



JILID 2

Eddy Afrianto, dkk.

Pengawasan Mutu Bahan/ Produk Pangan

untuk

Sekolah Menengah Kejuruan



Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan

Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah

Departemen Pendidikan Nasional

Eddy Afrianto

PENGAWASAN MUTU BAHAN/PRODUK PANGAN

JILID 2

SMK



Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan

Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah
Departemen Pendidikan Nasional

Hak Cipta pada Departemen Pendidikan Nasional
Dilindungi Undang-undang

PENGAWASAN MUTU BAHAN/PRODUK PANGAN JILID 2

Untuk SMK

Penulis : Eddy Afrianto

Editor : Sahirman

Perancang Kulit : TIM

Ukuran Buku : 17,6 x 25 cm

AFR AFRIANTO, Eddy
p Pengawasan Mutu Bahan/Produk Pangan Jilid 2 untuk
SMK/oleh Eddy Afrianto --- Jakarta : Direktorat Pembinaan
Sekolah Menengah Kejuruan, Direktorat Jenderal Manajemen
Pendidikan Dasar dan Menengah, Departemen Pendidikan
Nasional, 2008.
ix. 343 hlm
Daftar Pustaka : A1-A3
Glosarium : B1-B5
ISBN : 978-602-8320-92-4
978-602-8320-94-8

Diterbitkan oleh

Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan

Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah

Departemen Pendidikan Nasional

Tahun 2008

KATA SAMBUTAN

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, berkat rahmat dan karunia Nya, Pemerintah, dalam hal ini, Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional, telah melaksanakan kegiatan penulisan buku kejuruan sebagai bentuk dari kegiatan pembelian hak cipta buku teks pelajaran kejuruan bagi siswa SMK. Karena buku-buku pelajaran kejuruan sangat sulit di dapatkan di pasaran.

Buku teks pelajaran ini telah melalui proses penilaian oleh Badan Standar Nasional Pendidikan sebagai buku teks pelajaran untuk SMK dan telah dinyatakan memenuhi syarat kelayakan untuk digunakan dalam proses pembelajaran melalui Peraturan Menteri Pendidikan Nasional Nomor 45 Tahun 2008 tanggal 15 Agustus 2008.

Kami menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada seluruh penulis yang telah berkenan mengalihkan hak cipta karyanya kepada Departemen Pendidikan Nasional untuk digunakan secara luas oleh para pendidik dan peserta didik SMK.

Buku teks pelajaran yang telah dialihkan hak ciptanya kepada Departemen Pendidikan Nasional ini, dapat diunduh (*download*), digandakan, dicetak, dialihmediakan, atau difotokopi oleh masyarakat. Namun untuk penggandaan yang bersifat komersial harga penjualannya harus memenuhi ketentuan yang ditetapkan oleh Pemerintah. Dengan ditayangkan *soft copy* ini diharapkan akan lebih memudahkan bagi masyarakat khususnya para pendidik dan peserta didik SMK di seluruh Indonesia maupun sekolah Indonesia yang berada di luar negeri untuk mengakses dan memanfaatkannya sebagai sumber belajar.

Kami berharap, semua pihak dapat mendukung kebijakan ini. Kepada para peserta didik kami ucapkan selamat belajar dan semoga dapat memanfaatkan buku ini sebaik-baiknya. Kami menyadari bahwa buku ini masih perlu ditingkatkan mutunya. Oleh karena itu, saran dan kritik sangat kami harapkan.

Jakarta, 17 Agustus 2008
Direktur Pembinaan SMK

KATA PENGANTAR

Pertama-tama penulis panjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT karena atas Rahmat dan KaruniaNya penulis dapat menyelesaikan buku ajar untuk Sekolah Menengah kejuruan yang berjudul **PENGAWASAN MUTU BAHAN/PRODUK PANGAN**. Buku ini merupakan hasil kerjasama penulis dengan Direktur Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan, Ditjen Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah, Departemen Pendidikan Nasional.

Buku Pengawasan Mutu Bahan / Produk Pangan ini mengulas mengenai bahan pangan mulai dari sifat, mutu dan proses penurunan mutunya. Dijelaskan pula mengenai bagaimana upaya yang dapat dilakukan untuk menghasilkan produk pangan yang aman untuk dikonsumsi. Materi lain yang dijabarkan dalam buku ini adalah bagaimana menganalisis mutu dari bahan / produk pangan

Buku ini ditulis dengan tujuan dapat digunakan sebagai salah satu sumber untuk menghasilkan lulusan sekolah menengah kejuruan yang memiliki kemampuan sebagai pengawas mutu pangan. Acuan utama penulisan buku ini adalah Standar Kompetensi Nasional Bidang Analisis Mutu Bahan / Produk Pangan yang telah diterbitkan oleh Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Direktur Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan, Ditjen Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah, Departemen Pendidikan Nasional yang telah memberikan kesempatan untuk berpartisipasi dalam penulisan buku ini.
2. Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran yang telah mengizinkan penulis untuk mengikuti Program Penulisan Buku Ajar
3. Ir. Sahirman, MSc. selaku editor yang telah memberikan masukan guna peningkatan kualitas buku ajar
4. Dr. Ari Widodo dan Endang Prabandari selaku penilai yang telah memberikan masukan untuk penyempurnaan isi dan kelayakan penyajian
5. Anna Widanarti dan Ir. Ketut Sukarmen sebagai penilai yang telah memberikan masukan untuk penyempurnaan kelayakan kebahasaan
6. Hari Purnomo selaku penilai yang telah memberikan masukan untuk penyempurnaan kegrafikaan

7. Bambang Purwanto selaku supervisor yang telah memberikan masukan untuk penyempurnaan kegrafikaan

Ucapan yang sama penulis sampaikan kepada pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas sumbangsuhnya, baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap penulisan buku ini. Semoga semua amal kebaikan yang telah diberikan mendapatkan pahala berlipat ganda dari Allah SWT. Amin.

Penulis mengharapkan masukan, saran dan koreksi dari para pembaca yang akan bermanfaat dalam penyempurnaan buku ini. Semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi pembacanya. Amin.

Eddy Afrianto

SINOPSIS

Mutu sangat sulit didefinisikan karena setiap konsumen memiliki pemahaman berbeda. Sebagai gambaran, konsumen menyukai ikan mas goreng yang berukuran 100 g setiap ekornya. Dengan ukuran demikian, ikan mas mudah dikonsumsi hingga ke tulangnya. Namun bila hendak membuat pepes, mereka lebih menyukai ikan mas yang berukuran 500 g atau lebih sebagai bahan bakunya.

Mutu bahan pangan tidak dapat ditingkatkan dan cenderung menurun dengan bertambahnya waktu. Upaya yang dapat kita lakukan hanya untuk menghambat atau menghentikan proses penurunan mutu tersebut. Pengetahuan mengenai sifat dan mutu bahan pangan akan banyak membantu dalam upaya menghambat atau menghentikan proses penurunan mutu.

Dua hal penting yang dapat dilakukan untuk menghambat atau menghentikan proses penurunan mutu bahan pangan, yaitu manajemen keamanan pangan dan analisis mutu. Manajemen pangan ditujukan untuk menghasilkan pangan yang aman dikonsumsi. Manajemen keamanan pangan diwujudkan dengan Penerapan Manajemen Mutu Terpadu (PMMT).

Penerapan Manajemen Mutu Terpadu terdiri dari tiga komponen yang saling berkaitan, yaitu Good Manufacturing Practices (GMP), Standard Sanitation Operating Procedures (SSOP), dan Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP). Sebagai kelayakan dasar dari PMMT, GMP harus dilaksanakan dahulu secara baik sehingga akan dihasilkan pangan dengan kualitas yang sama. GMP adalah bagaimana cara menghasilkan bahan pangan dengan mutu relative dengan mutu sebelum dan setelahnya.

SSOP adalah prosedur standar operasi sanitasi untuk mencegah terkontaminasinya bahan baku pangan. Tahapan SSOP meliputi bahan baku, peralatan, pekerja, dan lingkungan steril.

Setelah GMP dan SSOP dapat dilaksanakan sesuai prosedur, maka sudah selanjutnya apabila akan menerapkan HACCP. Berdasarkan pelaksanaannya, HACCP dapat dibagi menjadi dua, yaitu analisis bahaya (HA) dan penentuan titik kritis (CCP). Analisis bahaya adalah penentuan titik-titik bahaya yang mungkin ada pada alur proses produksi bahan pangan. Bahaya yang mungkin ada dalam alur proses

produksi bahan pangan dapat digolongkan menjadi bahaya fisik, kimia, dan biologis.

Penentuan titik kritis dilakukan karena tidak semua titik bahaya yang dijumpai berpengaruh buruk terhadap mutu pangan yang dihasilkan. Alur proses yang baik dicirikan dengan adanya aktivitas untuk mengatasi bahaya yang mungkin timbul pada tahap sebelumnya. Sebagai contoh, bahaya yang ditimbulkan dari keberadaan mikroba pada ikan yang akan digunakan sebagai bahan baku pembuatan ikan kaleng bukan merupakan titik kritis. Mengapa demikian? Karena pada tahap selanjutnya dari alur proses ada kegiatan sterilisasi yang dapat membunuh mikroba tersebut sehingga ikan kaleng menjadi aman untuk dikonsumsi.

Kompetensi yang hendak dicapai oleh buku ini adalah dihasilkannya lulusan yang mampu melakukan pengawasan mutu pangan. Kompetensi ini dapat dicapai apabila siswa memahami semua komponen dalam buku ini.

DAFTAR ISI

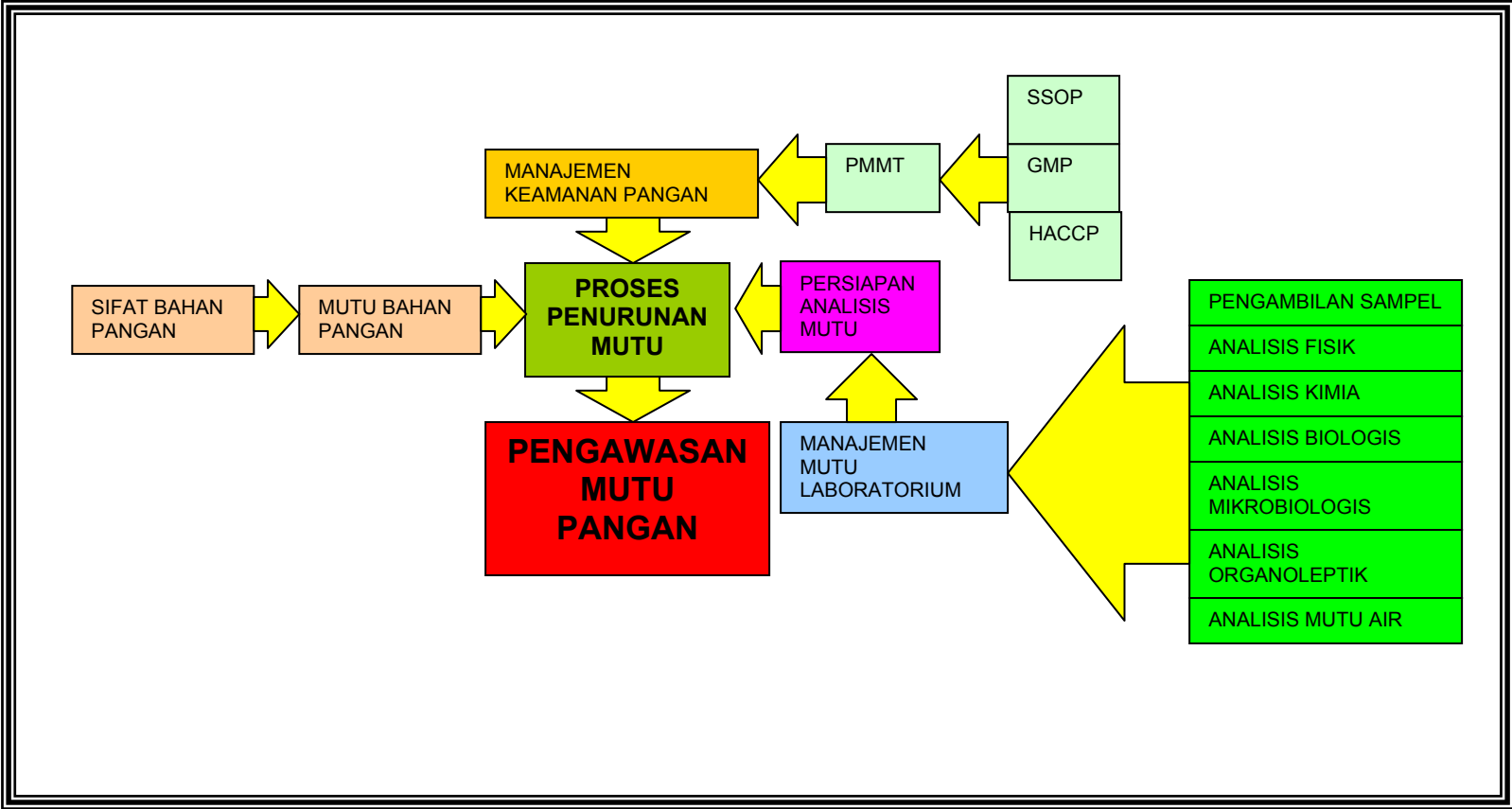
KATA SAMBUTAN	i
KATA PENGANTAR	ii
SINOPSIS	iii
DAFTAR ISI	v
PETA KOMPETENSI	ix
1 JILID 1	
I. Sifat Bahan Pangan	1
1.1. Bahan Pangan	1
1.2. Sifat Bahan Pangan	1
II. Mutu Bahan Pangan	13
2.1. Mutu dan Kualitas	13
2.2. Faktor yang Mempengaruhi Mutu	14
III. Penurunan Mutu Bahan Pangan	27
3.1. Kerusakan Fisik	27
3.2. Kerusakan Kimiawi	31
3.3. Kerusakan Biologis	35
3.4. Mencegah penurunan mutu	38
Latihan.....	42
IV. Penerapan Manajemen Mutu Terpadu	43
4.1. Hambatan Pemasaran	43
4.2. Peranan MMT	47
4.3. Pelaksanaan PMMT	49
V. Praktek Produksi yang Baik	51
5.1. Prinsip GMP	51
5.2. Filosofi GMP	52
5.3. Pelaksanaan GMP	52
5.4. Alur Proses	61
VI. Prosedur Standar Operasi Sanitasi Standar	65
6.1. Pasokan air dan es	66
6.2. Peralatan dan pakaian kerja	66
6.3. Pencegahan kontaminasi silang	67
6.4. Toilet	72
6.5. Tempat cuci tangan	73
6.6. Bahan kimia pembersih dan sanitiser	73
6.7. Pelabelan	74
6.8. Kesehatan karyawan	76
6.9. Pengendalian hama	77
VII. Analisis Bahaya dan Penentuan Titik Kritis	79
7.1. Sejarah HACCP	80

7.2.	Perkembangan Status HACCP di Dunia	82
7.3.	Pengertian HACCP	83
7.4.	Tujuan HACCP	85
7.5.	Pelaksanaan HACCP	85
7.6.	Manfaat HACCP	124
VIII.	Manajemen Mutu Laboratorium	127
8.1.	Proses manajemen Mutu	128
8.2.	Kegiatan Pencatatan	130
8.3.	Prinsip berlaboratorium yang baik	133
8.4.	Pemeliharaan Laboratorium	135
8.5.	Pelaksanaan kegiatan laboratorium	156
8.6.	Prosedur Analisis	157
8.7.	Perubahan terhadap kerja	162
8.8.	Pengendalian Laboratorium	162
8.9.	Pemeliharaan peralatan laboratorium	164
8.10.	Keamanan Laboratorium	165
8.11.	Pembinaan dan pengawasan	166
8.12.	Sanksi	167
8.13.	Evaluasi	168
2	JILID 2	
IX.	Persiapan Analisis Mutu	169
9.1.	Penyiapan Peralatan Dasar	169
9.2.	Kegunaan Peralatan	186
9.3.	Pencucian Peralatan	192
9.4.	Sterilisasi Peralatan Gelas	195
9.5.	Persiapan Bahan Kimia	199
9.6.	Cara Penyimpanan Bahan Kimia	201
X.	Pengambilan Sampel	203
10.1.	Persiapan Pengambilan Sampel	203
10.2.	Pengambilan Sampel yang Mewakili	206
10.3.	Penyiapan sampel uji	212
10.4.	Penyimpanan Arsip	213
10.5.	Membuang Sampel yang Tidak Terpakai dan Sisa Sampel	213
10.6.	Memelihara Peralatan Sampling	213
10.7.	Sampling untuk Analisis	213
XI.	Penggunaan Instrumen Laboratorium	217
11.1.	Pengujian secara elektrokimia	217
11.2.	Pengujian secara Spektrofotometer	218
11.3.	Analisis Kromatografi	222
XII.	Analisis Kimiawi	227
12.1.	Melakukan Pengujian Fisiko-Kimia Dasar	227
12.2.	Analisis Gravimetri dan Titrimetri	229
12.3.	Larutan dan Pereaksi	230

12.4.	Standarisasi Larutan	237
12.5.	Analisis proksimat	237
12.6.	Prosedur Analisis Proksimat	238
XIII.	Pengujian Fisik Bahan Pengemas	249
13.1.	Kertas	249
13.2.	Plastik	251
13.3.	Kaleng dan gelas	271
	Latihan	273
XIV.	Analisis Mikrobiologis	275
14.1.	Teknis Kerja Aseptis	275
14.2.	Menyiapkan Peralatan dan Media Kultur Mikroba.....	276
14.3.	Inokulasi	282
14.4.	Pengujian Mikrobiologi	288
14.5.	Menghitung Populasi Mikroba	292
14.6.	Pengujian Mikrobiologi Dasar	298
XV.	Analisis Organoleptik	303
15.1.	Berpartisipasi dalam Analisis Organoleptik	303
15.2.	Penyiapan dan Penyajian Sampel	306
15.3.	Pemilihan dan Penyiapan Panelis	309
15.4.	Pelaksanaan Pengujian	315
15.5.	Tipe Pengujian	317
15.6.	Analisis Data Organoleptik	321
XVI.	Analisis Nutrisi	327
16.1.	Analisis Karbohidrat	327
16.2.	Analisis Protein	352
16.3.	Analisis Lemak	360
16.4.	Analisis kadar air	381
16.5.	Analisis vitamin	382
16.6.	Analisis kadar abu	387
16.7.	Analisis mineral	387
XVII.	Analisis mutu air	401
17.1.	Jenis air	401
17.2.	Standar mutu	402
17.3.	Penanganan air limbah	404
17.4.	Parameter mutu air	405
17.5.	Monitoring mutu air	407
17.6.	Analisis mutu air	408
17.7.	Kebutuhan air bermutu	411
XVIII	Manajemen Keamanan Pangan	417
18.1.	Pangan yang Aman	419
18.2.	Sumber Kontaminasi.....	429
18.3.	Penyakit akibat cemaran patogen.....	432
18.4.	Pencegahan Cemaran Patogen	435
18.5.	Manajemen Keamanan Pangan	440

18.6.	Mutu Pangan	445
	LAMPIRAN A. DAFTAR PUSTAKA.....	
	LAMPIRAN B. GLOSARIUM.....	
	LAMPIRAN C. DAFTAR GAMBAR.....	
	LAMPIRAN D. DAFTAR TABEL.....	

PETA KOMPETENSI



BAB IX

PERSIAPAN ANALISIS MUTU

9.1. Penyiapan Peralatan Dasar

Peralatan laboratorium yang terbuat dari gelas memiliki sifat khas, misalnya gelas pyrex yang tahan panas, gelas borosilikat yang tahan terhadap kenaikan suhu mendadak, atau gelas *soda lime* yang dapat dipanaskan pada api Bunsen tanpa menjadi kusam.

9.1.1. Jenis peralatan gelas

Peralatan gelas merupakan salah satu peralatan utama dalam melakukan analisis mutu bahan dan produk pangan. Berdasarkan jenisnya, peralatan gelas dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan, yaitu (1) peralatan dasar yang terdiri dari gelas beaker, gelas ukur, labu Erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, botol dan lain-lain; (2) peralatan ukur yang terdiri dari labu ukur, pipet, buret, botol BOD dan lain-lain; serta (3) peralatan analisis, yang terdiri dari termometer, piknometer dan lain-lain

9.1.1.1 Peralatan dasar

a. Gelas beaker (*Beaker glass*)

Gelas beaker atau sering disebut sebagai gelas piala adalah gelas pyrex yang dilengkapi dengan bibir tuang dan skala

(Gambar 9.1). Kapasitas gelas piala adalah 5, 10, 25, 100, 150, 250, 400, 500, 600, 800, 1000, 1500, 2000, 3000, dan 5000 ml. Fungsi utama dari gelas piala adalah untuk menyimpan atau mencampur senyawa kimia. Unit skala tidak terlalu teliti tetapi cukup memadai untuk penggunaan yang tidak memerlukan ketelitian tinggi.

Bentuk gelas piala ada yang rendah, tinggi, atau berbentuk kerucut. Selain menyimpan dan mencampur senyawa kimia, gelas piala yang berukuran tinggi dan berbentuk kerucut berfungsi sebagai tempat memanaskan senyawa kimia.



Gambar 9.1. *Beaker glass* dengan berbagai ukuran

Sumber :

www.indigo.com/glass/gphglass/chemistry-beaker.html

b. Gelas ukur

Gelas ukur memiliki bibir tuang dan kaki berbentuk heksagonal atau berupa polipropilen yang dapat dilepas (Gambar 9.2). Fungsi utamanya adalah mengukur volume suatu cairan sesuai keperluan. Jenis gelas ukur yang dilengkapi penutup dimaksudkan untuk mencegah terjadinya penguapan dari bahan kimia volatil.



Gambar 9.2 Gelas Ukur

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Kapasitas gelas ukur dan skala yang dimiliki bervariasi, yaitu :

1. Gelas ukur bentuk kaki Heksagonal

Kapasitas	Bagian skala	Kapasitas	Bagian skala
---ml---			
10	0.2	250	2
25	0.5	500	5
50	1	1000	10
100	1	2000	20

2. Gelas ukur berkaki polipropilen

Gelas ukur dengan kaki polipropilen memiliki kapasitas 50, 100, dan 250 ml dengan bagian skala 1 ml; sedangkan gelas ukur dengan tutup memiliki kapasitas 100 ml dengan bagian skala 1 ml.

c. Labu Erlenmeyer

Labu Erlenmeyer adalah gelas dari bahan pyrex berbentuk kerucut dengan mulut sempit atau lebar (Gambar 9.3). Labu ini dilengkapi skala dan memiliki kapasitas :

Jenis labu	Kapasitas (ml)
Mulut sempit	5, 10, 25, 50, 100, 150, 250, 500, 1000, dan 2000
Mulut lebar	50, 100, 250, 500, 1000, dan 2000

Labu Erlenmeyer memiliki fungsi yang sama, yaitu untuk menyimpan, memanaskan atau mencampur senyawa kimia dan unit skala tidak terlalu teliti namun cukup memadai untuk penggunaan yang tidak memerlukan ketelitian tinggi.



Gambar 9.3. Labu Erlenmeyer dengan berbagai ukuran

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

d. Labu Filtrasi

Labu filtrasi merupakan gelas pyrex yang memiliki dasar bulat dan kapasitas 100, 250, 500 dan 1000 ml (Gambar 9.4). Fungsi utama dari labu filtrasi adalah untuk proses penyaringan Buchner, dan dapat dihubungkan ke pompa hisap.



Gambar 9.4. Filtering flask

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

e. Labu Volumetri

Labu volumetri atau labu ukur terbuat dari gelas jernih, dengan atau tanpa tutup polipropilen (Gambar 9.5). Kapasitas labu adalah sebagai berikut :

Jenis Labu	Kapasitas (ml)
Tanpa Tutup	10, 25, 50, 100, 250, dan 500
Dengan Tutup	1, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 200, 250, 500, 1000, dan 2000



Gambar 9.5. Labu volumetri (*volumetric flask*) dengan tutup dari bahan poli-propilen

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Fungsi utama dari labu volumetri adalah menyimpan hasil ekstraksi.

f. Labu dasar rata / bulat

Labu merupakan gelas pyrex yang memiliki dasar bulat atau datar (Gambar 9.6a,b). Labu ini

memiliki kapasitas 100, 250, 500, 1000, 2000, dan 5000ml.



Gambar 9.6a. Labu dasar rata
(*flask flat bottom*)

Sumber :
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.6b. Labu dasar bulat
(*flask round bottom*)

Sumber :
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Fungsi utama labu adalah untuk memanaskan cairan.

g. Labu didih

Labu didih terbuat dari gelas bening. Labu didih ada yang berdasar rata (Gambar 9.7a) dan berdasar bulat (Gambar 9.7b)



Gambar 9.7a. Boiling flask flat
bottom

Sumber :
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



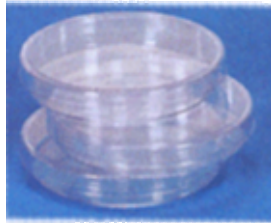
Gambar 9.7b : Boiling Flask –
Round Bottom

Sumber :
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

h. Cawan Petri

Cawan petri terbuat dari pyrex dengan tinggi 18 mm (Gambar 9.8). Ukuran cawan petri adalah sebagai berikut :

Diameter cawan (mm)	Diameter tutup (mm)
57	70
70	76
95	101
115	122
141	149



Gambar 9.8. Cawan petri

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Fungsi utama dari cawan Petri adalah untuk wadah media kultur mikroba.

i. Tabung Reaksi

Tabung reaksi terbuat dari gelas tahan panas, pyrex atau borosilikat. Dindingnya tipis hingga medium dan berbibir (Gambar 9.9). Tabung reaksi memiliki beberapa ukuran sebagai berikut :

Jenis tabung reaksi	Ukuran (mm)
Dinding tipis	75 x 10, 100 x 12, 100 x 16, 125 x 16, 150 x 16, 150 x 19 dan 150 x 25
Dinding medium	75 x 10, 75 x 12, 100 x 12, 125 x 16, 150 x 16, 150 x 19, 150 x 24, 200 x 32, dan 200 x 38
Gelas Borosilikat	10 x 0.1 ml
Gelas soda lime dengan dinding tipis	50 x 6, 50 x 10, 75 x 10, 75 x 12, 100 x 12, 125 x 12, 125 x 16, 125 x 19, 150 x 16, 150 x 19 dan 150 x 12 mm
Gelas soda lime dengan bibir	20 x 0.2 ml



Gambar 9.9. Tabung reaksi (test tube)

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Fungsi utama dari tabung reaksi adalah untuk melakukan reaksi atau menyimpan senyawa kimia. Fungsi lain adalah untuk menumbuhkan mikroba.

j. Botol Pereaksi

Botol pereaksi terbuat dari gelas jernih atau berwarna dengan leher sempit hingga lebar dan tanpa atau dilengkapi dengan tutup. Tutup botol pereaksi terbuat dari bahan gelas atau poli-propilen (Gambar 9.10). Kapasitas dari botol peraksi adalah sebagai berikut :



Gambar 9.10. Botol pereaksi (reagen bottle) lengkap dengan tutupnya

Jenis Botol	Kapasitas (ml)
Jernih atau kuning, tutup PP	30, 60, 125, 250, 500, dan 1000
Jernih atau kuning sawo dengan tutup gelas	30, 60, 120, 250, 500, dan 1000
Jernih atau berwarna kuning sawo	50, 100, 300, 500, 1000 dan 2000
Botol pereaksi (reagent bottle)	125, 250, dan 500

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Fungsi utama dari botol pereaksi adalah menyimpan senyawa pereaksi.

k. Bejana lonceng

Bejana lonceng ada beberapa jenis, yaitu (a) dengan knob bulat di bagian atas (Gambar 9.11a); (b) dengan soket di bagian atas baik dengan atau tanpa penutup; (c) dilengkapi dengan pompa penghisap (Gambar 9.11b).

Adapun kapasitas bejana lonceng adalah sebagai berikut :

Jenis	Kapasitas ---mm---
Dengan knob	200 x 150; 250 x 175; 300 x 200
Dengan soket	200 x 150; 250 x 175; 300 x 200



Gambar 9.11a : Bejana lonceng dengan knob di bagian atas

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.11b. Bejana lonceng yang dilengkapi dengan pompa penghisap

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Fungsi bejana lonceng adalah untuk percobaan tentang hubungan antara fotosintesis dengan respirasi hewan. Sedangkan bejana lonceng dengan soket di bagian atas digunakan untuk mengukur pengaruh tekanan udara rendah terhadap makhluk hidup, dengan dihubungkan ke pompa vakum.

I. Corong

Corong terbuat dari kaca bening, pyrex, plastik atau porselen. Pada plastik dan kaca bening bentuknya sama seperti

kebanyakan corong (Gambar 12a,b). Corong yang terbuat dari bahan porselen memiliki diameter sesuai diame-ter kertas saring dan dasarnya berlubang (Gambar 12c). Corong yang batangnya panjang dilengkapi dengan 'alur' yang membantu mempercepat proses penyaringan.

Diameter corong bervariasi, tergantung dari jenisnya :

Jenis corong	Diameter ===mm===
Kaca	50, 75, 100, 150, 200
Porselen	4, 15, 5.5, 7, 9, 11, dan 12.5
Batang panjang	75 dan 100



Gambar 9.12a. Corong kaca

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.12b. Corong polipropilen

Sumber :
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.12c. Buchner porselen

Sumber :
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Kegunaan corong adalah untuk proses penyaringan.

m. Desikator

Desikator terbuat dari bahan borosilikat. Ada dua jenis desikator, yaitu a) memiliki knob bulat di bagian atas tutup (Gambar 9.13a) dan b) memiliki kran dibagian atas tutup yang dapat mengeluarkan udara sehingga tercipta kondisi hampa (Gambar 9.13b).



Gambar 9.13a. Desikator dengan lempengan porselen

Sumber :
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.13b. Desikator yang dilengkapi dengan kran penghampaan

Sumber :
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Desikator digunakan untuk proses pengeringan, baik dengan menggunakan senyawa higroskopis (kalsium klorida dan silica gel) atau proses penghampaan.

Pengawasan Mutu Bahan / Produk Pangan

n. Corong pemisah

Terbuat dari gelas borosilikat dengan bentuk lonjong dan kerucut (Gambar 9.14). Dapat dipasang kran atau tutup plastik. Memiliki kapasitas 50, 100, 250, 500, dan 1000 ml.



Gambar 9.14. Corong pemisah berbentuk lonjong (kiri) dan kerucut (kanan)

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Corong pemisah berguna untuk memisahkan pigmen.

o. Krusibel

Krusibel terbuat dari porselen dengan bentuk pendek tebal atau tinggi, dilengkapi atau tanpa penutup (Gambar 9.15.). Krusibel memiliki dinding dalam dan luar yang diglazier (dilapis).

Spesifikasi krusibel adalah :

a. pendek-tebal

Kapasitas (ml)	Φ atas (mm)	Tinggi (mm)
8	32	19
15	40	23
25	46	27
45	57	37
90	68	45

b. tinggi

Kapasitas (ml)	Φ atas (mm)	Tinggi (mm)
5	25	20
10	30	25
18	35	30
30	42	35
65	55	50



Gambar 9.15. Krusibel dengan tutup

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Krusibel digunakan untuk membuat preparat abu dari tanaman.

p. Mortar

Mortar terbuat dari porselen dengan ukuran diameter luar lumpang adalah 70, 90, 110, 125, 140, dan 210 mm (Gambar 9.16.).



Gambar 9.16. Mortar

Mortar berfungsi untuk menggerus dan menghaluskan sampel.

q. filter

Filter terbuat dari kaca dengan berbagai ukuran (Gambar 9.17.).



Gambar 9.17. Filter

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Kegunaan filter untuk memisahkan komponen tertentu dari komponen lainnya. Ukuran filter bervariasi tergantung dari jenis

dan jumlah dari komponen yang akan dipisah.

9.1.1.2 Peralatan ukur

a. Pipet tidak berskala

Pipet adalah alat yang digunakan untuk mengambil atau memisahkan zat cair dengan volume tertentu. Berdasarkan bentuknya, pipet dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu pipet tidak berskala (Gambar 19.8) dan pipet berskala.



Gambar 9.18. Pipet tidak berskala

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

b. Pipet berskala

Pipet berskala memiliki bentuk beragam (Gambar 9.19a,b.). Perbedaan yang nyata adalah dari alat penghisapnya. Kapasitas volume pipet adalah sebagai berikut :

Jenis pipet	Kapasitas
Hanya satu tanda kapasitas	2, 5, 10, 20, 25, 50 dan 100 ml

Berskala 0 di bagian atas	1 x 0.01; 2 x 0.02; 5 x 0.05; 10 x 0.1 dan 25 x 0.2 ml
Berskala	1 x 0.01; 2 x 0.02; 5 x 0.05; 10 x 0.1 dan 25 x 0.2



Gambar 9.19a. Pipet volumetri

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.19b. Variabel pipet

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

c. Buret

Buret terbuat dari kaca bening dengan ukuran 5 x 0.1ml, artinya memiliki kapasitas 5 ml dan unit skala 0.1 ml (Gambar 9.20). Ukuran lainnya adalah 10 x 0.02, 10 x 0.1, 50 x 0.1 ml.



Gambar 9.20. Buret

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Buret digunakan dalam proses titrasi.

d. Botol BOD

Botol *Biological Oxygen Demand* (BOD) terbuat dari kaca bening, yang dilengkapi dengan tutup terbuat dari bahan sejenis (Gambar 9.21.).



Gambar 9.21. Botol sampel BOD

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Kegunaan botol BOD adalah untuk mengambil dan menyimpan sampel air yang akan diukur kandungan BODnya.

9.1.1.3 Peralatan analisis

a. Termometer

Termometer adalah alat pengukur suhu (Gambar 9.22). Bentuk dan rentang suhu yang dapat diukur juga bervariasi sebagai berikut :

Rentang suhu		Rentang kenaikan suhu
terendah	Tertinggi	
- 10	50	0.5
- 10	110	1
- 10	200	1
- 10	250	1
- 10	360	2
- 10	400	2
- 40	40	0.5
- 80	30	1
- 120	30	1

Umumnya termometer memiliki skala dalam derajat selsius. Cairan yang digunakan untuk menunjukkan suhu dapat berupa alkohol atau air raksa. Ukuran termometer bervariasi, namun umumnya memiliki panjang 30 mm dan lebar 6-7 mm.



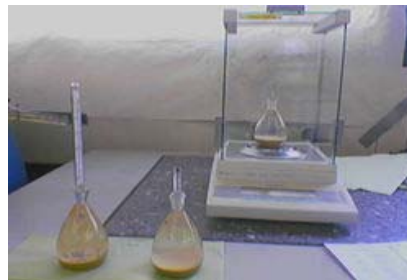
Gambar 9.22. Termometer

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Fungsi utama termometer dalam laboratorium adalah mengukur suhu suatu senyawa kimia (cair) atau suhu ruang inkubator.

b. Piknometer

Piknometer adalah alat untuk membandingkan berat jenis zat cair atau zat padat (Gambar 9.23).



Gambar 9.23. Piknometer

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

c. Hidrometer

Hidrometer adalah alat yang dapat digunakan untuk mengukur berat jenis atau kepekatan air (Gambar 9.24)

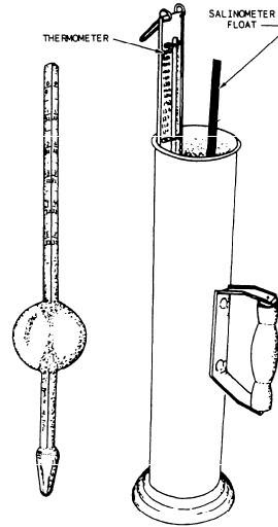


Gambar 9.24. Hidrometer

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

d. Salinometer

Salinometer adalah alat yang dapat digunakan untuk mengukur kadar garam yang terkandung dalam suatu larutan (Gambar 9.25). Bentuk salinometer bermacam-macam. Satuan pengukuran atau dimensi yang digunakan biasanya %, ppm atau ppt.



Gambar 9.25. Salinometer

Sumber : www.tpub.com/engine3/en33-92.htm

9.1.2 Jenis Peralatan non Gelas

Jenis peralatan dasar non gelas yang digunakan dalam menganalisis bahan dan produk pangan antara lain :

a. Timbangan

Timbangan digunakan untuk menimbang sampel. Memiliki kemampuan dan ketelitian penimbangan yang bervariasi. Timbangan yang digunakan di dalam laboratorium terbagi dua, yaitu : 1) timbangan kasar untuk menimbang bobot yang cukup besar, contohnya timbangan *triple beam* (Gambar 9.26a) dan 2) timbangan analitik untuk menimbang bobot yang relatif

ringan, misalnya mg atau mikro-gram. (Gambar 9.26b)



Gambar 9.26a. Timbangan *triple beam*

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



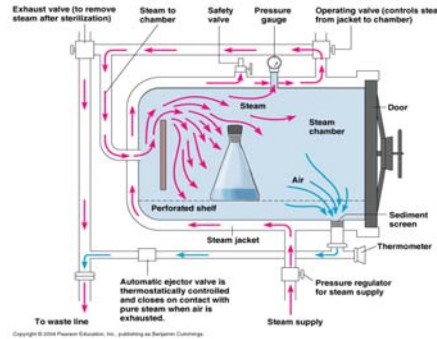
Gambar 9.26b. Timbangan digital

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

b. Otoklaf

Otoklaf (Gambar 9.27) adalah alat yang dapat memanipulasi lingkungan sehingga tercipta lingkungan sesuai keinginan. Kemampuan memanipulasi lingkungan tergantung dari jenis otoklaf. Otoklaf paling seder-

hana hanya mengatur suhu lingkungan, sedangkan yang lebih canggih juga dapat mengatur tekanan, kelembaban udara, atau aliran oksigen.



Gambar 9.27. Otoklaf

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Otoklaf dapat digunakan untuk membunuh mikroba (sterilisator) atau untuk menumbuhkan mikroba (incubator).

c. Laminar flow cabinet

Ruang laminar (*laminar cabinet*) adalah ruangan yang kondisi lingkungannya dapat diatur sehingga akan tercipta ruangan dengan kondisi sesuai keinginan. Kondisi lingkungan yang diinginkan dapat tercipta melalui pengaturan tombol pengaturan udara dan saringan udara (Gambar 9.28).



Gambar 9.28. *Laminar flow cabinet*

Sumber :
www.calvin.edu/academic/biology/technology

Ruang laminar ada yang hanya dapat mengatur suhu lingkungan saja, tetapi ada yang dilengkapi dengan aliran udara bersih. Ruang laminar digunakan sebagai ruang untuk menginokulasi, meninkubasi, atau memanen mikroba.

d. Sentrifuge

Sentrifuge adalah alat yang dapat digunakan untuk memisahkan komponen zat dalam suspensi berdasarkan perbedaan berat jenisnya (Gambar 9.29). Bila suspensi diputar pada sentrifuge dengan kecepatan dan lama tertentu, maka komponen yang terdapat di dalam suspensi akan terpisah. Bagian yang paling berat terdapat di bagian bawah sedangkan yang ringan di bagian atas.



Gambar 9.29. Sentrifuge

Sumber :
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

e. Inkubator

Inkubator adalah wadah yang berfungsi sebagai alat untuk menginkubasi mikroba (Gambar 9.30). Suhu di dalam ruangan inkubator dapat dikendalikan suhunya. Pengendalian suhu dimungkinkan karena inkubator dilengkapi dengan elemen pemanas yang dihubungkan dengan alat pengatur (*regulator*) sehingga dapat diciptakan kondisi lingkungan dengan suhu yang stabil.

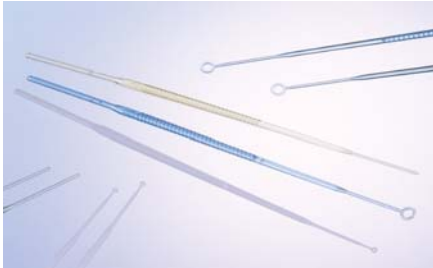


Gambar 9.30. Inkubator

Sumber :
www.calvin.edu/academic/biology/technology

f. Peralatan inokulasi

Peralatan inokulasi adalah peralatan yang digunakan untuk menginokulasi mikroba. Bahan yang digunakan dapat berupa besi atau gelas. Bentuk peralatan inokulasi panjang dengan bagian ujungnya lurus atau bulat (Gambar 9.31).



Gambar 9.31. Peralatan transfer

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

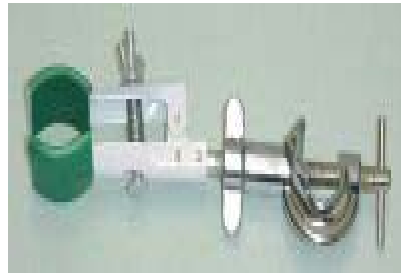
g. Penjepit

Penjepit (Gambar 9.3) adalah alat yang digunakan untuk menjepit. Bahan yang digunakan untuk membuat penjepit adalah logam, plastik, karet atau kombinasi ketiganya. Bentuk penjepit bermacam-macam, tergantung dari fungsinya. Oleh karena itu, pemilihan penjepit yang digunakan harus disesuaikan dengan alat yang akan dijepit.



Gambar 9.32a. Penjepit

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.32b. Swivel utility clamp

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.32c. Burette Clamp Single

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Penjepit digunakan untuk menjepit pipa karet atau plastik. *Swivel utility clamp* (Gambar 9.32) digunakan untuk menjepit peralatan gelas, seperti buret, berbagai labu ukur atau tabung reaksi. *Burette clamp single* (Gambar 9.32c) adalah penjepit yang digunakan untuk menjepit buret, baik satu maupun dua buret,

h. Statif dengan batang statif

Fungsi statif adalah untuk memasang penjepit buret atau peralatan gelas lainnya pada saat melakukan titrasi atau sterilisasi.

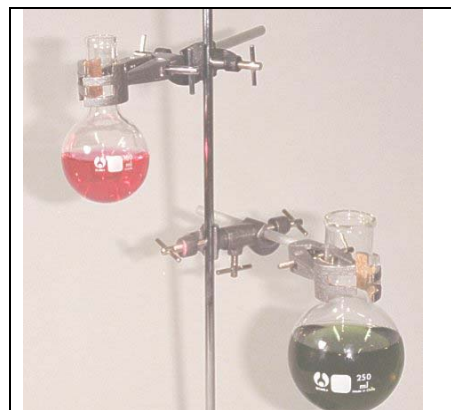
Statif terbuat dari besi atau besi anti karat. Statif dapat dibedakan berdasarkan jumlah batang tegak dan bentuk alasnya, yaitu :



Gambar 9.33a. Statif dengan batang statif tunggal yang terletak ditepi alas

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

a) batang tunggal dan alas berupa lempengan besi dengan ukuran 160 x 100, 250 x 160, 315 x 200 mm (Gambar 9.33a); b) batang ganda dengan kaki berbentuk huruf A; c) batang tunggal dengan kaki membentuk tripod. Ukuran panjang kaki dari pusat adalah 110, 140, dan 165 mm (Gambar 9.33b); dan d) batang ganda dan terletak di tengah yang berbentuk lempeng ber-ukuran 280 x 125 mm.



Gambar 9.33b. Statif yang digunakan untuk memegang labu didih

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

i. Nicholson Hydrometer

Nicholson Hydrometer adalah alat yang dapat digunakan untuk mengukur kelembaban (Gambar 9.34)



Gambar 9.34. Nicholson Hydro-meter

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

9.2. Kegunaan Peralatan

Penggunaan peralatan dasar adalah untuk kegiatan :

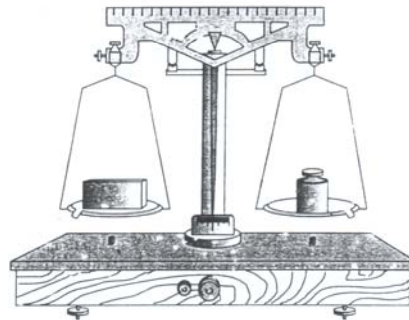
9.2.1 Menimbang

Salah satu kegunaan peralatan dasar adalah untuk menimbang bahan kimia atau sampel yang akan dianalisis. Untuk menimbang bobot bahan pangan dapat dilakukan tahapan berikut :

- 1) Bersihkan neraca dan piring neraca dari sisa bahan atau kotoran lainnya.
- 2) Neraca timbangan harus dibuat seimbang terlebih dahulu dengan cara menggeser sekrup pengatur sehingga jarum menunjukkan angka nol.
- 3) Timbang *wadah bahan* (botol, kaca arloji, atau alas lainnya) dengan meletakkannya pada piring timba-

ngan dan catat bobot dari wadah bahan tersebut.

- 4) Letakkan bahan pangan yang akan ditimbang ke dalam wadah bahan tersebut dan letakkan di piring timbangan sebelah kiri. Letakkan anak timbangan di piring timbangan lainnya. Anak timbangan yang diletakkan kurang lebih sama berat dengan bahan pangan yang akan ditimbang (Gambar 9.35).
- 5) Catat angka yang ditunjuk oleh jarum sebagai bobot bahan pangan, setelah dikurangi bobot wadah bahan.
- 6) Setelah proses penimbangan selesai, kembalikan piring timbangan pada posisi semula.



Gambar 9.35. Neraca

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

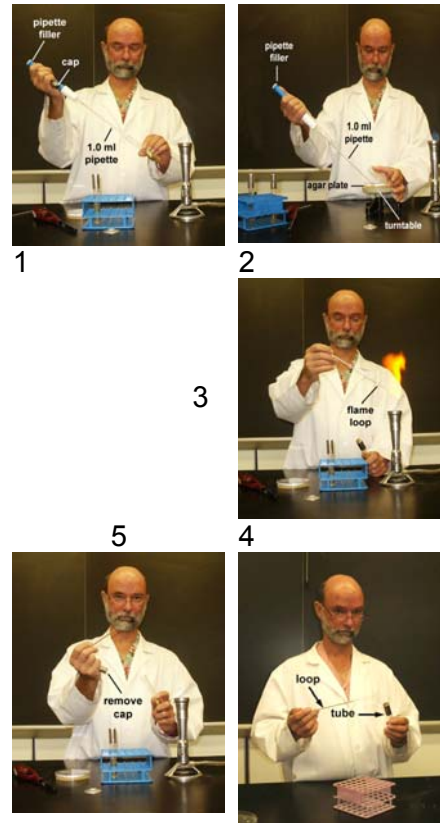
9.2.2 Menginokulasi

Kegunaan peralatan dasar lainnya adalah untuk kegiatan menginokulasi mikroba. Ada beberapa tahapan yang perlu dilakukan dalam menginokulasi

mikroba, yaitu penyiapan media, proses inokulasi, dan proses inkubasi. Media inokulasi untuk menumbuhkan mikroba dapat dibagi menjadi media kaldu (*broth*) dan media agar.

Ada beberapa jenis media agar sesuai dengan fungsinya. Sebagai contoh media agar miring digunakan untuk media tumbuh mikroba yang akan disimpan sebagai biakan murni. Sedangkan media agar pada cawan petri digunakan sebagai media tumbuh untuk tujuan tertentu.

Proses inokulasi adalah proses penanaman mikroba ke media kultur (Gambar 9.36). Selanjutnya dilakukan proses inkubasi untuk menumbuhkan mikroba tersebut. Proses inkubasi berlangsung 1-3 hari, tergantung suhu inkubator, media yang digunakan, dan jenis mikroba yang diinokulasi.



Gambar 9.36 Proses inokulasi mikroba

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

9.2.3 Mengukur Volume

Fungsi lain dari peralatan dasar adalah untuk mengukur volume. Volume zat cair dapat diukur dengan menggunakan gelas atau pipet ukur. Cara pengukurannya adalah sebagai berikut :

- 1) Gunakan gelas atau pipet ukur yang bersih dan ukurannya sesuai dengan volume bahan kimia yang akan diukur.
- 2) Baca skala yang tercantum pada gelas atau pipet ukur dan tentukan harga setiap skala.

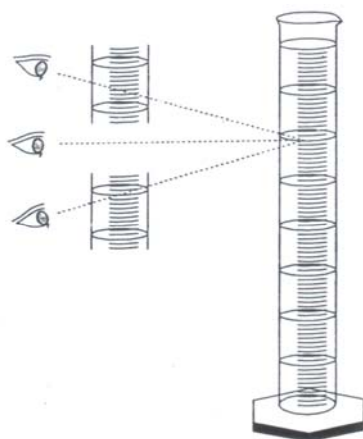
- 3) Tuang bahan kimia yang akan ditentukan volumenya ke dalam gelas ukur.
- 4) Bacalah skala untuk menentukan volumenya. Pembacaan skala harus lurus dengan mata. Bila permukaan bahan kimia cekung, pembacaan skala dilakukan pada permukaan terbawah dan bila permukaannya cembung pembacaan

skala dilakukan di permukaan atas (Gambar 9.37).

- 5) Bila volumenya sudah terbaca, tuangkan bahan kimia cair tersebut ke dalam wadah lain dan gelas ukur dicuci sehingga siap untuk digunakan kembali.

Bila pengukuran volume dilakukan dengan menggunakan pipet ukur, maka prosedurnya adalah sebagai berikut :

- 1) Pilih pipet sesuai dengan volume bahan kimia yang akan diukur (Gambar 9.38).



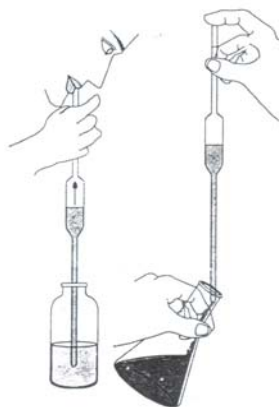
Gambar 9.37. cara pembacaan skala untuk menentukan volume bahan kimia menggunakan gelas ukur

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

- 2) Bilas bagian dalam pipet dengan air suling dan dilanjutkan dengan bahan kimia yang akan diukur volumenya.
- 3) Isaplah bahan kimia cair yang akan diukur volumenya

sampai di atas garis batas. Bila bahan kimia yang akan diukur volumenya bersifat racun, sebaiknya gunakan penghisap karet (*ball pipet*).

- 4) Tutup ujung pipet dengan menggunakan jari telunjuk, tahan terus sambil mengangkat pipetnya dari wadah bahan kimia yang akan diukur volumenya. Keringkan ujung pipet dengan menggunakan kertas saring. Turunkan permukaan bahan kimia dalam pipet dengan cara membuka ujung jari telunjuk secara hati-hati sampai permukaan bahan kimia mencapai tanda volume.
- 5) Masukkan bahan kimia cair tersebut ke dalam wadah yang telah disediakan. Pipet ukur dicuci kembali.



Gambar 9.38. Cara menggunakan pipet ukur untuk menentukan volume bahan kimia cair

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

9.2.4 Menuangkan Bahan

Peralatan dasar juga dapat digunakan alat untuk menuangkan bahan kimia dari satu wadah ke wadah lainnya. Bahan kimia dapat berupa padatan atau cair. Proses penuangan bahan kimia merupakan kegiatan yang sering dilakukan dan memerlukan kecermatan dan ketelitian tersendiri. Bacalah terlebih dahulu label pada botol agar tidak terjadi kesalahan. Pegang botol dengan baik, bagian yang berlabel diletakkan di permukaan tangan untuk mencegah bahan yang menetes atau menempel pada label.

9.2.4.1 Menuangkan bahan padat

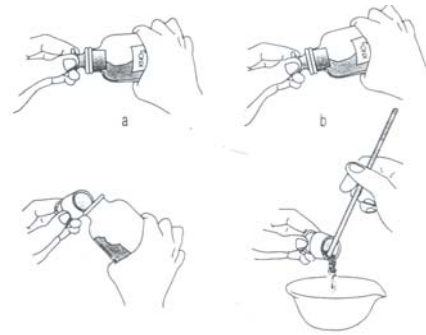
Adapun cara menuangkan bahan kimia berbentuk padat adalah sebagai berikut :

- 1) Peganglah botol dengan bagian yang berlabel di letakan pada permukaan tangan
- 2) Miringkan botol secara perlahan hingga bahan kimia keluar ke dalam tutup botol
- 3) Ketuk tutup botol secara perlahan dengan menggunakan telunjuk atau batang pengaduk sehingga bahan kimia yang terdapat pada tutup jatuh ke wadah yang telah disediakan (Gambar 9.39).

Selain cara di atas, penuangan bahan kimia padat juga dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- 1) Ambil bahan kimia padat dari dalam botol dengan meng-

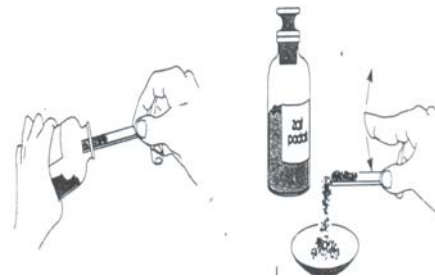
gunakan spatula atau sendok yang sesuai.



Gambar 9.39. Teknik menuangkan bahan kimia padat dengan menggunakan tutup botol

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

- 2) Ketuk secara perlahan spatula atau sendok dengan menggunakan telunjuk atau batang pengaduk agar bahan kimia padat jatuh ke wadah yang diinginkan (Gambar 9.40).



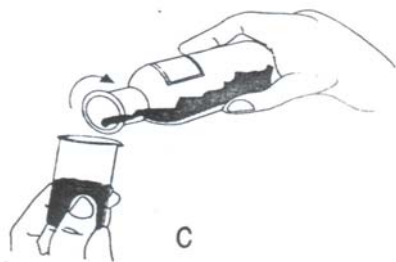
Gambar 9.40. Teknik penuangan bahan kimia padat menggunakan spatula atau sendok

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

Cara lain untuk menuangkan bahan kimia padat dari dalam

botol dapat dilakukan secara langsung, yaitu :

- 1) Buka tutup wadah bahan kimia padat yang akan dipindahkan
- 2) Miringkan botol secara perlahan dan guncang atau ketuk sehingga bahan kimia padat yang ada di dalamnya jatuh ke arah wadah yang diinginkan (Gambar 9.41).
- 3) Setelah diperoleh jumlah yang diinginkan, tutup kembali wadah bahan kimia padat tersebut



Gambar 9.41. Teknik penuangan bahan kimia padat langsung dari botolnya

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

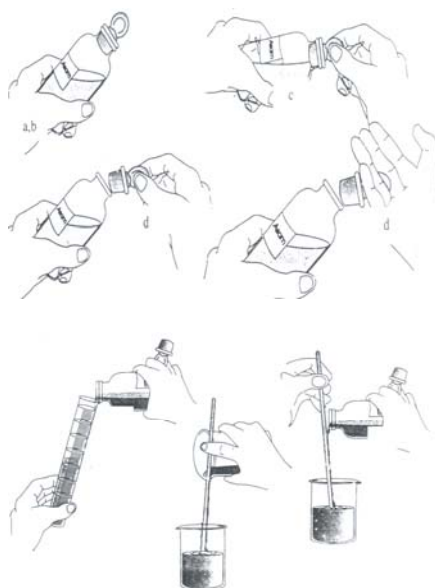
9.2.4.2 Menuangkan bahan cair

Pada prinsipnya cara menuangkan bahan kimia cair tidak berbeda dengan bahan kimia padat, yaitu :

- 1) Bacalah secara teliti label yang terdapat pada botol untuk meyakinkan bahwa bahan kimia yang akan diambil benar.
- 2) Untuk mencegah kotornya label, botol dipegang secara benar dan bagian labelnya

menempel pada permukaan tangan.

- 3) Miringkan botol sedemikian rupa agar tutupnya menjadi basah oleh bahan kimia. Cara ini dilakukan untuk memudahkan melepaskan tutup botol
- 4) Jika akan menuangkan bahan kimia cair yang ada di dalam botol, buka dan jepitlah tutup botol diantara jari.
- 5) Tuangkan bahan cair dengan bantuan batang pengaduk (Gambar 9.42.).



Gambar 9.42. Teknik penuangan bahan kimia cair dari dalam botol

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

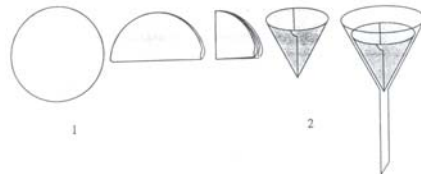
9.2.5 Menyaring

Kegunaan lainnya dari peralatan dasar adalah untuk menyaring. Tujuan menyaring adalah memisahkan materi dari

Pengawasan Mutu Bahan / Produk Pangan

mediannya. Kegiatan menyaring dapat dilakukan dengan cara :

- 1) Gunakan kertas saring yang sesuai. Bentuk kertas saring tersebut sedemikian rupa sehingga sesuai dengan ukuran corong (Gambar 9.43).



Gambar 9.43. Urutan penyiapan kertas saring

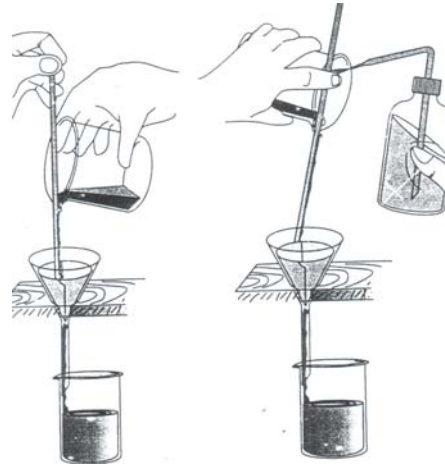
Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

- 2) Tempatkan kertas saring pada corong dan tuangkan beberapa tetes akuades ke permukaannya agar kertas saring dapat menempel pada corong
- 3) Pasang corong pada statif sedemikian rupa sehingga ujungnya masuk ke dalam wadah penampungan filtrat.
- 4) Tuangkan larutan yang akan disaring secara perlahan. Perhatikan agar permukaan bahan kimia tidak melebihi batas kertas saring (Gambar 9.44).

9.2.6 Memanaskan

Diperlukan keterampilan khusus dalam menggunakan peralatan dasar untuk memanaskan atau menguapkan bahan kimia, karena harus memiliki pengetahuan mengenai bahan kimia. Pemanasan bahan kimia dapat

dilakukan dengan menggunakan beberapa peralatan, yaitu :



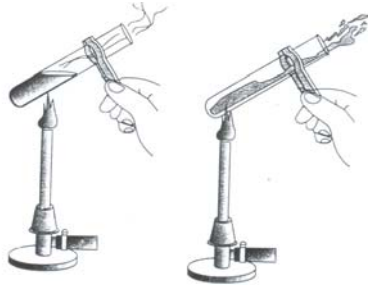
Gambar 9.44. Proses penyaringan

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

9.2.6.1 Tabung Reaksi

Pemanasan bahan kimia dalam tabung reaksi dapat dilakukan sebagai berikut :

- 1) Nyalakan sumber panas dengan baik (kecil dan biru)
- 2) Jepit tabung reaksi dengan menggunakan penjepit
- 3) Panaskan tabung reaksi di atas nyala api. Proses pemanasan dimulai dari permukaan cairan ke arah dasar, sehingga pemanasan tidak hanya berlangsung pada satu bagian saja (Gambar 9.45.). Selama pemanasan, jangan mengarahkan tabung ke wajah untuk mencegah hal yang tidak diinginkan.



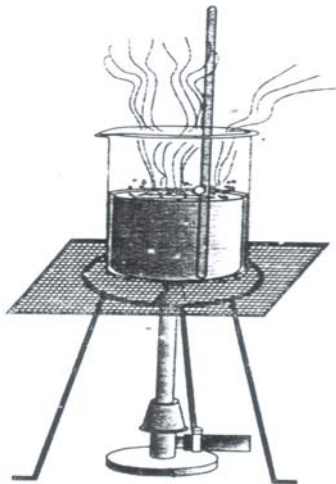
Gambar 9.45. proses pemanasan bahan dalam tabung reaksi

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

9.2.6.2 Gelas Kimia

Pemanasan bahan kimia menggunakan gelas kimia dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- 1) Gunakan kawat kasa beresbes sebagai alas
- 2) Masukkan batang pengaduk atau batu didih agar panas dapat merata ke seluruh bahan



Gambar 9.46. proses pemanasan bahan dalam gelas kimia

Sumber : Wirjosoemarto dkk, 2000

- 3) Nyala api harus diarahkan tepat ke arah batang pengaduk atau batu didih (Gambar 9.46.)

9.3 Pencucian peralatan

Untuk menjaga kebersihan, pada setiap akhir hari kerja semua peralatan laboratorium yang telah digunakan harus segera dicuci dan disimpan pada tempatnya. Dengan demikian, semua peralatan dalam keadaan bersih dan siap digunakan pada kegiatan laboratorium berikutnya.

Perlakuan yang diberikan pada peralatan tersebut berbeda tergantung dari jenis bahan dan fungsinya. Peralatan dari bahan gelas membutuhkan perawatan yang berbeda dengan peralatan dari logam; demikian pula dengan peralatan yang peka atau teliti harus ditangani secara lebih hati-hati dibandingkan peralatan yang kurang peka atau teliti.

Tabung reaksi yang telah digunakan harus dikosongkan, dibilas dengan air, dicuci dengan air panas yang mengandung deterjen alkalin dan dilanjutkan dengan pembilasan menggunakan air panas. Terakhir tabung reaksi dibilas dengan air destilasi dan dikeringkan.

Pipet dibilas dengan air dingin segera setelah digunakan, cuci dengan air destilasi seperti pada pencucian tabung reaksi dan keringkan.

Peralatan gelas yang digunakan untuk wadah sampel mikroba, kultur harian, peralatan agitasi, pengambilan sampel dan peralatan lain yang kontak dengan susu tidak hanya selalu harus bersih tetapi juga perlu disterilisasi sebelum digunakan. Sterilisasi dimaksud adalah metode sterilisasi sederhana, yaitu : a) rendam dalam air mendidih selama 5 menit; b) panaskan dalam oven 160°C selama 2 jam; c) masukan dalam autoklaf 120°C selama 20 menit; atau d) rendam dalam etanol 70% dan bakar sebelum digunakan.

Dengan pencucian dan penanganan yang baik dapat diharapkan dapat memperpanjang usia pakai dari peralatan tersebut.

Beberapa ketentuan yang harus dipatuhi dalam pencucian peralatan adalah sebagai berikut :

- 1) Peralatan gelas dicuci pertama kali dengan menggunakan air dingin.
- 2) Peralatan pipet yang telah digunakan sebaiknya diletakkan secara vertikal dalam wadah berisi hipoklorit 200 ppm. Tindakan ini akan mempermudah pembersihan dan meminimalkan resiko kontaminasi.
- 3) Selanjutnya cuci dengan menggunakan sabun deterjen 1% dalam air hangat. Untuk membersihkan noda di tempat yang sulit dijangkau, sebaiknya menggunakan sikat yang sesuai.

Peralatan yang terbuat dari plastik, sebaiknya dicuci dengan menggunakan spon agar plastik tidak tergores. Untuk mengetahui apakah peralatan telah dicuci dengan bersih. Apabila air membasahi seluruh permukaan alat dan membentuk lapisan tipis berarti peralatan sudah bersih; namun bila membentuk butiran air di permukaan alat berarti masih perlu dibersihkan lagi. Noda minyak atau kerak yang tertinggal pada peralatan gelas dan tidak dapat dibersihkan dengan menggunakan deterjen, sebaiknya dibersihkan dengan cara merendamnya selama semalam dalam campuran larutan pembersih asam sulfat pekat 1 bagian dan kalium dikromat (3% aq.) 9 bagian.

- 4) Selanjutnya cucilah hingga bersih dengan aliran air destilasi yang telah dipanaskan.
- 5) Peralatan gelas yang telah dicuci harus dikeringkan pada rak pengering sebelum disimpan.
- 6) Peralatan berbahan logam dapat dicuci dengan sabun deterjen dan kemudian dikeringkan dahulu sebelum disimpan.

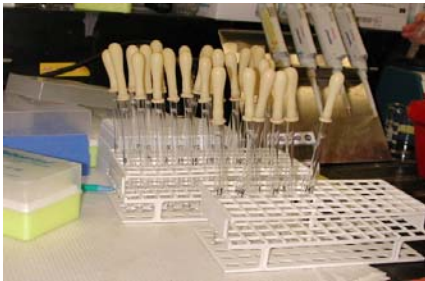
Beberapa ketentuan yang perlu diperhatikan dalam penyimpanan peralatan adalah : a) Peralatan yang sejenis disimpan pada tempat yang sama dan diusahakan tetap kering. Penyimpanan peralatan gelas harus terpisah

dari peralatan logam (Gambar 9.47); b) peralatan gelas dapat disimpan pada rak khusus atau dalam kotak, misalnya penyimpanan pipet (Gambar 9.48), tabung reaksi (Gambar 9.49), *curvette* (Gambar 9.50), atau pipet hisap (Gambar 9.51); c) termometer yang akan disimpan harus dikeringkan dahulu dan disimpan beberapa saat di ruang terbuka pada suhu kamar, dan selanjutnya disimpan pada tempatnya.



Gambar 9.47 Rak penyimpanan ose

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



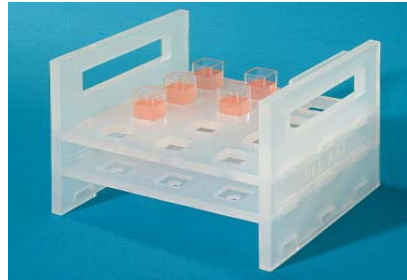
Gambar 9.48. Rak penyimpanan pipet

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.49. Rak penyimpanan tabung reaksi

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.50. Rak penyimpanan curvette

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.51. Rak penyimpanan kontainer pipet hisap

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

9.4. Sterilisasi peralatan gelas

Meskipun dapat disimpan lebih lama, mengapa bahan pangan bisa mengalami kebusukan? Salah satu penyebab kebusukan bahan pangan adalah peralatan yang digunakan tidak steril.

Sterilisasi adalah proses membuat media atau material terbebas dari semua bentuk kehidupan. Produk pangan sudah melalui serangkaian sterilisasi

aktivitas mikroba pembusuk. Sterilisasi bahan atau produk pangan dapat dilakukan dengan mencuci, memanaskan, memasak, atau menggunakan autoklaf untuk mengkombinasikan suhu dengan tekanan. Bahan pangan dan peralatan serta media yang digunakan dalam analisis mutu bahan pangan harus disterilisasi menggunakan salah satu dari metode sterilisasi (Tabel 9.1).

untuk menghambat atau menghentikan reaksi biokimia dan

Tabel 9.1. Metode Sterilisasi

Metode	Perlakuan	Mekanisme	Material yang disterilisasi
Autoclaving	Uap panas 121°C, tekanan 15-17 Psi selama 15 menit sampai beberapa jam	Koagulasi protein	Peralatan yang tahan panas, seperti gelas, besi dan beberapa plastik
Oven	Udara panas 160°C selama 10 jam atau lebih	Koagulasi protein	Peralatan gelas dan besi, tetapi tidak disarankan untuk plastik dan cairan
Penyaringan	Melewatkan bahan melalui filter yang memiliki lubang berukuran 0.22-0.45 µm (virus tidak dapat dihambat dengan metode ini)	Mikroba ditangkap oleh filter	Senyawa yang tidak tahan panas seperti asam amino, vitamin, anitbiotik, gula dan lain-lain
Radiasi	Penyinaran dengan ultraviolet atau radiasi energi tinggi lainnya	Merusak asam nukleat	Plastik. Hanya efektif untuk permukaan saja
Gas	Penguapan dengan gas yang reaktif, misalnya etilen oksida	Menginaktifkan enzim	Padatan yang tidak tahan panas, misalnya plastik

Sterilisasi peralatan dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu secara fisik, kimiawi, dan mekanik.

9.4.1 Sterilisasi secara fisik

Sterilisasi secara fisik adalah proses sterilisasi dengan menggunakan saringan (filter), suhu tinggi (panas), radiasi cahaya, dan tekanan untuk membunuh mikroba merugikan.

Metode saringan dilakukan untuk membuang organisme dari larutan tidak tahan panas (*thermolabile*) dengan melewati larutan tersebut melalui filter yang dapat menahan bakteri (*bacterial-tight filter*).

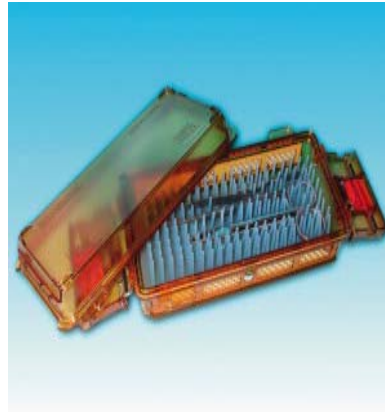
Sterilisasi fisik dapat dilakukan dengan menggunakan panas. Proses sterilisasi dengan menggunakan panas dapat dilakukan secara sterilisasi kering (menggunakan udara panas), sterilisasi lembab (menggunakan air panas), dan autoklaf.

Untuk memudahkan sterilisasi, telah diciptakan wadah peralatan yang didisain untuk proses sterilisasi. Beberapa wadah tersebut adalah untuk cawan petri (Gambar 9.52), pipet (Gambar 9.53), dan pipet hisap (Gambar 9.54 dan 9.55)



Gambar 9.52. Wadah sterilisasi cawan petri

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.53. Wadah sterilisasi pipet

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.54. Wadah untuk sterilisasi pipet hisap

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...



Gambar 9.55. Wadah untuk sterilisasi pipet hisap

Sumber : www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Proses sterilisasi dengan suhu tinggi dapat dilakukan dengan perebusan dalam air mendidih, penguapan uap air panas, aliran udara panas (oven), atau kombinasi suhu tinggi dengan tekanan tinggi. Penggunaan autoklaf memungkinkan untuk mengkombinasikan tekanan 15 Psi dan suhu 121°C sehingga proses sterilisasi berlangsung lebih cepat, yaitu 15 – 30 menit.

Umumnya bakteri mati pada proses sterilisasi dengan suhu 121°C selama 10 menit. Apabila suhu diturunkan hingga 170-180°C, proses sterilisasi berlangsung selama 2 jam. Sedangkan pada suhu 160°C proses sterilisasi berlangsung selama 3 jam.

Sterilisasi fisik banyak digunakan terhadap peralatan gelas atau keramik. Beberapa bahan atau produk pangan dan senyawa kimia yang tidak rusak oleh panas juga dapat disterilisasi dengan cara ini.

Bahan yang akan disterilisasi dengan menggunakan autoklaf antara lain media kultur, jarum, senyawa *thermostable*, kain, karet, atau bahan lain yang dapat rusak oleh panas.

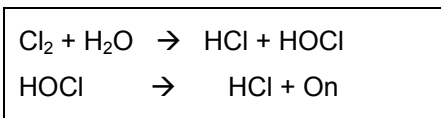
Radiasi sinar bergelombang pendek juga dapat digunakan untuk sterilisasi. Gelombang pendek dari sinar-X, gama, atau ultra violet memiliki daya tembus yang baik, sehingga akan membunuh mikroba. Iradiasi dengan sinar ultraviolet bukan

cara sterilisasi yang memuaskan karena daya tembusnya terbatas.

9.4.2 Sterilisasi secara kimiawi

Sterilisasi secara kimiawi adalah proses sterilisasi yang menggunakan senyawa kimia sebagai desinfektan. Senyawa asam dan basa kuat merupakan senyawa kimia yang banyak digunakan sebagai desinfektan dalam sterilisasi secara kimiawi karena memiliki kemampuan menghidrolisis isi sel mikroba.

Beberapa jenis senyawa kimia yang telah diketahui dapat membunuh bakteri adalah larutan CuSO_4 , AgNO_3 , HgCl_2 , ZnO dan banyak lainnya. Larutan garam NaCl (9%), KCl (11%), dan KNO_3 memiliki tekanan osmotik lebih tinggi sehingga dapat membunuh mikroba. Larutan garam juga dapat menyebabkan denaturasi protein. KMnO_4 (1%) and HCl (1.1%) merupakan desinfektan yang kuat karena dapat mengoksidasi substrat. CuSO_4 digunakan sebagai algisida. Senyawa khlor merupakan oksidator kuat yang dapat membunuh mikroba dengan mekanisme sebagai berikut :



Formalin (formaldehid) merupakan senyawa mudah menguap. Senyawa ini sangat efektif sebagai desinfektan dengan konsentrasi 4-20%. Larutan alkohol dapat digunakan sebagai desinfektan. Senyawa ini dapat menyebabkan koagulasi pada protein mikroba. Konsentrasi alkohol yang digunakan memiliki kisaran 50-75 %.

Etilen oksida digunakan dalam proses sterilisasi piring plastik dan pipet. Adapun senyawa Beta-propiolactone banyak digunakan untuk sterilisasi jaringan hidup.

9.4.3 Sterilisasi secara mekanik

Sterilisasi secara mekanik adalah sterilisasi yang dilakukan untuk membuang organisme dari larutan tidak tahan panas (*thermostable*) dengan melewati larutan tersebut melalui filter yang memiliki kemampuan dapat menahan bakteri (*bacterial-tight filter*). Sterilisasi secara mekanik sering juga disebut penyaringan karena proses sterilisasi bahan seperti ini dilakukan dengan menyaring. Penggunaan saringan disesuaikan dengan tujuan penyaringan dan material yang akan disaring.

Sterilisasi secara mekanik digunakan untuk menyaring bahan yang mengalami perubahan apabila terkena panas atau tekanan tinggi. Tujuan penyaringan adalah untuk memisah-

kan organisme dari senyawa yang tidak tahan panas dengan mengalirkannya melalui saringan yang mampu menahan bakteri.

Ada dua metode pengeluaran bakteri selama penyaringan, yaitu 1) melewati media ke saringan yang halus atau 2) adsorpsi mikroba ke filter dengan menciptakan perbedaan listrik.

Filter yang banyak digunakan dalam mikrobiologi adalah saringan membran, yaitu saringan yang terbuat dari selulose atau plastik. Saringan ini memiliki lubang cukup kecil (biasanya 0.45 μm) untuk menangkap dan dengan demikian dapat membuang bakteri dari cairan. Saringan lain yang digunakan adalah *Millipore-cellulose acetate disc.*, *Seitz-asbestos pad*, *Berkefeld-diatomaceous earth*, *Mandle filter*, *Selas candle type filter*, dan *sintered glass filter*.

9.5. Persiapan Bahan Kimia

Dalam kegiatan analisis mutu digunakan berbagai bahan kimia sebagai pereaksi, baik pereaksi khusus maupun umum. Pengetahuan tentang bahan kimia akan meningkatkan kemampuan analisis dalam menangani bahan kimia secara baik sehingga kecelakaan yang disebabkan karena ketidaktahuan dapat dihindari.

9.5.1 Sifat bahan kimia

Bahan kimia dapat dikelompokkan berdasarkan sifatnya, yaitu

bahan kimia yang mudah terbakar, pengoksidasi, mudah meledak, radioaktif, bahan/penyebab korosi, dan bahan beracun.

9.5.1.1 Bahan kimia yang mudah terbakar

Bahan kimia yang mudah terbakar dapat berwujud gas, cairan yang mudah menguap, atau bahan padat yang dalam bentuk debu mudah terbakar bila kontak dengan udara. Jenis bahan kimia yang mudah terbakar adalah : a) pelarut dan pereaksi organik, seperti asetaldehid, asam asetat, aseton, benzen, karbondisulfida, etil alkohol, eter, etil asetat, petroleum eter, isopropil, alkohol, toluen, dan xilen; b) bahan an organik fosfor, logam Al, Mg, Zn, K, dan Na; c) gas asetilen, metana, hidrogen, karbonmonoksida, dan butana.

Cara penanganan bahan kimia mudah terbakar adalah dengan mencegah terjadinya penguapan atau kontak dengan udara (oksigen) maupun sumber panas secara langsung. Beberapa hal umum yang harus diperhatikan dalam penanganan bahan kimia mudah terbakar adalah :

- 1) Gunakan penangas uap atau air untuk menghindari pemanasan bahan kimia secara langsung;
- 2) Pada saat memanaskan jangan mengisi wadah melebihi $\frac{1}{2}$ kapasitas wadah;
- 3) Sediakan bahan kimia dalam jumlah minimum dan simpan bahan ditempat

- yang berventilasi baik, jauh dari bahan kimia pengoksidasi atau korosi;
- 4) Pelarut yang sudah tidak terpakai lagi simpan kembali dalam wadahnya;
 - 5) Jangan membuang sisa bahan kimia tersebut ke dalam bak cuci.

9.5.1.2 Bahan pengoksidasi

Bila kontak dengan bahan yang mudah terbakar, bahan kimia ini mudah mengalami reaksi eksotermis. Beberapa bahan kimia yang termasuk bahan pengoksidasi adalah klorat, perklorat, borat, peroksida, asam nitrat, kalium nitrat, kalium permanganat, bromin, klorin, florin dan iodin.

Bahan pengoksidasi sebaiknya disimpan dalam wadahnya pada lemari yang tidak mudah terbakar. Hindari dari suhu tinggi dan bahan yang mudah terbakar seperti kayu, kertas, serbuk logam, belerang, dan bahan kimia lain yang mudah terbakar.

9.5.1.3 Bahan mudah meledak

Beberapa bahan kimia telah diketahui memiliki sifat mudah meledak, diantaranya asam perklorat (HClO_4) dan peroksida. Penyebab meledaknya bahan tersebut antara lain disebabkan oleh adanya pelarut mudah terbakar, udara, debu, gas dan peroksida.

Untuk mencegah terjadinya ledakan, penggunaan bahan kimia mudah meledak hendak-

nya dilakukan di tempat terbuka atau di lemari uap; gunakan dengan jumlah sedikit; gunakan penangas air untuk memanaskan; gunakan alat yang benar dan masih layak; dan gunakan pelindung.

9.5.1.4 Bahan radioaktif

Penggunaan bahan radioaktif harus hati-hati karena efek radiasinya dapat menyebabkan kerusakan sel secara permanen, kebakaran dan kematian. Ada empat jenis bahan radiasi, yaitu : a) partikel α (alfa) berupa atom helium bermuatan positif. Memiliki daya tembus rendah tetapi daya ionisasinya besar; b) partikel β (beta) merupakan partikel hasil pecahan isotop radioaktif berenergi tinggi. Partikel ini bermuatan negatif dan berenergi tinggi; daya tembus dan daya ionisasinya sedang; c) Sinar γ (gamma) berupa gelombang elektromagnetik yang dihasilkan dari perubahan inti atom radioaktif; dan d) sinar x yang dihasilkan dari tabung sinar-x.

Wadah yang digunakan untuk menyimpan bahan radioaktif sebaiknya diberi tanda dan disimpan dalam lemari atau kamar khusus yang terkunci dan dilengkapi dengan fasilitas pencegah radiasi. Gunakan selalu peralatan yang tepat dalam keadaan kering, jas lab untuk melindungi badan dan lap untuk membersihkan sisa bahan kimia. Semua bahan radioaktif harus dibuang setelah selesai analisis.

9.5.1.4 Bahan korosif atau penyebab korosi

Bahan kimia ini dapat menyebabkan korosi pada jaringan sehingga bisa mengakibatkan terjadinya cacat permanen. Beberapa contoh bahan korosif adalah asam nitrat, sulfat, klorida, natrium peroksida, asam asetat, anhidrida asetat, metanol, perklorat, ammonia, bromim, florin, hidrogen iodida, fenol, karbondioksida padat, asam format, hidrogen peroksida, fosfor, kalium, kalium hidrok-sida, perak nitrat dan natrium.

Untuk mencegah terjadinya ko-rosi sebaiknya selalu menggunakan pelindung, jas lab, dan kaca mata selama bekerja. Biasakan mencuci tangan dengan sabun setelah melakukan kegi-atan analisis.

9.5.1.5 Bahan beracun

Hampir semua bahan kimia merupakan bahan beracun. Bahan kimia dapat meracuni melalui mulut (pencernaan), absorpsi melalui kulit, dan pernafasan. Baberapa bahan kimia beracun adalah anilin, benzen, bromin, klorin, flour, formaldehid, asam format, asam klorida, antimon, arsen, barium, berilium, boron, hidrogen sianida, hidrogen pe-roksida, iodium, asam nitrat, nitrobenzen, sulfurdioksida, fe-nol, kromium, merkuri, perak, dan timah.

Untuk menghindari pengaruh dari bahan kimia yang bersifat beracun sebaiknya : a) tidak

makan, minum atau merokok disaat bekerja; b) hindari peng-gunaan pipet hisap; c) hindari kontak dengan mulut, kulit, dan saluran pernafasan; d) segera cuci tangan dengan sabun dan air bersih; e) bahan yang tidak digunakan harus selalu disimp-an dalam wadah tertutup yang diberi label dan f) selalu bekerja dalam ruang berventilasi.

9.6. Cara penyimpanan bahan kimia

Secara umum, penyimpanan bahan kimia di laboratorium dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu : a) secara alfabet (*alpha-betical method*), dimana botol disimpan berdasarkan urutan huruf secara alfabet; b) berda-sarkan golongan (*family metho-de*), dimana bahan kimia disimp-an berurutan sesuai klasifikasi sistem periodik; dan c) secara kelompok (*group methode*), di-mana bahan kimia diurutkan berdasarkan urutan dalam anali-sis kualitatif.

Untuk menjaga keteraturan, se-baiknya setelah digunakan botol disimpan kembali ke tempatnya secara benar. Botol berisi asam kuat disimpan di bagian bawah. Botol yang kecil disimpan di bagian atas rak dan yang besar di bagian bawah.

BAB X

PENGAMBILAN SAMPEL

Efektivitas sebuah laboratorium ditentukan oleh jumlah dan keadaan sampel yang diambil atau diterima untuk diuji. Hasil dari pengujian yang dilakukan oleh laboratorium menjadi tidak berarti apabila sampel yang diuji jumlahnya tidak memadai atau pengumpulan atau penanganannya tidak sesuai dengan prosedur pengambilan sampel baku.

Hasil pengujian laboratorium terhadap bahan pangan sangat tergantung pada perencanaan dan teknik pengambilan, penanganan (pengiriman, penyimpanan) serta persiapan sampel. Jika pengambilan sampel dilaksanakan dengan cara yang tidak benar, maka langkah selanjutnya berupa preparasi (persiapan) dan pengujian akan sia-sia, membuang waktu dan biaya.

10.1 Persiapan pengambilan sampel

Umumnya penilaian mutu suatu bahan pangan ditentukan dari hasil analisa yang diperoleh dari sejumlah kecil sampel yang ditarik dari lot. Dengan demikian, pengambilan sampel harus dilakukan melalui prosedur pengambilan sampel baku yang telah ditetapkan. Bahan diperiksa dan dipastikan cocok untuk diambil sampelnya, sampel dikumpulkan dan dipastikan bahwa jenis, loka-

si, sampling, dan waktu sampling sesuai dengan rencana pengambilan sampel (*sampling plan*). Persiapan yang dilakukan untuk pengambilan sampel dapat memperlancar pengambilan dan penanganan sampel.

Dalam persiapan pengambilan sampel harus dipastikan dahulu bahwa lot yang akan disampling bersifat homogen, artinya bahan pangan yang terdapat dalam lot tersebut harus berasal dari bahan baku, mesin atau operator yang sama. Bila tidak homogen maka akan sulit mengambil sampel yang dapat mewakili lot dan akan sulit pula untuk melakukan tindakan koreksi dalam upaya mengurangi sumber ketidaksesuaian.

Pengertian lot adalah jumlah atau satuan bahan pangan yang dihasilkan dan ditangani dengan kondisi yang sama. Dalam pengertian statistik, yang dimaksud dengan lot adalah identik dengan populasi. Lot dapat berupa sejumlah kontainer atau satu kapal dengan 100, 200 atau seribu kontainer; beras satu truk atau lebih; satu kali produksi makanan kaleng. Kecap yang dihasilkan hari ini termasuk dalam lot yang berbeda dengan kecap yang dihasilkan esok hari. Contoh lain adalah roti yang dihasilkan dari

adonan yang pertama berada dalam lot yang berbeda dengan roti hasil dari adonan kedua, meskipun kedua adonan tersebut sama.

Untuk memperoleh sampel yang benar, harus dipastikan dahulu besarnya lot yang akan disampling sehingga setiap bagian dari lot memiliki peluang yang sama untuk disampling. Sampel yang diambil sesuai prosedur baku akan mewakili kumpulan besar bahan pangan yang akan dianalisa. Sampel yang mewakili sangat penting, terutama bila akan mendeteksi adanya mikroba patogen atau penyebaran racun pada bahan pangan yang akan diekspor.

Dapat dibayangkan, berapa biaya yang harus dikeluarkan apabila ekspor bahan pangan yang mencapai beberapa kontainer harus dianalisa kandungan bakteri patogennya dari seluruh bahan pangan. Analisa yang dilakukan terhadap seluruh bahan pangan, selain mahal dan lama juga akan menyebabkan kontaminasi dan menghambat proses produksi. Kerugian yang sama juga akan dialami apabila sampel yang akan dianalisa merupakan sampel yang diambil tanpa melalui prosedur pengambilan sampel yang benar sehingga tidak mewakili bahan pangan yang akan diekspor.

Pengambilan sampel merupakan bagian dari tahapan analisa mutu untuk mengurangi biaya yang besar, namun masih dapat mewakili kelompok yang lebih besar, sehingga hasil analisa dapat menggambarkan kondisi dari kelompok tersebut.

Sampling adalah proses pengambilan atau pemilihan sampel dari suatu lot. Dari hasil pengambilan sampel yang dilakukan melalui prosedur penarikan sampel baku dapat diperoleh keterangan mengenai penaksiran keadaan mutu suatu lot, sehingga dapat diambil suatu keputusan untuk menerima, menolak, atau menanggulkan penerimaan bahan pangan tersebut.

Petugas yang mengambil sampel harus terampil, terlatih dan memahami prosedur pengambilan, penanganan, dan pengiriman sampel sesuai dengan pedoman BSN 503-2000.

