

**LAPORAN PRAKTIK KERJA INDUSTRI  
PT.DUA KELINCI**

Jl.Raya Pati-Kudus KM 6,3 Pati 59163 – Jawa Tengah Indonesia

*PRAKTEK KERJA LAPANGAN*

*Dibuat Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Dalam  
Menyelesaikan Program Pendidikan Sebagai  
Ahli Madya Analis Farmasi dan Makanan*



Oleh :

**Yulia Yuchrima P R**      **28161376C**  
**Obet Gilang D**      **28161377C**  
**Sekar Ayu Kartikasari**      **28161387C**

**D III ANALIS FARMASI DAN MAKANAN  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
TAHUN 2019**

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**LAPORAN PRAKTEK KERJA INDUSTRI PT.DUA KELINCI**

Laporan hasil praktik kerja lapangan (PKL) di PT Dua Kelinci Pati telah diselesaikan dan disahkan :

Hari/Tanggal : Senin/29 April 2019  
Tempat : PT. DUA KELINCI

Telah Menyetujui  
Dosen Pembimbing PKL

(Dr. Iswandi, S.Si.,M.Farm.,Apt)

Mengetahui  
Ketua Jurusan

D-III Analis Farmasi dan Makanan

(Mamik Poneo Rahayu, M.Si.,Apt)

## **HALAMAN PENGESAHAN PERUSAHAAN LAPORAN PRAKTEK KERJA INDUSTRI PT. DUA KELINCI**

Laporan hasil praktik kerja lapangan (PKL) di PT Dua Kelinci Pati telah diselesaikan dan disahkan :

Hari/Tangga : Senin/29 April 2019

Tempat : PT. DUA KELINCI

Mengetahui

HRD Senior Manager

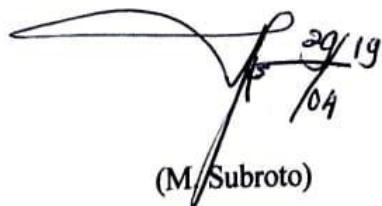
(Tofan Rudiyanto)



Mengetahui

SRE Senior Manager

(M. Subroto)



## **KATA PENGANTAR**

Kami ucapan puji syukur serta nikmat pada Allah SWT atas rahmatNya yang melimpah. Atas terselesaikannya kegiatan Praktek Kerja Lapangan di PT. Dua Kelinci Pati.

Laporan ini dibuat untuk memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program pendidikan sebagai Ahli Madya Analis Farmasi dan Makanan Universitas Setia Budi. Tujuan dibuatnya laporan Praktik Kerja Lapangan ini yaitu untuk melaporkan segala sesuatu yang ada kaitannya dengan kegiatan di PT. Dua Kelinci.

Dalam penyusunan laporan Praktik Kerja Lapangan ini, tentu tak lepas dari pengarahan dan bimbingan dari berbagai pihak. Maka penulis ucapan rasa hormat dan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu. Pihak-pihak yang terkait itu diantaranya sebagai berikut :

1. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang sudah memberikan banyak informasi
2. Karyawan dan karyawati PT. Dua Kelinci yang dengan tulus memberi pengarahan pada penulis selama penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di perusahaan tersebut.
3. Orang Tua dan teman-teman penulis terima kasih banyak atas dukungannya.

Karena kebaikan semua pihak yang telah penulis sebutkan tadi maka penulis bisa menyelesaikan laporan Praktik Kerja Lapangan ini dengan sebaik-baiknya. Laporan Praktik Kerja Lapangan ini memang masih jauh dari kesempurnaan, tapi penulis sudah berusaha sebaik mungkin. Sekali lagi terima kasih. Semoga laporan ini bermanfaat bagi kita semua.

Pati, 22 April 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>COVER .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN PERUSAHAAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>v</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang Prakerin.....	1
1.2 Tujuan Praktik Kerja Industri.....	1
1.3 Sejarah Perusahaan.....	2
1.4 Manajemen Perusahaan.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>7</b>
2.1 Analisa Mikrobiologi .....	7
2.1.1 Total Plate Count (TPC) .....	7
2.1.2 Colliform .....	8
2.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
2.1.4 Kapang dan Khamir .....	9
2.1.5 <i>Salmonella sp</i> .....	10
2.2 Analisa Kimia.....	13
2.2.1 Asam Lemak Bebas (FFA).....	13
2.2.2 Angka Peroksida (PV).....	14
2.2.3 Analisa Kadar Lemak.....	24
2.3 Limbah .....	25
2.3.1 pH.....	26
2.3.2 Suhu .....	27
<b>BAB III METODELOGI PENELITIAN.....</b>	<b>28</b>
3.1 Tempat Dan Waktu Pelaksanaan .....	28
3.2 Metode Dan Pengumpulan Data .....	28
3.2.2 Observasi atau Pengamatan .....	28
3.2.3 Studi kepustakaan.....	28
3.3 Metode Penelitian.....	29

3.3.1 Analisis Mikrobiologi .....	29
3.3.1.1 Total Plate Count (TPC) .....	29
3.3.1.2 Coliform .....	33
3.3.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	34
3.3.1.4 Kapang dan Khamir .....	35
3.3.1.5 <i>Salmonella spp</i> (Metode Rambach) .....	36
3.3.2 Analisa Kimia.....	38
3.3.2.1 Asam Lemak Bebas (ALB/FFA) .....	38
3.3.2.2 Angka Peroksida (AP/PV) .....	39
3.3.2.3 Analisa Kadar Lemak.....	41
3.3.4 Limbah .....	42
3.3.4.1 pH.....	42
3.3.4.2 Suhu .....	43
<b>BAB IV PEMBAHASAN.....</b>	<b>44</b>
4.1 Analisa Mikrobiologi .....	44
4.1.1 Analisa Total Plate Count (TPC) .....	44
4.1.2 Colliform .....	44
4.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	45
4.1.4 Kapang dan Khamir .....	45
4.1.5 <i>Salmonella spp</i> .....	46
4.2 Analisa Kimia.....	47
4.2.1 Analisa Mutu Minyak .....	47
4.2.1.1 Asam Lemak Bebas (ALB).....	47
4.2.1.2 Angka Peroksida (AP).....	49
4.2.2 Analisa Kadar Lemak.....	51
4.3 Limbah .....	52
4.3.1 Pengukuran pH.....	52
4.3.2 Pengukuran suhu .....	53
4.4 Tugas Khusus.....	54
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>59</b>
5.1 Kesimpulan .....	59

5.2 Kritik Dan Saran .....	60
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>61</b>
<b>Lampiran 1 Rumus Perhitungan.....</b>	<b>64</b>
<b>Lampiran 2 Pembuatan Larutan Standar .....</b>	<b>65</b>
<b>Lampiran 3 Perhitungan .....</b>	<b>67</b>
<b>Lampiran 4 Bagan SOP Tugas Khusus .....</b>	<b>69</b>



# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Prakerin**

Program studi Diploma III Analis Farmasi dan Makanan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi mempunyai standart kurikulum yang ditetapkan. Praktik Kerja Lapangan (PKL) merupakan salah satu syarat untuk menempuh gelar ahli madya. Adapun latar belakangnya adalah sebagai berikut :

- a. Dalam menghasilkan tenaga kerja di bidang industri khususnya industri kimia yang cakap, terampil serta berkepribadian yang baik, mandiri dan siap kerja ataupun dapat menciptakan lapangan kerja sendiri perlu dilakukan Praktik Kerja Industri.
- b. Dengan adanya program ini, maka siswa akan mendapat bekal keterampilan yang sesungguhnya di dunia kerja.
- c. Selain itu juga akan mendapat bekal keterampilan yang sesungguhnya di dunia kerja. Dan juga akan memberikan kesempatan kepada para siswa untuk dapat mengenal lebih lanjut tentang dunia kerja maupun sikap mental kerja dan mengaplikasikan ilmu yang telah diperoleh selama disekolah sebelum ke dunia kerja sesungguhnya.

### **1.2 Tujuan Praktik Kerja Industri**

#### **a. Latihan Kerja**

Dengan mengikuti Praktik Kerja Lapangan (PKL) mahasiswa dilatih untuk dapat bekerja sesuai dengan jam kerja perusahaan/instansi. Siswa diharapkan dapat berperan sebagai pekerja yang bertanggung jawab dibidangnya, memahami peraturan ketenagakerjaan dan melaksanakan dengan baik.

#### **b. Latihan Penyesuaian Lingkungan Kerja**

Selama Praktik Kerja Lapangan (PKL), mahasiswa akan bergaul dengan karyawan perusahaan/instansi sehingga mempunyai pengalaman dalam hal bekerja sama dengan rekan sekerja.

c. Latihan Kedisiplinan sebagai Karyawan

Praktik Kerja Lapangan merupakan wahana pengenalan dan latihan mematuhi peraturan yang berlaku di perusahaan/instansi. Jika terjadi pelanggaran tata tertib/peraturan dimohon perusahaan/instansi memberikan teguran, sanksi ataupun tindakkan lainnya serta mencantumkan hal tersebut kedalam lembar penilaian siswa sehingga sekolah dapat memberikan pembinaan lebih lanjut.

d. Sebagai Studi Banding antara Ilmu yang diperoleh di fakultas.

Dengan penerapannya di perusahaan/instansi selama melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL), mahasiswa diharapkan mampu melihat, mengamati, memahami dan membandingkan operasi dengan proses produksi yang dijalankan di perusahaan/instansi serta dapat memecahkan suatu masalah di perusahaan/instansi tempat dilaksanakannya Praktik Kerja Lapangan (PKL)

### **1.3 Sejarah Perusahaan**

PT. DUA KELINCI berawal pada tahun 1927, dimana berdiri sebuah industri rumah tangga kecil yang memproduksi kacang garing di wilayah Surabaya. Industri rumah tangga tersebut didirikan oleh Bapak Hadi Soetiono dan Ibu Noer Wahyu Budiman. Industri rumah tangga kecil ini berangkat dengan visi sederhana yaitu memproduksi kacang garing yang berkualitas. Kacang garing ini hanya dipasarkan di wilayah Surabaya dan sekitarnya. Dahulu produk kacang garing dikemas dengan nama Sari Guruh dengan logo Dua Kelinci, tetapi masyarakat sekitar lebih mengenal dengan sebutan kacang Dua Kelinci dibanding dengan Sari Guruh. Akhirnya pada tahun 1985 nama yang awalnya Sari Guruh diganti dengan Dua Kelinci. Pada tahun ini juga PT. DUA KELINCI membangun pabrik baru seluas 6 hektar di wilayah Pati-Jawa Tengah. Wilayah Pati dipilih karena memiliki posisi yang strategis untuk mendapatkan kacang dengan kualitas segar dan bagus secara terus menerus.

Seiring dengan berjalananya waktu PT. DUA KELINCI juga terus menerus dan teratur melakukan inovasi-inovasi untuk menemukan produk-produk baru

untuk dipasarkan di masyarakat Di tahun 2000 telah meluncurkan produk-produk baru seperti kacang shanghai DK, Hot Nut, HA Lofet, Garlic Nut dan lain-lain.

### 1.3.1 GAMBARAN PERUSAHAAN

PT. DUA KELINCI terletak di jalan Pati- Kudus km 6,3. Lokasi pabrik ini berbatasan dengan:

1. Utara : Desa Gantungan, Kecamatan Margorejo
2. Selatan : Desa Soko, Kecamatan Margorejo
3. Timur : Desa Soko, Kecamatan Margorejo
4. Barat : Desa Lumpur, Kecamatan Margorejo

Jika dilihat dari pemilihan lokasi pabrik ini mempunyai beberapa keuntungan diantaranya :

1. Dekat dengan daerah penghasil kacang tanah, baik di Jawa Tengah seperti Wonogiri, Jepara, Kudus maupun dari Jawa Timur seperti Tuban dan Pasuruan.
2. Cukup tersedia tenaga kerja baik harian maupun kontrak.
3. Sangat dekat dengan pantai utara jawa (Pantura) sehingga akses bahan baku. Distribusi produk mudah dilakukan.
4. Tersedianya sumber air yang cukup untuk kebutuhan pabrik, baik untuk proses produksi maupun kebutuhan lain.

### 1.3.2 Falsafah Perusahaan

1. Visi

“Menghasilkan produk-produk kacang dengan kualitas terbaik di dunia”

2. Motto

“*We are not the biggest but we are the best*”

3. Budaya

Kejujuran dan profesionalisme merupakan faktor yang tidak dapat diabaikan dalam produksi, penelitian, dan pengembangan serta distribusi dan pemasaran. Untuk menghasilkan produk kacang yang berkualitas maka dibutuhkan sumber daya manusia yang jujur dan profesional di bidangnya masing-masing.

a. Tujuan Pendirian Perusahaan

Tujuan didirikan PT. DUA KELINCI adalah:

- Mendapat keuntungan yang maksimal.
- Membuka lapangan kerja.
- Memenuhi kebutuhan masyarakat dalam bentuk makanan ringan.

## 1.4 Manajemen Perusahaan

### 1.4.1 Struktur Organisasi Perusahaan

Pada dasarnya prinsip utama organisasi adalah sekelompok orang yang bekerja sama untuk mencapai suatu tujuan atau sasaranyang telah ditentukan. Bentuk dan sistem organisasi sangat menentukan berhasil atau tidaknya dalam menjalankan suatu perusahaan.

Struktur Organisasi pada PT. DUA KELINCI menerapkan bentuk organisasi lini dan staff. Garis kekuasaan pada organisasi ini adalah lurus kebawah dan setiap bawahan bertanggung jawab langsung kepada atasannya. Wewenang pada organisasi lini biasanya berwujud wewenang dari atasan ke bawahan secara langsung. Posisi staf berfungsi untuk membantu pelaksanaan tugas perusahaan. Direktur utama perusahaan sebagai motor penggerak yang bertugas memberi motivasi dan saran. Direktur utama membawahi direktur, kemudian direktur membawahi Direktur pemasaran, Direktur financial, Direktur Pembelian, dan Direktur operational . Posisi staf memiliki hak untuk menyarankan, merekomendasi atau konsultasi kepada personal lini. Akan tetapi, para staf tidak memiliki wewenang memerintah personal lini. Penerapan bentuk ini bermaksud untuk memudahkan koordinasi kerja. Selain itu, supaya kebijaksanaan strategis perusahaan dapat diturunkan dengan lancar ke seluruh bagian.

### 1.4.2 Pelaksanaan Kerja

Berdasarkan cara penggajiannya, tenaga kerja di PT. DUA KELINCI ini dibagi menjadi 3 macam, yaitu pekerja bulanan, harian tetap dan kontrak.

Dalam pelaksanaan harian, pekerja PT. DUA KELINCI dibagi menjadi 2 macam jam kerja yaitu shift dan non shift.

PEKERJA	JAM KERJA
---------	-----------

Non shift	07:00-15:45
Shift 1	06:45-14:45
Shift 2	14:45-10:45
Shift 3	10:45-06:45

#### 1.4.3. Ketenagakerjaan

Tenaga kerja merupakan aset perusahaan yang sangat berharga, karena tenaga kerja merupakan bagian dari perusahaan yang menentukan kesuksesan dan kelangsungan hidup perusahaan. Tanpa adanya tenaga kerja yang baik dan kompeten, maka perusahaan tidak akan dapat berjalan dengan baik.

Sebagai perusahaan argo industri, PT. DUA KELINCI juga mempunyai ciri khas termasuk dalam tenaga kerja yang dimilikinya. Jumlah tenaga kerja berfluktuasi sesuai dengan jumlah produksi yang bersifat musiman. Kebutuhan tenaga kerja meningkat pada waktu musim panen, khususnya pada bagian pemasakan, pengeringan dan sortir. Berdasarkan tingkat pendidikannya, tenaga kerja yang ada di PT. DUA KELINCI sebagian besar terdiri dari tamatan SD, SMP dan SMA, yang ditempatkan pada bagian sortir, pengemasan, pencucian, pemasakan dan pengeringan. Dalam PT. DUA KELINCI di kenal empat status tenaga kerja yaitu karyawan bulanan, harian, bantuan dan borongan. Karyawan bulanan adalah karyawan yang sifatnya mengikat, mempunyai pekerjaan tetap dan menerima upah berdasarkan upah bulanan. Karyawan bulanan ini meliputi karyawan managerial, staf, Kepala bagian, supervisory dan satpam. Karyawan harian adalah karyawan yang sifatnya tidak mengikat dan menerima upah berdasarkan upah harian. Karyawan harian ini meliputi buruh-buruh pabrik di sub bagian pemasakan, pengeringan, sortir, pengovenan, pengemasan, teknisi dan umum. Karyawan bantuan adalah karyawan yang sifatnya temporer (bekerja antara 1-3 bulan), menerima upah berdasarkan produktivitas kerja/harian dan biasanya diperbantukan pada musim-musim panen kacang tanah yaitu saat stok bahan baku kacang tanah melimpah sehingga perusahaan merasa perlu untuk menambah jumlah tenaga kerja di tiap-tiap bagian produksi. Sedangkan karyawan borongan adalah karyawan sementara yang ditempatkan pada bagian sortir dan

pengemasan, maupun bagian lain yang menerima upah berdasarkan produktivitasnya atau harian dengan jumlah tenaganya tergantung kebutuhan.

