolesterol lima kali dalam kloroform (0,4 mg/ml)

**Alat-alat:**

1. *waterbath* bergoyang
2. Sentrifuga klinik
3. Spektrofotometer

**Prosedur:**

Masukkan 10 ml pelarut aseton-alkohol dalam tabung sentrifuga, kemudian tambahkan 0,2 ml serum atau darah. Celupkan tabung dalam penangas air mendidih yang bergoyang (*boiling waterbath*), sampai larutan mulai mendidih. Pindahkan tabung dan teruskan pengadukan campuran selama 5 menit. Dinginkan sampai mencapai temperatur kamar, kemudian disentrifuga. Dekantasi supernatannya ke dalam tabung reaksi, dan uapkan pada *waterbath* mendidih sampai kering. Dinginkan dan larutkan residunya dalam 2 ml kloroform. Pada saat yang sama buat larutan kolesterol standar dan blanko dalam 2 ml kloroform. Tambahkan 3 ml campuran anhidrida asam asetat dan asam sulfat pekat pada semua tabung. Tempatkan semua tabung pada tempat gelap dan suhu kamar, kemudian baca absorbansinya pada panjang gelombang 686 nm [hasil dari penentuan panjang gelombang ( $\lambda$ ) maksimum].

### **Penentuan harga panjang gelombang ( $\lambda$ ) maksimum**

- dibuat larutan kolesterol standar dengan konsentrasi 100 mg/100 ml dengan pelarut kloroform
- dipipet 0,1 ml larutan tersebut ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering, ditambahkan 3 ml reagen Lieberman-Buchard (campuran asam asetat anhidrid dengan asam sulfat pekat 30:1) pada suhu dingin
- dikocok baik-baik menggunakan vortex-mixer, dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar.
- diukur serapannya dari panjang gelombang 360 s/d 700 nm
- dibuat kurva serapan terhadap panjang gelombang, sehingga diperoleh panjang gelombang maksimum (panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum).

Untuk menentukan konsentrasi (kadar) kolesterol total dalam darah digunakan kurva standar kolesterol

### **Pembuatan kurva standar kolesterol**

- dibuat larutan kolesterol standar dengan konsentrasi (mg/ml) berturut-turut: 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0 ; 1,5 ; 2,0 ; 2,5.
- Masing-masing larutan di atas dipipet ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering sebanyak 0,1 ml
- Pada masing-masing tabung ditambahkan 3 ml reagen Lieberman-Buchard, dikocok baik-baik, dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar, diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum.
- Dibuat kurva standar serapan vs konsentrasi.

### **Daftar Pustaka**

- Anwar, Chairil, dkk. (1996). *Pengantar Praktikum Kimia Organik*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, DIKTI.
- Delvin, M. Thomas. (1992). *Textbook of Biochemistry, with Clinical Correlation*. New York: Willey-Liss
- Harper, H.A. (1980). *Review of Physiological Chemistry*, diterjemahkan oleh Martin Muliawan. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ketaren, S. (1986). *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI-Press.

Linder, C. Maria. (1985). *Nutritional Biochemistry and Metabolism. With Clinical Application*. New York: Elsevier.

Mathews, K. C., K. E. van Holde. (1991). *Biochemistry*. New York: The Benjamin/Cummings Company.

Sunaryo, H. dkk. (1985). *Pengaruh Pemberian Kurkuminoid Curcuma Domestica val terhadap Kadar Kolesterol HDL Serum Tikus Putih*. Simposium Temulawak.

Sudarmadji, Slamet, Suhardi, Bambang Haryono. (1989). *Analisa Bahan Pangan dan Pertanian*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.

\*\*\*\*\*