



**PENGEMBANGAN *TIME-TEMPERATURE INDICATOR* BERBASIS  
EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) SEBAGAI SENSOR  
PENURUNAN KUALITAS SUSU SAPI AKIBAT KESALAHAN SUHU  
PENYIMPANAN**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Yayan Ika Rachmawati**

**NIM 122210101024**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**JEMBER**

**2016**



**PENGEMBANGAN *TIME-TEMPERATURE INDICATOR* BERBASIS  
EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) SEBAGAI SENSOR  
PENURUNAN KUALITAS SUSU SAPI AKIBAT KESALAHAN SUHU  
PENYIMPANAN**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk  
menyelesaikan Program Sarjana Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar sarjana

Oleh:

**Yayan Ika Rachmawati**

**NIM 122210101024**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**JEMBER**

**2016**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang dengan petunjuk, rahmat, hidayah, tuntunan serta limpahan kasih-Nya memberikan kemudahan, memberikan arti dan kekuatan hidup dan Nabi Muhammad SWT sebagai panutan hidup;
2. Ibuku Rumiati dan Ayahku Waloyo yang senantiasa menjadi penyemangat dan inspirasi. Terima kasih yang tiada tara untuk semua pengorbanan, kepercayaan, cinta kasih dan doa yang tulus tanpa putus yang selalu mengiringi langkah dalam menjalani hidup;
3. Adikku Indra Cahyo Kuncoro yang selalu memberikan doa dan menjadi penyemangat untuk menyelesaikan studi ini;
4. Keluarga besar Alm. Mbah Tabri dan Mbah Sukidjan atas doa dan dukungannya selama ini;
5. Bapak ibu Guru di TK Tunas Rimba, SDN Sugihwaras 5, SMPN 1 Mejayan, dan SMAN 1 Mejayan di Kabupaten Madiun serta Dosen-dosen dan segenap civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesabarannya memberikan ilmu dan membimbing penulis;
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

**Sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan, maka apabila kamu selesai  
(dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain, dan  
hanya kepada Allah hendaknya kamu berharap  
(QS. Al-Insyirah: 6-8)**

**Great works are performed not by strength, but by perseverance  
(Samuel Johnson)**

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yayan Ika Rachmawati

NIM : 122210101024

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengembangan *Time-Temperature Indicator* Berbasis Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Sensor Penurunan Kualitas Susu Sapi Akibat Kesalahan Suhu Penyimpanan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 1 Juni 2016

Yang menyatakan,

(Yayan Ika Rachmawati)

NIM 122210101024

**SKRIPSI**

**PENGEMBANGAN *TIME-TEMPERATURE INDICATOR*  
BERBASIS EKSTRAK KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.)  
SEBAGAI SENSOR PENURUNAN KUALITAS SUSU SAPI AKIBAT  
KESALAHAN SUHU PENYIMPANAN**

Oleh:

Yayan Ika Rachmawati

NIM 122210101024

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M. Sc., Ph. D.

Dosen Pembimbing Anggota : Nia kristiningrum, S. Farm., M. Farm., Apt.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengembangan *Time-Temperature Indicator* Berbasis Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Sensor Penurunan Kualitas Susu Sapi Akibat Kesalahan Suhu Penyimpanan” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari, tanggal :

Tempat :

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M. Sc., Ph. D.

Nia Kristiningrum, S. Farm., M. Farm., Apt.

NIP 196902011994031002

NIP 198204062006042001

Tim Penguji

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Dwi Koko Pratoko, S. Farm., M. Sc., Apt.

Lestyo Wulandari, S. Si., Apt., M. Farm.

NIP 198504282009121004

NIP 197604142002122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S. Si., Apt., M. Farm.

NIP 197604142002122001

*Development of Time-Temperature Indicator Based on Mangosteen Rind (Garcinia mangostana L.) as Sensor Decline Cow's Milk Quality Due to Wrong Storage Temperature*

**Yayan Ika Rachmawati**

Fakultas Farmasi, Universitas Jember

## **ABSTRACT**

*Anthocyanin is red purplish pigment found abundantly in fruits, vegetables and flowers. Time Temperature Indicator (TTI) based on anthocyanin extracted from Mangosteen Rind was developed for monitoring quality of cow's milk, especially fresh milk stored at room temperature. TTI consists of two membranes, namely indicator and acetic acid membranes. Extract of Mangosteen Rind and sodium hydroxide solution were co-immobilized onto Whatman filter paper to make indicator membrane, while acetic acid solution was also immobilized onto filter paper to obtain acetic acid membrane. The color of membrane indicator will change from brown to bright yellow due to acidic vapor of acetic acid membrane. Color changes as TTI response were monitored directly using both visual inspection and quantitative measurement via color image analysis using ImageJ software. The color changes were further correlated with cow's milk freshness parameters such as pH, smell and number of microbial. Fresh cow's milk quality was degraded after more than 4 hours stored at room temperature and color changes of TTI to bright yellow to occur after 4 hours of exposure room temperature. TTI response was found to correlate proportionally with fresh cow's milk parameters in room temperature. The result shown that the TTI can be applied for monitoring quality of cow's milk in room temperature.*

**Keyword:** *Rind Mangosteen, TTI, Cow's milk quality.*

## RINGKASAN

**Pengembangan *Time-Temperature Indicator* Berbasis Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Sensor Penurunan Kualitas Susu Sapi Akibat Kesalahan Suhu Penyimpanan;** Yayan Ika Rachmawati; 122210101024; 2016; 74 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Susu merupakan salah satu produk makanan dan minuman yang banyak digemari masyarakat dari semua kalangan karena mengandung nilai gizi yang tinggi yang dibutuhkan oleh tubuh. Nilai gizi yang tinggi pada susu merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme sehingga susu termasuk dalam makanan yang tidak tahan lama. Untuk mengatasi permasalahan tersebut maka dibutuhkan suatu alat yang dapat mendeteksi penurunan kualitas susu selama pengiriman, penyimpanan hingga sampai ke tangan konsumen. Salah satu faktor penyebab kontaminasi mikroba pada susu ialah penyimpanan susu pada kondisi yang kurang tepat, yakni ruangan yang kotor, temperatur dan kelembaban yang kurang tepat untuk menyimpan susu. Salah satu alat yang sedang dikembangkan saat ini adalah *Time-Temperature Indicator* (TTI). Salah satu perubahan sifat fisik pada TTI umumnya berupa visual, yaitu perubahan warna pada TTI.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui fabrikasi *Time-Temperature Indicator* (TTI) berbasis ekstrak kulit manggis, untuk mengetahui kondisi optimum TTI, untuk mengetahui korelasi antara penurunan kualitas susu akibat kesalahan suhu penyimpanan dengan sensitifitas perubahan warna TTI dan untuk mengetahui apakah TTI tersebut dapat digunakan sebagai sensor pada penurunan kualitas susu sapi yang berada di pasaran.

Penelitian ini dilakukan fabrikasi TTI, desain TTI, uji kualitas susu, pembuatan ekstrak kulit manggis, optimasi TTI, korelasi antara perubahan warna TTI

dengan perubahan kualitas susu dan karakterisasi TTI. Fabrikasi TTI dimulai dari pembuatan dua membran yaitu membran indikator yang terdiri atas ekstrak kulit manggis dengan NaOH dalam kertas whattman berdiameter 1,5 cm dan membran asam asetat dalam kertas saring berdiameter 1,8 cm dimana membran indikator diletakkan di dalam blister lalu ditutup dengan mika dengan lubang  $\pm 1$  mm di bagian tengahnya, kemudian diletakkan membran asam asetat dan ditutup dengan mika tanpa lubang agar asam asetat hanya menuju ke membran indikator. Desain dari TTI ini adalah perubahan warna TTI dari coklat (segar), menjadi coklat sebagian (masih segar) kemudian menjadi kuning terang (tidak segar) yang menandakan perubahan kualitas susu.

Uji kualitas susu dilakukan selama 8 jam dimulai dari pengujian pH susu menggunakan pH meter dari 6,8 pada jam ke 0 menjadi 5,76 pada jam ke-8, uji perubahan bau susu menggunakan 10 orang panelis semakin lama semakin besar penilaian yang diberikan dan total mikroba terhitung dengan metode *Total Plate Count* dengan media agar PCA (*Plate Count Agar*) juga mengalami kenaikan log 2, 936 CFU/ml atau sekitar 827 CFU/ml menjadi log 14,440 CFU/ml atau sekitar  $2,75 \times 10^{14}$  CFU/ml.