#### 1.4.4. Kesejahteraan Karyawan

Di PT. DUA KELINCI memberikan berbagai fasilitas dan jaminan antara lain:

- Untuk karyawan bulanan ada jamsostek untuk jaminan hari tua.
- Untuk karyawan harian tetap ada jamsostek untuk jaminan hari tua.
- Untuk karyawan kontrak ada jamsostek (non hari tua) kecelakaan kerja.
- Selain itu ada juga pelayanan poliklinik setempat untuk semua karyawan

#### 1.4.5. Fasilitas

PT.DUA KELINCI memberikan beberapa fasilitas kepada karyawan untuk menunjang kenyamanan pekerja, antara lain :

1. Kamar mandi, ruang ganti, dan loker; untuk menyimpan barang bawaan pekerja serta perlengkapan kerja seperti penutup kepala, masker, sarung tangan, dan sepatu boot.
2. Musholla ; sebagai sarana ibadah bagi umat Islam.
3. Kantin / tempat untuk makan.
4. Koperasi.
5. Ruang training.
6. Poliklinik.
7. Mesh untuk karyawan tetap yang tempat tinggalnya jauh dari pabrik.
8. Kios “WAROENG PATI” : Di kios ini menjual semua produk yang di produksi di PT.DUA KELINCI . Tidak hanya makanan tetapi juga aksesoris seperti Topi, kaos, bola dan lain-lain.Kios ini buka sampai 24 jam.
9. Sepeda: digunakan untuk mempermudah karyawan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Analisa Mikrobiologi**

##### **2.1.1 Total Plate Count (TPC)**

Teknik isolasi/pemisahan dilakukan dengan berbagai cara , antara lain: melakukan pengenceran berseri dilanjutkan dengan membiakkan pada media yang sesuai yaitu metode cawan tuang (*pour plate*) atau cawan gores (*streak plate* ). Metode ini didasarkan pada prinsip yang sama yakni mengencerkan organisme sedemikian sehingga individu spesies dapat dipisahkan dari lainnya, dengan anggapan bahwa setiap koloni yang tampak pada cawan setelah inkubasi berasal dari satu sel tunggal. Ada beberapa teknik dalam TPC yaitu :

###### **A. TEKNIK DILUSI (Pengenceran)**

Teknik dilusi sangat penting di dalam analisa mikrobiologi. Karena hampir semua metode perhitungan jumlah sel mikroba mempergunakan teknik ini, seperti

###### **B. TPC (*Total Plate Count*)**

Dengan mencampurkan media agar yang masih cair dengan stok kultur bakteri. Medium agar dicairkan dengan pemanasan dalam *water bath* dan didinginkan ( $50^0\text{C}$ ), kemudian dicawangkan. Teknik ini biasa digunakan pada uji TPC (*Total Plate Count*). Kelebihan teknik ini adalah mikroba yang tumbuh dapat tersebar merata pada media agar. Metode ini memboroskan bahan dan waktu, namun tidak memerlukan keterampilan yang terlalu tinggi (Darkuni,2001).

###### **C. TEKNIK STREAK PLATE (lempeng gores)**

Teknik *Streak Plate* (lempeng gores) adalah suatu teknik di dalam menumbuhkan mikroorganisme di dalam media agar dengan cara *streak* (menggores) permukaan agar dengan jarum oase yang telah diinokulasikan dengan kultur bakteri. Teknik ini juga dapat digunakan untuk memperoleh koloni murni dari populasi campuran mikroorganisme selain teknik *pour*

*plate* (lempeng tuang). Dengan teknik ini mikroorganisme yang tumbuh akan tampak dalam goresan-goresan inokulum bekas dari *streak* jarum ose. Metode ini dapat menghemat bahan dan waktu. Namun untuk memperoleh hasil yang baik, diperlukan keterampilan yang biasanya dapat diperoleh dari pengalaman. Jika metode ini dilaksanakan dengan baik, akan memperoleh koloni tunggal mikroba seperti yang diinginkan (Darkuni,2001).

### **2.1.2 Colliform**

Bakteri Colliform merupakan golongan mikroorganisme yang lazim digunakan sebagai indikator, dimana bakteri ini dapat menjadi sinyal untuk menentukan suatu sumber air telah terkontaminasi oleh patogen atau tidak. Berdasarkan penelitian, bakteri Colliform ini menghasilkan zat etionin yang dapat menyebabkan kanker. Selain itu, bakteri pembusuk ini juga memproduksi bermacam-macam racun seperti indol dan skatol yang dapat menimbulkan penyakit bila jumlahnya berlebih didalam tubuh. Bakteri Colliform dapat digunakan sebagai indikator karena identitasnya berbanding lurus dengan tingkat pencemaran air. Bakteri ini dapat mendeteksi patogen pada air seperti virus, protozoa, dan parasit. Selain itu, bakteri ini juga memiliki daya tahan yang lebih tinggi daripada patogen serta lebih mudah diisolasi dan ditumbuhkan (Sandjaya, B. 1992).

Ciri-ciri bakteri Colliform antara lain bersifat paerob atau paerob fakultatif, termasuk kedalam bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, dan dapat memfermentasi laktosa untuk menghasilkan asam dan gas pada suhu 35<sup>0</sup>C-37<sup>0</sup>C. Contoh bakteri Colliform antara lain *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan lain-lain (Sandjaya, B. 1992).

### **2.1.3 *Staphylococcus aureus***

Untuk deteksi awal, ditujukan guna mengetahui adanya *Staphylococcus aureus* pada bahan baku dan *finished good*. *Staphylococcus aureus* tahan garam dan tumbuh baik pada medium yang mengandung 75 % NaCl serta dapat fermentasi mannitol. Untuk melakukan analisa mikrobiologi yang bertujuan untuk

mengetahui adanya bakteri *Staphylococcus aureus* dalam suatu contoh dipergunakan suatu media. Media diramu oleh ahli mikrobiologi untuk menjaring dan membedakan mikroorganisme. Media yang digunakan ‘media selektif’, adalah media biakan yang mengandung paling sedikit satu bahan yang menghambat perkembangbiakan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan membolehkan perkembangbiakan mikroorganisme tertentu yang ingin diisolasi. Bahan yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme adalah antibiotik (Dwidjoseputro,2005).

Pengujian bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dalam 2 tahap, yaitu uji kualitatif dan uji kuantitatif. Uji kualitatif dimulai dengan tahap “enrichment” pada medium cair selektif *Giolitti Cantoni* kemudian dilanjutkan dengan tahap seleksi dan isolasi pada medium padat BPA (*Baird Parker Agar*). Setelah tahap seleksi dan isolasi dilanjutkan dengan identifikasi dan *typing* koagulasi. Tahap enrichment pada medium cair selektif *Giolitti Cantoni* bertujuan untuk memperbanyak sel atau “enrichment”. Pada tahap ini setiap contoh ditambahkan kalium tellurite yang bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba selain *Staphylococcus aureus*. Uji seleksi dan isolasi pada medium padat selektif BPA yang diberi *Egg Yolk* (EY) *tellurite enrichment* digunakan untuk mendeteksi *Staphylococcus aureus* yang bersifat koagulase positif didalam contoh. Medium juga ini mengandung piruvat dan glisin untuk merangsang pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Dwidjoseputro,2005).

#### **2.1.4 Kapang dan Khamir**

Kapang (*mould/filamentous fungi*) merupakan mikroorganisme anggota kingdom fungi yang membentuk hifa (Carlile & Watkinson 1994). Kapang bukan merupakan kelompok taksonomi yang resmi, sehingga anggota-anggota dari kapang tersebar kedalam filum *Glomeromycota, Ascomycota, dan Basidiomycota* (Hibbet et al. 2007). Carlile & Watkinson (1994) menyatakan bahwa jumlah spesies fungi yang telah teridentifikasi hingga tahun 1994 mencapai 70.000 spesies, dengan perkiraan penambahan 600 spesies setiap tahun. Dari jumlah tersebut, sekitar 10.000 spesies merupakan kapang. Menurut Moncalvo (1997)

dan Kuhn & Gannoum (2003), sebagian besar spesies fungi terdapat di daerah tropis disebabkan karena kondisi iklim daerah di daerah tropis yang hangat dan lembab yang mendukung pertumbuhannya. Habitat kapang sangat beragam, namun pada umumnya kapang dapat tumbuh pada substrat yang mengandung sumber karbon organik (Carlie & Watkinson 1994).

Khamir adalah fungi ekasel (*uniseluler*) yang beberapa jenis spesiesnya umum digunakan untuk membuat roti, fermentasi minuman beralkohol, dan bahkan digunakan percobaan sel bahan bakar. Kebanyakan khamir merupakan anggota divisi *Asomycota*, walaupun ada juga yang digolongkan dalam *Basidiomycota*. Beberapa jenis khamir, seperti *Candida albicans*, dapat menyebabkan infeksi pada manusia (Kandidiasis). Lebih dari seribu spesies khamir telah diidentifikasi. Khamir yang paling umum digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yang dimanfaatkan untuk produksi anggur, roti, dan bir sejak ribuan tahun silam dalam bentuk ragi (Carlie & Watkinson 1994).

Gangguan kesehatan yang diakibatkan spora kapang dan khamir terutama akan menyerang saluran pernapasan. Asma, alergi rintis, dan sinusitis merupakan gangguan kesehatan yang paling umum dijumpai sebagai hasil kerja sistem imunisasi tubuh yang menyerang spora yang terhirup (Curtis et al. 2004; Mazur et al. 2006).

Penyakit lain adalah infeksi kapang pada saluran pernapasan atau biasa disebut dengan mikosis. Salah satu penyakit mikosis yang umum adalah Aspergillosis, yaitu tumbuhnya kapang dari genus *Aspergillus* pada saluran pernapasan (Soubani & Chandrasekar 2002).

### **2.1.5 *Salmonella* sp.**

*Salmonella* sp. adalah suatu genus bakteri enterobakteria gram-negatif berbentuk tongkat yang menyebabkan tifoid, paratifoid, dan penyakit *foodborne*. Spesies-spesies *Salmonella* sp. dapat bergerak bebas dan menghasilkan hidrogen sulfida. *Salmonella* sp. dinamai dari Daniel Edward Salmon ahli patologi Amerika, walaupun sebenarnya, rekannya Theobald Smith (yang terkenal akan

hasilnya pada anafilaksis) yang pertama kali menemukan bakterium tahun 1885 pada tubuh babi (Sujaya,2005).

Bakteri *Salmonella spp* adalah bakteri yang menular dengan kecepatan luar biasa, dan bisa memperburuk dalam waktu yang sangat cepat. Infeksi *Salmonella sp.*, disebabkan oleh bakteri *Salmonellosis*, bisa menyebabkan dehidrasi ekstrim dan juga kematian. *Salmonellosis* disebarluaskan kepada orang-orang dengan memakan bakteri *Salmonella sp.* yang mengkontaminasi dan mencemari makanan. *Salmonella sp.* ada diseluruh dunia dan dapat mencemari hampir segala tipe makanan. Namun sumber dari penyakit baru-baru ini melibatkan makanan-makanan seperti telur-telur mentah, daging mentah, sayur-sayur segar,ereal, dan air yang tercemar (Sujaya,2005).

Pencemaran dan penyebaran infeksi dan bakteri *Salmonella sp.* ini dapat datang dari feses hewan atau manusia yang berhubungan dengan makanan selama pemrosesannya atau panen. Dari hasil yang tersedia dari *U.S. Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) atau FDA, sumber-sumber langsung yang berpotensi dari *Salmonella spp* adalah hewan-hewan peliharaan seperti kura-kura, anjing, kucing, kebanyakan hewan-hewan ternak, dan manusia-manusia yang terinfeksi. Menurut penelitian-penelitian di seluruh dunia, para ahli menyarankan sumber-sumber makanan, air, atau sumber-sumber lain dari pencemaran mengandung jumlah-jumlah yang besar dari bakteri-bakteri. Meskipun asam lambung manusia dapat mengurangi, menguras sedikit dan membunuh infeksi *Salmonella spp*, masih ada beberapa bakteri-bakteri dapat lolos ke dalam usus besar maupun usus kecil, dan kemudian melekat dan menembus sel-sel dalam tubuh manusia (Sujaya,2005).

Racun-racun yang dihasilkan oleh bakteri dapat merusak dan membunuh sel-sel yang melapisi usus-usus, yang berakibat pada kehilangan cairan usus (diare). Beberapa *Salmonella sp.* dapat selamat dalam sel-sel dari sistem imun dan dapat mencapai aliran darah, menyebabkan infeksi darah (*bacteremia*). Tidak hanya itu, ketika infeksi *Salmonella sp.* sudah memasuki dan mencapai aliran darah, akan mengakibatkan panas dalam, muntaber dan sakit perut yang ekstrim. Biasanya, yang terinfeksi oleh infeksi *Salmonella sp.* adalah masa bayi-bayi, masa

kanak-kanak, masa tua dan orang yang mempunyai sistem imun yang sangatlah lemah. Sistem imun adalah sistem, termasuk *thymus dan bone marrow and lymphoid tissue*, yang menjaga dan melindungi tubuh manusia dari infeksi dan bakteri yang asing dengan memproduksi respon imun yang kuat (Sujaya,2005).

Akan tetapi, orang yang mempunyai sistem imun yang sangat lemah, tidak kuat untuk menahan infeksi ataupun bakteri memasuki tubuhnya. Bayi dan kanak-kanak adalah tahapan pertumbuhan paling awal, dan sejak masa itulah sistem imun seorang bayi masih terlalu muda dan belum terlalu kuat untuk melawan infeksi dan bakteri berbahaya, seperti infeksi *Salmonella sp.* Sedangkan orang yang sudah cukup tua sudah mencapai tahapan pertumbuhan paling terakhir, dan sejak masa itulah sistem imun seorang yang tua sudah terlalu lemah dan tidak kuat untuk menahan bakteri *Salmonella sp.* yang amat sangat berbahaya bagi manusia itu (Sujaya,2005).

Tidak semua bakteri atau infeksi saling menular. Bakteri saling menular dengan 3 cara yaitu secara bersentuhan, secara berterbangan di udara, dan secara makanan ataupun minuman yang kita konsumsi setiap hari. Bakteri *Salmonellosis* adalah bakteri yang menular dengan semua cara tersebut dengan kecepatan yang luar biasa. Dari hasil penelitian, para ahli menyatakan bahwa bakteri *Salmonellosis* adalah bakteri yang mudah dihilangkan tetapi ketika tubuh kita diberi antibiotik, bakteri *Salmonellosis* tersebut bisa tambah aktif dan membuat proses penularan lebih cepat dibandingkan biasanya. Efek-efek dari serangan bakteri *Salmonella spp* ini juga sangat berbahaya jika tidak diobati atau dirawat karena bisa menghancurkan sistem imun dengan fatal. Bakteri *Salmonellosis* adalah bakteri yang menular dengan cara bersentuhan. Contohnya adalah hewan peliharaan kita atau hewan reptil seperti ular dan cicak. Ketika kita menyentuh hewan yang membawa bakteri tersebut, bakterinya akan menyangkut dan menempel di rambut kulit dan lama kelamaan, bisa masuk ke dalam tubuh kita. Bakteri *Salmonellosis* ini juga menular dengan sangat cepat lewat udara. Ketika tubuh kita terinfeksi oleh Infeksi *Salmonella sp.*, kita akan mengalami flu yang berat. Dengan flu tersebut, udara yang mengelilingi kita akan terkontaminasi oleh bakteri-bakteri *Salmonellosis*, yang bisa mengakibatkan penularan yang cepat.

Tidak hanya lewat udara dan penyentuhan, bakteri *Salmonellosis* ini saling menular dengan cara makanan atau minuman. Kalau makanan dan minuman kita terkontaminasi oleh bakteri ini, kita akan mendapat Infeksi *Salmonella sp.* dengan cara memakan atau meminumnya (Sujaya,2005).

## 2.2 Analisa Kimia

### 2.2.1 Asam Lemak Bebas (FFA)

Asam lemak bebas dalam minyak tidak dikehendaki, karena degradasi senyawa tersebut lebih lanjut menghasilkan produk yang berpengaruh terhadap rasa dan bau yang tidak disukai dalam minyak. Kadar asam lemak bebas dalam minyak yang semakin besar menunjukan bahwa minyak tersebut berkualitas makin rendah. Minyak yang banyak mengandung asam lemak bebas, tidak tahan disimpan lama. Banyaknya asam lemak bebas yang dikandung dalam minyak dapat ditentukan berdasarkan jumlah basa yang diperlukan untuk menetralkan minyak. Besar kandungan asam lemak bebas dinyatakan dalam persen asam lemak bebas atau dalam bentuk angka asam (Jeski,2012).

Asam lemak adalah asam karboksilat dengan panjang alifatik ekor (rantai), yang baik jenuh maupun tak jenuh. Kebanyakan alami asam lemak rantai telah bahkan jumlah atom karbon dari 4 sampai 28. Asam lemak biasanya berasal dari trigliserida atau fosfolipid. Ketika mereka tidak melekat pada molekul lain, mereka dikenal sebagai "bebas" asam lemak (Jeski, 2012).

Asam lemak bebas adalah asam lemak yang berada sebagai asam bebas tidak terikat sebagai trigliserida. Asam lemak bebas dihasilkan oleh proses hidrolisis dan oksidasi biasanya bergabung dengan lemak netral. Hasil reaksi hidrolisa minyak sawit adalah gliserol dan ALB. Reaksi ini akan dipercepat dengan adanya faktor-faktor panas, air, keasaman, dan katalis (enzim). Semakin lama reaksi ini berlangsung, maka semakin banyak kadar ALB yang terbentuk. Data departemen perindustrian (SNI 01-3741-1995) menyatakan bahwa kadar air maksimal minyak adalah 0,30%. Syarat keadaan bau, warna dan rasa dalam keadaan normal asam lemak bebas tidak lebih dari 0,30% (Anonim, 2013).

Fenolphthalein atau biasa disingkat sebagai pp adalah suatu senyawa organik dengan rumus  $C_20H_{14}O_4$  dan biasa dipakai sebagai indikator untuk titrasi asam basa. Indikator fenolphthalein ini tidak berwarna dalam larutan asam dan berwarna fuksia (*pink*) bila dalam larutan basa (Febri,2011).

Fungsi penambahan indikator fenolphthalein untuk mengetahui terjadinya suatu titik ekivalen saat proses titrasi dengan terjadinya perubahan warna pada larutan. Indikator PP dengan selang  $pH 8,0 \pm 9,6$  merupakan indikator yang baik untuk larutan basa dimana indikator ini akan merubah warna larutan dari bening menjadi merah muda akibat dari perubahan pH larutan pada saat proses titrasi (Aqulfer, 2012).