Prosedur pengambilan sampel bahan pangan harus memperhatikan : a) peralatan yang digunakan harus steril, terutama yang akan digunakan untuk uji mikrobiologis; b) pengambilan sampel dilakukan secara steril sesuai dengan standar operasional prosedur (SOP); c) secara fisik, sampel dapat berbentuk segar, beku, atau hasil olahan.

Bobot sampel yang digunakan tergantung dari pengujian yang

akan dilakukan. Untuk pengujian mikrobiologis, pengambilan sampel dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu : a) cara *swab* (ulas); b) cara *excision* (tusuk), atau c) *rinse technique* (diiris).

Cara ulas digunakan untuk mengambil sampel pada permukaan bahan pangan segar. Kapas (*cotton bud*) steril diusapkan ke permukaan daging dengan luas 25-50 cm². Kapas hasil usapan dimasukkan ke dalam wadah yang berisi larutan pengencer. Sampel siap untuk diuji.

Pengambilan sampel dengan cara ditusuk dilakukan apabila bahan pangan dalam keadaan beku. Sampel diambil dengan menggunakan bor khusus (*cork borer*) yang ditusukkan ke bahan pangan sedalam 2 mm dari permukaan. Dengan menghitung luas permukaan yang diambil dan volume larutan pengencer, maka dapat ditentukan jumlah populasi mikroba per ml.

Pengambilan sampel dengan cara diiris dilakukan apabila bahan pangan yang akan diuji relatif kecil (≤ 2 kg). Sampel ditimbang secara aseptis lalu dimasukkan ke dalam plastik steril dan ditambahkan pengencer steril sebanyak 9 kali bobot sampel.

Pengambilan sampel sesuai prosedur harus dilakukan karena : a) bila sampel tidak mewakili lot hasilnya tidak dapat digunakan

untuk menggambarkan seluruh lot; b) penolakan bahan pangan yang diakibatkan kesalahan pengambilan sampel akan berakibat merugikan perdagangan ekspor; c) hasil analisa dari sampel yang tidak mewakili lot akan berdampak pada kesehatan apabila yang diuji kandungan bakteri patogen, logam berat, dan residu pestisida; d) tidak ekonomis bila seluruh lot dianalisis.

Peralatan pengambilan sampel antara lain :

a. Sekop (Gambar 10.1)



Gambar 10.1. Hand scoop (atas), Plastic scoop (bawah)

Sumber :

www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

- b. Bingkai pengambil sampel
- c. Tabung pengambil sampel
- d. *Front-end loader*
- e. Botol sampel yang telah ditimbang
- f. Tabung celup
- g. Tombak pengambil sampel (*spear*) (Gambar 10.2)



Gambar 10.2 Tombak pengambil sampel (*spear*)

Sumber :

www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

- h. Pisau fleksibel
- i. Siring
- j. Klep akses
- k. Botol, wadah plastik dan wadah sekali pakai
- l. Pisau operasi (*scalpel*)
- m. Perangkat atau sangkar
- n. Wadah steril, pipet, loop (alat inkulasi) dan sendok *disposable*

10.2 Pengambilan sampel yang mewakili

Sampel adalah contoh dari suatu lot (populasi) yang dapat mewakili sifat dan karakter populasi tersebut. Kesimpulan yang mendekati kebenaran diawali dengan pengambilan sampel yang benar. Idealnya semua bahan dijadikan sampel yang harus diuji. Namun cara demikian tidak mungkin dilakukan karena membutuhkan banyak waktu, biaya, peralatan, tenaga dan tidak ada bahan atau produk pangan yang tersisa untuk dijual.

Pengambilan sampel yang mewakili adalah kemampuan untuk mendapatkan sejumlah sampel yang mewakili populasi (lot atau batch) dengan kondisi sampel tersebut dalam keadaan sesuai untuk pengujian atau pengolahan lebih lanjut.

Pengertian sampel yang mewakili adalah sampel yang diperoleh dengan menggunakan teknik sampling yang sesuai, termasuk sub sampling, untuk menghasilkan keberhasilan yang tepat terhadap sumber sampel atau populasi produk.

Berapa jumlah sampel yang harus diuji dan metode apa yang harus digunakan dalam pengambilan sampel merupakan keputusan yang harus dilakukan sebelum melakukan analisis.

Jumlah sampel yang harus diambil sangat dipengaruhi oleh jumlah mikroba dan tingkat penyebarannya. Makin banyak dan menyebarnya mikroba, maka sampel yang diambil lebih sedikit.

Selain jumlahnya, metode pengambilan sampel juga berpengaruh terhadap kesimpulan yang dihasilkan. Pengambilan sampel harus dilakukan secara aseptis agar tidak terjadi pencemaran. Peralatan yang digunakan harus steril. Bahan pangan yang berbentuk cair harus diambil dengan menggunakan pipet. Bahan berbentuk padat dapat diambil dengan menggunakan pisau, garpu, sendok atau penjepit yang sudah disterilisasi terlebih dahulu. Penimbangan sampel dilakukan dengan menggunakan wadah yang telah disterilisasi. Sampel yang telah diambil harus segera dianalisa untuk mengurangi kemungkinan perubahan jumlah mikroba selama waktu penundaan. Untuk bahan yang mudah rusak, seperti daging, ikan, dan susu, analisa sampel sebaiknya segera dilakukan. Apabila dalam waktu 2 – 3 jam setelah diambil tidak dapat segera dianalisa, maka sampel harus disimpan pada suhu 4 °C. Dalam kondisi penyimpanan demikian, sampel tidak boleh disimpan lebih dari 10-12 jam.

Sampel dapat dikatakan mewakili apabila kondisi sampel menyerupai kondisi lot yang merupakan

asal sampel. Tujuan utama pengambilan sampel yang mewakili adalah untuk menghindari bias.

Untuk dapat mengambil sampel yang mewakili dapat dilakukan dengan cara melakukan penarikan sampel secara acak. Untuk kegiatan tersebut dapat menggunakan tabel bilangan acak. Cara lainnya adalah dengan melakukan pendekatan berdasarkan stratifikasi. Dengan cara ini, pengambilan sampel secara acak dilakukan dari setiap strata, misalkan dari bagian atas, tengah dan dasar kontainer.

Penarikan sampel secara acak dilakukan untuk memberikan kesempatan yang sama bagi setiap sampel untuk terambil. Pengambilan sampel secara acak dapat dilakukan dengan memberi nomor pada bahan yang akan diuji mencatatnya pada kertas kecil. Setelah kertas diacak, diambil beberapa lembar untuk dijadikan sampel. Jumlah kertas yang diambil disesuaikan dengan jumlah sampel yang akan dianalisis. Cara ini kurang efektif untuk jumlah lot besar.

Cara lain untuk mengambil sampel yang mewakili adalah menggunakan tabel acak sebagai alat bantu. Caranya adalah menggunakan pensil untuk menunjuk satu tempat di tabel acak. Angka yang terdekat dengan ujung pensil dianggap sebagai digit pertama nomor sampel.

Misalnya dalam satu lot terdapat 400 kotak susu, berilah nomor urut. Apabila ujung pensil berada pada baris 40 kolom 10, maka dari tabel acak diperoleh angka 2. Angka dua tersebut dianggap sebagai digit awal dari sampel yang akan diambil. Ambil tiga angka (400 memiliki 3 digit) pada baris 40 kolom 10, 11, dan 12 sehingga didapat angka 245 sebagai sampel pertama. Selanjutnya lakukan pada baris ke 49 dan kolom 10, 11, dan 12 sehingga diperoleh 068, sehingga kotak susu nomor 068 merupakan sampel ke-2. Demikian terus dilakukan secara acak hingga diperoleh jumlah sampel yang dikehendaki.

Seandainya dari hasil pengacakan didapat nilai diatas 400, maka nomor tersebut tidak terpakai.

Dua kesalahan yang umum dialami dalam pengambilan sampel, yaitu : a) orang cenderung mengambil sampel yang paling mudah dijangkau; dan b) sampel sudah ditentukan lebih dahulu karena pelaku pengambil sampel sudah kenal baik dengan kondisi sampel.

10.2.1 Prinsip dasar sampling

Seorang pengontrol mutu (*quality control*) yang bertugas melakukan pembelian bahan baku bagi industri bahan pangan memiliki tanggungjawab besar terhadap kegiatan industrinya. Penolakan terhadap bahan baku yang

ditawarkan berarti industrinya tidak akan berjalan karena tidak memiliki bahan baku, akan tetapi penerimaan bahan baku dengan kualitas yang kurang baik akan berpengaruh terhadap mutu produk yang dihasilkan dan pada akhirnya akan berpengaruh terhadap daya saing produknya di pasaran.

Untuk menghindari kejadian tersebut, seorang pengontrol mutu harus memperhatikan prinsip pengambilan sampel. Prinsip yang mendasari pengambilan sampel adalah memperhatikan dan mengingat bahwa sumberdaya keuangan adalah tidak tak terbatas dan nilai produk harus merefleksikan biaya pemeriksaan dan biaya produksi.

Prinsip dasar pengambilan sampel lebih ditujukan untuk menentukan : a) penerimaan atau penolakan terhadap mutu suatu bahan baku yang didasari oleh seleksi ukuran, warna, kematangan dan lain-lain, kebebasan dari kontaminasi dan kerusakan biologis atau kimiawi. Bahan baku yang bermutu rendah berdasarkan seleksi, tingkat kontaminasi, dan kerusakan harus ditolak karena akan berpengaruh terhadap mutu produk yang dihasilkan ; b) menentukan pembayaran. Hasil sampling terhadap bahan baku menunjukkan bahwa bahan baku yang ditawarkan sudah tidak segar namun masih memenuhi standar mutu yang ditetapkan

oleh perusahaan. Dalam kondisi seperti ini pengambilan sampel bukan untuk penolakan, tetapi untuk menentukan nilai yang harus dibayarkan atas bahan baku yang ditawarkan; dan c) untuk menentukan mutu total dari produk akhir. Pengambilan sampel juga dilakukan pada akhir proses produksi. Pengambilan sampel pada tahap ini lebih ditujukan untuk menentukan mutu total dari produk yang dihasilkan. Apakah mutu sesuai dengan yang diharapkan atau menyimpang.

10.2.2 Jenis-jenis sampling

Banyak metode sampling yang dapat digunakan untuk menentukan mutu, beberapa diantaranya yang banyak digunakan adalah :

10.2.2.1 Pemeriksaan 100 persen (100% cross check)

Pelaksanaan sampling dengan menggunakan metode pemeriksaan 100 persen membutuhkan waktu, tenaga dan biaya besar, namun tidak selalu diimbangi dengan 100 persen keberhasilan.

10.2.2.2 Sampling berdasarkan teori statistik

Pelaksanaan sampling berdasarkan teori statistik membutuhkan biaya lebih rendah dibandingkan metode pemeriksaan 100 persen. Metode sampling ini menggunakan teori statistik dalam pelaksanaannya, sehingga dapat memperkecil terjadinya resiko.

Metode sampling berdasarkan teori statistik memposisikan produser sebagai penanggungjawab produk. Dengan demikian, produser harus mempertahankan mutu produk agar selalu baik. Bila tidak, akan timbul permasalahan dan kerugian yang diakibatkan penolakan produk oleh konsumen.

10.2.2.3 Sampling tidak berdasarkan teori statistik

Metode sampling yang tidak berdasarkan teori statistik umumnya tidak direkomendasi karena tidak memiliki dasar yang logis dalam pengambilan keputusan untuk menerima atau menolak suatu produk. Hal ini dikarenakan tidak terdeteksinya resiko dari sampling, menghasilkan fluktuasi mutu yang tinggi, dan keluar dari batas mutu yang dipersyaratkan.

10.2.3 Rancangan sampling

Rancangan sampling yang akan dibahas dalam sub bab ini adalah rancangan yang didasarkan pada teori statistik. Terdapat empat tipe sampling, yaitu :

10.2.3.1 Sampling tunggal

Sampling tunggal (*single sampling*) merupakan tipe sampling yang paling praktis sehingga banyak diterapkan dan dianggap paling cocok untuk tujuan ekspor. Pada sampling tunggal, keputusan ditentukan berdasarkan hasil sampling lot. Bila hasil pemerik-

saan sampel memenuhi syarat maka lot diterima, tetapi bila pemeriksaan sampel tidak memenuhi syarat maka lot ditolak.

Dalam pelaksanaannya, sampling tunggal terdiri dari tiga satuan angka, yaitu ukuran contoh (n), angka penerimaan (c), dan angka penolakan (r). Bila sampel yang diambil secara acak sudah memenuhi jumlah yang ditetapkan, selanjutnya dilakukan pemeriksaan. Bila sampel yang rusak atau tidak memenuhi syarat jumlahnya lebih kecil atau sama dengan angka penerimaan (c), maka seluruh lot dapat diterima dan sampel yang rusak atau tidak memenuhi syarat harus dibuang. Namun bila sampel yang rusak atau tidak memenuhi syarat jumlahnya lebih besar atau sama dengan angka penolakan (r), maka seluruh lot harus ditolak.

Dalam sampling tunggal, besarnya angka penolakan umumnya satu unit lebih besar dari angka penerimaan. Dengan demikian, keputusan untuk menerima atau menolak selalu dicapai dalam prosedur ini.

Contoh prosedur penggunaan metode sampling tunggal adalah :

- 1) Ikan nila akan disampling kesesuaiannya terhadap standar batas maksimum dan minimum bobotnya. Metode sampling yang akan digunakan adalah sampling tunggal dengan kriteria ukuran sam-

pel (n) sebesar 200; angka penerimaan (c) bila 10 sampel rusak; dan angka penolakan (r) bila 11 contoh rusak.

- 2) Ukuran contoh filet nila sebanyak 200 ekor diambil secara acak dari kolam peliharaan. Setelah diperiksa, ternyata dari sampel tersebut 7 ekor ikan nila mempunyai bobot lebih dari 500 g dan 3 ekor memiliki bobot kurang dari 500 g. Jadi ada 10 ekor ikan yang tidak sesuai standar dan harus dibuang. Namun karena 10 ekor lebih kecil atau sama dengan angka penerimaan, maka sisa ikan yang ada di kolam dapat diterima.

10.2.3.2 Sampling ganda

Sampling ganda (*double sampling*) adalah metode pengambilan sampel yang dilakukan dalam dua tahap, apabila pada tahap pertama belum dapat diputuskan apakah lot ditolak atau diterima. Sampling ganda dilakukan apabila angka penolakan lebih besar dari satu unit angka dibandingkan dengan angka penerimaan, sehingga menghasilkan selang atau rentang.

Sebagai contoh :

Perusahaan makanan kering memiliki kriteria untuk sampling ganda adalah sebagai berikut :

- 1) Ukuran sampel pada sampling pertama 120, angka penerimaan 2 contoh rusak dan angka penolakan bila 5 contoh rusak. Adapun kriteria

untuk sampling kedua adalah ukuran sampel 120, angka penerimaan 5 sampel rusak, dan akan penolakan 6 sampel rusak.

- 2) Bila pada sampling pertama diambil 120 sampel dan dari hasil pemeriksaan diketahui 0, 1, atau 2 sampel rusak, maka lot diterima tanpa melakukan sampling kedua. Bila 5 atau lebih sampel yang rusak maka lot ditolak tanpa pengambilan sampel kedua. Namun bila sampel yang rusak 3 atau 4, maka 120 sampel kedua harus diambil. Kaidah keputusan tergantung

dari jumlah sampel yang rusak dari dua kali sampling. Bila sampel yang rusak lebih kecil atau sama dengan 5 berarti lot diterima, tetapi bila 6 atau lebih berarti lot ditolak.

10.2.3.3 Multiple sampling

Prinsip metode multiple sampling sama dengan metode sampling ganda, hanya jumlah pengambilan sampel lebih dari dua kali. Penentuan penolakan atau penerimaan lot meningkat dengan bertambahnya jumlah pengambilan sampel (Tabel 10.1.) sebagai berikut :

Tabel 10.1. Data hasil pengambilan sampel

Pengambilan sampel	Ukuran contoh	Kumulatif	Angka	
			Penerimaan	penolakan
Pertama	50	50	#	3
Kedua	50	100	0	3
Ketiga	50	150	1	4
Keempat	50	200	2	5
Kelima	50	250	3	6
Keenam	50	300	4	6
Ketujuh	50	350	6	7

Sumber : Muhandri dan Kadarisman, 2006

Simbol # mengindikasikan bahwa penerimaan langsung tidak diijinkan. Dengan demikian pada pengambilan sampel pertama hanya ada dua kemungkinan, yaitu menolak lot atau melakukan pengambilan sampel kedua.

10.2.3.4 Sequential sampling

Sequential sampling adalah suatu metode pengambilan sampel yang dilakukan secara terus menerus dan tidak ada ukuran contoh yang tetap. Pengambilan

sampel dihentikan apabila telah ditemukan sampel yang rusak. Keputusan untuk menerima atau menolak diambil segera ketika bukti sampel yang rusak ditemukan.

10.3 Penyiapan sampel uji

Dalam menganalisa bahan pangan dibutuhkan kemampuan untuk mengambil sampel yang mewakili dan mengirim sampel sesuai prosedur yang didisain untuk menjamin bahwa hasil pengujian yang diperoleh selanjutnya mencerminkan produk yang ada pada saat diambil sampelnya.

Perlu diingat bahwa personil yang membawa sampel tidak bertanggungjawab terhadap pengambilan sampel (*sampling*), penyiapan sampel, pengiriman sampel, dan pengujian sampel.

Pengiriman sampel harus berdasarkan prosedur yang berlaku, yaitu :

- a. Waktu pengiriman sampel dilakukan sesegera mungkin
- b. Untuk sampel berupa daging segar, sebaiknya sudah sampai di tempat pengujian kurang dari 24 jam
- c. Sampel segar / dingin disimpan pada suhu 0 – 40 °C
- d. Sampel beku disimpan pada suhu -20°C
- e. Penambahan bahan pengawet hanya dilakukan untuk pengujian patologis.

Sub sampel disiapkan untuk menjamin bahwa sampel mewa-

kili populasi, membatasi bahaya/kontaminasi ke lemari, tempat kerja, dan lingkungan, persiapan pengangkutan sampel sesuai dengan perijinan pengangkutan

Tahap pertama dari proses penghitungan jumlah mikroba yang terkandung dalam bahan pangan adalah melakukan pemisahan mikroba dari sampel. Untuk maksud tersebut, mikroba harus disuspensikan dengan cara memasukkan sampel ke dalam larutan. Hampir semua larutan dapat digunakan untuk mensuspensikan mikroba, misalnya larutan 0,1 % pepton, garam fisiologis, atau buffer.

Bila bahan atau produk pangan berbentuk padat, mikroba dapat disuspensikan dengan cara melarutkan sampel ke media pelarut. Metode yang biasa digunakan untuk melarutkan mikroba dari bahan atau produk pangan berbentuk padat adalah dengan cara mengusap permukaan produk (*swabbing*), pencucian (*rinsing*), dan penghancuran (*blending*)

Untuk pemeliharaan integritas sampel, perlu diperhatikan hal berikut :

- a. Wadah yang digunakan untuk menyimpan sampel harus yang cocok. Wadah sampel dapat terbuat dari kaca atau gelas, plastik, atau ember.
- b. Alat digunakan untuk mengambil sampel harus sesuai dengan peruntukannya
- c. Bahan pengawet yang digunakan untuk mengawetkan sampel sesuai dengan perun-

- tukannya, antara lain sodium azida, toluen, antibiotik.
- d. Membungkus wadah dalam aluminium foil
 - e. Pengontrol suhu, yang dilakukan dengan menggunakan isolasi terhadap sampel tanpa kontak langsung dengan bahan pendingin
 - f. Memindahkan sampel steril ke dalam wadah steril
 - g. Memantau kondisi penyimpanan

10.4 Penyimpanan arsip

Sub sampel disimpan sebagai arsip atau *back up* sampel. Pemberian label pada sub sampel dan dicatat untuk menjaga rantai ketelusurannya. Label yang diberikan harus memuat minimal :

- a. Deskripsi sampel
- b. Nama dan alamat pemilik sampel
- c. Informasi mengenai batch /lot/populasi dari sampel
- d. Suhu pada saat pengambilan sampel
- e. Keterangan lain
- f. Uji yang akan dilakukan terhadap sampel.

10.5 Membuang sampel yang tidak terpakai dan sisa sampel

Sampel yang tidak terpakai dan sisa dibuang sesuai prosedur. Jangan membuang sampel di tempat cuci karena dapat menyebabkan tersumbatnya saluran air. Untuk mencegah bau yang tidak diinginkan, sisa atau sampel yang tidak terpakai dikemas dahulu dengan plastik baru dibuang ke tempat sampah.

Peralatan yang sudah digunakan segera dicuci hingga bersih. Wadah yang digunakan untuk mengambil sampel juga dibersihkan. Setelah bersih, barulah tempat kerja dibersihkan.

10.6 Memelihara peralatan sampling

Peralatan sampling harus terpelihara sehingga siap digunakan untuk melakukan sampling. Peralatan harus selalu bersih dan bebas dari sisa-sisa bahan pangan yang dapat mempengaruhi pengambilan sampel berikutnya.

10.7 Sampling untuk analisis

Sertifikasi bahan pangan membutuhkan sampel yang diambil melalui perencanaan dan prosedur sampling. Sampel yang diambil di tempat pemanenan, selama pengolahan, atau dimanapun untuk menjamin keamanan dan kualitas bahan pangan. Pengujian yang baik membutuhkan sampel yang mewakili lot dan dijamin tidak berubah dari saat sampling hingga dianalisa.

10.7.1 Sampling untuk mengevaluasi kesegaran

Metode sampling untuk mengevaluasi kesegaran ikan di tempat pendaratan ikan atau selama penjualan yang telah direkomendasi oleh negara-negara Eropa disajikan pada Tabel 10.2 dan sampling yang dilakukan sebelum ikan diolah disajikan pada Tabel 10.3.

Tabel 10.2. Sampling di tempat pendaratan ikan

Jumlah yang didaratkan (ton)	Sampel minimal (kg)
<5	8
5 – 15	20
15 – 40	40
40 – 60	60
60 – 80	80
80 – 100	100
100 - >	>120*

Keterangan :

* tidak lebih dari 0.08% jumlah ikan yang didaratkan

Tabel 10.3. Sampling untuk kesegaran ikan di pabrik

Jumlah Ikan dalam lot	Jumlah sampel ikan	Level maksimum penerimaan (unit c)
2 – 15	2	0
16 – 25	3	0
26 – 90	5	0
91 – 150	8	1
151 – 500	13	1
501 – 1200	20	2
1201 – 10 000	32	3
10 001 – 35 000	50	5
35 001 – 500 000	80	7
500 001 -	125	10

Keterangan :

Untuk mengetahui bobot ikan dalam lot, ambil dan timbang 10 ekor ikan secara acak, timbang dan tentukan rata-rata bobotnya. Jumlah ikan dalam satu lot dapat diketahui dengan menimbang bobot lot dibagi dengan bobot rata-rata ikan

10.7.2 Sampling untuk pemeriksaan mikrobiologis

Pemeriksaan mikrobiologis pada ikan dan produk olahannya membutuhkan sampel (n)

sebanyak 5 unit untuk setiap lot. Bila dari hasil pengamatan ternyata $c = 1$ (lihat Tabel 10.3) berarti positif mengandung mikroba.

10.7.3 Sampling untuk analisis histamin

Negara-negara Eropa menggunakan sampling tiga kelas, sebagai berikut :

Jumlah sampel (n) sebanyak 9 unit dan nilai $c = 2$. Kadar histamin yang digunakan adalah $m = 10$ mg/100 g dan $M = 20$ mg/100 g.

BAB XI PENGUNAAN INSTRUMEN LABORATORIUM

11.1. Pengujian secara elektrokimia

Mencakup pengetahuan dan keterampilan untuk melakukan pengujian analisis secara elektrokimia yang diperlukan untuk menganalisis mutu bahan atau produk pangan. Analisis elektrokimia meliputi pengukuran pH, potensi, konduktivitas, kelarutan oksigen, dan salinitas air.

11.1.1 Penyiapan sampel

Sampel yang akan dianalisis harus disiapkan dahulu. Tahapan penyiapan sampel meliputi penggilingan, penghalusan, penyiapan pelarutan cakram pengabuan, pereflukan, pengekstrasian, penyaringan, penguapan, flokulasi, pengendapan, atau sentrifugasi/pemusingan

Sampel yang telah disiapkan selanjutnya dianalisis secara elektrokimia.

11.1.2 Pengujian

11.1.2.1 Derajat Keasaman

Derajat keasaman (pH) bahan pangan dapat ditentukan dengan cara :

- a. Ambil 25 g bahan pangan yang akan dianalisis.

- b. Tambahkan 50 ml akuades, kemudian hancurkan sampai homogen
- c. Suspensi yang dihasilkan segera dimasukkan kedalam gelas piala
- d. Lakukan standarisasi pH meter dengan menggunakan larutan buffer pH 7 dan pH 4.
- e. Ukur pH bahan pangan dengan menggunakan pH-meter

11.1.2.2 Kelarutan oksigen

Kelarutan oksigen dapat diukur dengan menggunakan DO-meter.

11.1.2.3 Salinitas air

Salinitas air diukur dengan menggunakan salinometer atau refraktometer.

1. Salinometer

- a. Masukkan air yang akan diukur salinitasnya ke dalam gelas ukur dengan volume 1000 ml
- b. Masukkan salinometer ke dalam gelas ukur tersebut
- c. Biarkan beberapa saat agar salinometer tidak bergerak lagi
- d. Salinitas air dapat dilihat dari angka yang terlihat di permukaan air

2. Refraktometer
 - a. Bersihkan lensa refraktometer
 - b. Basahi lensa refraktometer dengan air yang hendak ditentukan salinitasnya.
 - c. Tutup lensa refraktometer dan hadapkan ke arah sumber cahaya untuk menentukan salinitas air tersebut.

11.1.3 Pemrosesan data

Untuk mendapatkan hasil pengolahan data yang dapat dipertanggungjawabkan, beberapa tahapan berikut ini harus dilaksanakan secara cermat, yaitu :

- a. Data yang diperoleh dari hasil pengujian dicatat dalam buku data. Bila ada data hasil pengamatan yang meragukan harus diberi tanda khusus.
- b. Data yang diperoleh diperiksa dahulu. Pastikan data yang diperoleh sesuai dengan perkiraan.
- c. Hasil pengukuran yang telah dicatat segera dilaporkan kepada penanggungjawab
- d. Bila ada data / hasil interpretasi yang tidak sesuai dengan spesifikasi harus dilaporkan kepada penanggung jawab.
- e. Masalah yang menyebabkan diperolehnya data atau hasil yang tidak biasa, yang disebabkan oleh prosedur atau peralatan harus diidentifikasi

11.1.4 Penjagaan keamanan

- a. Penggunaan instrumen laboratorium dan cara kerja untuk memperoleh data sudah ditetapkan, diketahui, dan dilaksanakan untuk memastikan keamanan pribadi maupun personel laboratorium lainnya.
- b. Produksi limbah diperkecil / diminimalkan
- c. Pembuangan limbah laboratorium dilakukan sesuai prosedur agar tidak menimbulkan masalah
- d. Peralatan dan pereaksi yang telah digunakan segera dibersihkan, dirawat, dan disimpan kembali.

11.1.5 Penjagaan catatan laboratorium

- a. Data hasil pengujian dicatat dalam buku khusus data
- b. Kerahasiaan informasi perusahaan dan data laboratorium dijaga
- c. Keamanan dari informasi perusahaan dan data laboratorium dijamin dan dipastikan aman
- d. Catatan mengenai peralatan berdasarkan prosedur dijaga

11.2. Pengujian Secara Spektrofotometri

Salah satu teknik yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa kimia dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Alat yang digunakan untuk dikenal sebagai spektrofotometer.

Spektrofotometer adalah peralat-

an yang digunakan untuk melakukan analisis jenis suatu larutan secara kuantitatif. Dalam penggunaan spektrofotometer, harus ditentukan terlebih dahulu panjang gelombang cahaya yang akan digunakan.

Tujuan pemilihan panjang gelombang cahaya dimaksudkan agar komponen sampel yang akan dianalisa menyerap cahaya tersebut secara maksimal. Bila sampel yang dianalisa memiliki warna tertentu, maka warna komplementernya merupakan bagian panjang gelombang yang sesuai untuk analisis tersebut. Panjang gelombang yang menghasilkan absorbansi tertinggi merupakan panjang gelombang maksimumnya.

Sebagai dasar untuk memahami penggunaan spektrofotometer diperlukan pengetahuan mengenai sifat radiasi elektromagnetik, interaksinya dengan zat, serta prinsip kerja maupun cara kerja spektrofotometer.

Interaksi antara energi radiasi elektromagnetik dengan zat kimia telah dimanfaatkan sebagai prinsip kerja spektrofotometer. Berdasarkan interaksi tersebut, dikembangkan teknik analisis yang memanfaatkan sifat dari interaksi tersebut. Hasil interaksi dapat menimbulkan peristiwa pemantulan, pembiasan, difraksi, penyerapan (absorpsi), fluoresensi, fosforesensi, dan ionisasi.

Cara kerja spektrofotometer didasarkan pada peristiwa absorpsi karena proses absorpsi tersebut bersifat unik/spesifik untuk setiap zat kimia atau golongan zat kimia. Banyaknya absorpsi berbanding lurus dengan banyaknya zat kimia. Artinya, apabila seberkas cahaya dengan panjang gelombang tertentu dilewatkan pada suatu larutan, maka makin pekat larutan tadi akan semakin banyak cahaya yang diserap atau makin sedikit cahaya yang diteruskan.

Metode spektrofotometri merupakan metode standar dalam penentuan struktur senyawa organik dan senyawa metabolik sekunder. Metode ini memiliki hasil berbeda, tergantung dari peralatan yang digunakan, yaitu :

- a. Spektroskop UV, merupakan metode yang akan memberikan informasi adanya kromofor dari senyawa organik dan membedakan senyawa aromatik atau senyawa berikatan rangkap yang berkonjugasi dengan senyawa alifatik jenuh.
- b. Spektroskop IR, merupakan metode yang dapat digunakan untuk menentukan dan mengidentifikasi gugus fungsi dari senyawa organik. Gugus fungsi ini dapat ditentukan berdasarkan ikatan rangkap dari tiap atom.
- c. Spektroskop massa, untuk mengetahui berat molekul senyawa.

Prosedur dasar dalam analisis kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer adalah membandingkan absorpsi energi radiasi dari cahaya dengan panjang gelombang tertentu (monokromatik) oleh suatu larutan contoh terhadap suatu larutan standar.

11.2.1 Penetapan panjang gelombang

Untuk meningkatkan daya serap sinar oleh bahan pangan yang dianalisis maka panjang gelombang cahaya yang digunakan harus ditentukan terlebih dahulu. Pemilihan gelombang cahaya yang tepat akan meningkatkan kualitas hasil analisis, sepanjang tidak dipengaruhi oleh komponen pengganggu atau variasi yang mungkin terjadi selama proses analisis.

Apabila sampel bahan pangan memiliki warna tertentu, maka warna komplementernya merupakan bagian panjang gelombang yang sesuai untuk analisis spektrofotometer.

Panjang gelombang maksimum di dalam pengujian spektrofotometer dapat ditentukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbans dan panjang gelombang. Panjang gelombang yang dapat menghasilkan absorbans tertinggi merupakan panjang gelombang maksimumnya. Berdasarkan panjang gelombang maksimum dapat ditentukan ab-

sorptifitas molar (ϵ) dengan menggunakan hukum Lambert-Beer sebagai berikut :

$$A = \epsilon bc$$

Keberhasilan penggunaan spektrofotometer dipengaruhi oleh penerapan prosedur laboratorium dan teknik analisis secara konsisten. Beberapa hal berikut dapat mengurangi beberapa masalah dalam penggunaan spektrofotometer, yaitu :

- Hilangkan semua gelembung udara dari larutan yang akan dianalisis
- Volume larutan sampel pada ujung tabung cuvette hendaknya lebih dari $\frac{1}{2}$.
- Gunakan cuvette, untuk wadah larutan standar (blanko) maupun larutan contoh, yang memiliki kesamaan dalam bentuk, ukuran, dan bahan bakunya.
- Yakinkan bahwa tanda pada tanda pada tabung uji sesuai dengan tanda pada adapter
- Penggunaan alat dalam waktu relatif lama pada panjang gelombang tetap, memerlukan adanya pengecekan ulang terhadap transmittance hingga kembali pada kondisi 100 %T.
- Gunakan cuvette yang sudah dibersihkan dan jangan menyentuh tabung tersebut di bawah tanda garis putih.

11.2.2 Penyiapan sampel

Sampel yang akan dianalisis harus disiapkan terlebih dahulu. Tahapan yang harus dilakukan dalam penyiapan sampel meliputi tahap penggilingan, penghalusan, penyiapan pelarutan cakram pengabuan, pereflukan, pengeks-trasian, penyaringan, penguapan, flokulasi, pengendapan, atau sen-trifugasi/ pemusingan.

Sampel yang telah disiapkan se-lanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer.

11.2.3 Pengujian

11.2.3.1 Penyiapan standar

- Bahan yang dibutuhkan untuk pembuatan media standar di-identifikasi sesuai dengan metode standar dan persya-ratan keamanan
- Bahan-bahan kimia dibuat larutan standar berdasarkan prosedur pembuatan standar yang telah ditetapkan
- Sifat-sifat standar dicatat dan dibandingkan dengan spesi-fikasi. Bila terdapat perbedaan, catat dan laporkan.

11.2.3.2 Pembuatan kurva standar pengujian

Pembuatan kurva standar meru-pakan tahapan dalam pengguna-an spektrofotometer sebagai pe-ralatan uji. Adapun prosedur pembuatan kurva standar adalah sebagai berikut :

- Buat berbagai pengenceran dari larutan beta karoten yang sebelumnya telah diketahui konsentrasinya dengan tepat.

- Lakukan pengukuran absor-bans dari setiap larutan ter-sebut
- Buat kurva hubungan antara konsentrasi dan absorbans yang didapat
- Perhatikan apakah ada pe-nyimpangan absorbans pada konsentrasi beta keroten yang makin tinggi.
- Tentukan persamaan regresi dari bagian kurva yang linier. Persamaan linier ini dapat di-gunakan untuk analisa kuan-titatif beta karoten.

11.2.4 Pemrosesan data

- Data hasil pengujian dicatat. Bila ada data pengamatan yang meragukan harus diberi tanda khusus.
- Jumlah yang dihitung dipas-tikan konsisten dengan perki-raan
- Hasil pengukuran dicatat dan dilaporkan kepada penang-gungjawab
- Bila ada data / hasil inter-pretasi yang tidak sesuai de-ngan spesifikasi harus dila-porkan kepada penanggung jawab.
- Masalah yang menyebabkan data atau hasil yang tidak biasa, yang disebabkan oleh prosedur atau peralatan harus diidentifikasi

11.2.5 Penjagaan keamanan

- Cara kerja telah ditetapkan dan dilaksanakan untuk me-mastikan keamanan pribadi maupun personel laboratoriu-m lainnya.

- b. Produksi limbah diperkecil / diminimalkan
- c. Pembuangan limbah laboratorium dilakukan sesuai prosedur agar tidak menimbulkan masalah
- d. Peralatan dan pereaksi yang telah digunakan segera dibersihkan, dirawat, dan disimpan kembali.

11.2.6 Penjagaan catatan laboratorium

- a. Data hasil pengujian dicatat
- b. Kerahasiaan informasi perusahaan dan data laboratorium dijaga
- c. Keamanan dari informasi perusahaan dan data laboratorium dijamin dan dipastikan
- d. Catatan peralatan berdasarkan prosedur dijaga

11.3. Analisis Kromatografi

11.3.1 Kromatografi Kertas

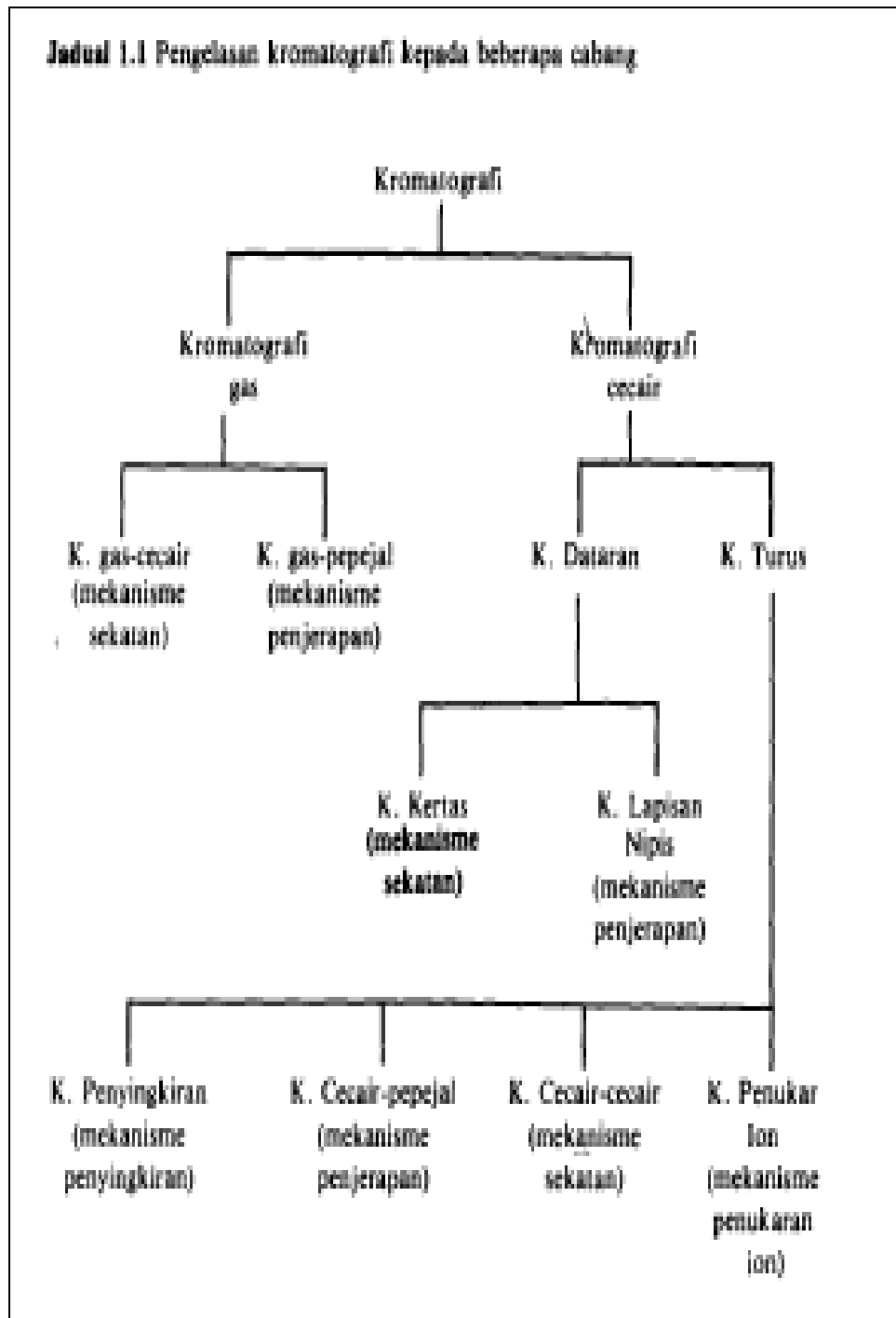
Kromatografi adalah metode pemisahan komponen kimia yang didasarkan pada perbedaan antara fase bergerak dan fase diam dari komponen-komponen yang terdapat dalam suatu larutan. Komponen yang dipisahkan tersebut dapat dikuantifikasi dengan menggunakan detektor dan/atau dikoleksi untuk analisa lebih lanjut. Instrumen untuk mengkuantifikasi adalah *Gas and liquid chromatography* dengan *mass*

spechtrometry (GC-MC dan LC-MC); *Fourier-transform infrared spectroscopy* (GC-FTIR) dan *diode-array UV-VIS absorption spectroscopy* (HPLC-UV-VIS).

Kromatografi gas (GC) digunakan untuk memisahkan senyawa organik menguap (*volatile*). Fase bergerak adalah gas dan fase diam biasanya cairan. High Performance Liquid Chromatografi (HPLC) adalah variasi dari kromatografi cairan yang menggunakan pompa bertekanan tinggi untuk meningkatkan efisiensi pemisahan senyawa kimia. Kromatografi cair (LC) digunakan untuk menganalisis pemisahan campuran, yang mengandung ion-ion logam dan senyawa organik. Fase bergerak adalah pelarut dan fase diam adalah cairan yang mendukung padatan, padatan, dan ion pengganti *resin*.

Ada tiga metode pada kromatografi kertas (Gambar 11.1), yaitu metode penurunan, metode penaikan, dan metode mendatar. Pada metode penurunan, tempat pelarut diletakkan di bagian atas bejana. Kertas yang telah ditetesi sampel dicelupkan. Pelarut akan mengalir oleh gaya kapiler dan gravitas.

Jadual 1.1 Pengelasan kromatografi kepada beberapa cabang



Gambar 11.1. Jenis kromatografi

Pada metode penaikan, tempat pelarut diletakan di bagian bawah dari bejana dan kertas dicelupkan di atasnya. Pelarut akan mengalir ke atas.

Pada metode mendatar, kertas dibentuk bulat dan di bagian tengahnya dibuat lubang sebagai tempat untuk meletakkan sumbu yang terbuat dari gulungan kertas. Melalui sumbu inilah pelarut akan naik dan membasahi kertas. Selanjutnya pelarut akan mengembang melingkar untuk membawa senyawa yang dipisahkan.

Prosedur Kerja

- a. Aktifkan kertas Whatman No. 1 pada suhu 100°C selama 30 menit.
- b. Siapkan larutan standar (gula) dan larutan yang akan dianalisis (larutan gula campuran).
- c. Buat garis sepanjang 10-15 cm pada kertas Whatman untuk spot dan untuk menentukan batas elusi.
- d. Buat spot pada titik-titik yang telah ditentukan dan diulangi tiga kali pada kertas Whatman tersebut
- e. Masukkan kertas Whatman tersebut ke dalam tabung bejana kromatografi yang berisi eluen (aseton : air = 9 : 1).
- f. Setelah terjadi elusi pada pada batas yang telah ditentukan, kertas diangkat.

- g. Kertas dipanaskan di oven pada suhu 100°C selama 10 menit
- h. Kertas disemprot dengan benzini 0.5%.
- i. Kertas di panaskan kembali di oven pada suhu 100°C selama 25 menit
- j. Amati bentuk spot yang terjadi dan tentukan harga R_f .

11.3.2 Kromatografi lapis tipis

Prosedur kerja

1. Pembuatan plat kaca

- a. Siapkan aplikator dan satu plat kaca yang akan digunakan
- b. Timbang Kiesel gel G tipe 60 sebanyak 25 g, larutkan dalam 50 ml akuades, dan campur hingga homogen
- c. Tuang di atas plat kaca yang telah disediakan dan ratakan dengan spreader hingga ketebalam 0.25 mm. Keringkan pada suhu kamar.
- d. Diaktivasi kembali pada suhu 100°C selama 30 menit.

2. Membuat spot

- a. Siapkan larutan gula dan larutan gula campuran yang akan dianalisis
- b. Membuat spot pada plat kaca dan plat aluminium foil yang sudah diaktivasi pada suhu 100°C selama 30 menit
- c. Keringkan pada suhu kamar
- d. Siapkan bejana kromatografi yang sudah diisi dengan zat elusi.

- e. Masukkan plat kaca dan plat aluminium yang telah di spot ke dalam bejana kromatografi. Tutup.
- f. Setelah terjadi elusi pada batas yang telah ditentukan, plat diangkat
- g. Plat dipanaskan di oven pada suhu 100°C selama 10menit
- h. Plat diwarnai dengan H₂SO₄ 10%
- i. Amati bentuk spot yang terbentuk dan tentukan harga R_f.

11.3.3 Penyiapan sampel

Sampel yang akan dianalisis harus disiapkan dahulu. Tahapan penyiapan sampel meliputi penggilingan, penghalusan, penyiapan pelarutan cakram pengabuan, pereflukan, pengekstrasian, penyaringan, penguapan, flokulasi, pengendapan, atau sentrifugasi/pemusingan

Sampel yang telah disiapkan selanjutnya dianalisis secara kromatografi.

11.3.4 Pemrosesan data

- a. Data hasil pengujian dicatat. Bila ada data pengamatan yang meragukan harus diberi tanda khusus.
- b. Jumlah yang dihitung dipastikan konsisten dengan perkiraan
- c. Hasil pengukuran dicatat dan dilaporkan kepada penanggungjawab
- d. Bila ada data / hasil interpretasi yang tidak sesuai dengan spesifikasi harus dilaporkan kepada penanggung jawab.

- e. Masalah yang menyebabkan data atau hasil yang tidak biasa, yang disebabkan oleh prosedur atau peralatan harus diidentifikasi

11.3.5 Penjagaan keamanan

- a. Cara kerja telah ditetapkan dan dilaksanakan untuk memastikan keamanan pribadi maupun personel laboratorium lainnya.
- b. Produksi limbah diperkecil / diminimalkan
- c. Pembuangan limbah laboratorium dilakukan sesuai prosedur agar tidak menimbulkan masalah
- d. Peralatan dan pereaksi yang telah digunakan segera dibersihkan, dirawat, dan disimpan kembali.

11.3.6 Penjagaan catatan laboratorium

- a. Data hasil pengujian dicatat
- b. Kerahasiaan informasi perusahaan dan data laboratorium dijaga
- c. Keamanan dari informasi perusahaan dan data laboratorium dijamin dan dipastikan
- d. Catatan peralatan berdasarkan prosedur dijaga

BAB XII

ANALISIS KIMIAWI

12.1 Melakukan Pengujian Fisiko-kimia dasar

Analisis kimiawi adalah penentuan kandungan senyawa kimia dalam bahan pangan yang didasarkan pada reaksi kimia. Senyawa kimia yang akan ditentukan konsentrasinya direaksi atau direduksi dengan menggunakan senyawa kimia spesifik, selanjutnya dilakukan penentuan konsentrasinya.

12.1.1 Penanganan sampel uji

Sampel diterima dari konsumen atau yang diperoleh dari proses pengambilan sampel harus segera ditangani untuk mencegah terjadinya perubahan. Setelah ditangani, sampel diberi label dan disimpan hingga waktu analisis.

Label yang diberikan memuat semua informasi yang dibutuhkan berkaitan dengan pengujian. Informasi harus tertulis jelas, akurat, dan dapat dibaca.

Sampel yang telah diberi label kemudian dicatat di dalam buku penerimaan sampel. Pencatatan ini dimaksudkan untuk memudahkan penelusuran, apabila diperlukan dikemudian hari. Setelah dicatat, lakukan pencatatan kebu-

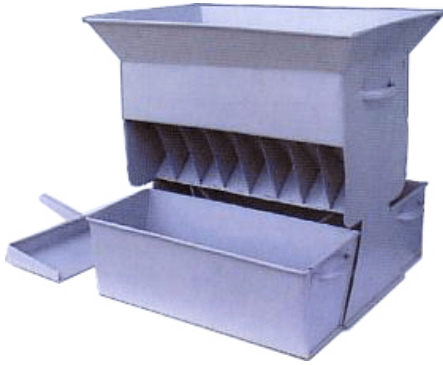
tuhan yang berkaitan dengan pengujian sampel.

Hal penting lainnya adalah menjaga integritas sampel dan mengurangi kemungkinan terjadinya kontaminasi silang.

12.1.2 Menyiapkan sampel

Ada beberapa tahap yang berkaitan dengan penyiapan sampel uji, yaitu identifikasi, pencatatan, dan penyiapan sampel. Dalam penyiapan sampel, penggunaan peralatan pelindung diri harus digunakan sesuai dengan metode standar dan persyaratan keselamatan. Pelindung yang harus digunakan tergantung dari sampel yang akan dianalisis. Beberapa pelindung diri adalah kaca mata, sepatu dan baju ("jaslab") khusus laboratorium.

Pengambilan sampel dapat dilakukan dengan cara coning (pembagian secara mekanis) atau menggunakan alat *riffle divider* (Gambar 12.1).



Gambar 12.1. Riffle Sample Divider
- (Rsd-01)

Sumber :
[www_shambhaviimpex_com-pcat-gifs-products-small-.htm](http://www.shambhaviimpex.com-pcat-gifs-products-small-.htm)

Dalam penyiapan sampel sering harus memberikan perlakuan khusus terhadap sampel, misalnya pengabuan, pelarutan, penyaringan dan sentrifugasi. Tujuan dari perlakuan tersebut adalah untuk memudahkan dalam proses pengujian.

Bahan yang akan diuji diidentifikasi sesuai dengan metode standar dan persyaratan keselamatan. Identifikasi ini bertujuan untuk memudahkan pelaksanaan analisis.

Informasi deskripsi bahan uji yang diperoleh selama identifikasi selanjutnya dicatat dan dibandingkan dengan spesifikasi. Bila terdapat ketidaksesuaian diantara keduanya, segera dicatat dan dilaporkan.

Setelah semuanya tercatat, sampel disiapkan mengikuti metode standar yang sesuai.

12.1.3 Pengujian sampel

Pengujian sampel merupakan langkah berikutnya yang harus dilakukan. Untuk menghasilkan data yang benar, perlu dilakukan penyiapan dan kalibrasi peralatan, prosedur pengujian, penyiapan sampel dan standar, dan pereaksi serta instrumen.

Peralatan perlu dipersiapkan dan diperiksa secara cermat. Bila diperlukan lakukan proses kalibrasi secara benar, berdasarkan metode standar yang sesuai. Penyiapan pemeriksaan peralatan dilakukan untuk menjamin bahwa hasil analisis benar-benar akurat.

Penyiapan sampel dan standar pengujian berdasarkan metode standar yang sesuai agar hasil pengujian yang diterima oleh pihak lain, terutama untuk kegiatan ekspor. Demikian pula dengan prosedur pengujian yang dilaksanakan berdasarkan metode standar. Pengujian sampel dilakukan berdasarkan SNI, AOAC atau dalam kasus tertentu disesuaikan dengan keinginan konsumen atau negara tertentu.

Pereaksi dan instrumen sesuai dengan peralatan dan metode pengujian yang akan digunakan.

12.2. Analisis gravimetri dan Titrimetri

Teknik analisis gravimetri merupakan salah satu bagian utama dari kimia analitik dan menjadi alternatif metode analisis yang mempunyai ketertelusuran tinggi, karena metode tersebut mempunyai ketertelusuran yang terdekat ke standar nasional maupun standar internasional. Untuk dapat melakukan analisis secara gravimetri yang baik dan benar diperlukan pengetahuan yang cukup, karena metode ini dapat menjadi metode acuan untuk metode pengukuran lainnya.

Analisis gravimetri dilakukan untuk mengukur kadar air, kadar abu, metode penguapan, metode pengendapan, kadar sulfat dll.

Analisis titrimetri dilakukan untuk menentukan semua jenis peniteran asam-basa, redoks, pengendapan, kompleksometri, titrasi bebas air.

12.2.1 Persiapan analisis

Menyiapkan peralatan, bahan dan contoh sesuai prosedur. Peralatan dan bahan/pereaksi yang akan digunakan diidentifikasi dan disiapkan sesuai prosedur. Metode standar dan peralatan pelindung diri yang sesuai dipilih dan disiapkan sesuai prosedur.

Sifat dan keadaan contoh dicatat dan dibandingkan dengan spesifikasi dan bila dijumpai ada

perbedaan segera dilaporkan kepada penanggungjawab

12.2.2 Pelaksanaan analisis

Sampel yang akan dianalisis disiapkan sesuai prosedur. Penimbangan sampel dilakukan dengan teliti. Penanganan sampel disesuaikan dengan jenis analisis yang akan dilakukan.

Untuk mencegah kejadian yang tidak diharapkan, peralatan pelindung diri digunakan. Peralatan pelindung berupa jas lab, sarung tangan, masker, atau kacamata.

Langkah kerja pengujian dilaksanakan mengikuti prosedur kerja yang benar. Data hasil analisis dicatat sesuai prosedur.

12.2.3 Pendataan

Penghitungan hasil analisis dengan menggunakan rumus dan satuan yang telah ditentukan

Hasil penghitungan dicatat pada buku data dan dilaporkan segera kepada penanggungjawab sesuai prosedur yang benar

Data diinterpretasikan. Apabila tidak sesuai dengan spesifikasi dilaporkan kepada yang berwenang sesuai tingkatan penanggungjawab

12.2.4 Pemeliharaan lingkungan

Peralatan yang telah digunakan dicuci dan disimpan kembali ke

tempatya sesuai dengan ketentuan yang berlaku di laboratorium

Bahan/pereaksi disimpan kembali ditempatnya sesuai dengan ketentuan yang berlaku di laboratorium

Limbah/ sisa pereaksi dan contoh dibuang menurut peraturan keselamatan dan lingkungan

12.2.5 Pencatatan

Hasil analisis yang telah disetujui dicatat/direkam ke dalam sistem pencatatan hasil penelitian di laboratorium. Kerahasiaan dan keamanan data/hasil analisis dijamin dan dipastikan terjaga

12.2.6 Menyiapkan larutan

Kemampuan menyiapkan larutan pereaksi diperlukan bagi industri pangan, mikrobiologi, kimia dan biokimia bagi bahan atau produk olahannya.

Larutan yang diperlukan dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan sesuai peruntukannya, yaitu : 1) larutan untuk diagnosis atau uji terbatas di laboratorium pangan, misalnya sulfat, klorida, logam berat; 2) larutan untuk diagnosis standar/ prosedur analisis dalam laboratorium biomedikal lingkungan misalnya pewarnaan/ pengecatan sel, fiksasi sel atau jaringan, suspensi sel; dan 3) larutan untuk desinfeksi dan perawatan laboratorium, misalnya alkohol 70%, hipoklorit.

12.3. Larutan dan Pereaksi

Pengetahuan mengenai larutan dan pereaksi penting dikuasai, karena banyak digunakan dalam analisis mutu.

12.3.1 Larutan

Larutan didefinisikan sebagai campuran homogen dari dua macam zat kimia atau lebih. Larutan dapat dikelompokkan menjadi larutan baku primer dan larutan baku sekunder. Larutan baku primer merupakan larutan yang dijadikan standar untuk menentukan konsentrasi larutan lain. Dengan demikian, larutan baku primer harus dibuat dengan ketelitian tinggi dan memenuhi persyaratan berikut : a) bahan yang digunakan untuk pembuatan larutan baku primer harus dalam keadaan murni; b) tidak mudah terurai; c) berat jenis molekulnya relatif tinggi; d) mudah larut dalam pelarut yang digunakan; e) mudah bereaksi.

Larutan baku sekunder adalah larutan yang konsentrasinya distandarisasi terhadap larutan baku primer. Larutan baku sekunder kurang stabil sehingga konsentrasinya mudah berubah.

Contoh dari larutan baku primer, yaitu : a) Asam oksalat ($H_2C_2O_4$) dan natrium tetraborat atau boraks ($Na_2B_4O_7$) untuk penetapan asidi-alkalimetri; b) Kalium iodat (KIO_3), kalium bromat ($KBrO_3$) dan kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) dalam penetapan secara oksidoredukto-metri; c)

kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) dan kalium iodat (KIO_3) untuk standarisasi natrium tiosulfat; d) natrium karbonat anhidrous (Na_2CO_3) untuk asam-asam kuat; e) larutan perak nitrat ($AgNO_3$) untuk reaksi pengendapan. Adapun contoh dari Larutan Baku Sekunder adalah NaOH dan HCl.

Penggunaan larutan dalam analisis mutu membutuhkan informasi mengenai konsentrasi, yaitu jumlah bahan kimia yang terdapat dalam larutan. Konsentrasi larutan dapat dinyatakan dengan persentase, molaritas, dan normalitas.

12.3.1.1 Persentase

Konsentrasi yang dinyatakan dalam persentase artinya jumlah satuan berat bahan kimia terlarut dalam suatu larutan. Pernyataan konsentrasi larutan dengan persentase dapat dilakukan berdasarkan persen massa atau volume.

Untuk menentukan konsentrasi bahan kimia terlarut dari suatu larutan yang dinyatakan dalam persen massa (Tabel 12.1.), dapat dilakukan dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ massa} = \frac{\text{gram zat terlarut}}{\text{gram larutan}} \times 100$$

Tabel 12.1. Konsentrasi larutan dalam persen massa

Konsentrasi larutan dengan % massa	Gram zat terlarut yang dibutuhkan untuk membuat larutan			
	100 ml	250 ml	500 ml	1000 ml
0.1	0.1	0.25	0.5	1.0
0.5	0.5	1.25	2.5	5.0
1.0	1.0	2.5	5.0	10.0
2.0	2.0	5.0	10.0	20.0
10.0	10.0	25	50.0	100.0

Sumber : Modifikasi dari Wirjosoemarto, dkk. 2000

Penentuan persentase larutan berdasarkan persen volume (pengenceran) dapat dilakukan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Persen volume} = \frac{\text{ml zat terlarut}}{\text{ml larutan}} \times 100 \%$$

Bila pembuatan larutan menggunakan larutan yang telah diketahui kepekatannya, maka dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut : untuk membuat larutan A 75% dari larutan A 95% yang

tersedia, maka ambillah 75 ml larutan A dan tambahkan (95-75) ml air suling (Tabel 12.2).

Tabel 12.2. Volume akuades yang ditambahkan

		% larutan awal								
		100	90	80	70	60	50	40	30	20
% larutan yang diinginkan	90	10								
	80	20	10							
	70	30	20	10						
	60	40	30	20	10					
	50	50	40	30	20	10				
	40	60	50	40	30	20	10			
	30	70	60	50	40	30	20	10		
	20	80	70	60	50	40	30	20	10	
	10	90	80	70	60	50	40	30	20	10

Sumber : Modifikasi dari Wirjosoemarto, dkk. 2000

12.3.1.2 Molaritas

Cara lain untuk menentukan konsentrasi larutan adalah dengan molaritas. Pengertian larutan 1 molar adalah larutan yang didalamnya mengandung 1 mol bahan kimia terlarut setiap 1 liter larutan. Adapun yang pengertian 1 mol bahan kimia adalah sama

dengan massa molekul relatifnya yang dinyatakan dalam gram.

Untuk membuat larutan magnesium sulfat (MgSO₄) dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut (Wirjosoemarto dkk., 2000) :

Unsur	Jumlah atom dalam rumus molekul	Massa atom relatif	Massa total semua unsur
Mg	1	24.3	24.3
S	1	32.1	32.1
O	4	16.0	64.0
Total			120.4

Massa molekul relatif = 120.4 artinya berat 1 mol $\text{MgSO}_4 = 120.4 \text{ g}$.

Jadi untuk membuat larutan 1 M MgSO_4 , maka sediakan 120.4 g MgSO_4 lalu tambahkan air hingga volumenya menjadi 1 liter.

Untuk membuat larutan 2 M MgSO_4 , maka sediakan $2(120.4 \text{ g } \text{MgSO}_4)$ lalu tambahkan air hingga volumenya menjadi 1 liter.

Sumber : Modifikasi dari Wirjosoemarto, dkk. 2000

12.3.1.3 Normalitas

Konsentrasi larutan juga dapat dinyatakan dengan normalitas. Pengertian larutan 1 normal adalah larutan yang mengandung 1 mol ekuivalen per liter larutan.

Satu mol ekuivalen adalah jumlah zat ekuivalen dengan satu massa atom hidrogen (1.008 g). Jadi untuk membuat larutan 1 N adalah sebagai berikut (Tabel 12.3.) :

Tabel 12.3. Bobot senyawa yang harus dilarutkan hingga volume larutan menjadi 1 liter

Senyawa	Rumus kimia	Massa mol relatif	Mol ekuivalen	Jumlah gram senyawa yang harus dilarutkan hingga volume larutan menjadi 1 liter
Asam sulfat	H_2SO_4	98	$98/2=49$	49
Asam klorida	HCl	36.5	$36.5/1=36.5$	36.5
Na hidroksida	NaOH	40	$40/1=40$	40
Ca hidroksida	$\text{Ca}(\text{OH})_2$	74	$74/2=37$	37
Al sulfat	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$	342	$342/(2 \times 3)=57$	57

Sumber : Modifikasi dari Wirjosoemarto, dkk. 2000

Bila hendak membuat larutan encer dari suatu larutan pekat yang hanya diketahui konsentrasinya, maka dapat digunakan persamaan berikut :

$$V_p = \frac{V_e \times K_e}{K_p}$$

Dimana :

V_p = volume larutan pekat

V_e = volume larutan encer

K_p = Konsentrasi larutan pekat

K_e = Konsentrasi larutan encer

Bila hendak mengencerkan suatu larutan pekat yang hanya diketahui berat jenisnya (b_j) dan persen kemurniannya (p), maka dapat digunakan persamaan berikut :

$$V_p = \frac{V_e \times K_e \times \text{Massa molar}}{b_j \times p \times 10}$$

12.3.1.4 Penggunaan bahan kimia, alat gelas, dan perlengkapan laboratorium

Dalam melaksanakan analisis kimiawi diperlukan bahan kimia, peralatan gelas, dan perlengkapan laboratorium. Bahan kimia yang akan digunakan disiapkan dan diperiksa. Pemeriksaan

meliputi jenis senyawa kimia, tanggal kadaluarsa, volume dan konsentrasi larutan.

Peralatan gelas yang akan digunakan disiapkan dengan jumlah sesuai kebutuhan. Yakinkan bahwa peralatan gelas dalam keadaan bersih, sehingga tidak akan mengganggu proses pengambilan data.

Perlengkapan laboratorium yang perlu disiapkan dan digunakan adalah perlengkapan yang memiliki hubungan erat dengan keselamatan kerja. Jas laboratorium, sarung tangan, kaca mata, masker dan banyak yang lainnya.

12.3.2 Pembuatan pereaksi

Pereaksi adalah larutan yang digunakan sebagai bahan untuk berlangsungnya suatu reaksi. Ada dua jenis pereaksi yang digunakan dalam analisis mutu, yaitu pereaksi umum dan khusus.

12.3.2.1 Pereaksi umum

Larutan pereaksi umum dapat digunakan sebagai media pereaksi hampir semua proses reaksi. Ciri khas dari larutan ini adalah tidak memerlukan ketelitian tinggi. Contoh pereaksi umum adalah larutan asam (asam sulfat, asam asetat, atau asam klorida) dan basa (natrium hidroksida atau Kalium hidroksida)

12.3.2.2 Pereaksi khusus

Pereaksi khusus adalah larutan yang digunakan untuk melakukan

pengujian mengenai keberadaan zat-zat tertentu. Sifatnya yang khusus menyebabkan pembuatan senyawa ini membutuhkan ketelitian tinggi. Beberapa contoh pereaksi khusus adalah :

a) Pereaksi Benedict

Pereaksi Benedict digunakan untuk mengetahui keberadaan gula reduksi, seperti glukosa, fruktosa, dan maltosa.

Pereaksi Benedict dibuat dengan cara mencampurkan 173 g Na sitrat dan 100 g Na karbonat dalam 50 ml air hangat. Aduk hingga larut dan saring. Ambil hasil saingan (filtrat) dan tambahkan air hingga volumenya mencapai 850 ml. Buat larutan lain yang mengandung 17.3 Kupri sulfat dalam 100 ml air dan genapkan volumenya hingga mencapai 150 ml. Tuangkan larutan pertama ke dalam gelas kimia 2000 ml dan tambahkan secara hati-hati larutan kupri sulfat sambil diaduk. Genapkan volumenya hingga mencapai 1 liter.

b) Larutan Iodium

Larutan iodium yang digunakan untuk mengetahui keberadaan amilum dalam sampel. Larutan iodium dapat dibuat dengan melarutkan 10 g KI dalam 1 liter air. Tambahkan 2.5 g Iodium (I_2) dan aduk hingga rata.

c) Pereaksi Molish

Pereaksi Molish digunakan untuk mengetahui kandungan karbohi-

drat. Pereaksi ini dapat dibuat dengan melarutkan 0.1 g alpha naftol dalam 100 ml etanol 95%. Pereaksi ini harus digunakan dalam keadaan segar.

d) Pereaksi Millon

Pereaksi millon dapat digunakan untuk mengetahui kandungan protein. Pereaksi ini dibuat dengan cara melarutkan 10 g merkuri (Hg) dalam 20 ml asam nitrat pekat. Bila sudah larut dan tidak timbul asap coklat lagi. Tambahkan 60 ml akuades. Tuangkan cairan bagian atas dan simpan dalam botol bertutup gelas.

e) Pereaksi Seliwanoff

Pereaksi seliwanoff digunakan untuk menguji keberadaan gula ketosa. Pereaksi ini dibuat dengan melarutkan 0.05 g Resorcinol dalam 100 ml HCl encer (perbandingan 1HCl : 3 akuades).

12.3.3 Pembuatan bahan pewarna

Bahan pewarna digunakan untuk mewarnai sampel atau menentukan akhir dari suatu reaksi kimia. Beberapa bahan pewarna yang umum digunakan adalah :

a) Asetokarmin

Bahan pewarna asetokarmin digunakan untuk mewarnai jaringan tumbuhan. Pewarna ini dibuat dengan melarutkan 0.5 g serbuk karmin (sebaiknya lebih) dalam 45 ml asam asetat glasial dan 55 ml air. Panaskan hingga mendidih selama 2-4 menit. Dinginkan dan kemudian saring. Tambah-

kan 1- 2 tetes ferri klorida yang dilarutkan dalam asam klorida 50% (5 g FeCl_3 dalam 50 ml asam asetat glasial, dan 50 ml air destilasi).

b) Aseto orsein

Bahan pewarna ini memiliki fungsi sama seperti asetokarmin, yaitu sebagai pewarna jaringan tumbuhan. Aseto orsein dibuat dengan melarutkan 1-2 g orsein dalam 45 ml asam asetat glasial panas (hampir mendidih). Dinginkan dan selanjutnya tambahkan 55 ml air. Aduk dengan baik dan saring.

c) Anilin biru

Anilin biru dapat digunakan untuk mewarnai miselium jamur. Larutan ini dibuat dengan melarutkan 2 g zat warna anilin dalam 100 ml air.

d) Carbol Fuchsin, Ziehl

Larutan carbol fuchsin dapat digunakan untuk mewarnai bakteri dan sel. Pembuatan carbol fuchsin dilakukan dengan melarutkan 0.3 g basic fuchsin dalam 10 ml etanol 95%. Tambahkan 100 ml larutan fenol 5% (dibuat dengan melarutkan 5 g fenol dalam 95 ml akuades).

e) Eosin

Pewarna eosin cukup baik digunakan untuk mewarnai protozoa. Pewarna ini dibuat dengan melarutkan 5 g eosin ke dalam 100 ml.

f) Iodine/Lugol

Pewarna iodine/lugol cukup efektif digunakan untuk mewarnai bakteri. Untuk membuat pewarna iodine atau lugol, larutkan 2 g kristal iodium dalam larutan kalium iodida (dibuat dengan melarutkan 3 g KI dalam 300 ml air).

g) Metil biru

Pewarna metil biru digunakan untuk mewarnai protozoa. Pewarna metil biru dibuat dengan melarutkan 0.5 g zat warna dalam 100 ml etanol 95%. Larutan ini dibiarkan selama 2-3 hari dan sekali-kali diaduk. Saring dan simpan hingga saatnya digunakan.

h) Metil merah atau jingga

Metil jingga adalah pewarna yang dapat digunakan untuk mewarnai protozoa. Pewarna ini dibuat dengan melarutkan 0.02% metil merah atau jingga dalam air.

i) Safranin

Keberadaan bakteri dapat diketahui dengan pewarnaan Gram menggunakan safranin. Pewarna ini dapat dibuat dengan melarutkan 0.25 g safranin O dalam 10 ml etanol 95%. Tuangkan larutan ini ke dalam 90 ml air.

12.3.4 Pemeriksaan larutan stok

Larutan stok diperlukan dalam analisis kimiawi. Larutan stok ada yang bisa disimpan lama, namun ada yang masa simpannya singkat. Beberapa larutan stok

harus tersedia dalam bentuk segar, sehingga baru dibuat sesaat sebelum digunakan. Dengan demikian, perlu dilakukan pemeriksaan secara rutin, sehingga larutan stok yang digunakan dalam analisis kimiawi belum kadaluarsa. Larutan stok yang ternyata sudah kadaluarsa sebaiknya segera di-buang dan diganti dengan larutan sejenis yang baru.

12.4 Standarisasi larutan

Tahap selanjutnya adalah melakukan standarisasi larutan. Tahap ini dilakukan untuk mendapatkan larutan yang memenuhi standar, sesuai analisis kimiawi yang akan dilaksanakan

Pemeriksaan kemampuan batas penggunaan larutan dapat meliputi : 1) pemeriksaan sifat fisik/penampakan larutan; 2) melakukan pengecekan pH; 3) menetapkan/ menstandarisasikan kembali larutan

Untuk melakukan standarisasi larutan diperlukan laboratorium yang memiliki kemampuan untuk melakukan standarisasi dan menggunakan larutan untuk memantau kualitas larutan yang dibuat. Larutan yang digunakan dalam analisis kimia dapat digolongkan sebagai berikut : 1) larutan asam/basa lemah/ kuat; yang berfungsi sebagai bahan pengoksidasi / pereduksi; 2) larutan yang digunakan untuk

titrasi kompleks-sometri dan titrasi pengendapan; 3) larutan standar primer dan sekunder yang digunakan dalam penentuan konsentrasi larutan.

12.5 Analisis proksimat

Analisis proksimat adalah analisis yang dilakukan untuk menentukan kadar air, abu, lemak, protein, karbohidrat dan serat.

12.5.1 Persiapan

Pada tahap persiapan dilakukan penyiapan bahan serta peralatan analisis. Peralatan analisis yang dipersiapkan terutama peralatan gelas, sedangkan bahan kimia adalah sejumlah pelarut dan pereaksi. Peralatan analisis dan bahan kimia disiapkan di laboratorium secara aman

12.5.2 Penyiapan sampel

Penyiapan sampel harus dilakukan berdasarkan prosedur yang berlaku. Tahap penyiapan sampel adalah identifikasi bahan uji, penggunaan peralatan pelindung, pencatatan sifat sampel, dan penyiapan sampel.

12.5.3 Pelaksanaan pengujian

Pelaksanaan pengujian dilakukan berdasarkan prosedur standar. Pelaksanaan pengujian tergantung dari bahan dan jenis uji yang akan dilakukan.

12.5.4 Penjagaan keamanan lingkungan kerja

Penjagaan keamanan lingkungan kerja dilakukan dengan memperkecil atau memusnahkan limbah dengan aman, mencuci dan menyimpan peralatan yang sudah digunakan, bahan kimia dan pereaksi disimpan di tempat semula.

12.5.5 Pengolahan data

Data hasil pengujian dicatat, jumlah data yang dihitung konsisten dengan perkiraan, hasil pengukuran yang sesuai dicatat dan dilaporkan, kecenderungan data diinterpretasikan, masalah data yang diakibatkan oleh prosedur atau peralatan diidentifikasi

12.5.5 Analisis berdasarkan metode standar

Bahan atau produk pangan yang dianalisis meliputi semua jenis bahan dan produk pangan. Metode standar yang digunakan dapat berupa SNI, ASTM Atau AOAC. Peralatan uji disesuaikan dengan metode standar yang digunakan.

12.6 Prosedur Analisis proksimat

12.6.1 Protein

Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode total nitrogen yang didasarkan pada reaksi penetralan asam basa (SNI 01-2354.4-2006). Kadar protein dihitung berdasarkan kesetimbangan reaksi kimia.

Prinsip penghitungan kadar protein pada metode total nitrogen adalah senyawa nitrogen akan dilepas dari jaringan daging melalui destruksi menggunakan asam sulfat pekat pada suhu 410°C selama 2 jam (sampai diperoleh larutan jernih) dimana senyawa nitrogen sudah terikat oleh sulfat membentuk amonium sulfat. Selanjutnya amonium sulfat diubah menjadi garam basa NH_4OH dengan penambahan senyawa NaOH . NH_4OH didestilasi dengan uap panas untuk memisahkan senyawa amoniak. Senyawa ini ditangkap oleh asam borat membentuk senyawa amonium borat dan selanjutnya dilakukan titrasi dengan asam klorida.

1. Pereaksi yang dibutuhkan
 - a) Tablet katalis yang mengandung 3.5 g K_2SO_4 dan 0.175 g HgO
 - b) Kertas timbang bebas N (Whatman 541)
 - c) Batu didih
 - d) Larutan asam borat 4%
 - e) Larutan 4 g H_3BO_3 dalam air tambahkan 0.7 ml larutan indikator methyl red 0.1% dalam etanol dan 1 ml larutan indikator bromocresol green 0.1% dalam etanol dan encerkan sampai 100 ml.
 - f) Asam sulfat pekat p.a.
 - g) Hidrogen peroksida 30-35% p.a

- h) Larutan NaOH-Na-thiosulfat. Larutkan 2000 g NaOH dan 125 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dalam air dan encerkan menjadi 5 liter
- i) Larutan standar HCl 0.2N
2. Preparasi sampel
- Lumatkan sampel dengan blender hingga partikelnya dapat melewati saringan 20 mesh.
 - Masukan sampel dalam kantong plastik atau gelas yang bersih dan bertutup
3. Prosedur pengujian
- Timbang 2 g homogenat sampel pada kertas timbang, lipat-lipat dan masukan ke dalam labu destruksi.
 - Tambahkan dua tablet katalis serta beberapa butir batu didih
 - Tambahkan 15 ml asam sulfat pekat (95%-97%) dan 3 ml hidrogen peroksida secara perlahan dan diamkan 10 menit dalam ruang asam
 - Destruksi pada suhu 410°C selama 2 jam atau sampai larutan jernih. Diamkan hingga mencapai suhu kamar dan tambahkan 50-75 ml aquades.
 - Siapkan Erlenmeyer berisi 25 ml larutan H_3BO_3 4% yang mengandung indikator sebagai penampung destilat
- Pasang labu yang berisi hasil destruksi pada rangkaian alat destilasi uap
 - Tambahkan 50-75 ml larutan natrium hidroksida dan natrium thiosulfat
 - Lakukan destilasi dan tampung destilat dalam Erlenmeyer tersebut hingga volume mencapai minimal 150 ml (hasil destilasi akan berubah menjadi kuning)
 - Titrasasi hasil destilat dengan HCl 0.2 N yang sudah dibakukan sampai warna berubah dari hijau menjadi abu-abu netral
 - Lakukan pengerjaan blanko seperti tahapan sampel
 - Lakukan pengujian contoh minimal duplo.
 - Kadar protein dapat dihitung dengan persamaan berikut :

$$KP = \frac{(V_a - V_b) \text{ HCl} \times N \text{ HCl} \times 14.007 \times 6.25}{W \times 100} \times 100\%$$

Keterangan:

KP = Kadar Protein

V_a = ml HCl untuk titrasi sampel

V_b = ml HCl untuk titrasi blanko

N = Normalitas HCl yang digunakan

6,25 = faktor konversi dari nitrogen ke protein

14.007 = bobot setara nitrogen

W = bobot contoh

Kadar protein dinyatakan dalam satuan g/100 g contoh (%)

12.6.2 Lemak

Analisis kadar lemak dapat dilakukan dengan menggunakan prosedur yang tercantum dalam SNI 01-2354.3-2006. Prinsip analisis diawali dengan melakukan pengekstrakan sampel dengan pelarut organik untuk mengeluarkan lemak dengan bantuan pemanasan pada suhu titik didih pelarut selama 8 jam. Pelarut organik yang mengikat lemak selanjutnya dipisahkan dengan proses penguapan (evaporasi), sehingga hasil lemak tertinggal dalam labu. Penetapan bobot lemak dihitung secara gravimetri.

1. Pereaksi

Pereaksi yang digunakan dalam analisis kandungan lemak adalah dietil eter atau chloroform.

2. Preparasi sampel

Lumatkan sampel hingga homogen dan masukan ke dalam wadah plastik atau gelas yang bersih dan tertutup. Jika sampel tidak langsung dianalisis, simpan dalam refrigerator atau freezer sampai saatnya akan dianalisis. Kondisikan sampel pada suhu ruang dan pastikan sampel masih homogen sebelum ditimbang. Bila terjadi pemisahan cairan dan sampel, maka dilakukan pengadukan ulangan dengan blender sebelum dilakukan pengamatan.

3. Prosedur

Prosedur analisis lemak adalah sebagai berikut :

- a) Timbang labu alas bulat dalam keadaan kosong (a g).
- b) Timbang secara seksama 2 g homogenat sampel (b g) masukan ke dalam selongsong lemak (*ekstraktion timbles*)
- c) Masukan berturut-turut 150 ml chloroform ke dalam labu alas bulat, selongsung lemak ke dalam ekstraktor soxhlet, dan pasang rangkaian sohlet dengan benar.
- d) Lakukan ekstraksi pada suhu 60°C selama 8 jam.
- e) Evaporasi campuran lemak dan chloroform dalam labu alas bulat sampai kering
- f) Masukan labu alas bulat yang berisi lemak ke dalam oven bersuhu 105°C selama ± 2 jam untuk menghilangkan sisa kloroform dan air.
- g) Dinginkan labu dan lemak dalam desikator selama 30 menit
- h) Timbang bobot labu alas bulat yang berisi lemak (c g) sampai berat konstan.
- i) Kerjakan pengujian minimal duplo (dua kali).
- j) Kadar lemak dalam bahan pangan dapat dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$KL = \frac{c - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

KL = Kadar Lemak

- a = bobot contoh
- b = bobot labu lemak dan labu didih
- c = bobot labu lemak, batu didih dan lemak

12.6.3 Karbohidrat

Banyak metode yang dapat digunakan untuk menentukan kandungan karbohidrat dalam bahan pangan, salah satunya adalah penentuan gula reduksi menggunakan cara Munson-Walker (AOAC, 1970). Metode ini digunakan untuk menentukan kandungan glukosa, fruktosa, gula invert, laktosa monohidrat dalam bahan yang tidak mengandung sakarosa, dan penentuan gula invert dan laktosa monohidrat dalam bahan yang mengandung sakarosa.

Penentuan konsentrasi gula reduksi didasarkan atas jumlah endapan Cu_2O yang terbentuk. Jumlah Cu_2O ditentukan dengan dua cara, yaitu : 1) dengan menimbang (secara gravimetri) langsung endapan yang terbentuk atau 2) titrasi endapan menggunakan Na-thiosulfat atau K-permanganat (secara volumetrik).

1. Penyiapan Larutan contoh dan pembentukan endapan Cu_2O

Tahapan yang harus dilakukan untuk menyiapkan larutan sampel adalah sebagai berikut :

- a. Timbang sampel berbentuk padatan yang telah

dihaluskan atau cair sebanyak 2.5-25 g. Bobot sampel tergantung dari kadar gula pada sampel, volume larutan atau pengenceran yang akan dikerjakan.

- b. Pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu takar yang volumenya ditentukan sedemikian rupa sehingga setiap 50 ml larutan sampel yang siap dianalisa membentuk 11.3 – 489.7 mg Cu_2O yang setara dengan 4.6 – 236.9 mg glukosa (lihat tabel Hammond).
- c. Tambahkan akuades sebanyak $\frac{1}{2}$ - $\frac{3}{4}$ volume labu takar yang digunakan, gojok, dan biarkan mengendap
- d. Tambahkan larutan Pb-asetat netral tetes demi tetes. Larutan sampel menjadi keruh dan terbentuk partikel-partikel berwarna putih yang mengendap. Tambahkan larutan Pb-asetat, gojok dan biarkan partikel yang terbentuk mengendap kembali. Apabila penambahan Pb-asetat berikutnya tidak menimbulkan kekeruhan, berarti penambahan Pb-asetat sudah cukup.
- e. Tambahkan air akuades sampai tanda dan saring.
- f. Untuk menghilangkan kelebihan Pb yang diguna-

kan, tambahkan sedikit demi sedikit kristal K- atau Na- oksalat seperti pada penambahan Pb-asetat sampai diperoleh filtrat bebas Pb. Filtrat bebas Pb ditandai dengan tetap jernih (tidak membentuk endapan putih) meskipun ditambah K- atau Na-oksalat.

Setelah larutan contoh selesai dibuat, langkah selanjutnya adalah pembuatan endapan Cu_2O . Adapun tahapan pembuatan Cu_2O adalah sebagai berikut :

- a) Kedalam gelas piala 400 ml, tuangkan 25 ml larutan CuSO_4 dan 25 ml larutan tartrat alkalis, ke-mudian tambahkan 50 ml filtrat bebas Pb. Tutuplah gelas piala dengan gelas arloji.
- b) Simpan gelas piala pada kasa asbes dan panaskan diatas nyala api Bunsen atau alat pemanas listrik. Aturilah pemanasan sedemikian sehingga larutan harus sudah mendidih dalam waktu 4 menit, pertahankan kondisi tersebut selama 2 menit.
- c) Selama pemanasan akan terbentuk endapan Cu_2O . Masih dalam keadaan panas, saringlah larutan dengan menggunakan krus Gooch yang telah diberi lapisan asbes sebagai bahan penyaring.

- d) Buat pula penentuan blanko dengan cara yang sama menggunakan 25 ml larutan CuSO_4 , 25 ml larutan tartrat alkalis, dan 50 ml akuades.
- e) Cucilan endapan Cu_2O dalam krus Gooch dengan akuades yang suhunya 60°C sampai bersih

Tentukan banyaknya Cu_2O yang terbentuk secara gravimetri atau volumetri.

2. Penentuan Cu_2O secara gravimetri

Prosedur penentuan kandungan Cu_2O secara gravimetri adalah sebagai berikut :

- a) Endapan Cu_2O dalam kedua krus Gooch (sampel maupun blanko), masing-masing dicuci dengan 10 ml alkohol, kemudian dengan 10 ml ether.
- b) Keringkan dalam oven bersuhu 100°C selama 30 menit, dinginkan dalam eksikator dan timbang
- c) Dari selisih berat antara Cu_2O sampel dan blanko, dapat ditentukan berat gula reduksi dalam 50 ml larutan sampel dengan menggunakan bantuan tabel Hammond.

3. Penentuan Cu_2O secara volumetri dengan Na-thiosulfat

Prosedur penentuan kandungan Cu_2O secara volumetri dengan

Na-thiosulfat adalah sebagai berikut :

- a) endapan Cu_2O dalam kedua krus Gooch ditutup dengan gelas arloji. Tambahkan 5 ml larutan HNO_3 (1+1) untuk melarutkan Cu_2O . Penambahan larutan HNO_3 dilakukan dengan menggunakan pipet. Tutup gelas arloji dibuka seperlunya saja ketika akan memasukkan ujung pipet.
- b) Tampung filtrat dengan labu Erlenmeyer yang mempunyai tanda untuk volume dengan interval 20 ml.
- c) Cucilah gelas arloji dan krus Gooch dengan 20-25 ml akuades.
- d) Didihkan sampai kabut berwarna merah habis dan tambahkan larutan Brom jenuh ($\text{Br}-\text{H}_2\text{O}$) sedikit berlebihan. Didihkan sampai semua Br habis.
- e) Dinginkan dan tambahkan larutan Na-asetat sebanyak 10 ml (574 g Na-asetat trihidrat/liter). Tambahkan larutan KI 42% yang bereaksi agak habis seperlunya.
- f) Titerlah dengan Na-thiosulfat (39 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) sampai warna kuning muda. Tambahkan larutan pati sampai terbentuk warna biru, lanjutkan titrasi. Pada saat titrasi hampir selesai tambahkan 2 g KCNS, aduk hingga larut, dan lanjutkan titrasi sampai seluruh endapan berwarna putih.
- g) Dari selisih antara titrasi sampel dan blanko, dapat dihitung

bobot Cu_2O dengan menggunakan persamaan :

$$1 \text{ ml larutan } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 = 11.259 \text{ mg } \text{Cu}_2\text{O}$$

Berdasarkan berat Cu atau Cu_2O , berat gula reduksi dalam 50 ml larutan sampel dapat dicari dengan menggunakan bantuan tabel Hammond.

12.6.4 Kadar Air

Penentuan kadar air bahan pangan dapat dilakukan berdasarkan SNI 01-2354.2-2006. Adapun prinsip analisis kadar air adalah menghilangkan molekul air dari bahan pangan dengan proses pemanasan dalam oven vakum bersuhu $95^\circ\text{-}100^\circ\text{C}$ dengan tekanan udara tidak lebih dari 100 mm Hg selama 5 jam atau oven tidak vakum pada 105°C selama 16-24 jam. Penentuan bobot air dihitung secara gravimetri berdasarkan selisih bobot sampel sebelum dan sesudah dikeringkan. Adapun tahapan analisisnya sebagai berikut :

1. Preparasi sampel

Lumatkan sampel hingga homogen dan masukan ke dalam wadah plastik atau gelas yang bersih dan tertutup. Bila sampel tidak langsung diuji, simpan dalam refrigerator atau freezer sampai saatnya untuk dianalisis. Kondisikan sampel pada suhu ruang dan pastikan sampel masih

dalam keadaan homogen sebelum ditimbang. Bila terjadi pemisahan antara cairan dan sampel maka diaduk ulang dengan blender sebelum dilakukan analisis.