Pembuatan ekstrak kulit manggis dilakukan dengan menambahkan etanol 96% pada serbuk simplisia kulit manggis dan untuk penentuan total antosianin dalam ekstrak kulit manggis dan didapatkan  $11,672 \pm 0,132$  mg/L atau  $0,0232 \pm 2,0 \times 10^{-4}$  % b/b. Berdasarkan hasil optimum membran indikator untuk sensor TTI adalah ekstrak kulit manggis 5% b/v: NaOH 0,1 N dengan perbandingan 3:1 menghasilkan larutan indikator berwarna coklat dan lama pengeringan membran asam asetat adalah 60 menit. Pada karakterisasi TTI meliputi perubahan warna TTI dari coklat menjadi coklat sebagian setelah jam ke-2 hingga kuning terang setelah jam ke-4. Stabilitas TTI mengalami penurunan nilai mean RGB mulai hari ke-2. Hasil pengukuran nilai *mean* RGB pada hari ke-6 telah melebihi 15% dari respon sensor pada hari ke-0, sehingga TTI sudah tidak dapat lagi digunakan.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas rahmatdan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengembangan *Time-Temperature Indicator* Berbasis Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai Sensor Penurunan Kualitas Susu Sapi Akibat Kesalahan Suhu Penyimpanan”. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurah keharibaan Nabi Muhammad SAW. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari, S. Si., M. Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Prof. Drs. Bambang Kuswandi dan Ibu Nia Kristiningrum, S. Farm., Apt., M. Farm. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran perhatian serta dengan sabar membimbing penulis untuk menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;
3. Bapak Dwi Koko Pratoko, S. Farm., M. Sc., Apt. dan Ibu Lestyo Wulandari, S. Si., M. Farm., Apt. selaku Dosen Penguji yang dengan sabar memberikan saran dalam penulisan skripsi ini;
4. Ibu Lestyo Wulandari, S. Si., M. Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing penulis selama penulis menjadi mahasiswa;
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, berbagai pengalaman dan selalu memotivasi penulis selama masa perkuliahan; staff dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama penulis menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember;

6. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi Laboratorium Kimia Farmasi serta Ibu Widi dan Mbak Anggra selaku teknisi Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember yang telah membantu penulis selama penelitian;
7. Orang tua tercinta Waloyo dan Rumiati, Adik Indra Cahyo Kuncoro, serta keluarga besar Alm. Mbah Tabri dan Mbah Sukidjan yang senantiasa memberikan semangat, doa dan cinta kasih selama ini;
8. Partner pejuang Chemistry (Citra, Juwita, Arimbi, Sarah, Dhanny, Yodi, Mas Hafidi, Ozi, Dewi, Arjun, Farida, Novialda, Helmi, Tsabit, Dea, Vinas, dan Nazil);
9. Sahabat-sahabatku, Kinanthi, Rani Firda dan Anak-anak BRV (Aini, Anggi dan Mbak Niken) yang telah menemani dan mendengarkan segala curahan hati serta keluh kesah penulis selama penelitian ini dan atas pengalaman yang tak terlupakan;
10. Teman kos Baturaden 12 (Mbak Puspa, Adis, Mbak Arin, Nana dan Linggan) atas pengalaman serunya;
11. Sahabat terbaikku, Cloudia Deby dewinta dan Awalina Lukmana Cita Resmi yang tidak pernah putus dalam saling mendoakan dan saling mendukung penulis meskipun tidak saling berdekatan;
12. Teman-teman seperjuangan Petruk Rolass Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Hanya doa yang dapat penulis panjatkan semoga kebaikan dan dukungan yang diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT. Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 1 Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>viii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>ix</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xviii</b>
<b>DAFTAR RUMUS .....</b>	<b>xix</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xx</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang Masalah .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>3</b>
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tinjauan tentang Manggis.....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	5
2.1.2 Nama Daerah.....	5
2.1.3 Morfologi Tanaman.....	5
2.1.4 Komposisi Kimia Kulit Manggis.....	6

<b>2.2</b>	<b>Tinjauan tentang Antosianin.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3</b>	<b>Tinjauan tentang Susu .....</b>	<b>8</b>
2.3.1	Pengertian Susu .....	8
2.3.2	Sifat Fisika dan Kimia Susu .....	9
2.3.3	Komposisi Kimiawi Susu .....	12
2.3.4	Mikrobiologi Susu .....	13
2.3.5	Kerusakan Susu oleh Mikroorganisme.....	14
2.3.6	Kerusakan Susu Akibat Kesalahan Suhu Penyimpanan.....	17
2.3.7	Pemeriksaan Kualitas Susu.....	18
2.3.8	Persyaratan Mutu Susu Segar .....	19
<b>2.4</b>	<b>Tinjauan tentang Sensor .....</b>	<b>20</b>
2.4.1	Pengertian Sensor Kimia .....	20
2.4.2	Teknik Imobilisasi .....	20
<b>2.5</b>	<b>Tinjauan tentang <i>Time-Temperature Indicator</i> (TTI) .....</b>	<b>21</b>
<b>2.6</b>	<b>Tinjauan tentang Asam Asetat.....</b>	<b>23</b>
2.6.1	Definisi .....	23
2.6.2	Sifat Fisika.....	24
2.6.3	Sifat Kimia.....	24
<b>2.7</b>	<b>Tinjauan tentang Natrium Hidroksida .....</b>	<b>24</b>
2.7.1	Definisi .....	24
2.7.2	Sifat Fisika.....	25
2.7.3	Sifat Kimia.....	25
<b>2.8</b>	<b>Tinjauan tentang Blister .....</b>	<b>25</b>
<b>2.9</b>	<b>Tinjauan tentang Titrasi Asam Basa.....</b>	<b>25</b>
<b>2.10</b>	<b>Tinjauan tentang Indikator Asam Basa.....</b>	<b>26</b>
<b>2.11</b>	<b>Tinjauan tentang Spektrofotometer UV-Visible.....</b>	<b>27</b>
<b>2.12</b>	<b>Tinjauan tentang Pembacaan Warna pada <i>ImageJ</i>.....</b>	<b>28</b>
<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>		<b>30</b>

<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian .....</b>	<b>30</b>
<b>3.2</b>	<b>Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>30</b>
<b>3.3</b>	<b>Bahan Penelitian.....</b>	<b>30</b>
<b>3.4</b>	<b>Alat Penelitian .....</b>	<b>30</b>
<b>3.5</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>31</b>
3.5.1	Variabel Bebas.....	31
3.5.2	Variabel Terkendali .....	31
3.5.3	Variabel Terikat.....	31
<b>3.6</b>	<b>Definisi Operasional.....</b>	<b>31</b>
<b>3.7</b>	<b>Rancangan Penelitian .....</b>	<b>32</b>
3.7.1	Diagram Alur Penelitian.....	32
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian .....</b>	<b>33</b>
3.8.1	Fabrikasi TTI.....	33
3.8.2	Desain TT .....	34
3.8.3	Pengukuran Parameter Kualitas Susu.....	36
3.8.4	Pembuatan Ekstrak Manggis .....	37
3.8.5	Optimasi TTI .....	38
3.8.6	Korelasi Perubahan Warna TTI dengan Perubahan Kualitas Susu ....	39
3.8.7	Karakterisasi TTI.....	39
3.8.8	Analisis Data .....	41
<b>BAB IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>42</b>
<b>4.1</b>	<b>Fabrikasi TTI .....</b>	<b>42</b>
<b>4.2</b>	<b>Perubahan Kualitas Susu pada Kesalahan Suhu Penyimpanan .....</b>	<b>44</b>
4.2.1	Pengamatan pH Susu .....	44
4.2.2	Pengamatan Sensoris (Bau) Susu.....	45
4.2.3	Perhitungan Total Mikroba Susu .....	47
<b>4.3</b>	<b>Pembuatan Ekstrak .....</b>	<b>48</b>
4.3.1	Pembuatan Ekstrak Kulit Manggis.....	48

4.3.2	Penentuan Total Antosianin Ekstrak Kulit Manggis .....	48
<b>4.4</b>	<b>Optimasi TTI .....</b>	<b>49</b>
4.4.1	Optimasi Konsentrasi Ekstrak Kulit Manggis dan NaOH .....	49
4.4.2	Optimasi Volume NaOH.....	50
4.4.3	Optimasi Lama Pengeringan Asam Asetat .....	54
<b>4.5</b>	<b>Korelasi antara Parameter Kualitas Susu dengan Perubahan Warna TTI .....</b>	<b>55</b>
<b>4.6</b>	<b>Karakterisasi TTI .....</b>	<b>58</b>
4.6.1	Perubahan Warna TTI.....	58
4.6.2	Stabilitas TTI.....	60
4.6.3	Waktu Pakai TTI.....	61
<b>4.7</b>	<b>Aplikasi TTI pada Kemasan Susu Segar di Pasaran.....</b>	<b>64</b>
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>		<b>66</b>
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan .....</b>	<b>66</b>
<b>5.2</b>	<b>Saran .....</b>	<b>67</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>68</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>75</b>