Natrium hidroksida murni adalah senyawa basa yang berbentuk putih padat dan tersedia dalam bentuk pelet, serpihan, butiran ataupun larutan jenuh 50%. Natrium hidroksida ini bersifat lembab cair dan secara spontan menyerap karbondioksida dari udara bebas (higroskopis) dan sangat larut dalam air dan akan melepaskan panas ketika dilarutkan. Natrium hidroksida ini digunakan untuk menetralkan larutan minyak yang mengandung asam lemak bebas (ALB)(Jeski,2012).

### **2.2.2 Angka Peroksida (PV)**

Peroksida merupakan senyawa antara dalam rangkaian dalam proses ketengikan minyak oleh peristiwa oksidasi. Bilangan peroksida adalah bilangan yang menggambarkan jumlah oksigen dalam mili ekivalen yang terdapat dalam 100 gram minyak. Senyawa peroksida bukan senyawa yang berbau “ tengik “. Apabila jumlah senyawa peroksida dalam minyak makin banyak maka menunjukkan minyak tersebut akan cepat menjadi tengik atau *rancid*. Dengan demikian peroksida tidak dikehendaki dalam minyak, atau kalau senyawa tersebut terdapat dalam minyak jumlahnya perlu dibatasi (Gunawan. 2005).

Di Indonesia standar mutu minyak goreng ditentukan melalui SNI 01-3741-1995 yaitu sebagai berikut:

**Tabel 2** Standar Mutu Minyak Goreng SNI 01-3741-2002

Tabel 1. SNI 01-3741-2002 tentang Standar Mutu Minyak Goreng		
KRITERIA UJI	SATUAN	SYARAT
Keadaan bau, warna dan rasa	-	Normal
Air	% b/b	Maks 0.30
Asam lemak bebas (dihitung sebagai asam laurat)	% b/b	Maks 0.30
Bahan Makanan Tambahan	Sesuai SNI. 022-M dan Permenkes No. 722/Menkes/Per/IX/88	
Cemaran Logam :		
- Besi (Fe)	Mg/kg	Maks 1.5
- Tembaga (Cu)	Mg/kg	Maks 0.1
- Raksa (Hg)	Mg/kg	Maks 0.1
- Timbal (Pb)	Mg/kg	Maks 40.0
- Timah (Sn)	Mg/kg	Maks 0.005
- Seng (Zn)	Mg/kg	Maks
		40.0/250.0)*
Arsen (As)	% b/b	Maks 0.1
Angka Peroksid	% mg 02/gr	Maks 1
Catatan * Dalam kemasan kaleng		
Sumber : Standar Nasional Indonesia		

Bilangan peroksid adalah indeks jumlah lemak atau minyak yang telah mengalami oksidasi. Angka peroksid sangat penting untuk identifikasi tingkat oksidasi minyak. Minyak yang mengandung asam- asam lemak tidak jenuh dapat teroksidasi oleh oksigen yang menghasilkan suatu senyawa peroksid. Cara yang sering digunakan untuk menentukan angka peroksid adalah dengan metoda titrasi iodometri. Penentuan besarnya angka peroksid dilakukan dengan titrasi iodometri (Gunawan. 2005).

Salah satu parameter penurunan mutu minyak goreng adalah bilangan peroksid. Pengukuran angka peroksid pada dasarnya adalah mengukur kadar peroksid dan hidroperoksid yang terbentuk pada tahap awal reaksi oksidasi lemak. Bilangan peroksid yang tinggi mengindikasikan lemak atau minyak sudah mengalami oksidasi, namun pada angka yang lebih rendah bukan selalu berarti menunjukkan kondisi oksidasi yang masih dini. Angka peroksid rendah bisa disebabkan laju pembentukan peroksid baru lebih kecil dibandingkan dengan laju degradasinya menjadi senyawa lain, mengingat kadar peroksid cepat mengalami degradasi dan bereaksi dengan zat lain. Oksidasi lemak oleh oksigen terjadi secara spontan jika bahan berlemak dibiarkan kontak dengan udara, sedangkan kecepatan proses oksidasinya tergantung pada tipe lemak dan kondisi penyimpanan. Minyak curah terdistribusi tanpa kemasan, paparan oksigen dan cahaya pada minyak curah

lebih besar dibanding dengan minyak kemasan. Paparan oksigen, cahaya, dan suhu tinggi merupakan beberapa faktor yang mempengaruhi oksidasi. Penggunaan suhu tinggi selama penggorengan memacu terjadinya oksidasi minyak. Kecepatan oksidasi lemak akan bertambah dengan kenaikan suhu dan berkurang pada suhu rendah (Gunawan. 2005).

Peroksid terbentuk pada tahap inisiasi oksidasi. Pada tahap ini hidrogen diambil dari senyawa oleofin menghasilkan radikal bebas. Keberadaan cahaya dan logam berperan dalam proses pengambilan hidrogen tersebut. Radikal bebas yang terbentuk bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi, selanjutnya dapat mengambil hidrogen dari molekul tak jenuh lain menghasilkan peroksid dan radikal bebas yang baru (Gunawan. 2005).

Peroksid dapat mempercepat proses timbulnya bau tengik dan *flavor* yang tidak dikehendaki dalam bahan pangan. Jika jumlah peroksid lebih dari 100 meq peroksid/kg minyak akan bersifat sangat beracun dan mempunyai bau yang tidak enak. Kenaikan bilangan peroksid merupakan indikator bahwa minyak akan berbau tengik (Gunawan. 2005).

Minyak atau lemak bersifat tidak larut dalam semua pelarut berair, tetapi larut dalam pelarut organik misalnya : petroleum eter, dietil eter, alkohol panas, kloroform dan benzena. Asam lemak dengan rantai pendek sampai panjang rantai atom karbon sebanyak delapan bersifat larut dalam air. Gugus karboksil yang tidak bermuatan akan terbentuk jika rantai karbon semakin panjang. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut non-polar seperti petroleum. Asam lemak jenuh sangat stabil terhadap oksidasi, akan tetapi asam lemak tidak jenuh sangat mudah terserang oksidasi. Lemak tidak dapat meleleh pada satu titik suhu, akan tetapi lemak akan menjadi lunak pada suatu interval suhu tertentu. Hal ini disebabkan karena pada umumnya lemak merupakan campuran gliserida dan masing-masing gliserida mempunyai titik cair sendiri-sendiri (Tranggono & Setiaji, 1989).

Lemak dan minyak hampir terdapat dalam semua bahan pangan dengan kandungan yang berbeda-beda. Namun, lemak dan minyak seringkali ditambahkan dengan sengaja ke bahan makanan dengan berbagai tujuan. Dalam

pengolahan bahan pangan, minyak dan lemak berfungsi sebagai media pengantar panas, seperti minyak goreng, *shortening* (mentega putih), lemak (gajih), mentega dan margarin. Di samping itu penambahan lemak dimaksudkan untuk menambah kalori serta memperbaiki tekstur dan cita rasa bahan pangan. Lemak hewani mengandung banyak sterol yang disebut kolesterol sedangkan lemak nabati mengandung fitosterol dan lebih banyak mengandung asam lemak tidak jenuh sehingga umumnya berbentuk cair (Winarno, 1997).

Mentega menurut Winarno (1997), lemak dari susu terdiri dari trigliserida-trigliserida butirat, dimana asam lemak butirat dan koproat dalam keadaan bebas akan menimbulkan bau dan rasa tidak enak. Kerusakan lemak yang utama adalah timbulnya bau dan rasa tengik yang disebut proses ketengikan. Hal ini disebabkan oleh *auto-oksidasi* radikal asam lemak tidak jenuh dalam lemak. *Auto-oksidasi* dimulai dengan pembentukan radikal-radikal bebas yang disebabkan oleh faktor yang dapat mempercepat reaksi seperti cahaya, panas, peroksidasi lemak atau hidroperoksidasi, logam-logam berat seperti Cu, Fe, Co dan Mn. Bau tengik yang tidak sedap disebabkan oleh pembentukan senyawa-senyawa hasil pemecahan hidroperoksidasi. Kemudian dengan adanya radikal bebas ini dengan  $O_2$  membentuk peroksidasi aktif yang dapat membentuk hidroperoksidasi yang bersifat sangat tidak stabil dan mudah pecah menjadi senyawa dengan rantai karbon yang lebih pendek oleh radiasi energi tinggi, energi panas, katalis logam, atau enzim (Winarno, 1997).

Titik asap (*smoke point*) adalah temperatur dimana sampel mulai berasap ketika berada di bawah kondisi spesifik. Tabung erlenmeyer diisi dengan minyak atau lemak yang mendidih dan dipanaskan di kontainer yang menyala. Titik asap (*smoke point*) pada temperatur yang rendah, diteruskan secara tajam oleh *bluish smoke* dan menjadi menurun. Tes ini memberikan refleksi material organik yang volatil pada minyak dan lemak, terutama asam amino bebas dan sisa ekstraksi pelarut. Minyak penggorengan dan minyak olahan harus memiliki titik asap sekitar  $200^0C$  dan  $300^0C$  (Nielsen, 1998). Bila suatu lemak dipanaskan, pada suhu tertentu timbul asap tipis kebiruan. Titik ini disebut titik asap (*smoke point*). Bila pemanasan diteruskan akan tercapai *flash point*, yaitu minyak mulai terbakar

(terlihat nyala). Jika minyak sudah terbakar secara tetap disebut *fire point*. Suhu terjadinya *smoke point* ini bervariasi dan dipengaruhi oleh jumlah asam lemak bebas. Jika asam lemak bebas banyak, ketiga suhu tersebut akan turun. Demikian juga bila berat molekul rendah, ketiga suhu itu lebih rendah (Winarno, 1997).

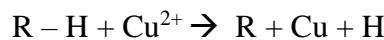
Karena tiap jenis lemak berbeda *smoke point*-nya, lemak yang digunakan untuk menggoreng sebaiknya dipilih lemak yang tahan untuk membentuk asap pada temperatur yang digunakan untuk menggoreng. Lemak yang mengandung tambahan mono- dan di-glicerida cocok digunakan untuk membuat *cake* dan kurang sesuai jika digunakan untuk menggoreng karena pada lemak tersebut ditambahkan *emulsifier* pada titik asapnya. Faktor lain, selama penggorengan juga menghasilkan suatu perubahan pada titik asap. Perkembangan dari asam lemak bebas pada beberapa hidrolisis dari lemak selama penggorengan menyebabkan menururnya titik asap (Bennion & Hughes, 1975).

Molekul-molekul lemak yang mengandung radikal asam lemak tidak jenuh mengalami oksidasi dan menjadi tengik. Bau tengik yang tidak sedap tersebut disebabkan pembentukan senyawa-senyawa hasil pemecahan hidroperoksida. Menurut teori yang sampai kini masih dianut orang sebuah atom hidrogen yang terikat pada suatu atom karbon yang letaknya disebelah atom karbon lain yang mempunyai ikatan rangkap dapat disingkirkan oleh suatu kuantum energi sehingga membentuk radikal bebas. Kemudian radikal ini dengan oksigen membentuk peroksida aktif yang dapat membentuk hidroperoksida yang bersifat sangat tidak stabil dan mudah pecah menjadi senyawa dengan rantai karbon yang lebih pendek oleh radiasi energi tinggi, energi panas, katalis logam, atau enzim. Senyawa dengan rantai C lebih pendek ini adalah asam-asam lemak, aldehid-aldehid, dan keton yang bersifat volatil dan menimbulkan bau tengik pada lemak (Winarno, 1997).

Minyak goreng berfungsi sebagai pengantar panas, penambah rasa gurih dan penambah kalori bahan pangan. Mutu minyak goreng ditentukan oleh titik asapnya, yaitu suhu pemanasan minyak sampai terbentuk akrolein yang tidak diinginkan dan dapat menimbulkan rasa gatal pada tenggorokan. Hidrasi gliserol akan membentuk aldehida tidak jenuh atau akrolein tersebut. Makin tinggi titik

asap makin baik mutu minyak goreng tersebut. Titik asap suatu minyak goreng tergantung dari kadar gliserol bebas. Lemak yang telah digunakan untuk menggoreng titik asapnya akan turun, karena telah terjadi hidrolisis lemak (Winarno, 1997).

Reaksi oksidasi bergantung pada banyak frekuensi reaksi dari lemak dalam bahan makanan. Ini biasanya terdiri oleh atmosfer oksigen, frekuensi yang sedikit oleh ozon, peroksida, logam dan agen oksidasi yang lain. Dalam penambahan untuk oksigen dan ozon, lemak dapat dirusak oleh pembentukan reaksi lain, seperti anion superokksida ( $O_2^-$ ) dan radikal ( $O_2$ ), radikal perhidrosilik ( $HO_2$ ), hidrogen peroksida dan hidrosil radikal (HO). Asam peroksida diproduksi oleh auto-oksidasi dari aldehid, dan mungkin reaksi dengan molekul lain dari produk aldehid asam karboksilat. Oksidasi langsung dari lemak oleh reaksi dengan ion logam sangat lambat dibawah kondisi normal tetapi mungkin menjadi penting seperti inisiator dari rantai radikal bebas *auto-oksidasi* karena ion  $Fe^{3+}$  atau  $Ca^{2+}$  dapat di produksi raddikal bebas oleh reakssi dengan asam lemak tidak jenuh, dimana tahap oksidasi dari ion metal ditingkatkan dengan :



Ion mengandung logam yang diubah tahap oksidasinya oleh dua elektron ( $Pb^{4+}$ ,  $MnO_4^{2-}$ ,  $CrO_4^{2-}$ ) bereaksi dengan rantai ganda dari lemak tidak jenuh untuk membentuk asam hidroksi tetapi beberapa reaksi tidak disukai didalam produk makanan (Nielsen, 1998).

Bilangan peroksida adalah nilai terpenting untuk menentukan derajat kerusakan pada lemak dan minyak. Asam lemak tidak jenuh dapat mengikat oksigen pada ikatan rangkapnya sehingga membentuk peroksida. Peroksida dapat ditentukan dengan metode iodometri. Cara yang sering digunakan untuk menentukan bilangan peroksida, berdasarkan pada reaksi antara alkali iodida dalam larutan asam dengan ikatan peroksida. Iod yang dibebaskan apda reaksi ini kemudian dititrasikan dengan natrium tiosilfat. Penentuan peroksida ini kurang baik dengan cara iodometri biasa meskipun bereaksi sempurna dengan alkali iod. Hal ini disebabkan karena peroksida jenis lainnya hanya bereaksi sebagian. Kesalahan

dalam penentuan angka peroksidasi ini dapat terjadi karena adanya reaksi antara alkali iodida dengan oksigen dari udara (Ketoren, 1986).

Jenis minyak yang mudah teroksidasi adalah jenis minyak yang tidak jenuh. Asam lemak yang semakin tidak jenuh akan semakin cepat teroksidasi. Selain itu, faktor – faktor seperti suhu, adanya logam berat dan cahaya, tekanan udara, enzim dan adanya senyawa peroksidasi juga semakin mempercepat berlangsungnya oksidasi dan dengan demikian akan semakin cepat terjadi ketengikan. Berlangsungnya proses oksidasi tersebut dapat diamati dengan beberapa cara. Salah satunya adalah dengan mengamati jumlah senyawaan hasil penguraian senyawaan peroksidasi (asam–asam, alkohol, ester, aldehid, keton, dan sebagainya). Uji peroksidasi ini pada dasarnya mengukur kadar senyawa peroksidasi yang terbentuk selama proses oksidasi. Cara ini biasa diterapkan untuk menilai mutu minyak tetapi cara ini sangat sulit diterapkan untuk jenis makanan yang berkadar lemak rendah (Syarief & Hariyadi, 1991).

Pada proses oksidasi ini akan dihasilkan sejumlah aldehid, asam bebas dan peroksidasi organik. Untuk mengetahui tingkat ketengikan dari minyak atau lemak dapat dilakukan dengan menggunakan jumlah peroksidasi yang telah terbentuk pada minyak atau lemak tersebut. Lemak tidak jenuh khususnya asam oleat ternyata lebih cepat tengik dibandingkan lemak jenuh. Lemak yang tengik menimbulkan rasa tidak enak, bahkan pada beberapa individu dapat menimbulkan keracunan ringan, dan dapat merusak zat-zat lain yang ada dalam makanan seperti karoten, vitamin A dan vitamin E. Kerusakan minyak dan lemak selain disebabkan oleh proses oksidasi dapat juga disebabkan oleh proses hidrolisis. Pada proses hidrolisis dihasilkan gliserida dari asam-asam lemak berantai pendek (C<sub>4</sub>-C<sub>12</sub>) sehingga akan terjadi perubahan rasa dan bau menjadi tengik (Winarno, 1997).

Menurut Buckle *et al* (1997) ada dua tipe kerusakan yang utama pada minyak dan lemak, yaitu :

a) Ketengikan

Ketengikan terjadi bila komponen cita-rasa dan bau yang mudah menguap terbentuk sebagai akibat kerusakan oksidatif dari lemak dan minyak tak jenuh. Komponen-komponen ini menyebabkan bau dan cita-rasa yang tak

diinginkan dalam lemak dan minyak produk-produk yang mengandung lemak dan minyak itu.

b) Hidrolisis

Hidrolisis minyak dan lemak menghasilkan asam-asam lemak bebas yang dapat mempengaruhi cita-rasa dan bau daripada bahan itu. Hidrolisis dapat disebabkan oleh adanya air dalam lemak atau minyak atau karena kegiatan enzim.