2. Prosedur

Adapun prosedur analisis kadar air adalah sebagai berikut :

- a) Kondisikan oven pada suhu yang akan digunakan hingga mencapai kondisi stabil
- b) Masukkan cawan kosong ke dalam oven minimal 2 jam
- c) Pindahkan cawan kosong ke dalam desikator sekitar 30 menit sampai mencapai suhu ruang dan timbang bobot kosong (a g).
- d) Timbang sampel yang telah dihaluskan sebanyak ± 2 g ke dalam cawan (b g).
- e) Masukkan cawan yang telah diisi dengan sampel ke dalam oven vakum pada suhu 95° - 100° C, dengan tekanan udara tidak lebih dari 100 mmHg selama 5 jam atau masukkan kedalam oven tidak vakum pada suhu 105° C selama 16-24 jam.
- f) Pindahkan cawan dengan menggunakan alat penjepit ke dalam desikator selama 30 menit kemudian timbang (c g)
- g) Lakukan pengujian minimal duplo (dua kali)

3. Perhitungan kadar air

Kadar air dalam bahan pangan dapat dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$\text{Kadar air} = \frac{b - c}{b - a} \times 100\%$$

Keterangan :

a = bobot cawan kosong

b = bobot cawan dan contoh sebelum pengabuan

c = bobot cawan dan contoh setelah dioven

12.6.5 Serat kasar

Serat kasar merupakan residu dari bahan pangan nabati, yang didominasi oleh selulosa dan sedikit lignin dan pentosa. Setiap bahan pangan mengandung serat dalam jumlah bervariasi. Serat bermanfaat bagi manusia. Kandungan serat dalam bahan pangan dapat ditentukan berdasarkan analisis kimiawi. Adapun prosedur penentuannya adalah :

- a) Timbang 500 mg sampel yang akan ditentukan kandungan serat kasarnya. Masukkan ke dalam labu Erlenmeyer.
- b) Tambahkan 100 ml asam sulfat 1,25% dan panaskan sampai mendidih.
- c) Setelah 1 jam tambahkan 100 ml natrium hidroksida 3,25%, dipanaskan kembali sampai mendidih selama 1 jam
- d) Dinginkan dan disaring dengan menggunakan kertas

saring yang telah diketahui bobotnya. Endapan dicuci dengan asam sulfat encer dan alkohol

- e) Kertas saring dan endapan dikeringkan dalam oven
- f) Timbang bobot dari endapan.

12.6.6 Kadar Abu

Kadar abu dalam bahan pangan menunjukkan jumlah mineral yang dikandung dalam bahan pangan tersebut. Analisis kadar abu yang terkandung di dalam bahan pangan dapat dilakukan berdasarkan SNI 01-2354.1-2006. Prinsip kerja penentuan kadar abu diawali dengan cara membakar bahan pangan hingga suhu 550°C dalam tungku pengabuan (*fumace*) selama 8 jam atau sampai mendapatkan abu yang berwarna putih. Penetapan bobot abu dihitung berdasarkan gravitasi.

1. Preparasi sample

Sampel dilumatkan hingga homogen dan masukan ke dalam wadah plastik atau gelas yang bersih dan tertutup. Bila sampel tidak langsung diuji, simpan dalam refrigerator atau freezer sampai saatnya untuk dianalisis. Kondisikan sampel pada suhu ruang dan pastikan sampel masih dalam keadaan homogen sebelum ditimbang. Bila terjadi pemisahan antara cairan dan sampel maka diaduk ulang dengan blender sebelum dilakukan analisis.

2. Prosedur analisis

Prosedur analisis kadar abu dalam bahan pangan adalah sebagai berikut :

- a) masukkan cawan abu porselain yang kosong ke dalam tungku pengabuan. Suhu tungku dinaikan secara bertahap hingga mencapai suhu 550°C. Pertahankan suhu pada 550°C ± 5°C selama semalam.
- b) Turunkan suhu pengabuan sampai 40 °C, keluarkan cawan abu porselin dan dinginkan dalam desikator selama 30 menit. Timbang bobot cawan abu porselin kosong (a g),
- c) Masukan 2 g sampel yang telah dihomogenkan ke dalam cawan abu porselin, kemudian masukan ke dalam oven bersuhu 100°C selama 24 jam.
- d) Pindahkan cawan abu porselin ke tungku pengabuan dan naikan suhu secara bertahap hingga mencapai 550°C ± 5°C. Pertahankan salam 8 jam / semalam sampai di peroleh abu berwarna putih.
- e) Setelah selesai, suhu tungku pengabuan diturunkan hingga suhu 40°C. Keluarkan cawan porselin dengan menggunakan penjepit dan masukan ke dalam desikator selama 30 menit. Bila abu belum putih benar harus dilakukan pengabuan kembali.
- f) Basahi (lembabkan) abu dengan akuades secara ber-

tahap, keringkan dengan hot plate dan abukan kembali pada suhu 550°C sampai di peroleh berat yang konstan.

- g) Turunkan suhu pengabuan sampai $\pm 40^\circ\text{C}$ lalu pindahkan cawan abu porselin ke dalam desikator selama 30 menit kemudian timbang bobotnya (b g) segera setelah dingin.
- h) Lakukan pengujian secara duplo (dua kali).
- i) Kadar abu dalam bahan pangan dapat dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$\text{Kadar abu} = \frac{c - a}{b - a} \times 100\%$$

Keterangan:

- a = bobot cawan kosong
 b = bobot cawan dan contoh
 c = bobot cawan dan contoh setelah pengabuan

12.6.7 Asam lemak

Asam lemak merupakan komponen lemak. Kandungan asam lemak dapat ditentukan dengan metode gas kromatografi. Penentuan konsentrasi asam lemak dengan metode ini didasarkan pada kandungan heksana yang terdapat dalam bahan pangan. Adapun prosedurnya sebagai berikut :

1. Preparasi sampel

- a) sampel bahan pangan sebanyak 0.2 g dalam tabung

reaksi tertutup, kemudian tambahkan 2 ml natrium hidroksida dalam metanol

- b) Panaskan sampel pada suhu 80°C selama 20 menit, kemudian sampel diangkat dan dibiarkan dingin.
- c) Tambahkan 2 ml larutan boron trifluorida 20% dan dipanaskan kembali selama 20 menit,
- d) Angkat sampel dan biarkan dingin. Tambahkan 2 ml natrium klorida jenuh serta 2 ml larutan heksan. Setelah itu campuran dikocok sampai merata,
- e) Ambil lapisan heksannya dan dimasukkan ke tabung uji (evendop).

Sampel yang merupakan hasil preparasi kemudian diinjeksikan ke alat kromatografi gas ketika suhu menunjukkan 150°C. Tombol start pada rekorder dan alat ditekan, dan hasilnya akan keluar berupa kromatogram. Selanjutnya dilakukan analisis kualitatif dan kuantitatif.

Berdasarkan kromatogram yang diperoleh, kemudian dilakukan pencocokan waktu retensi yang sama atau mendekati waktu retensi standar asam lemak. Kadar asam lemak dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{KAL (\%)} = \frac{L_c C_s \times V}{L_s b} \times 100 \%$$

Keterangan:

KAL = Kadar Asam Lemak

L_c = luas area contoh

L_s = luas area standar

C_s = konsentrasi standar

V = volume akhir

b = bobot contoh

BAB XIII

PENGUJIAN FISIK

BAHAN PENGEMAS

Salah satu upaya yang dilakukan untuk mempertahankan mutu bahan pangan adalah dengan pengemasan. Adanya kemasan dapat membantu mencegah atau mengurangi kerusakan, melindungi bahan pangan yang ada di dalamnya dari gangguan fisik dan pencemaran. Gangguan fisik yang dapat dialami oleh bahan pangan dapat berupa gesekan, benturan, atau getaran. Dengan perkataan lain, melalui pengemasan yang baik, bahan atau produk pangan dapat terlindung dari pengaruh yang dapat menurunkan mutu.

Bahan kemasan dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu alami dan buatan. Alam telah menyediakan bahan kemasan yang sudah dimanfaatkan sejak dahulu, seperti daun pisang, jati, waru, kelapa, tembakau dan banyak yang lainnya. Sedangkan bahan kemasan buatan diantaranya kertas, logam, kaca dan plastik.

Kertas dan plastik merupakan bahan pengemas yang banyak

digunakan masyarakat karena, mudah, murah, dan praktis.

13.1. Kertas

Proses pembuatan kertas pertama kali dikembangkan oleh Ts'ai Lun di Lei-yang, Cina pada tahun 105. Pada tahun 751 berhasil didapatkan rahasia proses pembuatan kertas. Sejak saat itu penggunaan kertas untuk berbagai keperluan berkembang pesat. Penggunaan kertas sebagai kemasan, menggantikan tanah liat, gelas, dan kaleng, baru berkembang pada abad ke-19.

Hingga saat ini berbagai jenis kertas sudah dapat dibuat, namun secara garis besarnya kertas dibagi menjadi kertas halus dan kasar. Kertas halus digunakan sebagai kertas tulis, surat obligasi, buku besar, buku dan kertas sampul. Sedangkan semua kertas yang digunakan sebagai pengemas termasuk ke dalam golongan kertas kasar.

Jenis kertas yang sudah dikenal adalah : 1) kertas kraft yang memiliki sifat paling kuat dan

banyak digunakan sebagai kemasan (Gambar 13.1).



Gambar 13.1. Kantong terbuat dari kertas kraft

Sumber : tw.bysources.com/sample/131411/932.html

2) kertas krep memiliki kemampuan meregang 5-7 persen; 3) kertas glasin yang memiliki permukaan seperti gelas dan transparan memiliki ketahanan yang baik terhadap lemak dan minyak namun tidak tahan terhadap air (Gambar 13.2).



Gambar 13.2. Kertas Glasin

Sumber : www.germes-online.com/./food_packaging.html

4) kertas perkamen yang mempunyai ketahanan yang baik terhadap lemak dan kuat sehingga cocok untuk mengemas bahan pangan (Gambar 13.3); 5) kertas lilin yang memiliki sifat tahan terhadap lemak dan cocok untuk mengemas bahan pangan (Gambar 13.4).



Gambar 13.3. Wax-kraft

Sumber : www.fdsmsg.com/wax_paper



Gambar 13.4. Kertas berlilin

Sumber : www.fdsmsg.com/wax_paper

6) daur ulang; 7) chipboard yang banyak digunakan sebagai kemasan pelindung pada bahan

pecah belah; 8) tyvek yang memiliki kekuatan tinggi karena terikat dengan polietilen densitas tinggi (HDPE). Kertas ini banyak digunakan sebagai kemasan bahan pangan karena sifatnya yang tidak menyusut/mengembang, tahan terhadap kotoran, bahan kimia, kontaminasi, kapang dan mampu menghambat masuknya bakteri; 9) soluble yang memiliki ketahanan terhadap kelembaban dan mudah larut dalam air sehingga tidak direkomendasikan untuk mengemas bahan pangan; dan 10) kertas plastik yang tidak mengalami perubahan bentuk karena kelembaban, tahan terhadap lemak dan air serta tidak dapat ditumbuhi kapang.

13.2 Plastik

Perkembangan plastik sebagai pengemas tidak diketahui dengan pasti, namun dari catatan yang ada sudah dimulai sejak 1835. Penggunaan plastik sebagai pengemas terlihat nyata sejak akhir perang dunia kedua, dimana telah dikembangkan polietilen (PE), polipropilen (PP), poliester nilon dan lapisan vinil.

Penggunaan plastik sebagai pengemas dapat berupa kemasan bentuk (*fleksibel*) yang banyak digunakan untuk mengemas bahan padat atau kemasan kaku berbentuk botol, jerigen atau kotak yang lebih sesuai untuk mengemas bahan cair.

Berdasarkan sifatnya terhadap perubahan suhu, plastik dapat dibagi menjadi 1) termoplastik yang dapat meleleh pada suhu tertentu, melekat, dan akan mengeras kembali setelah didinginkan; dan 2) termoset (*termodursisable*) yang tidak akan berubah karena panas. Contohnya adalah pegangan tutup panci atau melamin yang bila dipanaskan tidak akan melunak tetapi membentuk arang.

Sebagai kemasan pangan (*food grade*), plastik memiliki sejumlah sifat mudah dibentuk, mempunyai adaptasi tinggi terhadap produk, tidak korosif, dan mudah ditangani. Namun perlu kecermatan dalam pemilihannya agar terhindar dari kemasan bukan pangan (*non food grade*) sehingga dapat mencegah kemungkinan adanya gangguan kesehatan.

13.2.1 Komponen plastik

Plastik terdiri dari komponen utama (polimer) dan dapat juga dilengkapi dengan komponen tambahan. Komponen tersebut adalah : 1) monomer, yaitu komponen utama plastik sebelum membentuk polimer; 2) kopolimer yaitu polimer yang tersusun dari kombinasi dua monomer berbeda. Monomer yang lebih banyak disebut monomer dasar (*base monomer*) dan yang lebih sedikit disebut ko-monomer. Contoh kopolimer antara lain Etil Vinil Asetat (EVA), Vinil Klorida (VC)

dan Polistiren; 3) bahan tambahan yang digunakan untuk memperbaiki sifat plastik. Bahan tambahan yang digunakan antara lain pemlastik yang sengaja ditambahkan agar plastik lebih luwes dan halus; antioksidan untuk mencegah perapuhan dan degradasi polimer karena bereaksi dengan udara, antiblok untuk membuat permukaan lapisan plastik menjadi kasar dan tidak mudah lengket satu dengan lainnya; antistatik untuk meningkatkan daya menahan peningkatan listrik statis akibat gesekan sehingga dapat mencegah terdapatnya debu, tarik menarik antara lembaran plastik, kejutan listrik, hingga kemungkinan bahaya kebakaran; pelumas untuk mengurangi gaya gesek; penyerap cahaya ultraviolet sehingga akan melindungi bahan pangan yang mengandung vitamin C dari cahaya matahari atau lampu; dan bahan pengisi atau penguat yang ditujukan untuk menekan biaya produksi, meningkatkan kekakuan dan kekuatan serta mengurangi kerutan.

13.2.2 Sifat plastik

Bahan baku yang digunakan dalam pembuatan plastik disesuaikan dengan kebutuhan. Dengan demikian, plastik yang dihasilkan memiliki sifat khas.

a. Polietilen

Polietilen (PE) dibuat dengan proses polimerisasi adisi dari gas etilen yang merupakan hasil sam-

ping industri arang dan minyak, sehingga memiliki rumus kimia $(-CH_2 - CH_2 -)_n$. Jenis plastik ini banyak digunakan dalam industri pangan karena memiliki sifat yang menguntungkan, yaitu : 1) Penampakan bervariasi dari transparan, berminyak sampai keruh (*translucid*) sesuai cara pembuatan dan jenis resin yang digunakan; 2) Dapat dibentuk, lemas dan mudah ditarik; 3) Daya rentang tinggi; 4) Mudah dikelim panas sehingga dapat digunakan untuk laminasi; 5) Tidak cocok untuk mengemas bahan berlemak atau berminyak; 6) Tahan terhadap bahan kimia, seperti asam, basa, alkohol, dan deterjen; 7) Dapat digunakan sebagai pengeemas hingga suhu $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$; 8) Mudah melewatkan gas, sehingga tidak disarankan untuk mengemas bahan pangan beraroma; 9) Mudah lengket satu dengan lainnya sehingga perlu bahan penambah; 10) Memiliki sifat kedap terhadap air dan uap air

Berdasarkan densitasnya, PE dapat dibagi menjadi : 1) PE densitas rendah (LDPE : Low Density Poly Etilene) (Gambar 13.5). Plastik ini banyak digunakan untuk kantung, mudah dikelim, dan sangat murah; 2) PE densitas menengah (MDPE : Medium Density Poly Etilene) (Gambar 13.6). Memiliki sifat lebih kaku dan suhu leleh lebih tinggi dari PE densitas rendah; dan PE densitas tinggi (HDPE :

High Density Poly Etilene). Memiliki sifat paling kaku, tahan terhadap suhu tinggi (130 °C) sehingga tahan untuk bahan pangan yang harus disterilisasi.

b. Poliester (PE Treptalat)

Jenis plastik ini dihasilkan dari proses kondensasi polimer etil glikol dan asam treptalat (Gambar 13.7). Jenis plastik yang lebih dikenal dengan nama dagang mylar ini banyak di-gunakan sebagai bahan laminasi untuk meningkatkan daya tahan kemasan terhadap kikisan dan sobekan. Mylar juga banyak di-gunakan sebagai kantung bahan pangan yang memerlukan perlindungan.



Gambar 13.5. Kantong lock terbuat dari LDPE

Sumber : www.germes-online.com/./food_packaging.html



Gambar 13.6. Kantong plastik makanan

Sumber : www.germes-online.com/./food_packaging.html



Gambar 13.7. Boks plastik bening dari bahan Poliester treptalat

Sumber : www.iraplast.com-images-rigid-plastic-food-packaging-300_jpg.htm

Mylar memiliki sifat umum, antara lain : 1) tembus pandang, bersih dan jernih; 2) adaptasi terhadap suhu tinggi sangat baik (sampai 300°C); 3) permeabilitas terhadap uap air dan gas sangat rendah; dan 4) tahan terhadap pelarut organik (asam dari buah-buahan) sehingga dapat digunakan untuk mengemas sari buah; 5) tidak kuat terhadap asam kuat, fenol, atau alkohol; 6) kuat dan tidak mudah sobek, mampu menahan tekanan yang berasal dari minuman beralkohol; dan 7) tidak mudah dikelim dengan penggunaan pelarut.

Mylar digunakan untuk mengemas buah-buahan kering, makanan beku, dan permen. Dapat juga digunakan sebagai *'boil in bag'* dan *'retort pouch'* karena daya tahan panasnya yang baik. Sebagai kemasan, ada tiga jenis mylar, yaitu : 1) biasa tanpa laminasi; 2) dapat mengkerut jika kena panas; dan 3) yang dilaminasi untuk kemasan vakum.

c. Polipropilen

Polipropilen (PP) termasuk jenis plastik olefin yang merupakan polimer dari propilen (Gambar 13.8 dan 13.9). Memiliki beberapa nama dagang, seperti bexphane, dynafilm, luparen, escon, ole fane, dan pro fax. Plastik polipropilen memiliki sifat antara lain : 1) ringan (0.9 g/cm^3), mudah dibentuk, tembus pandang dan jernih dalam bentuk lembaran tipis namun tidak transparan

dalam bentuk kaku; 2) mempunyai kekuatan tarik lebih besar dari PE tetapi rapuh pada suhu -30°C sehingga kurang baik untuk kemasan beku; 3) lebih kaku dari PE dan tidak mudah robek; 4) permeabilitas uap air rendah, permeabilitas gas sedang sehingga kurang baik sebagai pengemas bahan pangan yang peka oksigen; 5) tahan hingga suhu 150°C sehingga dapat dipakai untuk makanan yang harus disterilisasi; 6) memiliki titik lebur tinggi sehingga sulit dibuat kantung; 7) tahan terhadap asam kuat, basa dan minyak. Dengan demikian baik digunakan sebagai pengemas sari buah, namun pada suhu kamar dapat larut dalam HCl; dan 8) pada suhu tinggi akan bereaksi dengan benzen, siklen, toluen, terpentin dan asam nitrat kuat.



Gambar 13.8. PP resin tidak bercampur dengan transparansi yang baik terutama dikembangkan untuk berbagai jenis pangan

Sumber : www.iraplast.com/images-rigid-plastic-food-packaging-300.jpg.htm



Gambar 13.9. Kotak sandwich

Sumber :

www.germes-online.com/./food_packaging.html

d. Polistiren

Polistiren (PS) memiliki beberapa nama dagang, yaitu bextrene, carinex, dylene, fostarene, kardel, vestyran, lustrex, restirol, luran dan lorkalene. Plastik ini banyak digunakan sebagai pengemas buah dan sayuran yang memerlukan permeabilitas uap air dan gas tinggi (Gambar 13.10).



Gambar 13.10. Kotak makanan

Sumber : www.germes-online.com/./food_packaging.html

Beberapa sifat utama dari PS antara lain : 1) memiliki kekuatan tarik dan tidak mudah sobek; 2) memiliki titik lebur rendah (88 °C) dan bersifat lunak pada suhu 90-95 °C; 3) tahan terhadap asam dan basa kecuali asam pengoksidasi; 4) terurai oleh alkohol, ester, keton, hidrokarbon aromatik dan klorin; 5) memiliki permeabilitas uap air dan gas yang tinggi sehingga cocok sebagai pengemas bahan pangan segar; 6) mudah dicetak, permukaannya licin, jernih, dan mengkilap; 7) bila kontak dengan pelarut akan menjadi keruh, mudah menyerap pemlastik, jika ditempatkan bersama-sama dengan plastik lain dapat mengalami penyimpangan warna; 8) memiliki afinitas tinggi terhadap debu dan kotoran; dan 9) dapat melaminasi logam dengan baik.

e. Polivinil Klorida (PVC)

Plastik PVC merupakan polimerisasi dari vinil klorida dan memiliki rumus $(-CH_2 - CH -)_n$.



PVC dengan nama dagang elvax, geon, hostalit, irvinil, kenron, marvinol, opalon, rucoblend, vinoflex dan vygen, terdiri dari tiga jenis, yaitu : 1) Plasticized Vinyl Chloride yang menggunakan pemlastik resin dan non resin sehingga cukup baik untuk mengemas daging segar, ikan, buah dan sayuran; 2) Vinyl Copolymer merupakan PVC dengan resin

merupakan campuran dari berbagai polimer sehingga dapat digunakan sebagai pengemas kosmetika, sari buah dan 'blister pack'; 3) oriented film yang luwes dan mudah berkerut.

Adapun sifat PVC antara lain : 1) tembus pandang hingga keruh (Gambar 13.11); 2) kemampuan permeabilitas uap air dan gas rendah; 3) tahan terhadap minyak, alkohol dan pelarut petroleum sehingga cocok untuk kemasan mentega, margarin dan minyak goreng; 4) memiliki kekuatan tarik tinggi dan tidak mudah robek; 5) dapat dipengaruhi oleh hidrokarbon aromatik, keton, aldehid, ester, eter aromatik, anhidrat dan molekul yang mengandung belerang, nitrogen dan fosfor, kecuali asam pengoksidasi, akan tetapi pemlastik akan terhidrolisa oleh asam dan basa pekat; (6) densitas berkisar $1.35 - 1.4 \text{ g/cm}^3$.



Gambar 13.11. Kotak berbahan PVC

Sumber : www.germes-online.com/./food_packaging.html

a. Saran atau Poliviniliden Kloride (PVDC)

PVDC adalah kopolimer vinil klorida dan viniliden klorida yang memiliki rumus $-(\text{CH}_2 - \text{CCl}_2)_n -$ dan dikenal dengan nama dagang sebagai saran atau cryovac (Gambar 13.13). Plastik ini digunakan sebagai pengemas bahan pangan yang membutuhkan perlindungan terhadap kehilangan aroma.

Sifat umum dari PVDC saran adalah sebagai berikut : 1) bersifat transparan dengan kejernihan bervariasi dan sangat luwes; 2) tahan terhadap bahan kimia, asam, basa dan minyak; 3) mampu menyekat lintasan sinar UV sehingga baik untuk digunakan sebagai pengemas daging segar dan keju yang peka terhadap cahaya UV; 4) memiliki permeabilitas uap air dan gas rendah, sehingga cocok untuk digunakan sebagai pengemas bahan pangan yang peka terhadap oksigen, seperti daging, keju dan produk kering berupa buah atau kembang gula; 5) memiliki kemampuan menahan aroma; 6) memiliki ketahanan terhadap pemanasan kering atau basah (perebusan); 7) kurang baik untuk digunakan sebagai pengemas produk beku.

Adapun sifat utama PVDC cryovac antara lain : 1) memiliki permeabilitas uap air dan gas rendah; 2) mudah mengkerut bila kena panas; 3) cocok untuk me-

ngemas produk yang bentuknya tidak beraturan, seperti daging, ayam dan ikan; 4) baik digunakan sebagai pengemas produk beku, karena plastik ini tahan terhadap suhu rendah ($-40\text{ }^{\circ}\text{C}$); 5) dapat digunakan sebagai pengemas produk yang akan divacum karena plastik ini memiliki kemampuan menahan tekanan yang tinggi; 6) mudah dicetak karena plastik ini memiliki permukaan licin, transparan dan mengkilap; 7) tidak mudah terbakar; dan 8) mudah dikelim panas.



Gambar 13.12. Poliviniladen Klorida (PVDC)

Sumber : www.germes-online.com/.../food_packaging.html

g. Selopan

Selopan merupakan regenerasi selulosa dengan sifat umum berupa : 1) transparan dan tampak sangat terang; 2) tidak bersifat termoplastik sehingga tidak bisa direkat dengan panas; 3) tidak

larut dalam air dan lemak; 4) dapat menahan oksigen dan aroma; 5) Mudah retak dalam kelembaban relatif dan suhu rendah; 6) dapat digunakan sebagai pelapis yang baik; 7) mudah robek, sehingga perlu dihindarkan dari kemungkinan tertusuk; dan 8) mengkerut pada suhu rendah.

Selopan banyak digunakan sebagai pengemas daging, keju, acar (*pickle*) dan tekstil. Saat kelembaban udara menurun, kondisi selopan akan mengkerut sehingga apabila akan digunakan sebagai pengemas perlu dilonggarkan sekitar 1.5— 6.25 mm. Untuk menjaga sifat-sifatnya, selopan disimpan dalam kondisi lingkungan bersuhu $21\text{--}24\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan kelembaban relatif 35-50 %. Beberapa penggunaan kemasan dan jenis selopan disajikan pada Tabel 13.1.

h. Selulosa Asetat

Selulosa asetat terbuat dari selulosa dan merupakan bahan kristal termoplastik yang bersifat keras namun mudah diproses. Dalam proses pembuatannya, selulosa dikombinasikan dengan asam asetat dan asetat anhidrid melalui katalis dan pelarut. Hasilnya berupa selulosa triasetat yang jernih dan kemudian dihidrolisa dengan air dan bahan penghidrolisa. Selanjutnya bahan dikeringkan sehingga menghasilkan serpihan selulosa asetat. Untuk meningkatkan kekuatan selulosa

asetat, umumnya dilakukan penambahan pemlastik dietil platat. Bahan ini banyak digunakan

dalam industri fotografi dan industri pesawat terbang.

Tabel 13.1. Beberapa jenis selopan dan contoh penggunaannya

Jenis	Penggunaan	Produk yang dikemas	Karakteristik
MST-44	Umum	Umum	Umum
MST-51	Pembungkus	Roti	Luwes
MST-52	Pita bercabik	Berminyak / beragam	Kaku
MSAT-87	Kantung	Pangan beku	Tahan air
MT-33	Pembungkus	Permen (kembang gula)	Luwes
MT-31	Bundel/bungkusan	Rokok	Merekat dengan solven
T-79	Kantung	Masakan	Sekat lintas
OF-16	Pembungkus	Daging segar	Tidak berkabut
V-4	Pembungkus	Berlemak	Tahan lemak

J.F. Hanlon (1971) dalam Syarief dkk. 1989

Selulosa asetat memiliki beberapa nama dagang, seperti : bexoid, lumarith, plastacele, sicaloid, tenite I dan Vuepak. Penampakkannya yang jernih menyebabkan selulosa asetat ini banyak digunakan sebagai pengemas kembang gula dan coklat.

Beberapa sifat utama dari selulosa asetat antara lain : 1) tidak terlalu mudah mengkerut bila dekat dengan api; 2) jernih, mengkilat, agak kaku dan mudah robek; (3) lebih tahan benturan dibandingkan HDPE tetapi lebih lemah daripada selulosa propionat; 4) tahan abrasi sehingga hanya terlihat sebagai coretan; 5) peka terhadap cahaya matahari, oksigen dan uap air sehingga

untuk mengatasinya perlu ditambah dengan penstabil asam tartarat (0.01%); 6) tahan panas namun rapuh pada suhu rendah sehingga tidak cocok untuk mengemas bahan pangan beku; 7) tahan minyak; 8) terurai oleh asam kuat, basa, alkohol, ester dan HCl; 9) mengembang pada kadar air atau kelembaban tinggi; dan 10) merupakan sekat lintasan (*barrier*) yang buruk terhadap uap air dan gas.

i. Sellulosa propionat

Selulosa propionat dibuat dengan mereaksikan selulosa dengan asam propionat dan anhidrat, atau pencampuran antara asetat, asam propionat dan anhidrat,

dengan menggunakan asam sulfat sebagai katalisator.

Beberapa sifat utama dari selulosa propionat adalah : 1) memiliki daya tahan terhadap benturan dua kali lebih besar dari pada selulosa asetat; 2) transparan dan mudah dibentuk; 3)

daya kembang pada kelembaban tinggi tidak sebaik selulosa asetat; dan 4) terurai oleh asam kuat, basa, alkohol, keton dan ester.

Beberapa karakteristik utama dari selulosa asetat dan selulosa propionat disajikan pada Tabel 13.2.

Tabel 13.2. Karakteristik fisik selulosa asetat dan selulosa propionat

Deskripsi	Selulosa Asetat (hidrolisa)	Selulosa Propionat
Densitas (g/cm^3)	1.3	1.2
Ketahanan tarik (kg/cm^2)	300-600	400-500
Ketahanan kompresi (kg/cm^2)	1000-2500	400-1000
Ketahanan pembengkokkan (kg/cm^2)	200-1000	200-700
Panas jenis ($\text{kal/g}^\circ\text{C}$)	0.3-0.4	0.3-0.4
Konstanta dielektrik (10^3c/detik pada 20°C)	5-7	3.5-4.0
Indeks refraksi	1.50	1.47
Penyerapan air (% dalam 24 jam)	3-5	1.2-2.5

Sumber : J. Bost (1980) dalam Syarief dkk., 1989.

j. Etil Selulosa

Etil selulosa merupakan termoplastik yang mengandung beberapa pemlastik. Sifatnya yang stabil pada suhu tinggi menjadikan etil selulosa banyak digunakan sebagai laminasi, lapisan panas, dan pembungkus yang mudah dikelupas.

Beberapa sifat utama dari etil selulosa adalah : 1) tidak berwarna, berbau, dan berasa; 2) tidak mampu menahan uap air dan gas; 3) mudah larut dalam berba-

gai pelarut kecuali hidrokarbon alifatik, glikol, dan air; 4) cocok untuk mengemas mentega, margarin dan minyak karena tahan terhadap minyak; 5) tahan terhadap asam dan basa lemah, namun terurai dalam asam kuat; 6) peningkatan suhu akan menyebabkan penurunan daya rentang, namun meningkatkan daya mengembang (ekstensibilitas) karena tidak terjadi degradasi sampai suhu 200°C ; 7) Memiliki sifat kekerasan dan kekuatan yang baik; 8) penurunan suhu akan

meningkatkan kelenturan; dan 9) tidak banyak terpengaruh oleh cahaya matahari.

k. Metil selulosa

Metil selulosa dikenal dengan nama dagang methocel. Banyak digunakan sebagai pengemas pada bahan yang akan dicampur bersama kemasannya karena memiliki sifat : 1) larut dalam air dan semakin banyak dengan meningkatnya suhu; 2) tidak mudah rapuh pada kondisi udara lembab; 3) digunakan sebagai kapsul karena memiliki ketahanan terhadap lemak nabati maupun hewani.

l. Nilon

Nilon dihasilkan dengan cara kondensasi polimer (polikondensasi) dari asam amino atau diamina dengan dua asam karboksilat (di-acid), memiliki rumus $[-HN-(CH_2)_y-NH-CO-(CH_2)_x-CO]_n$. Beberapa jenis nilon memiliki sifat khas yang dipengaruhi oleh penggunaan bahan baku, misalnya nilon 6 yang tahan terhadap abrasi, sedangkan nilon 11 dan 13 tahan terhadap oksigen, air, dan dapat direkat pada suhu rendah.

Nilon yang memiliki nama dagang nypel, ultramid, x-tal, zytel, capran, dan rilsan, sebenarnya merupakan poliamida dan pada awalnya lebih dikenal dalam industri tekstil daripada kemasan plastik. Penggunaan nilon adalah sebagai pelapis atau dikombi-

nasikan dengan bahan lain untuk mendapatkan sifat kemasan inert dan permeabilitas rendah.

Nilon dapat digunakan sebagai bahan jaring penangkap ikan atau pembungkus amunisi, dan dalam bidang pangan dapat digunakan untuk mengemas semua bahan pangan kecuali susu dan produk olahannya.

Beberapa sifat utama nilon adalah : 1) bersifat inert, tahan panas, dan memiliki sifat mekanis (memanjang, kekuatan regang, kekuatan sobek, dan ketahanan lipat) yang istimewa; 2) tahan terhadap asam dan basa lemah namun tidak tahan terhadap asam kuat dan pengoksidasi; 3) tidak berasa, berbau, atau beracun; 4) mudah larut dalam asam formal dan fenol; 5) memiliki kemampuan kedap cukup baik terhadap gas, tetapi tidak kedap terhadap uap air; 6) dapat mengkerut atau mengembang sesuai perubahan kelembaban; 7) memiliki ketahanan baik terhadap panas sehingga cocok digunakan sebagai pengemas nasi instan atau bahan pangan yang mengalami proses sterilisasi; dan 8) dapat digunakan sebagai kemasan hampa.

m. Polikarbonat

Polikarbonat termasuk jenis termoplastik non etilen dengan nama dagang lexan atau merlon. Sifatnya yang merupakan gabungan logam ringan, gelas, dan

bahan plastik menjadikan polikarbonat dapat digunakan sebagai kemasan jus buah, bir, atau botol susu bayi.

Beberapa sifat utama polikarbonat adalah : 1) tidak berbau atau berwarna; 2) kekuatan dan ketahanan panasnya yang baik menjadikan polikarbonat ini cocok untuk mengemas bahan pangan yang akan disterilisasi; 3) tahan terhadap asam lemah, zat pereduksi atau pengoksidasi, garam, minyak, lemak, serta hidrokarbon alifatik; 4) terurai oleh alkali, amin, keton, ester hidrokarbon aromatik, dan beberapa jenis alkohol; dan 5) larut dalam metil klorida, etilen diklorida, dan dioksona dari kresol.

n. Pliofilm

Pliofilm, atau sering disebut sebagai karet hidroklorida atau *snug-pak*, terbuat dari lembaran karet yang dilarutkan dan diklorinasi. Beberapa sifat utamanya adalah : 1) berkilau dan transparan, namun dapat berubah menjadi coklat sesuai perjalanan waktu dan menghasilkan aroma khas yang berasal dari senyawa antioksidan yang digunakan; 2) ciri khas yang mudah dikenal adalah akan memutih bila diregang; 3) tahan terhadap asam, alkali, lemak dan pelumas sehingga cocok untuk digunakan sebagai pengemas daging; 4) tidak mampu menahan gas, namun transmisi gas CO₂ tidak cukup tinggi untuk sayuran segar; 5) tidak dapat

digunakan untuk kemasan *boil in bag*.

o. Poliuretan

Poliuretan memiliki banyak nama dagang dan beberapa diantaranya adalah arothane, chem-othane, chempol, expandofoam, isofoam, lux-foam, nopofoam, stafoam, stanfoam, thermothane, unifoam dan uralane. Penggunaan sebagai pengemas dapat dilakukan dengan bentuk padat (film) atau busa.

Beberapa sifat utama dari poliuretan adalah : 1) tidak berbau; 2) memiliki ketahanan yang baik terhadap oksidasi, minyak, lemak, dan kapang; 3) mudah berubah oleh asam dan basa kuat, halogen, hidrokarbon aromatik, pelarut klorin, ester, keton, dan alkohol; dan 4) dalam bentuk busa dapat melekat pada permukaan yang bebas lemak atau lilin

p. Plastik urea

Plastik ini termasuk kelompok termoset, dengan beberapa nama dagang seperti arodure, beetle, kaurit, resfurin, acarab, siritle, sylplast, dan synvarol. Sifatnya yang keras menjadikan bahan ini digunakan sebagai sumbat atau penutup wadah dan kemasan kosmetik.

Beberapa sifat utama plastik urea adalah 1) keras, kaku, tidak berbau atau berasa, berwarna keruh; 2) tidak terpengaruh oleh

pelarut organik tetapi terpengaruh oleh asam dan basa kuat; 3) tahan terhadap minyak dan pelumas; dan 4) stabil pada suhu tinggi.

q. Akrilik

Akrilik adalah kristal termofilik yang jernih dengan nama dagang lucite, barex dan plexiglas. Akrilik banyak digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan botol minuman karena memiliki sifat antara lain : 1) kaku dan transparan; 2) memiliki kemampuan yang baik dalam menahan oksigen dan cahaya; 3) memiliki titik lebur rendah ($65.5\text{ }^{\circ}\text{C}$), dan pada suhu rendah cenderung cair dan mudah rusak; 4) tahan terhadap petroleum tetapi mudah terurai oleh alkohol, HCl, asam pengoksidasi, keton, ester dan pelarut aromatik; dan 5) tidak dapat ditumbuhi jamur, namun peka terhadap asam kuat dan basa.

r. Asetal

Plastik asetal merupakan dieter dari alkalidena glikol dan mengandung dua atom eter oksigen yang terikat pada atom karbon yang sama. Memiliki nama dagang ceclon dan delrin. Banyak digunakan sebagai bahan baku kemasan aerosol karena kemampuannya yang baik dalam menahan tekanan.

Beberapa sifat utamanya adalah : 1) tidak berwarna dalam keadaan netral, namun dapat berwarna bila diinginkan; 2) kaku, kuat dan

tahan terhadap oksigen dan cahaya; 3) ketahanan benturan tinggi seperti stiren dan daya rentangnya menyerupai nilon; 4) tahan terhadap asam dan basa lemah, dan pelarut organik; 5) terurai oleh asam dan basa kuat, serta pengoksidasi.

s. Plastik penol

Plastik fenol atau fenol formaldehid mulai diperkenalkan dengan nama bakelite. Nama dagang lainnya adalah durez, fiberite, mesa, dan plenco. Sifatnya tergantung dari bahan pengisi yang digunakan.

Beberapa sifat utamanya adalah : 1) keras, kuat dan tahan panas, asam lemah maupun basa; 2) terurai oleh asam pengoksidasi dan basa kuat, serta tidak terlalu terpengaruh oleh asam organik; 3) umumnya berwarna gelap (hitam atau coklat).

t. Politetra Flouroetilen (PTFE)

PTFE termasuk jenis plastik poliolefin dan dikenal dengan nama dagang algoflon, ertaflour, fluon, gaflon, halon, hostaflon, polyflon, soreflon dan teflon. Bahan plastik ini banyak digunakan sebagai pelapis penggorengan dan alat dapur lainnya.

Beberapa sifat utama dari PTFE adalah : 1) licin dan berlapis lilin; 2) umumnya berwarna abu-abu; 3) memiliki koefisien gesek rendah (0.05), panas jenis $0.25\text{ kkal/g}^{\circ}\text{C}$ dan konstanta dielektrik

2.1; dan 4) memiliki toleransi yang besar terhadap suhu.

Masih banyak bahan kemasan plastik yang belum diulas dalam tulisan ini. Beberapa bahan kemasan yang banyak digunakan sebagai kemasan bahan pangan antara lain : 1) plastik amilosa dari pati jagung yang dapat dimakan sehingga digunakan sebagai pembungkus kembang gula dan sosis; 2) polivinil alkohol dan polietilen oksida yang dapat larut dalam air sehingga dapat digunakan untuk mengemas tepung yang akan dilarutkan dalam air tanpa perlu membuka dahulu kemasannya; 3) Ionomer yang biasa digunakan untuk mengemas vakum berbagai jenis bahan pangan.

13.2.3 Mengukur Sifat Fisik

Pengujian terhadap sifat plastik bahan kemasan dilakukan oleh industri pangan terutama untuk keperluan penerimaan barang. Namun demikian, pengujian juga dapat dilakukan sebagai kegiatan rutin atau untuk pengembangan produk.

Dalam industri pangan, pengujian kemasan plastik dilakukan karena penggunaannya sebagai kemasan bahan atau produk pangan dalam bentuk padat (bubuk, butiran, dan bentuk padatan lainnya), cair, maupun semi padat.

Pemilihan plastik sebagai bahan kemasan perlu dilakukan secara

cermat, karena setiap kemasan plastik memiliki sifat khas.

a. Bobot plastik

Bobot plastik erat kaitannya dengan ketebalan. Makin berat bobotnya makin tebal plastik tersebut. Bobot plastik diukur dengan menggunakan neraca kasar dan analitik

b. Ketebalan plastik

Ketebalan plastik dapat diukur dengan menggunakan stiffness tester (Gambar 13.13). Pengukuran dilakukan dengan memasukkan lembaran plastik ke dalam mulut stiffness tester. Tekan pegangannya dan lakukan pembacaan ketebalannya. Nyatakan ketebalannya dalam satuan mm.



Gambar 13.13. Stiffness tester untuk mengukur ketebalan kemasan

Sumber :

www.geneq.com-catalog-images-f-fst_sasd-672_jpg.htm

Pengukuran ketebalan juga dapat dilakukan dengan menggunakan tickness gauge (Gambar 13.14). Kemasan yang akan diuji harus dipotong sedemikian rupa sehingga diperoleh bentuk lembaran datar. Turunkan *lever* dan masukkan potongan kemasan contoh ke celah antara *anvil* dan *presser foot*. Setelah contoh di-letakkan pada celah tersebut, tempatkan kembali landasan pada kedudukan yang tepat. Pasang kembali beban yang tersedia, tebal contoh dapat dilihat pada *dial gauge*.



Gambar 13.14. Tickness Gauge

Sumber :

www.germes-online.com/./food_packaging.html

c. Kelarutan plastik

Pengujian terhadap kelarutan kemasan plastik dilakukan untuk menentukan jenis plastik berda-

sarkan kelarutannya. Plastik yang akan diuji dilarutkan ke media pelarut dan dihitung tingkat kelarutannya.

Bahan yang digunakan adalah tiga jenis lapisan plastik yang telah diketahui jenisnya dan lembaran plastik yang akan dianalisis jenisnya. Pelarut berupa aseton, toluen dan air yang diletakkan di dalam gelas piala.

Prosedur pengujiannya diawali dengan mencelupkan lambaran plastik yang akan diuji ke dalam pelarut selama 3 detik. Usap bagian yang basah. Periksa dengan teliti, apakah ada bagian lembaran plastik larut atau mengalami pelunakan.

d. Daya serap infra merah

Analisis ini bertujuan untuk menentukan jenis plastik berdasarkan daya serapnya terhadap infra merah. Bahan yang digunakan adalah lembaran polistiren standar dan lembaran plastik yang akan diuji.

Pengujian diawali dengan pembuatan spektogram dari lembaran polistiren standar. Ukur spektra dari lembaran plastik yang akan diuji. Berdasarkan spektogram yang ada, tentukan panjang gelombang serapan utama dan tentukan gugus fungsionalnya. Tentukan macam spesimen lembaran plastik dengan membandingkan spektrum absorbansinya

dengan spektrum standar yang telah dibuat.

e. Perpanjangan putus (elongasi)
Salah satu karakteristik plastik fleksibel adalah ketahanan tarik dan perpanjangan putus. Ketahanan tarik adalah kemampuan bahan pangan untuk menerima gaya tarik. Ketahanan tarik erat kaitannya dengan kandungan komponen kimia dalam bahan pangan. Kemampuan elastisitas dan kandungan serat sangat mempengaruhi ketahanan tarik.

Perpanjangan putus kemasan plastik adalah besarnya energi yang dibutuhkan untuk menarik kemasan plastik tepat sesaat sebelum robek. Pengukuran perpanjangan putus dilakukan dengan menggunakan *paper tensile strength tester* (Gambar 13.15). Kemasan yang akan diuji dijepit pada klem atas dan bawah sehingga terentang. Piring skala perpanjangan diputar sehingga jarum menunjukkan angka nol. Tuas ditarik ke bawah sehingga klem penjepit bagian bawah tertarik dan kemasan menjadi tegang dan akhirnya sobek. Pada saat kemasan sobek, tangkai ayun akan berhenti dan jarum menunjuk nilai tertentu. Nilai tersebut menunjukkan nilai perpanjangan putus dari kemasan. Persentase perpanjangan dapat dihitung sebagai berikut :

$$\text{Perpanjangan Putus} = \frac{K_1 - K_0}{K_0} \times 100\%$$

dimana :

K_0 = Panjang kemasan awal

K_1 = Panjang kemasan akhir



Gambar 13.15. Paper tensile Strength Tester

f. Uji kekakuan

Uji ini untuk mengetahui sifat kekakuan kemasan plastik. Bahan yang digunakan adalah lembaran plastik jenis polietilen, polipropilen, dan vitafilm. Adapun alat utama yang digunakan untuk mengukur kekakuan adalah *olsen type stiffness tester*.

Pengujian diawali dengan pemasangan mesin penguji. Tempatkan mesin penguji pada posisi

datar air pasang jangka dengan mengendorkan *span fixing screw*. Atur posisi jangka dengan memutar span adjust knob, selanjutnya tepatkan dengan menggunakan *span fixing screw*.

Buat skala *defleksi angular* pada posisi bebas dengan mengendorkan *stopper*. Atur batang kopling *clutch* pada posisi N dan nyalakan sumber listrik pada posisi ON. Simbol L, N dan R menunjukkan arah perputaran jarum. L perputaran berlawanan arah jarum jam, N berarti netral, dan R berarti putaran searah jarum jam.

Pengaturan keadaan nol dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

- Pasang pemberat (F1) pada penggantung (*weight hunger*) dan atur keseimbangan beban dengan merubah *balance weight* sehingga jarum penunjuk berada dalam posisi nol.
- Tambahkan pemberat yang dikehendaki pada *weight hunger* dan pastikan jarum penunjuk berada dalam posisi nol. Bila tidak maka lakukan tahapan berikut : a) Putar *fine adjustment screw*, pindahkan pemberat ke kanan atau kekiri hingga *load scale pointer* berada pada posisi nol; b) Pindahkan beban pemberat dari *weight hunger* dan atur *balance weight* sehingga *load scale pointer* berada pada

posisi nol; c) pasang pemberat beban sekali lagi untuk memastikan apakah *load scale pointer* tetap berada pada posisi nol. Bila tidak, ulangi prosedur di atas hingga *load scale pointer* berada dalam posisi nol.

Setelah alat pengujian terpasang, selanjutnya lakukan : a) pemasangan sampel kemasan yang akan diuji. Tempatkan sampel kemasan pada penjepit (*chuck*); b) pada saat penempatan sampel yang akan dianalisis, jarum penunjuk *angular deflection scale pointer* diusahakan sedikit di atas angka 0 dari skala defleksi; c) pisahkan contoh yang dianalisis dari ujung *specimen holder* dengan memutar tombol *handle (crank)* searah dengan putaran jarum jam; d) tentukan beban dan pasang pada *weight hunger*. Pada saat itu beban F1 harus sudah terpasang pada *weight hunger*; e) Pada saat *clutch* digerakan ke arah R, piringan akan berputar searah dengan arah perputaran jarum jam dan contoh akan mengalami pembengkokkan dengan sudut 90°C, patah, atau sudut pembengkokkan telah tercapai; f) lakukan pembacaan skala muatan setiap 3 – 30° dan setiap 10° hingga 90°. Pada umumnya nilai sudut pembengkokkan hingga 30° sudah dianggap cukup; g) lakukan perhitungan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$E = \frac{4S \times M \times (\text{beban})}{wd^3 100 @}$$

dimana :

E = Kekakuan (lbs/inci²)

w = lebar contoh yang dianalisis (inci)

M = momen pendulum (lbs)

@ = pembacaan skala sudut pembengkokan dikonversikan ke radian

S = panjang contoh yang dijepit (inci)

d = tebal contoh (inci)

g. Uji Kekuatan Tensil Kemasan
Uji kekuatan tensil kemasan dilakukan dengan menggunakan *microcomputer tensile tester* (Gambar 13.16). Bahan yang akan diuji berupa lembaran plastik PP, PE dan vita film serta kemasan kantong.



Gambar 13.16. *Microcomputer tensile tester* untuk menguji kekuatan tensil kemasan

Sumber :

<http://www.indiabizclub.com/uploads/05/31/Z/WEW-1000B46045897.jpg>

Cara pengujian kekuatan tensil kemasan adalah sebagai berikut :

a) potong kemasan yang akan diuji; b) pasang kemasan yang akan diuji; c) tentukan gaya yang akan diberikan; d) tekan tombol start untuk mengaktifkan alat; e) tekan tombol sekali lagi untuk menjalankan alat yang berarti mulai pengujian; f) Catat pertambahan panjang kemasan dan gaya yang diberikan; g) hitung tensil strength kemasan menggunakan persamaan berikut ini :

$$TS = \frac{Pu}{(L - Lo) \times Ao} \text{ (kg/cm}^2\text{)}$$

TS = Tensile Strength

Pu = Beban maksimal

L = Panjang sampel akhir

Lo = Panjang sampel awal

Ao = Luas sampel awal

h. Uji ketahanan gesek
Ketahanan gesek kemasan dapat diukur dengan menggunakan alat *westover type frictionometer* (Gambar 13.17). Bahan kemasan yang akan diukur berbentuk lembaran dan kantong.



Gambar 13.17. *Westover type frictionometer* untuk mengukur gaya gesek kemasan

<http://www.emcgrath.com/catalog/images/LAB/Testing/LBI060-2.jpg>

Adapun prosedur pengujian ketahanan gesek kemasan adalah sebagai berikut ; a) Bahan yang akan diuji gaya geseknya dipotong berbentuk lingkaran dengan diameter 10 cm. Bila akan dilakukan pengujian sifat gesek antara dua sampel, sampel kedua dipotong dengan diameter 2 cm; b) pasang sampel pada roda montasi (*mounting wheel*) secara hati-hati. Hindari permukaan sampel yang akan diuji terkontaminasi debu atau sidik jari; c) atur kendali pendulum, yaitu dibuat setimbang dengan bantuan pe-

ngatur beban; d) tentukan prosedur yang akan digunakan, yaitu : Pengukuran koefisien gesek sebagai fungsi kecepatan. Data kecepatan adalah 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, dan 3.0 dan kembali lagi ke 0.25 m/dt. Jumlah angka yang tercatat dari nol dengan naik dan turunnya skala kecepatan adalah 9. Untuk mengurangi pemakaian sampel yang terlalu banyak, waktu pengujian dibatasi 1.5 menit.

Pengukuran koefisien gesek sebagai fungsi waktu. Pengujian prosedur ini untuk memperlihatkan pengaruh waktu dan kecepatan terhadap koefisien gesekan.

e) Pilih satu kecepatan yang tetap dan baca setiap interval 30 detik hingga skala pembacaan terlihat konstan (pada umumnya selama 5 menit). Jika maksud dari pengujian ini untuk uji perbandingan, gunakan kecepatan standar 1.0 m/dt; f) Jalankan mesin dan bandingkan koefisien gesek antara sampel yang diuji

i. Uji bakar

Uji bakar (*burning test*) adalah uji yang dilakukan untuk menentukan jenis plastik kemasan berdasarkan sifat pembakarannya. Pengujian ini membutuhkan bahan berupa plastik standar yang telah diketahui jenisnya dan lembaran plastik sampel yang akan ditentukan jenisnya. Adapun peralatan yang digunakan adalah lampu bunsen dan penjepit.

Prosedur pengujian uji bakar adalah sebagai berikut : 1) dekatkan lembaran plastik sam-pel ke nyala api. Perhatikan apakah plastik mengkerut, menggulung, meleleh atau membentuk butiran: 2) Bakar dan pisahkan dari api. Apakah lembaran plastik dapat terbakar sendiri? Apakah film cepat terbakar? 3) Perhatikan ketebalan dan warna apinya saat

terbakar; 4) Rasakan baunya (jangan terlalu banyak menghirup asapnya); 5) Bakar semua plastik standar dan tulis hasil pengamatan selengkapnya; 6) Dengan membandingkan terhadap standar, dapat ditentukan jenis lembaran plastik yang diuji; 7) Hasil pengamatan dicatat pada tabel 13.3 berikut :

Tabel 13.3. Rekapitulasi Hasil Uji Bakar Kemasan

Macam lembaran plastik	Macam lembaran	Membantu pembakaran (ya / tidak)	Sifat Pembakaran
Plastik 1			
Plastik 2			
...			
Plastik n			

Catatan :

Sifat Pembakaran :

- mengkerut membentuk bulatan sebelum terbakar
- mengkerut sangat cepat
- mudah / sulit terbakar
- tidak terbakar
- terbakar seperti kertas
- Terbakar dengan meneteskan bola api
- berasap

warna asap

- bau asap : manis, cuka, kertas, rambut parafin, tajam/menusuk
- tapi bukan bau parafin, sepat

menimbulkan sisa pembakaran

dll

j. Sifat barrier plastik

Sifat barrier plastik diekspresikan sebagai permeabilitas, yaitu kecepatan suatu gas atau uap air melewati suatu unit permukaan dalam suatu unit waktu (Gambar 13.18).

Permeabilitas kemasan plastik dipengaruhi oleh tekanan, luas permukaan kemasan, ketebalan kemasan, konsentrasi gas, dan temperatur.

Permeabilitas dapat dihitung berdasarkan persamaan :

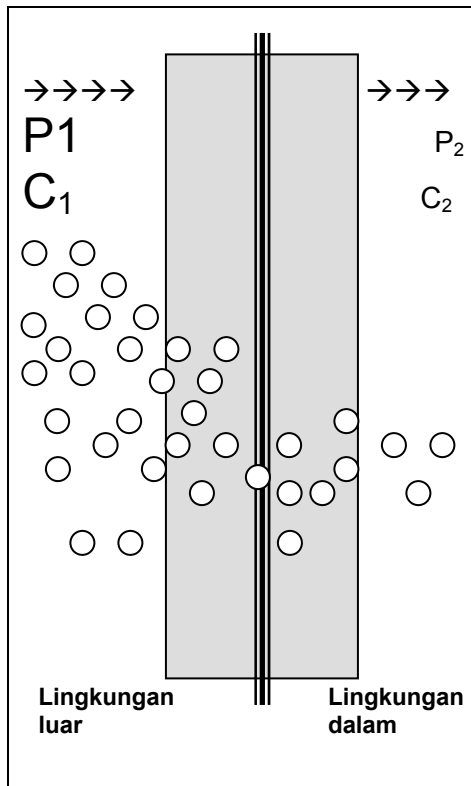
$$P = D \times S$$

Dimana

P = adalah permeabilitas, yaitu migrasi gas / uap air yang melewati kemasan;

D = adalah diffusivitas, yaitu kecepatan mol melewati kemasan, dan

S = adalah koefisien kelarutan, yaitu berapa mol melewati kemasan.



Gambar 13.18 Lingkungan luar yang memiliki tekanan dan konsentrasi gas lebih besar memungkinkan gas memasuki kemasan

k. Ketahanan sobek

Uji ketahanan sobek adalah uji untuk mengetahui berapa gaya yang masih dapat diterima kemasan sesaat sebelum kemasan tersebut sobek. Bahan yang dibutuhkan adalah kemasan lembaran tipis dari plastik berbagai jenis kertas. Alat yang digunakan adalah *Elmendorf type Tearing Tester* (Gambar 13.19.)



Gambar 13.19. Elmendorf type Tearing Tester

Prosedur pengujian ketahanan sobek adalah : a) Potong bahan yang akan diuji dengan ukuran 63 x 75 mm; b) pasang bahan yang akan diuji pada penjepit; c) turunkan pengungkit (*grip* atau *lever*) sehingga diperoleh posisi seolah-olah akan memotong sampel bagian bawah; d) gunakan tombol penggerak pisau

dan mekanisme stop sehingga pisau dan mekanisme stop akan bergerak ke kanan bawah dan akan memotong sampel tepat ditengah; e) Baca skala yang ditunjuk oleh jarum pointer stop.

I. Ketahanan lipat

Untuk mengetahui ketahanan lipat dari beberapa kemasan bahan pangan. Bahan yang digunakan berupa lembaran plastik PE, PP, dan pita film. Peralatan penentuan ketahanan lipat dari kemasan adalah kit pengujian ketahanan lipat :

1. Atur knob pada blok gir untuk menempatkan head pelipat (*folding head*) pada kedudukan tidak melipat.
2. Adapun prosedur pengujian adalah sebagai berikut : (a) potong lembaran plastik yang akan diuji dari berbagai arah dengan ukuran 15 x 110 mm.
3. Pasang beban yang akan digunakan pada *plunger*. Tekan bagian atas *plunger* dan kunci dengan stopper, dan atur load indikator pada skala yang ditunjukkan oleh beban.
4. Jepit contoh dengan kuat dan usahakan kencang.
5. Usahakan jangan disentuh bagian yang akan terlipat.
6. Kendurkan stopper secara hati-hati agar perubahan tegangan tidak mempengaruhi kedudukan sampel.

7. Jika terjadi perubahan skala pada penunjuk beban (*load indikator*), lakukan pengecekan ulang pada sampel yang dijepit dengan tegangan yang sesuai.
8. Jika memungkinkan gunakan tegangan sekitar 1 kg, tetapi jika tidak memberikan hasil yang baik gunakan tegangan yang lebih kecil atau lebih besar.
9. Atur pencatat lipatan pada kondisi nol. Pelipatan diupayakan berlangsung dengan kecepatan normal sekitar 175 per menit hingga sampel patah.

13.3. Kemasan Kaleng dan Gelas

Penggunaan kaleng dan gelas sebagai kemasan bahan pangan sudah banyak ditemui, baik yang dikemas secara hermetis atau hanya sebatas sebagai wadah. Pengemasan dengan kaleng dan gelas memberikan masa simpan lebih lama, karena kemasan dapat memberikan perlindungan pada bahan pangan yang dikemasnya.

Teknologi pengalengan bahan pangan sudah diterapkan sejak abad XVIII. Kemasan kaleng dan gelas mampu memberikan keunggulan, antara lain mampu menciptakan kondisi kedap udara, lebih ringan dari gelas yang juga memiliki kemampuan menciptakan kondisi kedap

yang berlawanan; 3) *springer*, salah satu ujung datar, sedang ujung lainnya cembung. Jika ditekan akan cembung ke arah berlawanan, dan 4). *swell* (cembung) yang dibedakan atas *soft swell* dan *hard swell*. Kaleng menjadi cembung karena adanya bakteri pembentukan gas.

Apabila anda hendak memilih bahan pangan yang dikemas dengan kaleng, beberapa saran berikut ini dapat menjadi bahan pertimbangan, yaitu : a) Pilih kaleng yang tidak bocor ada atau pengkaratan terutama di lipatan kaleng tutup atau sambungan kaleng; b) perhatikan tanggal kadaluarsanya; c) perhatikan tanda-tanda kerusakan kaleng; d) pilihlah ukuran kemasan yang sesuai untuk sekali pakai karena akan mengalami penurunan mutu. Bila tidak habis sekali makan, sisanya sebaiknya segera dipindahkan ke wadah lain dan simpan di lemari pendingin.

Latihan

Untuk lebih memahami peran kemasan, sebaiknya Saudara memahami tugas dan latihan berikut ini :

1. Disamping keunggulan yang dimiliki oleh kemasan plastik dan kertas, cobalah Saudar perhatikan di sekelilingnya, apa kerugian yang ditimbulkan karena penggunaan kemasan plastik dan kertas. Jawaban Saudara disajikan

dalam tabel yang memuat : jenis kemasan, keuntungan, kerugian, dan cara mengatasinya.

2. Mengapa produk pangan yang dikemas harus dihabiskan sekali pakai?
3. Mengapa sisa produk kaleng harus didinginkan dan tidak boleh berada dalam kemasan kaleng tetapi harus dipindahkan ke wadah lain.
4. Apa keunggulan dan kelemahan kemasan gelas dengan kemasan kaleng ?

BAB XIV

ANALISIS MIKROBIOLOGIS

Hampir di semua tempat dapat dijumpai mikroba, baik di udara, air, tanah maupun permukaan meja atau peralatan. Semuanya dapat berperan sebagai sumber kontaminasi eksternal bahan dan produk pangan.

Di alam, populasi mikroba tidak memisahkan diri tetapi berada dalam campuran dengan berbagai sel lainnya. Di laboratorium, populasi mikroba ini dapat dipisahkan menjadi kultur murni. Kultur ini mengandung hanya satu jenis organisme dan cocok untuk mempelajari sifat morfologis dan biokimianya.



Gambar 14.1. Berbagai jenis mikroba yang diambil dari kulit ikan

14.1 Teknik kerja aseptis

Kemampuan teknik seseorang bekerja secara aseptik selama pengambilan sampel maupun pengujian mikrobiologis di lapangan dan di laboratorium sangat untuk menjaga integritas sampel berikut sumbernya serta memperoleh data hasil uji mikrobiologis yang akurat.

Peralatan laboratorium yang diperlukan untuk bekerja secara aseptik antara lain :

1. Wadah yang steril untuk digunakan sebagai tempat penyimpanan contoh
2. Perlengkapan sebagai pendukung agar tercapai kondisi steril seperti bunsen, pisau steril, wadah pengangkut berpendingin, refrigerator, freezer, es kering, tabung nitrogen cair, anaerobic jar, inkubator, penangas air, autoclaf, laminar flow, biohazard cabinets.
3. Peralatan untuk pemindahan sampel / media atau kultur cair antara lain medium cair steril, media padat steril siap pakai, media untuk kultur jaringan maupun media untuk sistem kultur kontinu.

14.2 Menyiapkan peralatan dan media kultur mikroba

Tidak ada media tunggal yang hanya ditumbuhi oleh satu jenis mikroba. Setiap media dapat ditumbuhi oleh beberapa jenis mikroba. Makin spesifik suatu media, maka semakin sedikit jenis mikroba yang dapat tumbuh pada media tersebut, dengan demikian makin baik media tersebut untuk menetapkan jenis mikroba kontaminan. Namun karena tidak ada satu jenis media yang hanya dapat ditumbuhi oleh satu jenis mikroba, maka perlu menggunakan kombinasi beberapa media. Bila menggunakan media seperti dianjurkan oleh Farmakope, pada umumnya sudah cukup untuk menetapkan jenis mikroba kontaminan patogen yang dipersyaratkan. Bila menggunakan beberapa media secara bersama dapat menimbulkan permasalahan, karena jika kontaminan lebih dari satu jenis maka koloni pada media yang berbeda mungkin dari jenis berbeda. Dengan demikian media satu tidak memperkuat kesimpulan dari media yang lain. Disamping itu, penggunaan beberapa media secara bersama dapat menjadi pemborosan.

Untuk mengantisipasi hal ini dapat dilakukan satu media pada tahap pertama dan dilanjutkan dengan media lain jika hasilnya meragukan. Akan tetapi yang

menjadi pertanyaan adalah media yang mana harus digunakan lebih dahulu. Untuk menentukan media yang dipergunakan maka diperlukan analisa mengenai sifat mikroba yang diuji dan media yang digunakan (Tabel 14.1). Komponen yang terkandung pada media dan reaksi/respon yang terjadi bila suatu jenis mikroba tumbuh merupakan pengetahuan yang sangat diperlukan. Dari pengetahuan tersebut maka urutan media yang digunakan akan lebih mudah ditentukan dan hasilnya akan saling memperkuat untuk menetapkan jenis kontaminan tersebut. Namun dengan cara demikian walaupun dapat menghemat penggunaan media dan jenis kontaminan dapat ditetapkan dengan yang lebih baik tetapi memerlukan waktu pengujian lebih lama.

14.2.1 Penyiapan peralatan

Peralatan utama yang perlu dipersiapkan dalam analisis biologis adalah tabung uji dan cawan petri, ose (*loop*) dan jarum (*needle*), pipet, ruang kultur, shaking waterbath, dan refrigerator.

Tabung uji dan cawan petri digunakan untuk mengkultur mikroba. Tabung uji terbuat dari kaca, sedangkan cawan petri terbuat dari kaca atau plastik.

Media tumbuh yang ditambahkan ke tabung uji dapat berupa media kaldu atau agar, sedangkan pada

cawan petri hanya berbentuk agar (Tabel 14.1).

Kondisi steril dalam tabung kultur dipertahankan dengan berbagai tipe penutup. Tipe penutup yang pertama adalah **cotton plug** (Gambar 14.2.) yang dikembang-

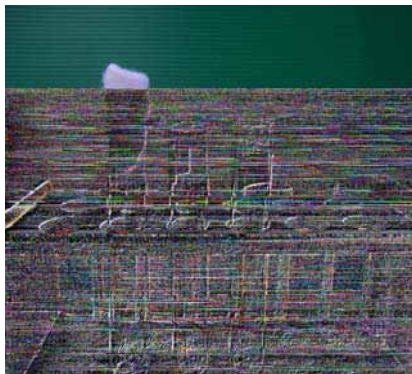
kan oleh Schroeder dan von Dusch di abad ke-19. Pada saat ini banyak digunakan **sleevelike cup** yang terbuat dari logam atau plastik tahan panas (Gambar 14.3).

Tabel 14.1. Mikroba, media, dan karakteristik

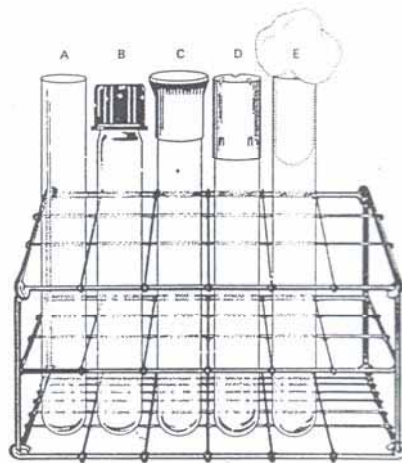
Mikroba	Media	Karakteristik
Staphylococcus aureus	Mannitol salt agar (MSA)	Kuning dengan zona kuning
	Vogel Johnson Agar (VGA)	Hitam dikelilingi zona kuning
	Baird Parker Agar (BPA)	Hitam berkilau di kelilingi zona jernih
Pseudomonas aeruginosa	Cetrimide Agar Medium (CAM)	Kehijauan
	Pseudomonas Agar Medium- deteksi fluoresin (PAM-p)	Kekuningan
Salmonella sp.	Bismuth Sulfite Agar (BSA)	Hitam atau hijau
	 Brilliant Green Agar (BGA)	Hitam atau hijau Kecil, transparan, tidak berwarna atau merah muda hingga buram, dikelilingi zona merah muda
Escherichia coli	Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar Medium (XLD)	Merah, dengan atau tanpa pusat berwarna hitam
	Eosin Methylene Blue (L.EMB)	Koloni hitam dengan kilap logam
	MacConkey Agar (MCA)	Merah bata, dikelilingi endapan empedu

Cawan petri memiliki permukaan yang relatif lebih luas untuk pertumbuhan dan pengembangan mikroba dibandingkan dengan tabung uji. Cawan petri terdiri dari dua bagian. Bagian bawah cawan yang mengandung medium dan bagian atas cawan yang berfungsi sebagai penutup. Cawan petri dibuat dengan berbagai ukuran, sesuai kebutuhan penelitian.

Umumnya digunakan cawan petri dengan diameter 15 cm. Media agar cair steril dari *agar deep tube* sebanyak 15-20 ml dituangkan ke cawan yang telah disterilkan sebelumnya. Dapat juga medium cair steril yang dibuat dalam labu 250 atau 500 ml. Bila didinginkan hingga suhu 40 °C, medium tersebut akan membeku.



Gambar 14.2. Cotton plog



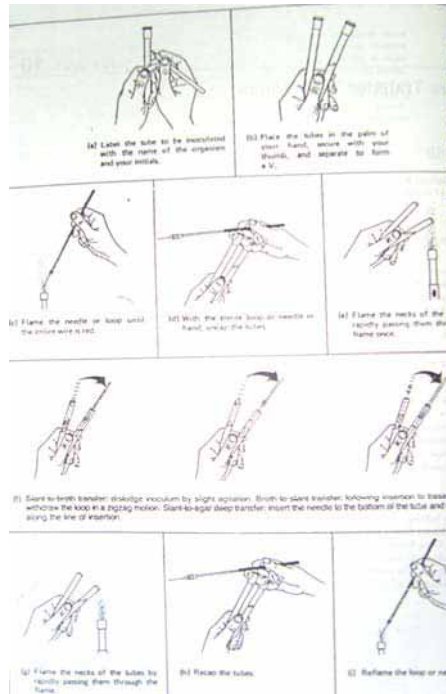
Gambar 14.3. Sleeve-like cup
Sumber : Cappuccino, 1987

Pada saat inkubasi, cawan petri harus disimpan dalam inkubator dengan posisi terbalik. Bagian tutupnya terletak di bagian bawah. Posisi demikian bertujuan untuk mencegah pengembunan pada permukaan tutup selama pembekuan media agar menetes ke permukaan media agar.

Mikroba perlu dipindahkan dari satu tempat ke tempat lainnya, atau dari *stock culture* ke berbagai media untuk dipelihara atau dipelajari. Pindahan tersebut disebut *subculturing* dan harus dilakukan dalam kondisi lingkungan steril untuk mencegah kemungkinan terjadinya kontaminasi.

Pemindahan mikroba dapat dilakukan dengan menggunakan kawat ose dan jarum (Gambar 14.4.). Keduanya terbuat dari ni-

kel atau platina dan dimasukkan ke dalam logam yang berfungsi sebagai pegangan. Keduanya merupakan peralatan yang tahan dan mudah disterilisasi dengan membakarnya dalam bagian api yang biru dari api pembakaran Bunsen.



Gambar 14.4. Pemindahan mikroba menggunakan ose

Sumber : Cappuccino, 1987

Pemindahan mikroba secara steril juga dapat dilakukan dengan menggunakan pipet. Pipet dapat berperan sebagai sedotan yang mengangkat cairan. Alat ini terbuat dari kaca atau plastik. Pipet dapat disterilisasi dengan cara

memasukkan semuanya ke *kanister* atau masing-masing dibungkus kertas coklat dan disterilisasi dalam otoklaf (*autoclave*) atau oven pengering panas.

Mikroba yang telah dipindahkan perlu ditumbuhkan. Agar tumbuh baik, diperlukan ruangan kultur yang mampu mempertahankan kondisi suhu. Kebutuhan utama dalam kultur mikroba adalah mengupayakan mereka dapat tumbuh dalam temperatur optimum.

Inkubator dapat digunakan untuk mempertahankan suhu optimum selama periode pertumbuhan mikroba. Inkubator mempunyai prinsip kerja seperti oven, dimana pengontrolan suhu dilakukan dengan menggunakan termostate. Dengan demikian, suhu dapat diubah sesuai kebutuhan mikroba yang spesifik.

Sebagian besar inkubator menggunakan panas kering. Uap air disuplai dengan meletakkan gelas Beaker berisi air dalam inkubator selama periode pertumbuhan. Kondisi lembab mencegah terjadinya dehidrasi dari medium dan dengan demikian menghindari terjadinya kesalahan hasil penelitian.

Shaking waterbath adalah alat yang digunakan untuk mengkultur mikroba. Alat ini dapat memanasakan dan menggoyangkan. Keuntungan penggunaan alat ini adalah mempermudah dan me-

nyeragamkan penyebaran panas ke wadah kultur. Gerakan menggoyang (*agitation*) dapat membantu meningkatkan proses aerasi sehingga mempercepat pertumbuhan mikroba. Kerugian alat ini hanya dapat digunakan untuk mengkultur mikroba dalam satu medium kaldu.

Refrigerator memiliki beragam fungsi dalam bidang biologi, diantaranya berperan memelihara dan menyimpan kultur stok diantara dua periode penanaman, menyimpan media steril untuk mencegah dehidrasi, dan berperan sebagai gudang bagi larutan yang tidak tahan panas, antibiotik, serum, dan reagen biokimia-wi.

14.2.2 Penyiapan media

Untuk tumbuh dan berkembang, mikroba membutuhkan suplai nutrisi yang memadai dan lingkungan pertumbuhan yang sesuai. Di laboratorium, suplai nutrisi diberikan dalam bentuk media kultur yang mengandung senyawa sederhana.

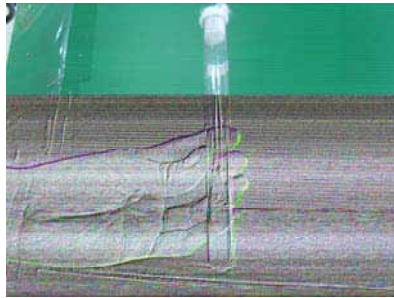
Media kultur dapat berbentuk cair, semi padat, dan padat. Media kultur berwujud cair tidak mengandung agar sebagai pengental dan biasa disebut medium kaldu (*broth medium*). Penambahan agar menjadikan medium berbentuk semi padat dan padat.

Agar merupakan ekstrak rumput laut, yaitu karbohidrat yang dido-

minasi oleh galaktosa dan tidak mengandung nutrisi. Media padat telah membutuhkan 1.5-1.8 % agar, sedangkan media semi padat membutuhkan < 1% agar.

Agar berperan sebagai agen pengental yang baik. Agar mencair pada suhu 100°C dan mengental pada suhu 40 °C. Karena sifat ini, organisme dapat dikultur pada suhu 37.5 °C atau sedikit lebih tinggi tanpa khawatir mediumnya mencair.

Media padat dapat disimpan dalam tabung reaksi, yang diikuti dengan pendinginan dan pengerasan sehingga membentuk agar miring (*agar slants*) (Gambar 14.5.). Media ini digunakan untuk memelihara biakan murni untuk tujuan sub culturing. Dengan cara yang sama, pada saat membeku tidak dibuat miring tetapi tegak sehingga menghasilkan *agar deep tubes* (Gambar 14.6.). Agar ini digunakan terutama untuk mempelajari kebutuhan mikroba akan gas. Agar dalam tabung reaksi dapat dicairkan dalam water bath mendidih dan dituangkan ke cawan petri sehingga menghasilkan lempengan agar (*agar plate*)(Gambar 14.7.). Agar ini memiliki permukaan lebih luas untuk isolasi dan mempelajari mikroba.



Gambar 14.5. Agar miring



Gambar 14.6. Agar deep tube



Gambar 14.7. Lempengan agar pada cawan petri

14.2.3 Fungsi Media

Media merupakan tempat yang baik untuk tumbuhnya mikroba, karena media memiliki nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh dan berkembang. Media ada yang bersifat umum dan ada yang khusus. Media yang bersifat khusus untuk membantu mengisolasi dan mengidentifikasi mikroba spesifik. Untuk tujuan khusus, media dapat dibagi menjadi (a) selektif; (b) diferensial, (c) enrichment, dan (d) kombinasi media selektif dan diferensial.

a. Media Selektif

Media selektif dibuat dengan penambahan senyawa kimia yang dapat menghambat satu kelompok mikroba yang lain namun memacu pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Contoh berikutnya dari Eropa adalah Columbia CNA. Agar yang mengandung antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan gram negatif, namun tidak terhadap bakteri gram positif (Gambar 14.8).

b. Media Differensia

Media differensia mengandung bahan tambahan yang dapat menyebabkan perubahan warna media apabila terjadi reaksi kimia tertentu. Media ini digunakan untuk membedakan bakteri berdasarkan karakteristik biokimia. Perubahan warna dalam koloni disebabkan oleh fermentasi bak-

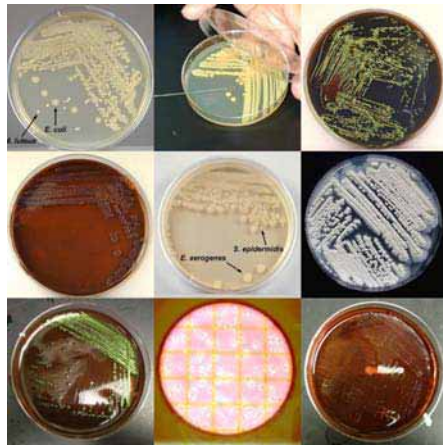
teri terhadap laktosa, dimana bila tidak berwarna menunjukkan adanya enzim laktosa non fermenter.

c. Media Diperkaya

Media diperkaya mengandung aditif yang menghambat pertumbuhan dan membantu meningkatkan pertumbuhan organisme tertentu

d. Kombinasi media selektif dan differencial

Kombinasi media selektif dan differensial memungkinkan menghambat pertumbuhan mikroba yang satu dengan pertumbuhan lainnya



Gambar 14.8. Berbagai Media Selektif

Sumber : Berbagai sumber

14.3 Inokulasi

Inokulasi adalah teknik pemindahan mikroba dari satu media ke media lainnya secara subculture. Bentuk subculture ada yang

menggunakan kaldu sebagai media dan agar miring, tegak, atau lapisan. Inokulasi merupakan teknik yang penting dan banyak digunakan dalam penyiapan dan pemeliharaan kultur stok dan prosedur pengujian mikroba.

Prosedur transfer kultur adalah sebagai berikut :

1. Jarum atau ose inokulasi harus selalu disterilisasi dengan menahannya di bagian terpanas dari api pembakar Bunsen hingga kawat menjadi merah panas. Dalam keadaan panas, loop jangan pernah dimasukkan ke media berisi mikroba akan tetapi dipertahankan dahulu di udara selama 10-20 detik hingga mendingin.
2. Tabung kultur stok dan tabung yang akan diinokulasi dipegang dalam telapak tangan dan ditahan dengan jari jempol. Kedua tabung membentuk huruf V. Kedua dibuka dengan mengambil tutup pertama dengan jari kelingking dan tutup kedua dengan jari tengah. Selama dibuka, kedua tutup harus tetap dipertahankan di tangan yang sedang memegang jarum atau ose steril.
3. Setelah tutup dilepas, leher tabung dilewatkan secara cepat melalui api.
4. Peralatan transfer yang sudah steril didinginkan lebih lanjut dengan menyentuhkannya ke dinding bagian dalam dari ta-

- bung kultur yang sudah steril sebelum mengambil sampel inokulum.
5. Tergantung media kultur, jarum atau ose digunakan untuk mengambil inokulum. Jarum ose umumnya digunakan untuk mengambil contoh kultur dari kultur kaldu (*broth culture*). Salah satu alat dapat digunakan untuk mengambil inokulum dari kultur agar miring (*agar slant culture*) dengan menyentuhkan secara hati-hati ke permukaan media padat di daerah yang terlihat ada pertumbuhan jadi jangan mencungkil agar. Jarum selalu digunakan bila memindahkan mikroba ke *agar deep tube* baik dalam bentuk kultur cair atau padat.
 6. Ose atau jarum yang telah mengandung sel dimasukkan ke tabung subculture. Dalam media kaldu, ose atau jarum digoyang secara perlahan untuk melepaskan mikroba; dalam medium agar miring (*agar slant culture*) keduanya menggambar tipis diatas permukaan yang telah mengental sebuah garis lurus atau zig-zag. Untuk inokulasi pada *agar deep tube*, jarum dimasukkan ke dasar tabung dengan membentuk garis lurus dan secara cepat menggambar sepanjang garis lurus tersebut.
 7. Setelah inokulasi, peralatan dikeluarkan, leher tabung dipanaskan kembali, dan tutup

dipasang kembali seperti semula.

8. Ose dan jarum dipanaskan kembali untuk membunuh mikroba yang ada.

14.3.1 Isolasi Koloni Diskret dari Kultur campuran

Teknik yang umum digunakan untuk mengisolasi koloni diskret didasari oleh kebutuhan akan organisme tertentu. Dengan demikian mulai dikembangkan apa yang disebut kultur murni. Untuk membuat kultur murni dari kultur campuran harus dilakukan dua langkah utama, yaitu : 1) kultur campuran diencerkan sehingga mikroba secara individual menjadi terpisah cukup jauh pada permukaan lempeng agar, sehingga setelah masa inkubasi masing-masing koloni dapat dipisahkan dari lainnya. Lempeng agar seperti ini disebut **lempeng isolasi** dan 2) mikroba yang sudah dipisahkan dari lempeng isolasi selanjutnya dipindahkan ke media steril lainnya. Setelah diinkubasi, semua organisme di media kultur yang baru akan tumbuh bersama dengan jenisnya. Kultur ini dikenal sebagai **kultur murni**.

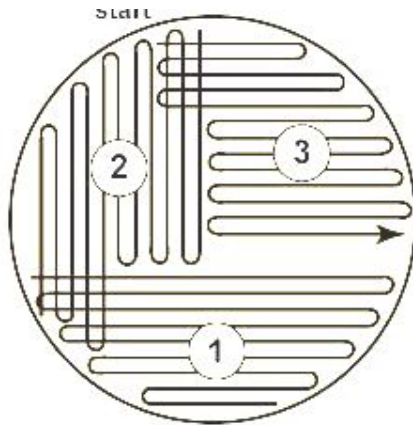
14.3.1.1. Metode *streak-plate*

Metode *streak-plate* (lempeng gores) adalah teknik menumbuhkan mikroba di dalam media agar dengan cara menggores (*streak*) permukaan agar dengan jarum ose yang telah diinokulasikan dengan kultur mikroba. Dengan teknik ini mikroba yang tumbuh

akan tampak dalam jalur goresan bekas dari streak jarum ose. Teknik isolasi mikroba ini dapat dianggap cepat secara kualitatif. Ini merupakan teknik pengenceran penting yang melibatkan penyebaran satu ose kultur ke permukaan lempengan agar.

Ada beberapa cara untuk menggoreskan mikroba ke media agar, diantaranya adalah penggoresan *four way* atau *quadrant streak*. Adapun cara kerja metode lempeng gores adalah sebagai berikut :

- a) Tuang media agar cair ke dalam cawan petri, lalu biarkan hingga mengeras.
- b) Bagi tiga bidang permukaan atas cawan petri yang akan digores dengan spidol atau lainnya.
- c) Bakar jarum ose dari bagian pangkal dalam terus hingga ke bagian lup (ujung) sampai berpijar merah.
- d) Panaskan bibir tabung reaksi yang berisi kultur mikroba dengan cara memutar tabung sehingga semua bagian bibir tabung terkena api.
- e) Segera masukkan jarum ose ke dalam tabung reaksi untuk mengambil mikroba, lalu segera keluarkan. Usahakan ketika memasukkan jarum ose jangan sampai menyentuh dinding tabung dan selalu dilakukan dekat pembakar bunsen.
- f) Goreskan ke atas permukaan agar dalam cawan petri secara perlahan-lahan. Usahakan jangan sampai agar hancur atau tergores.
- g) Letakkan ose yang telah berisi mikroba di atas permukaan agar pada daerah 1 hingga mikrobanya menempel pada permukaan agar.
- h) Ose dibakar hingga berpijar dan dinginkan. Letakkan ose pada lempengan agar dimana terdapat mikroba dan gosokan secara cepat beberapa kali ke permukaan daerah 1.
- i) Bakar kembali ose hingga berpijar dan dinginkan. Putar cawan petri hingga membuat sudut 90° dengan daerah 1. Sentuhkan ose ke media kultur di daerah 1, dan gosokan beberapa kali ke media agar di daerah 2.
- j) Bakar kembali ose dan dinginkan. Putar kembali cawan petri hingga membentuk sudut 90° dengan daerah 2. Ambil mikroba dari daerah 2 dan goreskan di daerah 3 dengan cara yang sama seperti di daerah 2 (Gambar 14.9).



Gambar 14.9. Isolasi mikroba dengan metode lempeng gores

Sumber :

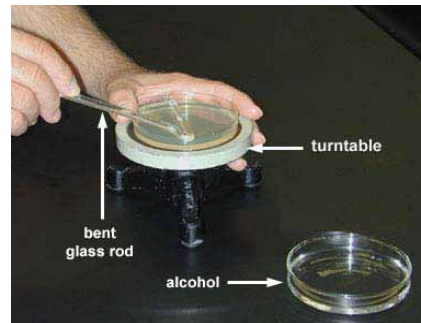
www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

- k) Tanpa membakar kembali ose, putar kembali cawan petri hingga membuat sudut 90° dengan daerah 3. Ambil mikroba dari daerah 3 dan goreskan ke daerah 4 dengan membentuk garis yang lebar.
- l) Bungkus cawan petri dengan kertas coklat, inkubasi dalam inkubator dan amati koloni yang terbentuk.

14.3.1.2 Teknik *spread-plate*

Teknik *spread-plate* (lempeng sebar atau juga sering disebut *spin plate*) membutuhkan campuran mikroba yang dilarutkan terlebih dahulu. Selama inokulasi, sel akan disebar ke seluruh permukaan medium agar padat dengan steril.

Penyebaran mikroba dilakukan dengan menggunakan *L-shaped bent rod* dimana cawan petri diletakan pada "lazy-susan" turntable sehingga dapat diputar hingga 360° (Gambar 14.10).



Gambar 14.10. Inokulasi mikroba dengan metode lempeng sebar

Sumber :

www.thesciencefair.com/Merchant2/merchant.mvc...

Adapun tahapan inokulasi mikroba dengan metode lempeng sebar adalah sebagai berikut :

- a) Letakan bent glass rod ke dalam gelas beaker dan tambahkan etil alkohol 96 % hingga menggenangi bagian bawah bent.
- b) Dengan ose yang telah disterilkan, ambil satu ose penuh kultur mikroba dan letakan ke bagian pusat dari agar plate. Pasang kembali tutupnya.
- c) Keluarkan glass rod dari gelas beaker dan bakar di api pembakar Bunsen. Posisi bagian bent dari glass rod

harus selalu di bagian bawah untuk mencegah alkohol yang terbakar mengalir ke tangan. Biarkan hingga alkohol yang terbakar mati semuanya.

- d) Dinginkan rod selama 10-15 detik. Buka tutup cawan petri dan putar pada "lazy-susan" turntable. Selama "lazy-susan" turntable berputar, sentuhkan bent rod steril ke permukaan agar. Gerakan diulangi kembali sehingga kultur mikroba menjadi tersebar di permukaan media agar.
- e) Bila gerakan berputar "lazy-susan turntable" telah berhenti, letakkan kembali tutup cawan petri. Rendam rod dalam alkohol dan bakar kembali.

Selain menggunakan *L-shaped bent rod*, teknik lempeng sebar juga dapat dikerjakan dengan menggunakan pipet dan metode *swab*. Adapun cara kerja lempeng sebar menggunakan pipet adalah sebagai berikut :

- a) Tuang media agar cair ke dalam cawan petri, lalu biarkan hingga mengeras.
- b) Pipet beberapa ml kultur mikroba dan campurkan ke dalam beberapa ml aquades sesuai dengan pengenceran yang dikehendaki.
- c) Aduk campuran hingga merata dengan cara memutar

tabung reaksi pada telapak tangan selama beberapa kali.

- d) Pipet larutan pengenceran tadi sebanyak ± 1 ml ke dalam cawan petri.
- e) Putar cawan petri secara perlahan-lahan di atas meja untuk meratakan larutan dilusi tadi di atas permukaan media agar.
- f) Lakukan proses inkubasi dan amati pertumbuhan koloni mikroba.