DAFTAR TABEL

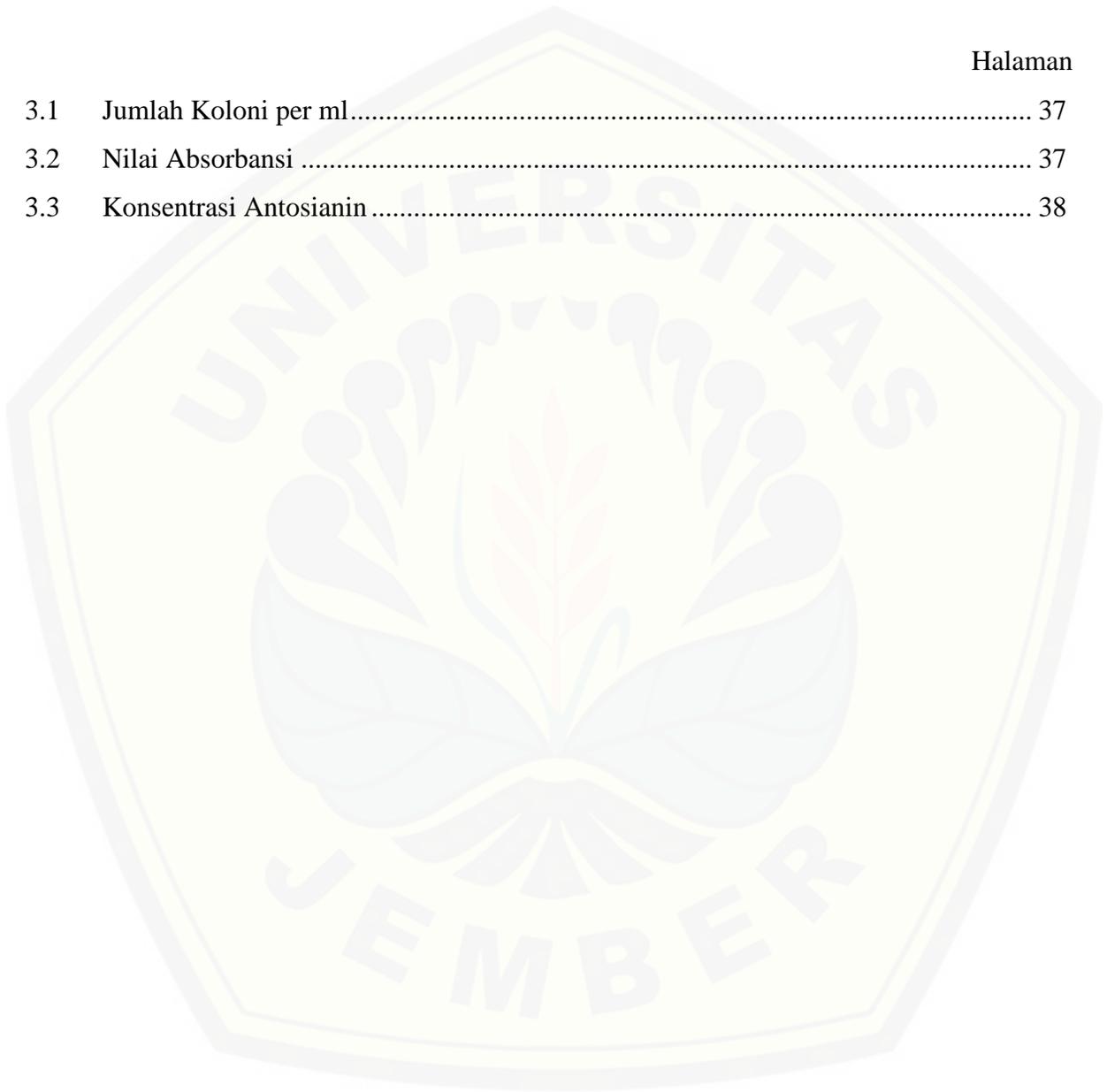
	Halaman
2.1 Rata-Rata Berat Jenis Susu dari Berbagai Jenis Ternak dan ASI.....	11
2.2 Rata-Rata Nilai pH dari Beberapa Jenis Ternak dan ASI.....	12
2.3 Komponen Kimia Susu Sapi.....	13
2.4 Jenis Bakteri Susu dan Aktivasnya.....	16
2.5 Syarat Mutu Susu Menurut SNI No. 3141.1: 2011.....	19
2.6 Karakteristik Teknik Imobilisasi.....	21
4.1 Hasil Optimasi Konsentrasi Ekstrak Kulit Manggis dan NaOH.....	50
4.2 Hasil Optimasi Membran Indikator dengan Berbagai Rasio pada Suhu Ruang.....	51
4.3 Hasil Pengukuran Perubahan Warna Membran Indikator dengan Berbagai Rasio pada Suhu Ruang.....	52
4.4 Hasil Optimasi Lama Pengerimngan Membran Asam Asetat.....	55
4.5 Rata-rata Nilai <i>Mean</i> RGB dari Perubahan Warna TTI.....	59
4.6 Hasil Pengukuran Nilai <i>Mean</i> RGB Waktu Pakai TTI.....	63
4.7 Data Hasil Perubahan Warna TTI dengan Perubahan Kualitas “Susu Segar Rembangan”.....	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Manggis ( <i>Garcinia mangostana</i> L.).....	6
2.2 Rumus Struktur Antosianin.....	7
2.3 Perubahan Struktur Antosianin akibat Penambahan Dapar pH .....	8
2.4 Skema Sensor Kimia.....	20
2.5 Struktur Asam Asetat .....	24
2.6 Diagram Skematis Spektrofotometer UV-Vis.....	28
3.1 Diagram Alur Penelitian .....	32
3.2 Desain TTI Tampak Samping.....	34
3.3 Desain <i>Time-Temperature Indicator</i> .....	35
4.1 Desain <i>Time-Temperature Indicator</i> .....	43
4.2 Desain TTI Tampak Samping.....	44
4.3 Grafik Hasil Pengamatan pH Susu pada Suhu Ruang .....	45
4.4 Grafik Hasil Pengamatan Bau Susu pada Suhu Ruang.....	46
4.5 Grafik Hasil Pengamatan Total Mikroba Terhitung pada Suhu Ruang .....	47
4.6 Grafik Korelasi antara <i>Mean</i> RGB pada TTI dengan pH Susu.....	56
4.7 Grafik Korelasi antara <i>Mean</i> RGB pada TTI dengan Bau Susu .....	57
4.8 Grafik Korelasi antara <i>Mean</i> RGB pada TTI dengan Total Mikroba pada Susu.....	58
4.9 Grafik Perubahan Warna TTI tiap Jam pada Suhu Ruang.....	60
4.10 Grafik Stabilitas TTI terhadap Kondisi Penyimpanan Suhu <i>Chiller</i> .....	61
4.11 Aplikasi TTI pada Kemasan Susu.....	64

**DAFTAR RUMUS**

	Halaman
3.1 Jumlah Koloni per ml.....	37
3.2 Nilai Absorbansi .....	37
3.3 Konsentrasi Antosianin.....	38



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data Hasil Pengamatan pH susu .....	75
B. Data Hasil Pengamatan Bau Susu .....	76
C. Data Hasil Perhitungan Total Mikroba Susu .....	77
D. Data dan Hasil Analisis Uji Penentuan Total Antosianin .....	89
E. Data hasil Pengamatan Perubahan Warna TTI Berdasarkan <i>ImageJ</i> .....	94
F. Hubungan Parameter Kualitas Susu dengan Perubahan Warna TTI .....	95
G. Stabilitas TTI.....	96
H. Waktu Pakai TTI.....	97
I. Data Hasil Pengukuran “Kualitas Susu Segar Rembangan” .....	98
I.1 Data Hasil Pengukuran Nilai pH.....	98
I.2 Data Hasil Penilaian Sensoris (Bau) .....	98
J. Kuesioner Penelitian .....	99

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Seiring dengan peningkatan kesejahteraan, manusia memiliki beragam kebutuhan yang berbeda-beda. Selain kebutuhan akan sandang dan papan, kebutuhan pangan merupakan salah satu kebutuhan yang pokok bagi semua masyarakat. Hal itu menyebabkan para pengusaha yang bergerak di bidang pengolahan pangan untuk memproduksi makanan dalam jumlah yang besar (Kapitania, 2010).

Susu adalah salah satu produk makanan atau minuman yang digemari masyarakat karena susu komposisi gizi ideal yang dibutuhkan oleh tubuh (Rahman, 2007). Susu sebagai salah satu produk ternak mempunyai kandungan gizi yang lengkap seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin. Sifat zat gizi tersebut mudah dicerna dan diserap serta sempurna (Abubakar *et al.*, 2000).

Kualitas susu sangat sulit dipertahankan hingga ke tangan konsumen karena susu termasuk dalam daftar bahan makanan yang tidak tahan lama (*perishable food*) (Saleh, 2004a). Hal ini didukung pernyataan Ernawati *et al.* (1986) bahwa tanpa penanganan yang baik, susu tidak dapat bertahan lebih dari 12 jam. Kondisi gizi yang baik pada susu juga memberi peluang yang baik pula bagi pertumbuhan mikroba seperti bakteri, kapang dan khamir karena dalam pertumbuhannya mikroba juga membutuhkan bahan makanan. Pertumbuhan berbagai mikroba tersebut akan mengubah mutu susu, ditandai dengan perubahan rasa, aroma, warna dan penampakan yang akhirnya menyebabkan susu tersebut rusak (Abubakar *et al.*, 2000). Salah satu faktor penyebab kontaminasi mikroba pada susu ialah penyimpanan susu pada kondisi yang kurang tepat, yakni ruangan yang kotor, temperatur dan kelembaban yang kurang tepat untuk menyimpan susu (Sulistiyowati, 2009). Disamping itu penanganan susu yang tidak benar juga dapat menyebabkan daya simpan susu menjadi singkat (Saleh, 2004a).

Untuk mengatasi masalah tersebut di atas dibutuhkan suatu alat yang dapat mendeteksi penurunan kualitas susu selama pengiriman, penyimpanan hingga sampai ke tangan konsumen. Salah satu alat yang saat ini banyak dikembangkan adalah *Time-Temperature Indicator* (TTI) yang merupakan suatu alat kecil yang dapat menunjukkan hubungan antara waktu dan temperatur (Feliciano, 2007). TTI umumnya merupakan peralatan sederhana, tidak mahal dan secara tipikal didesain sebagai label. (Haarer *et al.*, 2011). Salah satu perubahan sifat fisik pada TTI umumnya berupa visual, yaitu perubahan warna pada TTI. Semakin cepat perubahan warna terjadi, semakin cepat pula indikator akan mendeteksi akhir dari *shelf life* pada suatu produk (Prusik *et al.*, 1991). Indikator dapat dibuat dengan memanfaatkan zat warna yang ada pada bagian tanaman, seperti zat berwarna pada buah stroberi, bunga *Jacaranda acutifolia*, bunga soka, kulit biji mahoni, daun *rhoedishcolor*, bunga pukul empat, kulit manggis, bunga mawar, bunga kana, daun kubis ungu, batang kayu secang, bunga rosella, bayam merah, daun puring, rimpang kunyit, pacar air, rimpang temulawak dan bunga kamboja (Padmaningrum *et al.*, 2012). Salah satu penelitian yang dilakukan Asokawaty (2012) telah membuktikan bahwa kandungan antosianin sebagai zat warna pada kulit manggis dapat diaplikasikan sebagai indikator alami titrasi asam basa.