Hidrogenasi terjadi karena enzim lipase menghidrolisis lemak, memecahnya menjadi gliserol dan asam lemak. Lipase dapat terkandung secara alami pada lemak dan minyak, tetapi enzim itu dapat diaktifasi dengan pemanasan. Hidrogenasi minyak tumbuhan dilakukan untuk meningkatkan titik lebur dan untuk memperlambat oksidasi serta kerusakan rasa selama hidrogenasi. Beberapa asam lemak mengubah susunan alami bentuk *cis* menjadi *trans*, ketika minyak kelapa dihidrogenasi. Sehingga jumlah isomer *trans* asam lemak yang dibentuk, relatif sedikit daripada minyak tumbuhan lainnya. Lemak yang telah terhidrogenasi, titik asapnya akan meningkat karena lebih stabil terhadap pemanasan. Contoh produk hasil hidrogenasi lemak tumbuhan adalah margarin (deMan, 1997).

Menurut Soedarmo *et al* (1988), kerusakan karena proses hidrolisis terutama banyak terjadi pada minyak atau lemak yang mengandung asam lemak jenuh dalam jumlah cukup banyak seperti pada minyak kelapa yang mengandung asam laurat, sedangkan bau yang tengik ditimbulkan oleh asam lemak bebas yang terbentuk selama proses hidrolisa. Proses hidrolisis pada minyak atau lemak umumnya disebabkan oleh aktifitas enzim dan mikroba. Proses hidrolisis dapat dipercepat dengan kondisi kelembaban yang tinggi, kadar air tinggi serta temperatur tinggi. Proses hidrolisis pada minyak dan lemak akan menghasilkan ketengikan hidrolitik, dimana terjadi pembebasan asam-asam lemak yang mempengaruhi rasa dari minyak tersebut. Enzim yang dapat menimbulkan ketengikan hidrolitik adalah lipase. Ketengikan pada minyak dan lemak nabati terjadi karena berkurangnya kandungan vitamin E (*tocopherol*) yang dapat berfungsi sebagai anti oksidan (Soedarmo, 1988).

Angka peroksida merupakan cara pengujian yang paling sering digunakan untuk uji oksidasi lemak atau minyak. Metode iodometri yang paling banyak digunakan untuk menentukan angka peroksida umumnya ditentukan dengan pengukuran banyaknya iod bebas dari larutan kalium iodida jenuh pada suhu ruang dari lemak atau minyak yang dipisahkan dalam pencampuran asam asetat dan kloroform. Iod bebas ditritasi dengan natrium tiosulfat standar. Angka peroksida sebagai indikator produk dasar oksidasi. Angka ini menyatakan milimol oksigen peroksida per kilogram lemak (Pomeranz & Meloan, 1987) Peroksida merupakan produk utama *auto-oksidasi* yang dapat diukur dengan teknik berdasarkan pada kemampuannya untuk melepaskan iodin dari kalium iodida atau untuk mengoksidasi ion fero menjadi feri. Kandungannya biasanya diistilahkan dengan miliekuivalen oksigen per kg lemak, yaitu sejumlah oksigen yang diserap atau peroksida yang dibentuk untuk menghasilkan ketengikan dari berbagai macam komposisi minyak (Fennema, 1985).

Lemak netral murni tidak berbau, tidak ada rasa, dan umumnya tidak berwarna. Warna dari lemak dan minyak alami adalah karena adanya pigmen-pigmen yang bercampur atau larut dalam lemak. Lemak tidak larut dalam semua pelarut berair tetapi langsung larut dalam benzena, eter, kloroform, alkohol panas, dan pelarut organik lainnya. Asam lemak rantai pendek dapat larut dalam air dan semakin panjang rantai asam-asam lemaknya semakin berkurang daya kelarutannya dalam air. Bila lemak dibiarkan dalam waktu yang lama kontak langsung dengan udara dan lembab, khususnya ada cahaya dan panas, akan terjadi perubahan menjadi tengik. Perubahan ini terjadi karena proses oksidasi dan proses ini akan dipercepat dengan adanya logam-logam yang bersifat katalisator seperti Zn, Cu (Soedarno & Girindra, 1988).

Kerusakan lemak pada daging ikan dapat terjadi karena oksidasi, baik secara *auto-oksidasi* (enzimatis) maupun secara non enzimatik. Pemeriksaan kerusakan lemak dapat dikerjakan dengan memeriksa kandungan peroksidanya atau jumlah monaldehida yang biasanya dinyatakan sebagai angka TBA (asam tiobarbiturat) (Hadiwiyoto, 1993). Selama penggorengan dengan suhu tinggi, minyak mengalami hidrolisis menjadi asam lemak bebas dan gliserol dan selanjutnya

gliserol akan terdehidrasi menjadi senyawa akrolein (Bennion & Hughes, 1975). Lemak yang telah terhidrogenasi, titik asapnya akan meningkat karena lebih stabil terhadap pemanasan. Contoh produk hasil hidrogenasi lemak tumbuhan adalah margarin (deMan, 1997).

Lemak yang mengalami ketengikan akan mengandung senyawa aldehid dan kebanyakan berbentuk malonaldehid. Banyaknya malonaldehid dapat ditentukan melalui proses destilasi. Malonaldehid yang terbentuk kemudian direaksikan dengan tiobarbiturat, sehingga terbentuk senyawa kompleks yang berwarna merah. Intensitas warna merah sebanding dengan jumlah malonaldehid dalam suspensi. Pengukuran intensitas warna merah ini dapat dilakukan dengan menghitung abosbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 528 nm. Semakin besar angka TBA maka semakin tengik larutan yang diuji (Sudarmadji *et al.*, 1989).

Penambahan *antifoam* bertujuan untuk mencegah terjadinya pembentukan buih. Pemanasan pada suhu tinggi akan mempercepat proses *auto-oksidasi* sehingga akan terbentuk polimer. Pembentukan polimer tersebut akan mengakibatkan kekentalan minyak menjadi naik yang nantinya dapat meningkatkan pembentukan buih pada minyak (deMan, 1999).

Peroksida merupakan senyawa antara dalam rangkaian dalam proses ketengikan minyak oleh peristiwa oksidasi. Bilangan peroksida adalah bilangan yang menggambarkan jumlah oksigen dalam mili ekivalen yang terdapat dalam 100 gram minyak. Senyawa peroksida bukan senyawa yang berbau “tengik”. Apabila jumlah senyawa peroksida dalam minyak makin banyak maka menunjukkan minyak tersebut akan cepat menjadi tengik atau *rancid*. Dengan demikian peroksida tidak dikehendaki dalam minyak, atau kalau senyawa tersebut terdapat dalam minyak jumlahnya perlu dibatasi (Winarno, 1997).

Bilangan peroksida didefinisikan sebagai miliequivalen (mEq) peroksida per kg sampel. Bilangan peroksida ditentukan dengan titrasi redoks. Diasumsikan bahwa senyawa yang bereaksi di bawah kondisi uji adalah peroksida atau produk sejenis dari oksidasi lipid. Kerusakan lemak atau minyak yang utama adalah karena peristiwa oksidasi dan hidrolitik, baik enzimatik maupun non-enzimatik.

Kerusakan minyak yang sering terjadi disebabkan karena *auto-oksidasi* yang paling besar pengaruhnya terhadap cita rasa. Hasil yang diakibatkan oksidasi lemak antara lain peroksida, asam lemak, aldehid dan keton. Bau tengik atau *rancid* terutama disebabkan oleh aldehid dan keton. Untuk mengetahui tingkat kerusakan minyak dapat dinyatakan sebagai angka peroksida atau angka asam tiobarbiturat (TBA) (Sudarmadji *et. al.*, 1989).

Bilangan peroksida didefinisikan sebagai jumlah meq peroksida dalam setiap 1000 g (1 kg) minyak atau lemak. Bilangan peroksida ini menunjukkan tingkat kerusakan lemak atau minyak (Rohman, 2007).

Penentuan peroksida kurang baik dengan cara iodometri biasa meskipun peroksida bereaksi sempurna dengan alkali iod. Hal ini disebabkan karena peroksida jenis lainnya hanya bereaksi sebagian. Di samping itu dapat terjadi kesalahan yang disebabkan oleh reaksi antara alkali iodida dengan oksigen dari udara (Ketaren, 1986).

Proses oksidasi yang distimulir oleh logam jika berlangsung dengan intensif akan mengakibatkan ketengikan dan perubahan warna (menjadi semakin gelap). Keadaan ini jelas sangat merugikan sebab mutu minyak sawit menjadi menurun.

Bila suatu lemak dipanaskan, pada suhu tertentu timbul asap tipis kebiruan. Titik ini disebut titik asap (*smoke point*). Bila pemanasan diteruskan akan tercapai *flash point*, yaitu minyak mulai terbakar (terlihat nyala). Jika minyak sudah terbakar secara tetap disebut *fire point*. Suhu terjadinya *smoke point* ini bervariasi dan dipengaruhi oleh jumlah asam lemak bebas. Jika asam lemak bebas banyak, ketiga suhu tersebut akan turun. Demikian juga bila berat molekul rendah, ketiga suhu itu lebih rendah. Ketiga sifat ini penting dalam penentuan mutu lemak yang digunakan sebagai minyak goreng (Winarno, 2002).

### 2.2.3 Analisa Kadar Lemak

Lemak merupakan bagian dari lipid yang mengandung asam lemak jenuh bersifat padat. Lemak merupakan senyawa organik yang terdapat di alam serta tidak larut dalam air, tetapi larut di dalam pelarut organik non polar, misalnya dietil eter ( $C_2H_5OC_2H_5$ ), kloroform ( $CHCl_3$ ), benzena, heksana, dan hidrokarbon

lainnya. Lemak dapat larut dalam pelarut tersebut karena lemak mempunyai polaritas yang sama dengan pelarut (Apriyantono, 1989).

Lemak adalah senyawa ester dari gliserol dan asam lemak. Lemak yang ada di dalam jaringan baik hewan maupun tumbuhan disertai dengan senyawa lain seperti fosfolipida, sterol dan beberapa pigmen. Pada analisis kadar lemak, seringkali disebut sebagai analisis "lemak kasar", karena selain asam lemak terikut pula senyawa-senyawa lain (Legowo, 2004). Metode yang digunakan pada penentuan kadar lemak ini adalah metode ekstraksi soxhlet. Prinsipnya adalah lemak diekstrak dengan pelarut dietil eter. Setelah pelarutnya diuapkan, lemaknya dapat ditimbang dan dihitung persentasenya (Apriyantono, 1989).

### **2.3 Limbah**

Limbah adalah zat atau bahan buangan yang dihasilkan dari proses kegiatan manusia. Limbah dapat berupa tumpukan barang bekas, sisa kotoran hewan, tanaman, atau sayuran. Keseimbangan lingkungan menjadi terganggu jika jumlah hasil buangan tersebut melebihi ambang batas toleransi lingkungan. Apabila konsentrasi dan kuantitas melibih ambang batas, keberadaan limbah dapat berdampak negatif terhadap lingkungan terutama bagi kesehatan manusia sehingga perlu dilakukan penanganan terhadap limbah. Tingkat bahaya keracunan yang ditimbulkan oleh limbah bergantung pada jenis dan karakteristik limbah (Ign Suharto, 2011 :226).

Sistem scrubber adalah kelompok beragam perangkat kontrol polusi udara yang dapat digunakan untuk menghapus beberapa partikulat dan / atau gas dari aliran buangan industri. Secara tradisional, istilah "scrubber" telah disebut perangkat kontrol polusi yang menggunakan cairan untuk mencuci polutan yang tidak diinginkan dari aliran gas. Baru-baru ini, istilah ini juga digunakan untuk menggambarkan sistem yang menyuntikkan reagen kering atau bubur ke dalam aliran gas buang kotor untuk "mencuci" gas asam. Scrubber adalah salah satu perangkat utama yang mengontrol emisi gas, gas-gas terutama asam. Scrubber juga dapat digunakan untuk pemulihan panas dari gas panas dengan kondensasi gas buang.

### 2.3.1 pH

Keasaman atau kealkalian tanah (pH) adalah suatu parameter penunjuk keaktifan ion  $H^+$  dalam suatu larutan yang berkesimbangan dengan  $H$  tidak terdisosiasi dari senyawa-senyawa dapat larut dan tidak larut yang ada dalam sistem (Poerwowidodo,1991).

Kapasitas keasaman menujukkan takaran ion  $H^+$  terdisosiasi ditambah  $H$  tidak terdisosiasi di dalam sistem air limbah (Poerwidodo,1992).

Nilai pH suatu perairan mencirikan keseimbangan antara asam dan basa dalam air dan merupakan pengukuran konsentrasi ion Hidrogen dalam air. Pengukuran pH dapat dilakukan secara potensiometri dengan menggunakan pH meter atau dengan perbandingan warna dengan menggunakan pH Universal (Poerwidodo,1992).

Salah satu kriteria kualitas air adalah derajat keasaman(pH). Pada dasarnya air yang baik adalah air yang tidak tercemar. Dalam kondisi yang demikian berarti air bersifat netral, sedangkan apabila di dalam perairan terdapat zat pencemar akan dapat berakibat sifat air berubah menjadi asam atau basa. Beberapa sifat fisis yang dipersyaratkan untuk air limbah yang boleh dibuang ke sungai antara lain: Nilai pH limbah cair adalah ukuran kemasaman atau kebasaan limbah. Air yang tidak tercemar memiliki pH antara 6.5-7.5. Sifat air bergantung pada besar kecilnya pH. Air yang memiliki pH lebih kecil dari pH normal akan bersifat masam, sedangkan air yang memiliki pH lebih besar dari pH normal akan bersifat basa. pH tanah dapat berkurang dengan menambahkan sampah kota, karena meningkatkan zat organik dan bahan asam seperti: asam laktat, asam asetat dan asam amino (Alashty,2011).

Netralisasi dilakukan dengan mencampur limbah yang bersifat asam dengan limbah yang bersifat basa. Pencampuran dilakukan dalam suatu bak equalisasi atau tangki netralisasi (Alashty,2011). Netralisasi dengan bahan kimia dilakukan dengan menambahkan bahan yang bersifat asam kuat atau basa kuat. Air limbah yang bersifat asam umumnya dinetralkan dengan larutan kapur ( $Ca(OH)_2$ ), soda kostik ( $NaOH$ ) atau natrium karbonat ( $Na_2CO_3$ ) (Alashty,2011).

Menurut Surat Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. Kep-03/MNKLH/II/1991 tanggal 1 Februari 1991, ditetapkan bahwa air limbah pabrik yang boleh dibuang ke sungai atau lingkungan jika pH air limbah tersebut berkisar 6 sampai 9. Sedangkan menurut Surat Keputusan Gubenur Jawa Tengah No. KS.48/1987 tanggal 10 Nopember 1987 ditetapkan bahwa pH air limbah yang diperbolehkan adalah 6,5 sampai **8,5**.

### 2.3.2 Suhu

Suhu air sebaiknya sejuk atau tidak panas, agar tidak terjadi pelarutan zat kimia pada saluran/pipa yang dapat membahayakan kesehatan, menghambat reaksi-reaksi biokimia di dalam saluran/pipa, mikroorganisme patogen tidak mudah berkembang biak, dan bila diminum dapat menghilangkan dahaga.

Suhu suatu badan air dipengaruhi oleh musim, lintang (*latitude*), ketinggian dari permukaan laut (*altitude*), waktu, sirkulasi udara, penutupan awan, aliran, serta kedalaman. Perubahan suhu mempengaruhi proses fisika, kimia, dan biologi badan air. Suhu berperan dalam mengendalikan kondisi ekosistem perairan.

Peningkatan suhu mengakibatkan peningkatan viskositas, reaksi kimia, evaporasi, volatilisasi, serta menyebabkan penurunan kelarutan gas dalam air (gas O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, dan sebagainya). Peningkatan suhu juga menyebabkan terjadinya peningkatan dekomposisi bahan organik oleh mikroba (jujubandung, 2012).

Setiap organisme mempunyai suhu minimum, optimum dan maksimum untuk hidupnya dan mempunyai kemampuan menyesuaikan diri sampai batas tertentu. Suhu air mempunyai pengaruh yang besar dalam proses pertukaran zat atau metabolisme dari makhluk hidup. Selain itu suhu juga berpengaruh terhadap kadar oksigen terlarut dalam air. Semakin tinggi temperatur suatu perairan, semakin cepat pula perairan tersebut mengalami kejemuhan. Suhu air untuk budidaya ikan berkisar antara 25–30<sup>0</sup>C (dwioktavia,2011).

## **BAB III**

### **METODELOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat Dan Waktu Pelaksanaan**

Praktek Kerja Industri ini dilaksanakan mulai tanggal 01 April 2019 – 30 April 2019 di PT. Dua Kelinci yang beralamat di JL. Raya Pati-Kudus Km. 6,3 Pati, Jawa Tengah.

#### **3.2 Metode Dan Pengumpulan Data**

##### **3.2.1 Wawancara**

Merupakan percakapan antara dua orang atau lebih dan berlangsung antara narasumber dan pewawancara. Tujuan dari wawancara adalah untuk mendapatkan informasi yang tepat dari narasumber yang terpercaya. Wawancara dilakukan dengan cara penyampaian sejumlah pertanyaan dari pewawancara kepada narasumber.

##### **3.2.2 Observasi atau Pengamatan**

Pengamatan atau observasi adalah aktivitas terhadap suatu proses atau objek dengan maksud merasakan dan kemudian memahami pengetahuan dari sebuah fenomena berdasarkan pengetahuan dan gagasan yang sudah diketahui sebelumnya, untuk mendapatkan informasi – informasi yang dibutuhkan untuk melanjutkan suatu penelitian.

Kacang atom merupakan salah satu produk dari PT. Dua Kelinci. Untuk produk kacang atom ada 2 macam yaitu sukro dan sanghai. Untuk memastikan keamanan dan kwalitas dari produk dilakukan beberapa analisa meliputi analisa kimia dan mikrobiologi. Analisa kimia yang dilakukan PT. Dua Kelinci meliputi analisa PV, FFA, lemak total, kadar air sedangkan untuk analisa mikrobiologi meliputi TPC, kapang/ khamir, *salmonella*, *enterohbactericeae* dan aflatoksin.