Adapun cara kerja lempeng sebar menggunakan metode *swab* (usap) adalah sebagai berikut :

- a. Tuang media agar cair ke dalam cawan petri, lalu biarkan hingga mengeras.
- b. Pipet beberapa ml kultur mikroba dan kemudian campurkan ke dalam beberapa ml aquades sesuai dengan dilusi yang dikehendaki.
- c. Aduk hingga merata dengan cara memutar tabung reaksi dengan telapak tangan selama beberapa kali.
- d. Masukkan *swab stick* (tangcai apus) steril ke dalam tabung reaksi hingga bagian kapasnya tenggelam di dalam larutan dilusi. Usahkan memasukkan tangcai apus jang

- sampai menyentuh dinding tabung reaksi.
- Apus ke atas permukaan agar dengan perlahan-lahan secara merata. Ingat, usahakan jangan sampai agar hancur atau tergores.
 - Lakukan proses inkubasi dan amati pertumbuhan koloni mikroba.
 - Pipet larutan tersebut sebanyak ± 1 ml ke dalam cawan petri.
 - Tuang media agar yang masih cair (suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$) ke dalam cawan petri tersebut (Gambar 14.11).
 - Putar cawan petri secara perlahan-lahan di atas meja horizontal untuk mengaduk campuran media agar dengan kultur mikroba.
 - Lakukan proses inkubasi dan amati pertumbuhan koloni bakteri.

14.3.1.3 Teknik *Pour Plate*

Teknik pour-plate (lempeng tuang) adalah teknik inokulasi mikroba di dalam media agar dengan cara mencampurkan media agar yang masih cair dengan kultur mikroba.

Teknik lempeng tuang biasa digunakan pada uji TPC (*Total Plate Count*). Kelebihan teknik ini adalah mikroba yang tumbuh dapat tersebar merata pada media agar.

Adapun tahapan kerja teknik lempeng tuang adalah sebagai berikut :

- Pipet beberapa ml kultur mikroba dan campurkan dengan beberapa ml aquades sesuai dengan pengenceran yang dikehendaki.
- Aduk hingga merata dengan cara memutar tabung reaksi menggunakan kedua telapak tangan selama beberapa kali.



menggunakan isolat yang berasal dari campuran kultur agar streak-plate dan/atau spread plate.

Adapun prinsipnya adalah koloni yang telah disebar dengan baik akan berkembang pada permukaan media agar. Masing-masing mikroba dapat dipindahkan dengan jarum steril dan ditumbuhkan pada media agar miring (*agar slant*). Masing-masing media agar miring mewakili pertumbuhan dari satu spesies mikroba dan dirancang sebagai kultur murni atau cadangan (stock).

Pembuatan media agar miring adalah sebagai berikut : a) Tuang media agar ke dalam tabung reaksi secara aseptis dan b) Dinginkan agar pada tabung reaksi dalam keadaan miring ($\pm 20-30^{\circ}$)

Prosedur pembuatan kultur murni pada media agar miring adalah sebagai berikut :

- a) Gunakan pinsil lemak untuk menandai tabung reaksi berisi nutrien agar miring.
- b) Transfer secara aseptik mikroba dari media streak-plate dan/atau spread plate dengan prosedur sebagai berikut : (1) Bakar jarum ose hingga kawat berpijar merah dan dinginkan; (2) Setelah dingin, sentuhkan jarum ke koloni mikroba yang diinginkan pada agar lempeng gores / sebar; (3) Buka tutup tabung agar miring dan lewatkan leher

tabung secara cepat melalui api pembakar Bunsen; 4) Inokulasi agar miring dengan cara menggeser jarum ose dari bawah ke arah atas membentuk gerakan zigzag sepanjang permukaan agar. Jangan sampai menggali ke dalam media agar atau merusak permukaan media agar.

- c) Panaskan kembali leher tabung reaksi dan tutup kembali.
- d) Bakar jarum inokulasi dan simpan.
- e) Inkubasi ke dalam inkubator dan amati bentuk koloni yang tumbuh. Lama proses inkubasi juga mempengaruhi perhitungan mikroba. Perhitungan mikroba yang diinkubasikan selama 18 jam memberikan hasil lebih baik dibandingkan 24 jam. Namun demikian, beberapa mikroba membutuhkan masa inkubasi lebih lama lagi.

14.4 Pengujian Mikrobiologi

14.4.1 Penanganan Sampel

Pengambilan dan penanganan sampel, termasuk pengenceran, merupakan bagian penting dalam analisis mikroba pada bahan pangan. Pengambilan sampel harus sedemikian rupa sehingga dapat mewakili keseluruhan bahan pangan.

Sampel yang telah diambil harus disimpan dalam wadah tertutup untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Pengambilan sampel

harus dapat dilakukan dengan menggunakan teknik aseptik dan peralatan yang steril. Sterilisasi peralatan selama di lapangan dapat dilakukan dengan pencucian dan pembakaran dengan propane. Penggunaan alkohol sebagai anti septik dikhawatirkan akan menyebabkan kebakaran.

Wadah yang digunakan untuk menyimpan sampel harus bersih, kering, mempunyai tutup besar dan mampu menyimpan sampel dengan bobot 100 g atau lebih. Kantong plastik sering digunakan sebagai wadah sampel. Jangan menulis informasi data sampel langsung ke kantong plastik, tetapi gunakan lakban atau kertas label.

Data sampel yang dicantumkan pada lakban atau kertas label antara lain : 1) tempat, hari, tanggal dan jam pengambilan sampel; 2) uji mikrobiologis yang akan diterapkan; 3) nama dan alamat perusahaan pemohon; 4) kode atau jumlah sampel; 5) deskripsi sampel; 6) nama dan tanda tangan kolektor; 7) hari, tanggal, dan jam diterima di laboratorium; atau 8) tanda tangan orang yang menerima sampel di laboratorium. Semua informasi ini mempengaruhi interpretasi dan hasil akhir.

Sampel yang dikirim ke laboratorium untuk dianalisa harus dipertahankan seperti dalam kondisi tempat asalnya. Sampel beku

atau dingin harus dipertahankan tetap beku/dingin hingga tiba di laboratorium. Pengiriman sampel dilakukan sesegera mungkin.

Pada saat akan dianalisis, sampel beku harus dicairkan dengan cara menyimpannya selama 18 jam pada suhu 2^o-5^oC dan segera ditangani. Secara umum, semua sampel harus sudah dianalisis dalam waktu 36 jam sejak diterima di laboratorium.

14.4.2 Pengujian Morfologis

Inokulasi mikroba pada agar miring adalah untuk melihat karakteristik koloni bakteri yang tumbuh. Tiap bakteri memiliki karakteristik morfologi yang berbeda (Tabel 14.2.).

14.4.3 Pewarnaan Mikroba

Mikroba berukuran kecil dan terlihat transparan atau tidak berwarna, sehingga sering menimbulkan kesulitan dalam pengamatan. Untuk mengatasi hal tersebut, mikroba harus diwarnai terlebih dahulu.

Pewarnaan dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pewarnaan asam dan basa. Pewarnaan asam yang terdiri dari garam natrium, kalium, kalsium, atau ammonium yang bersifat negatif. Pewarnaan basa yang terdiri dari garam klorida dan sulfat yang bersifat positif.

Tabel 14.2. Karakteristik Pertumbuhan Koloni Bakteri

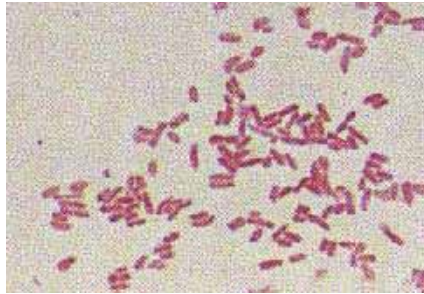
Karakter	Deskripsi
Ukuran	Diameter koloni yang diukur di dalam mm cm
Bentuk Keseluruhan Koloni	Sirkular, irregular, punctiform, rhizoid
Tepi / Margin	Entire, lobate, erose, undulate
Elevasi	Datar (flat), raised, convex (cembung), pulvinate, umbonate, crateriform
Permukaan	Wrinkled, rough (kasar), concentric rings, dull, glistening, seperti berlemak
Pigmentasi	merah, kuning, krim, putih, tidak berwarna
Kelarutan dalam air	larut dalam air, tidak larut dalam air
Opasitas	Transparan, translucent, opaque
Bau	manis, busuk, menyerupai bau buah

Teknik pewarnaan mikroba dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pewarnaan sederhana dan diferensial. Pewarnaan sederhana adalah pewarnaan yang hanya menggunakan satu pewarna saja. Pewarnaan sederhana (Gambar 14.12) dilakukan untuk melihat bentuk morfologi mikroba (apa-

kah koma, batang, spiral atau bulat) dan bentuknya (apakah berbentuk rantai, berpasangan, berempat (*tetrad*) atau banyak (*kluster*)).

Pewarnaan diferensial adalah pewarnaan yang menggunakan dua zat pewarna. Pewarnaan diferen-

sial dimaksudkan untuk menghasilkan warna yang kontras antara komponen yang akan diamati dengan sekelilingnya, sehingga akan memberi kemudahan dalam pengamatan mikroba (Gambar 14.13).



Gambar 14.12. Pewarnaan sederhana ditujukan untuk mengamati bentuk morfologis mikroba

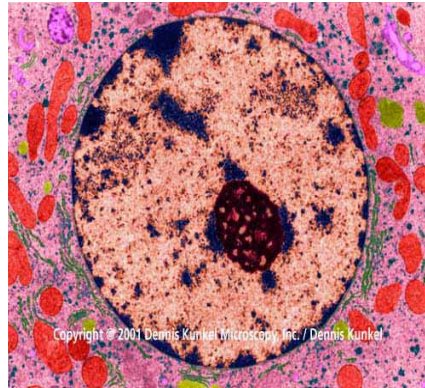
Sumber : Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

Pewarnaan diferensial dapat dibagi dua, yaitu : (1) untuk memisahkan kelompok mikroba sehingga dikenal pewarnaan Gram dan pewarnaan asam; dan 2) untuk melihat struktur mikroba sehingga dikenal pewarnaan flagel, kapsul, spora, atau inti sel.

14.4.4 Pengujian Turbiditas

Pengujian turbiditas serupa dengan teknik agar miring, namun teknik ini menggunakan media *broth* (kaldu) dan yang diamati adalah karakteristik kekeruhannya. Tiap mikroba memiliki karakteristik turbiditas (kekeruhan)

yang berbeda-beda. Ada diantara mikroba yang membentuk partikel melayang (*flocculent*) di dalam media *broth*. Ada yang terendimentasi, melayang di permukaan saja (*pellicle*) dan ada pula yang melayang di permukaan berbentuk seperti cincing (*ring*).



Gambar 14.13. Pengamatan inti sel dengan pewarnaan diferensial

Sumber : Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

Pengujian turbiditas dapat dilakukan dengan cara berikut :

- a) Tuang media kaldu ke dalam tabung reaksi secara aseptis
- b) Ambil mikroba dengan cara menggoresnya dari kultur biakan mikroba.
- c) Transfer dengan cara menggoreskan ke dalam tabung reaksi yang berisi kaldu tadi
- d) Lakukan inkubasi di dalam inkubator dan amati bentuk koloni yang tumbuh

14.4.3 Teknik Pengenceran

Teknik dilusi sangat penting di dalam analisa mikrobiologi. Karena hampir semua metode perhitungan jumlah sel mikroba menggunakan teknik ini, seperti TPC (*Total Plate Count*).

Adapun cara pengenceran populasi mikroba adalah sebagai berikut :

- a) Ambil 1 ml larutan media kultur mikroba dan masukkan ke dalam 9 ml aquades atau larutan buffer pepton untuk memperoleh pengenceran 1/10 bagian.
- b) Dari larutan pengenceran 1/10, ambil 1 ml dan masukkan ke dalam 9 ml aquades atau larutan buffer pepton untuk memperoleh dilusi 1/100 bagian.
- c) Dari larutan pengenceran 1/100, ambil 1 ml dan masukkan ke dalam 9 ml aquades atau larutan buffer pepton untuk memperoleh dilusi 1/1000 bagian.
- d) Dari larutan pengenceran 1/1000, ambil 1 ml dan masukkan ke dalam 9 ml aquades atau larutan buffer pepton untuk memperoleh dilusi 1/10.000 bagian dan seterusnya hingga diperoleh pengenceran 1/1.000.000.
- e) Tujuan pengenceran media dari 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000 dst adalah apabila tiap media pengenceran di-

tumbuhkan ke dalam suatu media, maka koloni yang tumbuh dapat dihitung sehingga jumlah sel mikroba dapat diketahui dengan persamaan :

$$\text{Jumlah sel mikroba} = \text{Jumlah koloni} \times 1/\text{Pengenceran}$$

Misal :
Apabila pada dilusi 1/100 tumbuh sebanyak 20 koloni, maka dapat diketahui jumlah sel adalah :

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel mikroba} &= \text{Jumlah koloni} \times 1/\text{Pengenceran} \\ &= 20 \times 1/ (1/100) \\ &= 2000 \text{ sel} \end{aligned}$$

Apabila pada dilusi 1/1000 tumbuh sebanyak 3 koloni, maka jumlah sel mikroba dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel mikroba} &= \text{Jumlah koloni} \times 1/\text{Pengenceran} \\ &= 3 \times 1/(1/1000) \\ &= 3000 \text{ sel} \end{aligned}$$

14.5. Menghitung populasi mikroba

Populasi mikroba dapat dihitung dengan dua cara, yaitu menghitung secara langsung dan

tidak langsung. Penghitungan secara langsung dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan, suhu, dan lama proses inkubasi.

Media yang umum digunakan berupa air steril, air garam steril, buffer fosfat steril, dan 0.1 % pepton steril. Penggunaan air steril dan garam steril dapat merusak beberapa bakteri. Bahan pangan dari laut membutuhkan pelarut 3 % NaCl, karena beberapa mikroba membutuhkan garam.

Suhu inkubasi berpengaruh terhadap hasil penghitungan populasi mikroba. Suhu inkubasi berkisar 25°– 30° C memberikan hasil perhitungan yang lebih tinggi dibandingkan suhu 37°C. Apabila hendak menumbuhkan *Pseudomonas* atau *Bacillus*, maka proses inkubasi sebaiknya menggunakan suhu rendah.

Penghitungan mikroba secara langsung dapat dilakukan dengan cara :

14.5.1 menghitung jumlah sel mikroba yang terlihat di bawah mikroskop.

Jumlah sel mikroba yang terlihat di bawah mikroskop dapat dihitung dengan cara :

- a. Menghitung secara mikroskopis jumlah mikroba dalam contoh dengan volume yang sangat sedikit dan terukur. Penghitungan dilakukan de-

ngan menggunakan kotak penghitung (*counting chamber*). Kotak penghitung terdiri dari kotak-kotak kecil dengan ukuran dan luas tertentu. Cairan contoh yang diketahui volumenya, diletakan di kotak penghitung dan ditutup dengan gelas penutup. Dengan volume contoh yang diketahui dan jumlah mikroba pada tiap kotak pada kotak penghitung diketahui, maka populasi mikroba dapat diketahui

- b. Menghitung jumlah sel total secara mikroskopis dengan menggunakan contoh yang telah diwarnai.

Kelemahan dari penghitungan populasi mikroba secara langsung antara lain :

- a. Sel mikroba yang sudah mati tidak dapat dibedakan dari yang masih hidup
- b. Sel yang berukuran kecil sulit dihitung atau terlewat sehingga hasil perhitungan memberikan hasil dibawah angka sebenarnya.
- c. Kurang peka karena suspensi contoh harus mengandung minimal 10^6 sel per ml.
- d. Ketepatan yang tinggi sukar diperoleh.
- e. Suspensi contoh harus bebas dari zat lain karena dapat menutupi sel pada saat dihitung.

14.5.2 Menghitung sel hidup

Jumlah mikroba yang hidup dapat dihitung menggunakan metode penghitungan secara langsung

dan tidak langsung. Menghitung secara langsung jumlah sel mikroba yang hidup terhadap waktu (*Total Plate Count*) atau Menghitung mikroba secara tidak langsung berdasarkan turbiditas. Prosedurnya lebih cepat namun harus membuat kurva standarnya terlebih dahulu.

14.5.2.1 Pertumbuhan dalam agar

Berdasarkan anggapan bahwa satu sel mikroba akan tumbuh dan berkembang menjadi populasi, maka prinsip dasar dari menghitung mikroba adalah satu koloni mikroba mewakili satu sel mikroba.

Sampel dari bahan atau produk pangan yang sudah dihomogenisasi diinokulasi ke dalam atau permukaan media agar. Setelah diinkubasi, koloni mikroba yang tumbuh dihitung sebagai jumlah mikroba.

Proses inokulasi contoh ke media agar dapat dilakukan dengan cara penuangan, penyebaran, dan penetesan.

Pada cara penuangan, 1 ml contoh dipindahkan ke dasar cawan petri dan 15-20 ml media agar cair dituangkan di atasnya. Untuk mencegah kematian mikroba contoh, suhu media agar cair yang dituangkan berkisar 45° – 50°C. Bila suhunya terlalu rendah akan menyulitkan karena sudah mulai mengental. Selanjutnya cawan petri digeserkan di

permukaan meja dengan membentuk pola angka delapan agar contoh tersebar merata di seluruh media agar. Inkubasikan di dalam inkubator. Metode ini paling peka karena mampu menghitung mikroba sampai kepadatan 20 sel/ml. Metode ini kurang praktis digunakan di lapangan karena membutuhkan peralatan untuk mencairkan dan membekukan media agar.

Pada cara penyebaran, 0.1 ml contoh disebar secara merata di permukaan media agar (*spread plate method*) dengan menggunakan tongkat gelas melengkung (*bent glass rod*). Selanjutnya dilakukan inkubasi di dalam inkubator. Metode ini dapat digunakan di lapangan karena media agarnya sudah disiapkan terlebih dahulu. Jumlah mikroba yang dapat dihitung dengan metode ini harus mempunyai kepadatan minimal 300 sel/ml.

Pada cara penetesan, media agar pada cawan petri dibagi menjadi 3-4 sektor dengan memberi garis di dasar cawan petri. Larutan contoh sebanyak 0.02 ml diteteskan di masing-masing sektor. Setelah contoh mengering, lakukan inkubasi di dalam inkubator. Keuntungan dari metode ini adalah proses penghitungan dapat diulang sesuai jumlah sektor yang dibuat.

Keuntungan dari metode pertumbuhan agar adalah dapat diketa-

hui jumlah mikroba yang dominan. Keuntungan lainnya dapat diketahui adanya mikroba jenis lain yang terdapat dalam contoh.

Adapun kelemahan dari metode ini adalah :

1. Kemungkinan terjadinya koloni yang berasal lebih dari satu sel mikroba, seperti pada mikroba yang berpasangan, rantai atau kelompok sel. Kemungkinan ini akan memperkecil jumlah sel mikroba yang sebenarnya.
2. Kemungkinan adanya jenis mikroba yang tidak dapat tumbuh karena penggunaan jenis media agar, suhu, pH, atau kandungan oksigen selama masa inkubasi.
3. Kemungkinan ada jenis mikroba tertentu yang tumbuh menyebar di seluruh permukaan media agar sehingga menghalangi mikroba lain. Hal ini akan mengakibatkan mikroba lain tersebut tidak terhitung.
4. Penghitungan dilakukan pada media agar yang jumlah populasi mikroba antara 30 – 300 koloni. Bila jumlah populasi kurang dari 30 koloni akan menghasilkan penghitungan yang kurang teliti secara statistik, namun bila lebih dari 300 koloni akan menghasilkan hal yang sama karena terjadi persaingan diantara koloni.
5. Penghitungan populasi mikroba dapat dilakukan setelah

masa inkubasi yang umumnya membutuhkan waktu 24 jam atau lebih

14.5.2.2 Penyaringan dengan membran

Pada metode penyaringan dengan membran (*membrane filtration*), larutan contoh disaring dengan menggunakan membran steril atau filter dengan pori-pori yang cukup untuk menahan mikroba. Membran dengan ukuran lubang 0.45 μ dapat digunakan untuk menghitung bakteri dan kamir.

Membran selanjutnya dipindahkan secara aseptis ke cawan steril berisi kertas saring yang dijenuhkan dengan media nutrisi cair. Membran juga dapat dipindahkan ke media nutrisi dalam cawan petri. Bagian membran yang ada mikroba menghadap ke atas. Selanjutnya lakukan inkubasi agar koloni yang tumbuh di permukaan kertas saring dapat dihitungkan.

Beberapa keuntungan dari metode penyaringan dengan membran adalah :

- a. Metode ini sangat peka karena dapat menghitung sel mikroba hingga kepadatan 5 sel/100 ml.
- b. Proses penyaringan berlangsung cukup cepat

Sedangkan kelemahan dari metode ini adalah tersumbatnya mem-

bran oleh zat tertentu, sehingga penggunaan teknik ini lebih cocok untuk contoh yang berupa cairan, seperti air dan minuman, daripada homogenat bahan pangan.

14.5.2.3 Teknik MPN

Teknik Most Probable Number (MPN) banyak digunakan untuk menghitung populasi mikroba dalam bahan atau produk pangan. Penghitungan mikroba dengan teknik MPN merupakan kombinasi antara pertumbuhan populasi mikroba dan Tabel Mc Crady.

Teknik MPN didasarkan pada pengenceran contoh. Prinsipnya, bila contoh diencerkan terus menerus maka akhirnya akan diperoleh larutan yang tidak mengandung mikroba (steril). Teknik ini akan memberikan hasil baik bila asumsinya terpenuhi, yaitu : 1) sel mikroba tersebar merata dalam contoh dimana gaya tarik atau tolak diantara mikroba tidak terjadi; 2) larutan yang diinokulasi ke kaldu nutrien akan memperlihatkan pertumbuhan positif apabila mengandung satu atau lebih mikroba hidup; dan 3) terhindar dari pencemaran yang berasal dari bahan dan peralatan.

Dalam prakteknya, apabila contoh A mengandung 1000 sel/ml diencerkan 10 kali, maka akan dihasilkan larutan B dengan kandungan 100 sel/ml. Bila diencerkan lebih lanjut, maka akan dihasilkan larutan C, D, dan E dengan kandungan 10 sel/ml, 1 sel/ml,

dan 0.1 sel/ml berturut-turut.

Bila 1 ml larutan A, B, C, dan D dipindahkan ke tabung berisi kaldu nutrien (*nutrient broth*) akan selalu ditemukan pertumbuhan. Namun pada larutan E akan ditemukan hanya sekali dalam sepuluh kali pemindahan larutan ke kaldu nutrien.

Dari masing-masing larutan di atas, pindahkan ke tiga atau lima tabung berisi kaldu nutrien. Masing-masing tabung mendapat 1 ml. Masing-masing tabung diinkubasi dan diamati apakah ada pertumbuhan.

Tabung dengan kelarutan tertinggi, dimana tiga tabung memperlihatkan pertumbuhan positif dicatat bersama dengan hasil yang diperoleh pada dua pengenceran berikutnya. Misalnya ketiga tabung yang memperlihatkan pertumbuhan positif didapat pada pengenceran 10^{-3} , maka pengamatan pertumbuhan dilakukan pada tabung dengan pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} . Bila pada pengenceran 10^{-4} menunjukkan dua dari tiga tabung positif tumbuh dan pada pengenceran 10^{-5} tidak dijumpai tabung yang positif tumbuh, maka diperoleh hasil 3/3, 2/3, dan 0/3. Hasil pembacaan dengan menggunakan tabel Mc Crady dapat diketahui konsentrasi mikroba dalam contoh.

Beberapa keuntungan dari metode MPN ini adalah 1) dapat dibu-

at sangat peka dengan penggunaan contoh lebih besar dari 1 ml/tabung; 2) dapat digunakan dilapangan karena media dapat disiapkan sebelumnya; dan 3) untuk tujuan tertentu dapat menggunakan media pertumbuhan selektif sehingga hanya mikroba yang diharapkan dapat tumbuh baik.

Kelemahan utama dari metode MPN adalah ulangnya banyak sehingga membutuhkan waktu dan biaya lebih besar untuk persiapannya. Dengan kondisi demikian, teknik MPN banyak digunakan untuk menghitung bakteri patogen.

14.5.2.4 Penghitungan selektif

Dalam kondisi tertentu diperlukan penghitungan mikroba secara selektif (*selective counting techniques*), misalnya untuk mengetahui populasi bakteri pembusuk atau patogen tertentu. Pada prinsipnya pekerjaan ini dapat dilakukan secara mudah dengan menggunakan media selektif. Media selektif adalah media agar yang mengandung zat terpilih sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan namun memberi kesempatan bagi mikroba yang dimaksud untuk berkembang. Prosedur yang dilakukan sama seperti inokulasi dengan menggunakan kultur murni.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam penghitungan

mikroba selektif adalah :

- a. Tidak ada media yang seratus persen selektif, selalu ada mikroba lain yang tumbuh. Penambahan komponen tertentu akan memberikan perbedaan berupa warna atau bentuk morfologi. Agar bismuth sulfite adalah media selektif bagi *Salmonella*, dimana koloninya terlihat hitam dan dilingkari warna kaca mengkilat dari endapan bismuth.
- b. Beberapa mikroba terdapat dalam jumlah sangat sedikit sehingga tidak dapat dihitung keberadaannya dengan menggunakan teknik pertumbuhan sebelumnya. Untuk mengetahui keberadaan mikroba tersebut perlu dilakukan pemupukan selektif (*selective enrichment*) dengan cara menginokulasikan contoh ke dalam media cair tertentu yang komposisinya telah dibuat sedemikian rupa hingga dapat menumbuhkan mikroba yang diharapkan. Setelah masa inkubasi selesai, contoh yang telah dipupuk ditumbuhkan ke dalam media agar diferensial selektif yang dapat membedakan pertumbuhan mikroba diinginkan dengan mikroba lainnya. Contoh media pemupukan selektif untuk *Salmonella* adalah tetrathionet broth. Media ini mengandung ion tetrathionat yang akan menekan pertumbuhan mikroba lain.

- c. Kerusakan sublethal
- Sebagian mikroba yang terdapat dalam produk pangan sudah mengalami kerusakan fisiologis dan biokimia akibat proses pengolahan, sehingga tidak dapat hidup secara normal. Mikroba ini tidak bisa tumbuh pada media selektif namun masih dapat tumbuh pada media tidak selektif. *Salmonella* yang mengalami kerusakan subletal akibat pengolahan dapat tumbuh pada media nutrisi agar tetapi tidak dapat tumbuh pada media selektif, karena peka terhadap senyawa pilihan yang digunakan dalam media selektif.
 - Untuk menghitung populasi *Salmonella* sublethal, tumbuhkan dahulu dalam kaldu nutrisi agar kerusakan sublethal yang bersifat sementara dapat disembuhkan dan *Salmonella* tumbuh menjadi sel normal. Jangka waktu yang diperlukan cukup 1 – 2 jam dan selanjutnya inkubasikan ke media selektif.

indol positif dan mampu memfermentasi berbagai karbohidrat seperti glukosa, laktosa, manitol dan arabinosa.

Ada tiga media yang dapat digunakan untuk membedakan *E. Coli* dan mikroba lain, yaitu : Media Eosin Methylene Blue mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah mikroba yang memfermentasi laktosa seperti *E. coli* dengan mikroba yang tidak memfermentasikan laktosa seperti *S. aureus*; *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Mikroba yang memfermentasi laktosa menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dengan kilap logam, sedangkan mikroba lain yang dapat tumbuh koloninya tidak berwarna. Adanya eosin dan methylene blue membantu mempertajam perbedaan tersebut. Namun demikian jika media ini digunakan pada tahap awal, karena mikroba lain juga tumbuh terutama *P. aeruginosa* dan *Salmonella sp* dapat menimbulkan keraguan. Bagaimanapun media Eosin Methylene Blue sangat baik untuk mengkonfirmasi bahwa kontaminan tersebut adalah *E. coli*.

14.6. Pengujian mikrobiologi dasar

14.6.1 Pengujian *E. Coli*

E. coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, uji

Media MacConkey Agar mempunyai keistimewaan memilah bakteri enterik gram negatif yang memfermentasi laktosa, karena media ini mengandung laktosa, *crystal violet* dan *neutral red bile salt*. Kemampuan *E. coli* mem-

fermentasi laktosa menyebabkan penurunan pH, sehingga mempermudah absorpsi *neutral red* untuk mengubah koloni menjadi merah bata dan mengendapkan *bile* empedu. Koloni lain (*S. aureus*; *P. aeruginosa* dan *Salmonella*), bila tumbuh tidak akan berwarna karena tidak mampu memfermentasi laktosa. Mikroba lain yang dapat tumbuh pada media ini antara lain *Enterobacter*; *Proteus*; *Salmonella*; *Shigella*, *Aerobacter*; *Enterococcus*.

Media MacConkey Broth bermanfaat sekali dalam memilah *E. coli* dari mikroba lain terutama *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Adanya Oxgall dalam media berperan dalam menghambat bakteri gram positif lain seperti *S. aureus*. Kandungan laktosa sangat penting untuk memilah *E. coli* dari mikroba lain yang tidak memfermentasi laktosa, terutama *P. aeruginosa* dan *Salmonella*. Kondisi asam akan menyebabkan *bromo cresol purple* (media berwarna ungu) berubah menjadi kuning (media berwarna kuning) dan adanya pembentukan gas yang dapat diamati pada tabung Durham. Sedangkan *Salmonella* dan *P. aeruginosa* tidak dapat mengubah warna media karena tidak memfermentasi laktosa. Mikroba lain yang mampu memfermentasi laktosa dan mempunyai ekspresi pada media seperti *E. coli* adalah *Enterobacter aerogenes*.

Adapun cara untuk memilah *E. aerogenes* antara lain dengan reaksi indol. Dimana *E. coli* mempunyai reaksi positif, sedang *E. aerogenes* bereaksi negatif. Dengan sifat tersebut media ini sangat baik untuk memilah *E. coli* dari mikroba lain pada tahap awal terutama *P. aeruginosa*; *S. aureus* dan *Salmonella*.

14.6.2 Pengujian *Salmonella Sp.*

Bakteri *Salmonella* mempunyai karakteristik gram negatif; Berbentuk batang, tidak membentuk spora, aerob/ fakultatif anaerob. Ia dapat memfermentasi glukosa dengan membentuk asam/gas dan dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit. Mempunyai sifat katalase positif dan oksidase negatif serta mudah tumbuh pada kebanyakan media.

Ada empat jenis media yang dapat digunakan untuk memilah *Salmonella* dari mikroba lain, yaitu :

- a. Media agar Bismuth Sulfite merupakan media yang sangat spesifik untuk isolasi *Salmonella typhi* dan spesies lain. Adanya *bismuth sulfite* dan *brilliant green* dapat menghambat pertumbuhan gram positif dan coliform. Adanya S dalam media akan diubah menjadi H₂S yang berperan menghambat pertumbuhan koloni berwarna coklat-hitam dengan kilap logam. Mikroba lain yang

dapat tumbuh antara lain *Pseudomonas*, *Shigella* dan *Vibrionaceae*. Media ini sangat baik digunakan pada tahap awal untuk memilahkan *Salmonella* dari mikroba lain. Sedangkan mikroba lain yang tumbuh terutama *Pseudomonas* dapat dipilah dengan media lain.

- b. Media agar Brilian green mengandung brilian green yang sangat baik untuk menghambat *E. coli* dan bakteri yang memfermentasi sukrosa dan laktosa. Garam empedu berperan menghambat bakteri untuk batang gram negatif. Media ini sangat selektif untuk isolasi *Salmonella* sp. *Salmonella typhii* akan berwarna merah dikelilingi zona merah. *Pseudomonas* dihambat, tetapi jika tumbuh menyempai koloni *Salmonella* berwarna merah. Untuk menetapkan kontaminan tersebut *Salmonella* atau *Pseudomonas* diperlukan konfirmasi dengan media lain.
- c. Media agar Xylose-Lysine-Desoxycholate digunakan untuk isolasi *Salmonella* dan memilah organisme lain dengan cara memfermentasi xylose, dekarboksilasi lysine dan produksi H₂S. Fermentasi xylose sangat lazim bagi kebanyakan organisme enterik kecuali, *Shigella*, *Providencia*, *Edwardsiella*. Pada media ini, *Salmonella* akan membentuk koloni merah dengan inti hitam, sedang *Pseudomonas* dapat tumbuh dengan warna merah dan *Escherichia* berwarna kuning. Mikroba lain yang dapat tumbuh pada media ini antara lain *Arizona*, *Proteus*, *Aerobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*. Begitu banyak mikroba yang dapat tumbuh, sehingga media ini kurang dapat memilah *Salmonella* pada tahap awal. Lebih baik digunakan untuk tahap konfirmasi kontaminan *Salmonella*.
- d. Triple Sugar Iron Agar medium, biasanya digunakan untuk konfirmasi pengujian *E. coli* dan dapat digunakan untuk identifikasi bakteri gram negatif yang memfermentasi dekstrosa/ laktosa/sukrosa dan produksi H₂S. Dari fungsi tersebut media ini dapat diusulkan untuk konfirmasi *Salmonella* dan memilahkan dari *Pseudomonas* yang tumbuh pada media BSA dan BGA. Terjadinya fermentasi dekstrosa oleh *Salmonella* akan menurunkan pH menjadi asam. Kondisi ini akan menyebabkan perubahan *phenol red* (media merah) menjadi kuning. Sedangkan *Pseudomonas* karena tidak mampu memfermentasi dekstrosa, maka media akan tetap berwarna merah. Dengan demikian media ini dapat dengan mudah memilah *Salmonella* dari *Pseudomonas*.

14.6.3 Pengujian *Staphylococcus aureus*

Ada tiga jenis media yang dapat digunakan untuk membedakan *S. Aureus* dari mikroba lainnya, yaitu :

- a. Media agar garam mannitol mempunyai kandungan garam cukup tinggi, sehingga mikroba lain terutama *P. aeruginosa*; *E. coli*; *Salmonella* akan dihambat pertumbuhannya. *S. aureus* cukup tahan terhadap garam tinggi, sehingga dapat tumbuh dengan warna kuning keemasan dan mediapun berubah menjadi kuning. Dengan demikian media ini sudah sangat selektif dan mampu memilah *S. aureus* dari mikroba lain terutama ketiga mikroba tersebut. Namun demikian ada juga mikroba lain yang dapat tumbuh pada media tersebut seperti jenis *Staphylococcus* lain dan beberapa mikroba *halophili marine*.
- b. Media agar Vogel Johnson mengandung mannitol, tellurite dan lithium chloride yang berperan untuk mengisolasi bakteri yang bersifat koagulasi positif, karena semua yang bersifat koagulasi positif akan tumbuh pada media ini. *S. aureus* mempunyai koloni hitam sebagai akibat pengendapan hasil reduksi tellurite. Media di sekitar

koloni akan berubah menjadi kuning akibat fermentasi manitol. Adanya lithium chloride bermanfaat untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain termasuk *E. coli*. Namun demikian media ini kurang mampu memilah *S. aureus* karena semua koagulasi positif dapat tumbuh termasuk *S. epidermidis* dan *Proteus*.

- c. Media Agar Baird Parker Media ini juga mengandung lithium untuk menghambat pertumbuhan mikroba lain dan mikroba yang bersifat koagulasi positif akan tumbuh. *S. aureus* mempunyai koloni spesifik berwarna hitam akibat endapan hasil telurite dan media disekitarnya menjadi jernih. Jenis mikroba yang dapat tumbuh antara lain *Bacillus*, *Proteus* dan *yeast*.

14.6.4 Pengujian *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa mempunyai karakteristik berbentuk batang, gram negatif, tidak mampu memfermentasi tetapi dapat mengoksidasi glukosa/ karbohidrat lain, aerob, katalase positif, oksidase positif dan tidak berspora. Ia dapat tumbuh di air suling dan akan tumbuh dengan baik dengan adanya unsur Nitrogen dan Carbon.

Pengujian bakteri *P. aeruginosa* dapat dilakukan dengan menggu-

nakan media agar Ceftrimide. Media agar ini biasanya digunakan untuk mengisolasi *Pseudomonas*. Kandungan ceftrimide yang merupakan *quarternary ammonium* adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain, karena kemampuannya menimbulkan kebocoran unsur-unsur dari dalam sel. Pada media ceftrimide konvensional beberapa bakteri dapat tumbuh seperti *Klebsiella*, *Proteus* dan *Providencia*. Untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut dapat ditambahkan ceftrimide. Pada media ini, untuk membedakan *P. aeruginosa* dari mikroba lain dapat dibantu dengan menggunakan media *Pseudomonas Selective Medium* yang mengandung *Nalidixi acid* untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain.

BAB XV

ANALISIS ORGANOLEPTIK

Setelah mengulas analisis fisik, kimiawi, dan biologis, metode terakhir yang dapat digunakan untuk menentukan mutu bahan pangan adalah analisis organoleptik. Pada prinsipnya analisis organoleptik menggunakan panca indera sebagai alat untuk mengukur mutu. Oleh karenanya analisis organoleptik sering dikatakan bersifat subyektif. Saat ini analisis organoleptik sudah digunakan secara luas pada berbagai industri, termasuk industri bahan pangan.

Seperti analisis secara fisik, kimiawi, dan biologis, analisis organoleptik memiliki kekhasan dan keunggulan yang tidak dimiliki oleh analisis yang lain. Adapun keuntungan analisis organoleptik antara lain : (1) dapat mengukur tingkat kesukaan terhadap suatu produk. Hanya analisis organoleptik yang dapat menjelaskan mengapa konsumen lebih menyukai roti keju keluaran pabrik A dibandingkan keluaran pabrik lainnya; (2) dapat membantu konsumen untuk menentukan pilihan terhadap suatu produk. Semua produk dibuat dengan mutu terbaik, hanya analisis organoleptik yang dapat menjelaskan mengapa konsumen tidak jadi membeli bahan pangan yang satu tetapi memilih yang lain; (3) dalam keadaan dimana

alat uji lain terbatas, analisis organoleptik dapat digunakan untuk menentukan mutu. Pembeli tidak mungkin membawa peralatan untuk analisis fisik, kimia, dan biologis ke pasar, namun ia masih dapat menggunakan peralatan analisis organoleptik untuk menentukan mutu bahan pangan (4) hasil analisis organoleptik dapat diperoleh jauh lebih cepat dibandingkan dengan hasil pengujian lainnya. Analisis organoleptik cocok untuk digunakan pada produk-produk yang mudah mengalami kebusukan. Penentuan mutu ikan yang akan dibeli dari nelayan harus dilakukan dengan cepat karena ikan bersifat mudah busuk (*highly perishable*). Bila menggunakan analisis sebelumnya, dibutuhkan waktu lebih lama dan peralatan lebih banyak.

15.1. Berpartisipasi dalam analisis organoleptik

Setelah berhasil ditetapkan nilai (skor) yang menunjukkan karakter, analisis organoleptik banyak digunakan. Hasil analisisnya mampu memberi jawaban yang tidak dapat diberikan oleh metode analisis lainnya.

15.1.1 Persiapan pelaksanaan uji organoleptik

Ada beberapa tahapan yang harus dilakukan sebelum melak-

sanakan analisis organoleptik, yaitu :

15.1.1.1 Penentuan prosedur dan metode pengujian

Dalam suatu penelitian, prosedur dan metode penelitian merupakan dua hal yang benar-benar sudah difikirkan jauh sebelum rencana penelitian dibuat. Tanpa keduanya, penelitian sering menjadi sulit untuk dilaksanakan.

Penelitian yang menggunakan analisis organoleptik sebagai alat uji melibatkan keberadaan panelis dalam prosedur pengambilan datanya. Jumlah panelis yang dilibatkan dalam penelitian dipengaruhi oleh kemampuan panelis. Bila menggunakan panelis dengan tingkat keahlian tinggi, diperlukan jumlah panelis lebih sedikit dibandingkan bila menggunakan panelis dengan kemampuan lebih rendah.

Pengambilan data penelitian untuk menggunakan analisis organoleptik dilakukan dengan menggunakan lembar penilaian (*score sheet*) dan teknik penyajian sampel.

Jumlah sampel yang disajikan kepada panelis sebaiknya tidak terlalu banyak karena akan mempengaruhi kualitas hasil pengujian. Selain jumlahnya, sampel yang disajikan juga harus diberi kode yang terdiri dari 3 angka atau huruf.

Data yang diperoleh dari hasil uji organoleptik dianalisis dengan menggunakan metode statistik non parametrik.

15.1.1.2 Penentuan kriteria pengujian

Kriteria pengujian yang akan diterapkan disesuaikan dengan tujuan penelitian. Penelitian yang menggunakan analisis organoleptik memiliki dua tujuan, yaitu : (a) penelitian bertujuan untuk mengetahui penerimaan panelis terhadap produk yang diuji, maka dilakukan uji hedonik (kesukaan); dan (b) penelitian yang bertujuan hendak mengetahui karakteristik produk yang diuji, maka digunakan uji skoring.

15.1.1.3 Penyiapan lembar penilaian

Pelaksanaan analisis organoleptik memerlukan lembar penilaian (*score sheet*) yang akan digunakan oleh panelis untuk menentukan mutu bahan pangan. Lembar penilaian bersifat spesifik tergantung dari bahan pangan. Dengan lain perkataan, lembar penilaian untuk roti keju berbeda dengan lembar penilaian untuk roti pisang. Dalam kondisi dimana tidak ada lembar penilaian yang spesifik untuk roti keju, dapat digunakan lembar penilaian roti pisang sebagai lembar penilaian untuk roti keju setelah dilakukan revisi.

Skala yang digunakan pada lembar penilaian tergantung dari tingkat keahlian panelis yang terlibat. Untuk panelis ahli dapat menggunakan lembar penilaian dengan kisaran skala penilaian 1-9, namun bagi panelis tingkat keahlian lebih rendah dapat menggunakan kisaran skala penilaian 1-3 atau 1-5.

15.1.1.4 Penjelasan instruksi pengujian

Untuk memberikan hasil analisis yang memuaskan, panelis yang akan melaksanakan analisis organoleptik harus diberi penjelasan mengenai prosedur pengujian. Prosedur pengujian yang perlu dijelaskan antara lain adalah tujuan penelitian, karakteristik bahan pangan yang akan diuji, dan faktor fisiologis. Demikian pula dengan karakteristik sampel yang akan diujikan.

Apabila karakteristik bahan uji tidak dijelaskan lebih dahulu kepada panelis akan menimbulkan kesalahan hasil penelitian. Sebagai contoh, panelis tidak terlatih akan menilai bekasem sebagai produk yang sudah busuk karena mulai tercium bau alkohol.

Informasi mengenai jumlah dan jenis bahan pangan yang akan diuji dianalisis sangat penting. Informasi tersebut akan meningkatkan kesiapan panelis dalam melakukan pengujian.

Kualitas hasil analisis organoleptik terhadap bahan pangan dapat dipengaruhi oleh faktor fisiologis, faktor psikologis dan faktor lingkungan dari panelis. Faktor fisiologis yang dapat mempengaruhi panelis adalah gangguan kesehatan dan fungsi hormonal. Oleh karenanya panelis yang sedang sakit atau pemarah sebaiknya tidak diikutsertakan dalam analisis organoleptik.

Faktor psikologis yang berpotensi mempengaruhi hasil analisis organoleptik antara lain lelah, jenuh, capek, stress dan sebagainya. Faktor ini akan berpengaruh terhadap hasil analisis, sehingga panelis yang mengalami gangguan psikologis sebaiknya tidak melibatkan diri dalam analisis organoleptik.

Waktu pelaksanaan uji organoleptik berkisar antara pukul 10-12, dimana panelis dalam keadaan tidak kenyang maupun lapar. Kondisi kenyang atau lapar akan menyebabkan hasil pengujian tidak maksimal. Kondisi ini menjadi lebih parah apabila jumlah sampel yang diuji cukup banyak.

Faktor lingkungan berpengaruh besar terhadap hasil uji organoleptik. Dalam upaya untuk mengurangi pengaruh dari lingkungan, maka uji organoleptik sebaiknya dilakukan dalam kondisi lingkungan yang sesuai.

Sebagai contoh pengujian minuman kopi hangat jangan dilakukan di ruang ber-AC.

15.1.2 Pelaksanaan uji organoleptik

Uji organoleptik dilaksanakan sesuai prosedur yang telah ditetapkan. Sampel yang akan diuji disiapkan sesuai dengan rencana, panelis ditentukan berdasarkan prosedur, dan kriteria yang akan diukur juga harus sudah ditetapkan.

Data mengenai hasil penelitian dicatat dalam buku data dan dilaporkan segera kepada penanggungjawab. Lembar data hasil uji yang dilaksanakan oleh panelis diserahkan kepada petugas yang berwenang.

15.2 Penyiapan dan penyajian sampel

15.2.1 Penyiapan sampel acuan

Penyiapan sampel untuk uji organoleptik diawali dengan pengambilan cuplikan atau contoh. Adapun yang dimaksud dengan cuplikan atau contoh adalah bagian dari populasi dan dapat mewakili karakteristik populasi tersebut. Prosedur pengambilan contoh sudah dijelaskan pada bab X dalam buku ini.

Dalam penyiapan sampel perlu dihindari adanya perlakuan yang secara sengaja atau tidak sengaja telah menyebabkan peru-

bahan sampel. Sebagai contoh, hindari penyimpanan susu dari produk sabun atau lainnya yang memiliki aroma tajam karena akan menyebabkan aroma susu yang segar berubah menjadi aroma sabun. Semua aktivitas penyiapan sampel diupayakan tidak merubah sifat sampel.

Aktivitas yang dilakukan dalam penyiapan sampel disesuaikan dengan dari analisis organoleptik yang digunakan. Sebagai contoh, bila akan menguji kesukaan panelis terhadap kerupuk udang maka sampel kerupuk yang disiapkan harus digoreng terlebih dahulu. Namun bila hendak menguji perbedaan antara dua sampel, maka proses penyiapan sampel tidak perlu ada perlakuan yang akan merubah cita rasa, seperti penggorengan atau penambahan bumbu.

Zat pembawa (*sample carrier*) adalah zat yang digunakan dalam pengujian organoleptik. Zat pembawa digunakan pada sampel yang memiliki karakteristik intensitas tinggi. Misalnya untuk menguji sampel sambel yang memiliki intensitas rasa yang tinggi perlu dilakukan pengenceran dengan air sehingga mudah dilakukan pengujian. Dalam pengujian demikian, peranan air adalah sebagai zat pembawa (*sample carrier*).

Sampel acuan (*sample reference*) adalah sampel yang diguna-

kan sebagai standar atau pembandingan. Sampel acuan dapat berupa bahan pangan yang tidak diberi perlakuan atau produk sejenis yang sudah beredar di pasar. Pemilihan sampel acuan tergantung pertimbangan peneliti.

Tidak selalu semua parameter dari sampel acuan digunakan sebagai patokan untuk menguji sampel uji. Penentuan parameter sampel acuan yang akan dibandingkan dengan parameter sampel uji dilakukan oleh peneliti.

Setelah parameter sampel acuan yang akan dibandingkan berhasil ditentukan, langkah selanjutnya adalah menentukan analisis yang akan digunakan untuk dapat membandingkan karakteristik antara sampel acuan dan sampel uji.

15.2.2 Penyajian sampel uji

Penampilan sampel diyakini akan berpengaruh terhadap hasil pengujian. Sampel sebaiknya disajikan sedemikian rupa sehingga panelis benar-benar menilai sampel tersebut berdasarkan sifat yang terkandung dalam sampel tersebut. Sampel juga harus disajikan secara seragam, kecuali sifat-sifat yang sedang dinilai. Keseragaman penyajian sampel dapat meliputi jumlah, wadah, sarana pengujian, dan suhu sampel.

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam penyajian sampel,

yaitu : (a) ukuran sampel. Sampel sebaiknya disajikan dalam jumlah memadai. Meskipun memiliki cadangan banyak, tidak dibenarkan menyajikan sampel terlalu banyak. Untuk respon spontan, ukuran sampel cukup 100 g karena hanya melakukan sekali penilaian. Jumlah sampel berupa cairan sekitar 16 ml, sedangkan berupa zat padat sekitar 28 g. Apabila sampel harus dicicipi, maka jumlah yang disajikan menjadi dua kali lebih banyak daripada jumlah di atas; (b) suhu sampel. Sampel umumnya disajikan pada suhu kamar agar panelis dapat membedakannya secara optimum. Namun produk minuman dingin dapat disajikan pada suhu tidak boleh lebih rendah dari 45°F, sedangkan makanan panas disajikan pada suhu tidak lebih dari 170°F; (c) kenampakan. Sampel harus disajikan secara seragam. Sebagai contoh, bila akan diuji citarasanya maka bentuk, ukuran atau warna dari sampel diusahakan seragam. Upaya penyeragaman sampel dapat dilakukan dengan pengaturan intensitas cahaya, warna cahaya, atau penggunaan pewarna. Pada prinsipnya perlu masking, yaitu mengusahakan perbedaan atribut antar sampel sesedikit mungkin; (d) cara penyajian. Apabila jumlah sampel yang diuji dua atau lebih, maka penyajian sampel dapat dilakukan secara bertahap atau serentak. Dalam penyajian secara bertahap, perlu diperhatikan urutan

penyajian dan berapa kali disajikan. Hal ini dimaksudkan untuk mencegah atau meminimalkan kesalahan yang disebabkan oleh waktu (*time error*), pengaruh kontras (*contrast effect*), atau pengaruh konvergensi (*convergence effect*). Dalam penyajian sampel secara serentak perlu dihindari terjadinya kesalahan posisi (*position error*) dengan mengatur posisi sampel secara acak; (e) jumlah sampel. Jumlah sampel yang disajikan dapat mempengaruhi sensitivitas dan motivasi panelis karena kejenuhan dan kekelahan. Panelis ahli mampu menganalisis sampel lebih banyak; sedangkan bagi panelis semi terlatih atau lebih rendah lagi hanya mampu beberapa sampel uji saja; (f) pemberian kode sampel. Untuk menghilangkan bias dalam pengujian organoleptik, sampel uji harus diberi kode berupa kombinasi tiga angka, misalnya 135, 513, 315, 351, 153 dan seterusnya. Kode dimaksudkan untuk mengurangi kecenderungan panelis terhadap sampel. Sebagai contoh, perlakuan peningkatan konsentrasi gula terhadap tingkat kesukaan panelis pada kembang gula. Kode sampel yang diberikan adalah 123, 124, 125, 126, 127. Berdasarkan kode sampel tersebut, panelis akan menduga sampel 123 adalah perlakuan dengan konsentrasi gula paling kecil, sedangkan sampel 127 adalah

perlakuan konsentrasi gula paling tinggi.

Dalam pembuatan kode untuk sampel uji dapat menggunakan tabel bilangan acak (random) sebagai alat bantu; (g) sarana / alat. Sarana yang digunakan untuk menyajikan sampel harus memiliki ukuran dan warna yang sama. Sarana atau alat yang digunakan harus bersih sehingga tidak menyebabkan gangguan rasa atau bau pada sampel yang diuji; (h) kuisisioner. Kuisisioner yang diberikan kepada panelis terbagi tiga bagian, yaitu bagian informasi yang berisi informasi panelis dan waktu pengujian, bagian instruksi yang berupa tugas dan cara melakukan uji organoleptik, dan bagian respon yang harus diisi oleh panelis sebagai tanggapan atas sampel yang dinilai. Kuisisioner harus ringkas dan komunikatif, agar perhatian panelis tidak terganggu karena harus membaca kuisisioner yang terlalu rinci dan mengisi kuisisioner yang terlalu sulit.

Sampel uji dan kuisisioner disajikan kepada panelis. Penyajian sampel harus dilakukan di tempat yang kondisinya seragam untuk mencegah pengaruh lingkungan terhadap penilaian panelis.

Setelah sampel acuan ditetapkan, maka langkah selanjutnya adalah menyiapkan sampel uji beserta lembar penilaiannya. Lembar penilaian berisi informasi

mengenai parameter organoleptik yang akan diukur dari sampel uji.

Jumlah sampel yang harus disediakan tergantung dari jumlah panelis yang akan menguji. Jumlah sampel uji yang perlu disediakan untuk panelis dengan katagori ahli cukup 2-3 sampel; untuk panelis dengan kategori semi terlatih harus disediakan 15-30 sampel; sedangkan untuk panelis umum perlu disediakan lebih banyak lagi.

Pengujian karakteristik rasa dilakukan dengan menggunakan lidah. Rasa yang melekat pada lidah akan mengganggu pengujian sampel berikutnya. Untuk mengeliminir gangguan tersebut harus disediakan penetral indera pencicip. Bahan yang dapat digunakan sebagai penetral indera pencicip adalah air.

15.2.3 Penerapan prosedur keamanan pangan dalam penyiapan dan penyajian sampel

Untuk mencegah terjadinya hal yang tidak diinginkan, maka pelaksanaan analisis organoleptik harus dilaksanakan berdasarkan prosedur yang telah ditetapkan. Oleh karena itu, sampel yang akan diberikan kepada panelis harus sudah diketahui karakter fisik, kimia, dan mikrobiologisnya. Apabila ada karakter yang membahayakan perlu diambil langkah pengamanannya.

Deteksi terhadap karakter fisik, kimia, dan mikrobiologis dari sampel harus dideteksi dari awal pembuatan sampai disajikan kepada panelis. Deteksi juga meliputi berapa dosis yang aman untuk disajikan kepada panelis dan efek samping yang ditimbulkan juga apabila mengkonsumsi sampel tersebut. Efek samping berupa alergi dan intoleran harus sudah diketahui pula, sehingga bagi panelis yang rentan sebaiknya tidak diikuti sertakan dalam pengujian.

15.3. Pemilihan dan penyiapan panelis

Panelis merupakan komponen utama dalam analisis organoleptik. Penggunaan panelis secara benar akan memberikan hasil analisis yang baik.

Semua orang dapat menjadi panelis. Namun kemampuan setiap orang untuk menjadi panelis berbeda. Panelis dapat dikelompokkan menjadi panelis ahli, semi terlatih atau tidak terlatih. Namun Muhandri dan Kadarisman (2006) telah membagi panelis ke dalam tujuh kelompok, yaitu : (a) panel perorangan, yaitu panelis yang sangat ahli dan memiliki kepekaan tinggi yang diperoleh karena bakat atau pelatihan-pelatihan intensif. Untuk menguji secara oraganoleptik dan mengambil keputusan cukup menggunakan seorang panel perorangan; (b) panel terbatas, yaitu

panelis yang memiliki kepekaan tinggi dan mengenal dengan baik faktor-faktor dalam penilaian organoleptik. Jumlah panel terbatas yang dibutuhkan untuk mengambil keputusan dalam uji organoleptik adalah 3-5 orang; (c) panel terlatih, yaitu panelis yang memiliki kepekaan cukup baik. Untuk menjadi panel terlatih harus melalui seleksi dan pelatihan. Panel terlatih dapat menilai beberapa karakteristik bahan uji namun tidak spesifik, sehingga perlu melibatkan 15-25 orang dalam pengujian organoleptik dan keputusan diambil melalui analisis statistik; (d) panel agak terlatih, adalah panelis yang dipilih dari kalangan terbatas berdasarkan pengujian terhadap tingkat kepekaannya. Sebelum pelaksanaan, panelis ini dilatih terlebih dahulu untuk mengetahui sifat sensori tertentu. Jumlah yang dibutuhkan untuk melaksanakan pengujian organoleptik adalah 15-25 orang dan keputusan diambil berdasarkan hasil analisis statistik. Data hasil pengujian yang menyimpang boleh tidak diikuti sertakan dalam analisis statistik; (e) panel tidak terlatih, adalah panelis yang dipilih berdasarkan jenis kelamin, umur, tingkat sosial, suku dan sebagainya. Panelis ini hanya dapat dilibatkan untuk menguji sifat sensori yang sangat sederhana, misalnya uji kesukaan terhadap suatu produk. Jumlah panelis yang dibutuhkan untuk melaksanakan pengujian organo-

leptik adalah 25 orang, dengan perbandingan pria : wanita mendekati 1 : 1; (f) panel konsumen, yaitu panelis yang sangat umum dimana pemilihannya hanya didasarkan pada daerah geografis atau kelompok tertentu. Jumlah yang dibutuhkan untuk pengujian organoleptik adalah 30-100 orang, bahkan bisa lebih; (g) panel anak-anak, yaitu panelis yang berusia 3-10 tahun. Panelis ini digunakan untuk menguji tingkat kesukaan terhadap produk yang memang ditujukan untuk anak-anak, misalnya permen atau es krim.

Perbedaan kemampuan inilah yang menyebabkan perbedaan jumlah panelis yang digunakan. Sebagai contoh untuk mengetahui penerimaan masyarakat terhadap sosis ikan diperlukan riset pasar yang melibatkan panelis biasa dalam jumlah besar (>100 orang). Dengan penggunaan panelis semi terlatih, jumlah panelis yang digunakan berkisar 15 – 30 orang; sedangkan penggunaan panelis terlatih hanya membutuhkan 2 - 3 orang.

Untuk mendapatkan panelis yang diinginkan maka perlu dilakukan pemilihan panelis berdasarkan pada kriteria dan persyaratan tertentu. Dengan demikian akan diperoleh panelis yang memiliki kemampuan sesuai dengan kebutuhan analisis organoleptik yang akan dilakukan. Kriteria panelis yang dibutuhkan untuk

analisis organoleptik tergantung dari bahan pangan yang akan dianalisis. Panelis ahli memiliki kemampuan menguji bahan uji secara terbatas, namun tingkat keakuratannya tinggi. Makin rendah kemampuan panelis makin banyak informasi tentang bahan uji yang harus diberikan sebelum memulai pelaksanaan uji organoleptik.

15.3.1 Pembuatan dan penggunaan kuisisioner untuk penyeleksian awal potensi panelis

Kuisisioner merupakan alat bantu yang dapat digunakan dalam pemilihan panelis. Kuisisioner disusun berdasarkan bahan pangan yang akan dianalisis dan kriteria panelis yang diharapkan. Dalam pembuatan kuisisioner sebaiknya menggunakan panduan atau buku mengenai pembuatan kuisisioner.

Proses seleksi penentuan panelis dilakukan dua tahap, yaitu tahap pertama untuk menentukan kandidat panelis, dan tahap kedua untuk menentukan panelis. Kandidat panelis yang dipilih pada tahap awal hanya didasarkan pada hasil wawancara atau pengisian kuisisioner mengenai beberapa kriteria, diantaranya jenis kelamin, status sosial, status ekonomi, umur, tingkat pendidikan, apakah menyukai bahan pangan yang akan diujikan, apakah tidak alergi

terhadap bahan pangan yang akan diujikan, apakah memiliki kebiasaan merokok, dan lain sebagainya.

Dari hasil seleksi tahap pertama ini dapat diperoleh informasi mengenai kualifikasi kandidat panelis. Informasi tersebut berupa kandidat panelis yang : (a) memiliki potensi baik sebagai panelis; (b) tidak berpotensi; dan (c) siap untuk seleksi tahap kedua.

Setelah diketahui kandidat panelis yang memenuhi persyaratan, selanjutnya orang-orang tersebut dihubungi kembali. Tujuannya adalah untuk meminta kesediaan mengikuti seleksi tahap kedua yaitu untuk menentukan kemampuan kandidat panelis sebagai panelis.

15.3.2 Menetapkan kemampuan panelis untuk membedakan karakteristik organoleptik yang dituju

Panelis yang telah lulus dalam seleksi tahap pertama selanjutnya diseleksi kembali untuk mengetahui tingkat kepekaannya sebagai panelis. Dalam hal ini diutamakan kepekaannya terhadap bahan pangan yang akan diujikan. Hal ini didasarkan pertimbangan bahwa untuk mendapatkan hasil analisis organoleptik yang baik, diperlukan panelis dengan kepekaan cukup tinggi

terhadap karakteristik organoleptik dari bahan pangan yang akan diujikan. Oleh karena itu, untuk mendapatkan panelis demikian, perlu dilakukan seleksi lebih lanjut terhadap kandidat panelis yang telah lolos berdasarkan seleksi tahap pertama.

Secara garis besarnya, pengujian kepekaan panelis didasarkan kemampuan panelis dalam mengidentifikasi karakteristik bahan pangan yang akan diujikan. Caranya adalah dengan memberikan sejumlah sampel yang telah diketahui karakternya kepada panelis. Selanjutnya panelis akan menilai sampel tersebut. Dari hasil yang diperoleh, dapat diketahui panelis mana yang memiliki kepekaan lebih baik terhadap sampel yang disajikan. Panelis yang tidak memiliki kepekaan dinyatakan tidak memenuhi syarat untuk dilibatkan dalam analisis organoleptik.

Ada beberapa metode pengujian kepekaan panelis, yaitu :

- a. Pengujian nilai ambang batas rasa manis (Threshold test)
Kepada kandidat panelis diberikan satu seri sampel larutan gula dengan konsentrasi berkisar 0% sampai 1%. Selanjutnya kandidat panelis dipersilahkan menentukan sampel mana yang masih terasa manis. Dari hasil penelitian diketahui kandidat panelis mana yang memiliki kepekaan lebih baik.

- b. Uji *triangle*

Setiap kandidat panelis diberikan sepasang sampel untuk diamati. Pengamatan diulang sebanyak 10 kali dalam waktu yang berbeda. Hasil yang diperoleh dari semua kandidat panelis kemudian diranking. Bila persentase jawaban yang benar mencapai minimal 60 %, berarti kandidat tersebut memenuhi syarat untuk mengikuti tahap selanjutnya.

- c. *Range Methode*

Pada pengujian dengan range methode, kandidat panelis diberikan satu seri sampel yang bervariasi. Kemampuan memberikan penilaian secara benar terhadap sampel merupakan petunjuk kepekaan kandidat panelis.

Kemampuan panelis untuk membedakan karakteristik organoleptik suatu bahan pangan akan dapat diketahui berdasarkan hasil tes kemampuan sebagai panelis.

Penetapan karakteristik organoleptik utama yang dimiliki oleh bahan pangan merupakan tahapan penting dalam analisis organoleptik. Tahapan ini akan memberikan informasi penting kepada panelis mengenai karakteristik apa dari bahan pangan yang harus diamati sebagai bahan uji. Dengan demikian panelis akan mengkondisikan dirinya untuk menganalisis karakteristik tersebut.

Selanjutnya perlu dilakukan penetapan metode uji dan kriteria seleksi dalam menguji konsistensi panelis. Artinya, apakah kemampuan panelis dalam menilai karakteristik bahan pangan selalu baik (konstan) atau berubah-ubah. Beberapa metode uji untuk menguji konsistensi panelis sudah tersedia dan dapat dipilih sesuai kebutuhan.

Tahap terakhir dalam penetapan kemampuan panelis untuk membedakan karakteristik organoleptik yang dituju adalah menetapkan jenis bahan pangan yang akan digunakan dalam pengujian kemampuan panelis. Jenis bahan yang digunakan sebaiknya sudah diketahui karakteristiknya sehingga data hasil pengujiannya akan memudahkan proses analisis lebih lanjut dalam upaya menentukan tingkat kemampuan yang dimiliki panelis untuk membedakan karakteristik organoleptik.

Kandidat yang berhasil melewati salah satu atau ketiga uji kepekaan tersebut selanjutnya diberi pelatihan (training). Tujuan pelatihan adalah : (a) membiasakan panelis dalam melaksanakan uji organoleptik; (b) meningkatkan kemampuan panelis dalam mengenal dan mengidentifikasi sifat inderawi; (c) meningkatkan sensitivitas dan daya ingat panelis; dan (d) menyamakan pandangan dari

masing-masing panelis terhadap sifat yang akan dinilai, kriteria dan metode yang digunakan, serta memperkecil perbedaan diantara panelis dalam memberikan penilaian.

Data yang diperoleh dari kegiatan pelatihan merupakan informasi yang berguna dalam menentukan kandidat panelis yang lulus menjadi panelis. Tingkatan panelis juga dapat diketahui dari data kegiatan pelatihan ini.

15.3.3 Menganalisis dan melaporkan hasil dalam pembentukan tim panel

Data hasil pengujian kemampuan panelis dalam membedakan karakteristik organoleptik harus dianalisa terlebih dahulu agar dapat diketahui panelis yang memenuhi syarat atau sebaliknya. Untuk kebutuhan analisis ada beberapa tahapan yang harus dipersiapkan dalam menganalisis data, yaitu : (a) menetapkan metode analisis untuk penentuan panelis andal. Banyak tersedia metode analisis yang dapat membantu menentukan tingkat kemampuan panelis; (b) penyediaan program statistik yang dapat membantu pengambilan keputusan dalam penyeleksian panelis; dan (c) penetapan kriteria dan persyaratan jumlah minimal tim panel

Hasil analisis data dapat digunakan untuk menentukan jumlah orang yang memenuhi persyaratan sebagai panelis. Berdasarkan kriteria dan persyaratan yang berlaku dapat ditentukan berapa jumlah personil dari tim panelis yang akan dibentuk untuk melaksanakan pengujian produk.

15.3.4 Penjelasan prosedur uji kepada panelis

Agar pelaksanaan analisa organoleptik memberikan hasil baik, maka pemahaman panelis terhadap prosedur pengujian organoleptik harus sama. Informasi mengenai prosedur uji organoleptik perlu disampaikan kepada panelis untuk memperkecil kesalahan. Dengan demikian sebelum pelaksanaan uji organoleptik perlu dijelaskan mengenai prosedur pengujian kepada panelis.

Informasi pengujian yang dijelaskan kepada panelis meliputi : (a) penetapan parameter analisis organoleptik untuk produk tertentu. Penetapan ini perlu dilakukan mengingat setiap bahan pangan memiliki karakter yang khas. Sebagai contoh, umumnya ikan yang kurang segar memiliki mata kemerahan. Karakter ini tidak berlaku pada ikan ekor kuning karena ikan ini sudah memiliki mata merah sebelum kematiannya; (b) penetapan metode uji yang akan dipakai. Apakah pengujiannya ditujukan untuk mengetahui perbedaan kesukaan atau untuk pembeda.

Uji perbedaan kesukaan digunakan untuk menilai reaksi panelis terhadap sampel yang diujikan. Sedangkan uji pembeda dilaksanakan untuk menilai sifat sampel yang diuji. (c) penyiapan sampel uji. Sampel uji perlu disiapkan secara cermat. Jumlah sampel yang dapat diberikan tergantung dari tingkat kemampuan panelis. Sampel harus diberi kode tiga digit untuk menghilangkan kecenderungan panelis terhadap sampel yang harus diuji; (d) penyediaan kuisisioner isian untuk merespon. Jenis kuisisioner yang harus disediakan tergantung dari jenis bahan pangan yang akan diuji dan tingkat kemampuan panelis yang dilibatkan. Hampir semua jenis bahan pangan sudah memiliki lembar penilaian. Sebagai contoh, lembar penilaian untuk daging sapi berbeda dengan lembar penilaian untuk daging ayam atau ikan. Dengan demikian kuisisioner yang harus disediakan juga berbeda. Tingkat kepekaan panelis berkaitan dengan dengan jenis kuisisioner. Tingkat ketelitian pengujian organoleptik dapat dilihat dari skala penilaian; (e) penetapan prosedur dan langkah pengujian sesuai karakter bahan yang akan diuji. Informasi mengenai prosedur uji organoleptik perlu disampaikan kepada panelis untuk memperkecil kesalahan.

15.3.5 Melaksanakan pelatihan untuk mendeteksi karakteristik yang diuji

Pelatihan disini memiliki tujuan berbeda dengan pelatihan yang dilaksanakan pada saat seleksi calon panelis. Pelatihan pada tahap ini dimaksudkan untuk meningkatkan kemampuan panelis dalam penggunaan lembar penilaian atau mendeteksi karakteristik bahan pangan. Ada tiga tahap yang dapat dilakukan untuk pelaksanaan pelatihan pendeteksian karakteristik bahan pangan, yaitu : (a) penyediaan materi dan bahan pangan untuk pelatihan. Bahan pangan yang digunakan sebaiknya sudah dikenal oleh panelis dan memiliki karakteristik yang khas; (b) penyediaan program pelatihan yang ditujukan untuk meningkatkan kemampuan dan sensitivitas panelis terhadap parameter organoleptik; dan (c) perkenalan dengan metode dan cara pengujian

14.3.6 Menginstruksikan panelis dalam mencatat dan menyampaikan respon dan data pengujian

Laporan mengenai respon dan data pengujian harus disampaikan dengan baik untuk memudahkan analisis. Ada tiga tahap yang harus dilakukan untuk menghasilkan laporan yang baik, yaitu : (a) penyiapan kuisisioner. Kuisisioner yang disiapkan harus sesuai, baik untuk tingkatan

panelis maupun bahan pangan yang diuji. Untuk panelis terlatih kuisisioner yang digunakan lebih rinci dibandingkan untuk panelis semi terlatih. Kuisisioner yang baik adalah sesuai dengan sampel yang akan dianalisis. Bila tidak tersedia, kuisisioner untuk produk lain yang memiliki karakter serupa dapat digunakan setelah dilakukan penyempurnaan; (b) penyiapan sampel yang akan diuji. Sampel yang akan diuji disiapkan sesuai prosedur penyiapan sampel; dan (c) penetapan sampel acuan (*sample reference*). Sampel acuan digunakan sebagai pembanding terhadap sampel uji. Sampel reference dapat menggunakan bahan pangan sejenis yang sudah beredar dan disukai masyarakat.

15.4. Pelaksanaan Pengujian

15.4.1 Pemilihan perangkat lunak dan keras yang sesuai dengan informasi yang diinginkan

a) Penetapan metode analisis organoleptik yang sesuai tujuan pengujian. Penentuan metode analisis organoleptik sangat tergantung dari tujuan penelitian yang hendak dicapai. Apabila tujuannya untuk mengetahui kesukaan konsumen terhadap bahan pangan yang diuji maka digunakan uji kesukaan (*hedonik*). Namun bila ingin mengetahui karakter bahan pangan tersebut, maka dapat digunakan uji skoring.

- b) Penyediaan sampel reference dan sampel uji dilakukan sama seperti pada 15.3.6.
- c) Penyediaan lembar kuisisioner. Untuk mengetahui respon panelis terhadap bahan uji yang disajikan, dapat digunakan lembar kuisisioner yang berisi sejumlah pertanyaan berkaitan dengan bahan pangan yang akan diuji.
- d) Penyediaan sarana dan prasarana berupa laboratorium organoleptik dan bahan pembantu untuk penyajian sampel. Laboratorium organoleptik memiliki desain yang spesifik, berbeda dengan desain laboratorium lainnya. Adapun yang membedakan laboratorium ini dengan laboratorium lainnya adalah keberadaan meja bersekat sebagai tempat pengujian.

Bahan pembantu yang perlu dipersiapkan dalam penyajian sampel selama pelaksanaan analisis organoleptik antara lain adalah piring, tisu, gelas, dan pisau.

15.4.2 Meyakinkan bahwa pengujian berlangsung sesuai prosedur

Untuk meyakinkan bahwa pelaksanaan uji organoleptik telah berlangsung sesuai prosedur, maka harus diperhatikan bahwa :

(a) *tim panelis telah terseleksi*, sehingga yang turut serta dalam pelaksanaan analisis organoleptik adalah panelis dengan kriteria sesuai harapan. Pemilihan tim panelis dilakukan berdasarkan

hasil seleksi panelis yang telah dilaksanakan sebelumnya; (b) *pelaksanaan briefing kepada panelis*, pelaksanaan briefing ini dimaksudkan agar panelis memiliki pemahaman yang sama terhadap bahan pangan yang diuji dan metode uji yang akan digunakan. Briefing diperlukan terutama bagi panelis dengan kriteria semi terlatih atau lebih rendah lagi. Materi briefing hendaknya meliputi karakteristik bahan pangan yang akan diuji, tujuan pengujian, dan parameter yang akan diamati ; (c) *menyajikan sampel reference dan sampel uji*, penyajian sampel uji dilakukan sesuai dengan 15.3.6; (d) *penyediaan individual boot atau meja bersekat*, penggunaan meja bersekat ditujukan terutama untuk mencegah terganggunya konsentrasi panelis akibat pengaruh dari sekitarnya. Pelaksanaan uji organoleptik dengan sampel uji yang relatif banyak, akan memudahkan panelis mengalami gangguan konsentrasi, baik dari lingkungan sekitarnya maupun dari dirinya sendiri; (e) *penetapan kriteria pengujian*, kriteria pengujian perlu ditetapkan terlebih dahulu sebelum pelaksanaan analisis organoleptik dimulai karena sangat mempengaruhi hasil pengujian. Sebagai contoh, hindari pengamatan terhadap kekenyalan jelly yang diberi penambahan warna karena tingkat keterkaitan diantara keduanya relatif rendah. Pemilihan kriteria pengujian hendaknya benar-

benar dapat menggambarkan karakteristik dari bahan uji yang diinginkan; (f) *Penentuan urutan pengujian*. Dalam beberapa kasus urutan pengujian berpengaruh terhadap data pengamatan yang diperoleh. Hal ini tampak nyata pada pengujian bahan pangan yang mudah mengalami penurunan mutu dan memiliki jumlah sampel yang relatif banyak. Sebagai contoh, dalam pengujian penambahan 10 jenis aroma penyedap (esen) pada produk es krim, sebaiknya menguji kecepatan melelehnya es krim terlebih dahulu sebelum menguji parameter lainnya; (g) *pelaksanaan pengujian dengan menggunakan cara dan metode yang telah ditetapkan*, sehingga akan memberikan hasil pengamatan yang sesuai rencana; (h) *data respon ditulis pada kuisioner yang telah ditetapkan*, sehingga akan dapat mempercepat dan mempermudah proses analisis.

15.4.3 Menganalisis data untuk mendapatkan data yang valid

Setelah semua lembar penilaian diisi oleh panelis terpilih, maka segera dilakukan proses analisis data. Adapun tahapan analisis data adalah : (a) membuat tabulasi data respon pada tabel yang mudah dibaca; (b) lakukan uji validitas data respon, terutama data respon yang dihasilkan oleh panelis dengan kriteria semi terlatih atau dibawahnya; (c)

menyiapkan software dan cara analisis data yang sesuai. Software yang dapat digunakan untuk menganalisis data sudah banyak beredar; (d) Sebelum dianalisis, data yang telah diperoleh diuji terlebih dahulu validitasnya. Uji ini dimaksudkan untuk memperoleh data yang akurat, terutama bila menggunakan panelis dengan kategori semi terlatih atau dibawahnya.

15.4.4 Melaporkan proses dan hasil yang diperoleh

Pelaksanaan uji organoleptik harus dilaporkan kepada penanggungjawab laboratorium. Hal ini dimaksudkan untuk pemeriksaan akhir dan legalitas dari hasil pengujian. Materi pelaporan meliputi (a) pelaksanaan proses pengujian yang dilakukan sesuai prosedur; (b) pelaksanaan analisis data respon panelis terhadap bahan pangan yang diuji telah dilaksanakan sesuai prosedur; (c) pengambilan kesimpulan telah dilakukan berdasarkan hasil analisis data; dan (d) melengkapi data yang dapat mendukung pelaporan. Data pendukung yang dimaksud dapat berupa surat keputusan, Standar Nasional Indonesia (SNI), atau prosedur analisis yang digunakan.

15.5. Tipe Pengujian

15.5.1 Uji Sensori

Beberapa pengertian mengenai uji sensori telah dikenal, beberapa diantaranya adalah : (a) uji

sensori adalah penilaian yang dilakukan berdasarkan yang diterima oleh syaraf sensori pada indera manusia; (b) uji sensori adalah penilaian inderawi karena menggunakan sifat-sifat inderawi; dan (c) uji sensori adalah uji inderawi karena menggunakan manusia.

Muhandri dan Kadarisman (2006) menyatakan bahwa uji sensori memiliki beberapa tujuan, yaitu :

15.4.5.1 Memenuhi "fitness for use"

Suatu produk bahan pangan yang telah diuji di laboratorium dengan hasil baik ternyata tidak memberikan hasil sebagaimana yang diinginkan saat dilempar ke pasar. Dengan demikian, sebelum bahan pangan dilempar ke pasar sebaiknya dilakukan pengujian tingkat kesukaan konsumen.

Beberapa pertanyaan yang harus diperoleh jawabannya dari uji kesukaan konsumen antara lain (a) apakah konsumen suka terhadap bahan pangan tersebut atau tidak ?; (b) pada karakteristik mutu mana konsumen menyukainya ?; (c) dibandingkan dua produk sejenis, mana yang lebih disukai konsumen ?; (d) karakteristik mutu apa yang paling menonjol ?

15.4.5.2 Mengetahui kesukaan konsumen

Uji sensori dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kesukaan konsumen terhadap bahan pangan yang benar-benar baru atau penggunaan bahan tambahan tertentu yang membuat karakteristik bahan pangan relatif berubah. Skala yang digunakan dalam pengujian ini dapat menggunakan skala hedonik, yaitu suka, netral, dan tidak suka.

15.4.5.3 Mengetahui preferensi konsumen

Preferensi konsumen merupakan tahapan yang lebih maju dibandingkan dengan uji kesukaan atau ketidaksukaan. Dalam uji preferensi dapat dimasukkan unsur lain, misalnya harga produk, halal dan lain-lain. Dari hasil pengujian akan dapat diprediksi kemampuan pasar terhadap suatu produk yang ditawarkan dan berapa harga yang layak.

Penentuan harga suatu produk dapat dilakukan dengan dasar biaya produksi. Sehingga pada intinya, konsumen akan memilih produk yang mana, yang harganya berapa ?

Uji ini juga dapat digunakan untuk mengetahui dan memprediksi segmen pasar yang akan ditawarkan. Apakah untuk kaum pria, masyarakat dengan tingkat ekonomi menengah keatas, golongan eksekutif muda, anak sekolah dan lain-lain.

15.4.5.4 Mengetahui kepekaan konsumen

Kepekaan adalah kemampuan konsumen untuk membedakan suatu produk jika terdapat sedikit perubahan pada produk tersebut. Peningkatan harga satu jenis komponen bahan baku produk akan memaksa produsen mencari komponen pengganti agar harga jual tidak berubah. Akibatnya ada kemungkinan terjadi perubahan karakteristik dari produk tersebut.

Kondisi lain yang dihadapi produsen adalah terjadinya 'cacat minor'. Cacat minor adalah cacat yang dihasilkan oleh karakteristik mesin operasi sehingga bila di'reject' akan menimbulkan kerugian.

Minuman dalam kemasan telah menetapkan standar volume air 240 ml setiap kemasan gelas. Ternyata 30 persen produknya mempunyai volume 220 ml. Bila direject berarti kerugian. Langkah yang tepat adalah melaksanakan pengujian untuk mengetahui kepekaan konsumen terhadap cacat minor. Bila kepekaan konsumen cukup baik maka perbedaan tersebut dapat dirasakan. Dalam kondisi demikian, sebaiknya barang tersebut direject kecuali mau mempertaruhkan reputasi.

15.4.5.5 Inspeksi visual

Inspeksi visual adalah uji sensori dengan menggunakan mata untuk memantau hasil suatu proses.

Misalnya untuk menguji produk roti, dimana roti yang terlalu coklat atau putih merupakan produk yang ditolak.

Hasil inspeksi visual sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya jenis produk, warna dan intensitas penerangan, sudut atau jarak pengamatan.

Kemampuan inspeksi visual sangat berguna apabila hendak membeli jambu air yang dijual di tenda yang menggunakan peneduh berupa plastik berwarna merah. Hal yang sama akan dialami apabila hendak membeli jeruk manis di tenda yang menggunakan peneduh berupa plastik berwarna kuning.

15.4.5.6 Perancangan produk

Untuk meningkatkan keberhasilan pemasaran suatu produk baru atau produk diversifikasi diperlukan pengujian sensori oleh panelis di laboratorium dan konsumen di pasar. Hasil pengujian di laboratorium digunakan sebagai dasar dalam menyempurnakan karakteristik produk, sedangkan pengujian konsumen di pasar dilakukan untuk mengetahui penerimaan konsumen terhadap produk.

15.4.5.7 Kesesuaian dengan standar sensori

Salah satu standar mutu yang digunakan di industri adalah standar sensori. Bila standar yang ditetapkan untuk produk bahan

pangan dinyatakan sama oleh 18 dari 20 panelis semi terlatih. Sebagai contoh, bila dalam pelaksanaan uji sensori, 18 panelis sudah menyatakan warnanya disukai berarti berarti bahan pangan tersebut sudah disukai dari segi warna.

15.5.2 Uji Pembedaan

Uji pembedaan adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar sampel yang disajikan. Uji ini digunakan untuk menganalisis apakah penggantian ikan kakap dengan ikan nila akan mempengaruhi cita rasa kerupuk Palembang. Hal yang sama dapat dilakukan untuk mengetahui sampai berapa banyak penambahan air yang tidak mempengaruhi cita rasa sirup buah. Pada pelaksanaannya, uji pembedaan dapat dilakukan dengan menggunakan sampel pembandingan atau tidak.

Pelaksanaan uji pembedaan dapat dilakukan dengan cara : (1) uji pembedaan sederhana, dimana panelis hanya diminta untuk menilai ada atau tidaknya perbedaan antar sampel dan (2) uji pembedaan terarah, dimana panelis tidak hanya diminta menilai adanya perbedaan saja tetapi juga menilai arah / intensitas perbedaan yang ada. Oleh karena itu, uji pembedaan membutuhkan panelis yang terlatih agar dapat menentukan adanya perbedaan dan arah perbedaan.

Ada beberapa tipe uji yang dapat digunakan untuk menentukan adanya perbedaan antar sampel, yaitu uji berpasangan (*paired comparison*, *paired stimuli*, atau *paired test*), uji triangle, uji duo-trio, uji pembandingan ganda (*multiple standards*), uji pasangan jamak (*multiple paired*) dan uji stimulus tunggal.

15.5.3 Uji Kesukaan

Uji kesukaan adalah uji yang dilakukan untuk menentukan tingkat kesukaan panelis terhadap bahan yang diuji. Sebelum produk baru dipasarkan, dilakukan dahulu uji kesukaan oleh panelis. Semua kategori panelis dapat terlibat dalam pengujian kesukaan karena hanya mengungkapkan responnya secara spontan. Dalam pelaksanaan uji kesukaan tidak membutuhkan sampel standar atau sampel yang telah diuji sebelumnya sebagai sampel pembandingan. Dengan demikian, cara penyajiannya dilakukan secara berurutan, tidak sekaligus. Keputusan untuk memasarkan produk baru tergantung dari pimpinan, berdasarkan hasil yang diperoleh dari uji kesukaan.

15.5.4 Uji Skoring

Uji skoring digunakan untuk menilai sampel berdasarkan sifat bahan yang diamati. Panelis yang digunakan dalam uji skoring adalah panelis terlatih karena panelis harus benar-benar faham akan sifat bahan yang diamati.

Uji skoring umumnya digunakan untuk menilai mutu bahan dan intensitas sifat tertentu, seperti kemanisan, kekerasan, dan warna. Sebagai contoh, jenis tepung mana yang dapat menghasilkan bakso dengan elastisitas terbaik ?

15.5.5 Uji Ranking

Uji ranking adalah uji yang digunakan untuk mengurutkan sampel berdasarkan intensitas sifat yang dinilai, mutu atau kesukaan konsumen. Misalnya, dari sederetan konsentrasi gula, konsentrasi berapa yang dapat memberikan cita rasa manis dari sirup buah yang disukai panelis. Panelis yang dilibatkan tergantung dari tujuan pengujian. Untuk menguji ranking perbedaan harus digunakan panelis terlatih, sedangkan untuk menguji ranking kesukaan dapat digunakan panelis tidak terlatih.

15.5.6 Penentuan Threshold

Penentuan threshold digunakan untuk menentukan tingkat konsentrasi terendah suatu substansi yang masih dapat dideteksi (*absolute threshold*) atau perubahan konsentrasi terkecil suatu substansi yang masih dapat dideteksi perubahannya (*difference threshold*). Metode ini juga dapat digunakan untuk mengenal macam stimulus (*recognition threshold*), seperti asin, manis, atau asam.

15.5.7 Uji Deskriptif

Uji ini digunakan untuk menilai seluruh sifat indrawi bahan yang diuji, terutama yang menentukan mutu bahan tersebut. Panelis yang dilibatkan dalam uji deskriptif memiliki kategori ahli karena harus mampu mendeskripsikan sifat yang diuji, intensitas sifat yang diuji, kenampakan dan lain-lain.