Pada penelitian ini dikembangkan TTI sebagai sensor penurunan kualitas susu sapi akibat kesalahan suhu penyimpanan. Komponen utama TTI adalah membran indikator yang mengandung ekstrak kulit manggis dan NaOH yang diimobilisasi ke dalam kertas saring *whatman*. Selanjutnya membran tersebut dititrasi dengan uap asam asetat yang telah diimobilisasi pada membran lain. Seiring berjalannya waktu, uap asam asetat akan mentitrasi membran indikator sehingga terjadi perubahan warna pada membran indikator. Mula-mula membran TTI berwarna coklat dalam suasana basa kemudian akan berubah menjadi kuning terang dalam suasana asam. Ketika produk susu sudah tidak segar lagi, diharapkan membran akan berubah warna menjadi kuning terang.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian di atas, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah fabrikasi *Time-Temperature Indicator* berbasis ekstrak kulit manggis sebagai sensor penurunan kualitas susu sapi akibat kesalahan suhu penyimpanan?
2. Bagaimanakah kondisi optimum fabrikasi TTI berbasis ekstrak kulit manggis tersebut?
3. Bagaimanakah korelasi antara penurunan kualitas susu sapi akibat kesalahan suhu penyimpanan dengan perubahan warna TTI berbasis ekstrak kulit manggis?
4. Apakah aplikasi TTI berbasis ekstrak kulit manggis sebagai sensor penurunan kualitas susu sapi dapat digunakan pada penurunan kualitas susu sapi yang berada di pasaran?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui fabrikasi *Time-Temperature Indicator* berbasis ekstrak kulit manggis sebagai sensor penurunan kualitas susu sapi akibat kesalahan suhu penyimpanan.
2. Untuk mengetahui kondisi optimum fabrikasi TTI berbasis ekstrak kulit manggis.
3. Untuk mengetahui korelasi antara penurunan kualitas susu sapi akibat kesalahan suhu penyimpanan dengan perubahan warna TTI berbasis ekstrak kulit manggis.
4. Untuk mengetahui aplikasi TTI berbasis ekstrak kulit manggis sebagai sensor penurunan kualitas susu sapi dapat digunakan pada penurunan kualitas susu sapi yang berada di pasaran.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini diharapkan memberikan manfaat-manfaat berikut:

1. Memberikan gambaran yang lebih jelas dan nyata dari pengembangan sensor untuk berbagai kegunaan dan keperluan di bidang pangan.

2. TTI berbasis ekstrak kulit manggis dapat diaplikasikan sebagai alat untuk mendeteksi penurunan kualitas susu sapi akibat kesalahan suhu penyimpanan.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Manggis

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Manggis merupakan salah satu buah yang digemari oleh masyarakat Indonesia. Tanaman manggis berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Indonesia dan Malaysia. Pohon manggis dapat tumbuh di dataran rendah sampai di ketinggian kurang dari 1.000 m dpl. Pertumbuhan terbaik dicapai pada daerah dengan ketinggian kurang dari 500-600 m dpl (Prihatman, 2000). Klasifikasi tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) menurut *Integrated Taxonomic Information System/ ITIS* (2011) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Malpighiales
Famili	: Clusiaceae
Genus	: <i>Garcinia</i> L.
Spesies	: <i>Garcinia mangostana</i> L.

#### 2.1.2 Nama Daerah

Di Indonesia manggis mempunyai berbagai macam nama lokal seperti manggu (Jawa Barat), manggus (Lampung), manggusto (Sulawesi Utara), mangustang (Maluku) dan manggih (Sumatera Barat) (Prihatman, 2000).

### 2.1.3 Morfologi Tanaman

Tinggi pohon manggis mencapai 7-25 meter. Batang tanaman manggis berbentuk kayu. Kulit batangnya tidak rata dan berwarna kecokelatan. Daun manggis berbentuk bulat telur sampai bulat panjang, tunggal dan bertangkai pendek. Buahnya berbentuk bulat dan berujung. Permukaan kulit buah berwarna hijau saat masih muda dan berubah ungu kemerah-merahan ketika sudah matang. Pada bagian ujung buah terdapat juring atau cupat berbentuk bintang yang menunjukkan jumlah segmen daging buah. Jumlah juring buah manggis biasanya 5-8 buah. Kulit buah manggis ukurannya tebal mencapai sepertiga bagian dari buahnya (Cronquist, 1981). Gambar manggis dapat dilihat pada Gambar 2.1.



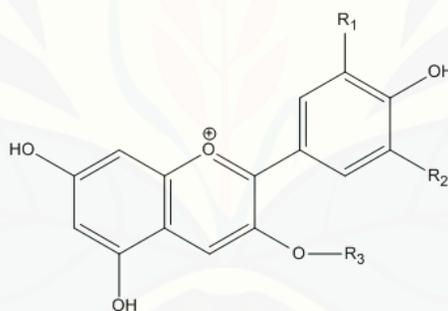
Gambar 2. 1 Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

### 2.1.4 Komposisi Kimia Kulit Buah Manggis

Kulit buah manggis mengandung beberapa senyawa kimia diantaranya senyawa triterpenoid, alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan polifenol (Dewi *et al*, 2013). Selain itu, pada kulit manggis terdapat zat warna alami yang dihasilkan oleh pigmen berwarna yaitu antosianin seperti sianidin-3-sophorosida dan sianidin-3-glukosida (Asokawaty, 2012).

## 2.2 Tinjauan tentang Antosianin

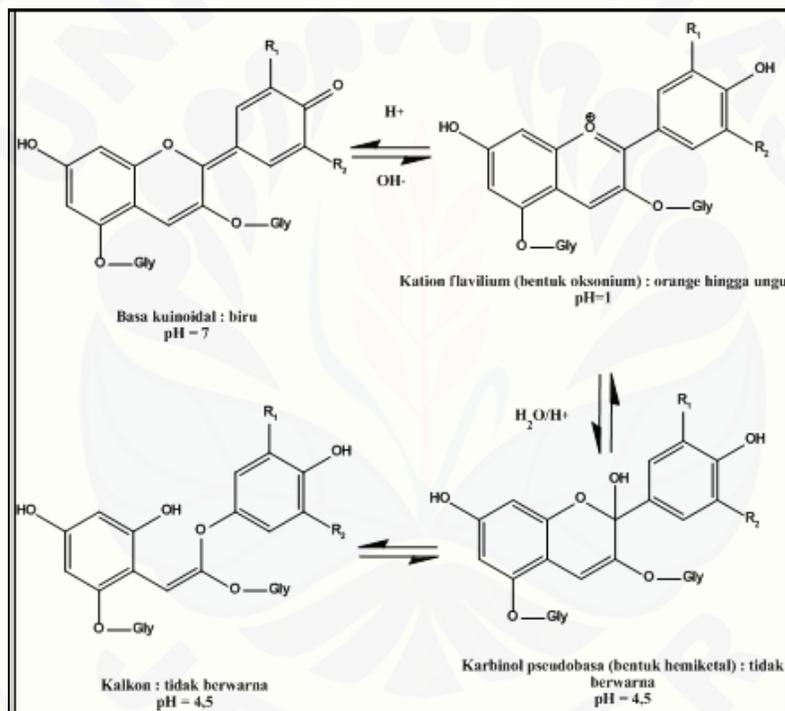
Antosianin merupakan salah satu bagian penting dalam golongan pigmen klorofil. Antosianin berasal dari bahasa Yunani, *anthos* yang berarti bunga dan *kyanos* yang berarti biru gelap. Menurut Andarwulan dan Faradilla (2012), antosianin merupakan senyawa berwarna yang bertanggung jawab untuk kebanyakan warna merah, biru dan ungu pada buah, sayur dan tanaman hias. Senyawa ini masuk dalam golongan flavonoid. Antosianin tersusun atas sebuah aglikon (antosianidin) yang teresterifikasi dengan satu atau lebih gugus gula (glikon). Antosianin ditemukan dalam enam bentuk antosianidin, yaitu pelargonidin, sianidin, peonidin, delphinidin, petunidin dan malvidin. Senyawa antosianin paling umum adalah sianidin sekitar 80% pada pigmen daun tumbuhan, 69% pada buah-buahan dan 50% pada bunga (Ali, 2009). Rumus struktur dari antosianin dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Antosianin	R1	R2
Delfinidin	OH	OH
Petunidin	OH	OCH <sub>3</sub>
Malvidin	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
Sianidin	OH	H
Peonidin	OCH <sub>3</sub>	H
Pelargonidin	H	H

Gambar 2. 2 Rumus Struktur Antosianin (Andarwulan & Faradilla, 2012)