##### **3.2.3 Studi kepustakaan**

Studi kepustakaan adalah kegiatan untuk menambahkan informasi yang relevan dengan topik atau masalah yang menjadi objek penelitian. Informasi tersebut dapat diperoleh dari buku-buku, karya ilmiah, tesis, disertasi, ensiklopedia,

internet, dan sumber-sumber lain. Dengan melakukan studi kepustakaan, peneliti dapat memanfaatkan semua informasi dan pemikiran-pemikiran yang relevan dengan penelitiannya.

Perangan studi kepustakaan sebelum penelitian sangat penting sebab dengan melakukan kegiatan ini hubungan antara masalah, penelitian-penelitian yang relevan dan teori akan menjadi lebih jelas. Selain itu penelitian akan lebih ditunjang, baik oleh teori-teori yang sudah ada maupun oleh bukti nyata, yaitu hasil-hasil penelitian, kesimpulan, dan saran.

### **3.3 Metode Penelitian**

#### **3.3.1 Analisis Mikrobiologi**

##### **3.3.1.1 Total Plate Count (TPC)**

Tujuan : Untuk mengetahui banyaknya koloni pada sampel makanan (kacang sukro)

**A. Alat:**

1. Tabung reaksi.
2. Label identitas
3. Erlenmeyer.
4. *Vortex mixer*
5. Bunsen/pembakar spirtus
6. Pipet ukur 25 ml
7. Gunting
8. Mikropipet
9. Alat tulis

**B. Bahan:**

1. BPW (*Buffered Peptone Water* )
2. Alkohol 70%
3. Sampel produk (kacang sukro)
4. Akuades

C. Prosedur Kerja:

a. **Persiapan sampel**

1. Sampel dalam kemasan utuh dihancurkan dengan mortar ( untuk sampel padatan ) secara hati-hati hingga cukup halus.
2. Timbang sampel sebanyak 10 gram.
3. Timbang sejumlah BPW *powder* sebanyak 25,5 gram, masukkan dalam *beaker glass* 1000 ml.
4. Tambahkan akuades sampai volume 1000 ml dan diaduk agar bercampur rata.
5. Masak di atas *hot plate* dengan magnet stirrer di dalamnya untuk mengaduk hingga mendidih dan diangkat.
6. Diambil 90 ml masukkan dalam Erlenmeyer kemudian tutup Erlenmeyer dengan aluminium foil, kertas dan ikat dengan karet.
7. Masukkan semua Erlenmeyer ke dalam autoklaf untuk disterilisasi selama 15 menit pada  $121^0$  C 1 atm.
8. Siapkan Erlenmeyer berisi 90 ml larutan pengencer *Buffered Peptone Water* ( BPW ) steril.
9. Masukkan sampel padat yang sudah dihaluskan atau sampel bubuk ke dalam Erlenmeyer secara aseptis.
10. Kocok Erlenmeyer beberapa kali dengan hati-hati agar larutan homogen.
11. Homogen selanjutnya disebut larutan dengan pengenceran  $10^{-1}$ .

b. **Pengenceran untuk sampel padat/bubuk.**

1. Timbang media sejumlah 25,5 gram.
2. Masukkan dalam *beaker glass*, tambahkan 1000 ml akuades dan aduk hingga homogen.
3. Letakkan di atas *hot plate stirrer* dan masak dengan *magnet stirrer* di dalamnya untuk mengaduk hingga mendidih kemudian angkat dan dinginkan.
4. Siapkan tabung serial pengenceran, masukkan 9 ml larutan BPW ke dalam masing-masing tabung dan tutup dengan aluminium foil.
5. Masukkan tabung ke dalam autoklaf untuk disterilisasi selama 15 menit pada  $121^0$  C 1 atm

6. Siapkan 2 seri tabung berisi 9 ml larutan BPW steril.
7. Ambil 1 ml larutan sampel dari pengenceran  $10^{-1}$  secara aseptis (dekat dengan api Bunsen) dengan mikropipet steril.
8. Masukkan ke dalam tabung seri pertama secara aseptis (selalu bakar sebentar mulut tabung setelah tutup dibuka dan sebelum ditutup kembali), kocok larutan dengan *vortex* hingga larutan homogen. Homogenat selanjutnya disebut larutan dengan pengenceran  $10^{-2}$ .
9. Dengan ujung pipet baru, ambil 1 ml larutan dari pengenceran  $10^{-2}$  dan masukkan ke dalam tabung seri kedua secara aseptis, kocok larutan dengan *vortex* hingga homogen. Homogenat selanjutnya disebut larutan pengenceran  $10^{-3}$ .
10. Siapkan larutan hasil pengenceran untuk pembuatan biakan TPC dan *colliform*.

**c. Pembuatan Biakan *Total Plate Count* (TPC)**

1. Kerja dilakukan di ruang inokulasi (steril).
2. Pipet 1 ml dari masing-masing pengenceran setiap sampel ke dalam cawan petri steril secara duplo (metode dua cawan).
3. Tuangkan 12-15 ml media PCA yang telah dicairkan dan bersuhu  $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$  ke dalam masing-masing cawan petri setelah 15 menit dari pengenceran pertama.
4. Goyangkan cawan petri dengan hati-hati (putar dan goyangkan ke depan dan kebelakang serta ke kanan dan ke kiri) hingga sampel tercampur rata dengan media, dan biarkan hingga agar memadat.
5. Buat biakan negative dari larutan pengenceran steril dengan cara yang sama,
6. Masukkan semua cawan petri dengan posisi terbalik (untuk menghindari embun membasi permukaan media) dalam inkubator dan inkubasikan pada suhu  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam  $\pm$  2 jam.
7. Siapkan hasil biakan setelah inkubasi untuk penghitungan jumlah koloni.

**d. Perhitungan Total Colony Counter (TPC)**

1. Siapkan *Colony Counter* (alat penghitung koloni) dan biakan duplo yang sudah diinkubasi selama 24-48 jam.
2. Hasil perhitungan jumlah koloni dinyatakan sebagai jumlah bakteri dalam satuan cfu (*colony forming unit per liter*).
3. Hitung koloni yang ada pada tiap cawan. Hitung rata-rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran.
4. Jika salah satu dari dua cawan petri terdapat jumlah koloni lebih kecil dari 25 atau lebih besar dari 250, hitung rata-rata jumlah koloni, kalikan dengan faktor pengenceran.
5. Jika hasil dari dua pengenceran berturut-berturut terletak antara 25-250 koloni, hitung jumlah koloni dari masing-masing pengenceran seperti yang pada c.3 dan c.4 di atas, dan hitung rata-rata jumlah koloni dari kedua pengenceran tersebut. Jika jumlah tertinggi lebih besar dari dua kali jumlah yang terkecil, nyatakan jumlah yang lebih kecil sebagai jumlah bakteri.
6. Jika rata-rata jumlah koloni masing-masing cawan petri tidak terletak antara 25-250 koloni, hitung jumlah koloni seperti pada butir c.3 dan c.4 di atas, dan nyatakan sebagai jumlah bakteri.
7. Jika jumlah koloni dari semua pengenceran lebih dari 250 koloni, maka setiap dua cawan petri dengan pengenceran tertinggi dibagi ke dalam 2,4 dan 8 sektor. Hitung jumlah koloni dalam satu bagian atau lebih. Untuk mendapatkan jumlah koloni dalam satu cawan petri, hitung rata-rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri perkiraan per milliliter.
8. Jika dalam 1/8 bagian cawan petri terdapat lebih dari 200 koloni, maka jumlah koloni yang didapat =  $8 \times 200$  ( 1600 ), dikalikan dengan faktor pengenceran dan nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri perkiraan per milliliter lebih besar dari jumlah yang didapat (lebih besar dari  $1600 \times$  faktor pengenceran)
9. Jika tidak ada koloni yang tumbuh dalam cawan petri, nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari satu dikalikan dengan faktor pengenceran yang terendah (<10).

10. Menghitung koloni merambat (*Spreader*). Ada 3 macam perambatan koloni, yaitu:
  - a. Merupakan rantai yang tidak terpisah-pisah.
  - b. Perambatan yang terjadi di antara dasar cawan petri dan media.
  - c. Perambatan yang terjadi dalam pinggir atau permukaan media.
11. Kalau terjadi hanya 1 (satu) perambatan (seperti rantai) maka koloni dianggap 1 (satu). Tetapi bila satu atau lebih rantai terbentuk dan berasal dari sumber yang terpisah-pisah, maka tiap sumber dihitung sebagai 1 (satu) koloni.
12. Bila b) dan c) terjadi maka sebaiknya pemeriksaan diulangi karena koloni dalam keadaan semacam ini agak sukar dihitung.
13. Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya 2 angka penting yang digunakan, yaitu angka yang pertama dan kedua (dimulai dari kiri), sedangkan angka yang ketiga diganti dengan 0 apabila kurang dari 5 dan apabila 5 atau lebih dijadikan 1 yang ditambahkan pada angka yang kedua. Contoh: 523.000 dilaporkan sebagai 520.000 ( $5,2 \times 10^5$ ), 83.600 dilaporkan sebagai 84.000 ( $8,4 \times 10^4$ )
14. Catat hasil perhitungan ke dalam formulir laporan hasil analisa TPC dan *coliform*.

### 3.3.1.2 Coliform

Tujuan : Untuk mengetahui adanya bakteri coliform pada sampel produk (kacang sukro)

- A. Alat:
  1. Tabung reaksi
  2. Tabung Durham
  3. Mikropipet
  4. Inkubator
  5. Vintif

B. Bahan:

1. Larutan sampel produk (kacang sukro) dengan pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$
2. *Media Lauryl Sulfate borth (LSb) Borth.*
3. *Media Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLBB)*

C. Prosedur Kerja:

a. **Uji Pendugaan Colliform (*Presumptive Test*)**

1. Siapkan 9 tabung berisi 10 ml LSB steril yang di dalamnya terdapat tabung Durham terbalik.
2. Pipet 1 ml larutan sampel dengan pengenceran  $10^{-1}$  (1:10) masing-masing ke dalam 3 tabung LSB pertama.
3. Lakukan dengan cara yang sama menggunakan ujung pipet baru dan steril terhadap larutan sampel pengenceran  $10^{-2}$  (1:100) dan  $10^{-3}$  (1:1000) masing-masing pada 3 tabung kedua dan ketiga.
4. Simpan semua tabung reaksi dalam inkubator pada suhu  $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam sampai 48 jam.
5. Catat jumlah tabung yang positif membentuk gas ,dan hitung jumlah
6. bakteri dengan *Most Probable Number* (MPN).

### 3.3.1.3 *Staphylococcus aureus*

Tujuan : Untuk mengetahui adanya bakteri *Staphylococcus aureus* pada sampel produk (kacang sukro).

A. Alat :

1. Cawan petri
2. Mikropipet
3. Bunsen
4. Tabung reaksi
5. Batang kaca yang dibengkokkan seperti huruf L
6. Incubator
7. Vintif

B. Bahan:

1. Media *Baird Parker Agar* (BPA)
2. *Buffered Peptone Water* (BPW)

C. Prosedur Kerja

1. Dibuat pengenceran sampel 1:10; 1:100; 1:1000.
2. Dipipet 0,1 ml suspensi dari setiap pengenceran ke atas media BPA dan sebarkan merata dengan menggunakan batang kaca bengkok.
3. Keringkan permukaan agar sebelum diinkubasi.
4. Inkubasikan pada suhu 35-37°C selama 24 jam.
5. Pilih cawan petri yang mengandung koloni 20-200 koloni dan hitung koloni *staphylococcus aureus* yaitu koloni berwarna hitam mengkilat dengan lingkaran cerah disekelilingnya.

### **3.3.1.4 Kapang dan Khamir**

Tujuan : Untuk mengetahui adanya bakteri kapang dan khamir pada sampel produk (kacang sukro)

A. Alat:

1. Cawan petri
2. Mikropipet
3. Inkubator suhu kamar (25°C)

B. Bahan:

1. *Buffered Peptone Water* (BPW)
2. *Yeast Glucose Chloramphenicol* (YGC).
3. Sampel produk makanan

C. Prosedur Kerja:

1. Dilakukan pengenceran sampel 1:10; 1:100; 1:1000 dengan larutan pengencer BPW.
2. Dipipet seksama 1,0 ml dari setiap pengenceran sampel dimasukkan ke dalam cawan petri setril.

3. Tuangkan YGC steril yang telah dicairkan dengan suhu  $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  sebanyak 15-20 ml ke dalam cawan petri steril dan goyangkan cawan petri sehingga campuran tersebut merata.
4. Setelah agar membeku, balikkan cawan petri dan inkubasikan pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  atau suhu kamar selama 5 hari.
5. Laporkan/catat hasil sebagai jumlah kapang dan khamir per gram atau ml sampel.

### **3.3.1.5 *Salmonella* sp. (Metode Rambach)**

Tujuan : Untuk mengetahui adanya bakteri *Salmonella* spp pada sampel produk.

A. Alat:

1. Erlenmeyer 250 ml
2. Tabung reaksi
3. *Hot plate stirrer*
4. Inkubator
5. Autoklaf
6. Mikropipet
7. Vintif

B. Bahan:

1. Aquades
2. *Rambach* agar
3. Sampel
4. Media RVS
5. Media MKTTn

C. Prosedur Kerja:

a. **Pembuatan larutan “a”:**

1. Timbang sampel sebanyak 25 gram.
2. Masukkan ke dalam tabung Erlenmeyer 250 ml dan tambahkan 225 ml larutan BPW.
3. Tutup rapat Erlenmeyer dengan aluminium foil kemudian inkubasi selama 18 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .

**b. Pembuatan larutan *Rappaport Vassiliadis Salmonella Enrichment Bort (RVS)* :**

1. Timbang 0,42 gram media RVS.
2. Masukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 20 ml aquades.
3. Kocok beberapa kali dengan hati-hati agar larutan homogeny.
4. Tutup rapat dengan aluminium foil kemudian masukkan ke dalam autoklaf.

**c. Pembutan larutan MKTTn (Muller Kaufmann Tetrathionate Novobiocin Broth) :**

1. Timbang 0,8 gram media MKTTn.
2. Masukkan dalam tabung reaksi steril dan tambahkan 10 ml aquades steril.
3. Kocok beberapa kali dengan hati-hati agar larutan homogen.
4. Letakkan di atas *hot plate stirrer* dan masa. dengan *magnet stirrer* di dalamnya untuk mengaduk hingga mendidih.
5. Angkat dan dinginkan.

**d. Pembutan Rambach Agar :**

1. Timbang media sebanyak 1,216 gram.
2. Masukkan dalam Erlenmeyer steril dan tambahkan sebanyak 40 ml aquades steril.
3. Panaskan di atas *hot plate* sampai mendidih.
4. Tuang dalam cawan petri dan biarkan sampai memadat.

**e. Pengujian *Salmonella sp.***

1. Pipet sebanyak 0,1 ml larutan a
2. Masukkan dalam tabung reaksi dan tambahkan 10 ml larutan RVS, selanjutnya disebut larutan b.
3. Pipet sebanyak 1 ml dari larutan a
4. Masukkan dalam tabung reaksi dan tambahkan 10 ml /larutan MKTTn, selanjutnya disebut larutan c.
5. Inkubasi larutan b dan c selama  $\pm$  24 jam pada suhu 37°C.

6. Ambil masing-masing 1 oase dari larutan b dan c kemudian distreak di Rambach agar secara duplo (metode dua cawan).
7. Inkubasi selama  $\pm$  24 jam pada suhu 37°C kemudian amati sampel. *Salmonella sp* akan tampak sebagai koloni berwarna merah.

### 3.3.2 Analisa Kimia

#### 3.3.2.1 Asam Lemak Bebas (ALB/FFA)

Tujuan : Untuk menentukan banyaknya asam lemak bebas (ALB) yang terkandung dalam minyak yang dapat ditentukan berdasarkan jumlah basa yang diperlukan untuk menetralkan minyak. Besarnya kandungan asam lemak bebas (ALB) dinyatakan dalam persen asam lemak bebas atau dalam bentuk angka asam.

A. Alat:

1. Buret, klem, danstatif
2. Neraca analitik
3. Erlenmeyer
4. Pipet tetes
5. Penghalus / blender
6. Gelas ukur
7. Gelas Beaker
8. Pengadukgelas
9. Gelas arloji
10. Corong
11. *Shaker*
12. Lemari asam

B. Bahan:

1. Sampel minyak atau kacang
2. Etanol 95% untuk sampel minyak
3. Larutan DietilEter dan Etanol (1 : 1) untuk sampel produk (kacang)
4. NaOH 0,1 N yang sudah distandarisasi

5. Indikator *penolphtalein* (pp)

C. Prosedur Kerja:

a. **Analisa Minyak**

1. Menimbang sampel minyak dalam erlenmeyer sebanyak  $\pm$  5 gram dan catat berat sampel.
2. Tambahkan 50 ml larutan alkohol 95% panas kedalam sampel.
3. Tambahkan indikator *penolphtalein* (pp) 0,2 sebanyak 5 tetes.
4. Kocok dalam *shaker* ( $\pm$  10 menit) untuk menghomogenkan.
5. Titrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi *pink*.
6. Catat volume NaOH sebelum titrasi dan sesudah titrasi.
7. Hitung persen ALB dalam sampel minyak.

b. **Analisa Produk**

1. Menghaluskan sampel produk yang akan di analisa.
2. Menimbang sampel sebanyak  $\pm$  10 gram dalam erlenmeyer dan catat berat sampel.
3. Tambahkan 75 ml larutan etanol eter (1:1).
4. Tambahkan indikator *penolphtalein* (pp) sebanyak 5 tetes.
5. Kocok dalam *shaker* ( $\pm$  10 menit) untuk menghomogenkan.
6. Saring filtratnya dengan erlenmeyer baru.
7. Titrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna menjadi *pink*.
8. Catat volume awal NaOH dan volume sesudah titrasi.
9. Hitung persen ALB dalam sampel produk.