15.6. Analisis Data Uji Organoleptik

Data yang diperoleh dari hasil uji organoleptik dianalisis menggunakan Uji Friedman dan uji lanjutannya menggunakan Chi-kuadrat. Langkah Uji Friedman adalah sebagai berikut : 1) urutkan nilai ranking dari yang terkecil hingga terbesar untuk seluruh perlakuan dalam satu parameter; 2) hitung total ranking untuk setiap perlakuan dan hitung pula rata-ratanya; 3) rumus uji Chi-kuadrat :

$$\chi^2 = \frac{12}{NK(K+1)} \sum_{i=1}^k (R_j)^2 - 3N(K+1)$$

Dimana :

χ^2 = statistik uji chi kuadrat

N = jumlah ulangan

R_j^2 = Jumlah rangking dalam perlakuan ke-j

k = banyaknya perlakuan

Apabila H_1 diterima, maka perlakuan memberi perbedaan

yang nyata dan pengujian dilanjutkan dengan menggunakan uji perbandingan berganda (*Multiple Comparison*) dengan rumus sebagai berikut :

$$|\bar{R}_i - \bar{R}_j| \leq Z \left\{ 1 - \left(\frac{\alpha}{K(K-1)} \right) \right\} \sqrt{\frac{NK(K+1)}{6}}$$

Keterangan :

- R_i = Rata-rata peringkat dari contoh ke-i
- R_j = Rata-rata peringkat dari contoh ke-j
- α = *Experimentwise error rate*
- N = Banyaknya data pengamatan dalam semua contoh gabungan
- K = Banyaknya contoh yang dibutuhkan
- Z = nilai Z dari tabel pada taraf $\alpha = 0,05$

Contoh Analisis Organoleptik dengan Uji Friedman:

Hasil pengurutan nilai ranking Data Aroma Permen Jelly Rumput Laut

Ulangan	A		B		C		D	
	Asli	Rank	Asli	Rank	Asli	Rank	Asli	Rank
1	5	1,5	7	3,5	5	1,5	7	3,5
2	3	1,0	7	4,0	5	2,5	5	2,5
3	3	1,0	5	3,0	5	3,0	5	3,0
4	3	1,0	5	3,0	5	3,0	5	3,0
5	5	2,0	7	4,0	5	2,0	5	2,0
6	7	3,0	7	3,0	7	3,0	3	1,0
7	5	2,5	5	2,5	5	2,5	5	2,5
8	5	1,5	7	3,5	5	1,5	7	3,5
9	7	3,5	5	1,5	7	3,5	5	1,5
10	3	1,5	5	3,5	5	3,5	3	1,5
11	3	1,5	5	3,5	5	3,5	3	1,5
12	3	2,5	3	2,5	3	2,5	3	2,5
13	5	2,0	5	2,0	5	2,0	7	4,0
14	3	1,0	7	4,0	5	2,5	5	2,5
15	7	3,0	7	3,0	5	1,0	7	3,0
Total		28,5		46,5		37,5		37,5
(Total)²		812,25		2162,25		1406,25		1406,25

Perhitungan Statistik Uji Chi Kuadrat :

$$X^2 = \frac{12}{NK(K+1)} \sum_{i=1}^t (R_j)^2 - 3N(K+1)$$

$$X^2 = \frac{12}{15.4(4+1)} (1406,25 + \dots + 812,5)^2 - 3.15(4+1)$$

$$X^2 = 6,48 \rightarrow X^2_{\alpha(k-1)} = \text{Taraf } 0,05 = 7,81$$

$$\text{Taraf } 0,10 = 6,25$$

Data pengamatan memiliki angka yang sama, maka dilakukan perhitungan faktor koreksi. Tabel perhitungan faktor koreksi sebagai berikut :

Skor	Rank	t	N	t ²	t ³	t ³ -t	N(t ³ -t)
3	1,5	2	2	4	8	6	12
3	2,5	4	1	16	64	60	60
5	1,5	2	3	4	8	6	18
5	2	3	2	9	27	24	48
5	2,5	2	2	4	8	6	12
5	2,5	4	1	16	64	60	60
5	3	3	2	9	27	24	48
5	3,5	2	2	4	8	6	12
7	3	3	2	9	27	24	48
7	3,5	2	3	4	8	6	18
Jumlah							336

$$\begin{aligned}
 FK &= 1 - \left\{ \sum T / N.K (K^2-1) \right\} \\
 FK &= 1 - \left\{ 336 / 15.4 (4^2- 1) \right\} \\
 &= 0,627
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 H_c &= X^2 / FK \\
 &= 6,48 / 0,627 \\
 &= 10,340
 \end{aligned}$$

X^2		6,48
H_c		10,340
	5%	7,81
X^2_t	10%	6,25

Keterangan : Nilai X^2 dan $H_c >$ dari X^2 tabel pada taraf 10% maka pengujian signifikan berbeda nyata (H_0 ditolak), berarti terdapat perbedaan antar perlakuan maka dilakukan Uji Perbandingan Berganda (*Multiple Comparison*), sebagai berikut :

Taraf 10% :

$$\begin{aligned}
 |\bar{R}_i - \bar{R}_j| &\leq Z \left\{ 1 - \left(\frac{\alpha}{K(K-1)} \right) \right\} \sqrt{\frac{NK(K+1)}{6}} \\
 &\leq Z \left\{ 1 - \left(\frac{0,1}{4(4-1)} \right) \right\} \sqrt{\frac{15.4(4+1)}{6}} \\
 &\leq Z \{ 1 - (0,008) \} (7,071) && \leq Z(2,41)(7,071) \\
 &\leq 17,04
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Jumlah Ranking	28,5	37,5	37,5	46,5	Taraf Nyata
A	28,5	-				a
C	37,5	9	-			ab
D	37,5	9	0	-		ab
B	46,5	18*	9	9	-	b

Studi kasus

Di kota Magelang, Jawa Tengah, terkenal dengan jajanan tradisional yang dominan citarasa manis, sedangkan di Jawa Barat lebih didominasi dengan makanan jajanan yang tidak terlalu manis. Sebagai calon produsen bahan pangan, bagaimana Saudara memanfaatkan analisis organoleptik apabila mau memasarkan produknya ke lokasi-lokasi tersebut.

Lakukan pula terhadap jenis produk pangan lainnya dan juga jenis konsumen tua dan muda, anak-anak dan dewasa, pria dan wanita dan lain-lain.

BAB XVI

ANALISIS NUTRISI

Analisis nutrisi yang disajikan dalam buku ini hanya meliputi analisis karbohidrat, protein, lemak, air, vitamin, mineral, dan kadar abu.

16.1. Analisis karbohidrat

Karbohidrat merupakan salah satu komponen nutrisi yang banyak dimanfaatkan sebagai sumber pangan. Dengan demikian, keberadaannya dalam bahan pangan sangat penting.

Keberadaan karbohidrat dalam bahan pangan dinyatakan dalam bentuk gula, glukosa, sakarosa, pati atau serat kasar.

Untuk menghasilkan data yang akurat, analisis karbohidrat harus diawali dengan persiapan sampel secara baik, persiapan peralatan, pereaksi, dan metode analisis, pelaksanaan analisis, dan akhirnya perhitungan. Persiapan sampel yang dikerjakan berdasarkan prosedur yang benar.

16.1.1 Jenis pengujian karbohidrat

Jenis pengujian karbohidrat meliputi pengujian kuantitatif dan kualitatif terhadap :

16.1.1.1 Gula pereduksi

Penetapan gula pereduksi dilakukan dengan metode :

16.1.1.1.1 Lane-Eynon

Pengukuran gula pereduksi dengan metode Lane-Eynon dilaku-

kan secara volumetrik. Biasanya digunakan untuk menentukan laktosa (anhidrit atau monohidrat), glukosa, fruktosa, maltosa (anhidrit atau monohidrat) dan lainnya.

Penetapan gula pereduksi didasarkan atas pengukuran volume larutan gula pereduksi standar yang dibutuhkan untuk mereduksi pereaksi tembaga basa yang diketahui volumenya. Titik akhir titrasi ditunjukkan dengan hilangnya warna metilen biru, karena kelebihan gula pereduksi di atas jumlah yang dibutuhkan untuk mereduksi semua tembaga.

Larutan pereaksi yang digunakan dalam analisis gula pereduksi menggunakan metode Lane-Eynon adalah :

1. Larutan tembaga sulfat
Larutkan 34.639 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam air. Encerkan sampai 500 ml dan disaring dengan kertas saring. Tentukan kadar tembaga, larutkan sehingga mengandung 440.9 mg Cu/25 ml
2. Larutan tartrat basa
Larutkan 173 g garam Rochelle dan 50 g NaOH dalam air, sencerkan sampai 500 ml. Biarkan 2 hari dan saring melalui asbes.
3. Larutan Fehling yang telah distandarisasi.
Larutan Fehling dibuat segera sebelum digunakan. Cara

pembuatannya dengan mencampurkan ke dalam Erlenmeyer masing-masing 100 ml larutan tembaga sulfat dan tartrat basa. Pindahkan 10 ml ke dalam Erlenmeyer 125 ml. Tambahkan ke dalamnya 20 ml air dan kemudian larutkan 7 ml larutan dekstrosa standar. Letakkan Erlenmeyer pada alat pemanas (*hot plate*) dan didihkan. Tambahkan ke dalamnya 3 – 4 tetes larutan metilen biru 0.2%. Titrasikan larutan Fehling di atas dengan larutan dekstrosa standar sampai metilen biru tidak berwarna dan titik akhir warna merah bata terlihat. Selama titrasi, Erlenmeyer selalu digoyang dan penambahan larutan dekstrose diatur sedemikian rupa sehingga titrasi diselesaikan dalam waktu kira-kira 2 menit. Ulangi standarisasi di atas sebanyak dua kali.

4. Larutan dekstrosa standar
Larutkan 1.5 g asam benzoate dalam 800 ml air mendidih, dinginkan sampai suhunya menjadi 25 – 30°C, kemudian tambahkan 5000g dekstrosa, dan encerkan kembali sampai volume 1 liter.
5. Larutan metilen biru 0.2 % dalam air

Peralatan yang digunakan

- a. Erlenmeyer 125 ml dan 300 ml

- b. Gelas ukur 50 ml
- c. Hot plate
- d. Buret
- e. Labu ukur 100 ml; 500 ml, dan 1000 ml
- f. Penangas air
- g. Kertas saring Whatman No. 2

Konversi gula-gula

- a. Pindahkan masing-masing 50 ml filtrat (bebas Pb) dari persiapan sampel di atas ke dalam dua buah labu ukur 100 ml. Tambahkan 20 ml air dan 10 ml HCl (berat jenis 1.18)
- b. Letakkan labu ukur tersebut dalam penangas air pada 60 °C dan goyang-goyangkan dengan konsisten selama 3 menit. Biarkan labu dalam penangas selama 7 menit lagi. Setelah itu segera letakkan labu dalam air 20 °C dan dinginkan.
- c. Netralkan isi labu dengan NaOH dan tepatkan volumenya sampai 100 ml dengan air. Jika endapan terbentuk, saring dengan kertas saring.
- d. Dengan menggunakan sampel ini lakukan penetapan gula pereduksi seperti dijelaskan pada prosedur.

Penetapan sampel

1. Siapkan sampel seperti pada prosedur persiapan sampel (A).
2. Isi labu Erlenmeyer dengan 10 ml filtrat yang didapat dari persiapan sampel. Tambahkan 10 ml larutan Fehling dan

- 5 ml larutan ekstrosa standar. Titrasi campuran ini dengan larutan dekstrosa standar seperti pada standarisasi larutan Fehling di atas dalam waktu dua menit (Tambahkan indikator metilen biru. Warna biru dari larutan Fehling akan menjadi muda pada saat akan mendekati titik akhir titrasi)
3. Hitung % gula pereduksi sebagai dekstrosa dari titer penetapan larutan standar, blanko, dan sampel.
 5. Pereaksi Shaffer dan Somogyi
 6. Larutkan 25 g Na_2CO_3 anhidrat dan 25 g garam Rochelle (NaK tartarat) dalam 500 ml air pada gelas piala. Tambahkan 75 ml larutan tembaga dalam 20 g Natrium bikarbonat. Penambahan di-lakukan sambil diaduk-aduk dengan stirer. Setelah selu-ruh bahan larut, pindahkan kedalam labu takar 1000 ml. Tambahkan 250 ml KIO_3 0.1 N, tepatkan sampai tanda tera dengan air, saring. Simpan semalam sebelum digunakan.

16.1.1.1.2 Shaffer-Somogyi I

Metode ini dapat digunakan untuk menetapkan sampel yang mengandung sedikit gula pereduksi. Prinsip dasar dari metode Shaffer – Somogyi I adalah sebagai berikut :

Gula pereduksi akan mereduksi Cu^{++} menjadi Cu^+ . Selanjutnya Cu^+ akan dioksidasi oleh I_2 (yang terbentuk dari hasil oksidasi KI oleh KIO_3 dalam asam) menjadi Cu^{++} kembali. Kelebihan I_2 dititrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Dengan menggunakan blanko, maka kadar gula pereduksi dalam sampel dapat ditentukan.

Senyawa pereaksi yang digunakan adalah :

1. Larutan tembaga sulfat
2. Larutkan 100 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam air. Tepatkan volumenya menjadi 1000 ml.
3. Larutan Kalium Iodat 0.1 N.
4. Larutkan 3.567 g KIO_3 dalam air. Tepatkan volumenya menjadi 1000 ml

7. Larutan Iodat-Kalium oksalat
8. Larutkan 2.5 g KI dan 2.5 g kalium oksalat dalam air. Encerkan sampai volumenya 100 ml. Buat baru setiap minggu jika akan digunakan.
9. Larutan Natrium Tiosulfat standar
10. Larutkan natrium tiosulfat standar sehingga diperoleh larutan natrium tiosulfat 0.005 N. Buat setiap kali akan digunakan dari larutan stok standar $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N.
11. Larutan asam sulfat 2 N (1 M)
12. Larutan pati 1 % untuk indikator

Peralatan yang digunakan :

1. Penangas air
2. Hotplate stirrer
3. Buret
4. Tabung reaksi
5. Labu takar 100 ml hingga 1000 ml.
6. Gelas piala
7. Erkenmeyer 50 ml

8. Gelas ukur
9. Pipet 5 ml

Cara Kerja :

1. Siapkan sampel sesuai dengan prosedur persiapan sampel
2. Pipet 5 ml larutan yang mengandung 0.5 – 2.5 mg dekstrose ke dalam tabung reaksi ukuran 25 x 200 mm (jika ada lebih baik gunakan Erlenmeyer 50 ml, karena lebih memudahkan pada waktu titrasi)
3. Tambahkan 5 ml pereaksi shaffer-somogyi, campur sampai merata. Siapkan juga blanko dengan mencampurkan 5 ml air dengan 5 ml pereaksi shaffer-somogyi.
4. Tutup tabung reaksi (Erlenmeyer) dengan menggunakan corong atau penutup lainnya. Panaskan dalam penangas air 100 °C selama 15 menit.
5. Dinginkan dalam air mengalir selama 4 menit secara hati-hati.
6. Angkat corong dari tabung reaksi, tambahkan 2 ml larutan iodida oksalat melalui bagian sisi dari tabung reaksi.
7. Tambahkan 3 ml H₂SO₄ 2N. Jangan dikocok. Goyangkan perlahan-lahan sampai dapat dipastikan seluruh Cu₂O larut dan biarkan rendam dalam air dingin selama 5 menit. Lakukan dua kali penggoyangan selama perendaman.
8. Titrasi dengan Na₂S₂O₃ 0.0005 N dan gunakan pati sebagai indikator.
9. Kurangi hasil titrasi blanko dengan hasil titrasi sampel kemudian volume titer bersih ini digunakan untuk menentukan jumlah dekstrosa (gula pereduksi) dalam 5 ml larutan sampel berdasarkan perhitungan berikut :

$$\text{mg dekstrosa} = 0.1099 \times \text{ml Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ 0.005 N} + 0.048$$
10. Buat juga kontrol dengan menggunakan sejumlah larutan dekstrosa yang sudah diketahui konsentrasinya dengan tepat. Lakukan koreksi terhadap rumus perhitungan yang diberikan.
11. Untuk menetapkan gula non pereduksi dan total gula, ambil 25 ml filtrat dari hasil persiapan sampel, masukan ke dalam labu takar 50 ml, lalu tambahkan 5 ml HCl (1 + 1). Biarkan pada suhu kamar selama 24 jam. Netralkan dengan NaOH, tepatkan volume sampai tanda tera. Dengan menggunakan larutan ini, lakukan penetapan dekstrosa seperti pada tahap 1 sampai dengan 10.

16.1.1.1.3 Shaffer-Somogyi II

Larutan Pereaksi yang digunakan adalah :

- a. Larutan tembaga sulfat
Larutkan 40 g garam Rochelle, 28 g disodium fosfat

anhydrous dan 4 g NaOH dalam 700 ml H₂O. Larutkan 8 g CuSO₄ kristal dalam 80 – 90 ml H₂O kemudian campurkan ke dalam larutan sebelumnya, aduk. Larutkan 180 g Na₂SO₄ anhydrous ke dalam campuran, encerkan campuran menjadi 1000 ml. Biarkan 1 – 2 hari dan saring bila perlu.

- b. Larutan potassium iodat
 - Larutkan 3.566 g KIO₃ dalam H₂O, tepatkan volumenya menjadi 100 ml
 - Larutan potassium iodat 2.5 %.
 - Tambahkan 1 – 2 g Na₂CO₃ per liter untuk menstabilkan
- c. Larutan Sodium thiosulfat 0.005N.
 - Siapkan dengan pengecekan yang tepat dari larutan stok 0.1 N.
 - Indikator pati 1 % dalam air
 - Asam sulfat 1 M

Peralatan yang digunakan

- a. Penangas air
- b. Waring blender
- c. Buret
- d. Tabung reaksi 25 x 200 mm

Cara Kerja :

- Persiapkan sampel seperti pada persiapan sampel untuk penetapan karbohidrat
- Masukkan 5 ml pereaksi tembaga sulfat, larutkan KIO₃ (jumlahnya tergantung kandungan gula dalam sampel) dan 5 ml sampel yang me-

ngandung 0.2 – 3 mg gula pereduksi ke dalam tabung reaksi 25 x 200 mm. Jika sampel mengandung 2 – 3 mg gula pereduksi per 5 ml sampel, gunakan 25 ml KIO₃, jika 0.5 – 1 mg per 5 ml gunakan 10 ml dan jika kurang dari 0.5 mg gunakan 5 ml KIO₃.

- Dinginkan dan tambahkan larutan KI. Jumlah larutan KI yang ditambahkan tergantung jumlah KIO₃ yang digunakan. Bila jumlah KIO₃ 5, 10, atau 25 ml, maka jumlah KI yang ditambahkan 0.5, 1, atau 2 ml. Biarkan larutan KI turun melalui dinding tabung reaksi tanpa pengocokan.
- Tambahkan kira-kira 1.5 ml H₂SO₄ 1M secara cepat dan langsung ke dalam larutan dengan pengocokan.
- Titrasi dengan Na₂S₂O₃ 0.005 N sampai berwarna kuning. Tambahkan indikator pati, lanjutkan titrasi sampai tercapai titik akhir.
- Buat blanko dengan menggantikan 5 ml sampel dengan 5 ml akuades.
- Hitung kadar gula pereduksi sampel sebagai persen dekstrosa. Satu mg dekstrosa memerlukan 7.4 ml Na₂S₂O₃ 0.005 N. Tetapi akan lebih tepat jika membuat standar. Buatlah masing-masing larutan standar glukosa yang mengandung 0.2 – 3 mg per 5 ml. Lalu lakukan tahap 2 – sampai dengan tahap 6 seperti pada

penetapan sampel. Hitung kadar gula pereduksi sampel ini berdasarkan standar yang dibuat.

- Jika ingin menetapkan total gula (pereduksi + non pereduksi), lakukan tahap hidro-lisa seperti pada metoda Shaffer-Somogyi I kemudian lakukan tahap 2 sampai tahap 6.

16.1.1.2 Gula non pereduksi

Analisa yang dilakukan untuk menentukan kadar gula non pereduksi sama seperti analisa yang dilakukan untuk menentukan kadar gula pereduksi.

16.1.1.3 Total gula

Penetapan total gula dalam bahan pangan dapat dilakukan dengan metode :

16.1.1.3.1 Metode Anthrone

Prinsip dasar dari metode anthrone adalah senyawa anthrone akan bereaksi secara spesifik dengan karbohidrat dalam asam sulfat pekat menghasilkan warna biru kehijauan yang khas. Senyawa anthrone (9,10-dihydro-9-oxanthracene) merupakan hasil reduksi anthraquinone.

Pereaksi yang digunakan pada metode antrone adalah :

1. Pereaksi anthrone 0.1 % dalam asam sulfat pekat. Di-buat hanya pada waktu hari akan digunakan sebab tidak stabil dan hanya tahan satu hari.
2. larutan glukosa standar 0.2 mg/ml. Larutan 200 mg glu-

kosa dalam 100 ml akuades. Ambil 10 ml encerkan menjadi 100 ml (1 ml = 0.2 mg glukosa)

Peralatan yang digunakan :

1. Pipet 1 ml, 5 ml
2. Tabung reaksi
3. Kelereng, Corong kecil
4. Water bath 100°C
5. Spektrofotometer, kuvet

Cara kerja

a. Pembuatan Kurva Standar

1. Pipet ke dalam tabung reaksi 0.0 (blanko), 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, dan 1 ml larutan glukosa standar. Tambahkan air sampai total volume masing-masing tabung reaksi 10 ml.
2. Tambahkan dengan cepat 5 ml pereaksi anthrone ke dalam masing-masing tabung reaksi
3. Tutup tabung reaksi (dapat menggunakan kelereng) campur merata.
4. Tempatkan dalam water bath 100 °C selama 12 menit (rendam dalam air mendidih)
5. Dinginkan dengan cepat menggunakan air mengalir
6. Pindahkan kedalam kuvet, baca absorbansinya pada 630 nm
7. Buat kurva hubungan antara absorbans dengan mg glukosa

b. Penetapan sampel

- Masukkan 1 ml sampel (dari persiapan sampel) ke dalam tabung reaksi
- Selanjutnya lakukan tahap 2 sampai 6 seperti pada pembuatan kurva standar
- Tentukan konsentrasi total gula dalam sampel.

16.1.1.3.2 Metode Cleg-Anthrone

Tambahkan asam perklorat ke dalam sampel untuk menghidrolisa pati dan gula-gula yang larut sehingga dapat bereaksi dengan anthrone membentuk warna biru kehijauan dan dapat ditentukan jumlahnya secara kolorimetrik (dinyatakan sebagai persen glukosa)

Pereaksi yang digunakan :

15.1.1 Asam Perklorat 52 %

Tambahkan 270 ml asam perklorat (BJ 1.70) ke dalam 100 ml air. Dinginkan sebelum digunakan.

15.1.2 Larutan Asam Sulfat

Tambahkan dengan hati-hati 760 ml asam sulfat pekat (1.84) ke dalam 330 ml air. Dinginkan sebelum digunakan

15.1.3 Pereaksi Anthrone 0.1 % dalam larutan asam sulfat

Buat untuk setiap hari akan digunakan karena pereaksi ini tidak stabil (daya simpan hanya 1 hari)

15.1.4 larutan glukosa standar 0.1 mg/ml

Larutan 100 mg glukosa dalam 100 ml air. Ambil 10 ml larutan,

encerkan menjadi 100 ml (1 ml = 0.1 mg glukosa)

Peralatan yang digunakan :

1. Spektrofotometer
2. rak tabung reaksi
3. Penangas air

Cara Kerja

a. Ekstraksi

1. Timbang 1 g sampel kering atau 2.5 g sampel basah yang mengandung 60 – 300 mg total *available carbohydrate*.
2. Pindahkan secara kuantitatif ke dalam gelas ukur 100 ml bertutup.
3. Tambahkan 10 ml air dan aduk dengan menggunakan gelas pengaduk untuk mendispersikan sampel seluruhnya
4. Tambahkan 13 ml asam perklorat 52%
5. Aduk dengan gelas pengaduk selama 20 menit
6. Cuci gelas pengaduk di atas larutan (air cucian masuk ke dalam larutan), encerkan larutan menjadi 100 ml
7. Campur merata, saring dan masukkan ke dalam labu ukur 250 ml
8. Cuci gelas ukur dengan air, masukan air cucian ke labu ukur
9. tepatkan sampai tanda tera dengan air, kocok merata.

b. Penetapan Sampel

1. Encerkan 10 ml ekstrak sampel menjadi 100 ml dengan air
2. Pipet 1 ml sampel yang telah diencerkan, masukkan ke dalam tabung reaksi
3. Buat blanko dengan memasukkan 1 ml air ke dalam tabung reaksi
4. Pipet 1 ml larutan glukosa standar masukkan ke dalam tabung reaksi
5. Masukkan dengan cepat 5 ml pereaksi anthrone ke dalam masing-masing tabung reaksi
6. Tutup tabung reaksi, campur merata
7. panaskan dalam penangas air 100°C selama 12 menit
8. Pindahkan larutan ke dalam kuvet berdiameter 1 cm
9. Baca absorbansinya pada 630 nm.

c. Perhitungan

Berat sampel = w g

Absorbansi glukosa standar = a

Absorbansi sampel = b

Total 'available carbohydrate' dinyatakan dalam % glukosa adalah :

$$= \frac{(25 \times b)}{(a \times W)}$$

Catatan :

1. Warna hijau stabil selama 2 jam
2. Hubungan antara absorbans dengan kadar glukosa dengan kisaran 0 – 1.15 mg bersifat linier dan berbentuk garis lurus

16.1.1.3.3 Metode Fenol

Metode fenol dapat digunakan untuk menentukan kandungan karbohidrat dan total gula. Prinsipnya gula sederhana, oligosakarida, polisakarida dan turunannya dapat bereaksi dengan fenol dalam asam sulfat pekat menghasilkan warna oranye kekuningan yang stabil.

Pereaksi yang digunakan :

1. Larutan fenol 5% dalam air
2. H₂SO₄ 95.5% BJ 1.84
3. Larutan glukosa standar

Peralatan yang digunakan :

1. Spektrofotometer
2. Penangas air, suhu dipertahankan 25 °C
3. Pipet yang dapat memindahkan 5 ml asam sulfat pekat dengan cepat (10-20 detik)

Cara Kerja :

- a. Pembuatan Kurva Standar
 1. Pipet 2 ml larutan glukosa standar yang mengandung 0, 10, 20, 30, 40 dan 60 ml glukosa. Masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi.
 2. Tambahkan 1 ml larutan fenol 5 %, kocok
 3. tambahkan dengan cepat 5 ml larutan asam sulfat pekat dengan cara menu-

- angka secara tegak lurus ke permukaan larutan
4. Biarkan selama 10 menit, kocok lalu tempatkan dalam penangas air selama 15 menit
 5. Ukur absorbansinya pada 490 nm untuk hektosa dan 480 nm untuk pen-tosa dan asam uronat
 6. Buat kurva standar
- b. Penetapan sampel
1. Untuk menetapkan total karbohidrat, sampel harus dibuat cairan terlebih dahulu (saring jika terbentuk endapan) atau lakukan tahap ekstraksi seperti penetapan total karbohidrat metod eCleg-Anthrone untuk sampel selain cairan jernih. Untuk menentukan total gula dan bahan padat, sampel harus dipersiapkan dahulu
 2. Lakukan penetapan sampel seperti pada pembuatan kurva standar kemudian tentukan total karbohidrat atau total gula sampel (dinyatakan sebagai persen glukosa)

16.1.1.3.4 Metode DNS

Pada prinsipnya metode DNS menciptakan suasana alkali agar gula pereduksi dapat mereduksi asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) membentuk senyawa yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 550nm.

Pereaksi yang digunakan dalam metode DNS adalah :

1. Pereaksi DNS
Larutkan 10.6 g asam 3,5-dinitrosalisilat dan 19.8 g NaOH ke dalam 1416 ml air. Kemudian tambahkan ke dalam larutan tersebut 306 g NaAAK-Tartrat, 7.6 ml fenol (cairkan pada suhu 50 oC) dan 8.3 g Na-metabisulfit. Campuran merata.
Titration 3 ml pereaksi DNS dengan HCl 0.1 N dan indikator fenolftalein. Seharusnya dibutuhkan 5-6 ml HCl 0.1 N, jika kurang dari itu tambahkan 2 g NaOH untuk setiap kekurangan 0.1 ml HCl 0.1 N.
2. Larutan glukosa standar 0.2 – 0.5 mg/ml.

Peralatan yang digunakan

1. Penangas air
2. Spektrofotometer
3. Tabung reaksi

Cara Kerja :

1. Sampel disaring agar diperoleh cairan jernih
2. Masukkan 1 ml sampel ke dalam tabung reaksi, tambahkan 3 ml pereaksi DNS
3. Tempatkan dalam air mendidih selama 5 menit. Biarkan dingin sampai suhu ruang
4. Encerkan sampel bila diperlukan sampai dapat terukur pada kisaran 20 – 80% T pada

- panjang gelombang 55° nm. Gunakan air sebagai blanko.
5. Buat kurva standar dengan menggunakan larutan glukosa standar dengan kisaran 0.2 – 5 mg/ml.
 6. Untuk sampel yang sedikit mengandung glukosa, tambahkan 0.1 mg glukosa ke dalam masing-masing sampel
 7. Tiga mililiter pereaksi DNS akan bereaksi dengan kurang lebih 10 mg glukosa. Oleh karena itu sampel harus diencerkan dahulu sampai kira-kira mengandung < 5 mg glukosa.

Catatan :

1. Reaksi pembentukan warna terjadi pada suasana basa, oleh karena itu sampel yang bersifat asam harus dinetralkan dahulu
2. Metode ini tidak spesifik dan akan mengukur seluruh senyawa pereduksi. Jika glukosa digunakan sebagai standar, maka untuk menentukan selobiosa, nilai yang diperoleh 15 % lebih rendah dari yang sebenarnya, sedangkan untuk silosa 15% lebih tinggi.

16.1.1.3.5 Metode Nelson-Somogyi

Pereaksi yang digunakan pada metode Nelson-Somogyi adalah :

1. Pereaksi tembaga sulfat
Larutkan 28 g Na_2HPO_4 anhydrous dan 4 g sodium potasium dalam 700 ml air.

- Tambahkan 100 ml NaOH 1 N sambil diaduk, kemudian tambahkan 80 ml kuprisulfat 10% (w/v). Tambahkan 180 g Na_2SO_4 anhydrous, kemudian tepatkan larutan hingga 1000 ml. Biarkan selama semalam, kemudian dekantasi supernatan jernih atau saring dahulu.
2. Pereaksi arsenomolibdat
Larutkan 25 g amonium molibdat dalam 450 ml air, tambahkan 21 ml H_2SO_4 pekat, campurkan merata. Tambahkan 3 g $\text{Na}_2\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yang sudah dilarutkan dalam 25 ml air. Aduk dan inkubasi pada 37°C selama 24 – 48 jam. Simpan di dalam botol berwarna coklat dan di dalam lemari.
 3. Larutan glukosa standar
Larutan stok glukosa standar 1 % (w/v) dalam asam benzoat jenuh diencerkan se-hingga diperoleh larutan glukosa standar dengan konsentrasi masing-masing 50, 150 dan 300 µg/ml.

Peralatan

1. Spektrofotometer
2. Tabung reaksi 16 x 150 mm + tutup gelas atau kelereng
3. Rak tabung reaksi
4. Penangas air

Cara Kerja

1. Pipet 2 ml larutan sampel jernih yang bebas impuritas, masukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2 ml pe-

- reaksi tembaga sulfat. Tutup tabung reaksi
- Tempatkan tabung reaksi dalam penangas air 100 °C selama 10 menit, kemudian dinginkan selama 5 menit dalam air mengalir
 - Tambahkan 1 ml pereaksi arsenomolibdat, campur hingga rata
 - Encerkan isi tabung reaksi sampai volume antara 10 – 25 ml, tergantung kepekatan warna larutan
 - Ukur absorbansinya pada 500 atau 520 nm (absorbansi maksimum pada 660 nm). Blanko dibuat sama seperti di atas kecuali sampel diganti dengan air
 - Buat kurva standar dari larutan glukosa standar 50, 150 dan 300 µg/ml dengan cara yang sama seperti penetapan sampel.

Catatan :

- Warna yang terbentuk stabil
- Pemanasan dan pendinginan untuk seluruh sampel atau standar dilakukan secara bersamaan dan seragam.

16.1.1.3.6 Metode Ferisianida Basa

Prinsip dasar dari metode ferisianida basa adalah bahwa di atas pH 10.5, gula akan mereduksi ferisianida menjadi ferosianida yang akan bereaksi dengan ion feri membentuk se-nyawa biru prussian yang dapat diukur

intensitasnya dengan menggunakan spektrofotometer.

Pereaksi yang digunakan dalam metode ferisianida basa adalah :

- Larutan sianida basa
Larutan ini dibuat dengan melarutkan 0.65 g potassium sianida kedalam 1000 ml larutan sodium karbonat 0.53% (w/v)
- larutan potassium ferisianida 0.05% (w/v) dalam air
- Larutan feriamonium sulfat
Larutan feriamonium sulfat dibuat dengan melarutkan 1.5 g feriamonium sulfat ke dalam 1000 ml H₂SO₄ 0.05N

Peralatan Utama :

- Penangas air
- Spektrofotometer

Cara Kerja :

- Campurkan 2 ml larutan sampel jernih yang bebas impuritas dengan 1 ml larutan sianida dan 1 ml larutan feriamonium sulfat (sampel diperkirakan mengandung 1 – 9 µg glukosa/2 ml)
- Panaskan dalam penangas air 100°C selama 15 menit
- Warna biru yang terbentuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 700 nm
- Buat kurva standar dari larutan glukosa standar 1-10 µg/2 ml yang diperlukan seperti tahap 1 sampai dengan tahap 3. Blanko dibuat dengan cara yang sama seperti tahap 1

sampai dengan tahap 3, dimana larutan sampel diganti dengan air.

Catatan :

1. Warna biru yang terbentuk stabil
2. Proses pemanasan harus dilakukan secara serentak dan sama untuk seluruh sampel dan standar.

16.1.1.4 Sukrosa

Kandungan sukrosa dalam bahan pangan dapat ditentukan dengan mengukur total gula sesudah inversi dan total gula pereduksi. Metode pengukuran yang dapat digunakan adalah metode Lane-Eynon dan Sahffer-Somogyi. Nilai total sukrosa sama dengan total gula setelah inversi dikurangi dengan total gula pereduksi dikalikan dengan 0.95.

$$\text{Sukrosa} = (\text{total gula} - \text{total gula pereduksi}) \times 0.95$$

Penentuan sukrosa di dalam bahan pangan dengan menggunakan metode ini didasarkan pada asumsi bahwa gula non pereduksi yang ada di dalam bahan pangan tersebut seluruhnya atau sebagian besar terdiri dari sukrosa.

16.1.1.5 Pati

Kandungan pati dalam bahan pangan dapat ditentukan dengan menggunakan beberapa metode, yaitu :

16.1.1.5.1 Metode Hidrolisis Asam

Metode hidrolisis asam dapat digunakan untuk menentukan kadar pati dalam bahan pangan yang diketahui hanya mengandung pati (dan dekstrin). Metode ini memiliki tingkat ketepatan yang rendah.

Prinsip dari metode hidrolisis asam adalah menghidrolisis pati dengan menggunakan asam sehingga terbentuk gula-gula. Gula yang terbentuk selanjutnya ditetapkan jumlahnya, sehingga kadar pati dapat diketahui.

Pereaksi yang digunakan pada metode hidrolisis asam adalah :

1. Eter
2. Alkohol 10 % dan 80 %
3. HCl ± 25 % (berat jenis 1.125)
4. NaOH 45 %

Peralatan utama yang digunakan adalah :

1. Timbangan analitik
2. Erlenmeyer
3. Gelas piala
4. Kertas saring
5. Pendingin balik
6. Penangas air

Cara Kerja

1. Timbang 2 – 5 g sampel (berupa bahan padat yang telah dihaluskan atau bahan cair) dalam gelas piala 250 ml
2. Tambahkan 50 ml alkohol 80 % dan aduk selama 1 jam
3. Saring suspensi tersebut dengan kertas saring dan cuci

dengan air sampai volume filtrat 250 ml. Filtrat ini mengandung karbohidrat yang terlarut dan dibuang

4. Untuk bahan yang mengandung lemak, pati yang terdapat sebagai residu pada kertas saring dicuci 5 kali dengan 10 ml eter. Biarkan eter menguap dari residu, kemudian cuci kembali dengan 150 ml alkohol 10 % untuk membebaskan lebih lanjut karbohidrat yang ter-larut
5. Pindahkan residu secara kuantitatif dari kertas saring ke dalam Erlenmeyer dengan cara pencucian menggunakan 200 ml air dan tambahkan 20 ml HCl 25%. Tutup dengan pendingin balik dan pasakan di atas penangan air sampai mendidih selama 2.5 jam
6. Biarkan dingin dan netralkan dengan NaOH 45% dan encerkan sampai volume 500 ml
7. Saring kembali dengan menggunakan kertas saring
8. Tentukan kadar gula yang dinyatakan sebagai glukosa dari filtrat yang diperoleh. Penentuan glukosa dilakukan seperti pada penentuan gula pereduksi
9. Kadar pati dalam bahan pangan tersebut dapat diperoleh dengan mengalikan bobot glukosa dengan faktor 0.9

16.1.1.5.2 Metode Polarimetri

Metode polarimetri merupakan metode baku yang banyak digunakan untuk menentukan kadar pati pada biji-bijian, khususnya tepung.

Pereaksi yang digunakan dalam metode polarimetri adalah :

1. Larutan kalsium Klorida Asam
Larutan kalsium klorida asam dibuat dengan melarutkan 620 g $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dalam 180 ml air, saring sampai jernih. Tambahkan 50 ml larutan sodium asetat trihidrat 36% (w/v) kedalam filtrat jernih. Sesuaikan pH larutan menjadi 2.3 dengan menambahkan asam asetat. Sesuaikan berat jenis larutan menjadi 1.3 pada 20°C .
2. Larutan Carrez I
Larutan Carrez I dibuat dengan melarutkan 21.9 g Zn-asetat dihidrat dan 30 ml asam asetat ke dalam 100 ml air
3. Larutan Carrez II
Larutan Carrez II dibuat dengan melarutkan 10.6 g potassium ferrosianida dalam 100 ml air

Peralatan utama yang digunakan adalah :

1. Otoklaf
2. Kertas Whatman no. 541
3. Polarimeter

Cara Kerja

1. Campurkan 2.5 g sampel dengan 10 ml air dalam gelas piala tinggi 400 ml sampai terbentuk pasta lembut

2. Tambahkan 50 ml larutan kalsium klorida, aduk hingga rata
3. Masukkan ke dalam otoklaf, panaskan pada tekanan 103.42 kN/m² selama 10 menit
4. Dinginkan campuran dengan cara merendahnya dalam air dingin. Pindahkan campuran ke dalam labu ukur 100 ml. Cuci gelas piala dengan larutan kalsium klorida dan masukkan bilasan ke dalam labu ukur. Tambahkan larutan kalsium klorida ke dalam labu ukur sampai volume campuran kira-kira 90 ml
5. Tambahkan 2 ml larutan Carrez I dan campur hingga merata. Tambahkan 2 ml larutan Carrez II dan campur hingga merata. Tambahkan larutan kalsium klorida hingga volume campuran mencapai 100 ml.
6. Saring dengan kertas Whatman no. 541 hingga diperoleh filtrat yang jernih
7. Buang 15-20 ml filtrat bagian atas
8. Ukur filtrat pada polarimeter

Perhitungan :

Kadar pati (g) dalam 100 g bahan pangan dapat dihitung dengan persamaan :

$$= \frac{n \times 10^4}{203 \times 5}$$

n = hasil pembacaan polarimeter pada 20°C dalam tabung 2 dm

$$(\alpha)_{D}^{20} = 203$$

16.1.1.5.3 Metode Ekstraksi Asam Perklorat

Metode ekstraksi asam perklorat cukup baik untuk menentukan kadar pati pada sereal. Prinsipnya menentukan kadar gula dengan metode Anthrone sehingga kadar pati dalam sampel dapat diketahui.

Gula bebas dalam sampel harus dihilangkan dahulu dengan cara ekstraksi dengan etanol 80 %, residu pati yang diperoleh ditambahkan asam perklorat sehingga dihasilkan gula yang akan ditentukan kadarnya.

Pereaksi yang digunakan dalam metode ekstraksi asam perklorat adalah :

1. Etanol 80 % (v/v)
2. Asam perklorat 52% (v/v)
Larutan asam perklorat ini dibuat dengan menambahkan 270 ml asam perklorat 72 % ke dalam 100 ml air secara perlahan-lahan
3. Pereaksi Anthrone
Pereaksi Anthrone diperoleh dengan melarutkan 1 g Anthrone ke dalam 1000 ml larutan yang mengandung 760 ml H₂SO₄ pekat (larutan H₂SO₄ 76%). Buat setiap hari akan digunakan.
4. Larutan gula standar
Larutan gula standar dibuat dengan melarutkan glukosa

standar sebanyak 25, 50, dan 100 µg ke dalam 1 ml air

Peralatan utama yang digunakan dalam metode ekstraksi asam perklorat adalah :

1. Sentrifus
2. Spektrofotometer
3. *Magnetic stirrer*

Cara Kerja

1. Timbang 0.2 g sampel dalam bentuk tepung, masukan ke dalam tabung sentrifus 50 ml. Tambahkan 2 tetes etanol 80 % (v/v) untuk membasahkan sampel. Kemudian tambahkan 5 ml air. Campur hingga rata.
2. Tambahkan 25 ml etanol 80 % (v/v) panas, campur hingga rata, biarkan selama 5 menit, sentrifus
3. Dekantasi supernatan, kemudian ulangi ekstraksi dengan 30 ml etanol 80%
4. Tambahkan 5 ml air kedalam residu, kemudian tambahkan 6.5 ml asam perklorat 52% sambil diaduk di atas magnetik stirrer. Lakukan pengadukan selama 5 menit sesudah penambahan asam perklorat. Diamkan sebentar. Aduk lagi selama 15 menit.
5. Tambahkan 20 ml air, sentrifus kembali
6. Dekantasi supernatan, masukan ke dalam labu ukur 100 ml. Ekstraksi kembali residu seperti sebelumnya (tahap 4 s/d 6). Masukan supernatan ke dalam labu ukur yang berisi

hasil dekantasi I. Tambahkan air sehingga volume-nya menjadi 100 ml

7. Buang 5 ml filtrat bagian atas, selebihnya saring
8. Encerkan sejumlah filtrat sehingga mengandung 100 µg glukosa/ml
9. Ambil 1 ml filtrat yang telah diencerkan, masukan ke dalam tabung reaksi bertutup karet/kelereng, tambahkan 1 ml air dan 10 ml pereaksi Anthrone, campur hingga merata
10. Panaskan tabung reaksi dalam penangas air 100°C selama 12 menit, dinginkan
11. Buat kurva standar.
12. Baca asorbansinya pada 607 nm.

16.1.1.5.4 Metode Enzimatis

Metode enzimatis diawali dengan mengekstrak sampel menggunakan dimetilsulfoksida dan asam sehingga pati terdegradasi. Pati yang sudah terdegradasi kemudian dihidrolisa oleh enzim amiloglukosidase sehingga terbentuk gula. Gula yang terbentuk dapat ditentukan jumlahnya dengan salah satu metode penetapan total gula.

Pereaksi yang digunakan dalam metode enzimatis adalah :

1. Dimetilsulfoksida
2. HCl 8 N
3. Buffer asetat 0.1 M, pH 4.6
4. Larutan amiloglukosidase 10 mg/ml

Peralatan yang digunakan

1. Penangas air
2. Spektrofotometer

Cara Kerja

1. Sampel sebanyak 100 mg diekstrak dalam bentuk tepung bebas gula dengan cara menambahkan 20 ml dimetilsulfoksida dan 5 ml HCl 8N dalam penangas air 60 °C selama 30 menit
2. Dinginkan, saring jika keruh
3. Encerkan supernatan jernih sehingga mengandung 0.2 – 0.4 pati/liter
4. Campurkan 0.2 ml supernatan dengan 0.2 ml buffer asetat 0.1 M, pH 4.6. Tambahkan 0.02 ml larutan amiloglukosidase (10 mg/ml)
5. Inkubasi campuran tersebut pada suhu 20 – 25°C selama 15 menit
6. Sesudah inkubasi, tentukan kadar gula campuran dengan menggunakan salah satu metode penetapan gula.

Catatan :

1. Ekstrasi awal dengan asam dan dimetilsulfoksida akan mengakibatkan beberapa dari polisakarida mengalami degradasi selain pati.
2. Amiloglukosidase akan melakukan hidrolisis pada ikatan glukosidik α -1,2.

16.1.1.6 Amilosa

Reaksi antara amilosa dengan senyawa iod akan menghasilkan

warna biru. Intensitas warna biru akan berbeda tergantung dari kadar amilosa dalam bahan.

Pereaksi yang digunakan dalam penentuan amilosa adalah :

1. Amilosa standar
2. Etanol 95 %
3. NaOH 1 N
4. Larutan Iod
5. Larutan 0.2 g Iod dan 2 g KI dalam 100 ml air.
6. Asam asetat 1N

Peralatan

1. Penangas air
2. spektrofotometer
3. Tabung reaksi
4. Labu ukur 100 ml
5. Pipet 1 ml, 2 ml, dan 9 ml.

Cara Kerja meliputi 2 arah :

1. Pembuatan kurva standar

1. Timbang 40 mg amilosa murni, masukan kedalam tabung reaksi. Tambahkan 1 ml etanol dan 9 ml NaOH 1N.
2. Panaskan dalam air mendidih selama 10 menit sampai semua bahan membentuk gel. Setelah itu dinginkan.
3. Pindahkan seluruh campuran kedalam labu ukur 100 ml. Tambahkan air hingga mencapai tanda tera
4. Pipet masing-masing 1, 2, 3, 4, dan 5 ml larutan diatas dan masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml.
5. Tambahkan asam asetat 1N berturut-turut 0.2, 0.4, 0.6, 0.8

- dan 1 ml, tambahkan masing-masing 2 ml larutan iod.
6. Tambahkan air sehingga tinggi campuran dalam labu ukur mencapai tanda tera. Biarkan selama 20 menit.
 7. Intensitas warna biru yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm.
 8. Buat kurva standar antara konsentrasi amilosa dengan absorbans.

2. Penetapan sampel

1. Timbang 100 mg sampel dalam bentuk tepung (sampel sebagian besar terdiri dari pati, jika banyak mengandung komponen lainnya, ekstrak dulu patinya baru dianalisis kadar amilosanya), masukan kedalam tabung reaksi. Tambahkan 1 ml etanol 95% dan 9 ml NaOH 1N.
2. Panaskan dalam air mendidih selama 10 menit sampai terbentuk gel.
3. Pindahkan seluruh gel ke dalam labu ukur 100 ml, kocok, tambahkan air hingga permukaan larutan mencapai tanda tera.
4. Pipet 5 ml larutan tersebut, masukan kedalam labu ukur 100 ml. Tambahkan 1 ml asam asetat 1N dan 2 ml larutan iod.
5. Tambahkan air hingga permukaan larutan men-

capai tanda tera, kocok, diamkan selama 20 menit.

6. Ukur intensitas warna dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm.
7. Hitung kadar amilosa dalam sampel.

16.1.1.7 Serat kasar

Serat kasar merupakan residu dari bahan pangan setelah ditambahkan asam dan alkali mendidih. Serat kasar terdiri dari selulosa, lignin, dan pentosan.

Pereaksi yang digunakan dalam penentuan serat kasar adalah :

- a. Antifoam agent
- b. Asbes
- c. Larutan H_2SO_4 (1.25 g H_2SO_4 pekat / 100 ml = 0.225 N H_2SO_4)
- d. NaOH (1.25 g NaOH/100 ml = 0.313 N NaOH)
- e. Larutan K_2SO_4 10 %
- f. Alkohol 95 %

Peralatan

- a. Penggiling
- b. Timbangan analitik
- c. Soxhlet
- d. Erlenmeyer 600 ml
- e. Pendingin balik
- f. Kertas saring
- g. Spatula
- h. Oven 119 oC
- i. Desikator

Cara Kerja

1. Haluskan sampel sehingga dapat melalui saringan berdiameter 1 ml dan aduk hingga

- merata. Bila bahan tidak dapat dihaluskan, cukup dihancurkan sebaik mungkin
2. Timbang 2 g bahan. Eks-traksi lemak sampel dengan metode soxhlet.
 3. Pindahkan sampel ke dalam Erlenmeyer 600 ml. Jika ada tambahkan 0.5 g asbes yang telah dipijarkan dan 3 tetes zat anti buih (*antifoam agent*)
 4. Tambahkan 200 ml larutan H_2SO_4 mendidih. Tutup dengan pendingin balik.
 5. Didihkan selama 3 menit dengan kadang-kadang digoyang-goyangkan.
 6. Saring suspensi dengan kertas saring. Residu yang tertinggal dalam Erlenmeyer dicuci dengan air mendidih. Cuci residu dalam kertas saring sampai air cucian tidak bersifat asam lagi (uji dengan kertas lakmus).
 7. Pindahkan secara kuantitatif residu dari kertas saring ke dalam Erlenmeyer kembali dengan spatula. Sisanya cuci lagi dengan 200 ml larutan NaOH mendidih sampai semua residu masuk kedalam Erlenmeyer.
 8. Didihkan dengan pendingin balik sambil kadang-kadang digoyang-goyangkan selama 30 menit
 9. Saring kembali dengan menggunakan kertas saring yang diketahui beratnya atau *krus-geoch* yang telah dipijarkan dan diketahui beratnya, sambil dicuci dengan K_2SO_4 10 %.
 10. Cuci lagi residu dengan air mendidih, kemudian dilanjutkan dengan alkohol 95% sekitar 15 ml.
 11. Keringkan kertas saring atau krus dengan isinya pada 110 °C sampai beratnya konstan (1-2 jam), dinginkan dalam desikator dan timbang. Jangan lupa mengurangi berat asbes (sekali digunakan). Berat residu yang diperoleh = berat serat kasar.

16.1.1.8 Dietary fiber

Dietary fiber adalah bagian dari komponen bahan pangan nabati yang tidak dapat dicerna oleh saluran pencernaan manusia, termasuk polisakarida dan lignin. Berdasarkan fungsinya, dietary fiber dapat dibagi menjadi tiga, yaitu :

1. Polisakarida struktural, terdapat dalam dinding sel dan terdiri dari selulosa dan polisakarida non-selulosa (hemiselulosa dan substansi pekat)
2. Non-polisakarida struktur, sebagian besar terdiri dari lignin.
3. Polisakarida non struktural, termasuk gum dan mucilage serta polisakarida lainnya (kageenan dan agar dari alga dan rumput laut).

Untuk menganalisa dietary fiber telah dikembangkan berbagai metode, diantaranya yang mudah dan relatif cepat adalah Metode Van Soest. Dengan metode ini

dapat ditentukan kadar Acid Detergent Fiber (ADF) dan Neutral Detergent Fiber (NDF). ADF terdiri dari selulosa dan lignin dan NDF terdiri selulosa, hemiselulosa dan lignin.

Hampir semua komponen *dietary fiber* dapat dihitung. Kadar hemiselulosa diperoleh dengan menghitung selisih kadar NDF dengan kadar ADF. Kadar selulosa diperoleh dengan menghitung selisih kadar ADF dan kadar lignin. Total dietary fiber dihitung dengan menjumlahkan kadar NDF dengan kadar subs-tansi pekat.

16.1.1.8.1 Penentuan kadar ADF

Sampel yang akan diuji diekstrak dengan larutan setiltrimetil amonium bromida (ADF) dalam H₂SO₄ 1N sehingga seluruh komponen selain komponen ADF larut. Komponen yang tidak larut kemudian disaring, dikeringkan, ditimbang, dan dikoreksi dengan kandungan mineral yang ada dalam komponen tersebut dengan cara menyabungkannya sehingga yang tinggal hanya mineralnya saja.

Pereaksi yang digunakan dalam penetapan ADF adalah :

1. Larutan ADF

Larutan ADF dibuat dengan melarutkan 20 g setil trimetil amonium bromida dalam 1 liter H₂SO₄ 1N.

2. Aseton

Peralatan yang digunakan dalam penetapan ADF adalah :

1. Pendingin tegak
2. Pemanas listrik
3. Filter gelas 2-G-3
4. Oven pengering
5. Tanur 450-500°C
6. Timbangan analitik
7. Desikator

Cara Kerja :

1. Timbang sampel bentuk tepung lolos ayakan 30 mesh sebanyak 1 g dan masukan ke dalam Erlenmeyer.
2. Tambahkan 100 ml larutan ADF; didihkan pada pendingin tegak selama 60 menit.
3. Saring dengan filter gelas 2-G-3, endapan yang diperoleh dicuci dengan akuades panas beberapa kali.
4. Endapan dicuci beberapa kali dengan aseton
5. Keringkan filter gelas dan endapan dalam oven 100°C sampai diperoleh berat yang tetap (sekitar 8 jam), timbang.
6. Abukan endapan pada tanur bersuhu 450 – 500 °C hingga diperoleh berat yang konstan (sekitar 3 jam) timbang.

Perhitungan :

$$\% \text{ kadar ADF} = \frac{(a - b)}{(W)} \times 100$$

Dimana :

a = berat filter dan endapan setelah dikeringkan (g)

b = Berat filter dan endapan setelah diabukan

c = berat awal sampel (g)

16.1.1.8.2 Penentuan kadar NDF

Penetapan NDF diawali dengan mengekstrak sampel dengan larutan NDF sehingga seluruh komponen selain NDF larut. Komponen yang tidak larut kemudian disaring, dikeringkan, ditimbang dan dikoreksi dengan kandungan mineralnya yang ada dalam komponen tersebut.

Untuk sampel yang mengandung pati, patinya harus dihidrolisis dahulu dengan menggunakan α -amilase sehingga tidak menyebabkan kesulitan selama penyaringan.

Pereaksi yang digunakan dalam penentuan NDF adalah :

1. Larutan NDF
Larutkan 18.61 g EDTA-2Na, 6.81 g $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, 30 g Sodium lauril sulfat, 4.56 g Na_2HPO_4 dan 10 ml 2-etoksiletanol dalam 1 liter. Atur sedemikian rupa sehingga pH berkisar 6.9-7.1.
2. Larutan α -amilase
Masukkan 1 g α -amilase ke dalam 1 liter buffer fosfat, yaitu 0.067 M buffer fosfat (KH_2PO_4 - Na_2HPO_4), pH 7.0 ± 0.05 .
3. Aseton

Peralatan yang digunakan :

1. Erlenmeyer
2. Timbangan analitik
3. Desikator
4. Inkubator 40°C
5. Pendingin tegak

6. Filter gelas 2-G-3
7. Oven pengering 100°C
8. Tanur 450 - 500°C

Cara kerja :

1. Timbang 0.5 g sampel bentuk tepung lolos ayakan 30 mesh dan masukkan ke dalam Erlenmeyer.
2. Tambahkan 30 ml larutan α -amilase dan inkubasi pada suhu 40°C selama 16 jam (semalam).
3. Tambahkan 200 ml larutan NDF dan 0.5 g Na_2SO_3 .
4. Refluks campuran pada pendingin tegak selama 60 menit
5. Saring campuran melalui filter 2-G-3 dan cuci dengan aquades panas beberapa kali.
6. Bilas endapan dengan aseton beberapa kali.
7. Keringkan filter dan endapan pada oven yang bersuhu 100°C sampai diperoleh bobot yang konstan (sekitar 8 jam), timbang.
8. Abukan filter dan endapan pada tanur yang bersuhu 450 - 500°C sampai diperoleh bobot yang konstan (sekitar 3 jam), timbang.

Perhitungan :

$$\% \text{ kadar NDF} = \frac{a - b}{W} \times 100$$

Dimana :

- a = berat filter dan endapan setelah dikeringkan (g)
b = Berat filter dan endapan setelah diabukan

c = berat awal sampel (g)

16.1.1.8.3 Penentuan lignin

Kandungan lignin dapat ditentukan dengan mengekstrak sampel dengan larutan ADF sehingga semua komponen selain selulosa dan lignin larut. Selulosa yang ada dalam residu kemudian dihidrolisa menggunakan H₂SO₄ 72% sehingga yang tersisa dalam residu hanya lignin.

Pereaksi yang digunakan dalam penentuan lignin adalah :

1. Larutan ADF (lihat penetapan ADF)
2. Larutan H₂SO₄ 72% (w/v)
3. Aseton

Peralatan yang digunakan dalam penentuan lignin adalah :

1. Timbangan analitik
2. Pendingin tegak
3. Filter gelas 2-G-4
4. Oven
5. Tanur

Cara kerja :

1. Timbang 0.5 g sampel bentuk tepung lolos aya-kan 30 mesh, masukkan ke dalam labu Erlenmeyer atau labu didih
2. Tambahkan 100 ml larutan ADF
3. Refluks pada pendingin tegak selama 60 menit
4. Saring melalui filter gelas 2-G-4
5. Tempatkan filter gelas yang berisi residu pada gelas piala 100 ml.

6. Tambahkan 25 ml H₂SO₄ 72% dingin (15 °C) ke dalam filter gelas, aduk dengan gelas pengaduk sampai ter-bentuk pasta halus. Biarkan gelas pengaduk berada da-lam filter gelas.
7. Biarkan selama 3 jam pada suhu 20 – 23 °C sambil diaduk-aduk setiap 1 jam sekali.
8. Dengan bantuan vakum lakukan penyaringan. Cuci residu dengan air panas sampai filtrat bebas asam (cek dengan kertas lakmus). Jangan lupa cuci bagian pinggir filter dan gelas pengaduk dengan air panas.
9. Bilas residu dengan aseton 2-3 kali.
10. Keringkan filter gelas dalam oven 100°C sampai diperoleh berat konstan, masukkan ke desikator kemudian timbang.
11. Masukkan filter ke dalam tanur 450 – 500 °C sampai diperoleh berat tetap, biarkan agak dingin, masukkan desikator, timbang.

Perhitungan :

$$\% \text{ kadar lignin} = \frac{a - b}{W} \times 100$$

Dimana :

- a = berat filter dan endapan setelah dikeringkan (g)
 b = Berat filter dan endapan setelah diabukan
 c = berat awal sampel (g)

16.1.1.9 Penentuan substansi pektat

16.1.1.9.1 Metode Kolorimetrik

Prinsip penentuan substansi pektat dengan metode kolorimetrik didasarkan atas reaksi antara O-hidroksi difenil dengan anhidro-galakturonat sehingga menghasilkan warna yang dapat diukur pada panjang gelombang 520 nm.

Pereaksi yang digunakan dalam penentuan substansi pektat adalah :

1. Larutan versene 0.5%
Larutan ini dibuat dengan melarutkan 5 g EDTA-4 Na dalam akuades hingga volume 1 liter.
2. Larutan tetraborat / sulfat
Larutan $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0.0125 M dalam H_2SO_4 pekat
3. Larutan O-hidroksidifenil
Larutan O-hidroksidifenil diperoleh dengan melarutkan 1.5 g O-hidroksidifenil dalam 1000 ml NAOH 0.5 persen.
4. NaOH 0.05 N

Peralatan yang digunakan :

1. Vortex mixer
2. Spektrofotometer
3. Penangas air
4. Penangas es (ice bath)

Cara kerja :

a. Penetapan sampel

1. Timbang sampel dalam bentuk tepung lolos ayakan 30 mesh sebanyak 0.5 g.
2. Ekstraksi dengan 25 ml etanol 70 % untuk menghilangkan gula-gula.
3. Saring, endapannya diambil lalu tambahkan 200 ml larutan versen 0.5 persen.
4. Inkubasi pada suhu 25 °C selama 30 menit untuk melarutkan substansi pektat di dalam sampel.
5. Asamkan campuran sampai pH 5 – 5.5 dengan menggunakan asam asetat, kemudian tambahkan 0.1 g pektinase, inkubasi pada 25 °C selama satu jam.
6. Tambahkan akuades sehingga volume campuran menjadi 250 ml, kemudian saring.
7. Dari filtrat yang diperoleh, ambil 0.8 ml lalu tambahkan kedalamnya 4.8 ml larutan tetraborat / sulfat.
8. Dinginkan dengan penangas es sampai suhu campuran mencapai 4 °C, kemudian kocok dengan vortex mixer.
9. Panaskan dengan penangas air bersuhu 100 °C selama 5 menit, dinginkan kembali dengan penangas es sampai suhu 20 °C.
10. Tambahkan 0.08 ml larutan O-hidroksidifenil, kocok kembali dengan vortex mixer.
11. Setelah dibiarkan kurang lebih 5 menit dan warna telah terbentuk sempurna, ukur absorbansinya pada panjang gelombang 520 nm.

12. Pembuatan blanko sama seperti prosedur di atas, kecuali tidak ditambahkan larutan O-hidroksidifenil.

b. Pembuatan kurva standar

1. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan menambahkan 10 ml NaOH 0.05N kedalam 120.5 mg asam galakturonat monohidrit, encerkan sampai volume 500 ml dengan akuades. Biarkan selama semalam pada suhu kamar. Tiap ml larutan standar ini mengandung 20 µg asam anhidrogalakturonat.
2. Masukkan 10, 20, 40, 50, 60, dan 80 ml larutan standar masing-masing ke dalam labu ukur 100 ml, tepatkan sampai tanda tera dengan akuades.
3. Setiap 0.8 ml larutan standar ini diperlakukan sama seperti pada penetapan sampel, kemudian ukur absorbansinya pada 520 nm.
4. Blanko larutan standar dibuat sama seperti larutan standar, tetapi tidak ditambahkan O-hidroksidifenil.

c. Perhitungan

$$\text{Anhidrouronat} = \frac{(a) (b)}{0.8 (W) 10^6} \times 100\%$$

= kadar substansi pektat didalam sampel

Dimana :

a = konsentrasi sampel yang diperoleh

b = volume akhir setelah penambahan pektinase

0.8 = volume filtrat yang diambil untuk pengukuran absorbansi (ml)

W = bobot sampel

c = berat awal sampel (g)

10^6 = faktor konversi satuan

16.1.1.9.2 Metode Gravimetrik

Penetapan substansi pektat dilakukan dengan mengekstrak pektin dari sampel kemudian disaponifikasi dengan alkali dan didapatkan sebagai kalsium pektat dengan penambahan kalsium klorida dan suasana asam. Endapan kalsium pektat dicuci sampai bebas klorida, dikeringkan dan ditimbang.

Adapun pereaksi yang dipergunakan untuk penetapan substansi pektat dengan metode gravimetri adalah :

1. Asam asetat 1 N

Asam asetat 1N diperoleh dengan mengencerkan 30 ml asam asetat glasial dengan air hingga menjadi 500 ml.

2. Kalsium klorida 1N

Kalsium klorida 1N dibuat dengan melarutkan 27.5 g CaCl_2 anhidrous dalam air. Encerkan hingga volumenya mencapai 500 ml.

3. Perak nitrat 1 %

Perak nitrat diperoleh dengan melarutkan 1 g AgNO_3 dalam 100 ml air.

4. HCl 0.05 N

Peralatan yang digunakan

1. Waring blender
2. Oven

Cara kerja

a. Ekstraksi

1. Timbang 50 g sampel yang sudah diblender dalam wadah gelas piala 1000 ml.
2. Ekstrak dengan 400 ml HCl 0.005 N selama 2 jam pada suhu 80-90 °C. Gantikan air yang hilang karena penguapan.
3. Dinginkan, pindahkan seluruh isinya ke labu ukur 500 ml, tepatkan sampai tanda tera dengan air.
4. Kocok merata, kemudian saring dengan kertas saring Whatman No. 4, masukkan filtrat ke dalam Erlenmeyer 500 ml.
5. Ulangi ekstraksi terhadap pulp sayuran atau buah-buahan dengan air dingin lalu panaskan ekstrak campuran sebelum penyaringan atau didihkan pulp dan air tanpa penambahan asam. Untuk melarutkan pektin yang tidak larut lakukan ekstraksi asam sebagai berikut :
 - Tambahkan HCl 0.01 N, didihkan selama 30 mnt.
 - Saring, cuci endapan dengan air panas.

- Tambahkan HCl 0.05 N pada residu, didihkan selama 20 menit dan saring seperti sebelumnya.
- Tambahkan HCl 0.3 N pada residu, didihkan selama 10 menit dan saring.
- Kumpulkan seluruh filtrat yang diperoleh, dinginkan, dan tepatkan sampai volume tertentu.

b. Jam, Jelly dan Marmalade

1. Timbang 50 g sampel dalam wadah gelas piala 1000 ml. Sementara itu siapkan 400 ml air, panaskan pada penangas air.
2. masukan sampel ke dalam air yang sudah disiapkan sambil dipanaskan, hancurkan sampel dengan gelas pengaduk.
3. Dinginkan. Lalu pindahkan sampel ke dalam labu ukur 500 ml. Tetapkan sampai tanda tera dengan air, kemudian saring dengan kertas Whatman no.4.

c. Penetapan sampel

1. Pipet 100-200 ml masing-masing alikuot, masukan ke dalam gelas piala 1000 ml. Tambahkan 250 ml air. Netralkan dengan penambahan NaOH 1N dengan menggunakan fenolftalein sebagai indikator. Tambahkan lagi 10 ml NaOH 1 N, sambil

- melakukan pengadukan. Biarkan selama semalam.
2. Tambahkan 50 ml asam asetat 1N, kemudian setelah 5 menit tambahkan 25 ml kalsium khlorida 1 N, aduk merata.
 3. Saring dengan kertas saring yang telah disiapkan sebelumnya (sebelumnya, kertas saring dibasahkan dengan air panas, keringkan dalam oven 102 °C selama 2 jam, dinginkan dalam desikator kemudian timbang dalam wadah timbang tertutup)
 4. Cuci endapan dengan air panas yang hampir mendidih sampai bebas dari khlorida (uji dengan perak nitrat). Keringkan pada 100 oC selama semalam, dinginkan dengan desikator lalu timbang.

d. Perhitungan

$$\% \text{ kalsium pektat} = \frac{a \times 500 \times 100}{b \times c}$$

- a = Berat kalsium pektat
 b = ml filtrat yang digunakan untuk penetapan
 c = Berat sampel

16.1.2 Pencatatan hasil

Hasil dicatat pada buku hasil. Bila dari hasil perhitungan diperoleh :

- a. Angka desimal kurang dari 5 (lima) maka dilakukan pembulatan turun, sedangkan bila lebih dari

5 (lima) dilakukan pembulatan naik. Contoh :

14.545	Dibulatkan menjadi	14.45
14.466	Dibulatkan menjadi	14.47

b. Angka desimal 5 (lima) yang akan dibulatkan dari angka genap yang ada di depannya, maka angka lima tersebut menjadi hilang. Tetapi jika angka depannya ganjil maka dilakukan pembulatan naik. Contoh :

14.765	Dibulatkan menjadi	14.76
14.475	Dibulatkan menjadi	14.48

16.2. Analisis protein

16.2.1 Penetapan protein kasar

16.2.1.1 Metode Kjeldahl

Analisis protein metode Kjeldhal didasarkan pada oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi amonia. Kemudian amonia bereaksi dengan kelebihan asam membentuk amonium sulfat. Larutan dibuat menjadi basa dan amonia diuapkan untuk kemudian diserap dalam larutan asam borat. Nitrogen yang terkandung dalam larutan dapat ditentukan jumlahnya dengan titrasi menggunakan HCl 0.02 N.

Pereaksi yang digunakan dalam metode Kjeldhal adalah :

1. Asam sulfat pekat
2. Air raksa oksida

3. Kalium sulfat
4. Larutan natrium hidroksida-natrium tiosulfat (larutkan 60 g NaOH dan 5 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam air dan encerkan sampai 100 ml)
5. Larutan asam borat jenuh
6. Larutan asam khlorida 0.02N.

Peralatan yang digunakan :

1. Pemanas Kjeldahl lengkap yang dihubungkan dengan pengisap uap melalui aspirator.
2. Labu Kjeldahl berukuran 30 ml atau 50 ml.
3. Alat distilasi lengkap dengan Erlenmeyer berpenumpang 125 ml
4. Buret 25 ml / 50 ml

Cara Kerja

1. Timbang sejumlah kecil sampel (kira-kira akan membutuhkan 3-10 ml HCl 0.01 N atau 0.02 N), pindahkan kedalam labu Kjeldahl 30 ml
2. Tambahkan 1.9 ± 0.1 g K_2SO_4 , 40 ± 10 mg HgO, dan 2 ± 0.1 ml H_2SO_4 . Jika sampel lebih dari 15 mg ± 0.1 g. Bila sampel lebih dari 15 mg, tambahkan 0.1 ml H_2SO_4 untuk setiap 10 mg bahan organik di atas 15 mg.
3. Tambahkan beberapa butir batu didih. Didihkan sampel selama 1 – 1.5 jam sampai cairan menjadi jernih.
4. Dinginkan, tambahkan sejumlah kecil air secara perlahan-lahan (hati-hati tabung men-

jadi panas), kemudian dinginkan.

5. Pindahkan isi labu kedalam alat destilasi. Cuci dan bilas labu 5-6 kali dengan 1-2 ml air, pindahkan air cucian tersebut ke dalam alat distilasi.
6. Letakkan Erlenmeyer 125 ml yang berisi 5 ml larutan H_2BO_3 dan 2-4 tetes indikator (campuran 2 bagian metil merah 0.2% dalam alkohol dan 1 bagian metilen blue 0.2% dalam alkohol) di bawah kondensor. Ujung tabung kondensor harus terendam di bawah larutan H_3BO_3 .
7. Tambahkan 8-10 ml larutan NaOH- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, kemudian lakukan destilasi sampai tertampung kira-kira 15 ml destilat dalam Erlenmeyer.
8. Bilas tabung kondensor dengan air, dan tampung bilasannya dalam Erlenmeyer yang sama.
9. Encerkan isi Erlenmeyer sampai kira-kira 50 ml kemudian titrasi dengan HCl 0.02N sampai terjadi perubahan warna menjadi abu-abu. Lakukan juga penetapan Blan-ko.

Perhitungan

$$\% \text{ N} = \frac{(a)(b)(c)}{d}$$

dimana :

- a = ml HCl
b = ml blanko
c = normalitas

$d = \text{mg sampel}$

$\% \text{ protein} = \%N \times \text{faktor konversi}$

Faktor konversi kadar protein bermacam-macam bahan pangan

Bahan	Faktor Koreksi
Bir, sirup, biji-bijian, ragi, pakan ternak, buahan teh manis anggur, tepung jagung	6.25
Beras	5.95
Roti, gandum, makaroni, bakmi	5.70
Kacang tanah	5.46
Kedele	5.71
Kenari	5.18
Susu dan produk susu	6.38

16.2.1.2 Metode Biuret

Penentuan kadar protein dengan metode Biuret merupakan salah satu cara terbaik. Dalam larutan, basa Cu^{2+} membentuk kompleks dengan ikatan peptida ($-\text{CO}-\text{NH}-$) sehingga menghasilkan warna ungu dengan absorbans maksimum pada 540 nm. Absorban berbanding lurus dengan konsentrasi protein dan tidak tergantung dari jenis protein karena seluruh protein memiliki jumlah ikatan peptida yang sama per satuan berat.

Hanya sedikit senyawa lain yang mengganggu reaksi misalnya urea (mengandung gugus $-\text{CO}-\text{NH}-$) dan gula pereduksi yang akan bereaksi dengan ion Cu^{2+} .

Pereaksi yang digunakan dalam metode Biuret adalah :

1. Pereaksi Biuret

Pereaksi Biuret dibuat dengan melarutkan 3 g $\text{CuCO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan 9 g Na-K-Tartrat dalam 500 ml NaOH 0.2 N Tambahkan 5 g KI, kemudian encerkan sampai 1000 ml dengan menggunakan NaOH 0.2N

2. Larutan protein standar

Buat larutan bovine serum albumin dalam air dengan konsentrasi 5 mg/ml. Ukur kadar air serum albumin, nyatakan konsentrasi dengan dasar berat kering (agar lebih tepat).

Peralatan yang digunakan

1. Spektrofotometer
2. Sentrifus
3. Waring Blender

Cara kerja

1. Pembuatan Kurva Standar

1. Masukkan ke dalam tabung reaksi 0 (blanko), 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, dan 1 ml protein standar. Tambahkan air sampai volume total masing-masing 4 ml.
2. Tambahkan 6 ml pereaksi Biuret ke dalam masing-masing tabung reaksi, campur hingga rata.
3. Simpan tabung reaksi pada suhu 37°C selama 10 menit atau pada suhu kamar selama

30 menit sampai pembedakan warna ungu sempurna.

4. Ukur absorbansinya pada 520 nm.

2. Persiapan sampel

1. Sampel harus berupa cairan. Jika berbentuk padatan maka harus dihancurkan dahulu dengan menggunakan waring blender dan penambahan air. Hancuran yang diperoleh disaring lalu disentrifus. Supernatan di dekantasi untuk dipergunakan selanjutnya (a). Protein yang terukur pada supernatan adalah *soluble protein*. Perhatikan faktor pengenceran.
2. Jika cairan berupa larutan protein seperti protein konsentrat, isolat yang tidak keruh, maka persiapan sampel cukup dengan pengenceran secukupnya saja. Jika cirannya keruh atau mengandung bahan-bahan yang mengganggu seperti glukosa, maka harus dilakukan perlakuan berikut :
 - Aliquot (ekstrak) didistribusikan ke dalam tabung reaksi seperti pada penetapan standar, kemudian tambahkan air sampai volume total masing-masing 1 ml.
 - Kedalam masing-masing tabung reaksi tambahkan 1 ml trichloroacetic acid (TCA) 10 % sehingga protein akan terdenaturasi
 - Sentrifus pada 300 rpm selama 10 menit sampai

protein yang terdenaturasi mengendap. Supernatan dibuang dengan cara dekantasi.

- Kedalam endapan tambahkan 2 ml etil eter, campur merata lalu sentrifus kembali untuk menghilangkan residu TCA. Biarkan mengering pada suhu kamar.
- Kedalam endapan kering ditambahkan 4 ml air. Campur hingga merata (jangan harapkan seluruhnya akan larut).
- Tambahkan 6 ml pereaksi Biuret, alkali dalam pereaksi ini akan melarutkan endapan yang tersisa.

3. Penetapan sampel

0.1 – 1 ml sampel (dipipet tepat) dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian diperlakukan seperti menetapkan standar.

16.2.1.3 Metode Lowry

Metode Lowry menghasilkan penghitungan protein lebih sensitif dibandingkan metode Biuret. Prinsip dari penetapan protein dengan metode lowry dilakukan berdasarkan terbentuknya warna biru yang dihasilkan dari reaksi antara Cu^{2+} dengan ikatan peptida dan reduksi asam fosfomolibdat dan asam fosfo-tungstat oleh tirosin dan triptofan (merupakan residu protein).

Warna yang terbentuk terutama dari hasil reduksi fosfomolibdat dan fosfotungstat, oleh karena itu warna yang terbentuk tergantung pada kadar tirosin dan triptofan dalam protein.

Senyawa fenolik juga dapat membentuk warna biru, sehingga akan mengganggu penghitungan. Untuk menghilangkannya lakukan pengendapan protein dengan TCA, hilangkan supernatan. Larutkan kembali protein yang diendapkan oleh TCA, baru dianalisis.

Pereaksi yang digunakan dalam metode Lowry adalah :

1. Natrium karbonat 2% dalam larutan NaOH 0.1N
2. Tembaga sulfat 0.5% dalam larutan NaK tartrat 1 % (dibuat hanya pada waktu akan digunakan).
3. Campuran 50 ml pereaksi (1) dengan 1 ml pereaksi (2) (hanya pada waktu akan digunakan, hanya stabil selama 1 hari)
4. Pereaksi Folin Ciocalteu (pereaksi fenol)

Pereaksi ini biasanya tersedia secara komersil, larutkan dengan air 1 : 1 sebelum digunakan. Pereaksi ini dapat dibuat sendiri dengan cara sebagai berikut :

- Masukkan 100 g natrium tungstat, 25 g natrium molibdat, 500 ml akuades, 50 ml asam fosfat 85% dan

100 ml HCl pekat ke dalam labu 2 liter.

- Campuran direfuks secara hati-hati selama 10 jam dengan menggunakan kondensor. Sesudah didinginkan, tambahkan ke dalam labu 150 g litium sulfat, 50 ml akuades dan beberapa tetes Br₂ (Brom).
 - Pendidihan dilanjutkan lagi selama 10 menit dengan tanpa kondenser, untuk menghilangkan kelebihan Brom.
 - Setelah didinginkan, volume larutan dijadikan 100 ml dan saring jika perlu.
 - Filtrat tidak boleh ada warna kehijauan. Bila ada maka perlu dilakukan pendidihan sekali lagi. Ini merupakan 'reagent stok'. Larutkan dengan air 1 : 1 sebelum digunakan.
5. Larutan protein standar 0.25 mg/ml (larutan bivine serum albumin)

Cara Kerja :

1. Pembuatan Kurva Standar

- a. Masukkan ke dalam tabung reaksi : 0 (blanko), 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, dan 1.0 ml protein standar. Tambah air sampai volume total masing-masing 4 ml. Kedalam masing-masing tabung reaksi tambahkan 5.5 ml pereaksi (3), campur merata dan biarkan selama 10 – 15 menit pada suhu kamar.

- b. Tambahkan 0.5 ml pereaksi (4) ke dalam masing-masing tabung reaksi, kocok merata dengan cepat setelah penambahan.
- c. Biarkan selama 30 menit sampai warna biru terbentuk.
- d. Ukur absorbansinya pada 650 nm
- e. Buat kurva standar.

2. Persiapan sampel

Lakukan seperti mempersiapkan sampel penetapan protein metode biuret.

3. Penetapan sampel

0.1 – 1 ml sampel dipipet tepat, masukkan kedalam tabung reaksi kemudian diperlakukan seperti penetapan standar.

16.2.1.4 Metode Dye Binding

Metode *dye binding* hanya dapat diterapkan untuk menetapkan kadar protein susu secara tidak langsung, yaitu dengan mengikat zat warna. Untuk menentukan kadar protein, hasil yang diperoleh harus dikalibrasi dahulu dengan metode Kjeldahl.

Metode ini didasarkan bahwa zat warna memiliki kemampuan bergabung dengan gugus polar protein yang bermuatan ion berlawanan. Senyawa kompleks tidak larut yang terbentuk dipisahkan dengan cara sentrifugasi atau penyaringan dan konsentrasi zat warna yang tidak terikat dapat

diukur densitas optisnya. Dengan menggunakan kurva standar yang menyatakan hubungan antara densitas optik dengan kadar protein yang ditetapkan dengan metode Kjeldahl, maka kadar protein sampel dapat ditentukan.

Pereaksi dan peralatan

Pereaksi yang digunakan pada metode dye binding adalah larutan dye. Larutan ini dibuat dengan melarutkan 0.6165 g amido black atau 1 g orange G dalam 1 liter asam sitrat 0.3 M.

Adapun peralatan utama yang digunakan adalah sentrifus dan spektrofotometer.

Cara Kerja

- a. Encerkan 5 ml susu menjadi 100 ml dengan menambahkan air.
- b. Campurkan 5 ml larutan susu dengan 10 ml larutan dye dalam tabung sentrifus 15 ml, kocok.
- c. Dengan cara yang sama buat blanko, terdiri dari 5 ml air ditambah 10 ml larutan dye.
- d. Sesudah dibiarkan 10 menit, sentrifus pada 2500 rpm selama 5 menit. Ambil supernatannya.
- e. Encerkan 3 ml supernatan menjadi 100 ml, kemudian ukur densitas optisnya pada 615 nm (amido black) atau 485 nm (orange G).

- f. Tentukan kadar protein sampel berdasarkan kurva standar hubungan antara densitas optik dengan kadar protein susu yang ditetapkan dengan metode Kjeldahl yang telah dibuat sebelumnya.

16.2.2 Penetapan NPN

Penetapan nitrogen non protein dapat diterapkan pada semua jenis bahan pangan. Prinsip kerjanya, sampel diekstrak dengan air. Protein yang ada diendapkan dengan penambahan tembaga asetat dan komponen yang mengandung nitrogen non protein akan tetap berada dalam larutan. Setelah disaring, nitrogen dalam filtrat ditentukan dengan metode Kjeldahl.

Peralatan yang digunakan dalam metode NPN adalah :

1. Labu Kjeldahl 800 ml
2. Corong berdiameter 4 inci atau 12 cm
3. Labu Buchner
4. Kertas saring Whatman No. 541 atau S & S No. 1505 berdiameter 18 cm.

Adapun pereaksi yang digunakan adalah :

1. Larutan tembaga asetat monohidrat 3 % (w/v)
2. Larutan amonium potasium sulfat 24 H₂O 10 % (w/v)
3. Silikon antibusa

Cara Kerja

1. Timbang atau pipet sejumlah sampel dengan ketentuan sebagai berikut :
 - 2 g untuk sampel yang mengandung protein sampai 25%
 - 1 g untuk sampel yang mengandung protein 25-50%
 - 0.5 untuk yang mengandung protein di atas 50%
2. Pindahkan sampel ke dalam labu Kjeldahl.
3. Tambahkan kira-kira 50 ml akuades, sedikit batu didih dan 1-2 tetes silikon anti busa.
4. Ekstrak (digest) campuran dengan mendidihkannya selama 30 menit (jaga jangan sampai kering).
5. Sementara hasil ekstraksi masih panas, tambahkan 2 ml larutan aluminium sulfat, campurkan hingga rata.
6. Panaskan kembali sampai mendidih
7. Tambahkan 50 ml larutan tembaga sulfat, campur merata.
8. Biarkan sampai dingin.
9. Saring melalui kertas saring dengan menggunakan corong berdiameter 4 inci dan labu Buchner. Cuci labu Kjeldahl dan endapkan dengan 50 ml air dingin
10. Pindahkan filtrat dari labu Buchner ke dalam labu Kjeldahl kemudian tetapkan kadar nitrogennya dengan metode Kjeldahl.

16.2.3 Penetapan basa volatil nitrogen dan Trimethylamine (TMA)

16.2.3.1 Penetapan Basa Volatil Nitrogen

Prinsip dari metode penetapan basa volatil nitrogen adalah hasil ekstraksi sampel dengan TSA 5% akan mengendapkan seluruh protein yang dikandungnya, sedangkan seluruh komponen volatil bernitrogen larut dalam larutan TCA. Ekstrak TCA didestilasi sehingga komponen volatil bernitrogen diikat oleh larutan HCl 0.01 M. Destilasi ini kemudian dititrasi dengan NaOH 0.01 M sehingga kadar TVNnya dapat ditentukan.

Pereaksi yang digunakan dalam penetapan TVN adalah sebagai berikut :

1. Larutan TCA 5% (w/v)
2. NaOH 2 M
3. HCl 0.01 M
4. NaOH 0.01 M
5. Formadehid 15 % (w/v) netral.
Encerkan 432.4 ml formaldehid 37 % menjadi 1 liter dengan air. Campurkan 1 L formaldehid yang sudah diencerkan dengan 100 g MgCO₃, kocok sampai larutan menjadi jernih, jika MgCO₃ tidak larut seluruhnya disaring. Tepatkan pH larutan menjadi 7 (biasanya pH larutan formaldehid yang sudah ditambahkan MgCO₃ ini lebih besar dari 7 sehingga perlu ditambahkan

formaldehid secukupnya sampai pH menjadi 7).

6. Indikator merah fenol.
Campurkan 0.1 g merah fenol dengan 2.84 ml NaOH 0.1M kemudian encerkan menjadi 100 ml dengan menambahkan air.

Peralatan yang digunakan

1. Alat distilasi Kjeldahl atau sejenisnya
2. Waring blender
3. Sentrifuse
4. Buret dan statip.

Cara kerja

1. Timbang 100 g sampel yang sudah digiling, masukkan ke dalam waring blender.
2. Tambahkan 300 ml larutan TCA 5%. Jalankan waring blender sampai sampel homogen.
3. Pisahkan ekstrak TCA dengan cara penyaringan atau sentrifus.
4. Ambil 5 ml ekstrak TCA masukkan ke dalam alat distilasi Kjeldahl semimikro. Tambahkan 5 ml NaOH 2 M.
5. lakukan distilasi dimana distilat ditangkap dengan 15 ml HCl 0.01 M standar.
6. Tambahkan beberapa tetes merah fenol ke dalam destilat, lalu titrasi dengan NaOH 0.01 M standar sampai tercapai titik akhir.
7. Tambahkan 1 ml formaldehid 16% untuk setiap 10 ml campuran sesudah titrasi yang pertama, kocok, kemudian

titrasi lagi dengan NaOH 0.01 M standar.

Perhitungan :

$$\text{TVB} = \frac{14(300+W)(15-V1)(0.01)}{5} \times \frac{100}{M}$$

Dimana :

14 = bobot atom nitrogen

V1= Volume NaOH 0.01 M yang dibutuhkan untuk titrasi 1

M = berat sampel (g)

W = jumlah air yang ada dalam bahan (g)

V2= Volume NaOH 0.01 M yang dibutuhkan untuk titrasi 2

16.2.3.2 Penetapan Trimetil Amin

Untuk menetapkan TMA, keda-lam destilat yang sudah dititrasi dengan NaOH ditambahkan formaldehid 16% sehingga seluruh komponennya yang mengandung gugus NH_2 terikat oleh formaldehid, TMA sendiri tidak terikat. Dengan mentitrasi kembali campuran yang sudah ditambah formaldehid ini maka kadar TMA dapat diketahui.

Pereaksi yang digunakan dalam penetapan TMA sama dengan pereaksi untuk menetapkan TVB, yaitu adalah sebagai berikut :

1. Larutan TCA 5% (w/v)
2. NaOH 2 M
3. HCl 0.01 M
4. NaOH 0.01 M

5. Formadehid 15 % (w/v) netral. Encerkan 432.4 ml formaldehid 37 % menjadi 1 liter dengan air. Campurkan 1 L formaldehid yang sudah diencerkan dengan 100 g MgCO_3 , kocok sampai larutan menjadi jernih, jika MgCO_3 tidak larut seluruhnya disaring. Tepatkan pH larutan menjadi 7 (biasanya pH larutan formaldehid yang sudah ditambahkan MgCO_3 ini lebih besar dari 7 sehingga perlu ditambahkan formaldehid secukupnya sampai pH menjadi 7).
6. Indikator merah fenol. Campurkan 0.1 g merah fenol dengan 2.84 ml NaOH 0.1M kemudian encerkan menjadi 100 ml dengan menambahkan air.

Peralatan yang digunakan untuk menentukan kadar TMA adalah :

1. Alat distilasi Kjeldahl atau sejenisnya
2. Waring blender
3. Sentrifuse
4. Buret dan statip.

Cara kerja

1. Timbang 100 g sampel yang sudah digiling, masukkan ke dalam waring blender.
2. Tambahkan 300 ml larutan TCA 5%. Jalankan waring blender sampai sampel homogen.
3. Pisahkan ekstrak TCA dengan cara penyaringan atau sentrifus.