Antosianin tergolong pigmen atau pembentuk warna pada tanaman yang ditentukan oleh pH dari lingkungannya. Perubahan warna pada antosianin dalam tingkat pH tertentu disebabkan sifat antosianin yang memiliki tingkat kestabilan yang berbeda, misalnya pada pH 1 antosianin lebih stabil dan lebih berwarna, namun saat pH meningkat di atas 4 terbentuk senyawa antosianin berwarna kuning (kalkon), senyawa berwarna biru (bentuk quinoid) atau senyawa yang tidak berwarna (basa karbinol) (Andarwulan & Faradilla, 2012). Adapun struktur dan perubahan warna pada antosianin karena perbedaan tingkat pH dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2. 3 Perubahan Struktur Antosianin akibat Penambahan Dapar pH (Lee *et al.*, 2005)

## 2.3 Tinjauan tentang Susu

### 2.3.1 Pengertian Susu

Susu adalah salah satu bahan pangan yang bersifat universal dan diakui sebagai bahan makanan lengkap karena kandungan komponen esensialnya, seperti

protein, laktosa, lemak, mineral, dan vitamin dalam bentuk yang mudah dicerna dan direkomendasikan sebagai bagian dari bahan makanan wajib harian bagi anak-anak dan ibu hamil (Javaid *et al.*, 2009). Menurut Hadiwiyoto (1994), susu merupakan cairan berwarna putih hasil pemerahan sapi atau hewan menyusui lainnya yang dapat dimakan atau digunakan sebagai bahan makanan yang aman dan sehat. Di dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) nomor 01-3141-1998 dijelaskan bahwa susu murni adalah cairan dari ambing (kalenjar susu) sapi sehat dan bersih yang diperoleh dengan cara pemerahan yang benar, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun. Sedangkan susu segar adalah susu murni yang tidak mendapatkan perlakuan apapun kecuali proses pendinginan dan tanpa mempengaruhi kemurniannya.

### 2.3.2 Sifat Fisika dan Kimia Susu

#### a. Sifat Fisika Susu

Sifat fisika susu meliputi warna, bau, rasa, titik didih, titik beku, berat jenis dan kekentalan.

##### 1) Warna

Warna susu dapat berubah dari satu warna ke warna yang lain, tergantung dari jenis ternak, jenis pakan, jumlah lemak, bahan padat dan bahan pembentuk warna. Warna susu berkisar dari putih kebiruan hingga kuning keemasan. Warna putih dari susu merupakan hasil dispersi dari refleksi cahaya oleh globula lemak dan pertikel koloidal dari kasein dan kalsium fosfat. Warna kuning pada susu merupakan lemak dan karoten yang dapat larut dalam susu. Warna putih sedikit kebiruan dapat tampak pada susu yang memiliki kadar lemak rendah atau pada susu skim (Legowo, 2002).

##### 2) Rasa dan Bau

Rasa dan bau erat hubungannya dalam penentuan kualitas susu. Susu terasa sedikit manis disebabkan oleh laktosa, sedangkan rasa asin berasal dari natrium klorida, natrium sitrat dan garam-garam mineral lainnya. Bau khas susu disebabkan

oleh beberapa senyawa yang mempunyai aroma spesifik. Oleh sebab itu, beberapa jam setelah pemerahan atau setelah penyimpanan aroma khas susu banyak berkurang (Legowo, 2002).

Menurut Buckle *et al.* (1987) cita rasa yang kurang normal pada susu disebabkan oleh:

- a. Faktor fisiologis seperti cita rasa pakan sapi misalnya alfalfa, bawang merah, bawang putih dan cita rasa alga yang akan masuk ke dalam susu bila bahan-bahan tersebut mencemari pakan dan air minum sapi.
- b. Faktor enzimatis seperti lipase yang dapat menimbulkan cita rasa tengik pada susu.
- c. Faktor kimiawi misalnya oksidasi lemak.
- d. Faktor mikrobiologis misalnya aktivitas bakteri laktat.
- e. Faktor mekanis, bila bau susu menjadi tidak sedap mungkin dipengaruhi oleh sifat lemak susu yang mudah menyerap bau sekitarnya.

### 3) Titik Didih dan Titik Beku

Berdasarkan *codex* susu, titik beku susu adalah  $-0,500^{\circ}\text{C}$ . *Codex* susu adalah suatu daftar satuan yang harus dipenuhi susu sebagai bahan makanan. Daftar ini telah disepakati para ahli gizi dan kesehatan sedunia, walaupun di setiap negara atau daerah mempunyai ketentuan-ketentuan tersendiri. Untuk Indonesia, standar titik beku susu adalah  $-0,520^{\circ}\text{C}$  dan titik didih susu adalah  $100,16^{\circ}\text{C}$ . Apabila terdapat pemalsuan susu dengan penambahan air, maka dengan mudah dapat diketahui melalui uji titik beku dan titik didih (Saleh, 2004a).

### 4) Berat Jenis

Susu mempunyai berat jenis yang lebih besar daripada berat jenis air karena susu merupakan sistem koloid yang kompleks, yakni terdispersinya garam-garam, gula dan senyawa lain dalam media air. Berat jenis susu adalah  $1,027-1,035 \text{ g/dm}^3$ . Berdasarkan *codex* susu, berat jenis susu adalah  $1,028 \text{ g/dm}^3$  (Saleh, 2004a). Rata-rata berat jenis susu dari beberapa jenis ternak dan ASI dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Rata-Rata Berat Jenis Susu dari Berbagai Jenis Ternak dan ASI

No	Jenis Susu	Berat Jenis (g/dm <sup>3</sup> )
1	Susu sapi	1,030
2	Susu kerbau	1,031
3	Susu kambing	1,033
4	Susu domba	1,036
5	Susu unta	1,030
6	ASI	1,029

Sumber: Goff dan Hill (1993)

#### 5) Viskositas

Viskositas susu lebih tinggi daripada viskositas air. Viskositas susu berkisar 1,5-2,0 cP. Pada suhu 20°C, viskositas whey 1,2 cP, viskositas susu skim 1,5 cP dan susu segar 2,0 cP. Viskositas susu dipengaruhi oleh TS (Total Solid) yaitu jumlah padatan yang terlarut dalam susu (Asriyani, 2012).

#### b. Sifat Kimia Susu

##### 1) Keasaman

Susu segar mempunyai sifat amfoter, artinya dapat bersifat asam dan basa. Jika diberi kertas lakmus biru maka warnanya akan merah, sebaliknya jika diberi kertas lakmus merah warnanya akan menjadi biru. Hal ini dipengaruhi oleh protein dari asam amino yang mempunyai gugus amin yang bersifat basa dan gugus karboksil yang bersifat asam (Asriyani, 2012).

Selama penyimpanan, keasaman susu cenderung meningkat karena sebagian laktosa akan diubah menjadi asam laktat dan asam organik lain. Besarnya nilai keasaman tersebut berbanding terbalik dengan pH. Artinya apabila keasaman susu meningkat maka nilai pH akan turun. Susu normal biasanya mempunyai keasaman sekitar 5,8-6,2°SH (Legowo, 2002).

##### 2) pH Susu

Potensial ion hidrogen (pH) susu segar diantara 6,3-6,8 menurut SNI (2011). Nilai pH susu dari berbagai ternak dan ASI dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2. 2 Rata-rata Nilai pH dari Beberapa Jenis Ternak dan ASI

No	Jenis Susu	pH
1	Susu sapi	6,60
2	Susu kerbau	6,73
3	Susu kambing	6,53
4	Susu domba	6,63
5	Susu unta	6,56
6	ASI	7,00

Sumber: Goff dan Hill (1993)

### 2.3.3 Komposisi Kimiawi Susu

Komposisi air susu dipengaruhi oleh beberapa faktor misal jenis ternak dan keturunannya (hereditas), tingkat laktasi, umur ternak, infeksi atau peradangan pada kelenjar mammae, nutrisi atau pakan ternak, lingkungan dan prosedur pemerahan susu. Komponen susu yang terpenting adalah protein dan lemak. Kandungan protein susu berkisar antara 3-4%, sedangkan kandungan lemak berkisar antara 3-8%. Kandungan energi susu adalah 65 kkal.

Menurut hasil penelitian *United States Departement of Agriculture/ USDA* seperti yang dikutip oleh Wahidin (2009), komponen kimia susu sapi dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2. 3 Komponen Kimia Susu Sapi

Komposisi Susu	Susu Sapi
Protein (g)	3,3
Lemak (g)	3,3
Karbohidrat (g)	4,7
Kalori (cal)	61
Fosfor (g)	93
Kalsium (g)	19
Magnesium (g)	13
Besi (g)	0,05
Natrium (g)	49
Kalium (g)	52
Vitamin A (IU)	12
Thiamin (mg)	0,04
Riboflavin (mg)	0,16
Niacin (mg)	0,08
Vitamin B6 (mg)	0,04

Sumber: Wahidin (2009)

#### 2.3.4 Mikrobiologi Susu

Mikroorganisme sudah terdapat dalam susu mulai saat pemerahan. Susu hampir tidak mengandung mikroba sewaktu di dalam kalenjar susu, kecuali pada sapi yang terinfeksi atau sakit. Kontaminasi paling awal terjadi pada saluran puting terutama oleh bakteri *Micrococcus* dan *Streptococcus* yang kemudian dapat menyebar ke dalam kalenjar susu. Kontaminasi selanjutnya berasal dari kulit ternak, tangan atau

bagian tubuh pemerah, udara serta peralatan untuk pemerahan dan penanganan susu (Legowo, 2002).