**3.3.2.2 Angka Peroksida (AP/PV)**

Tujuan : Untuk menentukan degradasi minyak atau menentukan tingkat kerusakan minyak. Pengukuran angka peroksida didasarkan pada mengukur kadar peroksida dan hidroperoksida yang terbentuk pada tahap awal reaksi oksidasi lemak. Bilangan peroksida yang tinggi mengindikasikan lemak atau minyak sudah mengalami oksidasi.

A. Alat:

1. Buret, klemdanstatif
2. Neraca analitik
3. Erlenmeyer
4. Pipet tetes
5. Penghalus / blender
6. Gelas ukur
7. Gelas Beaker
8. Pengaduk gelas
9. Gelas arloji
10. Corong
11. *Shaker*
12. Lemariasam

B. Bahan

1. Sampel minyak atau kacang
2. Asam asetat : kloroform (3:2)
3. Larutan KI jenuh
4. Akuades
5. Indikator Amilum atau pati 1%
6. Larutan Natrium tiosulfat 0,01 N

C. Prosedur Kerja:

a. **Analisa Minyak dan Analisa Produk**

1. Menimbang sampel minyak dan produk (yang sudah dihaluskan), masing-masing  $\pm$  5 gram. Catat berat sampel.
2. Tambahkan larutan asam asetat – kloroform (3:2) sebanyak 30 ml.
3. Kocok dengan *shaker* ( $\pm$  10 menit) untuk menghomogenkan.
4. Tambahkan larutan KI jenuh sebanyak 18 tetes (0,05 ml).
5. Kocok dan simpan di tempat gelap ( $\pm$  5 menit).
6. Tambahkan 30 ml akuades.
7. Tambahkan 0,05 ml indikator amilum 1%.

8. Titrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0,01 N hingga warna kuning hilang (pada minyak) dan warna putih (pada produk).
9. Catat volume sebelum titrasi dan sesudah titrasi.
10. Hitung persen angka peroksida pada sampel.

### **3.3.2.3 Analisa Kadar Lemak**

Tujuan : Untuk menentukan kandungan lemak total dalam produk dengan mengekstraksi produk menggunakan pelarut petroleum benzena. Persentase lemak total dapat dihitung dengan menimbang lemak hasil ekstraksi setelah pelarut diuapkan.

**A. Alat:**

1. Oven
2. Blender
3. Timbangan analitik
4. Botolekstrasi
5. Desikator
6. Kertassaring
7. Pendinginbalik (kondensor)
8. Klemdanstatif
9. *Waterbath*
10. Tabungsoxhlet

**B. Bahan:**

1. Sampel kacang
2. Petroleum benzena

**C. Prosedur Kerja:**

1. Haluskan sampel yang akan dianalisa.
2. Timbang sampel dengan kertas saring sebanyak 2 gram (untuk produk) dan 10 gram (untuk kacang).
3. Catat berat sampel.
4. Timbang labu ekstraksi yang sudah di konstakan dan catat beratnya.

5. Bungkus sampel yang sudah ditimbang dalam kertas saring seperti amplop.
6. Masukkan sampel yang sudah dibungkus dalam tabung soxhlet yang sudah disusun dengan labu ekstraksi.
7. Tambahkan larutan petroleum benzena sebanyak 120 ml dalam labu ekstraksi.
8. Pasang rangkaian tersebut di bawah pendingin (kondensor) atau di atas *waterbath*.
9. Ekstraksi selama 6 jam.
10. Setelah diekstraksi, letakkan tabung ekstraksi diatas *waterbath* dan panaskan hingga semua petroleum benzena menguap.
11. Keringkan dalam oven bersuhu 105 °C selama 4 jam.
12. Masukkan dalam desikator (15 menit).
13. Timbang berat labu ekstraksi yang berisi lemak dan catat beratnya.
14. Hitung persen lemak dalam sampel.

### **3.3.4 Limbah**

#### **3.3.4.1 pH**

Tujuan : Untuk mengetahui pH pada limbah.

A. Alat:

1. Indikator universal

B. Bahan:

1. Sampel limbah bak batu bara
2. Sampel limbah aerasi
3. Sampel limbah *scrubber*
4. Sampel *reservoir*

C. Prosedur Kerja:

1. Siapkan beberapa helai indikator universal
2. Celupkan kertas pH pada bak batu bara atas dan bawah.
3. Cocokkan warna hasil pengecekan, dan catat hasil pengecekan.

4. Ulangi langkah ke-2 dan ke-3 untuk, aerasi 3 dan 4, *scrubber* awal dan akhir, limbah batu bara sebelum dan sesudah penambahan larutan kapur dan *reservoir*.

### **3.3.4.2 Suhu**

Tujuan : Untuk menentukan suhu dari pengolahan limbah.

A. Alat:

1. Termometer digital

C. Bahan:

1. Sampel limbah bak batu bara
2. Sampel limbah aerasi
3. Sampel limbah *scrubber*
4. Sampel *reservoir*

D. Prosedur Kerja:

1. Cek suhu pada bak batu bara atas dan bawah memakai termometer digital.
2. Catat hasil pengecekan.
3. Ulangi langkah pertama dan ke-2 untuk, aerasi 3 dan 4, *scrubber* awal dan akhir, limbah batu bara sebelum dan sesudah penambahan larutan kapur dan *reservoir*.

## **BAB IV**

### **PEMBAHASAN**

#### **4.1 Analisa Mikrobiologi**

##### **4.1.1 Analisa Total Plate Count (TPC)**

Teknik isolasi / pemisahan dilakukan dengan berbagai cara, antara lain : melakukan pengenceran berseri dilanjutkan dengan pembesaran pada media yang sesuai yaitu metode cawan tuang (*pour plate*) atau cawan gores (*streak plate*). Metode ini didasarkan pada prinsip yang sama yakni pengenceran organisme, sehingga individu spesies dapat dipisahkan dari lainnya, dengan anggapan bahwa setiap koloni terpisah yang tampak pada cawan setelah inkubasi berasal dari satu sel tunggal. Teknik analisa yang dilakukan di PT DUA KELINCI adalah teknik tuang (*pour plate*). Sampel yang kami uji adalah *Sukro Oven Bawang*, *Sukro Kedele*, *Sukro Kribo*, *Sukro BBQ*, *Sukro Original*, *Sukro Kacang Polong*, *Kacang Oven Jagung Bakar*, *Kacang Oven Cabai*, *Idan kacang Shanghai*. Pada uji ini standar yang ditentukan oleh PT DUA KELINCI maksimal adalah  $5,0 \times 10^2$  koloni/g untuk Kacang SK Oven Bawang 100 gr Nesia. Berdasarkan hasil pengamatan dari sampel *Sukro Oven Bawang 100 gr Nesia* diperoleh data TPC dibawah standar yang ditentukan, yaitu  $2,5 \times 10^2$  yang artinya aman untuk dikonsumsi hal ini mengacu pada SNI No. 16 : 2016.

##### **4.1.2 Coliform**

Ciri-ciri bakteri coliform antara lain bersifat aerob atau anaerob fakultatif, termasuk dalam bakteri gram negatif, tidak membuat spora, dan dapat menfermentasi laktosa untuk menghasilkan asam dan gas pada suhu  $350^0\text{C}$ – $370^0\text{C}$ . Contoh bakteri coliform antara lain : *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, dll. Coliform digunakan sebagai indikator dan dapat juga menjadi sinyal sampel telah terkontaminasi oleh patogen atau tidak, ada tidaknya coliform dapat diketahui dengan muncul tidaknya gas atau gelembung pada masing-masing tabung durham. Sampel yang kami uji adalah *Kacang Sukro Oven Bawang 100 gr Nesia*. Pada uji ini standar maksimal yang

ditentukan oleh PT DUA KELINCI maksimalnya adalah kurang dari 3 koloni bakteri per gram. Tetapi pada uji yang kami lakukan semua sampel kurang dari 3 koloni bakteri, yang artinya baik untuk dikonsumsi.

#### **4.1.3 *Staphylococcus aureus***

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui adanya *Staphylococcus aureus* pada bahan baku dan *finished good*. *Staphylococcus aureus* tahan garam dan tumbuh baik pada medium yang mengandung 75% NaCl serta dapat menfermentasi manitol. Media diteliti oleh ahli mikrobiologi untuk menjaring dan membedakan mikroorganisme. Media yang digunakan “*media selektif*”, adalah media biakan yang mengandung paling sedikit mengandung satu bahan yang menghambat perkembangbiakan mikroorganisme tertentu yang ingin diisolasi. Bahan yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme adalah antibiotik. Pada analisis ini jika sampel positif ditandai dengan bintik-bintik hitam dengan lingkaran diluarnya. Sampel yang di uji adalah *Sukro Oven Bawang*, *Sukro Kedele*, *Sukro Kribo*, *Sukro BBQ*, *Sukro Original*, *Sukro Kacang Polong*, *Kacang Oven Jagung Bakar*, *Kacang Oven Cabai*, *Idan kacang Shanghai*. Pada uji *staphylococcus aureus* standar dari PT DUA KELINCI maksimalnya adalah  $1 \times 10^{-4}$  dan setelah dilakukan uji semua sampel di bawah standar, yaitu 0 yang artinya sampel aman untuk dikonsumsi.

#### **4.1.4 Kapang dan Khamir**

*Mould* (Filamentous fungi) merupakan mikroorganisme anggota kingdom fungi yang membentuk hifa (Carlile & Watkinson, 2014). Menurut Moncalvo (1997) dan Kunh & Ghannoum (2003), sebagian besar spesies fungi terdapat di daerah tropis disebabkan karena kondisi iklim di daerah tropis hangat dan lembab yang mendukung pertumbuhannya. Habitat *mould* sangat beragam, namun pada umumnya *mould* dapat tumbuh pada substrat yang mengandung sumber karbon organik (Carlile & Watkinson, 2014).

*Yeast* adalah fungi ekasel (unisuler) yang beberapa jenis spesiesnya umum digunakan untuk membuat roti, fermentasi minuman alcohol, dan bahkan

digunakan percobaan bahan bakar. Kebanyakan *yeast* merupakan anggota divisi *Ascomycota*, walaupun ada juga yang digolongkan dalam *Basidiomycota*. Beberapa jenis *yeast*, seperti *Candida albicans*, dapat menyebabkan penyakit pada manusia (*kandidiasis*). *Yeast* yang paling umum digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yang dimanfaatkan untuk produksi anggur, roti, dan bir sejak ribuan tahun yang silam dalam bentuk ragi.

Pada analisis *yeast-mould*, hasil positif koloni *mould* ditunjukkan dengan koloni yang berkarakter buram dan berbulu, sedangkan koloni *yeast* berwarna putih dan licin (berbau asam). Sampel yang telah kami uji adalah *Sukro Oven Bawang, Sukro Kedele, Sukro Kribo, Sukro BBQ, Sukro Original, Sukro Kacang Polong, Kacang Oven Jagung Bakar, Kacang Oven Cabai, Idan kacang Shanghai*. Pada analisis ini standar yang diterapkan di PT DUA KELINCI maksimal adalah 10 koloni/g artinya baik untuk dikonsumsi, tetapi pada uji yang telah kami lakukan di bawah standar semua.

#### **4.1.5 *Salmonella* sp.**

Media ini digolongkan menjadi media deferensial karena dapat membedakan *Salmonella* sp. dengan bakteri lainnya yaitu dengan cara memberikan beberapa komposisi laktosa yang paling tinggi. *Salmonella* spp tidak dapat memfermentasi laktosa, sehingga asam yang dihasilkan hanya sedikit karena hanya berasal dari fermentasi glukosa saja. Hal ini menyebabkan koloni *salmonellaspp* berwarna hijau kebiruan karena asam yang dihasilkannya bereaksi dengan indikator yang ada pada media *hektone enteric agar* (HEA). Jika positif ditandai dengan koloni berwarna merah. Sampel yang kami uji adalah *Sukro Oven Bawang, Sukro Kedele, Sukro Kribo, Sukro BBQ, Sukro Original, Sukro Kacang Polong, Kacang Oven Jagung Bakar, Kacang Oven Cabai, Idan kacang Shanghai*. Padastandaruji di PT DUA KELINCI maksimal *salmonella* spp negatif per 25 gr sampel. Pada uji yang kami lakukan semua sampel negatif yang berarti sampel aman untuk dikonsumsi.

## 4.2 Analisa Kimia

### 4.2.1 Analisa Mutu Minyak

Pada analisa mutu minyak ini digunakan dua metode yaitu dengan uji asam lemak bebas (ALB) dan uji angka peroksidanya (AP). Metode dalam analisa ini disebut metode titrasi asidi alkalimetri dan titrasi iodometri. Asam lemak bebas (ALB) adalah asam lemak yang berada dalam asam bebas yang tidak terikat sebagai trigliserida. Asam lemak bebas dihasilkan oleh proses hidrolisis dan oksidasi dan biasanya bergabung dengan lemak netral. Hasil reaksi hidrolisis minyak sawit adalah gliserol dan asam lemak bebas (ALB). Reaksi ini akan dipercepat dengan adanya faktor-faktor panas, air, keasaman, dan katalis (enzim). Semakin lama reaksi ini berlangsung, maka semakin banyak kadar asam lemak bebas (ALB) yang terbentuk. Data departemen perindustrian (SNI 01-3741-1995) menyatakan bahwa kadar air maksimal minyak adalah 0,30%. Dengan syarat, keadaan bau, warna dan rasa dalam keadaan normal asam lemak bebas tidak lebih dari 0,30% (Anonim, 2013).

#### 4.2.1.1 Asam Lemak Bebas (ALB)

Pada analisa Asam Lemak Bebas (ALB), sampel minyak dilarutkan dengan menggunakan alkohol panas, minyak dapat larut dalam alkohol karena sama-sama bersifat non polar. Minyak adalah senyawa non-polar, sedangkan alkohol adalah senyawa yang memiliki dua ujung yang dapat bersifat polar dan non-polar. Jika alkohol direaksikan dengan minyak, maka alkohol akan menggunakan ujung yang non-polar untuk bereaksi dengan minyak. Kemudian ditambahkan indikator fenoftalein (PP), selanjutnya dikocok dengan shaker agar minyak tercampur homogen dengan alkohol dan indikator PP. Selanjutnya sampel di titrasi dengan natrium hidroksida (NaOH). Metode dalam analisa ini disebut analisa titrasi asidi alkalimetri. Perubahan warna yang terjadi pada analisa ini yaitu dari kuning bening menjadi merah jambu. Fenoftalein (*phenolphthalein*) atau biasa disingkat sebagai pp adalah suatu senyawa organik dengan rumus  $C_{20}H_{14}O_4$  dan biasa dipakai sebagai indikator untuk titrasi asam basa. Indikator pp ini tidak bewarna dalam larutan asam dan berwarna fruksia (pink) bila dalam larutan basa

(Februari, 2011). Fungsi penambahan indikator fenoftalein adalah untuk mengetahui terjadinya suatu titik ekivalen dalam proses titrasi dengan terjadinya perubahan warna pada larutan. Indikator PP dengan selang pH  $8,0 \pm 9,6$  merupakan indikator yang baik untuk larutan basa, dimana indikator ini akan merubah warna larutan dari bening menjadi merah muda akibat dari perubahan pH larutan pada saat proses titrasi (Aqulfer, 2012).

Berdasarkan praktikum yang dilakukan dapat dihasilkan data yaitu analisa minyak pada sampel minyak tortilla 25/03/2015. Sampel minyak tortilla suhu 185 jam (07.25), minyak tortilla suhu 185 jam (10.05), minyak tortilla suhu 185 jam (10.25), minyak tortilla suhu 185 jam (11.05) dengan berat sampel awal masing-masing sebesar 5 gr sampel. Berdasarkan data hasil pengamatan pada sampel minyak krip-krip dengan hasil ALB minyak masing-masing sampel dibawah 0,6 mg KOH/gr sampel. Sedangkan bedasarkan SNI-3741-2013 ditetapkan nilai asam lemak bebas (FFA) minyak goreng maksimal 0,6 mg KOH/gr sampel. Oleh karena itu, dapat dikatakan sampel minyak yang diuji sudah sesuai dengan literatur dan layak untuk dikonsumsi. Apabila asam lemak bebas (ALB) minyak melebihi 0,6 mg KOH/gr maka sampel minyak sudah tidak layak untuk dikonsumsi. Kadar asam lemak bebas awal yang tinggi disebabkan karena tingginya kerusakan minyak selama penggunaan. Terjadinya proses oksidasi dan hidrolisis akan menyebabkan asam lemak bebas dalam minyak meningkat (Desminarti, 2007).

Faktor-faktor yang mempengaruhi bilangan asam lemak bebas (FFA) adalah :

- 1.1 Kadar air dalam minyak atau bahan
- 1.2 Frekuensi penggunaan minyak goreng
- 1.3 Kelembapan bahan pangan
- 1.4 Suhu pada proses penggorengan
- 1.5 Kecepatan perubahan lemak

Analisa asam lemak bebas (ALB) juga dapat dilakukan pada produk makanan. Metode yang digunakan sama dengan penentuan asam lemak bebas (ALB) pada sampel minyak, yaitu dengan titrasi asidi alkalinmetri. Metode ini sama dengan analisa mutu minyak akan tetapi ada sedikit perbedaan yaitu pada

saat menimbang sampel produk pada analisa. Pada analisa asam lemak bebas sampel produk yang ditimbang sebesar 10 gr. Kemudian dilakukan penambahan etanol eter yaitu larutan yang dibuat dengan cara mencampurkan etanol dan dietel eter (1:1) dalam 1000 ml. Larutan etanol eter ini digunakan untuk melarutkan minyak dalam sampel produk. Selanjutnya sampel dikocok dalam *shaker* agar homogen. Dan dilakukan penyaringan untuk memisahkan residu dan filtrat minyaknya. Kemudian dilakukan titrasi dengan NaOH dengan indikator pp. Perubahan warna yang terjadi sama seperti saat titrasi dengan minyak, yaitu dari kuning jernih atau bening menjadi *pink*. Asam lemak adalah asam karboksilat dengan panjang alifatik ekor (rantai), yang baik jenuh maupun tak jenuh. Asam lemak biasanya berasal dari trigliserida atau fosfolipid. Ketika mereka tidak melekat pada molekul lain, mereka dikenal sebagai asam lemak "bebas" (Jeski, 2012).