4. Ambil 5 ml ekstrak TCA masukkan ke dalam alat distilasi Kjeldahl semikikro. Tambahkan 5 ml NaOH 2 M.
5. lakukan distilasi dimana distilat ditangkap dengan 15 ml HCl 0.01 M standar.
6. Tambahkan beberapa tetes merah fenol ke dalam destilat, lalu titrasi dengan NaOH 0.01 M standar sampai tercapai titik akhir.
7. Tambahkan 1 ml formaldehid 16% untuk setiap 10 ml campuran sesudah titrasi yang pertama, kocok, kemudian titrasi lagi dengan NaOH 0.01 M standar.

Perhitungan :

$$\text{TMA} = \frac{14(300+W)V_2(0.01)}{5} \times \frac{100}{M}$$

Dimana :

V1= Volume NaOH 0.01 M yang dibutuhkan untuk titrasi 1

M = berat sampel (g)

W = jumlah air yang ada dalam bahan (g)

V2= Volume NaOH 0.01 M yang dibutuhkan untuk titrasi 2

16.3. Analisis lemak

16.3.1 Penetapan lemak kasar

16.3.1.1 Metode Ekstraksi Soxhlet

Pereaksi yang digunakan :

1. Pasir
2. Petroleum eter

Peralatan yang digunakan :

1. Tabung ekstraksi Soxhlet
2. *Thimble*
3. Botol timbang
4. Penangas air
5. Oven
6. Timbangan



Gambar 16.1 Tabung ekstraksi Soxhlet

Cara Kerja

1. Timbang 2 g sampel yang telah dihaluskan (sebaiknya yang kering dan lewat 40 mesh), campurkan dengan pasir yang telah dipijarkan sebanyak 8 g dan masukkan ke dalam tabung ekstraksi Soxhlet dalam *Thimble*.
2. Alirkan air pendingin melalui kondensor
3. Pasang tabung ekstraksi pada alat distilasi Soxhlet dengan pelarut petroleum eter secukupnya selama 4 jam. Setelah residu dalam tabung ekstraksi diaduk, ekstraksi dilanjutkan lagi selama 2 jam dengan pelarut yang sama.
4. Petroleum yang mengandung ekstrak lemak dan minyak dipindahkan ke dalam botol timbang yang bersih dan

diketahui bobotnya, kemudian uapkan dengan penangas air sampai pekat. Teruskan pengeringan dalam oven 100°C sampai bobotnya konstan. Berat residu dalam botol timbang dinyatakan sebagai berat lemak dan minyak.

16.3.1.2 Metode modifikasi Babcock

Metode ini digunakan untuk penetapan kadar lemak secara cepat bahan-bahan ikan segar, ikan olahan (atau sejenisnya) dan cocok sebagai 'screenign test'.

Prinsip metode modifikasi Babcock adalah mengukur kadar lemak yang terpisah dari aqueous karena diekstrak dengan menggunakan asam sulfat panas.

Pereaksi yang digunakan :

1. Asam sulfat 92%, BJ 1.825
2. Zephiran

Peralatan yang digunakan :

1. Timbangan analitik
2. Botol Babcock untuk skim (atau krim untuk sampel ber-kadar lemak tinggi) kapasitas 9 gram.
3. Heated Babcock sentrifus atau penangas air

Cara Kerja

1. Timbang 9 ± 0.1 g sampel dalam gelas piala 50 ml.
2. Tambahkan 10 ml air hangat dan campur merata dengan menggunakan gelas pengaduk. Untuk *fish ball* dan

produk-produk emulsi yang mengandung pati, tambahkan 1 ml Zephira.

3. Untuk produk-produk daging utuh, tambahkan dengan hati-hati 20 ml asam sulfat 92%. Untuk fish ball dan produk olahan ikan lainnya tambahkan 12 ml asam sulfat 92%. Sebentar-sebentar campuran digoyang-goyang sampai seluruh bahan tercerna sempurna (terdigest sempurna) selama 10 menit. Jika dalam 10 menit belum seluruhnya tercerna maka perlu ditambah lagi asam sulfat sebanyak 5 ml.
4. Pindahkan isi gelas piala secara kuantitatif ke dalam botol babcock dengan cara menuangnya lalu cucilah residu yang ada dalam gelas piala dengan air panas (80°C) sebanyak dua kali masing-masing 10 ml.
5. tambahkan akuades sehingga permukaan larutan berada 10 cm di bawah batas skala teratas.
6. Sentrifus botol dalam 'heated babcock centrifuge' selama 3 menit. Alternatif lain, biarkan botol dalam penangas air 70°C, permukaan air pada penangas di atas batas kolom lemak. Biarkan dalam penangas selama 10 menit.
7. Ukur panjang kelompok lemak di dalam botol sesuai dengan skala yang ada, panjang ini menyatakan persen kadar lemak dalam sampel.

Catatan :

Kolom lemak seharusnya berwarna kuning terang. Jika ada lapisan 'fluffi' (seperti benang rambut halus), ulangi penetapan sekali lagi, pada ulangan perhatikan baik-baik kesempurnaan pencernaan (*digest*). Jika kolom lemak gelap, gunakan asam sulfat yang lebih sedikit pada waktu pencernaan.

16.3.1.3 Metode Babcock

Metode babcock digunakan untuk menentukan kadar lemak susu. Prinsip kerjanya adalah menghancurkan emulsi lemak susu dengan menggunakan H_2SO_4 . Dengan menggunakan sentrifus atau pemanasan, lemak dalam susu dapat dipisahkan sehingga dapat diukur kadarnya pada botol yang telah dikalibrasi (botol bab-cock).

Peraksi dan peralatan yang digunakan :

1. H_2SO_4 pekat, BJ 1.80 – 1.84
2. Botol Babcock standar, skala 0 – 8%, kapasitas 18 g.
3. Sentrifus yang dilengkapi pemanas.
4. Penangas air.
5. Pipet volumetrik 17.6 ml



Gambar 16.2. Botol Babcock

Cara Kerja

1. Pipet 17.6 ml susu bersuhu $22^{\circ}C$, masukkan kedalam botol babcock.
2. Tambahkan 17.5 ml H_2SO_4 pekat bersuhu $22^{\circ}C$.
3. Kocok dengan cara rotasi sampai seluruh susu larut, seluruh *curd* hilang.
4. Tempatkan botol Babcock ke dalam sentrifus bersuhu $60^{\circ}C$, lakukan sentrifus pada 700-100 rpm selama 5 menit.
5. Tambahkan air panas ($60^{\circ}C$) ke dalam botol Babcock sampai batas skala terbawah. Sentrifus lagi selama 2 menit pada suhu $60^{\circ}C$.

6. Tambahkan lagi air panas (60°C) ke dalam botol sampai sedikit di bawah batas skala teratas. Sentrifus lagi selama 1 menit pada suhu 60 °C.
7. Tempatkan botol Babcock dalam penangas air 55- 60°C sampai batas skala teratas berada di bawah permukaan. Biarkan selama 5 menit.
8. Jika perlu dapat digunakan bantuan lampu penerangan yang memancarkan cahaya hijau lembut.

Catatan

Pada waktu pengukuran, kolom lemak seharusnya translusen, berwarna kuning keemasan atau amber, dan bebas dari partikel suspensi. Jika tidak suka, penetapan harus diulangi dengan menyesuaikan jumlah H_2SO_4 yang ditambahkan.

16.3.1.4 Metode Gerber

Metode Gerber digunakan untuk penentuan kadar lemak susu. Prinsipnya, susu dicampur dengan H_2SO_4 dan amil alkohol dalam tabung Gerber khusus lalu disentrifus sehingga lemak susu terpisah dan menempati bagian atas tabung. Lemak yang terpisah ini dapat ditentukan kadarnya dengan melihat panjang kolom lemak yang terbentuk.

Pereaksi yang digunakan :

1. Asam sulfat 90% (w/w), BJ 1.815
2. Amil alkohol

Peralatan yang digunakan :

1. Tabung butirometer Gerber
2. Sentrifus Gerber berdiameter 50 cm.
3. Pipet volumetrik 10.75 ml



Gambar 16.3. Tabung butirometer Gerber

Cara kerja

1. Masukkan 10 ml H_2SO_4 ke dalam tabung butirometer dengan tanpa membasahi leher tabung
2. Pipet 10.75 ml susu, masukkan ke dalam tabung butirometer dengan tanpa membasahi leher tabung
3. Tambahkan 1 ml amil alkohol. Tutup tabung dengan penutupnya, kocok merata, sentrifus selama 4 menit pada 1100 rpm.
4. Tempatkan tabung dalam penangas air 65°C selama 3 menit

5. Baca persentase kadar lemak (w/w), sesuai dengan panjang kolom tabung yang telah dikalibrasi.

Catatan :

1. Jumlah sampel yang diambil untuk analisis ini berbeda-beda untuk setiap negara, sebagai contoh :

India	10.75 ml
Belanda	10.66 ml
Hongaria	10.80 ml
Inggris	10.94 ml
Amerika	11.00 ml

2. Jangan tambahkan amil alkohol sedemikian rupa sehingga kontak langsung dengan asam
3. Persiapkan kain dan sodium bikarbonat. Kedua bahan ini berguna jika tabung butirometer yang berisi H_2SO_4 pekat pecah.

16.3.1.5 Metode Rose-Gottlieb

Metode Rose-Gottlieb digunakan untuk menentukan kadar lemak susu, produk susu, dan es krim. Keakuratan metode ini lebih baik dibandingkan metode Babcock atau Gerber.

Prinsip dari metode ini adalah mengekstrak sampel lemak menggunakan dietil eter dan protoleum eter. Sampel lemak dinetralkan dahulu dengan amonia dan dicampur dengan alkohol.

Pereaksi yang digunakan

1. Larutan amonia 35% (w/v, BJ 0.88) dan 26% (w/v, BJ 0.908) (lihat catatan 1).
2. Etanol 95-96% (v/v).
3. Dietil eter, bebas peroksida, titik didih 34-35°C.
4. Petroleum eter, titik didih 40-60°C.
5. Eter campuran. Campurkan dalam volume yang sama dietileter dengan petroleum eter.

Peralatan yang digunakan :

1. Oven, lebih disukai yang dilengkapi dengan fan.
2. Tabung ekstraksi *Mojonnier* dengan penutup.
3. Sentrifus, dapat digunakan sentrifus *Mojonnier*.
4. Labu berdasar rata, berleher pendek, kapasitas 160 ml, berat 40 – 50 g.
5. Penangas air

Cara Kerja

1. Timbang 4-5 g sampel dalam tabung ekstraksi (lihat catatan 2).
2. Tambahkan 1.5 ml amonia 35% (v/v), campur merata (lihat catatan 1).
3. Tambahkan 7 ml air hangat dan campur merata lagi (lihat catatan 3).
4. Panaskan sampai 60-70°C dan pertahankan pada suhu ini selama 15 menit.
5. Tambahkan 10 ml etanol, kocok, biarkan dingin (lihat catatan 4).

6. Tambahkan 25 ml dietil eter, tutup tabung dengan penutupnya (lihat catatan 5), kocok merata selama 1 menit.
7. Biarkan dingin, bula penutupnya, dan tambahkan 35 ml petroleum eter. Cuci penutup dan leher tabung sehingga petroleum eter cucian masuk ke dalam tabung.
8. Tutup kembali tabung dengan penutup (penutup sudah dibasahi dengan air), kocok merata selama 30 detik (lihat catatan 6).
9. Berdirikan tabung dengan bagian yang rata di bawah, biarkan selama 30 menit atau sampai lapisan eter jernih dan seluruhnya terpisah dari lapisan aqueous (Pemisahan lapisan eter dari lapisan aqueous dapat juga dilakukan dengan sentrifugasi 1000 rpm selama 30 detik).
10. Jika diperlukan naikkan batas antara kedua lapisan ke bagian tersempit dari tabung dengan cara menambahkan sedikit air melewati sisi tabung secara hati-hati.
11. Dekantasi lapisan eter sebanyak mungkin, masukkan ke dalam labu 150 ml. Tambahkan 10 ml pelarut eter campuran ke dalam tabung dan tanpa pengocokan, pindahkan pelarut ke dalam labu.
12. Cuci bagian luar tabung dengan pelarut eter campuran, masukkan cucian ke dalam tabung.
13. Hilangkan pelarut yang ada dalam labu dengan cara distilasi.
14. Ulangi tahap ekstraksi dan dekantasi dua kali, tambahkan secara berurutan 5 ml etanol, 25 ml dietil eter, dan 25 ml petroleum eter untuk masing-masing ekstraksi.
15. Distilasi seluruh pelarut sisa yang ada dalam labu.
16. Keringkan residu lemak dalam oven $100 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 1 jam.
17. Tempatkan labu dalam desikator sampai dingin sedikitnya selama 30 menit, kemudian timbang.
18. Ulangi tahap 17 dan 18 sampai didapat bobot labu yang konstan.
19. Ekstrak lemak dalam labu secara berulang-ulang dengan petroleum eter, biarkan residu mengendap selama dekantasi.
20. Keringkan residu dalam oven 100°C selama 1 jam.
21. Tempatkan labu dalam desikator selama 30 menit, kemudian timbang.
22. Buat blanko dengan menggantikan sampel dengan air. Lakukan tahap 1 sampai 22 seperti di atas.

Perhitungan

Kadar lemak %

$$= \frac{W_2 - (W_3 + W_4)}{W_1} \times 100$$

Dimana :

W_1 = Berat sample (g)

W_2 = Berat labu + ekstrak (g)

W_3 = Berat labu sesudah pengilangan lemak (g)

W_4 = Berat residu yang terekstrak dalam blanko (g)

Catatan :

1. Prosedur alternatif untuk tahap pengerjaan 3 dan 4 adalah :
 3. Tambahkan 2 ml amonia 26% (v/v) kocok.
 4. Tambahkan 6 ml air hangat dan kocok kembali.
2. Timbang sampel dalam tabung ekstraksi berdasarkan perbedaan berat (*by difference*).
3. Kesempurnaan ekstraksi lemak tergantung dari kesempurnaan pencampuran pada masing-masing tahap, penting sekali diperhatikan jika ada gumpalan maka seluruh gumpalan harus meluruh.
4. Sebelum membuka penutup tabung, untuk menghindari semburan pelarut, turunkan tekanan dalam tabung dengan cara mendinginkannya.
5. Penutup tabung harus dibasahi dengan air dahulu sebelum digunakan dan bilas dengan pelarut sesudah digunakan.
6. Tekanan seharusnya turun dari waktu ke waktu selama pengocokan.
7. Pemisahan lapisan eter dari lapisan aqueous dapat juga dilakukan dengan sentrifugasi

selama 30 detik pada 1000 rpm.

16.3.2 Penetapan Sifat fisik dan kimia lemak

16.3.2.1 Titik Cair

Data titik cair lemak hewani dan produk olahan untuk menentukan kondisi lemak. Lemak nabati pada suhu ruang umumnya ber-bentuk cair. Lemak yang memiliki titik cair rendah berarti banyak mengandung asam lemak tak jenuh.

Prinsip penentuan titik cair lemak adalah dengan menyimpan lemak dalam tabung kapiler, dinginkan dan kemudian panaskan secara bertahap. Suhu pada saat lemak terlihat transparan adalah titik cair lemak tersebut.

Peralatan yang digunakan :

1. Termometer air raksa
2. Refrigerator
3. Tabung kaca kapiler, berdiameter dalam 1 mm berdinding tipis
4. Pemanas

Cara Kerja

1. Masukkan lemak cair yang sudah disaring ke dalam tabung kapiler sepanjang 10 mm.
2. Rapatkan/tutup ujung tabung kapiler dengan cara memanaskan pada api kecil. Jaga jangan sampai lemak terbakar

3. Masukkan tabung kapiler ke dalam refrigerator 4-10°C, biarkan selama 16 jam.
 4. Gabungkan tabung kapiler dengan termometer air raksa sehingga ujung tabung berisi lemak sejajar dengan ujung termometer yang berisi air raksa (bisa dengan cara mengikatnya menjadi satu).
 5. Rendam dalam gelas piala 600 ml yang berisi air setengah penuh sehingga termometer terendam sepanjang 30 mm.
 6. Panaskan gelas piala dengan kecepatan 0.5 °C/menit, agitasi air dengan stirrer perlahan-lahan.
 7. Catat suhu pada saat lemak mulai terlihat transparan, gunakan kaca pembesar untuk melihatnya jika perlu, suhu yang terbaca merupakan titik cair lemak tersebut.
3. Setelah ditutup, botol direndam dalam bak air yang bersuhu 25 °C dengan toleransi 0.2 °C selama 30 menit.
 4. Botol diangkat dari bak dan dikeringkan dengan kertas penghisap.
 5. Timbang berat botol dengan isinya.
 6. Contoh minyak / lemak cair yang akan ditentukan berta jenisnya disaring dahulu dengan kertas saring untuk membuang benda asing dan kandungan air. Selanjutnya contoh minyak diperlakukan seperti langkah 1 sampai langkah 5.

16.3.2.2 Berat Jenis

Pengertian berat jenis disini adalah perbandingan bobot dari volume sampel minyak dengan bobot air yang volumenya sama pada suhu tertentu (biasanya ditentukan pada suhu 25 °C).

Perlatan yang digunakan adalah :

1. Piknometer
2. Timbangan analitik

Cara Kerja

1. Piknometer dibersihkan dan dikeringkan
2. Isi piknometer dengan akua-des bersuhu 20-30 °C. Pengisian dilakukan sampai air da-

lam botol meluap dan tidak ada gelembung udara di dalamnya.

Perhitungan

Berat jenis minyak pada suhu 25/25°C adalah :

$$\frac{\text{Berat minyak dan minyak} - \text{berat botol}}{\text{Berat air pada suhu } 25^{\circ}\text{C}}$$

Jika berat jenis minyak pada suhu 25 °C telah diketahui, maka untuk menghitung berat jenis minyak pada suhu tertentu lainnya dapat digunakan rumus sebagai berikut :

$$G = G' + 0.00064 (T - 25^{\circ}\text{C})$$

Dimana :

G = Berat jenis pada suhu 25°C

$G' = \text{Berat jenis pada ToC}/25^{\circ}\text{C}$
 $T = \text{suhu minyak yang ditentukan jenisnya}$
 $0.00064 = \text{koreksi rata-rata untuk } 1^{\circ}\text{C.}$

16.3.2.3 Turbiditas

Titik turbiditas adalah suhu dimana minyak atau lemak cair berubah menjadi fase padat. Pengujian ini dilakukan untuk menentukan adanya pengotoran oleh bahan asing atau pencampuran minyak.

Peralatan utama yang digunakan adalah :

1. Gelas piala
2. Asam asetat
3. Alkohol

Cara Kerja

1. Contoh minyak dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi asam asetat atau alkohol.
2. Panaskan sampai contoh minyak melarut sempurna, yaitu ditandai dengan larutan menjadi jernih.
3. larutan didinginkan perlahan-lahan sampai mulai menghablur
4. Suhu dimana terlihat adanya kristal-kristal halus lemak dicatat dan dinyatakan sebagai titik turbiditi atau biasa disebut titik kritis.

16.3.2.4 Indeks Bias

Indeks bias didefinisikan sebagai perbandingan kecepatan cahaya di udara dengan kecepatan ca-

haya di dalam medium tertentu. Atau secara singkat dapat dilihat seperti persamaan di bawah ini :

$$\text{Indeks bias} = \frac{\text{Kecepatan cahaya di udara}}{\text{Kecepatan cahaya di dalam medium}}$$

Pengujian indeks bias dapat digunakan untuk menentukan kemurnian minyak dan dapat menentukan dengan cepat terjadinya hidrogenasi katalitis (*catalytic hydrogenation*)

Peralatan dan bahan utama yang digunakan adalah :

1. Refraktometer Abbe dilengkapi dengan pengontrol suhu
2. Toluena / alkohol



Gambar 16.4. Refraktometer Abbe

Cara kerja

Beberapa tetes minyak ditetes-kan pada prisma refraktometer abbe yang sudah distabilkan pada suhu tertentu, dibiarkan se-lama 1 – 2 menit untuk mencapai suhu refraktometer, lalu dilakukan pembacaan indeks bias. Sebelum dan sesudah digunakan prisma, refraktometer dibersihkan dengan toluen / alkohol.

Perhitungan

Indeks bias perlu dikoreksi untuk temperatur standar, dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$R = R' - K(T' - T)$$

Dimana :

R = Indeks bias pada suhu standar

R' = Indeks bias pada suhu pembacaan

T = Suhu standar

T' = suhu pembacaan

K = 0.000385 untuk minyak dan 0.000365 untuk lemak.

16.3.2.5 Uji ketengikan (Uji Kreis)

Bila lemak yang teroksidasi bereaksi dengan phloroglucinol dalam suasana asam akan terbentuk warna merah. Warna merah yang terbentuk berkorelasi dengan peningkatan produk epihy-drin aldehyde atau malonaldehid sebagai produk oksidasi lipid.

Pereaksi yang digunakan :

1. Larutan phloroglucinol 0.1% dalam eter

2. HCl pekat
3. Heptane
4. Larutan phloroglucinol 0.5% (w/v) dalam amil asetat
5. Larutan TCA : 10 g Trichloro Acetic Acid (TCA) dilarutkan dalam 3.28 ml amil asetat

Peralatan utama yang digunakan adalah :

1. Penangas air (water bath)
2. Lovibond tintometer

Cara Kerja

A. Uji Kualitatif

1. Campurkan 10 ml minyak atau lemak cair dengan 10 ml phloroglucinol 0.1 % dalam eter dan 10 ml HCl pekat. Kucok hingga merata lebih kurang 20 detik.
2. Jika terbentuk warna pink menunjukkan mulai terjadinya ketengikan.
3. Coba ulangi langkah (1) dan (2) dengan bahan 1 ml minyak yang dilarutkan dalam 20 ml heptana. Jika uji masih positif berarti minyak tersebut sudah tengik dan dapat dibuk-tikan dengan uji organoleptik.

B. Uji Kuantitatif

1. Timbang 3 ml minyak atau lemak cair dalam tabung reaksi (dapat juga digunakan Erlenmeyer 50 ml).
2. Tambahkan 1 ml larutan phloroglucinol (0.5 % w/v dalam amil asetat) kemudian kocok merata selama 1 menit.

3. Tambahkan 2 ml larutan yang dibuat dengan melarutkan 10 g TCA dalam 3.28 ml asam asetat, kemudian rendam tabung reaksi dalam penangas air bersuhu 45 °C selama 15 menit. Aduk secara kontinu (lebih baik gunakan penangas bergoyang).
4. Ambil tabung reaksi kemudian tambahkan 10 ml larutan TCA dengan 2 volume asam asetat, kemudian dinginkan dengan es.
5. bandingkan warna yang terbentuk dengan Lovibond tintometer. Catat jumlah satuan merah (R) dari warna merah tersebut.
6. Buat blanko pada waktu yang sama, dengan menggunakan asam asetat sebagai pengganti larutan phloroglucinol. Baca warnanya seperti (5), catat satuan merah (R).
7. Hitung bilangan Kreis :

$$\text{Bilangan Kreis} = T = \frac{R - R'}{l \times C}$$

Dimana :

l = Panjang sel dalam cm
C = Konsentrasi minyak dalam g/ml volume larutan akhir.

16.3.2.6 Penetapan Bilangan TBA (Thiobarbituric Acid)

Penetapan bilangan TBA dengan metode Tarladgis dilandaskan pada reaksi antara asam 2-thiobarbituric dengan malonaldehid yang membentuk warna merah. Intensitas warna merah yang terbentuk dapat diukur dengan spektrofotometer. Malonaldehid merupakan hasil oksidasi lipid.

Pereaksi utama yang digunakan adalah :

1. HCl 4 M
2. Pereaksi TBA (0.2883 g/ 100 ml asam asetat glasial 90%). Pelarutan dapat dipercepat dengan pemanasan dalam penangas air.

Peralatan yang digunakan :

1. Waring blender
2. Alat destilasi (distillation apparatus)

Cara Kerja

1. Timbang sampel sebanyak 10 g, masukkan ke waring blender, tambahkan 50 ml akuades dan hancurkan selama 2 menit.
2. Pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu distilasi sambil dicuci dengan 47.5 ml akuades.
3. Tambahkan ± 2.5 ml HCl 4 M sampai pH menjadi 1.5.
4. Tambahkan batu didih dan pencegah buih (anti foaming agent) secukupnya dan pasanglah labu distilasi pada alat distilasi. Bila ada gunakan *electric mantle heater*.

5. Distilasi dijalankan dengan pemanasan tinggi sehingga diperoleh 50 ml distilat selama 10 menit pemanasan.
6. Aduk merata distilat yang diperoleh, pipet 5 ml distilat ke dalam tabung reaksi bertutup.
7. Tambahkan 5 ml pereaksi TBA, tutup, campur merata lalu panaskan selama 35 menit dalam air mendidih.
8. Buat blanko dengan menggunakan 5 ml akuades dan 5 ml pereaksi, lakukan seperti penetapan sampel.
9. Dinginkan tabung reaksi dengan air pendingin selama \pm 10 menit, kemudian ukur absorbansinya (D) pada panjang gelombang 528 nm dengan larutan blanko sebagai titik nol. Gunakan sampel sel berdiameter 1 cm.
10. Hitung bilangan TBA yang dinyatakan dalam mg malonaldehid per kg sampel/ Bilangan TBA = 7.8 D.

16.3.2.7 Bilangan Peroksida

16.3.2.7.1 Metode I

Penentuan bilangan peroksida dapat dilakukan berdasarkan pada pengukuran sejumlah iod yang dibebaskan dari potassium iodida melalui reaksi oksidasi oleh peroksida dalam lemak/ minyak pada suhu ruang di dalam medium asam asetat / kloroform.

Pereaksi yang digunakan :

1. Pelarut, terdiri dari 60 % asam asetat glasial dan 40 % kloroform.
2. Potassium Iodida jenuh
3. Larutan pati 1 %.
4. Sodium thiosulfat 0.1 N

Peralatan utama yang digunakan adalah :

1. Neraca analitik
2. Buret
3. Erlenmeyer
4. Stirer / shaker
5. Pipet
6. Kamar gelap.

Cara kerja

1. Timbang 5 g sampel minyak dan masukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml.
2. Tambahkan 30 ml pelarut, kocok sampai semua sampel minyak larut.
3. Tambahkan 0.5 ml potassium iodida jenuh, diamkan selama 2 menit di ruang gelap sambil digoyang.
4. Tambahkan 30 ml air destilata.
5. Kelebihan iod dititer dengan larutan sodium thiosulfat 0.1N atau 0.01N tergantung dari banyaknya jumlah iod yang dibebaskan.
6. Dengan cara yang sama buatlah penetapan untuk blanko.

Perhitungan :

Bilangan peroksida dinyatakan dalam beberapa satuan, yaitu miliekivalen per 1000 g contoh, milimol per 1000 g sampel atau

mg oksigen per 100 g sampel minyak / lemak.

- miliekivalen per 1000 g sampel
= $A \times N \times 1000/G$
- milimol per 1000 g contoh
= $0.5 \times N \times A \times 1000/G$
- milligram oksigen per 100 g sampel
= $A \times N \times B \times 100/G$

dimana :

- A = ml sodium thiosulfat yang dipakai contoh – ml sodium thiosulfat yang dipakai penetapan blanko.
N = normalitas sodium thio-sulfat.
G = bobot contoh minyak / lemak (g)

16.3.2.7.2 Metode II

Penetapan bilangan peroksida secara mikro dengan kolorimetri dapat digunakan untuk penentuan lipid hidroperoksida. Hidroperoksida direaksikan dengan potasium iodida dengan katalis asam, dan iod yang dibebaskan ditetapkan secara kolorimetri. Katalis yang digunakan adalah aluminium klorida ($AlCl_3$) dan alkohol (*soluble lewis acid*). Penetapan iod yang dibebaskan dilakukan pada panjang gelombang 560 nm sesudah penambahan pati dalam larutan HCl 0.01 N. Kisaran pengukuran cara ini adalah 0.05 – 0.5 μ mol hidroperoksida.

Pereaksi yang digunakan :

- Potasium iodida.

Larutan ini dibuat dengan melarutkan 2 g KI dalam 100 ml etanol.

- Larutan aluminium klorida.
Larutan ini dibuat dengan melarutkan 2 g $AlCl_3$ (anhydrous) dan 0.02 g O-phenanthroline dalam 100 ml etanol.
- Larutan pati.
Larutan ini dibuat dengan melarutkan 1 g pati (*soluble starch*) dan 20 g HCl dalam air distilata. Larutkan dengan pemanasan hingga diperoleh larutan jernih.
- HCl 0.01N
- Larutan potasium iodat standar 1 nM
- Heksana

Peralatan utama yang digunakan adalah :

- Timbangan analitik
- Mikro pipet (μ l)
- Tabung reaksi
- Hot plate (bisa diatur pada suhu 37°C)
- Sentrifus
- Spektrofotometer
- Pipet 1 ml dan 15 ml

Cara Kerja

- Timbang contoh sebanyak 200 mg atau 200 μ l contoh yang telah dilarutkan dalam heksana dalam tabung reaksi
- Tambahkan 0.5 ml larutan potasium iodat, 0.5 ml larutan aluminium klorida dan heksana 1 ml. Campur (kocok), kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit.

3. Tambahkan 15 ml HCl 0.01N dan 0.5 ml larutan pati, campur sampai merata.
4. Pindahkan larutan ke dalam tabung sentrifus, dan disentrifus selama 3 menit dengan kecepatan 3000 rpm.
5. Lapisan bagian bawah (fase air) ditetapkan absorbansinya pada 560 nm (total lapisan air adalah 16.5 ml).
6. Blanko ditetapkan seperti pada penetapan contoh.

Kalibrasi

Kalibrasi dilakukan dengan membandingkan Iod yang dihasilkan dari potasium iodida melalui oksidasi oleh potasium iodat standar.

Potasium iodat standar (0.2 ml); 0.5 ml larutan aluminium klorida dan 0.5 potasium iodida dicampur, kemudian ditambahkan 15 ml HCl 0.01 N dan 0.5 ml larutan pati. Absorbansi dibaca pada 560 nm. Total volume adalah 16.7 ml

Larutan potasium iodat standar sebanyak 0.2 ml setara dengan $0.6 \mu\text{mol I}_2$ sebab KIO_3 setara dengan 3I_2 . Oleh karena itu $1 \mu\text{mol}$ oksigen aktif =

A

----- sebab I_2 setara dengan

1.2

2.0 (oksigen aktif) dan bilangan peroksida = $\frac{PV}{1000}$ (meg/kg) = oksiden aktif ($\mu\text{mol} \times 1/\text{sampel}$

(g)). Nilai absorban tergantung dari jenis pati yang digunakan.

Nilai yang diperoleh dikoreksi karena adanya perbedaan volume dan sampel yaitu 16.5 dan standar KIO_3 16.7 ml, dalam eksperimen ini dikalikan 0.96.

16.3.2.7.3 Bilangan iod

Bilangan Iod didefinisikan sebagai jumlah gram Iod yang diserap oleh 100 g lipid. Nilai yang didapat menunjukkan derajat ketidakjenuhan lipid.

Ada dua metode yang banyak digunakan dalam menetapkan bilangan iod, yaitu metode Hanus dan Metode Wijs. Pembuatan pereaksi Hanus lebih mudah daripada pereaksi Wijs. Ada sedikit perbedaan hasil yang diperoleh dengan kedua metode ini, akan tetapi variasi perbedaan ini tidak lebih besar dari variasi bilangan iod dalam lipid itu sendiri.

Prinsip penentuan bilangan iod didasarkan kepada kemampuan menyerap iod dari gliserida tak jenuh lemak atau minyak, khususnya apabila dibantu dengan suatu 'pembawa' seperti iodin-klorida atau iodin bromida membentuk senyawa yang jenuh.

Jumlah iod yang diabsorpsi menunjukkan ketidak jenuhan lemak/minyak. Kedalam sejumlah sampel minyak / lemak ditambahkan iod berlebihan, kelebihan iod

dititrasi dengan natrium tiosulfat sehingga iod yang diabsorpsi oleh lemak / minyak dapat diketahui jumlahnya.

16.3.2.7.4 Metode Hanus Pereaksi yang digunakan

1. Pereaksi ion bromida (pereaksi Hanus).

Pereaksi Hanus diperoleh dengan melarutkan 13.2 g Iod dalam 1 liter asam asetat glasial. Tambahkan sedikit asam asetat glasial hangat ke dalam iod. Jika seluruh iod sudah larut dan larutan sudah dingin, tambahkan Brom secukupnya (jumlah halogen menjadi dua kali semula), biasanya 2 ml cukup. Dapat juga dilakukan dengan cara lain yang lebih kuantitatif yaitu :

- Larutkan iod kedalam sebagian besar asam asetat glasial yang digunakan, larutkan brom kedalam asam asetat glasial sisanya.
- Hitung jumlah halogen kedua bagian larutan tersebut dengan titrasi menggunakan KI dan larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ standar.
- Dengan hasil titrasi ini jumlah brom yang harus ditambahkan ke dalam larutan iod dapat dihitung.

2. Kloroform
3. Larutan KI 15%
4. Larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N
5. Larutan pati 1%

Peralatan yang digunakan :

1. Timbangan analitik
2. Kamar gelap
3. Erlenmeyer 250/300 ml bertutup

Cara Kerja

1. Timbang 0.1-0.5 g sampel minyak/lemak (tergantung derajat ketidakjenuhannya) ke dalam Erlenmeyer bertutup.
2. Tambahkan 10 ml kloroform untuk melarutkan sampel.
3. Tambahkan 25 ml pereaksi Hanus dan biarkan 1 jam di tempat gelap, sambil sekali-kali dikocok. (sesudah reaksi sempurna diharapkan terdapat banyak kelebihan iod, sedikitnya 60 %).
4. Tambahkan 10 ml larutan KI 15%, kocok. Cuci Erlenmeyer dan tutupnya dengan 100 ml akuades.
5. Titrasi dengan larutan standar $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N, sampai warna kuning iod hampir hilang.
6. Tambahkan 2 ml larutan pati 1% sebagai indikator, lanjutkan titrasi. Jika warna biru hampir hilang, titrasi dihentikan. Erlenmeyer digoyang-goyang dengan cepat sehingga iod yang masih tinggal dalam kloroform akan pindah ke larutan KI. Kemudian lanjutkan titrasi sampai titik akhir titrasi tercapai (sampai warna biru hilang).
7. Buat blanko seperti pada penetapan sampel.

16.3.2.7.5 Metode Wijs

Pereaksi yang digunakan

1. Kloroform atau karbon tetra-klorida
2. Larutan sodium tiosulfat 0.1 N standar
3. Larutan KI 15%.
4. Larutan indikator pati.
Larutan ini dibuat dengan menambahkan 1 g soluble starch ke dalam 10 ml air, aduk, kemudian masukkan suspensi ke dalam 100 ml air mendidih, panaskan selama 2-3 menit. Biarkan dingin.
5. Pereaksi Wijs.
 - Larutkan 13 g iod yang sudah disublimasi ke dalam 1 liter asam asetat glasial. Gunakan pemanas untuk mempercepat kelarutan iod, dinginkan.
 - Ambil 20 ml larutan ini, titrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N.
 - Larutan iod dibagi dua : bagian besar (800-900 ml) dan bagian kecil (sisanya).
 - Lewatkan gas klor kering kedalam bagian besar larutan iod sampai hasil titrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1N separuh dari hasil titrasi larutan iod sebelum diklorinasi (untuk ini ambil 20 ml larutan iod yang sudah diklorinasi kemudian titrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N).
 - Tuangkan bagian kecil larutan iod ke dalam larutan iod yang sudah diklorinasi, sehingga kadar klor dalam

larutan kurang dari separuh kadar iod.

Cara kerja

1. Timbang 0.1 – 0.5 g sampel minyak (tergantung derajat ketidakjenuhan sampel), jika lemak sudah ditimbang kemudian dicairkan dengan pemanasan sedikit di atas titik cairnya (sampel langsung ditempatkan dalam Erlenmeyer bertutup pada waktu penimbangan).
2. Tambahkan 15 ml kloroform atau karbon tetraklorinasi untuk melarutkan sampel minyak / lemak.
3. Tambahkan 25 ml pereaksi Wijs, tempatkan dalam ruang gelap selama 30 menit sambil sekali-kali dikocok.
4. Sesudah 30 menit, tambahkan 20 ml larutan KI 15%, kocok merata. Cuci Erlenmeyer dan tutupnya dengan 100 ml akuades yang baru dan dingin, masukan cucian ke dalam larutan.
5. Titrasi segera dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N dengan pengocokan yang konstan. Gunakan larutan pati 1% sebagai indikator.
6. Buat blanko seperti pada penetapan sampel (untuk blanko, sampel minyak diganti dengan kloroform / CCl_4).

Perhitungan :

$$BI = \frac{(Tb - Ts)(N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)(12.69)}{\text{Barat sampel dalam gram}}$$

Dimana :

Tb = Titer blanko

Ts = Titer sampel

16.3.2.7.6 Bilangan penyabunan

Bilangan penyabunan adalah jumlah alkali yang dibutuhkan untuk menyabunkan sejumlah tertentu sampel minyak. Bilangan penyabunan dinyatakan sebagai jumlah miligram kalium hidroksida yang dibutuhkan untuk menyabunkan 1 gram minyak atau lemak.

Pereaksi yang digunakan

1. HCl 0.5N yang sudah distandarisasi.
2. Indikator fenolftalein 1% dalam alkohol 95%.
3. Kalium hidroksida beralkohol :
 - Tempatkan 5 – 10 g KOH dalam labu 2 L dan tambahkan 1 – 1.5 L etil alkohol 95%
 - Refluks dengan menggunakan kondenser dan penangas air selama 30-60 menit.
 - Larutkan 40 g KOH (kandungan karbonat rendah) dalam 1 L alkohol yang sudah didistilasi. Larutan ini seharusnya jernih. Tempatkan dalam botol berwarna gelap.

Peralatan yang digunakan :

1. Erlenmeyer 300 ml
2. Kondenser, panjang minimum 650 mm (pendingin tegak).
3. Penangas air
4. Hot plate.

Cara kerja

1. Timbang 5 g minyak / lemak dalam Erlenmeyer 300 ml
2. Tambahkan 50 ml KOH beralkohol.
3. Hubungkan Erlenmeyer yang telah berisi sampel dan KOH beralkohol dengan pendingin tegak. Refluks dengan menggunakan *hot plate* sampai semua sampel tersabunkan sempurna, yaitu sampai larutan bebas dari butiran lemak. Biasanya membutuhkan waktu 1 jam.
4. Larutan didinginkan dan bagian dalam pendingin tegak dibilas dengan akuades
5. Tambahkan 1 ml indikator fenolftalein
6. Titrasi dengan HCl 0.5N sampai warna merah jambu hilang.
7. Buat penetapan blanko (tanpa sampel) seperti penetapan sampel.

Perhitungan :

$$BP = \frac{(Tb - Ts)(N \text{ HCl})(56.1)}{\text{Bobot contoh}}$$

Dimana :

BP = Bilangan Penyabunan

Tb = Titer blanko
Ts = Titer sampel

16.3.2.7.7 Bilangan asam

Bilangan asam adalah jumlah asam lemak bebas yang terkandung dalam minyak / lemak. Bilangan asam dinyatakan sebagai jumlah miligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat dalam 1 g minyak atau lemak. Bilangan asam biasanya dihubungkan dengan proses hidrolisis minyak / lemak yang berkaitan dengan mutu minyak/ lemak.

Pereaksi yang digunakan :

1. KOH 0.1 N
2. Indikator fenolftalein 1%.
3. Alkohol 95% netral.

Peralatan

1. Penangas air
2. Buret

Cara kerja

1. Timbang 20 g minyak/ lemak dalam Erlenmeyer 250 ml.
2. Tambahkan 50 ml alkohol 95% netral, panaskan sampai mendidih (\pm 10 menit) dalam penangas air sambil diaduk.
3. Larutan ini kemudian dititrasi dengan KOH 0.1N, menggunakan indikator fenolftalein sampai terbentuk warna merah jambu yang persisten selama 10 detik.

Perhitungan :

$$BA = \frac{(\text{ml KOH})(N \text{ KOH})(56.1)}{\text{Bobot sampel}}$$

$$KA = \frac{(\text{ml KOH})(N \text{ KOH})(M)}{(10)(\text{Bobot sampel})}$$

Dimana :

BA = Bilangan Asam

KA = Kadar Asam

M = Berat molekul asam lemak yang dominan dalam lemak / minyak (rata-rata dari campuran asam lemak); untuk minyak kelapa = 205, minyak kelapa sawit = 263 dan asam oleat = 282

16.3.2.7.8 Penetapan Asam volatil dalam lemak (bilangan Reichert, Polenske dan Kirschner)

Bilangan Reichert adalah jumlah ml larutan alkali 0.1N yang diperlukan untuk menetralkan asam-asam lemak volatil yang larut dalam air yang didistilasi dari 5 g lemak pada kondisi tertentu.

Bilangan Polenske adalah jumlah ml larutan alkali 0.1 N yang diperlukan untuk menetralkan sama-asam lemak yang tidak larut

dalam air yang didistilasi dari 5 g lemak pada kondisi tertentu.

Bilangan Kirschner adalah jumlah ml larutan alkali 0.1 N yang diperlukan untuk menetralkan asam-asam lemak volatil larut air yang membentuk garam perak larut air, yang didistilasi dari 5 g lemak pada kondisi tertentu.

Pereaksi yang digunakan :

1. Gliserol.
2. Natrium hidroksida 50% (w/w). Larutan NaOH dalam sejumlah air yang beratnya sama dengan NaOH yang dilarutkan. Simpan dalam botol sehingga terhindar dari kontaminasi CO₂. Ambil bagian yang jernih bebas residu.
3. Asam sulfat encer. Encerkan 25 ml H₂SO₄ pekat menjadi 1L dan sesuaikan konsentrasinya sehingga 40 ml larutan ini dapat menetralkan 2 ml larutan NaOH 50% (w/w).
4. Tepung batu kambang. Lolos ayakan 50 mesh dan tidak lolos ayakan 90 mesh.
5. Indikator fenolftalein 0.5% dalam etanol 95%.
6. Etanol 95% (v/v). Dinetralkan segera sebelum digunakan.
7. Larutan NaOH 0.1 N standar.
8. Larutan Barium hidroksida 0.1N standar (0.5M).
9. Perak sulfat.

Peralatan yang digunakan :

1. Gelas ukur 100 ml

2. Pipet 50 ml
3. Peralatan distilasi

Cara Kerja

a. Persiapan sampel

- i. Panaskan sejumlah sampel mentega dalam gelas piala sampai mencapai suhu 50-60°C sehingga lemak terpisahkan dari air dan 'curd'.
- ii. Saring lapisan lemak melalui kertas saring kering, masukkan ke dalam wadah kering. Penyaringan dilakukan sewaktu lemak masih dalam keadaan panas (lemak dalam keadaan cair). Jika perlu saring kembali sampai didapat filtrat jernih dan bebas air.
- iii. Sebelum digunakan untuk analisa, cairkan dulu lalu homogenkan.

B. Penetapan sampel

1. Ambil 5 ± 0.01 g lemak dari hasil persiapan sampel, masukkan ke dalam labu polenske (*labu didih berdasar rata*).
2. Tambahkan 20 g gliserol dan 2 ml larutan NaOH 50 % (pipet yang digunakan untuk mengambil larutan NaOH harus dibersihkan dahulu ujungnya dari deposit karbonat).
3. Tutup labu dengan gelas arloji, kemudian panaskan sambil dikocok secara kontinu sampai seluruh lemak tersabunkan, yaitu jika larutan menjadi jernih sempurna. Hindari pemanasan berlebihan.

4. Buat blanko, yaitu tanpa lemak tetapi menggunakan jumlah pereaksi yang sama. Hindari pemanasan berlebih, jika pemanasan berlebihan maka larutan menjadi lebih gelap. Selanjutnya blanko diperlakukan sama seperti sampel.
5. Dengan menggunakan gelas ukur, ambil 93 ml air mendidih yang sudah dididihkan selama 15 menit. Tambahkan ke dalam lemak yang sudah tersabunkan, pada saat sabun sudah cukup dingin tetapi belum memadat. Campur secara merata sampai seluruh sabun larut.
6. Jika larutan tidak jernih (menandakan penyabunan tidak sempurna) atau lebih gelap dari kuning muda (menandakan pemanasan berlebihan), ulangi penyabunan dengan menggunakan sampel lemak yang baru.
7. Tambahkan 0.1 g tepung batu kambang dan 50 ml asam sulfat encer.
8. Hubungkan labu dengan alat distilasi. Panaskan labu tanpa mendidihkan isinya sampai seluruh asam yang tidak larut seluruhnya mencair, kemudian naikan pemanasan, lakukan distilasi sampai terkumpul destilat sebanyak 110 ml selama 19-21 menit. Jaga kecepatan air yang mengalir dalam kondenser sehingga cukup untuk mempertahankan suhu destilat yang keluar dari kondenser berkisar antara 18-21°C.
9. Jika sudah terkumpul 110 ml destilat, matikan api bunsen dan gantikan labu 110 ml dengan gelas ukur 25 untuk menangkap destilat sisa.
10. Tutup labu 110 ml dengan penutup. Dengan tanpa mengocok isi labu, tempatkan labu dalam air 15°C selama 10 menit, rendam sampai batas 110 ml.
11. Angkat labu dari air, keringkan bagian luar labu. Dengan hati-hati balikan labu, hindari pembasahan penutup dengan asam tak larut. Kocok isi labu dengan cara pembalikan isi sebanyak 4-5 kali pembalikan, hindari pengocokan yang berlebihan.
12. Saring dengan kertas saring kering Whatman No. 4 atau 41. Buang 10 ml filtrat pertama. Kumpulkan 100 ml filtrat dalam labu. Tutup labu.
13. Filtrat ini akan digunakan untuk filtrasi pada tahap R. Filtrat seharusnya tidak mengandung asam lemak tak larut, jika asam lemak tak larut lolos dari saringan, tampung filtrat dalam labu pemisah, sesudah pemisahan keluarkan lapisan bawah (*aqueous*), masukkan ke dalam labu 100 ml. Tambahkan filtrat ini ke dalam kumpulan filtrat asam tak larut.
14. Lepaskan steal head, cuci bagian dalam kondensor tiga kali berturut-turut dengan 15

ml air dingin, masing-masing cucian ini dilewatkan dalam kondenser, labu 110 ml, labu pemisah jika digunakan, dan penyaring (corong yang berisi kertas saring yang digunakan pada tahap 12). Setiap kali pencucian, pada tahap akhir biarkan air cucian memenuhi penyaring dulu, lalu lakukan *draining* (dibiarkan sehingga air mengalir dengan sendirinya) sebelum melakukan penyaringan berikutnya. Buang air cucian.

15. Larutkan asam tak larut dengan cara pencucian yang sama seperti yang dilakukan pada tahap 14. Pencucian dilakukan sebanyak tiga kali masing-masing dengan 10 ml etanol netral. Masing-masing cucian dilewatkan dalam kondenser dan penyaring, lalu kumpulkan dalam labu 110 ml. Buang etanol cucian pada setiap kali pencucian. Tutup labu, biarkan etanol dalam labu sampai siap untuk titrasi pada tahap P.
16. Tahap R, penetapan bilangan Reichert atau asam volatil yang larut air. Tuangkan 100 ml filtrat yang berisi asam volatil yang larut air ke dalam labu titrasi, tambahkan 0.1 indikator fenoltalein lalu titrasi dengan larutan Barium hidroksida sampai berwarna merah muda (lihat catatan). Jika ingin menetapkan bilangan Kirschner, labu titrasi yang akan digunakan harus kering, catat volume larutan barium hidroksida yang digunakan, tuang sejumlah larutan yang sudah dititrasi pada tahap R ke dalam labu titrasi kering, tutup labu dan lanjutkan pengujian ke tahap K.
17. Tahap P, penetapan bilangan Polenske atau asam volatil tak larut air. Titrasi larutan alkohol yang berisi asam volatil tak larut yang diperoleh pada tahap 15 dengan larutan barium hidroksida 0.05 M atau NaOH 0.1M. Tambahkan 0.25 ml indikator fenolf-talein sebelum titrasi.
18. Tahap K, penetapan bilangan Kirschner. Tambahkan 0.5 g tepung halus perak sulfat ke dalam larutan netral yang diperoleh dari tahap R. Biarkan labu dalam ruang gelap selama 1 jam dengan sekali-sekali diokocok.
19. Saring dengan kertas saring kering, masukkan 100 ml filtrat ke dalam labu Polenske. Tambahkan 35 ml akuades dingin yang baru dididihkan selama 15 menit sebelumnya, 10 ml asam sulfat encer dan 0.1 g tepung batu kambang.
20. Hubungkan labu Polenske dengan alat distilasi, lakukan distilasi sampai terkumpul 110 ml destilat selama 19-21 menit. Campur secara merata destilat yang diperoleh (tanpa tahap pendinginan selama 10 menit), saring lalu titrasi 100 ml filtrat dengan larutan barium hidroksida.

C. Perhitungan

Bilangan Reichert = $1.1(T_1 - T_2)$

Bilangan Polenske = $T_3 - T_4$

$$BK = \frac{121(100+T_1)(T_5-T_6)}{10\,000}$$

Dimana :

BK = Bilangan Kirschner

T_1 = ml larutan barium hidroksida 0.05 M yang digunakan untuk titrasi sampel pada tahap R.

T_2 = ml larutan barium hidroksida yang digunakan untuk titrasi blanko pada tahap R.

T_3 = ml larutan barium hidroksida 0.05 M atau NaOH 0.1M yang digunakan untuk titrasi sampel pada tahap P.

T_4 = ml larutan barium hidroksida 0.05 M atau NaOH 0.1M yang digunakan untuk titrasi blanko pada tahap P.

T_5 = ml larutan barium hidroksida 0.05 M atau NaOH 0.1M yang digunakan untuk titrasi sampel pada tahap K.

T_6 = ml larutan barium hidroksida 0.05 M atau NaOH 0.1M yang digunakan untuk titrasi blanko pada tahap K.

Catatan :

Jika tidak perlu menetapkan bilangan Kirschner maka pada tahap R larutan barium hidroksida dapat diganti dengan larutan natrium hidroksida 0.1M.

16.4 Analisis Kadar Air**16.4.1 Cara Pemanasan**

- Haluskan bahan pangan yang akan diukur kadar airnya. Ambil dan masukkan ke dalam botol timbang yang telah diketahui bobotnya. Timbang bahan pangan sebanyak 1-2 g.
- Keringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3-5 jam, tergantung bahan pangannya. Dinginkan dalam eksikator dan timbang. Panaskan lagi dalam oven selama 30 menit, dinginkan dalam eksikator dan timbang. Tahap ini diulang beberapa kali hingga tercapai berat konstan (selisih antara dua penimbangan kurang dari 0.2 mg)
- Selisih antara bobot awal dan akhir merupakan bobot kadar air.

16.4.2 Cara Distilasi Toluena

- Timbang bahan pangan yang telah dipotong kecil secukupnya (kira-kira mengandung 2-5 ml air).
- Masukan ke dalam labu distilasi dan tambahkan 75-100 ml toluena atau silena. Pasang labu pada alat distilasi.
- Atur besarnya pemanasan distilasi hingga kira-kira 4 tetes toluena jatuh dari kondensor setiap detiknya.
- Lanjutkan proses distilasi sampai semua air menguap dan air di dalam penampungan tidak bertambah lagi (kira-kira 1 jam).

- e. Baca volume air yang tertampung dan hitung % air dari berat contoh.

16.4.3 Oven Vakum

- Timbang contoh bahan yang telah dihaluskan sebanyak 2 g dalam botol timbang yang telah diketahui bobotnya.
- Keringkan dalam oven vakum selama 3-5 jam dengan suhu 95°-100°C. Penamansan juga dapat dilakukan 20o-25oC di atas titik didih air pada tekanan 25mm.
- Dinginkan dalam eksikator dan timbang.
- Perlakuan ini diulangi hingga selisih dua penimbangan tidak lebih dari 0.05 persen.

16.5. Analisis Vitamin

16.5.1 Vitamin C

Vitamin C dapat dihitung dengan dua cara, yaitu dengan metode titrasi yodium dan menggunakan larutan 2,6 D.

16.5.1.1 Analisis Vitamin C dengan titrasi Yodium

- Timbang 200-300 g bahan dan hancurkan dalam Waring Blender sampai halus (*slurry*). Masukkan 10-30 g *slurry* ke dalam Krus Gooch atau dengan sentrifug untuk memisahkan filtratnya.
- Dengan menggunakan pipet, ambil 5-24 ml filtrat dan masukkan ke dalam Erlenmeyer 125 ml. Tambahkan 2 ml larutan amilum 1% (soluble

starch) dan tambahkan 20 ml akuades kalau perlu.

- Larutan amilum diperoleh dengan melarutkan 10 g pati dan 10 mg Hgl dalam 30 ml akuades. Masukkan ke dalam 1 L akuades yang sedang mendidih.
- Titrasi dengan 0.01 N standar yodium.
- Perhitungan

$$1 \text{ ml } 0.01 \text{ N yodium} = 0.88 \text{ mg asam askorbat}$$

16.5.1.2 Vitamin C dengan cara 2,6 D

- Peras air buah atau saring secara langsung atau hancurkan seperti 16.5.1. Saring dengan kertas saring yang kasar. Ukur volume cairan yang diperoleh atau berat bahan pangan yang digunakan.
- Ambil 100 ml filtrat dan tambahkan 100 ml reagen HPO₃-asam asetat. Kocok sampai aliquot merata dan saring dengan menggunakan kertas saring. Reagen HPO₃-asam asetat dapat dibuat dengan melarutkan 15 g asam metafosfat (HPO₃ glasial) kedalam 40 ml asam asetat dan 200 ml akuades dan dikocok kuat. Encerkan dengan menambah akuades hingga volumenya menjadi 500 ml dan saring dengan menggunakan kertas saring. Reagen ini dapat dimasukkan dalam botol gelap bertutup dan tetap baik

disimpan dalam refrigerator hingga 7-10 hari.

- c. Ambil 10 ml aliquot dan titrasi dengan larutan 2,6 D yang telah distandarisasi dan buatlah titrasi blanko. Buat tiga kali ulangan. Larutan standar 2,6 D dapat dibuat dengan melarutkan 50 ml 2,6-dichloro indophenol dalam 50 ml akuades yang telah ditambah 42 mg NaHCO_3 . Setelah larut, encerkan dengan akuades hingga menjadi 200 ml. Saring dengan kertas saring dan masukkan ke dalam botol gelap bertutup, simpan di dalam refrigerator.
- d. Standarisasi larutan 2,6 D dapat dilakukan dengan cara :
 - Timbang 100 mg asam askorbat (vitamin C). Masukkan ke dalam labu takar 50 ml dan encerkan dengan reagen HPO_3 -asam asetat sampai tanda.
 - Pindahkan 2 ml aliquot asam askorbat tersebut ke dalam Erlenmeyer 50 ml yang telah diisi 5 ml reagen HPO_3 -asam asetat.
 - Titrasi dengan larutan 2,6 D dari buret 50 ml sampai dihasilkan warna merah jambu yang tidak hilang selama 5 detik. Ulangi pekerjaan ini sebanyak tiga kali.
 - Buatlah tiga larutan blanko dengan menggantikan 2 ml aliquot asam askorbat dengan 2 ml akuades.

Titrasi dengan larutan 2,6 D.

- Selanjutnya hitunglah equivalen titrasi terkoreksi yang menunjukkan 1 ml larutan 2,6 D dengan jumlah mg asam sorbat.
- e. Hitunglah titrasi terkoreksi, yaitu titrasi sesungguhnya – titrasi blanko. Nyatakan jumlah vitamin C sebagai mg/100 ml cairan bahan pangan mula-mula atau setiap 100 g berat bahan pangan mula-mula.

16.5.2 Vitamin B2 (Riboflavin)

Kandungan vitamin B2 dapat dihitung dengan prosedur sebagai berikut :

- a) Ambil 10 ml larutan bahan yang akan dianalisis kandungan vitamin B2nya. Masukkan ke dalam Erlenmeyer 125 ml dan tambahkan 25 ml 0.1 N HCl. Kocok dan panaskan dalam autoklaf 120°C selama 30 menit
- b) Dinginkan. Tambahkan 1 N NaOH hingga pHnya menjadi 6.0. Jaga jangan sampai lebih, karena vitamin B2 tidak stabil pada pH diatas 6.0
- c) Tambahkan 1N HCl hingga pHnya menjadi 4.5. Pindahkan larutan ke dalam labu ukur 100 ml dan encerkan dengan menambahkan akuades sampai tanda. Saring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 42.
- d) Ambil filtrat yang jernih. Masukkan ke dalam kuvet dan

baca transmittancenya pada spectrofluoremeter dengan kisaran panjang gelombang 400-400 nm (vitamin B₂ berfluoresensi pada panjang gelombang ini).

- e) Penentuan berat absolut vitamin B₂ yang terkandung dalam filtrat perlu dibuat kurva standar yang menggambarkan hubungan kadar vitamin B₂ dengan transmittance. Caranya adalah sebagai berikut :
- f) Buat larutan standar dengan vitamin B₂ murni sehingga didapat filtrat terakhir dengan kadar vitamin B₂ antara 0.1-0.2 sampai 0.5 mikrogram per ml.
- g) Lakukan seperti prosedur di atas.
- h) Bacalah transmittancenya dari larutan tersebut (yang diketahui kadar vitamin B₂nya)
- i) Buatlah kurva yang menggambarkan hubungan antara kadar vitamin B₂ dengan transmittancenya.

16.5.3 Vitamin B1 (thiamin)

Vitamin B1 dalam bahan pangan berada dalam keadaan bebas atau terikat dengan protein, fosfo-protein, atau sebagai ester dengan asam pirofosfat. Dalam keadaan netral atau alkalis, vitamin ini mudah mengalami kerusakan. Pada pH 3.5, vitamin ini tahan panas sampai 120oC. Penentuan kadar vitamin B1 didasarkan atas oksidasi thiamin menjadi thiochrome (senyawa turunan

thiamin) yang dapat bercahaya (fluoresensi) dengan memancarkan sinar ultraviolet. Apabila bebas daripengaruh senyawa bercahaya lainnya, maka kandungan vitamin B1 identik dengan fluoresensi thiamin.

16.5.3.1 Ekstraksi Bahan

a. Ekstraksi bahan kering atau setengah kering dengan kandungan thiamin yang belum diketahui dapat dilakukan sebagai berikut :

- a) Haluskan 9 g bahan pangan dan giling halus (ukuran 32 mesh) atau buat menjadi bubur yang lembut.
- b) Tambahkan 0.1 N larutan HCl hingga volumenya menjadi 100 ml atau lebih (untuk mencegah pembentukan gel).
- c) Panaskan selama 30 menit pada suhu 95°-100°C di atas penangas air sambil selalu diaduk. Bila selama pemanasan terbentuk gel, larutan dikocok dengan kuat atau tambahkan HCl sedikit demi sedikit. Pemanasan dapat juga dilakukan pada autoklaf 121°-125°C selama 30 menit.
- d) Dinginkan. Bila terjadi partikel padat, usahakan kontak dengan cairannya.
- e) Encerkan dengan HCl 0.1 N hingga volumenya menjadi 100 ml.

b. Ekstraksi bahan cair dapat dilakukan sebagai berikut :

- a. Tambahkan ke dalam bahan cair tersebut 0.1 N HCl hingga nilai pH mencapai 3.5.
- b. Panaskan selama 30 menit pada suhu 95°-100°C di atas penangas air sambil selalu diaduk. Bila selama pemanasan terbentuk gel, larutan dikocok dengan kuat atau tambahkan HCl sedikit demi sedikit. Pemanasan dapat juga dilakukan pada autoklaf 121°-125°C selama 30 menit.
- c. Dinginkan. Bila terjadi partikel padat, usahakan kontak dengan cairannya.
- d. Encerkan dengan HCl 0.1 N hingga volumenya menjadi 100 ml

c. Ekstraksi bahan pangan yang mengandung thiamin-pirofosfat dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- a. Bahan dihidrolisis secara enzimatis, selanjutnya lakukan prosedur seperti di atas.
- b. Tambahkan ke dalam bahan cair tersebut 0.1 N HCl hingga nilai pH mencapai 3.5.
- c. Panaskan selama 30 menit pada suhu 95°-100°C di atas penangas air sambil selalu diaduk. Bila selama pemanasan terbentuk gel, larutan dikocok dengan kuat atau tambahkan HCl sedikit demi sedikit. Pemanasan dapat juga dilakukan pada autoklaf 121°-125°C selama 30 menit.
- d. Dinginkan. Bila terjadi partikel padat, usahakan kontak dengan cairannya.
- e. Encerkan dengan HCl 0.1 N hingga volumenya menjadi 100 ml

16.5.3.2 Pemisahan Thiamin

a. Sampel Bahan

- a. sediakan dua buah tabung kolom khromatografi (diameter 1 cm dan panjang 15 cm) dengan kran di bagian bawah. Sumbat bagian bawah dengan kapas. Masukkan absorben Zeolite (Natrium-aluminium-silikat) dalam tabung hingga tinggi 10 cm.
- b. Masukkan 10 ml sampel bahan pangan ke dalam tabung yang berisi zeolite. Tabung yang kedua untuk larutan standar. Bilas sisa bahan pangan yang menempel pada wadah gelas dengan 3-5 ml akuades. Biarkan cairan melewati kolom zeolite sampai tidak ada cairan yang menetes lagi. Thiamin akan tertinggal pada zeolit dan terpisah dari bahan lain.
- c. Cuci thiamin yang teradsorbsi dengan larutan KCl 25% mendidih secara bertahap (setiap kali 5 ml larutan KCl). Tampung tetesan (eluate) sebanyak 15 ml dengan gelas ukur. Ambil sebanyak 5 ml dan masukkan dalam corong

- pemisah (separatory funnel) ukuran 100 ml.
- d. Larutan KCl 25 % dapat dibuat dengan melarutkan 25 g KCl dalam 2% asam asetat dan encerkan hingga volumenya menjadi 100 ml.
 - e. Tambahkan larutan 15% NaOH sebanyak 3 ml dan campur hingga merata. Tambahkan satu tetes larutan Kalium Ferisianida 1 % (1 g $K_3Fe(CN)_6$) dalam 100 ml akuades. Kocok hingga rata dan diamkan. Larutan kalium ferisianida yang digunakan harus dalam keadaan baru.
 - f. Setelah satu menit, tambahkan 15 ml n-butanol atau isobutanol dan goyang secara perlahan agar larutan tidak menjadi keruh.
 - g. Pisahkan larutan air yang ada di bagian bawah sehingga yang tertinggal hanya lapisan butanol-nya. Pindahkan larutan butanol tersebut ke dalam tabung gelas yang kering untuk dideteksi besarnya fluoresensi pada alat spectrophotometer.
 - h. Bacalah fluoresensi ekstrak bahan pada Coleman fluorometer dengan filter No. 12-221 atau Technicon 518-7000; sedangkan thiamin pada Coleman fluorometer dengan filter No. 14-221 atau Technicon 518-7004.
- b. Standar thiamin-hydrochloride**
- a. Larutan standar thiamin adalah 0.0001% atau 0.001 mg thiamin per ml.
 - b. Lakukan pemisahan seperti pada prosedur nomor 16.3.1.2 bagian a.
- c. Blanko sampel dan blanko standar**
- Pembuatan blanko sampel atau standar dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :
- a. Ambil eluate atau hasil tetesan (16.3.1.2. bagian a) sebanyak 5 ml. Tambahkan 3 ml larutan 15% NaOH dalam corong pemisah dan kocok.
 - b. Tambahkan 15 ml butanol dan kocok perlahan
 - c. Ambil lapisan butanolnya dan tentukan nilai fluoresensinya. Perhatian : untuk pembuatan blanko tidak dilakukan penambahan ferisianida.
- 16.6. Analisis Kadar Abu**
- Penyiapan bahan uji untuk penentuan kadar abu adalah sebagai berikut :
- a. Masukkan bahan pangan yang akan dianalisis ke dalam krus porselin sebanyak 2-10 g.
 - b. Pijarkan dalam muffle sampai diperoleh abu berwarna keputih-putihan.
 - c. Pindahkan krus porselin bersama abu ke dalam eksikator hingga dingin.
 - d. Timbang bobot abu.

- e. Tentukan persen kadar abu berdasarkan berat kering bahan pangan.

16.7. Analisis Mineral

16.7.1 Penyiapan larutan contoh

Larutan contoh dibuat dengan prosedur sebagai berikut :

1. Larutkan abu yang diperoleh dari 15.6 dalam HCl dengan perbandingan 1:4. Pindahkan semua abu terlarut ke dalam gelas piala.
2. Uapkan airnya hingga menjadi pekat, kemudian panaskan dalam penangas air selama 1 jam.
3. Basahi residu kering dengan 5-10 ml HCl pekat dan 50 ml akuades. Panaskan lagi selama beberapa menit, kemudian saring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 52.
4. Filtrat ditampung dengan labu ukur 200 ml. Cuci endapan yang tertinggal dengan akuades. Air cucian dicampur dengan filtrat yang tertampung lewat kertas saring yang sama.
5. Filtrat dan hasil cucian tersebut diencerkan dengan akuades hingga mencapai tanda. Untuk memudahkan, larutan ini diberi kode **aliquot A**.

15.7.2 Penentuan Fe dan Al

16.7.2.1 Pembuatan larutan Contoh

Larutan contoh untuk penentuan Fe dan Al dapat dilakukan sebagai berikut :

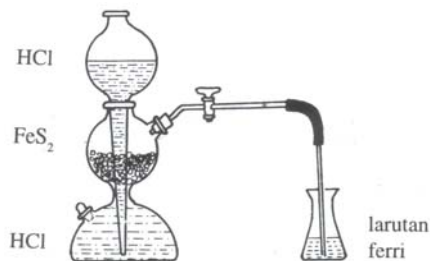
- a. Pipet 25 ml aliquot A dari 16.7.1 dengan menggunakan pipet volume (ekivalen dengan 0.5 g abu yang terlarut). Pindahkan ke dalam gelas piala 150 ml
- b. Tambahkan 1-2 ml HNO₃ pekat atau H₂O₂. Dididihkan untuk mengoksidasi semua ferro menjadi ferri.
- c. Dinginkan. Tambahkan larutan NH₄OH pekat sedikit demi sedikit hingga tidak terbentuk endapan lagi. Tambahkan HNO₃ pekat sampai larutan menjadi jernih kembali. Akhirnya tambahkan lagi 2-3 ml HNO₃ pekat.
- d. Tambahkan 25 ml NH₄NO₃ 50% (bebas fosfor). Panaskan dengan penangas air hingga suhunya mencapai 40°C, sambil diaduk tambahkan secara perlahan larutan molibdat sebanyak 50 ml. Larutan ini tetap dipertahankan suhunya (40°C) selama 1 jam. Amatilah apakah endapan yang terbentuk telah mencapai maksimum atau belum.
- e. Larutan molibdat dapat dibuat dengan melarutkan 65 g (NH₄)₆MO₇O₂₄.H₂ murni; 225 g NH₄NO₃ dan 15 ml NH₄OH pekat ke dalam 600 ml akuades. Aduk sambil terus dipanaskan, hingga semuanya larut. Lanjutkan dengan penyaringan tanpa dilakukan pencucian. Setelah

- hasil penyaringan dingin, tambahkan akuades hingga volumenya mencapai satu liter.
- f. Cara memeriksa apakah endapan yang terbentuk sudah maksimum adalah sebagai berikut :
 - Ambil 5 ml supernatan yang jernih dari larutan tersebut.
 - Tambahkan larutan molibdat. Bila masih terbentuk endapan berarti masih perlu penambahan larutan molibdat. Bila tetap jernih berarti tidak memerlukan penambahan larutan molibdat.
 - Larutan yang digunakan untuk memeriksa endapan dikembalikan lagi
 - g. Bila telah diperoleh endapan maksimum, simpanlah larutan dan endapan ini selama 4 jam sampai semalam.
 - h. Lakukan penyaringan dengan kertas saring.
 - i. Cucilah endapan yang ada pada kertas saring dengan menggunakan 15 ml larutan NH_4NO_3 2.5% (bebas fosfor). Pencucian diulang sampai lima kali. Filtrat dan hasil cucian ditampung dan diberi kode **aliquot B**.
- 16.7.2.2 Penentuan Total Fe dan Al-oksida**
1. Netralkan aliquot B (16.7.2.1) dengan menambahkan NH_4OH (1:4) tetes demi tetes. Setelah netral (periksa dengan kertas pH) tambahkan lagi 1 ml larutan NH_4OH tersebut.
 2. Panaskan hingga suhu mencapai 40°C dan pertahankan suhunya hingga semua endapan mengendap.
 3. Tuangkan supernatan yang jernih ke atas kertas saring bebas abu. Filtrat ditampung dalam Erlenmeyer. Cucilah dengan air panas semua endapan yang masih tertinggal dalam gelas piala dan tuangkan supernatannya ke kertas saring tadi. Lakukan pencucian sekali lagi dengan cara yang sama.
 4. Pindahkan semua endapan yang ada dalam gelas piala ke atas kertas saring dan cuci dengan menggunakan 10 ml air panas. Lakukan sebanyak tiga kali. Filtrat dan hasil cucian ditampung dan diberi kode **filtrat I**.
 5. Endapan yang tertinggal pada kertas saring dilarutkan dengan cara meneteskan asam nitrat (1:4) panas sehingga semua endapan larut dan ditampung dalam Erlenmeyer yang lain. Akhirnya filtrat ini dikerjakan lagi dengan prosedur seperti di atas, dimulai dari penetralan dengan larutan NH_4OH tetes demi tetes dan seterusnya sampai di peroleh endapan. Filtrat dari proses pengendapan kedua diberi kode **filtrat II**. Endapan dan kertas saring digunakan

- untuk menentukan total Fe dan Al-oksida.
6. Campurkan filtrat I dan II dan diberi kode **aliquot C**.
 7. Jumlah campuran filtrat I dan II tidak boleh lebih dari 500 ml.
 8. Kertas saring yang digunakan pada pengendapan pertama dan kedua adalah sama
 9. Sebelum menyaring endapan yang kedua, letakkan sobekan halus kertas saring bebas abu di atas kertas saring yang digunakan untuk penyaringan. Hal ini dilakukan untuk memudahkan pencucian dan perlakuan selanjutnya
 10. Keringkan endapan dan kertas saring dan pijarkan dalam krus platina atau nikel yang telah dipijarkan dan diketahui bobotnya.
 11. Residu yang berwarna keputih-putihan hasil pemijaran ditimbang dan akan diperoleh angka berat total Fe dan Al-oksida.

17.7.2.3 Penentuan Fe-oksida

- a. Leburkan residu dalam krus platina atau nikel yang diperoleh dari 17.7.2.2 dengan menambahkan 4 g KHSO_4 yang sebelumnya telah dipijarkan. Peleburan dilakukan di atas lempeng pemanas atau lilitan pemanas selama beberapa menit.
- b. Dinginkan. Tambahkan 5 ml H_2SO_4 pekat dan panaskan sampai pembentukan gas SO_3 selesai.
- c. Dinginkan dan pindahkan semua isi dalam krus tersebut. Cucilah sisa bahan dalam krus dengan menggunakan akuades sedemikian rupa sehingga volume larutan yang diperoleh tidak melebihi 200 ml.
- d. Panaskan hingga diperoleh larutan yang jernih.
- e. Untuk penentuan Fe, semua larutan harus direduksi hingga semua ferri berubah menjadi ferro.
- f. Proses reduksi dilakukan dengan melewati gas H_2S (Gambar 16.5.) ke dalam larutan sampai larutan tersebut jenuh terhadap H_2S . Hal ini ditandai dengan larutan menjadi lebih gelap dan tidak terjadi perubahan lagi.
- g. Apabila dalam larutan terdapat platina maka akan terbentuk endapan. Saringlah endapan ini, kemudian filtrat dialiri sekali lagi dengan gas H_2S hingga semua ferri dirubah menjadi ferro.
- h. Untuk menghilangkan gas H_2S yang terlarut, panaskan la-



Gambar 16.5 . Generator Kipp
Sumber : Sudarmadji, dkk., 1997

rutan tersebut hingga mendidih. Periksalah apakah semua gas H_2S telah habis atau belum. Caranya dengan meletakkan kertas Pb-asetat di atas uap yang keluar. Apa-bila dalam uap tersebut masih terdapat gas H_2S maka kertas akan menjadi hitam. Kertas Pb-asetat dapat dibuat dengan cara :

- Celupkan kertas saring ke dalam larutan Pb-asetat jenuh
 - Setelah kering, potong dengan ukuran 1 x 5 cm.
 - Bila kertas ini dikenakan gas H_2S akan berwarna hitam.
- i. Larutan yang telah direduksi dititrasi dengan larutan 0.1N $KmnO_4$. Titrasinya berakhir bila warna larutan telah berubah menjadi merah jambu dan dapat bertahan selama 20 detik.
- j. Setiap 1 ml 0.1 N $KmnO_4$ sesuai dengan 0.005585 g Fe; 0.007185 g FeO ; atau 0.007985 g Fe_2O_3 .

16.7.2.3 Penentuan Al-oksida

Banyaknya Al-oksida dapat dihitung dengan cara :

$$\text{Berat } Al_2O_3 \text{ (g)} = (\text{bobot } Fe_2O_3 + Al_2O_3 \text{ g})(\text{pada } 16.7.2.2) - (\text{bobot } Fe_2O_3 \text{ g})(\text{pada } 16.7.2.3)$$

15.7.2 Penentuan Mn, Ca, dan Mg

16.7.3.1 Penentuan Mn-oksida (Mn_3O_4)

Penentuan konsentrasi Mn oksida dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

- a. Pipet aliquot A (pada 16.7.1) sebanyak sebanyak 25 ml (ekivalen dengan 0.5-2.0 g abu) ke dalam gelas piala. Tambahkan larutan $FeCl_3$ 10 % sebanyak volume aliquot yang dipipet.
- b. Netralkan dengan NH_4OH (1:4) tetes demi tetes. Endapan yang terbentuk dilarutkan kembali dengan menambahkan HCl (1:4) sedikit berlebihan dan tambahkan pula 1-2 g Na-asetat.
- c. Dididihkan selama satu menit, saring dan cuci dengan aquades panas. Endapan pada kertas saring dilarutkan kembali dengan HCl (1:4) lalu dididihkan lagi dengan cara yang sama, kemudian disaring.
- d. Filtrat dan hasil cucian yang didapat dipekatkan dengan pemanasan hingga volumenya menjadi 50 ml. Dinginkan dan tambahkan air bromim (brominewater) sampai larutan berwarna coklat kekuningan.
- e. Buat larutan menjadi alkalis dengan menambahkan NH_4OH (1:4) lalu panaskan sampai mendidih dalam keadaan tertutup (gelas piala ditutup dengan gelas arloji).
- f. Dinginkan dan ulangi lagi penambahan air bromim. Larutan dibuat alkalis dengan penambahan NH_4OH (1:4) lalu

- dididihkan kembali. Bila terjadi endapan, larutan di-asamkan dengan asam asetat pekat hingga sedikit asam.
- g. Saring dengan kertas saring bebas abu dan cucilah endapan dengan akuades panas. Filtrat dan cucian dipakai untuk penentuan Ca-oksida.
 - h. Kertas saring dan endapan dikeringkan dalam krus yang telah dipijarkan dan diketahui bobotnya. Pijarkan dan timbang. Bobot residu adalah bobot Mn-oksida.

16.7.3.2 Penentuan Ca-oksida (CaO)

Penentuan konsentrasi Ca-oksida dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu :

16.7.3.2.1 Cara I

Penentuan Ca-oksida cara I dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

- a. Filtrat dan hasil cucian pada 16.7.3.1 diuapkan hingga volumenya menjadi 50 ml. Tambahkan NH_4OH (1:4) agar menjadi alkalis. Sambil dipanaskan tambahkan tetes demi tetes larutan amonium oksalat jenuh secara berlebih sampai terbentuk endapan Ca dan Mg-oksalat.
- b. Panaskan hingga mendidih dan biarkan hingga semua endapan mengendap. Lakukan dekantasi bagian larutan yang jernih melalui kertas saring. Tuanglah 15-20 ml

- akuades panas ke dalam endapan dalam gelas piala dan lakukan dekantasi lagi. Endapan dalam gelas piala dilarutkan dengan beberapa tetes HCl pekat dan tambahkan sedikit air.
- c. Ulangi lagi pengendapan dengan menambahkan NH_4OH (1:9) agar larutan menjadi sedikit alkalis dan tambahkan 0.5 ml larutan amoniumoksalat jenuh. Saring dengan kertas saring yang tadi, cuci endapan dengan akuades panas sampai bebas klorida. Keringkan kertas saring dan endapan dalam krus yang telah diketahui bobotnya, pijarkan dan timbang residu tersebut sebagai Ca-oksida.
 - d. Filtrat dan hasil cucian ditampung untuk penentuan konsentrasi Mg-oksida cara I.

16.7.3.2.2 Cara II

Penentuan Ca-oksida cara II dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

- a. Pipet aliquot pada 16.7.1 sebanyak ekuivalen dengan 0.5-2.0 g abu ke dalam gelas piala 300 ml. Encerkan dengan akuades hingga volumenya menjadi 200 ml. Tambahkan NH_4OH (1:4) agar menjadi sedikit alkalis dan indikator methylorange. Tambahkan HCl (1:4) hingga larutan menjadi sedikit asam. Tambahkan 10 ml 0.5 N HCl dan 10 ml asam oksalat 2.5%. Didihkan dan sambil diaduk

tambahkan 15 ml larutan amonium oksalat jenuh. Panaskan terus hingga endapan berbentuk granular. Dinginkan dan sambil diaduk tambahkan 8 ml larutan Na-asetat 20 %, lalu diamkan selama 12 jam.

- b. Saring dan cuci dengan air panas sampai bebas khlorida (seperti pada 16.7.3.2.1). Pindahkan residu pada kertas saring ke dalam gelas piala dengan cara melubangi ujung bagian bawah kertas saring dengan pengaduk gelas. Siram dengan akuades panas seperlunya hingga seluruh endapan telah dipindahkan ke dalam gelas piala.
- c. Tambahkan 10 ml H₂SO₄ (1:4) dan anaskan hingga hampir mendidih. Setelah dingin, titrasi dengan 0.1 N KmnO₄. Pada saat hampir berwarna merah jambu, kertas saring yang tadi dipakai menyaring dimasukkan ke dalam larutan dan lanjutkan titrasi sampai titik akhir, yaitu apabila larutan tersebut telah berwarna merah jambu yang bertahan selama 20 detik.
- d. Setiap 1 ml 0.1 N KmnO₄ ekuivalen dengan 0.0028 g CaO
- e. Filtrat dan hasil cucian dipakai untuk penentuan konsentrasi Mg-oksida cara II.

16.7.3.3 Penentuan Mg-oksida (MgO)

Konsentrasi Mg-oksida dapat ditentukan dengan dua cara, yaitu :

16.7.3.3.1 Cara I

- a. Filtrat dan hasil cucian pada 16.7.3.2.1 diuapkan hingga menjadi pekat. Panaskan dengan hati-hati hingga tidak terjadi percikan lagi yang menandakan semua garam amonium sudah terurai.
- b. Tambahkan 20-25 ml akua-des panas dan 5 ml HCl pekat. Saring dan cuci. Pekatkan larutan tersebut sehingga volumenya menjadi 50 ml. Dinginkan dan tambahkan larutan Na₂HPO₄ 10% hingga semua Mg mengendap. Sambil diaduk, tambahkan NH₄OH pekat sehingga larutan menjadi alkalis. Tambahkan lagi larutan Na₂HPO₄ 10% untuk meyakinkan bahwa semua Mg telah mengendap. Diamkan selama 30 menit.
- c. Sambil diaduk, tambahkan secara perlahan NH₄OH pekat dan tutup agar amonia tidak menguap. Diamkan selama 12 jam. Saring dengan kertas saring bebas abu dan cucilah endapan dengan larutan amonia 2.5% (larutan paling sedikit harus mengandung NH₃ sebanyak 2.5%), sampai bebas khlorida.
- d. Keringkan kertas saring dan endapan dalam krus yang telah dipijarkan dan telah diketahui bobotnya. Pijarkan mula-mula pada suhu sedang dan

- diikuti dengan pijaran pada suhu tinggi.
- e. Timbang residu yang dihasilkan sebagai Mg-oksida.

16.7.3.3.2 Cara II

- a. Filtrat dan hasil cucian pada 16.7.3.2.2 ditambah 25 ml HNO_3 pekat dan uapkan airnya sampai pekat (*dry-ness*). Pemanasan dilanjutkan hingga semua garam amonia terurai. Hal ini ditandai dengan tidak terjadinya lentikan lagi.
- b. Residu yang terbentuk dilarutkan dengan HCl (1:4) lalu encerkan dengan akuades hingga volumenya menjadi 100 ml. Tambahkan 5 ml larutan Natriat 10% dan 10 ml larutan NaH_2PO_4 10% atau lebih sehingga semua Mg mengendap.
- c. Tambahkan NH_4OH (1:4) sambil diaduk sehingga larutan menjadi sedikit alkalis. Tambahkan 25 ml NH_4OH pekat lalu diamkan semalam.
- d. Saring dan cucilah endapan tersebut dengan NH_4OH (1:4)
- e. Endapan pada kertas saring dilarutkan kembali kedalam wadah yang bersih dengan HCl (1:4), kemudian lakukan kembali pengendapan kedua dengan pengenceran dan penambahan Natriat (nomor 2) dan seterusnya.
- f. Setelah terbentuk endapan, diamkan selama beberapa

- jam, saring dan cucilah dengan NH_4OH (1:9) sampai bebas klorida.
- g. Keringkan endapan dan kertas saring bebas abu dalam krus yang telah dipijarkan dan diketahui bobotnya, pijarkan dan timbang residu sebagai $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$.
- h. Hitunglah Mg yang terdapat dalam larutan semua sebagai MgO dari berat $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$, yaitu :

$$\text{Bobot MgO} = 0.18114 \times \text{bobot Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$$

16.7.4 Penentuan Cl

16.7.4.1 Penyiapan Larutan

Penyiapan larutan untuk menentukan konsentrasi Cl adalah sebagai berikut :

1. Timbang 5 g bahan pangan dalam cawan platina atau nikel. Tambahkan 20 ml larutan Na_2CO_3 5%. Uapkan di atas pemanas hingga pekat, lalu pijarkan pada suhu yang dapat memberikan warna kemerah-merahan pada cawan. Pemanasan dilakukan hingga diperoleh abu yang berwarna keputih-putihan, kemudian dinginkan.
2. Tambahkan sedikit air panas pada abu dan saring seluruhnya dengan kertas saring bebas abu dan cucilah dengan air panas. Filtrat yang diperoleh disebut **filtrat 1** dan disimpan.
3. Kertas saring yang mengandung residu atau endapan

dipindahkan ke dalam cawan platina atau nikel. Pijarkan lagi.

4. larutkan abu yang diperoleh dengan HNO_3 (1:4), saring, cuci, dan campurkan dengan filtrat 1. Campuran ini disebut **filtrat 2**.

16.7.4.2 Penentuan Cl cara Gravimetri

Penentuan bobot Cl dalam bahan pangan dengan metode gravitasi adalah sebagai berikut :

1. Tambahkan secukupnya larutan AgNO_3 10 % ke dalam filtrat 2. Larutan AgNO_3 10% dapat dibuat dengan melarutkan 16.989 g AgNO_3 murni (yang telah dikeringkan pada suhu 120°C) dalam akuades hingga volumenya menjadi 1 L.
2. Panaskan sampai mendidih hingga terbentuk endapan yang berupa granular. Saring dengan krus Gooch kering yang telah diketahui bobotnya. Endapan dan krus Gooch dipanaskan pada suhu $140-150^\circ\text{C}$ lalu cuci dengan air panas sampai bebas dari AgNO_3 . Cara mengetahui bahwa larutan sudah bebas AgNO_3 adalah dengan mengambil sedikit filtrat yang baru disaring. Tambahkan satu tetes HCl atau NaCl encer. Bila masih terdapat endapan putih berarti larutan masih mengandung ion Ag.
3. Keringkan endapan dan panaskan pada suhu $140-$

150°C . Dinginkan dan timbang residu AgCl.