Golongan *Micrococcus* dan *Staphylococcus* adalah jenis bakteri yang dominan di dalam susu segar yang baru diperoleh dari pemerahan yakni mencapai sekitar 46% dari total bakteri (Cross & Overby, 1988). Jenis bakteri lain yang banyak terdapat di dalam susu adalah bakteri asam laktat (BAL) antara lain *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus lactis* dan *Lactobacillus thermophilus* (Buckle *et al.*, 1987). Aktivitas BAL dalam susu dapat menyebabkan susu menjadi asam. Hal ini disebabkan karena bakteri ini menghasilkan enzim yang dapat menguraikan laktosa menjadi asam laktat yaitu. Pada kondisi pemerahan susu yang higienis, susu masih mengandung bakteri tidak kurang dari 10.000 sel/ml. Bakteri-bakteri tersebut akan berkembang biak mencapai ratusan ribu atau bahkan jutaan sel per ml selama penanganan. Jumlah bakteri awal tinggi yang mendominasi dalam susu adalah bakteri gram negatif, sedangkan bakteri gram positif dalam susu mendominasi jumlah bakteri awal yang rendah (Cross & Overby, 1988).

#### 2.3.5 Kerusakan Susu Oleh Mikroorganisme

Suwito (2010) dan Saleh (2004b) menyatakan bahwa penyebab penurunan kualitas susu adalah mudahnya susu terkontaminasi mikroba karena kandungan protein, glukosa, lipid, garam mineral dan vitamin dengan pH susu sekitar 6,8 yang merupakan medium yang sangat disukai mikroorganisme untuk pertumbuhan dan perkembangannya, sehingga dalam waktu singkat, susu menjadi tidak layak dikonsumsi bila tidak ditangani secara benar. Dalam penelitian Wibowo (1989), menunjukkan fakta bahwa susu kotak di Yogyakarta dilaporkan 30% tercemar mikroba setelah disimpan pada suhu kamar selama 5-10 hari, meskipun tidak tampak adanya kerusakan fisik maupun organoleptis pada susu tersebut.

Pertumbuhan mikroorganisme dapat menyebabkan terjadinya perubahan dalam hal penampilan, rasa, bau serta sifat-sifat lain pada susu tersebut. Perubahan

yang disebabkan mikroorganisme pada susu tidak terbatas pada terbentuknya hasil penguraian saja, tetapi juga dapat berupa produk hasil sintesis mikroba (Saleh, 2004a). Beberapa mikroorganisme membentuk pigmen yang merubah warna susu. Adapula yang dapat mensintesis polisakarida dan menghasilkan lendir pada susu tersebut. Bakteri yang hidup di dalam susu mempunyai aktivitas yang berbeda-beda tergantung dari jenis dan golongannya (Legowo, 2002). Jenis bakteri susu beserta aktivitasnya dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Beberapa kerusakan susu akibat aktivitas mikroorganisme antara lain:

1. Pengasaman dan penggumpalan yang disebabkan karena fermentasi laktosa menjadi asam laktat yang menyebabkan turunnya pH dan kemungkinan terjadinya penggumpalan kasein.
2. Berlendir seperti tali yang disebabkan karena terjadinya pengentalan dan pembentukan lendir sebagai akibat dari pengeluaran bahan seperti kapsul dan getah oleh beberapa jenis bakteri.
3. Penggumpalan susu yang timbul tanpa penurunan pH, hal ini disebabkan oleh bakteri seperti *Bacillus cereus* yang menghasilkan enzim yang mencerna lapisan tipis fosfolipid menyatu membentuk suatu gumpalan yang timbul ke permukaan susu (Buckle *et al.*, 1987).

Tabel 2. 4 Jenis Bakteri Susu dan Aktivasnya

No	Jenis Bakteri	Aktivitas
1	<i>Bacillus coagulans</i>	Mengubah laktosa menjadi asam laktat
2	<i>Bacillus calidolactis</i>	
3	<i>Lactobacillus casei</i>	
4	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
5	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	
6	<i>Streptococcus lactis</i>	
7	<i>Streptococcus cremoris</i>	
8	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
9	<i>Streptococcus liquefaciens</i>	
10	<i>Alcaligenes viscosus</i>	Mengubah warna susu menjadi keruh dan kental
11	<i>Escherichia coli</i>	
12	<i>Aerobacter</i>	
13	<i>Staphylococcus cremonis</i>	
14	<i>Micrococcus pituitoparus</i>	Menguraikan protein susu menjadi peptida-peptida, asam amino, amin dan amina
15	<i>Bacillus subtilis</i>	
16	<i>Clostridium butiryum</i>	
17	<i>Serratia</i>	Menguraikan lemak menjadi asam lemak
18	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
19	<i>Achromobacter lipolyticum</i>	Mengubah warna susu menjadi kebiru-biruan
20	<i>Pseudomonas cyanogenus</i>	
21	<i>Achromobacter lipidis</i>	Merubah warna susu menjadi kekuning-kuningan
22	<i>Pseudomonas synxantha</i>	
23	<i>Serratia marcescens</i>	Mengubah warna susu menjadi kemerah-merahan
24	<i>Eberthella typhosa</i>	Menyebabkan demam
25	<i>Brucella abortus</i>	
26	<i>Brucella suis</i>	
27	<i>Brucella mellitus</i>	Menyebabkan penyakit TBC
28	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
29	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Menyebabkan rasa sakit di tenggorokan

Sumber: Hadiwiyoto (1994)

### 2.3.6 Kerusakan Susu Akibat Kesalahan Suhu Penyimpanan

Suhu penyimpanan merupakan salah satu penyebab faktor terjadinya kerusakan susu. Mäkellä dan Kosonen (2006) menyatakan bahwa produk-produk yang berasal dari susu jauh lebih baik disimpan di suhu rendah dimana kerusakan akibat bakteri berbahaya lebih rendah karena pada temperatur penyimpanan yang cukup tinggi, bakteri akan berkembangbiak dengan kecepatan yang meningkat meskipun telah dilakukan pendinginan kembali *shelf life* produk telah berkurang. Jika produk disimpan pada suhu rendah metabolisme bakteri akan terganggu sehingga kemampuan berkembangbiaknya menjadi terbatas (Legowo, 2002). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa suhu penyimpanan mempengaruhi jumlah mikroba yang mengkontaminasi susu, antara lain penelitian Pullinger dan Kemp (1938) yang membuktikan bahwa bakteri *S. typhi* mampu hidup di dalam susu selama beberapa lama ketika disimpan pada suhu ruang. Mikroba dapat tumbuh dan bereproduksi secara optimal pada suhu tertentu yang disebut sebagai suhu optimum. Bakteri umumnya tumbuh pada suhu 0-70°C, sedangkan *yeast* dan jamur tumbuh dengan baik pada suhu sekitar 20-40°C (Legowo, 2002). Suwito (2010) menyatakan bahwa susu akan rusak apabila disimpan pada suhu ruang lebih dari 5 jam, sedangkan menurut Legowo (2002) hanya selang 4 jam setelah pemerahan susu segar akan berangsur-angsur rusak atau membusuk.

Selain semakin cepatnya kontaminasi mikroba, Semma (2002) menyatakan bahwa selama penyimpanan susu pada suhu tinggi mungkin terjadi perubahan lemak susu, misalnya dengan terjadinya autooksidasi dan pembentukan lemak trans. Herzallah (2005) menyatakan bahwa perubahan pada susu maupun produk-produk yang berasal dari susu terjadi selama preparasi (pendidihan dan *microwaving*) ataupun selama proses, yang mencakup pemberian panas, baik sedang maupun keras yang mengakibatkan perubahan dari lemak atau protein yang tidak diinginkan. Pernyataan ini didukung oleh Riaz *et al.* (1994) bahwa susu yang disimpan pada suhu

rendah (8°C) selama 8 jam memiliki kandungan peroksida lemak jauh lebih rendah dibandingkan pada suhu 43°C karena penyimpanan pada suhu tinggi dapat meningkatkan pembentukan peroksida pada susu.

### 2.3.7 Pemeriksaan Kualitas Susu

Pemeriksaan kualitas air susu dapat dilakukan secara fisik, kimia dan biologis. Pemeriksaan secara fisik dapat dilakukan dengan memeriksa warna, rasa dan aroma air susu dengan indera, sedangkan pemeriksaan kualitas air susu secara kimia dilakukan dengan menggunakan zat kimia atau reaksi kimia tertentu. Pemeriksaan kualitas air susu secara biologis dapat dilakukan dengan mikroskopik, bakteriologis dan biokemis (Saleh, 2004a).

Javaid *et al.* (2009) mengungkapkan beberapa pemeriksaan kualitas susu yang mencakup pemeriksaan fisik susu, yang meliputi pemeriksaan pH, berat jenis, viskositas dan titik beku, sedangkan pemeriksaan kimiawinya meliputi presentase kadar padatan total, kadar padatan bukan lemak, kadar protein, kadar kasein, kadar laktosa dan kadar abu. Menurut Tassew dan Seifu (2011), pemeriksaan mikrobial susu dapat dilakukan dengan perhitungan plate standart (SPC/ *Standard Plate Count*) guna menghitung total mikroba, perhitungan koliform (CC/ *Colliform Count*), *titratable acidity* (presentase asam laktat), tes alkohol dan uji *clot on boiling*.