Berdasarkan praktikum yang dilakukan dapat dihasilkan data yaitu dengan sampel Choco Nut 360 gr, Chocowi 90 gr, Krip-krip Sweet Chili, Krip-krip Spicy BBQ 75 gr, Krip-krip Original 75 gr dengan sampel awal sebesar 10 gr. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh hasil uji asam lemak pada sampel produk masing-masing dibawah 1,1 mg KOH/gr. Dengan demikian sampel produk tersebut masih layak untuk dikonsumsi.

#### 4.2.1.2 Angka Peroksida (AP)

Angka peroksida merupakan cara pengujian yang paling sering digunakan untuk uji oksidasi lemak atau minyak. Metode iodometri yang paling banyak digunakan untuk menentukan angka peroksida umumnya ditentukan dengan pengukuran banyaknya iod bebas dari larutan kalium iodida jenuh pada suhu ruang dari lemak atau minyak yang dipisahkan dalam pencampuran asam asetat dan kloroform. Iod bebas ditritasi dengan natrium tiosulfat standar. Angka peroksida sebagai indikator produk dasar oksidasi. Angka ini menyatakan milimol oksigen peroksida per kilogram lemak (Pomeranz & Meloan, 1987).

Pada analisa angka peroksida atau (AP) minyak dilarutkan dalam kloroform:asam asetat perbandingan 2 : 3. Kloroform disini berfungsi sebagai

pelarut karena bersifat sama – sama non polar, sedangkan asam asetat glasial berperan sebagai pelarut sekaligus katalis agar minyak cepat larut. Setelah minyak larut, ditambahkan dengan pelarut KI jenuh. Penambahan larutan KI jenuh ini menyebabkan campuran berwarna kuning jelas karena KI disini berperan sebagai pengikat peroksida. Campuran kemudian didiamkan di tempat gelap dengan ditutup alumuniom foil selama 5 menit. Penyimpanan ini untuk menghindari kontak dari cahaya, dimana cahaya merupakan salah satu faktor penyebab kerusakan pada minyak. Setelah penyimpanan selesai minyak akan berubah warna menjadi kuning gelap karena pengaruh dari KI. Selanjutnya ditambahkan akuades sehingga larutan menjadi kuning keruh. Kemudian dititrasi dengan natrium tiosulfat dengan menggunakan larutan indikator larutan pati. Metode dalam analisa ini adalah titrasi iodometri. Titrasi seharusnya dilakukan secara cepat agar ion – ion peroksida terikat dengan cepat agar ion – ion peroksida cepat terikat. Perubahan yang terjadi pada analisa ini adalah dari kuning hingga warna kuning hilang (bening).

Berdasarkan praktikum yang dilakukan dapat dihasilkan data analisa minyak pada sampel minyak tortilla 25/03/2015 . Sampel minyak tortilla suhu 185 jam (07.25), minyak tortilla suhu 185 jam (10.05), minyak tortilla suhu 185 jam (10.25), minyak tortilla suhu 185 jam (11.05) dengan berat sampel awal masing-masing sebesar 5 gr sampel. Berdasarkan data hasil pengamatan pada sampel minyak krip-krip dengan hasil bilangan peroksida minyak masing-masing sampel dibawah 10 meq/kg sampel. Sedangkan bedasarkan SNI-3741-2013 ditetapkan nilai bilangan peroksida minyak goreng maksimal 10 meq/kg sampel. Oleh karena itu, dapat dikatakan sampel minyak yang diuji sudah sesuai dengan literatur dan layak untuk dikonsumsi. Karena apabila bilangan peroksida minyak melebihi 10 meq/kg sampel minyak tidak layak untuk dikonsumsi. Jika jumlah peroksida dalam bahan pangan lebih besar dari 100 meq peroksid/kg akan bersifat beracun dan tidak dapat dikonsumsi (Desminarti, 2007).

Ada beberapa faktor yang memengaruhi analisa bilangan peroksida setiap sampel, diantaranya:

1. Jumlah pengulangan penggorengan

2. Suhu penggorengan
3. Jumlah O<sub>2</sub>
4. Ketidakjenuhan Asam Lemak dalam minyak
5. Adanya antioksidan

Sedangkan pada analisa angka peroksida pada sampel produk cara kerjanya sama dengan analisa angka peroksida pada minyak, yaitu dengan menimbang sampel awal sebesar 5 gr. Sampel yang dianalisa angka peroksida yaitu dengan sampel Choco Nut 360 gr, Chocowi 90 gr, Krip-krip Sweet Chili, Krip-krip Spicy BBQ 75 gr, Krip-krip Original 75 gr dengan sampel awal sebesar 10 gr. Berdasarkan hasil pengamatan didapatkan hasil masing-masing sampel dibawah 20 meq/kg. Dengan demikian sampel produk yang dianalisa masih layak untuk dikonsumsi.

#### **4.2.2 Analisa Kadar Lemak**

Lemak adalah senyawa ester dari gliserol dan asam lemak. Lemak yang ada di dalam jaringan baik hewan maupun tumbuhan disertai dengan senyawa lain seperti fosfolipida, sterol dan beberapa pigmen. Pada analisis kadar lemak, seringkali disebut sebagai analisis “lemak kasar”, karena selain asam lemak terikut pula senyawa-senyawa lain (Legowo, 2004). Pada percobaan penentuan kadar minyak dan lemak dalam suatu bahan pangan ini, digunakan metode ekstrasi langsung dengan alat soxhlet (soxhletasi). Prinsip soxhlet ialah ekstrasi menggunakan pelarut yang sesuai dan terjadi ekstrasi *continue* dengan jumlah pelarut yang konstan dengan adanya pendingin balik (Apriyantono, 1989).

Pada uji lemak total sampel yang digunakan adalah sampel tic-tac. Prinsipnya adalah lemak diekstrak dengan pelarut lemak yang bersifat non polar seperti Petroleum Eter (PE), Petroleum benzena, dll. Berat lemak diperoleh dengan cara memisahkan lemak dengan pelarutnya (menguapkan pelarut dengan pemanasan) (Gunawan, 2005). Pada percobaan penentuan kadar minyak dan lemak dalam suatu bahan pangan ini, digunakan metode ekstrasi langsung dengan alat soxhlet (soxhletasi). Prinsip soxhlet ialah ekstrasi menggunakan pelarut yang

selalu baru sehingga terjadi ekstrasi *continue* dengan jumlah pelarut yang konstan dengan adanya pendingin balik.

Dengan menimbang sampel kering yang sudah dihaluskan sebesar 2 gr. Lalu membungkusnya dengan kertas saring dan dilipat seperti amplop. Lalu menimbang labu ekstraksi yang sudah konstan. Memasukan sampel pada tabung soxhlet dan menuang pelarut petroleum eter sebanyak 120 ml, lalu mengekstrak selama 6 jam. Dengan proses pengeringan (menguapkan sisa pelarut dan sisa air yang terkandung pada sampel) selama 8 jam. Bedasarkan praktikum dapat diperoleh hasil pada sampel Tic-Tac Sapi Panggang, Tic-Tac Rumput Laut, Tic-Tac Ayam Bawang yakni berkisar 25% - 28%.

Berikut ini faktor yang memengaruhi analisa kadar lemak metode soxhlet, sebagai berikut:

1. Jenis Pelarut
2. Proses Pengeringan
3. Keberadaan senyawa yang terlarut
4. Penghalusan sampel : berpengaruh terhadap jangkauan pelarut mengenai bahan untuk melarutkan lemak
5. Kadar air : semakin tinggi kadar air suatu bahan semakin sulit pelarut masuk kedalam jaringan.

### 4.3 Limbah

#### 4.3.1 Pengukuran pH

Pada pengukuran pH limbah ini, bertujuan untuk mengetahui berapa nilai pH pada tempat-tempat yang diukur. Untuk mencapai hal tersebut digunakan indikator universal yang kemudian dicocokkan warna yang sesuai yang telah ada pada contoh.

Dalam pengolahan limbah harus dilakukan pengukuran atau pengecekan pH secara berkala dalam prakerin ini kami melalukan penecekan pH setiap 2 jam sekali. Hal ini perlu dilakukan untuk memantau kestabilan pH dalam pengolahan limbah ini. Keasaman atau kealkalian tanah (pH) adalah suatu parameter penunjuk keaktifan ion  $H^+$  dalam suatu larutan yang berkesimbangan dengan  $H^-$  tidak

terdisosiasi dari senyawa-senyawa dapat larut dan tidak larut yang ada dalam sistem (Poerwowidodo,1991).

Untuk sampel pengukuran pH ini diambil dari bak batu bara atas dan bawah, limbah batu bara sebelum diberi kapur dan sesudah di beri kapur, aerasi 3 dan 4, scrubber awal dan akhir, dan reservoir. Pengukuran dilakukan secara langsung dari tempat-tempat yang telah ditentukan dengan cara mencelupkan indikator universal ke air limbah yang akan diukur. Indikator yang telah dicelupkan ke air limbah akan berubah warnanya dan kemudian dicocokkan dengan panduan warna yang telah tersedia.

Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan, pada tanggal 5/4/2016 setiap 2 jam pengecekan hasil yang diperoleh di setiap tempat pengecekan memiliki pH antara 7-8. Untuk limbah batu bara pada sebelum diberi larutan kapur maupun setelah diberi larutan kapur tidak ada perubahan yang berarti. Hasilnya sama saja. Hasil ini sesuai dengan literatur dan aman untuk dibuang ke sungai atau lingkungan. Menurut surat keputusan menteri lingkungan hidup no. Kep-03/mnklh/ii/1991 tanggal 1 februari 1991, ditetapkan bahwa air limbah pabrik yang boleh dibuang ke sungai atau lingkungan jika pH air limbah tersebut brkisar 6 sampai 9. Sedangkan menurut surat keputusan gubernur Jawa Tengah no. Ks.48/1987 tanggal 10 nopember 1987 ditetapkan bahwa ph air limbah yang diperbolehkan adalah 6,5 sampai 8,5.

#### **4.3.2 Pengukuran suhu**

Pada praktikum ini kami melakukan pengecekan suhu pada tempat-tempat yang telah ditentukan. Suhu menunjukkan derajat panas benda,(Putri,2011). Pengukuran suhu ini bertujuan untuk mengetahui nilai suhu dari tempat yang diukur suhunya. Pengukuran suhu kami lakukan setiap 2 jam sekali seperti pengukuran pH. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kestabilan suhu dari tempat-tempat yang diukur. Untuk melakukan pengecekan suhu kami memakai alat termometer digital.

Tempat yang kami pilih untuk dilakukan pengecekan sama seperti pengecekan nilai pH. Pengukuran suhu ini kami lakukan dengan pengukuran

secara langsung air yang ada pada tempat-tempat tersebut. Termometer digital ini sudah terdapat nilai suhu yang bisa langsung dibaca, karena nilai pembacaannya sudah berupa angka.

Berdasarkan hasil pengukuran pada tanggal 17/3/2015 menunjukkan hasil antara  $31^0\text{C}$ - $48^0\text{C}$ . Untuk hasil pengecekan di reservoir dimana akhir dari proses pengolahan limbah, dapat memenuhi syarat, karena hasilnya rata-rata sekitar  $31,4^0\text{C}$  hasil ini memenui syarat untuk bisa dibuang ke sungai. Batas maximal yang telah ditetapkan di PT. DUA KELINCI pada suhu  $35^0\text{C}$ .

#### 4.4 Tugas khusus

##### 4.4.1 Analisa Pengawet Benzoat dan Asam Salisilat

Bahan pengawet adalah bahan tambahan pangan yang dapat mencegah atau menghambat proses fermentasi, pengasaman, atau penguraian lain terhadap makanan yang disebabkan oleh mikroorganisme.

Pengawetan makanan adalah cara yang digunakan untuk membuat makanan memiliki daya simpan yang lama dan mempertahankan sifat-sifat fisik dan kimia makanan.

Dalam mengawetkan makanan harus diperhatikan jenis bahan makanan yang diawetkan, keadaan bahan makanan, cara pengawetan, dan daya tarik produk pengawetan makanan. Bahan-bahan yang digunakan untuk mengawetkan banyak sekali macam dan jenisnya mulai dari yang alami hingga yang buatan

Penambahan bahan pengawet pada pangan bertujuan sebagai berikut :

1. Memperpanjang umur simpan pangan.
  2. Menghambat pertumbuhan mikroba
  3. Tidak menurunkan kualitas gizi, warna, cita rasa dan bau bahan pangan yang diawetkan
- A. Alat dan bahan:
- a. Corong pisah
  - b. Cawan uap
  - c. Gelas ukur
  - d. Erlenmeyer

- e. Eter
- f. NaOH 10%
- g. NH4OH
- h. FeCl3 0,5 %

A. Cara kerja :

- A. Ditimbang 5 gram sampel, tambahn NaOH 10 % sampai pH basa. Tambah HCl sampai asam, masukan corong pisah
- B. Lalu tambahkan 20 mL eter dan ekstraksi 2 kali, fase eter ditampung kemudian di uapkan sampai kering.
- C. Residu yang didapat ditambah 5 mL air panas lalu dilarutkan, dan dibagi menjadi 2 larutan uji

**1.1.Uji benzoat**

- a. Larutan uji dimasukan dalam cawan ditambah NaOH sampai basa, di uapkan, lalu tambah 5 mL air hangat, jika perlu disaring..
- b. Lalu tambahkan feCl3 0,5 % hasil positif jika ada endapakan berwarna salmon.

**1.2.Uji asam salisilat**

- a. Larutan uji dimasukan dalam Erlenmeyer ditetesi FeCl3 0,5 % hasil positif jika larutan berwarna ungu.

Buku petunjuk praktikum Analisis Farmasi dan Makanan  
Universitas Setia Budi Surakarta

4.4.2. Analisa Pemanis Sakarin.

Pada awalnya penggunaan pemanis buatan ditujukan bagi pasien yang dilarang mengkonsumsi gula dengan tujuan untuk mengurangi masukan kalori atau karena penyakit diabetes. Tetapi akhir-akhir ini bahan pemanis buatan sering disalah gunakan dengan produsen bahan panganan sebagai pengganti gula untuk memperoleh keuntungan yang besar. Pemanis buatan yang sering ditambahkan adalah salah satunya adalah sakarin. Jika ditinjau dari fungsinya terhadap kesehatan

terkadang dapat merugikan karena siklamat dibuat dari bahan-bahan kimia yang diolah sedemikian rupa yang didalam unsur-unsur kimianya tidak memiliki nilai gizi dan tidak memiliki kalori yang rendah. Dosisi siklamat pada manusia sekitar 40-75 mg/kg berat badan.

D. Alat dan Bahan :

1. Corong pisah
2. Gelas ukur
3. Pipet
4. Cawan uap
5. NaCl
6. Eter
7. Aquadest
8. HCl
9. FeCl<sub>3</sub>
10. NaOH

B. Cara kerja:

1. Menyiapkan sampel kemudian tambahkan 5 mL NaCl masukan dalam corong pisah, lalu tambahkan 20 mL eter dan ekstraksi dengan 2 kali pengulangan
2. Kemudian fase air ditambah dengan aquadest dan di ekstraksi 1 kali, fase eter diuapkan
3. Residu kemudian ditambah 10 mL NaOH 10 % uapkan sampai kering, lalu tambahkan aquadest 10 mL, tambahkan 5 mL HCl pekat masukan corong pisah
4. Tambahkan 20 mL eter dan ekstraksi dengan 2 kali pengulangan, kemudian fase eter diuapkan sampai kering
5. Residu ditetesi dengan FeCl<sub>3</sub> 10 % akan berwarna ungu

$$kadar (\%)siklamat = \frac{(b-a)}{vol\ sampel} \times 100 \%$$

Buku petunjuk praktikum Analisis Farmasi dan Makanan Universitas Setia Budi Surakarta

#### 4.4.3 Analisa Pewarna Makanan

Makanan yang beredar dimasyarakat memiliki warna yang bermacam-macam kebanyakan menggunakan pewarna sintetik. Dengan adanya peraturan yang ditetapkan, diharapkan keselamatan konsumen dapat terjamin. Akan tetapi kenyataannya tidaklah demikian banyak produsen yang sengaja menggunakan zat warna sintetik itu untuk menghasilkan warna makanan yang lebih menarik. Bahan pewarna sintetik yang sering digunakan dalam bahan makanan olahan seperti Tatrazin (warna kuning) atau Allura red (warna merah), Rhodamin B.