4. Bobot Cl dapat ditentukan berdasarkan bobot AgCl yang diperoleh, yaitu :

$$\text{Bobot Cl} = 0.24759 \times \text{bobot AgCl}$$

16.7.4.3 Penentuan Cl cara Volumetri

Penentuan bobot Cl dalam bahan pangan dengan metode gravitasi adalah sebagai berikut :

- a. Tambahkan AgNO_3 0.1 N ke dalam Filtrat 2 hingga semua ion Cl membentuk endapan AgCl.
- b. Sisa AgNO_3 yang tidak bereaksi ditentukan jumlahnya dengan cara titrasi menggunakan larutan thiosianat.
- c. Setelah ditambah AgNO_3 di atas, aduk, saring, dan cuci endapan sampai bebas ion Ag (cara 16.7.4.2).
- d. Filtrat dan hasil cucian ditambah 5 ml indikator ferri dan beberapa ml asam nitrat encer. Indikator ferri dapat dibuat dengan melarutkan 3.5 ferri ammonium alum dalam 10 ml akuades. Tambahkan 2 ml larutan 6N HNO_3 . dapat juga digunakan 10 g ferri nitrat murni dilarutkan dalam 10 ml akuades, tambahkan 1 ml HNO_3 (1:4) dan encerkan

- sampai 100 ml dengan akuades. Sedangkan larutan asam nitrat encer dapat dibuat dengan menambahkan 25 ml akuades ke dalam 100 ml asam nitrat. Didihkan hingga larutan menjadi tidak berwarna.
- e. Titrasi ion Ag dengan larutan 0.1 N Thiosianat sampai diperoleh warna coklat yang permanen. Catat larutan thiosianat yang terpakai. Larutan 0.1N Thiosianat dapat dibuat dengan melarutkan 9.7174 g KCNS dalam akuades hingga volumenya menjadi 1 L.
 - f. Penentuan kadar Cl adalah sebagai berikut :
2. Tambahkan setiap kali 0.5 g Na-peroksida, campur dengan baik dan ulangi penambahan Na-peroksida tersebut 10 kali hingga diperoleh campuran yang hampir kering dan berbentuk granular.
 3. Panaskan krus dan isinya di atas nyala lampu alkohol (spirtus) sampai seluruh isinya melebur. Dinginkan dan tambahkan lagi Na-peroksida dan ratakan di atas permukaan residu. Tinggi lapisan Na-peroksida ini kira-kira 0.5 cm.
 4. Panaskan di atas nyala api alkohol. Wadah digoyang-goyang sambil apinya dibesarkan sampai diperoleh residu yang baik. Pemanasan diteruskan sampai 10 menit, kemudian dinginkan sampai suhu kamar.
 5. Pindahkan residu ke dalam gelas piala 600 ml dan cuci krus dengan 100 ml akuades untuk membilas semua residu.
 6. Tambahkan HCl pekat tetes demi tetes sehingga larutan menjadi sedikit asam (uji dengan kertas lakmus).
 7. Pindahkan larutan tersebut ke dalam labu ukur 500 ml. Cucilah bahan yang tersisa dengan akuades, selanjutnya encerkan sampai tanda. Larutan disaring untuk mendapatkan filtratnya.
 8. Pipet 200 ml filtrat dan masukkan ke dalam gelas piala. Tambahkan larutan BaCl₂ 10

$$\text{Bobot Cl} = (axNa) - (bxNb)(0.0355)$$

Dimana :

a = jumlah AgNO₃ mula-mula

Na = Normalitas AgNO₃

B = Jumlah larutan thiosianat yang digunakan

Nb = Normalitas dari larutan thiosianat

16.7.5 Penentuan S

Penentuan kandungan mineral S dalam bahan pangan dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

1. Timbang 1.5-2.5 g contoh bahan pangan dalam krus 100 ml. Tambahkan 5 g Na₂CO₃ anhidrous. Campur dengan baik, lalu tambahkan 2 ml akuades.

% secara perlahan-lahan sampai terbentuk endapan maksimal.

9. Didihkan selama 5 menit, selanjutnya diamkan pada suhu kamar paling sedikit selama 5 jam.
10. Tuangkan supernatannya ke dalam kertas saring bebas abu. Endapan yang tertinggal dalam gelas piala dicuci dengan akuades lalu dituang seluruhnya ke dalam kertas saring. Cuci kembali sampai filtratnya bebas klorida.
11. Kertas saring dengan endapan yang tertinggal dikeringkan dalam krus yang telah dipijarkan dan diketahui bobotnya, dan kemudian dipijarkan, didinginkan dalam eksikator dan timbang residunya sebagai BaSO₄. Bobot S diperhitungkan dari bobot BaSO₄ yang diperoleh, dimana :

$$\text{Bobot S} = 0.13736 \times \text{Bobot BaSO}_4$$

16.7.6 Penentuan P

Penentuan kandungan mineral P dalam bahan pangan dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

- a. Timbang dengan seksama 1-2 g contoh dan pindahkan ke dalam gelas piala. Tambahkan 7.5 ml larutan Mg-nitrat dan aduk dengan baik. Larutan Mg-nitrat dibuat dengan melarutkan 150 g Mg-

oksida dalam asam nitrat (1:1) secukupnya (hindari penggunaan asam yang berlebihan). Tambahkan se-dikit Mg-oksida, panaskan sampai mendidih selama 2 menit dan disaring, kemudian diencerkan hingga menjadi 1 L.

- b. Panaskan di atas pemanas listrik pada suhu 180 oC, sampai pekat dan tidak terjadi perubahan lagi.
- c. Pindahkan ke dalam muffle pada suhu 300-400oC sampai residu tidak berwarna hitam lagi. Dinginkan, lalu tambahkan 15-30 ml HCl pekat dan encerkan dengan akuades, kemudian pindahkan ke dalam labu ukur 250 ml dan encerkan lagi sampai tanda.
- d. Pipet 100 ml larutan contoh yang diperoleh dan pindahkan ke dalam gelas piala 250 ml.
- e. Tambahkan NH₄OH pekat sedikit berlebihan. Endapan yang terjadi dilarutkan kembali dengan menambahkan HNO₃ pekat sedikit demi se-dikit sambil diaduk, sampai larutan menjadi jernih.
- f. Tambahkan 15 g NH₄-nitrat, panaskan di atas penangan air sampai suhunya 65°C dan tambahkan 70 ml larutan molibdat. Diamkan pada suhu tersebut selama 1 jam. Larutan molibdat dibuat dengan melarutkan 65 g (NH₄)₆MO₇O₂₄.H₂) murni; 225 g NH₄NO₃; dan 15 ml NH₄OH pekat ke dalam 600 ml akuades. Panaskan sam-bil

- diaduk hingga semuanya larut. Kemudian saring (tanpa dicuci). Setelah dingin diencerkan dengan akuades sampai 1 L.
- g. Periksa apakah proses pengendapan sudah selesai atau belum. Caranya : ambil 5 ml supernatan dan tambahkan 5 ml larutan molibdat dan kocok. Bila masih terbentuk endapan berarti masih perlu ditambahkan larutan molibdat lagi sampai pengendapan selesai. Jangan lupa setiap kali pemeriksaan, larutan yang dipakai untuk pemeriksaan dikembalikan lagi.
 - h. Kalau pengendapan sudah selesai, saring dan cuci dengan akuades
 - i. Larutkan kembali endapan dalam kertas saring tersebut dengan menambahkan sedikit demi sedikit larutan NH_4OH (1:1) dan air panas sampai kertas saring menjadi bersih. Volume filtrat dan hasil pencucian yang terakhir ini tidak boleh lebih dari 100 ml.
 - j. Netralkan filtrat dan hasil pencucian dengan HCl pekat, diamkan lalu tambahkan 15 ml magnesia mixture dari dalam buret dengan kecepatan 1 tetes setiap detik sambil digoyang. Diamkan selama 15 menit. Magnesia mixture dibuat dengan melarutkan 55 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dan 140 g NH_4Cl dalam 500 ml akuades. Kedalamnya ditambahkan 130.5 ml NH_4OH pekat, dicampur baik-baik dan diencerkan sampai 1 liter, selanjutnya disaring.
 - k. Tambahkan 12 ml NH_4OH pekat dan biarkan selama 2 jam.
 - l. Supernatan mula-mula dituang melalui kertas saring bebas abu, cuci endapan dalam gelas piala dengan amonia encer sampai bebas klorida.
 - m. Keringkan endapan dan kertas saring dalam krus yang telah dipijarkan dan diketahui bobotnya, kemudian pijarkan pada suhu rendah dan akhirnya pada suhu lebih tinggi, sampai diperoleh residu yang berwarna putih atau abu-abu keputih-putihan. Dinginkan dalam eksikator dan timbanglah bobot residu sebagai $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$. Bobot P_2O_5 dalam 100 ml larutan dapat dihitung dari bobot $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$ yang diperoleh :
- $$\text{Bobot } \text{P}_2\text{O}_5 = 0.6377 \times \text{bobot } \text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$$

16.7.7 Penentuan K dan Na

16.7.7.1 Penentuan K dan Na Total

Konsentrasi K dan Na total dapat dihitung dengan prosedur berikut ini :

- 1) Timbang 10 g bahan pangan dalam krus platina atau nikel. Basahi dengan H_2SO_4 pekat

secukupnya. Panaskan dalam muffle suhu rendah sehingga semua senyawa organik terurai. Dinginkan. Residu yang diperoleh ditambah dengan 5-10 ml HCl pekat dan 50 ml akuades, lalu panaskan di atas penangan air mendidih.

2) Pindahkan seluruh isinya ke dalam gelas piala pyrex, lalu tambahkan NH_4OH pekat tetes demi tetes sampai terbentuk endapan yang apabila dikocok akan membutuhkan waktu beberapa detik untuk dapat larut kembali. Jadi akan diperoleh larutan yang sedikit asam.

3) Panaskan sampai hampir mendidih dan tambahkan NH_4OH pekat untuk mengendapkan logam Fe dan Al.

4) Didihkan dalam keadaan tertutup selama 1 menit, selama ini larutan harus selalu digoyang agar endapan yang terjadi tidak melekat pada dinding gelas piala. Setelah dididihkan tambahkan beberapa tetes NH_4OH sehingga tercium bau amonia.

5) Segeralah saring dengan kertas saring dan cucilah secepatnya dengan air panas. Usahakan selama penyaringan ini, endapan tidak melekat pada kertas saring. Filtrat dan hasil cucian disimpan.

6) Pindahkan endapan yang berada pada kertas saring ke dalam gelas piala semula dengan cara menyemprotkan akuades seperlunya. Endapan yang berada dalam gelas piala tersebut dilarutkan kembali dengan pe-

nambahan HCl pekat tetes demi tetes sampai semua endapan melarut semua.

7) Hangatkan. Lakukan kembali pengendapan Fe dan Al dengan cara seperti di atas.

8) Saring dan cuci sampai bebas klorida. Filtrat dan hasil cucian ditampung dan dicampur bersama dengan filtrat dan hasil cucian yang pertama.

9) Uapkan di atas penangas air mendidih hingga kering, lalu panaskan dalam muffle suhu rendah sehingga semua garam amonia terusir.

10) Larutkan dalam akuades seperlunya, kemudian tambahkan 5 ml larutan $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Bila larutan tetap jernih berarti pengendapan telah selesai. Saring dan cuci dengan air panas.

11) Filtrat dipanaskan sampai mendidih. Tambahkan larutan NH_4OH (1:4) dan larutan $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 10 % sampai terbentuk endapan maksimal. Saring dan cuci dengan air panas.

12) Filtrat diuapkan sampai kering, kemudian panaskan dalam muffle suhu rendah sehingga semua garam amonia terusir.

13) Larutkan dalam akuades panas seperlunya. Tambahkan beberapa tetes NH_4OH (1:4), 1-2 tetes larutan $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 10%, dan beberapa tetes larutan $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ jenuh.

14) Panaskan di atas penangas air mendidih selama beberapa menit dan kemudian diamkan pada suhu kamar selama beberapa jam.

15) Saring dan cuci. Filtrat yang diperoleh diuapkan sampai kering lalu dipanaskan dalam muffle suhu rendah sehingga semua garam amonia terusir.

16) Larutkan kembali dengan sedikit air, saring, filtrat ditampung dalam cawan platina atau nikel, tambahkan beberapa tetes HCl pekat, uapkan di atas penangas air sampai kering, panaskan dalam muffle suhu rendah, dinginkan dalam eksikator dan timbang.

17). Residu tersebut adalah berat total KCl dan NaCl.

16.7.7.2 Penentuan K

Penentuan kandungan K dalam bahan pangan dapat ditentukan berdasarkan metode Williard, sebagai berikut :

1. Residu yang diperoleh pada 16.7.7.1 dilarutkan dengan 70 ml akuades (dalam hal ini larutan tidak boleh mengandung K lebih dari 0.5 g; dan ternyata apabila jumlah K lebih besar maka larutan tersebut dapat diencerkan sampai volume tertentu, kemudian ambil 70 ml untuk ditentukan kandungan Knya).
2. Tambahkan 5 ml larutan asam perklorat (HClO_4) 20 % (berat jenis 1.12), uapkan di atas penangas air perlahan-lahan.
3. Tambahkan 10 ml akuades panas dan 5 ml HClO_4 20%, uapkan di atas penangas air. Ulangi perlakuan ini sampai apabila diuapkan akan timbul

uap / kabut asam tersebut yang tebal.

4. Dinginkan sampai suhu beberapa derajat di bawah suhu kamar, lalu tambahkan larutan alkohol pencuci. Larutan alkohol pencuci dibuat dengan melarutkan 1 ml HClO_4 20% dan 2.8 mg KClO_4 dalam 100 ml alkohol 97%. Simpan pada suhu dingin sebelum digunakan.
5. Saring dengan krus Grooch yang telah diketahui bobotnya.
6. Cucilah dengan 3 x 10 ml larutan alkohol pencuci, keringkan dalam oven suhu 130°C selama 1 jam. Selanjutnya ditimbang.
7. Residu yang ditimbang adalah KClO_4 .

$$\text{Bobot K} = 0.2821 \times \text{Bobot KClO}_4$$

16.7.7.3 Penentuan Na

Penentuan kandungan Na dalam bahan pangan dapat ditentukan berdasarkan bobot total K dan NaCl seperti yang diperoleh pada 16.7.7.1 dikurangi dengan berat KCl yang identik dengan bobot KClO_4 yang diperoleh pada 16.7.7.2.

BAB XVII

ANALISIS MUTU AIR

Air sangat penting dalam kehidupan manusia, baik untuk kebutuhan tubuh maupun lingkungannya. Sekitar 80 persen tubuh manusia adalah air. Demikian pula dengan lingkungan hidupnya, hampir 2/3 permukaan bumi merupakan air.

Dalam bidang industri pangan, keberadaan air sangat penting karena berpengaruh terhadap karakteristik bahan baku dan dengan demikian akan berpengaruh terhadap mutu produk pangan yang dihasilkan.

Dalam industri pangan, air dibutuhkan selama penanganan bahan baku, proses penanganan dan pengolahan bahan baku menjadi produk, dan menjaga kondisi lingkungan agar tetap bersih.

17.1 Jenis Air

Keberadaan air dalam industri pangan dapat berupa air baku, air proses, dan air limbah. Ketiga jenis air ini memiliki karakteristik dan standar kelayakan tertentu. Air baku adalah air bersih yang diperoleh dari sumbernya.

Air proses adalah air yang telah mendapatkan penambahan bahan kimia tertentu sesuai peruntukannya. Sebagai contoh air pro-

ses adalah air yang telah ditambah senyawa klorin untuk menjaga sanitasi dalam industri pangan. Air proses dapat dimanfaatkan untuk menjaga sanitasi bahan baku pangan, karyawan, dan lingkungan tempat kerja.

Air limbah adalah air yang sudah tidak memenuhi syarat untuk digunakan karena mengandung limbah bahan pangan. Dalam setiap kegiatan industri pangan dihasilkan limbah. Secara sederhana limbah diartikan sebagai sisa hasil produksi suatu industri. Dhasilkannya limbah merupakan konsekuensi logis pendirian industri. Limbah juga dapat diartikan sebagai materi yang tidak diinginkan dalam kegiatan industri sehingga harus dibuang.

Umumnya air limbah memiliki mutu yang lebih rendah dibandingkan dengan jenis air lainnya yang digunakan dalam industri pangan. Air limbah dapat digambarkan sebagai tempat sampah yang besar sehingga memiliki kemampuan menampung komponen limbah selama kegiatan industri pangan berlangsung. Komponen limbah yang terkandung dalam air limbah tersebut dapat berupa benda padat, cair, atau gas.

Agar tidak menyebabkan pencemaran lingkungan, air limbah tersebut harus diproses terlebih dahulu. Bila sudah memenuhi standar yang telah ditetapkan, air limbah sudah aman untuk dibuang ke badan air di lingkungan setempat.

Mengapa air limbah harus diproses terlebih dahulu sebelum dibuang ke badan air yang ada di lingkungan? Air limbah mengandung komponen kimia, fisik dan biologis yang berasal dari bahan baku industri. Komponen ini akan mengalami serangkaian proses yang akan mengakibatkan pencemaran lingkungan berupa bau, racun, atau penyakit. Bila air ini dibuang ke lingkungan, dapat dibayangkan bahaya yang akan dialami masyarakat.

17.2. Standar Mutu

Dalam menyiapkan bahan baku untuk menghasilkan mutu produk

pangan yang baik, air yang digunakan harus sesuai dengan standar mutu. Air yang jernih belum tentu memenuhi persyaratan yang dibutuhkan dalam industri pangan. Oleh karenanya, perlu dilakukan pengujian terhadap air yang akan digunakan.

Pengujian terhadap kualitas air dapat dilakukan dengan uji fisik, kimiawi, biologis, dan organoleptik. Pemerintah telah menetapkan standar mutu yang dapat digunakan sebagai pedoman dalam menentukan kualitas air.

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan No. 416/PERMENKES/PER/X/1990 telah ditetapkan persyaratan kualitas air bersih (Tabel 17.1).

Tabel 17.1. Daftar Persyaratan Kualitas Air Bersih

No.	Parameter	Unit	Kadar maksimum diperbolehkan
	Fisik		
1.	Bau	-	Tidak berbau
2.	Jumlah Zat Padat Terlarut (TDS)	mg/l	1000
3.	Kekeruhan	NTU Scale	5
4.	Rasa	-	Tidak berasa
5.	Suhu	C	Suhu udara + 3 C
6.	Warna	TCU Scale	15
	Kimia		
	a. Kimia anorganik		
1.	Air Raksa	mg/L	0.001
2.	Aluminium	mg/L	0.2
3.	Arsen	mg/L	0.05
4.	Barium	mg/L	1.0

5.	Besi	mg/L	0.3
6.	Fluorida	mg/L	1.5
7.	Kadmium	mg/L	0.005
8.	Kesadahan (CaCO ₃)	mg/L	500
9.	Klorida	mg/L	250
10.	Kromium 6+	mg/L	0.05
11.	Mangan	mg/L	0.1
12.	Natrium	mg/L	200
13.	Nitrat, sebagai N	mg/L	10
14.	Nitrit sebagai N	mg/L	1.0
15.	Perak	mg/L	0.05
16.	pH	mg/L	6.5-8.5
17.	Selenium	mg/L	0.01
18.	Seng	mg/L	5.0
19.	Sianida	mg/L	0.1
20.	Sufat	mg/L	400
21.	Sulfid (sebagai H ₂ S)	mg/L	0.05
22.	Tembaga	mg/L	1.0
23.	Timbal	mg/L	0.05
b. Kimia Organik			
1.	Aldrin & dieldrin	mg/L	0.0007
2.	Benzene	mg/L	0.01
3.	Benzo (a) pyrene	mg/L	0.00001
4.	Chlordane (total isomer)	mg/L	0.0003
5.	Kloroform	mg/L	0.03
6.	2-4-D	mg/L	0.10
7.	DDT	mg/L	0.03
8.	Detergent	mg/L	0.05
9.	1.2-Dichloroethane	mg/L	0.01
10.	1.1-Dichloroethane	mg/L	0.0003
11.	Heptachlor & heptachlor epoxide	mg/L	0.003
12.	Hexachlorobenzene	mg/L	0.00001
13.	Gamma-HCH (Lindane)	mg/L	0.004
14.	Methoxychlor	mg/L	0.03
15.	Pentachlorophenol	mg/L	0.01
16.	Total pesticide	mg/L	0.10
17.	2.5.6-trichlorophenol	mg/L	0.01
18.	Zat Organik (KMnO ₄)	mg/L	1.0
Mikrobiologi			
1.	Koliform Tinja	Total/100 ml	0
2.	Total Koliform	Total/100 ml	0
Radioaktivitas			
1.	Aktivitas Alpha (Gross Alpha activity)	Bq/l	0.1

2.	Aktivitas Beta (Gross Beta activity)	Bq/l	1.0
----	--------------------------------------	------	-----

Catatan :

Mg = milligram

ml = millimeter

L = liter

Logam berat adalah logam terlarut.

NTU = Nephelometric Turbidity Units

TCU = True Clor Units

Bq = Bequerel

17.3. Penanganan Air Limbah

Aktivitas dalam industri bahan pangan menghasilkan limbah padat dan cair. Untuk mengurangi cemaran maka air limbah tersebut harus ditangani terlebih dulu sebelum dilepas ke lingkungan.

Limbah padat adalah limbah hasil industri bahan pangan yang berukuran besar sehingga masih bisa dikenali wujudnya. Contoh limbah padat adalah tonkol jagung, kulit nangka, usus sapi, insang ikan. Adapun yang dimaksud dengan limbah cair adalah limbah hasil industri pangan yang berbentuk cair termasuk padatan yang ada di dalamnya. Umumnya partikel padatan yang terkandung di dalam limbah cair berukuran kecil dibandingkan limbah padat. Contoh limbah cair adalah air yang mengandung darah, isi usus, air cucian buah, kulit sapi, ikan.

Dalam pengolahan limbah perlu diperhatikan beberapa aspek penanganan limbah, yaitu materi pencemaran, mikroba, faktor lingkungan, serta sistem yang digunakan dalam penanganan limbah. Pengolahan limbah cair dapat dilakukan secara fisik, kimia, dan biologis.

17.3.1 Penanganan secara Fisik

Penanganan limbah secara fisik ditujukan untuk : a) memisahkan bahan padatan organik yang terapung pada limbah cair lalu mengendapkannya dan b) memperkecil ukuran bahan padat organik yang terdapat pada limbah sehingga lebih mudah diperlakukan lebih lanjut.

Dengan demikian penanganan air limbah secara fisik adalah penyaringan (*Screening*) dan sedimentasi (*sedimentation*). Penyaringan dilakukan untuk menghilangkan partikel padatan yang tidak larut. Alat penyaringan yang digunakan adalah saringan atau terali besi yang dipasang di selokan atau saluran limbah. Hasil penyaringan dikeringkan atau ditanam ke dalam tanah.

Tahap selanjutnya adalah proses sedimentasi. Proses ini dimaksudkan untuk memisahkan bahan organik dan anorganik dengan pengaturan kecepatan alir limbah sekecil mungkin. Pengaturan kecepatan alir limbah ini menyebabkan bahan-bahan anorganik yang besar (pasir, potongan kaca, serat) tenggelam karena gaya gravitasi sedangkan bahan orga-

nik akan mengalami penanganan lebih lanjut.

17.3.2 Penanganan secara Kimiawi

Penggunaan senyawa kimia dalam penanganan limbah cair harus dilakukan secara cermat. Hindari penggunaan bahan kimia yang memiliki efek berbahaya bagi lingkungan. Penggunaan bahan kimia lebih ditujukan untuk merombak bahan kimia yang terkandung dalam limbah cair menjadi senyawa tidak yang tidak membahayakan lingkungan. Selain itu, penggunaan senyawa kimia juga dapat ditujukan untuk mengendapkan partikel atau larutan yang terkandung di dalam air limbah, sehingga mudah ditangani lebih lanjut.

17.3.3 Penanganan secara Biologis

Limbah cair industri pangan mengandung cemaran biologis. Keberadaan cemaran ini menyebabkan terjadinya suksesi mikroba, terutama bakteri. Beberapa bakteri yang terdapat dalam limbah industri pangan adalah *Phanerochaeta chrysosporium*, *Pseudomonas* spp., dan *Bacillus* spp, *Mycobacterium*, *Vibrio*.

Pada prinsipnya, penanganan limbah secara biologis adalah memanfaatkan jasa mikroba yang memiliki kemampuan untuk merombak limbah menjadi komponen yang tidak berbahaya. Proses ini lebih dikenal sebagai

bioremediasi. Pada dasarnya bioremediasi merupakan hasil biodegradasi senyawa-senyawa pencemar. Bioremediasi dapat dilakukan di tempat terjadinya pencemaran (*in situ*) atau harus diolah ditempat lain (*ex situ*).

Pada tingkat pencemaran yang rendah mikroba setempat mampu melakukan bioremediasi tanpa campur tangan manusia yang dikenal sebagai bioremediasi intrinsik, tetapi jika tingkatan pencemaran tinggi maka mikroba setempat perlu distimulasi (*biostimulasi*) atau dibantu dengan memasukkan mikroba yang telah diadaptasikan.

Penanganan limbah cair secara biologis dilakukan dalam tiga tahapan, yaitu tahap primer, sekunder, dan tersier. Prinsip penanganannya adalah mempercepat proses penguraian bahan organik baik dilakukan secara aerobik, anaerobik atau kombinasi keduanya.

17.4. Parameter Mutu Air

Pemerintah melalui menteri kesehatan telah menetapkan sejumlah parameter yang dapat digunakan untuk menentukan kualitas air. Parameter tersebut dikelompokkan menjadi parameter fisik, kimia, mikrobiologis, dan radioaktivitas (Tabel 17.1).

Parameter mutu air sangat dipengaruhi oleh sumber air yang digunakan, penggunaan air, dan

penanganan air limbah. Air untuk memenuhi kebutuhan air industri pangan sebaiknya menggunakan air baku yang berasal dari mata air. Dalam kondisi tertentu dimana air baku sulit di peroleh, kebutuhan air untuk industri dipenuhi dari air yang berasal dari PAM atau memanfaatkan sumber air yang ada disekelilingnya seperti air sungai, hujan, atau air limbah sendiri yang diresirkulasi.

Penggunaan air sungai atau air limbah yang diresirkulasi, maka perlu memberikan perlakuan untuk mengembalikan mutu air ke tingkat yang telah disyaratkan oleh pemerintah (Tabel 17.1).

Air sungai atau air limbah yang diresirkulasi harus mengalami proses fisik, kimia, dan biologis. Secara fisik, air akan disaring (*filtrasi*) untuk menghilangkan kandungan padatan tersuspensi. Ada dua saringan yang dapat digunakan, yaitu filter pasir dan filter cepat. Filter pasir hanya menggunakan pasir sebagai media filter, sedangkan filter cepat yang menggunakan anthrasit, pasir, dan media lainnya yang memungkinkan sebagai filter.

Setelah melewati proses fisik, air dapat melalui serangkaian proses kimiawi. Proses didasari pada penambahan zat kimia untuk memisahkan secara cepat bahan kimia yang tidak diharapkan dari seluruh air. Proses kimiawi meliputi proses koagulasi untuk

menggumpalkan kotoran. Koagulasi merupakan proses penambahan reagen kimia untuk menstabilkan partikel koloid dan menyatukannya menjadi partikel besar dan stabil, proses pengadukan (*flokulasi*) untuk meningkatkan kontak antar partikel yang sudah terbentuk pada proses koagulasi sehingga membentuk partikel yang lebih besar.

Gangguan logam seperti Fe, Mn, dan logam lainnya yang toksik pada konsentrasi tinggi dapat dioksidasi dengan menggunakan klorin atau oksidan lainnya sehingga membentuk senyawa baru yang sulit dipecahkan. Klorin merupakan oksidator kuat yang dapat menghilangkan beberapa komponen rasa dan bau. Proses ini juga digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikrobiologi pada keseluruhan proses. Tahap klorinasi dapat dilanjutkan dengan *deklorinasi* untuk mengurangi residu klorin, rasa, dan bau yang berasal dari klorin itu sendiri.

Selain penyaringan, padatan tersuspensi juga dapat dipisahkan dengan proses sedimentasi. Selama proses sedimentasi akan terjadi pengendapan CaCO_3 dan Mg(OH)_2 , yang akan meningkatkan derajat keasaman air karena kelebihan kapur. Oleh karena itu perlu ditambahkan karbon dioksida untuk menetralsir kelebihan OH^- . Soda kapur (Ca(OH)_2 - Na_2CO_3) dapat ditambahkan

untuk menghilangkan kation ber-valensi ganda dari dalam air.

Proses mikrobiologis merupakan tahap berikutnya yang dapat dilakukan untuk mengembalikan mutu air. Proses mikrobiologis bertujuan menghilangkan atau menginaktifkan mikroba patogen.

17.5 Monitoring Mutu Air

Pemerintah dalam masalah air limbah industri, telah mengharuskan setiap industri untuk dapat mengendalikannya. Hal ini dapat disadari oleh pihak industri, bahwa pengendalian air limbah akan meningkatkan kepercayaan pasar terhadap produknya terutama industri yang berorientasi ekspor.

Di Negara Sakura, monitoring terhadap mutu air dilakukan dengan memelihara ikan *carp* dalam kolam penampungan limbah cair sebelum airnya di alirkan ke badan air di lingkungan sekitarnya. Ikan *carp* (mas dan koi) merupakan ikan yang rentan terhadap perubahan kualitas air. Dengan demikian, bila ikan *carp* tersebut mati berarti ada senyawa berbahaya yang masuk ke kolam sehingga perlu dilakukan peninjauan secara laboratorium terhadap kualitas air agar tidak membahayakan lingkungan.

Monitoring atau pemantauan kualitas air limbah mempunyai dua kepentingan bagi industri. Per-

tama dengan mengetahui kualitas air limbah dari kadar komponen air limbah tersebut, maka tingkat efisiensi suatu proses pengolahan air limbahnya dapat dievaluasi. Kedua dengan melakukan pemantauan kualitas air limbah dapat memberikan indikasi efek atau pengaruhnya terhadap lingkungan dan masyarakat sekelilingnya.

Pemantauan kualitas air limbah secara rutin cukup mahal dan setiap industri sebaiknya mampu menangani sendiri limbahnya agar biaya operasionalnya lebih murah. Peralatan laboratorium, baik instrument modern maupun metoda konvensional, harus dapat dimanfaatkan dalam rangka pelaksanaan pemantauan ini.

Beberapa hal yang perlu dikuasai untuk melakukan monitoring mutu air yaitu :

17.5.1 Teknik sampling

Petugas yang akan melakukan monitoring mutu air harus memiliki kemampuan untuk melakukan pengambilan contoh (*sampling*) air secara tepat dan benar sesuai dengan kondisi dan keadaan pada saat dilakukan sampling. Sampel air yang diambil harus dapat mewakili keadaan mutu air sebenarnya dari limbah cair tersebut yang sedang dimonitor.

Sebelum melakukan pengambilan sampel, terlebih dahulu harus

ditentukan secara tepat lokasi pengambilan sampel. Lokasi pengambilan sampel harus dapat mewakili karakter limbah secara keseluruhan.

Pengambilan sampel air limbah dapat dilakukan sebagai berikut :
 1) Sampel diambil sedemikian rupa sehingga dapat mewakili karakter air limbah; 2) Sampel diambil 7 kali, dua sampel diambil secara individual dan lima sampel secara komposit. Sampel individual mengukur kondisi berbagai kondisi dalam waktu yang sama. Sedangkan sampel komposit dijelaskan lebih rinci oleh Green dan Kramer, 1979. Intinya, sampel komposit diambil dari beberapa sampel berdasarkan tempat, kedalaman, atau waktu yang berbeda dan dianggap sebagai satu sampel; 3) Frekuensi pengambilan sampel disesuaikan dengan kecepatan aliran dan parameter limbah; 4) Sampel sebaiknya langsung dianalisis. Bila tidak memungkinkan, sampel disimpan dalam wadah penyimpanan sampel dan diberi perlakuan khusus. Perlakuan khusus tersebut dapat berupa ruangan dingin, pengaturan pH, dan/atau perlakuan kimia.

Peralatan yang digunakan untuk mengambil sampel air (*water sampler*), jangan mengandung bahan kimia yang akan dianalisis. Pemakaian peralatan demikian akan memberikan hasil analisis lebih tinggi dari konsentrasi sebe-

narnya. Sebagai contoh, untuk mengambil sampel air guna pengukuran logam berat, jangan menggunakan bahan Polyvinyl Chlorida (PVC) karena mengandung logam Zn, Fe, Sb, dan Cu.

17.5.2 Kemampuan Analisis

Hasil analisis sangat ditentukan oleh kemampuan analisis dari laboratorium. Kemampuan analisis sebuah laboratorium laboratorium sangat ditunjang oleh peralatan dan bahan analisis dan sumberdaya manusia yang dimiliki oleh laboratorium tersebut. Analisis harus mampu memanfaatkan peralatan dan fasilitas yang ada secara maksimal sehingga dapat dihasilkan data yang akurat dan dipercaya.

17.6 Analisis Mutu Air

Untuk dapat menentukan mutu air, diperlukan analisis yang memiliki kemampuan, keterampilan dan ketelitian yang tinggi dalam melaksanakan analisis air limbah. Termasuk di dalamnya kemampuan untuk menentukan metoda analisis yang paling sesuai. Akhir dari semua itu adalah tersedianya sumberdaya manusia yang memiliki kemampuan melakukan evaluasi mutu air limbah berdasarkan data hasil analisis laboratorium.

Banyak sekali parameter mutu air yang harus difahami untuk dapat melakukan monitoring mutu air. Dengan keterbatasan ruang lingkup bahasan, maka dalam buku

ini akan diulas hanya beberapa parameter mutu air utama yang berkaitan dengan masalah pangan. Sangat disarankan untuk membaca buku yang mengulas lebih rinci mengenai analisis mutu air.

Temperatur air limbah biasanya diukur di lokasi air limbah karena perbedaan waktu antara limbah dihasilkan dengan perlakuan pengukuran menyebabkan temperatur yang diukur tidak akurat. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan *thermocouple*. Informasi mengenai temperatur air limbah sangat penting karena perubahan temperature secara ekstrim akan berpengaruh terhadap reaksi-reaksi kimia dan menjadi kendala pada penerapan perlakuan biologis

Kelarutan oksigen dalam air dapat diukur dengan menggunakan alat *water checker*. Alat ini memiliki sensor yang dapat mendeteksi kandungan oksigen terlarut dalam air. Nilai yang ditampilkan oleh *water checker* menunjukkan banyaknya oksigen yang terkandung di dalam air.

Turbiditas adalah nilai kekeruhan air karena adanya polutan. Untuk mengukur tingkat kekeruhan air dapat digunakan alat turbidimeter.

Untuk mengetahui jenis polutan yang menyebabkan kekeruhan, ambil sampel air limbah dengan

menggunakan gelas yang bening. Aduk perlahan. Biarkan selama beberapa menit. Bila terlihat ada endapan, berarti suspensi. Sebaliknya, bila tidak terbentuk endapan, berarti kekeruhan disebabkan karena larutan atau mikroba.

Pengukuran pH air limbah harus dilakukan secepat mungkin karena pH yang tinggi (basa) atau rendah (asam) sangat berbahaya bagi kehidupan biota air apabila limbah dibuang ke perairan umum. Air limbah dibuang apabila pHnya telah berkisar 6-9. Nilai pH yang ekstrim akan berpengaruh terhadap penerapan perlakuan biologis, reaksi-reaksi kimia, pertukaran ion, dan menyebabkan proses pengkaratan pada peralatan. Derajat keasaman dianalisis dengan menggunakan pH meter. Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi dengan larutan Buffer yang memiliki pH 4 dan pH 7.

Prosedur pengukuran nilai pH adalah sebagai berikut :

1. Parameter Derajat Keasaman (pH)
 - a) Ambil sampel air yang akan diukur pHnya dan masukan ke gelas beaker.
 - b) Kalibrasi pH meter dengan larutan buffer pH 4 dan pH 7.
 - c) Celupkan pH meter ke dalam sampel air. Angka yang tertera pada pH meter merupakan nilai pH sampel air.

Prosedur analisis kandungan amonia dalam air adalah sebagai berikut :

1. Masukkan 25 ml sampel air yang akan dianalisis kandungan amonianya
2. tambahkan 1 ml larutan sieg-nette dan 0.5 ml larutan Nesster. Biarkan selama 10 menit
3. masukan tabung reaksi ke spektrofotometer
4. kadar ammonia dapat dihitung dengan persamaan :

Kadar Amonia

$$= \frac{1000}{25} \times \frac{A}{S} \times 5 \mu\text{g} \times 10^{-3}$$

Dimana

A = absor. contoh

S = absorban standar

Penentuan kadar logam berat dengan spektrofotometrik serapan atom atau Atomic Absorbance Spectrofotometer (AAS) di didasarkan pada Hukum Lambert-Beer, yaitu banyaknya sinar yang diserap berbanding lurus dengan kadar zat.

Peralatan yang digunakan.

1. Penangas air (*water bath*) untuk memanaskan sam-pel
2. Timbangan analitik
3. Pipet dan balon penyedot untuk mengambil zat ki-mia
4. Spatula untuk mengambil zat kimia pereaksi

5. Gelas beker untuk mem-buat larutan pereaksi
6. Spektrofotometer untuk menganalisis kandungan logam berat

Prosedur Analisis

1. Masukkan 100 ml sampel air ke dalam botol BOD
2. Tambahkan 5 ml H_2SO_4 pekat
3. Tambahkan 15 ml MnO_4 . Kocok hingga merata dan biarkan selama 15 menit
4. Tambahkan 8 ml larutan $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, panaskan dalam water bath pada suhu 95°C selama 2 jam
5. Dinginkan pada suhu kamar
6. Tambahkan tetes demi tetes larutan hidroksilamin sampai warna ungu hilang
7. Pindahkan larutan sampel ke dalam tabung reduksi merkuri
8. Hidupkan aerasi dengan kecepatan 2 liter per menit
9. Tambahkan 5 ml larutan SnCl_2 , segera ukur dengan AAS
10. Kadar logam berat dapat dihitung dengan persamaan :

Kadar logam berat (ppm)

$$= \frac{(S_p - B_l) \times f_p}{\text{g sampel}}$$

dimana :
 S_p = Nilai absorban sampel
 B_I = Nilai absorban larutan standar
 f_P = Faktor pengenceran

17.7 Kebutuhan Air Bermutu

Permintaan akan air bermutu disesuaikan dengan jenis aktivitas yang dilakukannya. Industri pangan membutuhkan air dengan mutu terbaik, sedangkan mutu air untuk kebutuhan non pangan biasanya lebih rendah. Mutu air untuk kebutuhan pangan telah ditetapkan oleh pemerintah melalui menteri kesehatan.

Boiler dan chill water merupakan dua alat yang dibutuhkan dalam industri pangan, tetapi tidak berkaitan langsung dengan kebutuhan air untuk industri pangan. Mutu air yang dibutuhkan untuk kedua alat ini relatif lebih berbeda dari mutu air untuk industri pangan.

17.7.1 Bioler dan Chill water

Boiler adalah pipa tertutup dimana air atau cairan dipanaskan. Panas atau uap air yang keluar dari boiler dimanfaatkan untuk berbagai pemanasan dan pengolahan bahan pangan.



Gambar 17.1 Boiler

Sumber : Wikipedia, the free encyclopedia

Chill water adalah alat untuk mendinginkan air (Gambar 17.2). Keberadaan air dingin sangat dibutuhkan dalam industri pangan. Alat ini relatif mahal sehingga hanya industri besar yang memilikinya.



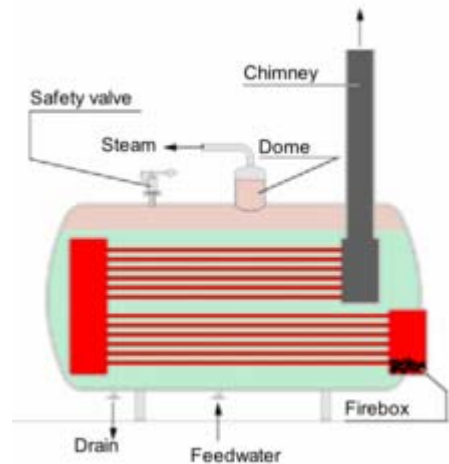
Gambar 17.2. Chill water

Sumber : Wikipedia, the free encyclopedia

17.7.2 Kegunaan Boiler dan Chill Water

Boiler banyak kegunaannya, yaitu sebagai penghasil panas, air panas, dan uap maupun generator. Pinsip dasarnya adalah merubah energi minyak atau kayu bakar menjadi energi panas air yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan (Gambar 17.3.).

Kegiatan industri pangan membutuhkan keberadaan air dingin untuk mempertahankan suhu bahan pangan agar tetap rendah, sehingga kesegarannya dapat dipertahankan. Air dingin yang bersih juga diperlukan untuk mencuci bahan pangan sehingga terhindar dari pencemaran (Gambar 17.4). Air bersih dapat memperbaiki kualitas bahan pangan, baik yang berasal dari hasil pertanian, peternakan dan perikanan dan mencegah terjadinya infeksi penyakit. Baik sebagai air irigasi, minum, atau *water treatment*.



Gambar 17.3 Mekanisme kerja Boiler

Sumber : Wikipedia, the free encyclopedia

17.7.3 Kebutuhan Air Boiler

Air merupakan bagian utama dari pengoperasian boiler. Pemahaman mengenai air yang akan digunakan dalam boiler merupakan hal penting dan perlu dikuasai. Air yang dimiliki harus oleh industri harus dianalisis sehingga diperoleh gambaran yang jelas mengenai kualitas air yang dimiliki.



Gambar 17.4. Bahan pangan yang dicuci dengan air dingin dan bersih akan tetap segar dan menyehatkan

Sumber : Chill Water.htm

Agar dapat berfungsi baik, boiler membutuhkan air dengan mutu baik. Bila tidak diberi air dengan mutu yang baik, umur pakai boiler menjadi lebih singkat dari seharusnya. Sumber air bagi boiler dapat bersumber dari sungai, kolam, sumur artesis dan lain-lain. Berbagai perlakuan awal dibutuhkan untuk menaikkan parameter air sehingga cocok untuk digunakan pada boiler.

Parameter kualitas air utama yang dibutuhkan untuk boiler adalah total padatan terlarut, alkalinitas, dan kekerasan. Nilai parameter tersebut tergantung dengan tekanan uap yang akan dihasilkan.

Besarnya nilai Total Padatan Terlarut (TDS) air yang dibutuhkan oleh boiler berkisar antara 150-

350 mg/L, tergantung dari tekanan uap yang dihasilkan (Tabel 17.1). Nilai padatan tersuspensi menggambarkan jumlah bahan yang tidak larut dalam air, termasuk kotoran, lempung, tumbuhan, dan bahan organik yang tidak larut.

Bahan yang tidak larut akan menyebabkan kerusakan pada boiler, terutama katup dan penyaring. Bahan tersebut juga dapat mempengaruhi produk yang dihasilkan.

Table 17.2 Hubungan antara tekanan uap boiler dengan maksimum total padatan terlarut

Tekanan Uap Boiler (Psi)	Maksimum Total Padatan Terlarut (mg/L)
... - 300	3500
301-450	3000
451-600	2500
601-750	2000
751-900	1500
901-1000	1250
1001-1500	1000
1501-2000	750
2001-3000	150

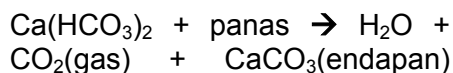
Nilai maksimum alkalinitas yang terkandung dalam air untuk mengisi boiler berkisar antara 100-700 ppm (Tabel 17.2). Alkalinitas adalah ukuran kemampuan air untuk menetralsir asam kuat. Di perairan alam, kemampuan ini dicirikan dengan adanya bikarbonat, karbonat, dan hidroksida,

sama seperti silikat, borat, amonia, fosfat, dan basa organik. Basa-basa ini, terutama bikarbonat dan karbonat, akan membentuk karbondioksida di dalam uap yang akan menjadi penyebab utama proses pengkaratan

Table 17.3. Hubungan antara tekanan uap boiler dengan maksimum alkalinitas

Tekanan Uap Boiler (Psi)	Maksimum Alkalinitas (mg/L)
... - 300	3500
301-450	3000
451-600	2500
601-750	2000
751-900	1500
901-1000	1250
1001-1500	1000
1501-2000	750
2001-3000	150

Nilai maksimum kekerasan air yang dibutuhkan untuk boiler adalah < 20 ppm (Tabel 17.3). Kekerasan air menggambarkan kandungan kalsium dan magnesium yang ekuivalen dengan kalsium karbonat. Kekerasan air adalah penyebab utama pembentukan endapan dalam peralatan boiler (Gambar 17.5.). Peranan dari kekerasan air dalam proses pembentukan endapan dapat dilihat dari persamaan berikut :



Gambar 17.5. Endapan (putih) yang terbentuk pada saluran air dalam boiler yang menggunakan air dengan nilai kekerasan >20 mg/L

Sumber : Wikipedia, the free encyclopedia

Table 17.4. Hubungan antara tekanan uap boiler dengan maksimum kekerasan air

Tekanan Uap Boiler (Psi)	Maksimum Kekerasan Air (mg/L)
... - 300	<20
301-450	0
451-600	0
601-750	0
751-900	0
901-1000	0
1001-1500	0
1501-2000	0
2001-3000	0

Pada air limbah, nilai alkalinitas berkaitan dengan kemampuan buffer. Limbah dengan nilai alkalinitas rendah memiliki kemampuan rendah untuk mempertahankan

hankan pH sehingga mempengaruhi kemampuan proses dekomposisi.

Selain parameter di atas, parameter air limbah lainnya antara lain : 1) Nilai BOD diukur berdasarkan jumlah oksigen uptake dalam sampel karena aktivitas biologis. Ultimat BOD adalah oksigen yang dikonsumsi selama proses perombakan limbah; 2) Nilai *Chemical oxygen demand* (COD) adalah nilai oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi bagian yang dapat dirombak dan tidak dapat dirombak di dalam limbah; 3) Kandungan nutrisi, terutama nitrogen dan fosfor perlu diukur karena dapat : a) menentukan tingkat kesuburan perairan; b) menentukan besarnya pemupukan lahan; dan c) menentukan kandungan protein dari limbah yang dapat digunakan sebagai sumber pangan. Alasan yang ketiga sangat erat dengan bidang pangan; dan 4) Proses dekomposisi secara biologis akan berlangsung dengan baik apabila karbon dan nitrogen berada dalam komposisi yang baik. Bila perbandingan karbon dan nitrogen antara 20 : 1 atau 30 : 1, maka proses perombakan bahan organik akan berlangsung lebih cepat dan tidak menghasilkan bau yang berbahaya.

Latihan I

Seandainya Saudara diminta untuk menganalisis kualitas air. Indikator alami apa yang dapat Saudara gunakan untuk menilai bahwa air yang selama ini digunakan sudah sesuai untuk :

- 1) kegiatan proses produksi pangan;
- 2)kebutuhan boiler; dan
- 3) apakah air limbah yang akan dilepaskan ke badan air sudah tidak membahayakan.

Jawaban Saudara ditulis dalam bentuk tabel yang memuat jenis air yang tersedia, indikator alami yang digunakan, alasan mengapa indikator tersebut dipilih.

Latihan II

Kunjungilah eksportir ikan konsumsi. Perhatikan bagaimana mereka melakukan pengolahan limbahnya. Lalu jawablah pertanyaan berikut ini :

1. Jelaskan prinsip pengolahan limbah cair yang diterapkan pada industri tersebut.
2. Menurut Saudara, apakah proses pengolahan limbah tersebut sudah baik? Jelaskan argumennya.
3. Saran perbaikan apakah yang dapat Saudara berikan.

BAB XVIII

MANAJEMEN KEAMANAN PANGAN

Akhir-akhir ini di Indonesia banyak terjadi kasus keracunan atau penyakit yang diakibatkan mengkonsumsi pangan yang tercemar oleh mikroba patogen (60-80 %) atau pangan kedaluwarsa. Cemaran mikroba dapat terjadi pada semua produk pertanian, baik produk peternakan, tanaman pangan, hortikultura maupun perikanan.

Peristiwa keracunan yang sering diberitakan media massa mempunyai pengaruh cukup besar terhadap kesadaran dan perhatian masyarakat Indonesia terhadap keamanan pangan. Berita mengenai kasus antraks, keracunan susu, avian influenza (flu burung), cemaran mikroba patogen pada produk ternak, dan cemaran aflatoksin pada jagung dan kacang tanah telah meresahkan masyarakat. Badan kesehatan dunia (WHO) memperkirakan bahwa rasio antara kejadian keracunan pangan yang terjadi dengan kejadian sesungguhnya adalah 1 : 10 untuk negara maju dan 1 : 25 untuk negara berkembang.

Pangan merupakan kebutuhan paling dasar bagi manusia. Oleh karenanya, ketersediaan pangan yang memadai secara kualitas maupun kuantitasnya, terus diupayakan oleh pemerintah agar

masyarakat dapat memperoleh bahan pangan yang aman, sehat, utuh dan halal (ASUH) untuk dikonsumsi. Bahan pangan yang berasal dari kegiatan pertanian, perikanan, dan peternakan harus selalu terjamin keamanannya agar masyarakat terhindar dari bahaya mengkonsumsi pangan yang tidak aman. Oleh karena itu, proses produksi pertanian harus menerapkan sistem keamanan pangan mulai dari tahap budi daya hingga pangan siap santap (*from farm to table*).

Mendapatkan pangan yang aman adalah hak asasi manusia. Pangan yang aman adalah pangan yang tidak mengandung bahaya biologi atau mikrobiologi, bahaya kimia, dan bahaya fisik. Namun hingga kini belum semua orang Indonesia dapat memperoleh pangan yang aman. Masih tingginya angka kematian dan penderitaan masyarakat akibat mengkonsumsi pangan merupakan indikator masih belum meratanya kesempatan memperoleh pangan yang aman.

Berkembangnya industri pangan dan membaiknya tingkat kehidupan masyarakat telah meningkatkan tuntutan konsumen akan pangan yang ASUH dan bermutu. Masyarakat yang tinggal di negara-negara maju telah menuntut

adanya jaminan mutu sejak awal proses produksi hingga produk di tangan konsumen (*from farm to table*).

Seiring dengan meningkatnya pengetahuan dan kesadaran akan kesehatan terhadap pangan yang dikonsumsi, mengonsumsi pangan yang aman merupakan hal yang harus diperhatikan oleh produsen dan konsumen. Berdasarkan UU Pangan No. 7 tahun 1996, keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia.

Adapun yang dimaksud dengan jaminan keamanan pangan adalah jaminan bahwa pangan tidak akan menimbulkan masalah bila dikonsumsi dengan semestinya. Keamanan pangan berkaitan erat dengan bahan berbahaya yang terkandung dalam pangan.

Bahan berbahaya tersebut dapat masuk melalui setiap titik di sepanjang rantai pangan, sehingga diperlukan pengawasan yang memadai di sepanjang rantai pangan tersebut. Penyediaan pangan dimulai dari lokasi dimana pangan tersebut dibudidayakan atau diperoleh, selama transportasi ke lokasi industri pengolahan, penanganan dan pengolahan pangan, distribusi, pemasaran dan berak-

hir di konsumen, perlu dilaksanakan secara benar agar dapat mencegah terjadinya penurunan kualitas bahan pangan sehingga menjadi tidak aman untuk dikonsumsi. Kesalahan yang terjadi sepanjang rantai penyediaan pangan selain dapat menurunkan kualitas dan nilai nutrisi pangan serta keuntungan, juga dapat menimbulkan berbagai penyakit pada manusia bahkan kematian.

Meningkatnya pengetahuan dan kesadaran konsumen akan pentingnya kesehatan, maka dengan sendirinya jaminan keamanan pangan telah menjadi tuntutan utama dalam perdagangan, nasional dan internasional. Tanpa jaminan keamanan, pangan atau bahan pangan akan sukar diperdagangkan, bahkan besar kemungkinan akan ditolak oleh konsumen.

Diperlukan standar internasional yang dapat menjamin perdagangan pangan yang adil, seperti standar pangan dari *Codex*. Keamanan pangan merupakan tanggungjawab semua pihak yang terlibat dalam rantai pangan. Pemerintah memiliki otoritas dalam penyusunan serta penerapan undang-undang dan peraturan. Dalam upaya penerapan jaminan keamanan pangan dan untuk memenuhi persyaratan dalam perdagangan nasional maupun internasional, pemerintah Indonesia telah menetapkan.

18.1. Pangan yang Aman

Untuk menghadapi tantangan pasar global, Indonesia harus mampu menghasilkan produk pangan yang aman, sehat, utuh, dan halal (ASUH). Keamanan pangan (*food safety*) merupakan tuntutan utama konsumen. Permintaan pangan cenderung meningkat dari waktu ke waktu, sejalan dengan pertumbuhan penduduk, perkembangan ekonomi, perubahan pola hidup, peningkatan kesadaran akan gizi, dan perbaikan pendidikan masyarakat.

Pangan yang aman adalah pangan yang tidak mengandung bahaya kimia, dan bahaya fisik dan biologis atau mikrobiologis.

Salah satu persyaratan kualitas pangan adalah bebas dari mikroba patogen seperti *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Campylobacter* sp. (Tabel 18.1).

Tabel 18.1 Batas maksimum cemaran mikroba pada produk pangan

Jenis Mikroba	Batas Maksimum (CFU/g)
<i>Escherichia coli</i>	0 - 10 ³
<i>Staphylococcus aerius</i>	0 - 5 x10 ³
<i>Clostridium perfringens</i>	0 - 10 ²
<i>Vibrio cholerae</i>	Negatif
<i>V. parahaemolyticus</i>	Negatif
<i>Salmonella</i>	negatif
<i>Enterococci</i>	10 ² - 10 ³
Kapang	50 - 10 ⁴
Khamir	50
<i>Coliform faecal</i>	0 - 10 ²

Sumber : Badan Pengawasan Obat dan Makanan (2004)

18.1.1 Bahaya Biologis

Bahan pangan mengandung gizi tinggi sehingga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan dan perkembangan berbagai mikroba. Selain ada yang meng-

ganggu menguntungkan, keberadaan mikroba merugikan kerap terjadi sehingga sering menimbulkan gangguan pada manusia. Mikroba patogen dapat ditemukan di mana saja, di tanah, air, udara,

tanaman, bina-tang, bahan pangan, peralatan untuk pengolahan bahkan tubuh manusia. Mikroba patogen dapat terbawa sejak bahan pangan masih hidup di ladang, kolam, atau kandang ternak. Keberadaannya makin meningkat setelah bahan pangan mengalamai kematian. Pangan membawa berbagai jenis mikroba, yang dapat berasal dari mikroflora alami, baik yang berasal dari lingkungan maupun yang masuk selama pemanenan atau pe-nyembelihan, distribusi, penanganan dan pengolahan pasca-panen, serta penyimpanan produk.

Selain mikroba, sumber cemaran lain juga mungkin ditemukan dalam bahan pangan baik cemaran hayati (biologis), kimia, atau fisik yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia yang mengonsumsinya.

Bahaya biologis atau mikrobiologis terdiri dari parasit (protozoa dan cacing), virus, dan bakteri patogen yang dapat tumbuh dan berkembang di dalam bahan pangan, sehingga dapat menyebabkan infeksi dan keracunan pada manusia. Beberapa bakteri patogen juga dapat menghasilkan toksin (racun), sehingga jika toksin tersebut terkonsumsi oleh manusia dapat menyebabkan intoksikasi. Intoksikasi adalah kondisi dimana toksin sudah terbentuk di dalam pangan atau bahan pangan, sehingga merupakan ke-

adaan yang lebih berbahaya. Sekalipun pangan atau bahan pangan sudah dipanaskan sebelum disantap, toksin yang sudah terbentuk masih tetap aktif dan bisa menyebabkan keracunan meski bakteri tersebut sudah tak ada dalam pangan.

Adanya virus dan protozoa dalam pangan atau bahan pangan masih belum banyak yang diteliti dan diidentifikasi. Namun informasi tentang virus hepatitis A dan protozoa *Entamoeba histolytica* telah diketahui dapat mencemari air. Cacing diketahui terdapat pada hasil-hasil peternakan, misalnya *Fasciola hepatica* yang ditemukan pada daging atau hati sapi. Adanya cemaran cacing tersebut akan mengakibatkan infeksi pada manusia jika mengkonsumsi daging atau hati sapi yang tidak dimasak dengan baik.

Penyebab bahaya biologis adalah bakteri, virus, parasit, ragi dan jamur. Bahaya biologis dapat disebabkan pencemaran terhadap air yang digunakan dalam penanganan bahan pangan, penggunaan peralatan dan wadah yang tidak higienis, cara penanganan yang tidak aseptis, pekerja yang terinfeksi karena kurangnya fasilitas toilet dan pencuci tangan, kurangnya praktek kebersihan, dan penyakit yang diderita, penggunaan kemasan yang tidak steril atau tercemar oleh kotoran dari binatang pengerat, burung, dan serangga. Dapat juga disebabkan

kan oleh kondisi lingkungan yang tidak higienis karena terkontaminasi oleh sistem sirkulasi pendingin.

18.1.1.1 Cemaran Mikroba pada Produk Ternak

Pangan asal ternak berisiko tinggi terhadap cemaran mikroba pembusuk atau patogen yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Dengan karakteristik yang khas, produk ternak merupakan media yang disukai mikroba sebagai tempat tumbuh dan berkembang.

Setelah dipotong, mikroba mulai merusak jaringan sehingga bahan pangan hewani cepat mengalami kerusakan bila tidak mendapat penanganan yang baik. Mikroba pada produk ternak terutama berasal dari saluran pencernaan.

Beberapa jenis penyakit yang ditimbulkan oleh pangan asal ternak adalah penyakit antraks, salmonellosis, brucellosis, tuberkulosis, klostridiosis, dan penyakit akibat cemaran *Staphylococcus aureus*.

Bakteri patogen dari daging yang tercemar dapat mencemari bahan pangan lain seperti sayuran dan buah-buahan, dan pangan siap santap bila bahan pangan tersebut diletakkan berdekatan dengan daging yang tercemar.

18.1.1.2 Cemaran Mikroba pada Unggas

Seperti daging hewani lainnya, daging unggas cocok sebagai media perkembangan mikroba, karena unggas cenderung berada di lingkungan yang kotor. Selain hidup dalam kondisi kotor, cemaran daging unggas di Indonesia juga dapat disebabkan oleh rendahnya tingkat pengetahuan peternak, kebersihan kandang, serta sanitasi air dan pakan. Sanitasi kandang yang kurang baik dapat menyebabkan timbulnya cemaran mikroba patogen yang tidak diinginkan.

Karkas ayam mentah paling sering dikaitkan dengan cemaran *Salmonella* dan *Campylobacter* yang dapat menginfeksi manusia. *Campylobacter jejuni* merupakan salah satu bakteri patogen yang mencemari ayam maupun karkasnya. Cemaran bakteri ini pada ayam tidak menyebabkan penyakit, tetapi mengakibatkan penyakit yang dikenal dengan nama campylobacteriosis pada manusia. Penyakit tersebut ditandai dengan diare yang hebat disertai demam, kurang nafsu makan, muntah, dan leukositosis.

Beberapa kasus penyakit yang diakibatkan oleh cemaran mikroba patogen (*foodborne diseases*) pada daging unggas maupun produk olahannya antara lain kasus penularan penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella enteritidis* melalui daging ayam, telur, dan

produk olahannya. Di Indonesia, cemaran *Salmonella* pada ayam di daerah Sleman Yogyakarta mencapai 11,40% pada daging dan 1,40% pada telur.

Kasus lain disebabkan oleh mikroba *Campylobacter*. Cemaran *Campylobacter jejuni*, salah satu spesies *Campylobacter*, di Indonesia cukup tinggi. Sekitar 20–100% daging ayam yang dipasarkan tercemar bakteri *C. jejuni*. Sekitar 70% kasus campylobacteriosis pada manusia disebabkan oleh cemaran *C. jejuni* pada karkas ayam.

Bakteri patogen yang juga sering mencemari daging ayam dan produk olahannya adalah *Salmonella*. Hal ini perlu mendapat perhatian karena *S. aureus* mampu memproduksi enterotoksin yang tahan terhadap panas. Bergdoll (1990) menyatakan, *S. aureus* 10^5 CFU/g merupakan pedoman terhadap kerawanan adanya toksin tersebut. Namun berdasarkan hasil penelitian, enterotoksin belum dapat terdeteksi pada total *S. aureus* $>10^6$ CFU/g.

Karkas ayam yang digunakan untuk membuat bakso ayam sudah tercemar *S. aureus* $1,40 \times 10^5$ CFU/g dengan total bakteri $1,90 \times 10^7$ CFU/g. Berdasarkan SNI 01-3818-1995, cemaran *S. aureus* dalam produk bakso maksimal 1×10^2 CFU/g, total bakteri maksimal 1×10^5 CFU/g, dan negatif terhadap *Salmonella*.

Karkas ayam mentah yang digunakan sebagai bahan sate telah tercemar *S. aureus* sebanyak $1,60 \times 10^6$ CFU/g. Pada kasus keracunan pangan, biasanya jumlah *S. aureus* sudah mencapai 10^8 CFU/g atau lebih. Karkas ayam yang digunakan sebagai bahan dasar pembuatan ayam panggang bumbu sate memiliki total bakteri $6,50 \times 10^7$ CFU/g dan total *S. aureus* $7,30 \times 10^5$ CFU/g.

Populasi awal dari mikroba patogen sangat menentukan keamanan pangan yang dihasilkan. Populasi awal yang tinggi berpotensi besar menimbulkan masalah keamanan pangan, tergantung lamanya waktu antara penyiapan dengan konsumsi. Batas maksimum cemaran mikroba dalam karkas ayam mentah berdasarkan SK Dirjen POM No. 03726/8/SK/VII/85 adalah 10^6 CFU/g dan harus negatif dari *Salmonella* sp.

Perkembangan industri jasa boga di Indonesia perlu mendapatkan perhatian, terutama dalam kaitannya dengan penyediaan pangan yang berasal dari unggas. Produk olahan unggas seperti sate ayam, ayam panggang maupun ayam opor yang diproduksi oleh industri jasa boga berisiko tercemar mikroba.

Pembuatan sate ayam memerlukan waktu penyiapan cukup panjang sehingga menyebabkan produk ini rentan terhadap cemaran mikroba.

Produk pangan lainnya dari industri jasa boga yang biasa disajikan dalam acara perkawinan atau pertemuan adalah ayam panggang bumbu sate.

Pemanasan dapat menurunkan total *S. aureus* menjadi $4,30 \times 10^3$ CFU/g dan total bakteri menjadi $6,40 \times 10^5$ CFU/g. Walaupun total mikroba selama pengolahan menurun, angka tersebut masih tinggi. Proses pemasakan atau pemanasan dapat menurunkan cemaran mikroba menjadi 10^3 CFU/g dan negatif terhadap *Salmonella* sp.

Dalam pembuatan sate ayam ada beberapa tahap yang perlu diperhatikan sebagai titik kendali kritis, yaitu tahap penyiapan (pemotongan dan penusukan), pembekuan, pemanggangan, serta pengangkutan dan penyajian.

Pada akhir tahap perebusan, total bakteri pada karkas ayam menurun menjadi $1,70 \times 10^6$ CFU/g dan total *S. aureus* $< 10^3$ CFU/g (Harmayani *et al.* 1996). Setelah pembakaran, total *S. aureus* berkurang lagi menjadi 5×10^2 CFU/g. Namun populasi *S. aureus* meningkat menjadi $1,50 \times 10^4$ CFU/g selama proses pengangkutan dan menunggu waktu disajikan (pada suhu kamar selama 7,50 jam).

Penyajian merupakan tahap penting yang perlu mendapat perhatian. Sebaiknya bahan pangan

asal hewani disajikan dalam keadaan panas sehingga dapat menekan populasi mikroba.

18.1.1.3 Cemaran Mikroba pada Telur

Telur merupakan produk unggas yang selalu dihubungkan dengan cemaran *Salmonella* yang berasal dari kotoran ayam dalam kloaka atau dalam kandang. Secara alami, cangkang telur merupakan pencegah yang baik terhadap cemaran mikroba. Cemaran bakteri dapat terjadi pada kondisi suhu dan kelembapan yang tinggi.

Cemaran pada telur bebek lebih banyak dibanding pada telur ayam. Apabila penanganan telur tidak dilakukan dengan baik, misalnya kotoran unggas masih menempel pada cangkang telur, maka kemungkinan *Salmonella* dapat mencemari telur, terutama saat telur dipecah. Cemaran mikroba tersebut dapat dikurangi dengan cara mencuci dan mengemas telur sebelum dipasarkan.

18.1.1.4 Cemaran Mikroba pada Daging Sapi

Daging sapi mudah rusak karena merupakan media yang cocok bagi pertumbuhan mikroba. Hal ini cukup beralasan karena tingginya kandungan air dan gizi seperti lemak dan protein.

Kerusakan daging dapat disebabkan oleh perubahan dalam da-

ging itu sendiri (faktor internal) maupun karena faktor lingkungan (eksternal).

Daging yang tercemar mikroba melebihi ambang batas akan menjadi berlendir, berjamur, daya simpannya menurun, berbau busuk dan rasa tidak enak serta menyebabkan gangguan kesehatan bila dikonsumsi. Beberapa mikroba patogen yang biasa mencemari daging adalah *E.coli*, *Salmonella*, dan *Staphylococcus* sp.

Mikroba yang terkandung pada daging sapi dapat berasal dari peternakan dan rumah potong hewan yang tidak higienis. Oleh karena itu, sanitasi atau kebersihan lingkungan kandang ternak maupun rumah potong hewan perlu mendapat perhatian. Proses pengolahan daging yang cukup lama juga memungkinkan terjadinya cemaran mikroba pada produk olahannya.

Produk olahan daging seperti kornet dan sosis harus memenuhi syarat mutu yang sudah ditetapkan. Berdasarkan SNI 01-3820-1995, cemaran *Salmonella* pada sosis daging harus negatif, *Clostridium perfringens* negatif, dan *S. aureus* maksimal 10^2 koloni/g.

18.1.1.5 Cemaran Mikroba pada Susu

Susu merupakan bahan pangan yang berasal dari sekresi kelenjar ambing pada hewan mamalia

seperti sapi, kambing, kerbau, dan kuda. Susu mengandung protein, lemak, laktosa, mineral, vitamin, dan sejumlah enzim. Susu yang berasal dari sapi sehat dapat tercemar mikroba non patogen yang khas segera setelah diperah. Pencemaran dapat berasal dari sapi, peralatan pemerahan, ruang penyimpanan yang kurang bersih, debu, udara, lalat dan penanganan oleh manusia.

Untuk dapat dikonsumsi, susu harus memenuhi persyaratan keamanan pangan karena susu mudah terkontaminasi mikroba (bakteri, kapang, dan khamir), baik patogen maupun non patogen dari lingkungan (peralatan pemerahan, operator, dan ternak), residu pestisida, logam berat dan aflatoxin dari pakan serta residu antibiotik saat pengobatan penyakit pada ternak. Kandungan mikroba yang tinggi menyebabkan susu cepat rusak sehingga Industri Pengolahan Susu (IPS) kadang-kadang tidak dapat menerima atau membeli susu dari peternak. Akibatnya, sebagian besar IPS menggunakan bahan dasar susu impor.

Pertumbuhan mikroba dalam susu dapat menurunkan mutu dan keamanan pangan susu, yang ditandai oleh perubahan rasa, aroma, warna, konsistensi, dan penampakan. Oleh karena itu, susu segar perlu mendapat penanganan dengan benar, antara lain

pemanasan dengan suhu dan waktu tertentu (pas-teurisasi) untuk membunuh mikroba yang ada. Apabila tidak tersedia pendingin, setelah diperah susu dapat diberi senyawa thiosianat dan hidrogen peroksida untuk memaksimalkan kerja laktoperoksidase (enzim dalam susu yang bersifat bakteristatik). Namun, penggunaan senyawa tersebut masih dikaji terutama efektivitas dan residunya.

Mikroba patogen yang umum mencemari susu adalah *E. coli*. Standar Nasional Indonesia 01-6366 tahun 2000 mensyaratkan bakteri *E. coli* tidak terdapat dalam susu dan produk olahannya. SNI ini mensyaratkan ambang batas cemaran mikroba yang diperbolehkan dalam susu adalah 3×10^4 CFU/g. Syarat mutu produk olahan susu seperti keju dan susu bubuk ditetapkan dalam SNI 01-2980-1992 dan SNI 01-3775-1995.

Bakteri *E. coli* dalam air susu maupun produk olahannya dapat menyebabkan diare pada manusia bila dikonsumsi. Beberapa bakteri patogen yang umum mencemari susu adalah *Brucella* sp., *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* sp., *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella* sp.

Bahan baku susu pasteurisasi di beberapa produsen susu mengandung total mikroba 10^4 – 10^6

CFU/g susu, namun proses pasteurisasi dapat menurunkan kandungan mikroba hingga 0 – 10^3 CFU/g susu. Berdasarkan SNI 01-6366-2000, susu pasteurisasi yang dihasilkan oleh produsen susu aman dikonsumsi. Proses pengolahan susu memungkinkan terjadinya cemaran mikroba pada produk olahannya.

18.1.1.6 Cemaran Mikroba Pada Produk Tanaman Pangan

Kapang merupakan jenis mikroba yang menyerang tanaman pangan, terutama sereal dan kacang-kacangan. Serangan kapang dapat terjadi saat tanaman masih di ladang (cemaran pra-panen), maupun selama penanganan pascapanen. Kapang yang umum mencemari sereal dan kacang-kacangan adalah *Aspergillus flavus* dan *A. Parasiticus* yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia.



Gambar 18.1. Cemaran *Aspergillus* pada tongkol jagung (Sumber Rahayu, 2006)

Kedua jenis kapang ini dapat menghasilkan aflatoksin yang merupakan *secondary metabolic products* dan bersifat toksik bagi manusia. Aflatoksin merupakan molekul kecil yang tidak suka terhadap air, tahan terhadap perlakuan fisik, kimia maupun biologis dan tahan terhadap suhu tinggi. Aflatoksin yang umum dijumpai adalah aflatoksin B1, B2, G1, G2, M1, dan M2. Dari enam jenis aflatoksin tersebut, yang paling berbahaya bagi kesehatan manusia adalah aflatoksin B1. Selain aflatoksin, fumonisin juga merupakan salah satu mikotoksin yang dihasilkan oleh kapang dari spesies *Fusarium moniliforme*.

Berdasarkan keputusan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan No. HK.00.05.1.4057 tanggal 9 September 2004, batas maksimum kandungan aflatoksin B1 dan aflatoksin total pada produk olahan jagung dan kacang tanah masing-masing adalah 20 ppb dan 35 ppb. Sementara itu *Codex Alimentarius Commission* pada tahun 2003 menentukan batas maksimum kandungan aflatoksin total pada kacang tanah yang akan diproses sebesar 15 ppb. Hal ini menunjukkan bahwa penerapan keamanan pangan di Indonesia masih jauh di bawah negara maju.

Cemaran *A. flavus* pada saat budidaya dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain suhu tanah, lengas tanah, kandungan unsur

hara dalam tanah (Zn dan Ca), serta hama dan penyakit. *A. flavus* akan lebih kompetitif jika lengas tanah rendah, kelembaban udara tinggi (90–98%), dan suhu tanah 17–42°C.

Cemaran aflatoksin pada jagung bergantung pada kondisi lingkungan dan perlakuan pascapanen. Kandungan aflatoksin total pada jagung pipil lebih tinggi dibanding jagung tongkol. Dari sampel yang diuji, semua sampel tercemar oleh aflatoksin B1 serta 31% tercemar aflatoksin B2 dengan total aflatoksin berkisar antara 48,10–213,80 ppb.

Jagung yang tercemar aflatoksin, apabila digunakan sebagai pakan maka aflatoksin akan masuk ke dalam tubuh ternak (unggas dan ruminansia) dan terakumulasi pada daging maupun hati.

Cemaran aflatoksin juga dijumpai pada kacang tanah dan produk olahannya seperti bumbu pecel. Cemaran aflatoksin pada kacang tanah di tingkat petani maupun pengecer dapat mencapai lebih dari 100 ppb. Cemaran aflatoksin pada bumbu pecel dapat mencapai rata-rata 41,60 ppb dan pada enting-enting gepuk 20,80 ppb.

18.1.1.7 Cemaran Mikroba Pada Buah dan Sayur

Buah dan sayur dapat tercemar oleh bakteri patogen yang berasal dari air yang tercemar limbah, tanah, atau kotoran hewan yang digunakan sebagai pupuk.

Tingkat cemaran akan meningkat pada bagian tanaman yang ada di dalam tanah atau dekat dengan tanah. Mikroba tertentu seperti *Liver fluke* dan *Fasciola hepatica* akan berpindah dari tanah ke selada air akibat penggunaan kotoran kambing atau domba yang tercemar sebagai pupuk. Air irigasi yang tercemar *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *E. coli*, dan *Vibrio cholerae* dapat mencemari buah dan sayur. Selain itu, bakteri *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., dan *Listeria monocytogenes* dapat mencemari buah dan sayur melalui tanah.

Tingkat cemaran mikroba pada beberapa jenis sayuran cukup tinggi, yaitu $5,80 \times 10^1$ hingga $1,80 \times 10^3$ CFU/g padahal persyaratan kontaminasi *E. coli* dalam produk pangan harus negatif. Tingkat cemaran mikroba tergantung dari lamanya waktu sejak sayuran dipanen hingga dipasarkan karena memungkinkan mikroba tumbuh dan berkembang (Tabel 18.2). Penanganan dan pemasakan yang baik dan benar dapat mematikan bakteri patogen tersebut, kecuali bakteri pembentuk spora.

Tabel 18.2. Tingkat cemaran mikroba pada beberapa jenis sayuran

	Wilayah A			Wilayah B		
	Petani	Pasar Tradisional	Pasar Swalayan	Petani	Pasar Tradisional	Pasar Swalayan
Kubis	3.14×10^7	4.60×10^7	2.80×10^7	1.40×10^7	4.30×10^5	4.50×10^5
Tomat	1.70×10^4	2.50×10^7	2.00×10^4	5.40×10^4	1.40×10^5	3.30×10^4
Wortel	4.20×10^4	5.70×10^7	1.90×10^7	1.80×10^7	6.10×10^5	7.40×10^5

Sumber : Modifikasi dari Rahayu dan Djaafar, 2007

18.1.1.8 Cemaran Mikroba Pada Produk Perikanan

Seperti produk hewani lainnya, ikan merupakan sumber pangan yang mudah rusak. Dengan kandungan air dan protein tinggi, ikan merupakan tempat sangat cocok sebagai media untuk pertumbuhan mikroba baik patogen maupun nonpatogen. Kerusakan

ikan terjadi segera setelah ikan keluar dari air, namun aktivitas mikroba yang akan merusak daging ikan baru terjadi setelah ikan melewati fase rigor mortis.

Kerusakan pada ikan dapat disebabkan oleh faktor internal (isi perut) dan eksternal (lingkungan), maupun cara penanganan di atas

kapal, ditempat pendaratan atau di tempat pengolahan.

Kerusakan ikan ditandai dengan adanya lendir di permukaan ikan, insang memudar (tidak merah), mata tidak bening, berbau busuk, dan sisik mudah terkelupas. Ikan dari perairan pantai sering kali tercemar oleh bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang dapat menular pada saat transportasi maupun pemasaran. Bakteri sering mengkontaminasi produk perikanan umumnya merupakan bakteri *Vibrio vulnificus* dan *V. Cholerae*. Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan, cemaran bakteri *Vibrio* sp. dalam produk pangan harus negatif, artinya tidak boleh ada. Bakteri patogen lainnya adalah yaitu *Proteus morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Hafnia alvei*. Tiga spesies bakteri tersebut sering mencemari ikan laut dari famili *Scombroidei* yang banyak terdapat di perairan Indonesia.

Kasus keracunan histamin pada mulanya lebih dikenal sebagai keracunan *scombroid* karena melibatkan ikan dari famili *Scombroidei*, yaitu tuna, bonito, tongkol, mackerel, dan *seerfish*. Jenis ikan tersebut mengandung histidin bebas dalam jumlah besar pada dagingnya, yang pada kondisi tertentu dapat diubah menjadi histamin karena adanya aktivitas enzim histidine dekarboksilase dari bakteri yang mencemari ikan tersebut. Gejala

keracunan histamin dimulai beberapa menit sampai beberapa jam setelah ikan dikonsumsi.

Beberapa jenis ikan mengandung racun secara alami. Ikan-ikan tersebut digolongkan menjadi tiga kelompok, yaitu : (1) Ciguatera; (2) Pupper Fish; dan Paralytic Shellfish Poisoning. Keterangan mengenai kelompok ikan ini sudah dijelaskan pada bab 3

18.1.2 Bahaya Kimiawi

Bahaya kimia pada umumnya disebabkan oleh adanya residu atau bahan kimia yang dapat menimbulkan terjadinya intoksikasi. Bahan kimia penyebab keracunan diantaranya logam berat (timbal/Pb dan raksa/Hg). Cemaran-cemaran tersebut berasal dari cemaran industri, residu pestisida, hormon, dan antibiotika. Terbentuknya toksin akibat pertumbuhan dan perkembangan jamur atau kapang penghasil toksin jugaz termasuk dalam bahaya kimia. Beberapa jamur atau kapang penghasil toksin (mikotoksin) adalah *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., dan *Fusarium* sp., yang dapat menghasilkan aflatoksin, patulin, okratoksin, zearalenon, dan okratoksin.

18.1.3 Bahaya Fisik

Bahaya fisik terdiri potongan kayu, batu, logam, rambut, dan kuku yang kemungkinan berasal dari bahan baku yang tercemar, peralatan yang telah aus, atau juga dari para pekerja pengolah

pangan. Meskipun bahaya fisik tidak selalu menyebabkan terjadinya penyakit atau gangguan kesehatan, tetapi bahaya ini dapat sebagai pembawa atau *carier* bakteri-bakteri patogen dan tentunya dapat mengganggu nilai estetika pangan yang akan dikonsumsi.

18.2 Sumber Kontaminasi

18.2.1 Lokasi tempat hidup.

Titik awal rantai penyediaan pangan berasal dari ladang/ sawah, kandang, kolam atau perairan umum lainnya. Manajemen atau tata laksana pemeriharaan terna, ternak, dan ikan akan menentukan kualitas bahan pangan yang dihasilkan. Kondisi lingkungan di sekitar lokasi budidaya dapat mempengaruhi kualitas dan keamanan produk pangan yang dihasilkan. Cemaran bahan kimia atau cemaran biologi dari lingkungan lokasi budidaya akan terbawa dalam bahan pangan yang dihasilkan. Kualitas pakan / pupuk yang diberikan harus jelas jenis dan asalnya, dan disimpan dengan baik. Kelembapan yang cukup tinggi di Indonesia menyebabkan jamur mudah tumbuh dan menghasilkan mikotoksin seperti aflatoksin yang cukup berbahaya bagi kesehatan manusia.

Cemaran pestisida pada lingkungan, air, tanah, dan pada tanaman atau hijauan pakan akan mempengaruhi bahan pangan yang dihasilkan. Residu pestisi-

da, residu obat, terutama antibiotik, merupakan masalah dalam keamanan bahan pangan. Pemakaian antibiotik yang berlebihan tanpa memperhatikan anjuran pemakaian yang disarankan menyebabkan adanya residu antibiotika dalam produk yang dihasilkan. Selain residu kimia, perlu diwaspadai pula penyakit zoonosis yang dapat menular dari hewan ke manusia melalui pangan asal ternak, baik zoonosis bakteri, virus, parasit maupun zoonosis yang disebabkan oleh *prion* seperti *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE) atau yang dikenal sebagai penyakit sapi gila. Merbaknya BSE di beberapa negara beberapa tahun yang lalu menyebabkan Pemerintah Indonesia melarang impor produk ternak dan olahannya dari negara yang pernah terjangkit penyakit sapi gila. Produk olahan yang dilarang termasuk yang digunakan sebagai pakan ternak adalah tepung tulang.

Bakteri merupakan penyebab utama penyakit yang ditularkan dari ternak ke manusia melalui pangan, antara lain *Salmonella* sp., *Bacillus wjwlie yanthracis*, *Mycobacterium tuberculosis*, dan *Brucella abortus*. Bakteri tersebut menyerang ternak saat di kandang, yang kemudian dapat menular ke manusia karena pemeliharaan dan proses panen yang tidak higienis, seperti pemotongan ternak dan pemerahan susu.

Dalam kandang penggemukan, sapi harus berdiri di kandang yang alasnya becek dan hitam karena berasal dari kotoran sapi. Pada saat di bawah ke rumah potong, sekujur tubuh sapi sudah diselubungi kotoran yang mengering. Selama di RPH, sapi berdeksakan sehingga sapi tersebut akan menularkan *E. Coli* ke sapi lainnya (Winarno, 2003).

Pengolahan tidak selalu dapat menghilangkan bakteri yang mencemari produk ternak saat di peternakan atau pada saat panen. Spora bakteri antrak yang mencemari susu tidak dapat dihilangkan dengan pasteurisasi. Pencemaran dapat dicegah dengan penerapan cara beternak yang baik (*good farming practices*) dan penanganan hasil panen yang baik pula.

18.2.2. Industri Pangan

Pada dasarnya pengolahan bahan pangan bertujuan untuk mempertahankan kualitas produk pangan serta memperpanjang masa simpan, meningkatkan rasa, penampilan dan nilai jual. Pengolahan juga dimaksudkan untuk dapat mempertahankan keamanan produk karena pertumbuhan mikroba dihambat seperti halnya susu pasteurisasi. Pasteurisasi tidak membunuh mikroba yang ada, tetapi hanya menghambat pertumbuhannya, dan susu harus disimpan pada suhu di bawah 4°C.

Jaminan keamanan pangan di tingkat industri umumnya lebih baik dibanding di tingkat peternak, dan banyak industri pengolahan produk peternakan telah menerapkan *Hazard Analysis Critical Control Points* (HACCP), meskipun beberapa industri susu pasteurisasi belum menerapkannya. HACCP merupakan sistem manajemen keamanan pangan berdasarkan prinsip pencegahan dengan cara memberikan kesadaran atau pengertian kepada berbagai pihak yang terlibat bahwa bahaya dapat timbul pada setiap titik atau tahapan produksi, dan pengendalian dimaksudkan untuk mengontrol bahaya tersebut. Kunci utama HACCP adalah antisipasi bahaya dan identifikasi titik pengawasan mulai dari bahan baku hingga produk siap dipasarkan. Pengawasan mutu pangan berdasarkan prinsip pencegahan diyakini lebih unggul dibanding cara konvensional yang menekankan pada inspeksi atau pengujian produk akhir di laboratorium. Badan Standarisasi Nasional (BSN) telah melakukan adaptasi konsep HACCP menjadi SNI 01-4852-1998 beserta pedoman penerapannya (Badan Standarisasi Nasional 1998). Di Indonesia, penanganan produk pangan di tingkat pengecer masih perlu mendapat perhatian, terutama di pasar tradisional. Di pasar tersebut, bahan pangan diperdagangkan dengan diletakkan di atas meja tanpa dilengkapi

alat pendingin atau fasilitas lainnya. Hal ini berbeda dengan di pasar swalayan yang telah menggunakan fasilitas pendingin.

Jumlah mikroba yang cukup tinggi dan jenis mikroba berbahaya pada bahan pangan yang dijual di pasar tradisional cukup mengkhawatirkan, terlebih lagi bila pemotongan dilakukan di pasar tradisional. Beberapa pedagang di pasar tradisional juga dilaporkan menggunakan formalin sebagai pengawet agar ayam tetap kelihatan segar, padahal formalin digolongkan sebagai bahan berbahaya. Dalam Peraturan Menteri Kesehatan No 722/Menkes/Per/ IX/88 disebutkan bahwa formalin dilarang digunakan sebagai pengawet bahan pangan. Penggunaan formalin sebagai pengawet pangan seperti tahu, mi basah, dan bakso sempat menjadi isu nasional yang mempengaruhi kehidupan rakyat banyak.

Dalam industri besar, bila terjadi kegagalan proses produksi akan berpengaruh sangat besar karena banyak orang yang akan menjadi korban. Beberapa contoh berikut ini dapat memberikan gambaran akan hal tersebut :

- a. Keracunan es krim yang terjadi di AS tahun 1994 yang disebabkan tercemarnya 'pre-mix' es krim oleh beberapa tetes cairan telur mentah yang busuk yang mengandung *Salmonella enteritidis* menye-

babkan 224 000 orang menjadi korban

- b. Keracunan hot dog dan daging potong di AS pada tahun 1998 yang tercemar *Listeria* telah menyebabkan kematian 15 orang dan 6 kandungan yang keguguran. Peristiwa ini menyebabkan industri hot dog dan daging potong terpaksa menarik kembali (*recall*) produknya sebanyak 7.5 juta kg.
- c. Infeksi biji almond oleh mikroba *Salmonella* telah meracuni 160 warga di Kanada

18.2.3 Bahan pangan

Bahan pangan yang semula aman dikonsumsi bisa menjadi berbahaya untuk dikonsumsi. Beberapa peristiwa keracunan memperlihatkan bahwa perlu sikap hati-hati dan cermat dalam menyiapkan pangan.

Masih banyak masyarakat yang kurang memerhatikan kebersihan tempat masak karena kesadaran dan pemahaman akan keamanan pangan masih rendah. Walaupun bahan pangan yang digunakan cukup baik dan sehat, perilaku yang salah dalam mempersiapkan pangan akan mempengaruhi keamanan pangan.

Kasus tersebut sebenarnya dapat dicegah bila beberapa hal yang sederhana tetapi mendasar diperhatikan pada saat mempersiapkan pangan untuk disantap.

Pada tahun 1990, WHO mengeluarkan anjuran atau aturan cara mempersiapkan pangan yang aman, yang intinya adalah menghindari pangan dari kontaminasi mikroba patogen dan mencegah mikroba berkembang biak.

18.2.4 Distribusi

Distribusi dan transportasi merupakan salah satu mata rantai dalam penanganan pangan. Transportasi dapat berlangsung dari lokasi budidaya atau penangkapan ke lokasi industri, pasar, pedagang pengecer, atau konsumen akhir. Selama proses transportasi besar kemungkinan terjadi rekontaminasi, terutama bahan pangan yang mudah mengalami penurunan mutu.

Rekontaminasi yang mungkin terjadi adalah rekontaminasi oleh mikroba, baik patogen dan pembusuk, terutama apabila transportasi tidak dilengkapi fasilitas pendingin. Tanpa fasilitas pendinginan, mikroba akan tumbuh dan berkembang pesat sehingga jumlah populasinya akan mencapai tingkat yang berbahaya bagi kesehatan manusia.

18.2.5 Penyimpanan

Selama penyimpanan, bahan pangan juga dapat mengalami proses penurunan mutu. Kondisi lingkungan wadah penyimpanan dapat memacu pertumbuhan mikroba.

Penyemprotan pestisida yang sering dilakukan oleh beberapa pengolah untuk mencegah pertumbuhan bakteri pembusuk memberikan hasil nyata, namun disisi lain meningkatkan potensi bahaya berupa terakumulasi senyawa kimia yang berasal dari pestisida.