Kualitas susu di negara-negara barat dan maju lainnya digolongkan menjadi tiga macam berdasarkan jumlah bakteri dalam susu, yakni susu dengan kualitas baik atau kualitas A (No. 1) dengan jumlah bakteri tidak lebih dari 100.000 setiap mililiter dan bakteri-bakteri koli tidak lebih dari 10/ml, susu kualitas sedang atau kualitas B (No.2) dengan jumlah bakteri antara 100.000-1.000.000/ml dan jumlah bakteri koli tidak lebih dari 10/ml dan susu dengan kualitas buruk atau kualitas C (no. 3) dengan jumlah bakteri lebih dari 1.000.000/ml (Saleh, 2004a).

### 2.3.8 Persyaratan Mutu Susu Segar

Badan Standarisasi Nasional mempersyaratkan beberapa parameter kualitas susu yang layak dikonsumsi oleh konsumen. Adapun syarat mutu susu sesuai SNI No. 3141.1:2011 (Standar Nasional Indonesia, 2011) dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2. 5 Syarat Mutu Susu menurut SNI No. 3141.1:2011

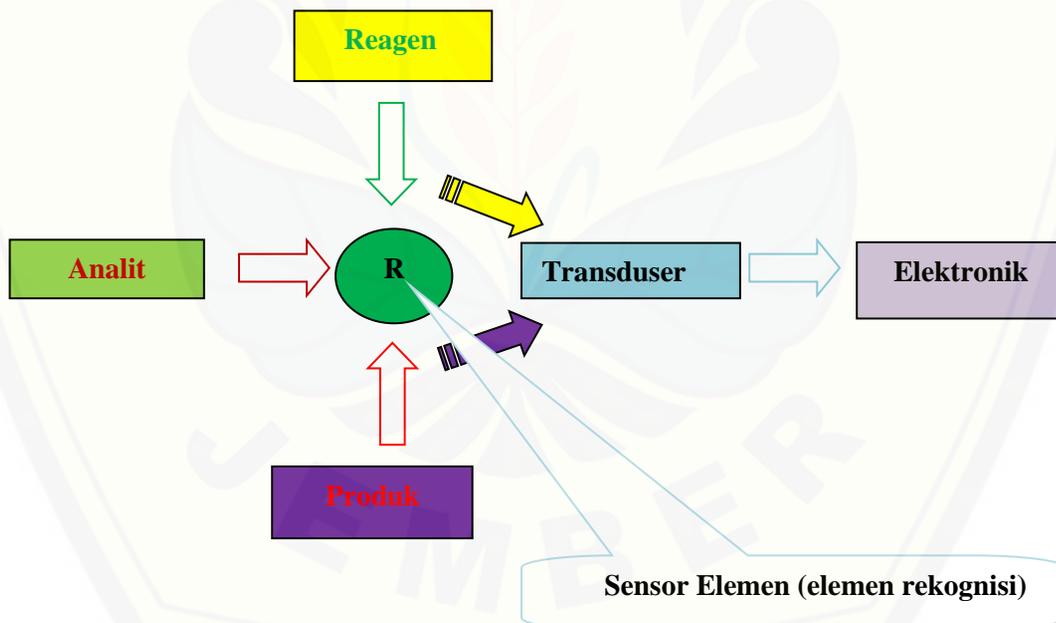
No.	Karakteristik	Satuan	Syarat
a.	Berat jenis (pada suhu 27,5°C) minimum	g/ml	1,027
b.	Kadar lemak minimum	%	3,0
c.	Kadar bahan kering tanpa lemak minimum	%	7,8
d.	Kadar protein minimum	%	2,8
e.	Warna, bau, rasa, kekentalan	-	Tidak ada perubahan
f.	Derajat asam	°SH	6,0-7,5
g.	pH	-	6,3-6,8
h.	Uji alkohol (70%) v/v	-	Negatif
i.	Cemaran mikroba, maksimum:		
	• <i>Total Plate Count</i>	CFU/ml	1x10 <sup>6</sup>
	• <i>Staphylococcus aureus</i>	CFU/ml	1x10 <sup>2</sup>
	• <i>Enterobacteriaceae</i>	CFU/ml	1x10 <sup>3</sup>
j.	Jumlah sel somatis maksimum	sel/ml	4x10 <sup>6</sup>
k.	Residu antibiotika (golongan penisilin, tetrasiklin, aminoglikosida, makrolida)	-	Negatif
l.	Uji pemalsuan	-	Negatif
m.	Titik beku	°C	-0,520 s.d. -0,560
n.	Uji peroksidase	-	Positif
o.	Cemaran logam berat, maksimum:		
	1.Timbal (Pb)	µg/ml	0,02
	2.Merkuri (Hg)	µg/ml	0,03
	3.Arsen (As)	µg/ml	0,10

Sumber: Standar Nasional Indonesia (SNI) (2011)

## 2.4 Tinjauan tentang Sensor

### 2.4.1 Pengertian Sensor Kimia

Sensor didefinisikan sebagai perangkat atau alat yang digunakan untuk mendeteksi, mencari atau mengukur energi atau zat, memberi sinyal untuk pendeteksian atau pengukuran suatu sifat fisika atau kimia sebagai respon suatu perangkat (Kress-Rodgers, 1998). Sensor kimia merupakan suatu alat analisis (*analytical device*) yang berisi reagen kimia (*chemical material/ reagent*) yang dapat bereaksi dengan analit tertentu dalam larutan atau gas sehingga menghasilkan perubahan fisika–kimia yang dapat diubah (*physicochemical transducer*) menjadi sinyal elektrik proporsional dengan konsentrasi dari analit tersebut (Kuswandi,2010). Secara garis besar gambar skematis dari sensor kimia seperti Gambar 2.4.



Gambar 2. 4 Skema Sensor Kimia (Kuswandi, 2010)

### 2.4.2 Teknik Imobilisasi

Imobilisasi merupakan proses pengikatan molekul reagen pada bahan pendukung atau media, sehingga molekul reagen tersebut dapat tersebar pada media

secara merata dan homogen. Pada sensor kimia, biasanya reagen yang digunakan diimobilisasi terlebih dahulu atau dijadikan fasa padat (sering disebut juga reagen kering) sehingga mudah dikendalikan (Kuswandi, 2010).

Metode imobilisasi terbagi pada dua jenis yaitu secara fisik dan kimia. Metode secara fisik meliputi penyerapan (*adsorpsi*), pemerangkapan (*entrapment*) dan pengkapsulan (*encapsulasi*). Sedangkan secara kimia meliputi pembentukan ikatan kovalen dan *cross-linking*. Pemilihan teknik imobilisasi didasarkan pada kesesuaian dengan sifat-sifat reagen (Kuswandi, 2010). Kelebihan dan kekurangan dari setiap teknik imobilisasi yang biasa dilakukan ditunjukkan pada Tabel 2.6.

Tabel 2. 6 Karakteristik Teknik Imobilisasi

Teknik Imobilisasi	Adsorpsi	Entrapmen	Ikatan Kovalen	Enkapsulasi
Kemudahan Prosedur	Mudah	Mudah/sedang	Sedang/sulit	Mudah/sedang
Sifat Reagen	Tetap	Tetap	Bisa berubah	Tetap
Mobilitas Partikel	Tinggi	Sedang	Rendah	Tinggi
Kapasitas Pengikatan	Tinggi	Tinggi	Rendah	Tinggi
Lepasnya Reagen	Tinggi	Sedang	Rendah	Tinggi
Stabilitas	Rendah	Sedang	Tinggi	Rendah
Waktu Pakai	Pendek	Lama	Lama	Pendek
Biaya Imobilisasi	Murah	Sedang	Mahal	Sedang

Sumber: Kuswandi, 2010

## 2.5 Tinjauan tentang *Time Temperature Indicator* (TTI)

Menurut Haarer *et al.* (2011), *Time Temperature Indicator* (TTI) merupakan peralatan yang memiliki sedikitnya satu sifat yang bisa diubah dan diteliti, dimana TTI mengalami perubahan proporsional terhadap suhu dan waktu. TTI merupakan peralatan yang cenderung sederhana dan tidak mahal, serta secara tipikal didesain sebagai sebuah label ketika diaplikasikan pada barang-barang yang tidak tahan lama,

TTI memonitor hubungan antara waktu dan temperatur yang dipaparkan pada barang tersebut dan menyediakan sebuah *resume* yang sederhana, umumnya berupa visual yang menggambarkan pemaparan produk pada hubungan waktu-temperatur, sehingga menyediakan petunjuk terhadap kondisi kesegaran dari produk tersebut. riwayat paparan suhu merupakan akumulasi paparan suhu selama distribusi dan penyimpanan yang dipresentasikan sebagai respon TTI. Respon TTI umumnya merupakan perubahan warna. Agar TTI dapat diaplikasikan sebagai penentu kualitas produk, maka respon TTI pada *endpoint* harus sesuai dengan berakhirnya *shelf life* produk (Vaikousi *et al.*, 2008).

Prinsip TTI adalah adanya perubahan sifat fisik yang dapat diamati secara visual, misal warna/kegelapan atau sifat visual lain dari label TTI dengan skala yang bisa dibandingkan, sebagai fungsi dari waktu pada suatu kecepatan yang bergantung pada suhu (Haarer *et al.*, 2011). Umumnya pada TTI semakin tinggi suhu yang dipaparkan pada indikator, semakin cepat perubahan warna terjadi dan semakin cepat pula indikator akan mendeteksi akhir dari *shelf life* suatu produk (Prusik *et al.*, 1991).