**A. Alat dan Bahan:**

1. Beaker gelas
2. Batang pengaduk
3. Gelas ukur
4. Kertas saring Whatman no 1
5. Kertas kromatografi
6. Chamber
7. Asam asetat 6 %
8. Amonia 10 %
9. Amonia 2 %
10. Benang woll bebas lemak

**B. Cara kerja :**

1. Timbang 10 gram sampel ditambah 5 mL amonia 2 % dalam etanol 70 %
2. Tambahkan benang woll secukupnya selama 30 menit dan sambil diaduk, pisahkan benang woll dari larutan cuci dengan aquadest hingga bersih, lunturkan benang woll dengan menambahkan aminia 10 % diatas penangas air hingga sempurna

3. Larutan berwarna dipekatkan hingga didapat volume 2 mL, kemudian totolkan pada kertas saring Whatman no 1, dengan jarak penotolananya 2 cm terhadap baku
4. Elusikan dalam bejana, kemudian keringkan kertas kromatografi dan ukur jarak rambatnya  $R_f$

Buku petunjuk praktikum Analisis Farmasi dan Makanan Universitas Setia Budi Surakarta

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 KESIMPULAN**

1. Analisis mikrobiologi meliputi : TPC, *Yeast Mould*, Coliform, *Salmonella spp*, dan *Stapilloccoccus aureus*. Pada sampel padat dilakukan semua analisis yaitu TPC, *Yeast Mould*, Coliform, *Salmonella spp*, dan *Stapilloccoccus aureus*. Pada Sampel cair hanya dilakukan analisis TPC, dan *coliform* saja.
2. Hasil analisa sampel coklat pada analisa TPC, *Yeast Mould*, memenuhi standar SNI, sedangkan pada analisis Colliform sampel coklat tidak mengandung *colliform*, *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* dan *E. Coli*.
3. Analisa kimia untuk produk dan minyak yang dilakukan di PT. DUA KELINCI adalah Asam Lemak Bebas, Angka Peroksida, Kadar Air, dan Lemak Total.
4. Berdasarkan data hasil pengamatan pada sampel minyak krip-krip dengan hasil ALB minyak masing-masing sampel dibawah 0,6 mg KOH/gr sampel dan layak dikonsumsi berdasarkan SNI-3741-2013.
5. Berdasarkan praktikum yang dilakukan dapat dihasilkan data yaitu dengan sampel *SK Oven Bawang 100 gr Nesia* dengan sampel awal 10 gr. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh hasil uji TPC pada sampel produk di masing-masing cek dibawah  $5,0 \times 10^2$  *Cfu/gr*. Dengan demikian sampel produk tersebut masih layak untuk dikonsumsi.
6. Berdasarkan praktikum yang dilakukan dapat dihasilkan data yaitu dengan sampel *SK Oven Bawang 100 gr Nesia* dengan sampel awal 10 gr. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh hasil uji kapang khamir pada sampel produk di masing-masing cek dibawah 10 koloni/gr. Dengan demikian sampel produk tersebut masih layak untuk dikonsumsi.
7. Berdasarkan praktikum yang dilakukan dapat dihasilkan data analisa minyak pada sampel minyak tortilla 25/03/2015, dengan acuan SNI-3741-2013 ditetapkan nilai bilangan peroksida minyak goreng maksimal 10 meq/kg dan produk yang

dianalisa didapatkan hasil masing-masing sampel dibawah 20 meq/kg dan masih layak untuk dikonsumsi.

8. Berdasarkan praktikum dapat diperoleh hasil lemak total pada sampel Tic-Tac Sapi Panggang, Tic-Tac Rumput Laut, Tic-Tac Ayam Bawang yakni berkisar 25% - 28%.

## **5.2 KRITIK DAN SARAN**

1. Dalam analisis di laboratorium sebaiknya memakai APD yang lengkap, dalam hal ini adalah sepatu juga harus dipakai saat menganalisis.
2. Dalam setiap analisa sebaiknya laboran di *training* tentang masing – masing fungsi dari setiap larutan. Dan diadakan orientasi tentang analisa yang dilakukan dalam tiap-tiap laboratorium.
3. Untuk analisa minyak bisa menggunakan alat yang efektif seperti spektrofotometer dan tidak memakan waktu yang lama sehingga lebih efisien.
4. Untuk laboratorium mikrobiologi perlu diperluas.
5. Untuk analisa pH lebih baik menggunakan alat pHmeter. Karena hasilnya lebih akurat dan tidak mengotori lingkungan jika ada indikator universal yang jatuh.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Kukuh. S. 2000. *Validasi Metode Uji*. Pusat Standarisasi dan Akreditasi Laboratorium BSN : Jakarta.
- Aminah, Siti. 2010. *Bilangan Peroksidaku Minyak Goreng Curah dan Sifat Organoleptik Tempe pada Pengulangan Penggorengan*. Semarang: Universitas Muhammadiyah
- Anonim,2013. *Asam Lemak Bebas*. <http://thi.fp.unsri.ac.id/index.php/posting/71>. Diakses pada tanggal 07 November 2013, Makassar.
- Anshory, Irvan. 2003. *Kimia SMU Untuk Kelas III*. Jakarta: Erlangga
- Astuti.2007. *Petunjuk Praktikum Analisis Bahan Biologi*. Yogyakarta:Jurdik Biologi FMIPAUNY
- Ciptadi. 2003. *Penuntun Praktikum Biokimia*. Palangka Raya: UNPAR.
- Darkuni, M. Noviar. 2001. Mikrobiologi (Bakteriologi, Virologi, dan Mikologi). Malang:Universitas Negeri Malang.
- Desminarti, S. Dan Joniarta, E. 2007. *Upaya peremajaan dan penyerapan logam minyak goreng bekas industri makan tradisional*. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia Vol: 9. Sumatera Barat: Politeknik Negeri Payakumbuh Tanjung Pati.
- Dwidjoseputro, D. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Surabaya: Djambatan Emel, Seran. 2010. *Arsip tagfungsialkohol*. <http://wanibesak.wordpress.com/tag/fungsi-alkohol/>. Diakses pada tanggal 06 November 2013, Makassar.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. IPB Press, Bogor
- Fatimah, Soja. 2003. *Kalibrasi dan Perawatan Spektrofotometer UV-Vis*. Makalah disampaikan pada program pengabdian pada masyarakat Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI : Bandung.
- Gunawan. 2005. *Analisis Pangan: Penentuan Angka Peroksidaku dan Asam Lemak Bebas pada Minyak Kedelai dengan Variasi Menggoreng*. Semarang: FMIPA UNDIP
- Gupte, Satish. 1990. Mikrobiologi Dasar. Bina Rupa Aksara, Jakarta
- Hendayana, Sumar. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*. Semarang : IKIP Semarang

- Instruktur Kerja Laboratorium PT. Dua Kelinci
- Instruktur Kerja Laboratorium PT. Dua Kelinci
- ISO. International Standart Operational. 2005. *ISO/IEC 17025 (Versi Bahasa Indonesia) Persyaratan Umum Kompetensi Laboratorium Pengujian dan Laboratorium Kalibrasi.*
- Jujubandung,2012. parameter fisika-kimia biologi penentu kualitas air2. <https://jujubandung.wordpress.com/2012/06/08/parameter-fisika-kimia-biologi-penentu-kualitas-air-2/> diakses pada tanggal 18 april 2015. Pati
- Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi, Vol. 13, No. 1, 2008, Akreditasi DIKTI Depdiknas RI No. 49/DIKTI/Kep/2003
- Ketaren, S. 2005. *Pengantar Teknologi dan Lemak Pangan*. Jakarta: Penerbit UI Press
- Lay, B.W. 1994. Analisa Mikroba di Laboratorium. PT Raja Grafindo persada, Jakarta.
- OstanJeski.2012. *AnalisaAsamLemakBebas*. <http://eiffelgultom.blogspot.com/2012/11/analisa-asam-lemak-bebas-ffa.html>. Diakses pada tanggal 07 November 2013, Makassar.
- Pelczar, Michael. 2006. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jakarta : UI Press
- Peraturan Perundangan Kesehatan pangan 1987. Departemen Pertanian, Direktorat Jendral Kesehatan Pangan
- Poedjiadi, Anna dan F.M. Titin Supriyanti. 2009. DASAR-DASAR BIOKOMIA. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Ratnasari.2013. *Modul Biokimia Kelas III*. Pati:SMK TUNAS HARAPAN PATI
- Sandjaya, B. 1992. *Isolasi dan Identifikasi Mikrobakteri*. Widya Medika,Jakarta.
- Sawitri, Endang.2013. *Modul Kimia Analis Dasar I*.Pati: SMK TUNAS HARAPAN PATI
- Suharto.Ign. (2011). *Limbah Kimia dalam Pencemaran Air dan Udara*. Yogyakarta : CV. Andi Offset.
- Sujaya, I Nengah.2005. Penuntun Praktikum Mikrobiologi.Denpasar:Program Studi Ilmu Kesehatan Masyarakat.
- Suryani. 1998. Mikrobiologi. Aneka Ilmu, Jakarta.

- Vogel. 1990. *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Jakarta: Kalman Media Pusaka.
- Winarno, F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama
- Windiaryani, Sistiana. 2011. *Modul Praktikum Biokimia*. Sukabumi : Universitas Muhammadiyah Sukabumi

## Lampiran 1 Rumus Perhitungan

### Analisa Kimia

#### Asam Lemak Bebas (FFA)

##### a. ALB/FFA Minyak

$$FFA_{(MINYAK)} = \frac{(V.Titrasi - V.Blangko) \times 25,6 \times N.NaOH}{M.Sampel}$$

##### b. ALB/FFA Produk

$$FFA_{(PRODUK)} = \frac{(V.Titrasi - V.Blangko) \times 28,2 \times N.NaOH}{M.Sampel}$$

#### Angka Peroksida (PV)

##### a) AP/PV Minyak dan Produk

$$PV_{(MINYAK DAN PRODUK)} = \frac{(V.Titrasi - V.Blangko) \times 1000 \times N.NaTio}{M.Sampel}$$

#### % Kadar Lemak Total

$$\% \text{ lemak total} = \frac{(\text{massa labu} + \text{lemak} - \text{massa labu kosong})}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

## Lampiran.2 Pembuatan Larutan Standar

### 1. Larutan Natrium Tiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ )

Membuat larutan Natio yaitu dengan menimbang 0,2 gr  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  + 0,36 gr sodium karbonat. Lalu larutkan dalam labu ukur 1000 ml dengan akuades sampai tanda batas. Distanدارisasi dengan HCl dengan perhitungan :

$$N \text{ HCl} = \frac{\text{gr}}{\text{mr}} \times \frac{1000}{\text{volume}}$$

$$= \frac{0,2}{36,5} \times \frac{1000}{25}$$

$$= 0,025 \text{ N HCl}$$

$$\text{HCl} = \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$0,025 \times 10 = N \times 13$$

$$N = 0,01 \text{ N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$$

### 2. Larutan NaOH

Membuat larutan NaOH dengan menimbang 0,4 gr NaOH, lalu larutkan dalam ukur 1000 ml dengan akuades sampai tanda batas. Kemudian standarisasi dengan  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_2$  dengan perhitungan :

$$M \text{ H}_2\text{C}_2\text{O}_2 = \frac{\text{gr}}{\text{mr}} \times \frac{1000}{\text{volume}}$$

$$= \frac{0,1642}{126} \times \frac{1000}{25}$$

$$= 0,052 \text{ M H}_2\text{C}_2\text{O}_2$$

$$\text{NaOH} = \text{H}_2\text{C}_2\text{O}_2$$

$$n_1 \times M_1 \times V_1 = n_2 \times M_2 \times V_2$$

$$M_1 \times 10,9 = 2 \times 0,052 \times 10$$

$$M = 0,095 \text{ M NaOH}$$

**3. Larutan KI**

Membuat larutan KI dengan mengambil beberapa gram KI kemudian dilarutkan dengan aquadest sampai jenuh.

**4. Larutan Fenophthalein (pp)**

Membuat larutan pp dengan menimbang 0,364 gr pp, lalu dilarutkan dalam labu 100 ml dengan larutan alkohol 96% sampai tanda batas.

**5. Larutan amilum**

Membuat larutan amilum dengan menimbang 0,03 gr amilum, lalu dilarutkan dalam beaker glass 50 ml dengan akuades 30 ml. Lalu dipanaskan hingga larutan bening.

## Lampiran.3 Perhitungan

### a. Analisa Kimia

#### 1. Analisa Minyak (FFA dan PV)

➤ Minyak Krip-krip 13/04/2016

Minyak Krip-Krip

Berat sampel = 5,1222 gr (FFA) & 5,2000 gr (PV)

Volume titrasi = 0,25 ml (FFA) & 0,50 (PV)

$$a. \text{ FFA(minyak)} = \frac{(\text{vol.titrasi} - \text{vol.blanko}) \times 25.6 \times \text{N NaOH}}{\text{massa sampel}}$$

$$\text{FFA} = \frac{(0,25 - 0,15) \times 25,6 \times 0,095}{5,1222}$$

$$\text{FFA} = 0,047 \%$$

$$b. \text{ PV(minyak)} = \frac{(\text{vol.titrasi} - \text{vol.blanko}) \times \text{N Natrium Thiosulfat} \times 1000}{\text{massa sampel}}$$

$$\text{PV} = \frac{(0,50 - 0,05) \times 0,01 \times 1000}{5,2000}$$

$$\text{PV} = 0,865 \text{ meq/kg}$$

➤ Sampel Kacang Apollo 13/04/2016

Berat sampel = 10,0012 gr (FFA) & 5,1254 gr (PV)

Volume titrasi = 0,60 ml (FFA) & 0,16 ml (PV)

$$a. \text{ FFA(produk)} = \frac{(\text{vol.titrasi} - \text{vol.blanko}) \times 28,2 \times \text{N}}{\text{massa sampel}}$$

$$\text{FFA} = \frac{(0,60 - 0,15) \times 28,2 \times 0,95}{10,0012}$$

$$\text{FFA} = 0,198$$

$$b. \text{ PV(produk)} = \frac{(\text{vol.titrasi} - \text{vol.blanko}) \times 0,01 \times 1000}{\text{massa sampel}}$$

$$\text{PV} = \frac{(0,16 - 0,05) \times 0,01 \times 1000}{5,1254}$$

$$\text{PV} = 0,043$$

#### 2. Analisa Kadar Lemak

➤ Sampel Tortilla 14/04/2016

Berat sampel produk = 2,0051 gr

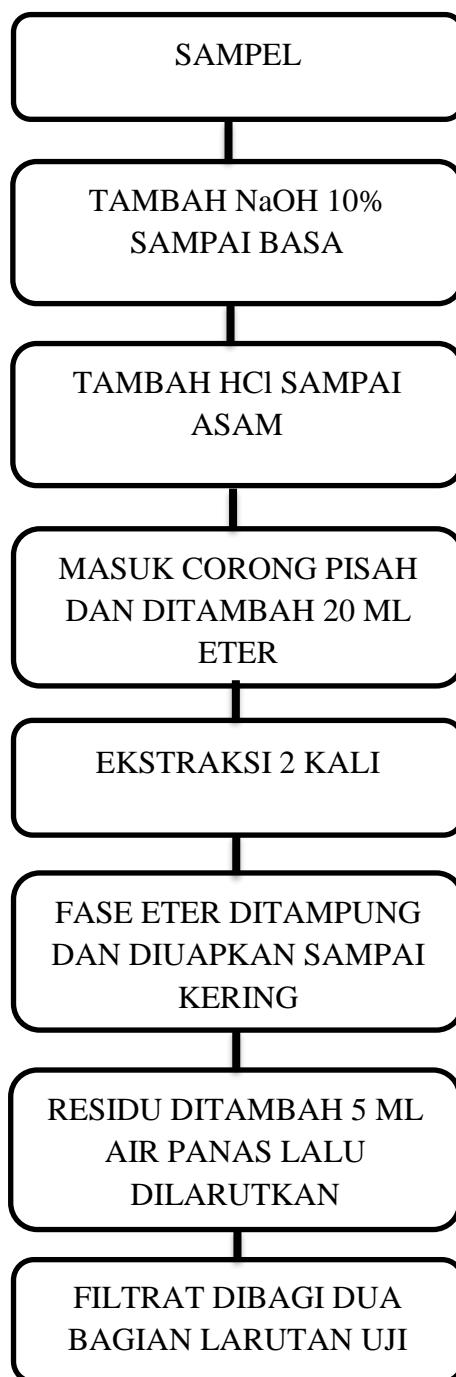
Berat labu ekstraksi = 55,2816 gr

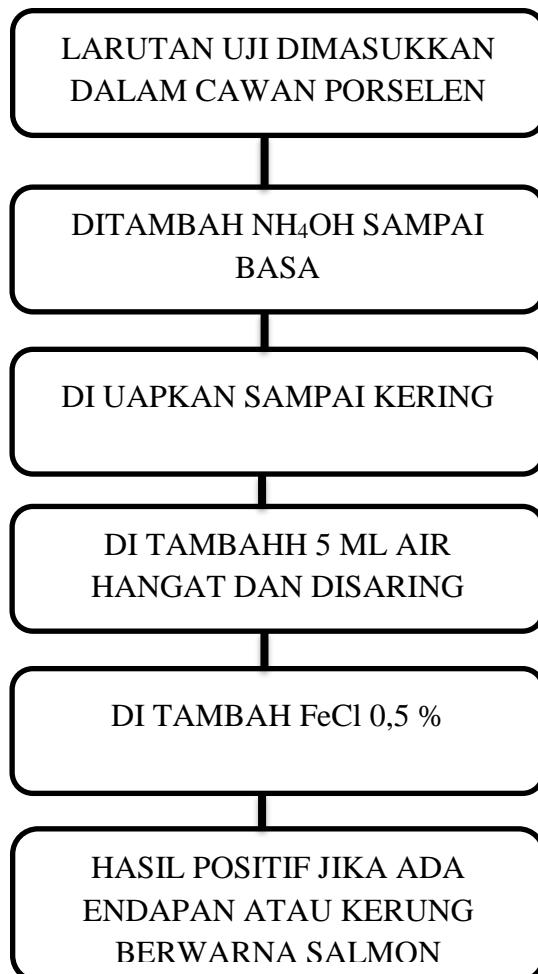
Berat labu ekst + lemak = 55,8597 gr

$$\% \text{ lemak total} = \frac{(\text{massa labu dan lemak} - \text{massa labu ekstrak kosong})}{\text{massa sampel}} \times 100\%$$

$$\% \text{ lemak total} = \frac{(55,8597 - 55,2816)}{2,0051} \times 100\%$$

$$\% \text{ lemak total} = 28,831\%$$

**Lampiran 4. Bagan SOP tugas khusus****BAGAN SOP PENGAWET BENZOAT & ASAM SALISILAT****A. PREPARASI SAMPEL**

**B. UJI BENZOAT**

### C. UJI ASAM SALISILAT



**BAGAN SOP SAKARIN (PEMANIS)**

**BAGAN SOP PEWARNA PADA MAKANAN**