18.2.6 Pemasaran

Pemasaran juga dapat menjadi sumber kontaminasi. Bahan pangan dan produk olahannya yang dipasarkan secara terbuka akan mengalami rekontaminasi selama dipasarkan (Gambar 18.2). Teknik penyajian yang mencampurkan antara bahan pangan segar dengan kurang segar memungkinkan terjadinya kontak antara bahan pangan dengan sumber pencemar.

18.3. Penyakit akibat cemaran patogen

Istilah *Foodborne disease* sudah sering didengar. Istilah ini merupakan penyakit yang diakibatkan karena mengkonsumsi pangan yang tercemar mikroba patogen. Lebih dari 90% kejadian penyakit pada manusia disebabkan mengkonsumsi pangan yang tercemar mikroba patogen, seperti penyakit tipus, disentri, botulisme, dan intoksikasi bakteri lainnya seperti hepatitis A (Winarno 1997).

Pertumbuhan mikroba terjadi dalam waktu singkat. Bila kondisi lingkungan mendukung, bakteri mampu membelah diri menjadi dua individu baru setiap 20 menit.

Kondisi lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan mikroba antara lain tersedianya nutrisi, pH, suhu, dan kadar air bahan pangan.

Mikroba pembusuk akan mengubah pangan segar menjadi busuk bahkan dapat menghasilkan toksin (racun). Kadang-kadang bahan pangan tidak menunjukkan

tanda-tanda perubahan atau kerusakan fisik (bau busuk kurang nyata) sehingga bahan pangan tetap dikonsumsi. Kondisi seperti ini yang dapat menyebabkan terjadinya keracunan pangan, terutama bagi masyarakat yang tidak mampu membedakan bahan pangan yang aman untuk dikonsumsi dan sudah tidak aman dikonsumsi.



Gambar 18.2. Teknik pemasaran ikan secara terbuka memungkinkan terjadinya rekontaminasi

Kebiasaan buruk masyarakat adalah membuang bagian yang busuk dari bahan pangan dan mengkonsumsi bagian lainnya. Beberapa pasar swalayan berani menjual bagian yang tidak busuk tersebut. Tindakan ini cukup berbahaya, karena tidak ada yang

dapat menjamin apakah bagian tersebut tidak terkontaminasi oleh mikroba pembusuk atau produk metabolitnya.

Saluran pencernaan manusia merupakan sistem yang terbuka. Apabila mikroba patogen yang

terdapat pada pangan ikut termakan maka pada kondisi yang sesuai mikroba patogen akan berkembang biak di dalam saluran pencernaan sehingga menyebabkan gejala penyakit atau sering disebut infeksi. Racun atau toksin yang dihasilkan oleh mikroba patogen yang ikut termakan menyebabkan gejala penyakit yang disebut keracunan atau intoksikasi. Gejala akut yang disebabkan oleh mikroba patogen ini adalah diare, muntah, dan pusing-pusing bahkan pada kondisi yang parah dapat menyebabkan kematian.

Aflatoksin merupakan mikotoksin yang dihasilkan oleh *A. flavus* atau *A. parasiticus* dan bersifat hepatokarsinogen. Mikotoksin ini banyak dijumpai pada produk sereal dan produk ikan kering yang masih basah. Apabila termakan dan terakumulasi dalam jumlah yang berlebihan, aflatoksin dapat menyebabkan kerusakan hati pada manusia. Sama halnya dengan aflatoksin, histamin yang merupakan racun dari produk perikanan akibat cemaran mikroba patogen. Bakteri patogen tersebut merombak histidin yang terdapat pada daging ikan menjadi histamin yang dapat menyebabkan keracunan. Gejala keracunan histamin dimulai beberapa menit sampai beberapa jam setelah pangan dikonsumsi, antara lain berupa sakit kepala, kejangkejang, diare, muntah-muntah, kulit bergaris merah,

pembengkakan pada bibir, dan kerongkongan terasa terbakar. Gejala ini umumnya berlangsung kurang dari 12 jam dan dapat diobati dengan terapi antihistamin.

Upaya yang dapat dilakukan untuk mencegah keracunan histamin adalah dengan membuang daging yang berwarna merah, terutama pada ikan tongkol dan tenggiri. Dalam keadaan segar, daging berwarna merah ini sangat disukai. Namun bila ikan sudah tidak segar, bagian daging ini dapat berubah menjadi beracun.

Patogen bawaan dari bahan pangan seperti *Clostridium botulinum* mampu bertahan pada suhu tinggi. Patogen ini banyak dijumpai pada pangan yang diproses dengan teknik pengalengan. *C. botulinum* ini sangat berkaitan dengan penyakit ekstraintestinal akut, yang dapat menyebabkan sindrom neuroparalisis dan sering kali berakibat fatal. Penyakit ekstraintestinal juga dapat disebabkan oleh cemaran *Listeria monocytogenes* yang menyebabkan penyakit ringan seperti flu hingga penyakit berat seperti meningitis. Kedua patogen ini banyak dijumpai pada produk hewani.

Dalam jumlah sedikit *E. coli* tidak menimbulkan bahaya, namun dalam jumlah besar baru menimbulkan masalah. Patogen ini dikenal sebagai penghasil verotoksin yang umumnya dapat mengaki-

batkan diare berdarah pada manusia. Selain itu, patogen ini dapat menyebabkan uremia hemolitik, yang ditandai dengan trombositopenia, anemia hemolitik, dan gagal ginjal akut terutama pada anak-anak.

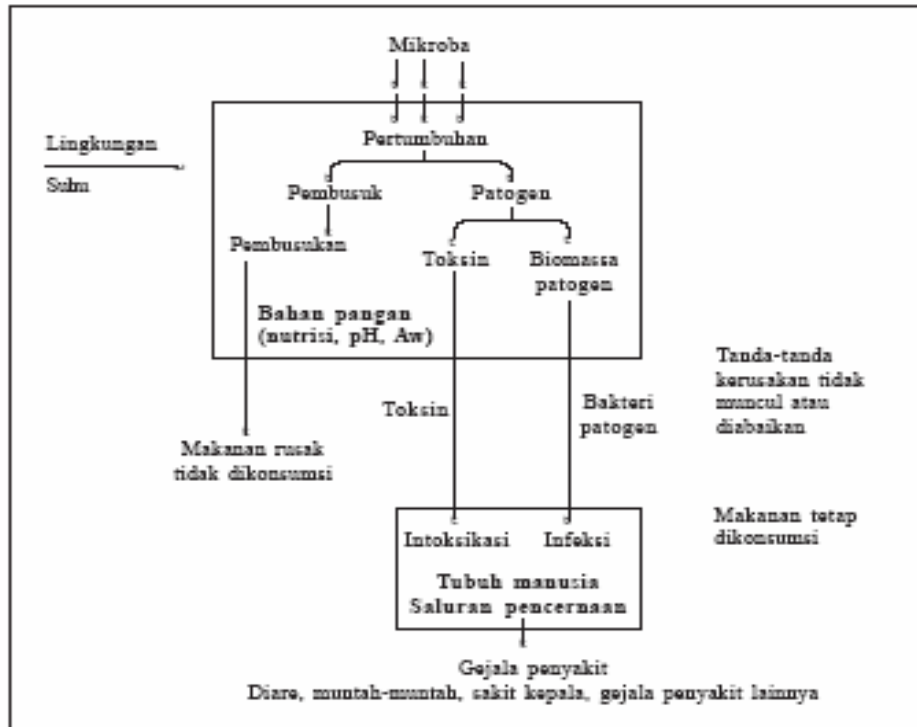
Salmonellosis merupakan penyakit yang diakibatkan oleh cemaran *Salmonella* dan dapat menyebabkan rematik, meningitis, abses limpa, pankreatitis, septikemia, dan osteomielitis. *Salmonella* banyak dijumpai pada bahan pangan yang sudah membusuk.

Kasus 'jack in the box' yang menghebohkan telah terjadi di AS pada tahun 1992. Peristiwa

tersebut terjadi karena *E. Coli* mencemari keju yang digunakan untuk membuat chesseburger. Akibat pencemaran tersebut, 73 000 penduduk mengalami sakit karena keracunan dan beberapa diantaranya meninggal, terutama anak-anak.

18.4. Pencegahan Cemaran Patogen

Untuk mengatasi kerugian yang diakibatkan oleh pencemaran mikroba, sebaiknya dilakukan upaya pencegahan. Upaya untuk mencegah cemaran mikroba pada bahan pangan dapat dilakukan dengan memahami terlebih dahulu mengenai interaksi antara bahan pangan dengan aktivitas manusia (Gambar 18.3).



Gambar 18.3. Mikroba pada bahan pangan dan dampaknya pada kesehatan manusia

Sumber : Rahayu 2006

Jaringan bahan pangan melibatkan berbagai pihak yang saling berinteraksi, yaitu produsen/pengolah, distributor, pengecer/food service dan konsumen. Dalam jaringan bahan pangan tersebut, setiap individu mempunyai peran yang penting dalam menjaga keamanan pangan.

Produsen (terdiri dari petani, peternak, nelayan) merupakan sumber bahan pangan. Pengolah dengan teknologi yang dimiliki akan mengawetkan bahan pangan

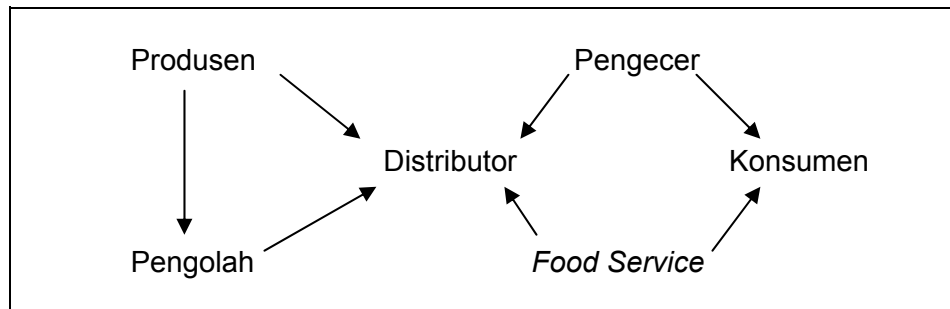
agar masa simpannya lebih lama atau mengolah bahan pangan menjadi produk pangan yang siap dikonsumsi. Dalam menghasilkan bahan pangan, produsen dan pengolah diharapkan dapat menerapkan cara-cara berproduksi yang baik (*good manufacture practices*) sehingga produk yang dihasilkan aman dan sehat dikonsumsi.

Distributor memiliki peran dalam memindahkan bahan pangan dari satu tempat ke tempat lain.

Distributor juga memiliki peran sebagai penyimpanan bahan pangan untuk digunakan diwaktu lain.

peranan pengecer (pedagang) atau *food service* (rumah makan, pengusaha jasa boga, restoran, warung makan dan sebagainya).

Selanjutnya bahan pangan akan sampai ke konsumen melalui



Gambar 18.4. Jaringan Bahan Pangan

Sumber : digambar ulang dari Djaafar dan Rahayu, 2007

Dalam jaringan bahan pangan, pemerintah berperan sebagai penentu kebijakan yang berkaitan dengan keamanan pangan serta mengawasi pelanggaran atau penyalahgunaan peraturan yang sudah ditetapkan. Berdasarkan peran tersebut, Pemerintah telah mengeluarkan Undang-Undang No. 7 tahun 1996 yang menyatakan pangan yang beredar haruslah tidak membahayakan konsumen. Undang-undang tersebut diikuti dengan Peraturan Pemerintah nomor 28 tahun 2004 tentang keamanan, mutu, dan gizi pangan. Pangan yang aman, bermutu, dan bergizi sangat pen-

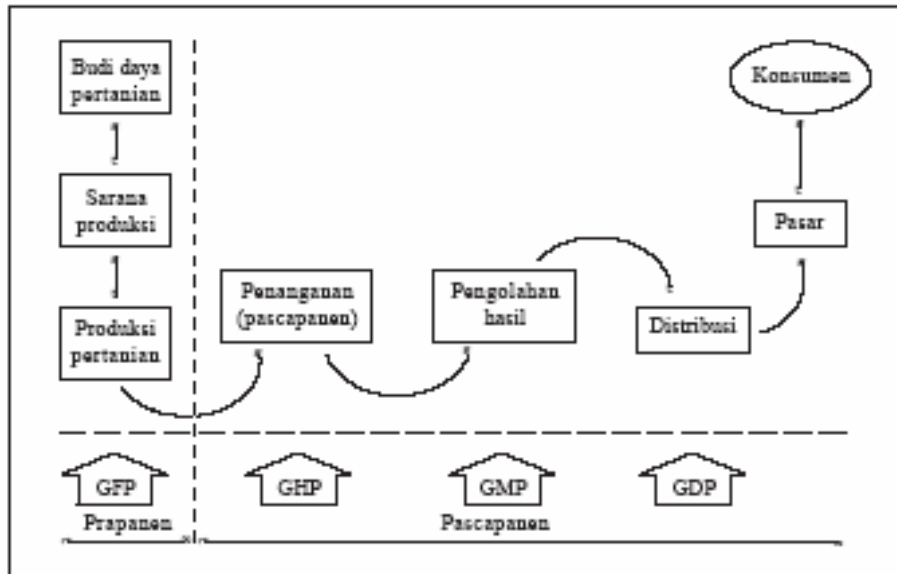
ting peranannya bagi pertumbuhan, kesehatan, dan peningkatan kecerdasan masyarakat.

Keamanan bahan pangan harus diperhatikan mulai dari tahap budidaya hingga pangan tersebut siap disantap. Penerapan sistem keamanan pangan pada setiap tahap produksi harus dilakukan dengan baik agar pangan yang dikonsumsi benar-benar aman (Gambar 18.5).

Pada tahap kegiatan budidaya atau penangkap ikan perlu diterapkan *Good Farming Practices* (GFP) atau *Good Catching*

Practices (GCP). Selanjutnya pada tahap pascapanen dilakukan *Good Handling Practices (GHP)*. Begitu pula pada tahap pengolahan, penerapan *Good Manufacture Practices (GMP)* sangat

diperlukan, dan pada tahap distribusi harus diterapkan *Good Distribution Practices (GDP)* agar produk pertanian maupun pangan sampai ke konsumen dalam keadaan aman.



Gambar 18.5. Skema penerapan sistem keamanan pangan pada setiap tahapan produksi

Sumber : Djaafar dan Rahayu, 2007

Tahapan-tahapan tersebut telah dilaksanakan oleh industri pengolahan pangan berskala besar. Akan tetapi, untuk industri kecil dan skala rumah tangga, tahapan-tahapan tersebut belum dilaksanakan. Apabila sistem atau peraturan tentang sanitasi dan hygiene bahan pangan telah diterapkan dengan baik maka peraturan tersebut dapat digunakan sebagai dasar dalam melakukan

praktek budidaya maupun pengoolah lahan pangan untuk meningkatkan keamanan pangan.

Pencegahan cemaran juga dapat dilakukan memperhatikan beberapa hal yang dianggap perlu dalam mempersiapkan pangan yang aman untuk disantap (Murdiati, 2006), yaitu:

1. Memasak bahan pangan secara merata dengan suhu minimum 70°C. Bahan pangan yang disimpan beku sebaiknya dicairkan terlebih dahulu agar proses pemasakan berlangsung secara sempurna.
 2. Segera mungkin untuk mengkonsumsi pangan setelah dimasak. Apabila pangan terpaksa dipersiapkan sebelumnya (4–5 jam lebih awal), pangan disimpan panas pada suhu 60°C atau disimpan dingin pada suhu sekitar 10°C.
 3. Jangan menyimpan pangan yang masih panas dalam jumlah banyak dalam pendingin karena bagian tengah pangan tidak dapat menjadi dingin sehingga mikroba tetap dapat berkembang biak.
 4. Memanaskan kembali pangan olahan atau pangan yang disimpan karena proses penyimpanan hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri, tidak mematikan bakteri.
 5. Menghindarkan kontak antara pangan mentah dengan pangan yang sudah diolah dan peralatan yang digunakan. Misalnya pisau untuk memotong daging mentah tidak digunakan untuk memotong daging yang sudah diolah secara bersamaan.
 6. Biasakan untuk mencuci tangan sebelum mengolah pangan dan setiap ganti tahapan, terutama setelah mempersiapkan daging atau ayam mentah, dan hendak mempersiapkan pangan yang lain. Juga apabila proses pengolahan harus terhenti karena pekerjaan lain.
 7. Menghindarkan pangan dari serangga, tikus atau hewan lain yang kemungkinan membawa mikroba patogen. Pangan sebaiknya disimpan dalam wadah tertutup.
 8. Usahakan tidak mencampur dan mengolah sisa pangan dengan pangan yang baru, terutama bahan pangan asal ternak, karena dapat menjadi sumber mikroba yang dapat menyebabkan penyakit.
 9. Membeli bahan pangan yang segar. Bahan pangan asal ternak yang dijual tanpa fasilitas pendingin mudah tercemar oleh mikroba pembusuk. Apabila tidak memungkinkan membeli produk segar, sebaiknya membeli produk yang sudah diolah.
 10. Menggunakan air yang bersih untuk mengolah pangan. Air untuk mengolah pangan sama pentingnya dengan air untuk minum. Bila menggunakan air yang tercemar akan menyebabkan pangan yang diolah juga menjadi tercemar.
- Walau sepuluh anjuran tersebut ditujukan untuk mempersiapkan semua jenis pangan, apabila diperhatikan terutama sangat penting dalam mempersiapkan pro-

duk pangan dari bahan pangan asal ternak. Agar anjuran dalam kesepuluh *golden rules* tersebut mudah dipahami oleh konsumen dan dalam upaya meningkatkan kesadaran masyarakat, WHO membuatnya lebih ringkas menjadi *five keys to safe food* (lima kunci untuk keamanan pangan). WHO juga menuangkannya dalam bentuk poster agar mudah dimengerti oleh masyarakat konsumen terutama yang mempersiapkan pangan di dapur. Lima kunci keamanan pangan tersebut memuat pokok aturan yang intinya ada dalam *golden rules*. Poster tersebut telah diterjemahkan dalam 25 bahasa termasuk bahasa Indonesia. Kelima kunci tersebut adalah: 1) menjaga kebersihan, 2) menjaga jarak misahkan pangan mentah dan pangan yang sudah matang, 3) memasak pangan dengan benar, 4) menjaga pangan pada suhu aman, dan 5) menggunakan air dan bahan baku yang aman.

18.5 Manajemen Keamanan Pangan

Untuk meningkatkan daya saing dalam perdagangan global, diperlukan penguasaan standar yang dapat diterima oleh semua negara yang terlibat didalamnya. Standar keamanan pangan yang sudah dapat diterima oleh hampir semua negara di dunia telah dikeluarkan oleh *Codex Alimentarius Commission* (CAC), yaitu

komisi yang didirikan oleh Organisasi Pangan dan Pertanian Dunia atau *Food Agriculture Organization* (FAO) dan Badan Kesehatan Dunia atau *World Health Organization* (WHO). Penyusunan standar dalam CAC melibatkan beberapa komite yang anggotanya adalah anggota FAO dan WHO (*Food Agriculture Organization/ World Health Organization* 2000). *Codex Committee* melakukan sidang secara berkala untuk menetapkan standar, *atunode of practice*, dan pedoman (*guidelines*) dalam bidang pangan.

Sebagai negara penghasil bahan pangan, Indonesia juga telah mempunyai standar nasional yang berkaitan dengan keamanan pangan, yaitu Standar Nasional Indonesia (SNI). Standar ini diantaranya memuat bagaimana memproduksi bahan pangan yang benar, bagaimana mengukur cemaran, dan menyajikan batas maksimum cemaran yang diperkenankan. Standar ini diharapkan dapat memberikan jaminan keamanan produk pangan Indonesia.

Sejumlah kebijakan dan peraturan, baik berupa undang-undang, peraturan pemerintah, surat keputusan menteri serta perangkat lainnya. Peraturan Pemerintah No 22 tahun 1982 tentang kesehatan masyarakat veteriner merupakan salah satu perangkat dalam pelaksanaan Undang-Undang No 6 tahun 1967 tentang

Ketentuan-Ketentuan Pokok Peternakan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner. Keamanan pangan juga merupakan bagian penting dalam Undang-Undang Pangan No 7 tahun 1996. Di samping itu juga telah ada Undang-Undang No 8 tahun 1999 tentang perlindungan konsumen yang dapat menjadi landasan hukum bagi pemberdayaan dan perlindungan konsumen dalam memperoleh haknya atas pangan yang aman.

Keamanan pangan juga meliputi bahan pangan hasil rekayasa genetik atau *genetic modified organism* (GMO). Sebagian masyarakat merasa khawatir bahwa gen yang dimodifikasi akan menyebabkan alergi, keracunan atau penurunan nilai gizi.

Hal lain yang harus diperhatikan dalam menentukan keamanan pangan adalah kehalalan. Ini penting terutama bagi bahan pangan yang berasal dari ternak. Untuk mendapatkan jaminan keamanan pangan, banyak hal yang perlu diperhatikan karena banyak pihak yang terlibat. Pembahasan unsur-unsur yang terlibat dalam menciptakan jaminan keamanan pangan diharapkan dapat memberikan gambaran kontribusi pihak yang terkait dalam memperoleh jaminan keamanan pangan.

Sebagai negara berkembang, Indonesia mengalami kesulitan un-

tuk menerapkan standar nasional yang ditetapkan oleh *Codex*. Tentu saja ini menyulitkan Indonesia dalam organisasi perdagangan dunia (WTO) yang memiliki standar berdasarkan *Codex*.

Indonesia memiliki SNI yang mengacu ke standar yang ditetapkan *Codex*. Berdasarkan kesepakatan Sanitary and Phytosanitary (SPS), setiap negara diperkenankan menentukan standarnya masing-masing. Standar *Codex* boleh tidak digunakan apabila hal tersebut tidak memenuhi kepentingan perlindungan kesehatan nasional yang diinginkan. Dengan kata lain, penyesuaian standar tersebut dilakukan berdasarkan kondisi setempat namun tetap harus memiliki dasar ilmiah yang kuat dan proses dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan.

Sebagai standar yang ditetapkan sendiri, SNI sudah diinformasikan (*notification*) ke negara lain, khususnya yang memiliki hubungan kerjasama perdagangan.

Untuk mengontrol penerapan manajemen keamanan pangan, International and Standardisation Organization (ISO) telah mengesahkan standar manajemen keamanan pangan beserta petunjuknya, yaitu :

- a. ISO 22000 Food Safety Management System;

- b. ISO/TS 22004-2005 Guidance on the application of ISO 22000-2005.

Untuk mempertahankan hubungan kerjasama dengan sesama anggota Codex, setiap Negara memiliki Codex country point atau National Food Codex. Indonesia memiliki Codex Pangan Indonesia yang beranggotakan perwakilan instansi pemerintah, lembaga penelitian, industri, asosiasi produsen dan konsumen, serta pakar dibidang terkait. Codex Pangan Indonesia dibentuk berdasarkan kesepakatan instansi pemerintah yang memiliki kewenangan dalam bidang keamanan pangan dan perdagangan pangan. Adapun tugas pokoknya adalah mengidentifikasi, membahas, dan menetapkan kebijakan serta posisi Indonesia di forum CAC.

18.5.1 Penerapan Jaminan Keamanan

Penerapan peraturan yang berkaitan dengan keamanan pangan secara benar terbukti mampu meningkatkan keamanan pangan serta dapat mengurangi cemaran fisik, kimiawi, atau biologis dalam bahan pangan.

Kerjasama antara Badan Pengujian Obat dan Makanan (BPOM) bekerjasama dengan instansi terkait membentuk Sistem Keamanan Pangan Terpadu (SKPT) atau Integrated Food Safety System

(IFSS) dengan konsepnya *from farm to table*.

SKPT memiliki tiga jejaring, yaitu a) jejaring intelijen pangan. Yang menghimpun informasi kegiatan pengkajian resiko keamanan pangan dari lembaga terkait lainnya, misalnya inspeksi dan riset keamanan pangan; b) jejaring pengawasan pangan, merupakan jejaring kerjasama antar lembaga dalam pengawasan pangan, misalnya dalam standarisasi dan legalisasi pangan; dan c) jejaring promosi keamanan pangan yang mempunyai kegiatan antara lain promosi keamanan pangan, pendidikan, pelatihan, serta penyuluhan keamanan pangan kepada industri, konsumen, dan semua pihak yang terkait dengan keamanan pangan.

Departemen yang terkait dalam pembentukan SKPT adalah Departemen Kesehatan, Pertanian, Perindustrian, Perdagangan, Kelautan dan Perikanan, Pendidikan Nasional, pemerintah daerah, perguruan tinggi, lembaga penelitian, laboratorium swasta dan pemerintah, asosiasi industri dan perdagangan, badan Standarisasi Nasional, dan Lembaga Swadaya Masyarakat.

18.5.2 Analisis Resiko dalam Keamanan Pangan

Sebelum membicarakan mengenai analisis resiko dalam keamanan pangan, ada baiknya dipaha-

mi terlebih dahulu mengenai resiko dalam keamanan pangan. Menurut Murdiati (2006), resiko dalam keamanan pangan dapat diartikan sebagai suatu kemungkinan terjadinya gangguan kesehatan dalam pangan.

Analisis resiko telah dijadikan dasar dalam penentuan keamanan pangan. Penentuan ini didasarkan pada pertimbangan bahaya yang ada, pengaruh bahaya dalam jangka pendek atau panjang bagi kesehatan masyarakat, pengendalian untuk mengurangi resiko yang timbul, dan cara tepat untuk menyampaikan informasi kepada pihak terkait.

Risiko keamanan pangan dipengaruhi oleh pengendalian yang dilakukan di sepanjang rantai penanganan atau pengolahan, mulai dari lokasi budidaya atau penangkapan, transportasi, Industri, hingga ke konsumen. Pihak pemerintah yang memiliki kewenangan untuk menerbitkan peraturan dan perundangan juga akan berpengaruh terhadap risiko yang mungkin terjadi.

Analisis risiko merupakan suatu proses yang terus menerus dikaji dan diulang. Analisis risiko dikelompokkan menjadi tiga, yaitu : 1) penilaian risiko (*risk assessment*); 2) manajemen risiko (*risk management*); dan 3) komunikasi risiko (*Risk communication*). Codex telah menyatakan bahwa standar, pedoman, dan rekomen-

dasi yang dikeluarkan didasarkan pada analisis risiko.

18.5.2.1 Penilaian Risiko

Adapun yang dimaksud dengan penilaian risiko adalah evaluasi yang dilakukan secara ilmiah terhadap gangguan kesehatan pada manusia sebagai akibat mengkonsumsi bahan berbahaya dalam pangan. Untuk melakukan penilaian secara baik, diperlukan data dan informasi yang dapat menjelaskan hubungan antara bahaya dan risiko terhadap kesehatan manusia.

Penilaian risiko dapat dibagi menjadi empat langkah, yaitu :

- a) Identifikasi bahaya yang mungkin ada dalam pangan dan risiko yang mungkin ditimbulkan
- b) Karakterisasi bahaya, yaitu evaluasi secara kualitatif dan kuantitatif terhadap kemungkinan risiko yang mungkin timbul oleh bahaya yang telah diidentifikasi
- c) Evaluasi paparan bahaya, yaitu evaluasi secara kualitatif dan kuantitatif kemungkinan terpaparnya manusia oleh bahaya tersebut karena konsumsi, dan kemungkinan adanya bahaya dalam pangan yang dikonsumsi
- d) Karakterisasi risiko, adalah identifikasi risiko kesehatan manusia yang ditimbulkan dari bahaya, perkiraan besarnya risiko atau tingkat kepa-

rahan risiko yang mungkin terjadi.

18.5.2.2 Manajemen Risiko

Adapun yang dimaksudkan dengan manajemen risiko adalah proses yang dilakukan dengan memperhatikan hasil penilaian risiko termasuk menentukan perlu tidaknya peraturan untuk mendukung kebijakan tersebut serta implementasi kebijakan yang diambil. Dalam manajemen risiko, perlindungan terhadap kesehatan manusia merupakan pertimbangan paling utama.

Keluaran jangka panjang yang diharapkan dari manajemen risiko adalah adanya standar, peraturan dan pedoman yang dapat digunakan sebagai perangkat guna mendapatkan jaminan keamanan pangan. Monitoring dan pengkajian ulang yang dilakukan terhadap keputusan yang diambil dilakukan secara konsisten untuk mengetahui efikasi dari implementasi kebijakan yang dikeluarkan. Manajemen risiko juga harus menggunakan pendekatan yang terstruktur, dan keputusan maupun implementasinya dilakukan secara transparan.

Manajemen risiko juga harus merupakan suatu proses yang berkelanjutan dengan memperhatikan data yang berasal dari evaluasi maupun pengkajian ulang terhadap keputusan manajemen risiko. Jadi dengan kata lain, tahapan penting yang dilakukan

dalam manajemen risiko adalah evaluasi risiko, evaluasi pilihan, implementasi, dan monitoring dan kajian.

18.5.2.3 Komunikasi Risiko

Adapun yang dimaksud dengan komunikasi risiko adalah proses pertukaran informasi secara rutin dan berulang diantara individu, kelompok atau lembaga. Komunikasi yang dilakukan harus bersifat terbuka, interaktif dan transparan. Karakterisasi risiko yang diperoleh dari penilaian risiko serta pengendalian risiko atau kebijakan yang akan diimplementasikan, harus dikomunikasikan agar semua pihak yang terkait dalam rantai pangan memperoleh informasi mengenai bahaya dalam pangan dan tindakan yang harus dilakukan. Komunikasi harus mengandung sifat mendidik dan melindungi konsumen, serta meningkatkan kesadaran konsumen akan pentingnya keamanan pangan dan kemungkinan bahaya yang ada dalam pangan.

Komunikasi risiko juga bertujuan memberi pengertian kepada petani, nelayan atau peternak yang berperan sebagai titik awal rantai pangan. Komunikasi yang efektif dengan petani, nelayan atau peternak akan menentukan diperolehnya jaminan keamanan pangan. Kerjasama dari semua pihak yang terkait akan menjamin tercapainya keamanan pangan (Tabel 18.1).

Tabel 18.6 Pembagian tanggungjawab diantara berbagai pihak yang terkait dalam memberikan jaminan keamanan pangan

Pihak yang terkait	Tanggung jawab
Pemerintah	Menyediakan peraturan, undang-undang dan penegakan hukum. Bimbingan, pendidikan keamanan pangan, pengumpulan data dan Menyediakan dana penelitian
Industri	Menerapkan HACCP, Good Farming Practices, Good Handling Practices, Menerapkan jaminan mutu dan pengawasan mutu. Menyediakan prasarana yang memadai dan teknologi yang mendukung
Konsumen	Pengetahuan tentang keamanan pangan. Penyimpanan, penyiapan dan pengolahan pangan yang benar. Penerapan higienis dan kebersihan serta sikap dan tindakan yang mendukung
Media	Komunikasi yang mendidik. Pemberitaan yang benar dan bertanggung jawab. Fasilitas komunikasi yang terbuka dan interaktif.

Sumber : Murdiati, 2006

18.6. Mutu Pangan

Mengonsumsi produk pangan bermutu lebih menjamin keamanan pangan. Oleh karenanya konsumen perlu mengetahui mutu dari setiap bahan pangan. Standar mutu pangan yang dikeluarkan oleh SNI dapat membantu konsumen untuk menentukan mutu produk pangan yang akan dibelinya.

Standar mutu bahan pangan merupakan pedoman yang dapat digunakan untuk berbagai kebutuhan, misalnya pemilihan bahan pangan atau menghasilkan bahan pangan berdaya saing tinggi. Indonesia telah memiliki standar mutu, yaitu standar yang dikeluarkan oleh Badan Standardisasi Nasional Indonesia atau SNI.

Materi mengenai analisis bahan pangan secara fisik, kimia, biologis, dan organoleptik dapat dipelajari dalam buku ini. Data yang diperoleh dari hasil analisis tersebut dapat dibandingkan dengan standar mutu yang telah ditetapkan oleh SNI, sehingga akan diketahui mutu dari produk pangan yang dihasilkan.

Beberapa contoh standar mutu dari bahan pangan yang umum akan disajikan. Pada bagian akhir dari bab ini, akan disampaikan beberapa SNI yang sebagainya dimiliki oleh siswa.

18.6.1 Standar Mutu Bahan Pangan

Standar mutu minimal bahan pangan relatif sama, yaitu :

- 1) Bentuknya utuh
- 2) Padat
- 3) Penampilan segar
- 4) Layak dikonsumsi, tidak busuk atau rusak
- 5) Bersih, bebas dari benda asing yang tampak
- 6) Bebas dari kerusakan akibat serangan hama dan/atau penyakit
- 7) Bebas dari memar
- 8) Bebas dari kerusakan akibat temperatur yang tidak sesuai
- 9) Bebas dari kerusakan akibat kelembaban berlebihan, kecuali pengembunan setelah pemindahan dari tempat penyimpanan dingin
- 10) Bebas dari bau dan rasa asing
- 11) Memiliki tingkat perkembangan dan kematangan cukup

18.6.2 Tahapan penentuan mutu

18.6.2.1 Buah dan biji

Ada beberapa tahapan yang harus diperhatikan dalam penentuan mutu buah, yaitu :

- a) Pengambilan contoh
Contoh diambil secara acak dari jumlah kemasan seperti terlihat di bawah ini. Dari setiap kemasan diambil contoh sebanyak 20 buah dari Suatu partai/lot buah segar

terdiri dari maksimum 1.000 kemasan. Contoh diambil secara acak dari jumlah kemasan seperti pada data dibawah ini :

- 1) Jumlah kemasan dalam partai/lot 1–5: contoh yang diambil 5.
- 2) Jumlah kemasan dalam partai/lot 6–100: contoh yang diambil 7.
- 3) Jumlah kemasan dalam partai/lot 101–300: contoh yang diambil 9.
- 4) Jumlah kemasan dalam partai/lot 301–500: contoh yang diambil 10.
- 5) Jumlah kemasan dalam partai/lot 501–1000 : contoh yang diambil semua.

Dari setiap kemasan yang dipilih secara acak diambil sekurang-kurangnya 3 kg kemudian dicampur. Untuk kemasan dengan berat kurang dari 3 bungkus harus diambil contoh sekurang-kurangnya dari dua kemasan. Dari jumlah buah yang terkumpul kemudian secara acak contoh sekurang-kurangnya 3 kg untuk diuji. Petugas pengambil contoh harus yang memenuhi persyaratan, yaitu orang yang telah berpengalaman/ telah dilatih terlebih dahulu dan mempunyai ikatan dengan suatu badan hukum.

- b) Penentuan ukuran diameter Ukur setiap panjang garis tengah yang tegak lurus pa-

da tinggi buah segar dari seluruh contoh uji dengan menggunakan alat pengukur diameter yang sesuai. Pisahkan sesuai dengan ketentuan penggolongan yang dinyatakan dalam standar.

- c) Penentuan buah cacat dan atau busuk :

Hitung jumlah seluruh contoh uji, amati satu persatu dari buah yang bersangkutan dari secara visual dan organoleptik serta pisahkan buah yang cacat/ busuk sesuai dengan jenis cacat dan batasan busuk sebagai berikut:

- ★ Cacat karena cuaca dan mekanis yang rusak memar, luka pada kulit dan daging akibat tekanan, benturan dan getaran;
- ★ Cacat fisiologis yaitu buah yang tingkat kematangannya sudah berlanjut.
- ★ Cacat karena hama dan penyakit yaitu buah yang sudah tercemar oleh serangga dan patogen perusak.
- ★ Buah dinyatakan busuk apabila pada daging/kulitnya telah terlihat pembusukan yang dapat diidentifikasi secara visual.

- d) Penentuan kadar kotoran Timbang seluruh contoh uji buah, amati secara visual adanya kotoran yaitu semua bahan yang bukan buah seperti tanah, bahan organik

yang nampak menempel pada bahan pangan segar/berada pada kemasan yang tampak secara visual. Pisahkan kotoran yang terdapat pada bahan pangan segar dan kemasan, seperti tanah, potongan daun/benda lain yang termasuk kotoran yang menempel pada bahan pangan segar dan timbanglah.

- e) Penentuan kesegaran Hitung jumlah seluruh contoh uji bahan pangan, amati satu persatu bahan pangan secara visual dan pisahkan bahan pangan yang dinyatakan tidak segar yaitu dengan memperhatikan kondisinya. Hitung jumlah satuan bahan pangan yang dinilai kurang segar dan hitung pula persentase jumlah satuan bahan pangan yang dinilai kurang segar terhadap jumlah seluruh contoh uji.
- f) Penentuan adanya serangga hidup atau mati Amati secara visual adanya serangga hidup atau mati pada bahan pangan dan kemasan.

18.6.2.2 Ikan

Ikan dikatakan bermutu baik bila kondisinya masih segar. Kesegaran ikan dapat dilihat dari : a) Kulitnya yang berwarna te-rang dengan warna spesifik ikan yang masih jelas dan jernih. Kulit masih kuat membungkus tubuh

ikan dan tidak mudah robek, terutama di bagian perut; b) Sirip mengkilap dan masih menempel kuat pada tubuh sehingga sulit dilepaskan; c) Sirip masih elastis, bila ditarik atau dikembangkan maka sirip cenderung kembali kebentuk semula; d) mata tampak terang, jernih, menonjol dan cembung; e) Insang berwarna merah sampai merah tua, tertutup lendir, terang, dan *lamella* insang terpisah; f) bau segar spesifik jenis; g) daging berwarna putih cemerlang dan masih menempel pada tulang; dan h) bila tubuh ikan ditekan dengan jari, maka tidak terlihat bekas penekanan tersebut.

18.6.2.3 Udang

Udang dikatakan bermutu baik bila memiliki karakter sebagai berikut : a) bau segar; b) Terkstur daging kenyal tetapi tidak lembek; c) karapas keras, mengkilat dan tidak berlumut; d) tubuh ikan tidak lengket satu dengan lainnya dan bila disentuh dengan jari tumpukan udang akan tumpah dan menyebar; e) karapas, kaki, ekor, dan kepala masih utuh; dan f) karapas bagian dalam kepala berwarna merah muda, bersih, dan cerah.

18.6.2.4 Daging

Ciri daging bermutu adalah sebagai berikut : a) daging memiliki

kenampakan mengkilap, cerah dan tidak pucat; b) tidak memiliki bau asam atau busuk; c) elastis dan tidak kaku, tidak lembek; d)

bila dipegang masih terasa kebasahannya, namun tidak lengket di tangan.

18.6.3 Standar Mutu bahan Pangan

18.6.3.1 Biji Kakao (SNI 01-2323-2000)

Karakteristik	Tingkat Mutu		
	I	II	Sub Standar
Jumlah biji/100 g	85-100	85-100	85-100
Kadar air %(b/b) maks	7.5	7.5	>7.5
Berjamur %(b/b) maks	3	4	>4
Tak Terfermentasi %(b/b) maks	3	8	>8
Berserangga, hampa, berkecambah, %(b/b) maks	3	6	>6
Biji pecah, % (b/b) maks	3	3	3
Benda asing % (b/b) maks	0	0	0
Kemasan kg, netto/karung	62.5	62.5	62.5

18.6.3.2 Buah Durian (SNI 01-4482-1998)

Karakteristik	Tingkat Mutu		
	I	II	III
Kerusakan	Tdk ada	Tdk ada	Tdk ada
Cacat	Tdk ada	Ada	Ada
Berjamur %(b/b) maks	3	4	>4
Rasa dan aroma	Baik	Baik	Baik
Kekerasan daging	Keras/ Sedang	Keras/ Sedang	Keras/ sedang
Kekerasan buah	Segar	Segar	Segar
Warna daging buah	Kuning	Kuning	Kuning
Keseragaman	Seragam	Seragam	Seragam
Perbandingan berat dengan biji	>2	>1	<1

18.6.3.3 Buah manggis (SNI 01– 3211-1992)

Karakteristik	Tingkat Mutu		
	Super	I	II
Keseragaman	Seragam	Seragam	Seragam
Diameter	>65 mm	55-56 mm	<55 mm
Tingkat keseragaman	Segar	Segar	Segar
Warna kulit	Hijau	Kemerahan sampai merah	Muda mengkilat
Buah cacat atau busuk	0%	0%	0%
Tangkai dan/atau kelopak	Utuh	Utuh	Utuh
Kadar kotoran (b/b)	0%	0%	0%
Serangga hidup atau mati	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Warna daging buah	Putih bersih	Khas manggis putih	Bersih khas manggis

18.6.3.4 Buah Pepaya (SNI 01–4230– 1996)

Kriteria penentuan jenis mutu buah pepaya Malang segar dinilai dari tingkat ketuaan dimana jumlah strip berwarna jingga pada permukaan kulit buah yang berwarna hijau botol saat dipanen, kebenaran kultivar. Keseragaman ukuran berat, tingkat kerusakan, kebusukan dan kadar kotoran serta tingkat kesegaran.

Karakteristik	Tingkat Mutu		
	I	II	III
Tingkat ketuaan warna kulit (jumlah strip warna jingga)	3 strip	2-3 strip	1 strip
Kebenaran kultivar	Benar 97%	Benar 97%	Benar 90%
Keseragaman ukuran berat	Seragam 97%	Seragam 95%	Seragam 90%
Keseragaman ukuran bentuk	Seragam 97%	Seragam 95%	Seragam 90%
Buah cacat dan busuk	0%	0 %	0 %
Kadar kotor	0 %	0 %	0 %
Serangga hidup/mati	0%	0%	0%
Tingkat kesegaran	100%	<75%	>25%

18.6.3.5 Tahu dan Mi Kering

Kriteria Uji	Persyaratan	
	Tahu SNI 01-3142-1998	Mi Kering SNI 01-2974-1996
Keadaan : Bau Rasa Warna Penampakan	Normal Normal Putih/kuning normal Normal tidak berlendir/berjamur	Normal Normal Normal -
Air % (b/b)		Maks 8
Abu % (b/b)	Maks 1.0	
Protein % (b/b)	Min 9.0	Min 11
Lemak % (b/b)	Min 0.5	
Serat Kasar % (b/b)	Maks 0.1	
Bahan Tambahan Makanan % (b/b)	Sesuai SNI 01-0222-M dan Permenkes No. 722/Men.Kes/Per/IX/1988	Tidak boleh ada
Boraks		Sesuai SNI 01-022-1995
Pewarna Tambahan		
Cemaran logam mg/kg		
Timbal	Maks 2.0	Maks 1.0
Tembaga	Maks 30.0	Maks 10.0
Seng	Maks 40.0	Maks 40.0
Timah	Maks 40/250*	-
Raksa	Maks 0.03	Maks 0.05
Cemaran Arsen mg/kg	Maks 1.0	Maks 0.1
Cemaran Mikroba		
Angka Lempeng Total	-	Maks 1×10^4
<i>Escherichia coli</i> APM/g	Maks 10	Maks 10
<i>Salmonella</i> /25 g	Negatif	-
Kapang Koloni/g	-	Maks 1×10^4

Keterangan : * dikemas dalam kaleng

18.6.3.7 Ayam

Parameter	Peruntukan		
	A	B	C
Tulang dada	Lurus	Agak bengkok	Sangat bengkok
Tulang belakang	Lurus	Agak bengkok	Sangat bengkok
Kaki dan Sayap	Normal	Sedang	Jelek
Daging	Baik, daging dada, panjang dan lebar	Agak baik, daging dada cukup	Tidak baik, daging dada kurus
Lemak	Menutup karkas	Lemak cukup pada dada dan paha	Lemak pada dada dan paha
Bulu kasar	Tidak ada	Sedikit	Banyak
Sobekan	0.0 – 1.5 cm	1.5 – 30 cm	Tidak terbatas
Kulit memar	0.5 – 0.75%	0.75 – 1.5 cm	Tidak terbatas
Warna merah	1.0-1.5 cm	1.5 – 3.0	Tidak terbatas

Keterangan :

A = Pasar swalayan, Resoran, fast food, Hotel dan Restoran asing

B = Rumah makan, Katering, Pasar Tradisional

C = Dijadikan daging tanpa tulang

18.6.3.8 Kriteria Mutu Telur

Bagian telur	Kualitas Telur		
	AA	A	B
Kulit Telur	Bersih Tidak Retak Bentuk normal	Bersih Tidak Retak Bentuk normal	Terang, ada sedikit noda Tidak retak Bentuk kadang-kadang tidak normal
Ruang Udara	0.3 cm atau lebih kecil	0.5 cm atau lebih kecil	Lebih dari 0.5 cm
Putih Telur	Jernih Pekat	Jernih Agak pekat	Jernih Encer
Kuning Telur	Letak terpusat baik Kuning jernih Bebas dari noda	Letak terpusat baik Kuning jernih Kadang-kadang ada sedikit noda	Letak tidak terpusat Kurang jernih Kadang-kadang ada noda

Sumber : Titi Sudaryani, 1996

Penentuan Mutu Telur

Mutu telur dapat ditentukan dengan dua cara. Pertama dengan melihat isi telur dan kedua de-

ngan mengamati kulit telur. Telur dikatakan bermutu baik apabila di dalam isinya tidak terdapat bercak darah atau bercak

lainnya, tidak terdapat bercak calon embrio yang menunjukkan telur belum dierami, putih telurnya kental dan tebal, serta kuning telurnya berwarna kuning.

Mutu isi telur dapat diketahui dengan menggunakan teropong, micrometer, *Roche yolk colour fan*, dan *specific gravity*. 1) Teropong digunakan untuk melihat kuning telur dengan bantuan cahaya. Pada peternakan besar, isi telur dilihat dengan menggunakan teropong khusus. Namun masyarakat biasanya menggunakan gulungan kertas. Telur ditempatkan di ujung teropong. Dengan mengandalkan cahaya lampu, isi telur dapat dilihat dengan jelas.

2) Mutu isi telur juga dapat ditentukan dengan menggunakan mikrometer. Nilai Mutu telur dinyatakan dengan **Haugh unit**. Prosedur pengukurannya adalah sebagai berikut :

- 1) Timbang telur
- 2) Pecahan telur dahulu dan diletakkan isinya di permukaan datar.
- 3) Ukur ketebalan putih telur dengan menggunakan mikrometer. Pengukuran putih telur dilakukan di tepi kuning telur dan tepi putih telur.
- 4) Kesegaran telur identik dengan ketebalan putih telur. Makin tebal putih telur, berarti mutu telur lebih baik. Nilai

Haugh unit dapat ditentukan berdasarkan persamaan :

HU =

$$100 \log\{H + 7.57 - 1.7W^{0.37}\}$$

Dimana :

HU = Haugh unit

H = tinggi putih telur

W = bobot telur (g)

Hasil Pengujian telur

- 1) bila nilai HU <31, mutu C
- 2) bila HU 31-60, mutu B
- 3) bila HU 60-72, mutu A
- 4) bila HU >72, mutu AA

3) *Roche yolk colour fan*

Roche yolk colour fan adalah sejumlah lembaran kertas berwarna yang diberi nomor. Alat ini digunakan untuk menentukan kualitas telur berdasarkan kecocokan warna kuning telur dengan *Roche yolk colour fan*. Telur yang baik mempunyai kisaran nilai 9-12.

4) *Specific gravity*

Cara ini cocok untuk diterapkan pada telur yang masih segar, dimana kantung udaranya masih relative kecil. Cara pengukurannya adalah sebagai berikut :

a) Buat larutan garam dengan nilai *specific gravity* tertentu (Tabel 18.2).

b) Masukkan telur dalam keranjang yang berongga

c) masukan telur bersama keranjangnya ke dalam ember yang telah berisi larutan garam, dimulai dari konsentrasi garam terkecil.

d) Perhatikan, pada larutan garam dengan spesifik gravity berapa telur mengambang. Bila telur banyak mengambang pada specific gravity 1075, berarti kualitas kulit telurnya baik.

Tabel 18.7. Perbandingan air dan garam untuk mendapatkan nilai specific gravity tertentu

Air (L)	Garam (g)	Specific Gravity
3	276	1.060
3	298	1.065
3	320	1.070
3	342	1.075
3	365	1.080
3	390	1.085
3	414	1.090
3	438	1.095
3	462	1.100

Jenis Uji	Persyaratan Mutu				
	Kerupuk Ikan SNI 01-2713-1992	Kerupuk Udang SNI 01-2714-1992	Ikan Asin SNI 01-2721-1992	Teri Asin SNI 01-2708-1992	Cumi Kering SNI 01-2719-1992
a) Organoleptik Kapang	7.5 Negatif	7.5 Negatif	6.5 Negatif	7.0 Negatif	6.5 Negatif
b) Mikrobiologi TPC per g maks. <i>E. coli</i> MPN/g maks <i>Salmonella</i> spp.	5 x 10 ⁴ 3 Negatif	5 x 10 ⁴ 3 Negatif	5 x 10 ⁵ 3 Negatif	5 x 10 ⁵ 3 Negatif	5 x 10 ⁴ 3 Negatif
<i>Vibrio cholerae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>			Negatif 1 x 10 ³	Negatif 1 x 10 ³	- 1 x 10 ³
c) Kimia Air % b/b maks Abu % b/b maks Protein % b/b maks	14 1 7	12 1 8	14 1 7	40 15 0.3	25 3 0.3

Jenis Uji	Persyaratan Mutu				
	Ikan Asap SNI 01-2725-1992	Pindang Ikan SNI 01-2717-1992	Bandeng Presto SNI 01-4106-1996	Teri Nasi Kering SNI 01-3461-1994	Ikan Segar SNI 01-2729-1992
a) Organoleptik Kapang	7 Negatif	7 Negatif	7 Negatif	7 Negatif	7.0
b) Mikrobiologi TPC per g maks. <i>E. coli</i> MPN/g maks <i>Salmonella</i> spp.	5 x 10 ⁵ 3 Negatif	5 x 10 ⁵ 3 Negatif	2 x 10 ⁵ 3 Negatif	5 x 10 ⁵ 3 Negatif	5 x 10 ⁵ 3 Negatif
<i>Vibrio cholerae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	- Negatif	1 x 10 ³ Negatif	Negatif 100	Negatif 100	Negatif
c) Kimia Air % b/b maks Abu % b/b maks Protein % b/b maks Garam % b/b maks	60 4 1.5	70 10	60	30-60 15	

Daftar SNI beberapa produk pangan

Nomor SNI	Judul SNI
SNI 01-3707-1995	Abon
SNI 01-2975-1992	Bihun
SNI 01-3712-1995	Bihun instant
SNI 01-6128-1999	Beras giling
SNI 01-4043-1996	Jagung muda dalam kaleng
SNI 01-4280-1996	Keripik paru sapi
SNI 01-4307-1996	Kerupuk beras
SNI 01-3542-1994	Kopi bubuk
SNI 01-2983-1992	Kopi instant
SNI 01-4306-1996	Keripik ubi jalar
SNI 01-4315-1996	Keripik pisang
SNI 01-4269-1996	Keripik nangka
SNI 01-4305-1996	Keripik singkong
SNI 01-4031-1996	Keripik kentang
SNI 01-4304-1996	Keripik nenas
SNI 01-3143-1992	Minuman teh dalam kemasan
SNI 01-4314-1996	Minuman kopi dalam kemasan
SNI 01-3551-2000	Mi instant
SNI 01-3719-1995	Minuman sari buah
SNI 01-3777-1995	Makaroni
SNI 01-4316-1996	Nanas dalam kaleng
SNI 01-3840-1995	Roti
SNI 01-3544-1994	Sirup
SNI 01-3546-1994	Saus tomat
SNI 01-2270-1999	Susu bubuk
SNI 01-3548-1994	Sardine media saus tomat kaleng
SNI 01-3746-1995	Selai buah
SNI 01-3830-1995	Susu kedelai
SNI 01-3950-1998	Susu UHT
SNI 01-3945-1995	Teh hijau
SNI 01-4821-1995	Tepung gula
SNI 01-4447-1998	Tepung ketan
SNI 01-3727-1995	Tepung sagu
SNI 01-3727-1995	Tepung jagung
SNI 01-3451-1994	Tepung tapioca
SNI 01-3549-1994	Tepung beras
SNI 01-0004-1995	Lada Putih
SNI 01-0005-1995	Lada Hitam
SNI 01-3717-1995	Lada Putih Bubuk
SNI 01-3716-1995	Lada Hitam Bubuk
SNI 01-3162-1992	Tomat

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N.L. Puspitasri, sedarnawati, dan S. Budiyanto. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Arpah, M. 1993. Pengawasan Mutu Pangan. Penerbit Tarsito, Bandung.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2004. Status regulasi cemaran dalam produk pangan. Buletin Keamanan Pangan. Nomor 6. halaman 4-5.
- Bintang. Infomutu. Pusat standarisasi dan akreditasi Setjen – Departemen Pertanian. Nov 2002. Hlm. 1.
- Bergdoll,, M.S. 1990. Staphylococcus food poisoning. Dalam Foodborne Disease. Hal. 145-168. Academic Press, San Diego.
- Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 1987. Microbiology : A Lanoratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. New York.
- Deperindag. Infomutu. Pusat standarisasi dan akreditasi Setjen - Departemen Pertanian. Nov 2002. Hlm. 2
- Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner. 2007. Metode dan tata cara pengambilan contoh daging. Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner. Departemen Pertanian Republik Indonesia.
- Djaafar, T.F. dan Rahayu, S. 2007. Cemaran mikroba pada produk pertanian, penyakit yang ditimbulkan dan pencegahannya. Jurnal Litbang Pertanian, 26 (2), 2007.
- DKP. 2005. Bahaya Fisik (*Physical Hazard*) pada Produk Perikanan. Warta Pasar Ikan. 2005. Departemen Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia.
- European Committee for Standardisation. 2004. Pelatihan Penerapan Metode HACCP. European Committee for Standardisation - Implementing Agency for the Contract No ASIA/2003/069-236.
- Food Agriculture Organization. 2004.
- Green, J.H. and A. Kramer. 1979. Food Processing Waste management. AVI Westport, CT.
- Hermayani, E., E. Santoso, T. Utami dan S. Rahardjo. 1996. Identifikasi bahaya kontaminas S. Aureus dan titik kendali kritis pada pengolahan produk daging ayam dalam usaha jasa boga. Agrotech, Majalah Ilmu dan Teknologi Pertanian 16 (3) : 7-15.
- Jenie, B.S.L. dan W.P. Rahayu. 1990. Penanganan Limbah Industri Pangan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.

- Muhandri, T. dan D. Kadarisman. 2006. Sistem Jaminan mutu industri pangan. IPB Press.
- Mulya, M. dan D. Hanwar. 2003. Prinsip-prinsip Cara Berlaboratorium yang baik (Good Laboratory Practice). Majalah Farmasi Airlangga. Vol. III No. 2, Agustus 2003. Hlm. 71-76.
- Murdiati, T.B. 2006. Jaminan keamanan pangan asal ternak. Jurnal Litbang Pertanian (2006) : 22-30.
- Rahayu, S. dan T.F. Djaafar. 2007. Cemaran mikroba pada produk pertanian, penyakit yang ditimbulkan dan pencegahannya. Jurnal Litbang Pertanian, 26 (2) : 67- 75.
- Seeley, H.W. and P.J. VanDemark. 1972. Microbe in Action. A Laboratory Manual of Microbiology. Second Edition. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- SNI 01-4852-1998. Sistem analisa bahaya dan pengendalian titik kritis (HACCP) serta pedoman penerapannya. Badan Standarisasi Nasional.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1997. Prosedur analisis untuk bahan makanan dan pertanian. Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Sudarmaji. 2005. Analisis Bahaya dan Pengendalian Titik Kritis. Jurnal Kesehatan Lingkungan. Vol. 1 No. 2. Januari 2005.
- Sudaryani, T. 1996. Kualitas Telur. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Sugiharto. 1987. Dasar-dasar pengelolaan air limbah. UI-Press.
- Suklan, H. (1998). Pedoman Pelatihan System Hazard Analysis dan Critical Control Point (HACCP) untuk Pengolahan Makanan. Jakarta: Depkes RI
- Suriawiria, U. 1995. Pengantar Mikrobiologi Umum. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Suwandi, Usman. Peran Media untuk Identifikasi Mikroba Patogen. *Penelitian dan Pengembangan, PT Kalbe Farma, Jakarta*)
- Syarief, R., S. Santausa, St. Isyana B. 1988. Teknologi Pengemasan Pangan. Laboratorium Rekayasa Proses Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Tejasari, 2005. Nilai Gizi Pangan. Penerbit Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Thaheer, H. 2005. Sistem Manajemen HACCP. Bumi Aksara. Jakarta.
- Tortora, G.J., B.R. Funke, and C.L. Case. 1982. Micobiology. An Introduction. Second Edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. New York.
- Wheaton, F.W. and T.B. Lawson. 1985. Processing Aquatic Food Product. John Wiley & Sons., Inc. Canada.
- Winarno, F.G. 1997. Keamanan pangan. Institut Pertanian Bogor.

- Wirakartakusumah, M.A., K. Abdullah, dan A.M. Syarif. 1992. Sifat Fisik Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Wirjosoemarto, K., Y.H. Adisendjaja, B. Supriatna, dan Riandi. 2000. Teknik Laboratorium. Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pendidikan Indonesia.

GLOSARI

- Akreditasi** : Rangkaian kegiatan pengakuan formal oleh lembaga akreditasi nasional, yang menyatakan bahwa suatu lembaga / laboratorium telah memenuhi persyaratan untuk melakukan kegiatan sertifikasi tertentu.
- Akurasi** : Merupakan ukuran kualitas suatu metode yang menggambarkan besarnya penyimpangan data hasil uji dengan harga sesungguhnya.
- Alur proses** : Suatu penyampaian representatif dari urutan tahap atau operasi yang digunakan dalam produksi atau pembuatan bahan pangan tertentu.
- Aman untuk dikonsumsi** : Pangan tersebut tidak mengandung bahan-bahan yang dapat membahayakan kesehatan atau keselamatan manusia, misalnya bahan yang dapat menimbulkan penyakit atau keracunan.
- Analisis** : Prosedur mengukur, menentukan atau membandingkan suatu sifat atau parameter dalam bahan / produk dengan menggunakan metode dan peralatan yang biasanya dilakukan dalam suatu laboratorium
- Analisis bahaya** : Proses pengumpulan dan evaluasi informasi informasi potensi bahaya dan kondisi yang dapat mengakitkannya untuk menentukan potensi bahaya dan kondisi yang berperan penting dalam keamanan pangan sehingga harus dimasukkan dalam rencana HACCP.
- Analisis organoleptik** : Analisis sifat-sifat sensori bahan / produk pangan, meliputi analisa terhadap waktu, aroma, rasa, tekstur, dan kesukaan dengan menggunakan peralatan berupa indera manusia.
- Autoklaf** : Alat yang digunakan untuk memanaskan bahan pada kondisi tekanan udara yang jenuh air.
- Badan Standarisasi Nasional** : Badan yang membantu presiden dalam menyelenggarakan pengembangan dan pembinaan di bidang standarisasi sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.
- Bahan Tambahan Pangan (BTP)** : Bahan yang ditambahkan ke dalam pangan untuk mempengaruhi sifat dan bentuk pangan.
- Bahan pangan** : Bahan baku dan bahan tambahan yang akan digunakan sebagai bahan masukan dalam pengolahan suatu produk pangan.
- Batas kritis** : Suatu criteria yang dapat memisahkan status penerimaan dan penolakan.
- Cara produksi pangan yang baik** : Suatu pedoman yang menjelaskan bagaimana memproduksi pangan agar bermutu, aman, dan layak untuk dikonsumsi.
- Coliform** : Kelompok bakteri yang digunakan sebagai indicator adanya polusi kotoran dan kondisi sanitasi yang tidak baik.
- E. coli** : Bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek

atau coccus, tidak membentuk spora.

Ekstraksi : Suatu proses pemisahan / penarikan suatu zat atau substansi tertentu dari suatu bahan, dengan bantuan pelarut organik, air, dan lain-lain.

Evaporasi : Suatu proses penguapan untuk memisahkan pelarut (solvent) dengan zat terlarut (solute).

Gizi pangan : Zat atau senyawa yang terdapat dalam pangan yang terdiri atas karbohidrat, lemak, dan protein, vitamin, dan mineral serta turunannya yang bermanfaat bagi pertumbuhan dan kesehatan manusia.

Good Manufacturing Practices : Acuan bagaimana memproduksi yang baik.

Gravimetri : Metode analisis yang didasarkan pada penimbangan (bobot).

Hazard Analysis and Critical Control Point : Suatu system yang mengidentifikasi, mengevaluasi, dan mengendalikan potensi bahaya yang nyata untuk keamanan pangan.

Inkubasi : Pengkondisian mikroba untuk tumbuh dan berkembangbiak sesuai dengan suhu dan waktu yang dibutuhkan.

Jaminan keamanan pangan : Jaminan bahwa pangan tidak akan menimbulkan masalah bila dikonsumsi semestinya.

Kadar abu : Jumlah residu anorganik yang dihasilkan dari pengabuan / pemi-jahan suatu produk.

Keamanan pangan : Kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang

dapat menimbulkan gangguan dan membahayakan kesehatan manusia.

Kemasan pangan : Bahan yang digunakan untuk mewedahi dan / atau membungkus pangan, baik yang bersentuhan langsung dengan pangan ataupun tidak.

Kendali : Kondisi dimana prosedur yang benar diikuti dan criteria yang ada dipenuhi.

Kepekaan : merupakan ukuran kualitas uji yang menggambarkan kemampuan metode itu untuk mendeteksi adanya suatu komponen dalam contoh uji.

Kesalahan acak : merupakan kesalahan yang terjadi secara kebetulan, tanpa disengaja, dan bervariasi dari satu pengujian ke pengujian berikutnya.

Kesalahan mutlak : Merupakan jenis kesalahan yang sedemikian fatal, sehingga tidak terdapat alternatif lain untuk mengatasinya, kecuali mengulang pengujian dari permulaan.

Konsumen : Setiap orang pemakai bahan dan/jasa yang tersedia dalam masyarakat, baik bagi kepentingan diri sendiri, keluarga, orang lain, maupun makhluk hidup lain, dan tidak untuk diperdagangkan.

Kromatografi : Metode analisis ataupun preparatif fisik untuk memisahkan senyawaan yang berada dalam suatu fase mobil (fase bergerak) melewati suatu fase stasioner (fase diam).

Laboratorium pengujian : Laboratorium yang melaksanakan pengujian, yaitu suatu kegiatan teknis yang terdiri atas

penetapan, penentuan satu atau lebih sifat atau karakteristik dari suatu produk, bahan, peralatan, organisme, fenomena fisik, proses atau jasa, sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan.

Lemak : Campuran triasil gliserol yang berasal dari hewan ataupun tumbuhan.

Lot : Sekumpulan produk atau bahan pangan yang mempunyai kriteria dan kondisi tertentu.

Media : Nutrisi dalam bentuk padat atau cair untuk tempat pertumbuhan mikroba.

Media agar : Media padat yang digunakan untuk pertumbuhan mikroba.

Media pengkayaan : Media yang digunakan untuk memperbaiki sel-sel bakteri yang rusak atau meningkatkan jumlah populasi bakteri

Media selektif : Media yang mengandung bahan-bahan selektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri selain bakteri yang dianalisa.

Metode Angka Paling Memungkinkan (APM) : Metode untuk menghitung jumlah mikroba dengan menggunakan medium cair dalam tabung reaksi, pada umumnya setiap pengenceran 3 seri atau 5 seri tabung dan perhitungan yang dilakukan merupakan tahapan pendekatan secara statistik.

Mikroba : Kelompok organisme yang berukuran kecil dan hanya dapat dilihat di bawah mikroskop.

Mikrobiologi : Ilmu tentang seluk beluk mikroba secara umum, baik yang bersifat parasit maupun yang penting bagi

industri, pertanian, kesehatan, dan sebagainya.

Mineral : Zat organik yang dalam jumlah tertentu diperlukan oleh tubuh untuk proses metabolisme normal yang diperoleh dari makanan sehari-hari.

Mutu : Kumpulan parameter dan atribut yang menindikasikan atau menunjukkan sifat-sifat yang harus dimiliki suatu bahan atau produk pangan.

Mutu pangan : Nilai yang ditentukan atas dasar kriteria keamanan pangan, kandungan gizi, dan standar perdagangan terhadap bahan makanan, makanan, dan minuman.

Nutrisi : Ilmu tentang pemenuhan makanan bagi tubuh untuk pertumbuhan dan perkembangan serta menjaga kelangsungan fungsi fisiologis.

Pangan : Segala sesuatu yang berasal dari sumberhayati dan air, baik yang diolah maupun yang tidak diolah, yang diperuntukan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan pengolahan, dan / atau pembuatan makanan atau minuman.

Pangan higienis : Kondisi dan perlakuan yang diperlukan untuk menjamin keamanan pangan di semua tahap rantai pangan.

Pangan olahan : makanan atau minuman hasil proses dengan cara atau metode tertentu, dengan atau tanpa bahan tambahan.

- Pangan olahan tertentu** : Adalah pangan olahan untuk konsumsi bagi kelompok tertentu dalam upaya memelihara dan meningkatkan kualitas kesehatan kelompok tersebut.
- Pangan siap saji** : Makanan dan/ atau minuman yang sudah diolah dan siap untuk langsung disajikan di tempat usaha atau di luar tempat usaha atas dasar pesanan.
- Pengawasan** : Tindakan untuk melakukan pengamatan dan pengukuran yang berurutan dan terencana untuk mengendalikan parameter-parameter untuk menentukan apakah CCP masih terkendali.
- Pengangkutan** : Setiap kegiatan atau serangkaian kegiatan dalam rangka memindahkan pangan dari satu tempat ke tempat lain dengan cara atau sarana angkutan apapun dalam rangka produksi, peredaran dan/atau perdagangan pangan.
- Pengendalian** : Melakukan semua tindakan yang diperlukan untuk menjamin dan memelihara kesesuaian dengan kriteria yang terdapat dalam rencana HACCP.
- Penguji** : Individu yang memiliki kewenangan untuk melakukan pengujian. Kewenangan menguji tersebut diperoleh setelah memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh lembaga berwenang.
- Pengujian parameter kualitas lingkungan** : adalah kegiatan yang meliputi kegiatan pengamatan contoh uji, termasuk analisis di lapangan, penanganan, transportasi, penyimpanan, preparasi, dan analisis contoh uji.
- Penyimpanan** : Proses, cara, dan/ atau kegiatan menyimpan pangan, baik di sarana produksi maupun distribusi.
- Penyimpangan** : Kegagalan memenuhi suatu batas kritis.
- Peralatan dasar non gelas** : Peralatan non gelas yang dibutuhkan oleh suatu laboratorium untuk dapat beroperasi, antara lain meliputi timbangan, sentrifugal, peralatan analisis proksimat, peralatan ekstraksi, spektrofotometer, pH meter dan lain-lain.
- Perlindungan konsumen** : Segala upaya yang menjamin adanya kepastian hukum untuk memberi perlindungan kepada konsumen.
- Persyaratan sanitasi** : Standar kebersihan dan kesehatan yang harus dipenuhi sebagai upaya mematikan atau mencegah hidupnya jasad renik patogen atau mengurangi jumlah jasad renik lainnya agar pangan yang dihasilkan dan dikonsumsi tidak membahayakan kesehatan dan jiwa manusia.
- Potensi bahaya** : Suatu benda atau kondisi biologis, kimiawi, dan fisik dalam makanan yang dapat membahayakan kesehatan.
- Produk pangan** : Hasil olahan dari bahan pangan.
- Produksi pangan** : Kegiatan atau proses menghasilkan, menyiapkan, mengolah, membuat, mengawetkan, mengemas, mengemas kembali, dan/atau mengubah bentuk pangan.
- Produk perikanan** : Ikan termasuk biota perairan lainnya yang ditangani dan/atau diolah un-

tuk menjadikan produk akhir yang berupa ikan segar, ikan beku, ikan olahan lainnya yang digunakan untuk konsumsi manusia.

Program sampling : Menentukan strategi, jumlah contoh dan cara pengembalian contoh di suatu industri, khususnya industri pangan.

Protein : Senyawa yang terdiri dari asam amino yang satu sama lain dihubungkan dengan ikatan peptide dan urutan asam aminonya sangat spesifik.

Rasa : Sifat organoleptik yang berupa tanggapan (persepsi) bintil-bintil pengecap di dalam mulut yang mengenal cita rasa asin, masam, pahit, dan manis, serta bau oleh hidung.

Rencana HACCP : Suatu dokumen yang disusun sesuai dengan prinsip-prinsip HACCP untuk menjamin pengendalian bahaya yang nyata untuk keamanan pangan dalam rantai makanan yang hendak dibuat.

Sampel yang mewakili : Sampel yang diambil berdasarkan kaidah-kaidah statistik pengambilan contoh dan diambil secara acak sehingga mampu menggambarkan keadaan yang sama dengan populasinya.

Sampel uji : Merupakan sampel yang dipersiapkan dalam laboratorium yang langsung diserahkan ke analis untuk diuji dengan metode dan parameter pengujian tertentu.

Sanitasi pangan : Upaya untuk pencegahan terhadap ke-

mungkinan bertumbuh dan berkembangbiaknya jasad renik pembusuk dan patogen dalam makanan, minuman, peralatan, dan bangunan yang dapat merusak pangan dan membahayakan manusia.

Sertifikasi : Rangkaian kegiatan penerbitan sertifikat terhadap barang dan atau jasa.

Sertifikasi mutu pangan : Rangkaian kegiatan penerbitan sertifikat terhadap pangan yang telah memenuhi persyaratan yang ditetapkan.

Serifikat : jaminan tertulis yang diberikan oleh lembaga/laboratorium yang telah diakreditasi untuk menyatakan bahwa barang, jasa, proses, system atau personal telah memenuhi standar yang dipersyaratkan.

DAFTAR GAMBAR

1.1.	Alat seleksi buah berdasarkan bentuk dan ukuran (sifat fisik) bahan pangan	2
1.2.	Pnetrometer adalah salah satu alat yang dapat digunakan untuk mengukur kekenyalan daging	3
1.3.	Pnetrometer adalah salah satu alat yang dapat digunakan untuk mengukur kekenyalan daging	4
1.4.	Perancangan alat dengan memanfaatkan koefisien gesek bahan pangan	4
1.5.	Perombakan cadangan energi yang digunakan untuk mengatasi stres	10
1.6.	Kisaran pH lingkungan dari beberapa mikroba	11
2.1.	Pola tahunan kandungan lemak pada ikan	15
2.2.	Permukaan potongan daging ikan yang dies cukup lama terlihat putih dan pudar	16
2.3.	Serangan jamur pada buah pepaya	19
2.4.	Jamur yang menyerang ekstrak nenas pada pembuatan kecap ikan dapat menimbulkan bau busuk	19
2.5.	Ikan segar yang terserang bakteri	19
2.6.	Jamur yang menyerang ikan asin	20
2.7.	<i>Red Tide</i>	22
2.8.	Bahan pangan yang cacat akibat luka	25
2.9.	Ikan yang terserang mikroba	26
2.10.	Ikan yang terserang cacing	26
3.1.	Penggunaan alat pemukul untuk mematikan ikan dapat menyebabkan terjadinya memar atau luka	28
3.2.	Penangkapan ikan dengan pancing huate dimana ikan yang tertangkap akan lepas dari pancing dan jatuh ke geladak kapal	28
3.3.	Ikan dibagian ujung dan lilitan tali jaring (panah) lebih cenderung mengalami memar dibandingkan ikan dibagian lainnya	28
3.4.	Bagian luar tubuh ikan yang mengalami memar terkena jaring selama proses penangkapan	29

.....	
3.5. Tubuh ikan yang mengalami luka terkena pengait	30
3.6. Proses autolisis yang berlangsung lama dicirikan dengan tidak kembalinya daging ke posisi semula	33
3.7. Cahaya matahari dapat mempercepat proses autolisis	33
3.8. Reaksi pencoklatan pada bahan pangan yang mengandung gula	34
.....	
3.9. Ikan yang mengalami <i>burst belly</i>	36
4.1. Bahan pangan yang dikemas sesuai standar	42
5.1. Bayam yang mengalami dehidrasi	49
5.2. Penggunaan es untuk menurunkan suhu bahan pangan	50
5.3. Buah jambu yang disimpan pada suhu rendah teksturnya menjadi lunak	53
5.4. Apel yang terkelupas kulitnya (pelindung alaminya) akan mengalami proses pencoklatan sehingga menurunkan mutu	51
5.5. Ikan hasil panen yang tidak segera diberi es akan meningkat suhunya sehingga memacu pertumbuhan dan aktivitas mikroba maupun enzim proteolitik	51
5.6. Geladak kapal penangkapan ikan yang tidak bersih dapat menjadi sumber mikroba	51
5.7. Pemasaran ikan di pasar tradisional tanpa fasilitas pendingin dan air bersih, serta terjadi pencampuran ikan utuh dengan ikan yang sudah 'terbuka' merupakan penyebab penurunan	51
5.8. Udang segar yang tidak ditangani secara baik akan menyebabkan timbulnya noda hitam (<i>black spot</i>). Meskipun tidak berbahaya, munculnya bintik hitam akan menurunkan mutu udang	52
5.9. Saluran air yang tidak diperhatikan kebersihannya	52
5.10. Sanitasi lingkungan yang kurang diperhatikan dapat menjadi sumber mikroba	52
5.11. Pengangkutan ikan tanpa dilengkapi fasilitas pendingin akan mempercepat proses penurunan mutu	53
5.12. Badan dan pakaian pekerja yang kurang bersih dapat menjadi sumber pencemar bagi produk pangan	

5.13.	Sortasi ikan berdasarkan jenis, ukuran dan kesegaran akan lebih menjamin keseragaman mutu dari produk pangannya yang dihasilkan	54
5.14.	Kecepatan pemrosesan berpengaruh terhadap mutu produk filet yang dihasilkan	55
5.15.	Proses penjemuran ikan asin di alam terbuka kurang memberikan jaminan kebersihan sehingga akan mempengaruhi mutu	55
5.16.	Produk pangan yang dikemas secara terbuka memperbesar kemungkinan terjadinya rekontaminasi	56
5.17.	Pengemasan yang dilakukan saat produk pangan masih panas dapat menyebabkan mengumpalnya uap air di permukaan kemasan sehingga dapat digunakan oleh mikroba untuk tumbuh	56
5.18.	Alur proses produksi ikan segar	58
6.1.	Penggunaan air dalam jumlah terbatas untuk mencuci ikan dapat menjadi sumber kontaminasi ...	64
6.2.	Peralatan dan pakaian kerja yang dikenakan memberikan jaminan bahan pangan yang dihasilkan lebih bersih	65
6.3.	Alur proses ikan yang berbeda antara pintu masuk dan pintu keluar	66
6.4.	Kebersihan karyawan di salah satu industri perikanan	67
6.5.	Pembersihan limbah ikan menjaga kebersihan ruang kerja	68
6.6.	Kerusakan yang ditimbulkan oleh serangga pada jagung pipil selama penyimpanan	69
6.7.	Penanganan limbah	70
6.8.	Rambut yang terbuka dan kebersihan pakaian pekerja berpengaruh terhadap sanitasi	75
7.1.	Dokumen untuk memformalkan penentuan tim HACCP	89
7.2.	Formulir untuk bahan mentah dan bahan baku	92
7.3.	Formulir untuk produk antara dan produk akhir	93
7.4.	Formulir untuk mengumpulkan informasi tentang petunjuk penggunaan produk	95
7.5.	Formulir diagram alir	99
7.6.	Identifikasi potensi Bahaya Biologis	101
7.7.	Identifikasi potensi Bahaya Kimiawi	102
7.8.	Identifikasi potensi Bahaya Fisik	105
7.9.	Diagram Pohon Keputusan untuk penentuan titik kendali	

mutu	108
7.10. Lembar Identifikasi CCP	110
7.11. Formulir Potensi Bahaya yang Tidak Dikembalikan oleh Operator	111
7.12. Formulir Sistem Pengkajian Ulang	114
7.13. Formulir Sistem Pengkajian Ulang	119
7.14. Lember Kerja HACCP	125
8.1. Penyajian data dalam bentuk tabel	131
8.2. Penyajian data dalam bentuk grafik garis	131
8.3. Penyajian data dalam bentuk grafik histogram	131
8.4. Penyajian data dalam bentuk grafik batang	131
8.5. Penyajian data dalam bentuk grafik pie.....	131
8.6. Penyajian data dalam bentuk grafik garis	132
8.7. Penyajian data dalam bentuk grafik garis	132
8.8. Bagan kendali tipe X (atas) dan Tipe Y (bawah) ..	133
8.9. Autoclave yang dapat digunakan untuk sterilisasi dengan uap bertekanan	145
9.1. Beaker glass dengan berbagai ukuran	169
9.2. Gelas ukur	170
9.3. Labu Erlenmeyer dengan berbagai ukuran	171
9.4. Filtering flask	171
9.5. Labu volumetri (<i>volumetric flask</i>) dengan tutup dari bahan polipropilen	171
9.6a. Labu dasar rata (<i>flask flat bottom</i>)	172
9.6b. Labu dasar bulat (<i>flask round bottom</i>)	172
9.7a. Boiling flask flat bottom	172
9.7b. Boiling flask round bottom	172
9.8. Cawan petri	173
9.9. Tabung reaksi (test tube)	173
9.10. Botol pereaksi (reagen bottle) lengkap dengan tutupnya	174
9.11a. Bejana lonceng dengan knob di bagian atas	175
9.11b. Bejana lonceng yang dilengkapi dengan pompa penghisap	175
9.12a. Corong kaca	175
9.12b. Corong polipropilen	176
9.12c. Buchner porselen	176
9.13a. Desikator dengan lempengan porselen	176
9.13b. Desikator yang dilengkapi dengan kran penghampaan.....	176
9.14. Corong pemisah berbentuk lonjong (kiri) dan kerucut (kanan)	177
9.15. Krusibel dengan tutup	177
9.16. Mortar	178

9.17.	Filter	178
9.18.	Pipet tidak berskala	178
9.19a.	Pipet volumetri	179
9.19b.	Variabel pipet	179
9.20.	Buret	179
9.21.	Botol sampel BOD	179
9.22.	Termometer	180
9.23.	Piknometer	180
9.24.	Hidrometer	181
9.25.	Salinometer	181
9.26a.	Timbangan triple beam	182
9.26b.	Timbangan digital	182
9.27.	Otoklaf	182
9.28.	Laminar flow cabinet	183
9.29.	Sentrifuge	183
9.30.	Inkubator	183
9.31.	Peralatan transfer	184
9.32a.	Penjepit	184
9.32b.	Swivel utility clamp	184
9.32c.	Burette clamp single	184
9.33a.	Statif dengan batang statif tunggal yang terletak ditepi alas	185
9.33b.	Statif yang digunakan untuk memegang labu didih	185
9.34.	Nicholson hydrometer	186
9.35.	Neraca	186
9.36.	Proses inokulasi mikroba	187
9.37.	Cara pembacaan skala untuk menentukan volume bahan kimia menggunakan gelas ukur	188
9.38.	Cara menggunakan pipet ukur untuk menentukan volume bahan kimia cair	188
9.39.	Teknik menuangkan bahan kimia padat dengan menggunakan tutup botol	189
9.40.	Teknik penuangan bahan kimia padat menggunakan spatula atau sendok	189
9.41.	Teknik penuangan bahan kimia padat langsung dari botolnya	190
9.42.	Teknik penuangan bahan kimia cair dari dalam botol	190
9.43.	Urutan penyiapan kertas saring	191
9.44.	Proses penyaringan	191
9.45.	Proses pemanasan bahan dalam tabung reaksi ..	192
9.46.	Proses pemanasan bahan dalam gelas kimia	192
9.47.	Rak penyimpanan ose	194
9.48.	Rak penyimpanan pipet	194
9.49.	Rak penyimpanan tabung reaksi	194
9.50.	Rak penyimpanan curvette	194

9.51.	Rak penyimpanan kontainer pipet hisap	194
9.52.	Wadah sterilisasi cawan petri	196
9.53.	Wadah sterilisasi pipet	196
9.54.	Wadah untuk sterilisasi pipet hisap	197
9.55.	Wadah untuk sterilisasi pipet hisap	197
10.1.	Hand scoop (atas), plastic scoop (bawah)	205
10.2.	Tombak pengambil sampel	206
11.1.	Jenis kromatografi	223
12.1.	Riffle sample divider	228
13.1.	Kantong terbuat dari kertas kraft	250
13.2.	Kertas glasin	250
13.3.	Wax-kraft	250
13.4.	Kertas berlilin	250
13.5.	Kantong lock terbuat dari LDPE	253
13.6.	Kantong plastik makanan	253
13.7.	Boks plastik bening dari bahan poliester treptalat	253
13.8.	PP resin tidak beracun dengan transparansi yang baik terutama dikembangkan untuk berbagai jenis pangan	254
13.9.	Kotak sandwich	255
13.10.	Kotak makanan	255
13.11.	Kotak berbahan PVC	256
13.12.	Poliviniladen klorida (PVDC)	257
13.13.	Stiffness tester untuk mengukur ketebalan kemasan	263
13.14.	Thickness gauge	264
13.15.	Paper tensile strength tester	265
13.16.	Microcomputer tensile tester untuk menguji kekuatan tensil kemasan	267
13.17.	Westover type frictionometer untuk mengukur gaya gesek kemasan	268
13.18.	Lingkungan luar yang memiliki tekanan dan konsentrasi gas lebih besar memungkinkan gas memasuki kemasan	270
13.19.	Elmendorf type Tearing Tester.....	270
13.20.	Lipatan kaleng yang baik.....	272
14.1.	Berbagai jenis mikroba yang diambil dari kulit ikan	275
14.2.	Cotton plog	278
14.3.	Sleevelike cup	278
14.4.	Pemindahan mikroba menggunakan ose	279
14.5.	Agar miring	281
14.6.	Agar deep tube	281
14.7.	Lempengan agar pada cawan petri	281
14.8.	Berbagai media selektif	282
14.9.	Isolasi mikroba dengan metode lempeng gores ...	285

14.10.	Inokulasi mikroba dengan metode lempeng sebar ..	285
14.11.	Pengenceran	287
14.12.	Pewarnaan sederhana ditujukan untuk mengamati bentuk morfologis mikroba	291
14.13.	Pengamatan inti sel dengan pewarnaan diferensial	291
16.1.	Tabung ekstraksi soxhlet	360
16.2.	Botol babcock	362
16.3.	Tabung butirometer gerber	363
16.4.	Refraktometer abbe	369
16.5.	Generator kipp	390
17.1.	Boiler	411
17.2.	Chill water	411
17.3.	Mekanisme kerja boiler	412
17.4.	Bahan pangan yang dicuci dengan air dingin dan bersih akan tetap segar dan menyehatkan	413
17.5.	Endapan (putih) yang terbentuk pada saluran air dalam boiler yang menggunakan air dengan nilai kekerasan >20mg/L	414
18.1.	Cemaran Aspergillus pada tongkol jagung	425
18.2.	Teknik pemasaran ikan secara terbuka memungkinkan terjadinya rekontaminasi.....	433
18.3.	Mikroba pada bahan pangan dan dampaknya pada kesehatan manusia.....	436

DAFTAR TABEL

1.1.	Hubungan temperatur lingkungan dengan panas respirasi	7
3.1.	Material, bahaya yang ditimbulkan dan sumber bahaya fisik	32
3.2.	Senyawa kimia yang terkandung dalam bahan pangan dan ambang batasnya	35
3.3.	Jenis bakteri pembusuk	37
3.4.	Jenis bakteri patogen	37
5.1.	Lembar Analisis Proses produksi baik hasil perikanan	63
6.1.	Bahan pengawet makanan yang umum digunakan	75
6.2.	Senyawa antiseptik dan desinfektan	76
9.1.	Metode Sterilisasi	195
10.1.	Data hasil pengambilan sample	211
10.2.	Sampling di tempat pendaratan ikan	214
10.3.	Sampling untuk kesegaran ikan di pabrik	214
12.1.	Konsentrasi larutan dalam persen massa	231
12.2.	Volume akuades yang ditambahkan	232
12.3.	Bobot senyawa yang harus dilarutkan hingga volume menjadi 1 liter	233
13.1.	Beberapa jenis selopan dan contoh penggunaannya	258
13.2.	Karakteristik fisik selulosa asetat dan selulosa propionate	259
13.3.	Rekapitulasi hasil uji bakar kemasan	269
14.1.	Mikroba, media dan karakteristik	277
14.2.	Karakteristik pertumbuhan koloni bakteri	290
17.1.	Daftar persyaratan kualitas air bersih	402
17.2.	Hubungan antara tekanan uap boiler dengan maksimum total padatan terlarut	413
17.3.	Hubungan antara tekanan uap boiler dengan maksimum alkalinitas	414
17.4.	Hubungan antara tekanan uap boiler dengan maksimum kekerasan air	414
18.1.	Batas maksimum cemaran mikroba pada produk pangan	419
18.2.	Tingkat cemaran mikroba pada beberapa jenis sayuran	427
18.3.	Mikroba pada bahan pangan dan dampaknya pada kesehatan manusia	436

18.4.	Jaringan Bahan Pangan	437
18.5.	Skema penerapan sistem keamanan pangan pada setiap tahapan produksi.....	438
18.6.	Pembagian tanggungjawab diantara berbagai pihak yang terkait dalam memberikan jaminan keamanan pangan	445
18.7.	Perbandingan air dan garam untuk menda-patkan nilai specific gravity tertentu	454

ISBN 978-602-8320-92-4

ISBN 978-602-8320-94-8

Buku ini telah dinilai oleh Badan Standar Nasional Pendidikan (BSNP) dan telah dinyatakan layak sebagai buku teks pelajaran berdasarkan Peraturan Menteri Pendidikan Nasional Nomor 45 Tahun 2008 tanggal 15 Agustus 2008 tentang Penetapan Buku Teks Pelajaran yang Memenuhi Syarat Kelayakan untuk digunakan dalam Proses Pembelajaran.

HET (Harga Eceran Tertinggi) Rp. 23,298.00