TTI yang banyak dikembangkan dan dipasarkan saat ini umumnya bekerja dengan menggunakan salah satu prinsip berikut ini (Vaikousi *et al.*, 2008):

a. Difusi molekul

TTI dengan prinsip difusi molekul biasanya menggunakan bahan pewarna yang memiliki gugus ester, dimana bahan ini akan berdifusi ke dalam membran berpori, contohnya indikator *3M MonitorMark*, atau bahan viskoelastik yang berdifusi ke dalam membran berpori yang dapat memantulkan cahaya, contohnya indikator *Freshness Check* (Vaikousi *et al.*, 2008).

b. Reaksi polimerasi

Reaksi polimerisasi ini bergantung pada suhu. Bahan yang digunakan adalah kristal diacetylene yang dipolimerisasi pada polimer berwarna, contohnya indikator *Lifelines Fresh-Check* dan *Freshness Monitor* (Vaikousi *et al.*, 2008).

c. Perubahan enzimatik

Hidrolisis enzimatik pada substrat lipid menyebabkan penurunan pH. Penurunan pH akan menyebabkan perubahan warna, contohnya *Vitsab TTI* (Vaikousi *et al.*, 2008).

d. Perubahan mikroorganisme

Aktivitas metabolisme bakteri asam laktat menyebabkan medium TTI menjadi asam. Perubahan pH pada medium TTI akan menginduksi terjadinya perubahan warna, contohnya *Cryolog TTI* (Vaikousi *et al.*, 2008).

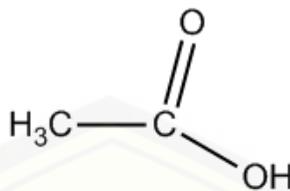
e. Penguapan asam asetat

Asam asetat merupakan senyawa yang mudah menguap pada suhu ruang, namun sedikit menguap pada lemari pendingin. Asam asetat yang diserap dengan kertas saring diletakkan medium TTI yang bersifat basa dan mengandung indikator pH. Asam asetat akan menguap menuju medium TTI dan menyebabkan medium TTI yang semula basa menjadi asam. Medium TTI mengandung indikator pH, sehingga perubahan pH akan menyebabkan perubahan warna pada medium TTI. Indikator pH yang dapat digunakan antara lain biru bromfenol, fenolftalein, biru bromtimol, merah metil, kuning metil, jingga metil dan lain sebagainya (Kurniawan, 2012).

## 2.6 Tinjauan tentang Asam Asetat

### 2.6.1 Definisi

Asam asetat dalam ilmu kimia disebut juga *acetic acid* atau *acidum aceticum*, akan tetapi dikalangan masyarakat asam asetat biasa disebut cuka atau asam cuka. Asam cuka merupakan cairan yang rasanya masam yang pembuatannya melalui proses fermentasi asetat yang didapat dari bahan kaya gula seperti anggur, apel, nira kelapa, malt, gula dan sebagainya (Triharto, 2010). Struktur asam asetat dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2. 5 Struktur Asam Asetat

### 2.6.2 Sifat Fisika

Asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) berbentuk cairan jernih, tidak berwarna, berbau menyengat, berasa asam, mempunyai titik beku  $16,6^\circ\text{C}$  dan titik didihnya  $118,1^\circ\text{C}$  (Sarsojoni, 1996). Asam asetat mempunyai bobot molekul  $60,05 \text{ g/mol}$  (Depkes RI, 1995).

### 2.6.3 Sifat Kimia

Asam asetat mengandung tidak kurang dari  $36,0\%$  b/b dan tidak lebih dari  $37,0\%$  b/b  $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ . Asam asetat larut dan dapat bercampur dengan air, dengan etanol dan dengan gliserol. Penetapan kadar asam asetat biasanya menggunakan basa natrium hidroksida, dimana  $1 \text{ ml}$  natrium hidroksida  $1,0 \text{ N}$  setara dengan  $60,05 \text{ mg}$   $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Asam asetat mudah menguap sehingga penyimpanannya harus dengan wadah yang tertutup rapat. Asam asetat diletakkan di tempat yang terhindar dari sinar matahari langsung dan pada suhu atau tidak lebih dari  $40^\circ\text{C}$  (Depkes RI, 1995).

## 2.7 Tinjauan tentang Natrium hidroksida

### 2.7.1 Definisi

Natrium hidroksida ( $\text{NaOH}$ ) juga dikenal sebagai soda kaustik atau sodium hidroksida, adalah sejenis basa logam kaustik.  $\text{NaOH}$  terbentuk dari oksida basa natrium oksida yang dilarutkan dalam air.  $\text{NaOH}$  membentuk larutan alkalin yang kuat ketika dilarutkan ke dalam air dan merupakan basa yang paling umum digunakan dalam laboratorium kimia (Hikmah & Zuliyana, 2010).

### 2.7.2 Sifat Fisika

NaOH berbentuk pellet, serpihan atau batang atau bentuk lain, berwarna putih atau praktis putih, massa melebur, keras rapuh dan menunjukkan pecahan hablur. NaOH bersifat lembab cair dan secara spontan menyerap karbon dioksida dari udara bebas (Depkes RI, 1995).

### 2.7.3 Sifat Kimia

Natrium hidroksida mengandung tidak kurang dari 95,0% dan tidak lebih dari 100,5% jumlah alkali, dihitung sebagai NaOH, mengandung  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  tidak lebih dari 3,0% (Depkes RI, 1995). NaOH sangat larut dalam air dan akan melepaskan panas ketika dilarutkan, selain itu NaOH juga larut dalam air dan akan melepaskan panas ketika dilarutkan, selain itu NaOH juga larut dalam etanol dan metanol. NaOH tidak larut dalam dietil eter dan pelarut non polar lainnya. Larutan NaOH akan meninggalkan noda kuning pada kain dan kertas (Hikmah & Zuliyana, 2010). Sifat fisika dan kimia NaOH ditunjukkan pada Tabel 2.7.

## 2.8 Tinjauan tentang Blister

Kemasan blister adalah jenis lain struktur kemasan plastik kaku, struktur ini dibentuk dalam suhu dan tekanan tinggi dan ditempatkan di depan produk, sehingga memungkinkan produk tersebut untuk terlihat melalui plastik yang transparan. Contoh produk yang dijual dalam kemasan blister, yaitu: mainan, kosmetik, obat bebas, baterai, elektronik dan hardware (Yuliawan & Putra, 2012).

## 2.9 Tinjauan tentang Titrasi Asam Basa

Titration merupakan salah satu metode untuk menentukan konsentrasi suatu larutan dengan cara mereaksikan sejumlah volume larutan tersebut dengan sejumlah volume larutan lain yang konsentrasinya sudah diketahui (Justiana & Muchtaridi, 2009). Titrasi asam basa melibatkan asam maupun basa sebagai titer ataupun titran.

Titration asam basa berdasarkan reaksi penetralan. Kadar larutan asam ditentukan dengan menggunakan larutan basa dan sebaliknya. Titran ditambahkan titer sedikit demi sedikit sampai mencapai ekuivalen (artinya secara stoikiometri titran dan titer tepat habis bereaksi). Keadaan ini disebut sebagai titik ekuivalen. Salah satu cara untuk mengetahui titik ekuivalen adalah dengan menggunakan indikator asam basa yang biasanya bersifat asam lemah atau basa lemah. Asam lemah dan basa lemah ini umumnya merupakan senyawa organik yang mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi yang berkontribusi perubahan warna pada indikator. Indikator ini akan berubah warna ketika terjadi titik ekuivalen yang menunjukkan titik akhir titrasi (reaksi telah berjalan dengan sempurna) (Syukri, 1999).

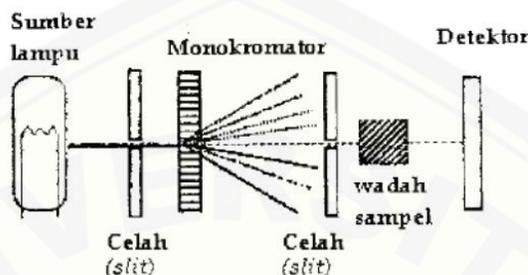
#### **2.10 Tinjauan tentang Indikator Asam Basa**

Indikator adalah zat yang memberikan perubahan warna yang mencolok dalam medium asam dan basa (Chang, 2003). Indikator asam basa adalah suatu indikator atau zat yang dapat berubah warna apabila pH lingkungan berubah, umumnya dapat berupa asam atau basa organik lemah misalnya brometil (BB), dilarutkan asam menjadi warna kuning, tetapi dalam larutan basa menjadi biru (Sukarta, 1999).

Struktur molekul indikator asam basa mengandung gugus pembawa sifat asam atau basa dan struktur konjugasinya yang dapat menimbulkan perubahan warna. Perubahan warna pada indikator asam basa disebabkan berubahnya struktur konjugasi bentuk tak terion menjadi struktur konjugasi yang lain dari bentuk ionnya. Ionisasi indikator asam basa dipengaruhi oleh tingkat keasaman larutan (Chang, 2003). Bassett *et al.* (1994) berpendapat bahwa asam indikator yang tak berdisosiasi (HIn) atau basa indikator yang tak berdisosiasi (InOH) mempunyai warna yang berbeda dari ionnya. Keseimbangan-keseimbangan dalam larutan air dapat ditulis sebagai berikut:



transisi memerlukan adanya satu gugus fungsional tak jenuh untuk menyediakan orbital  $\pi$ . Zat pengabsorpsi tak jenuh ini disebut kromofor (Hendayana, 1994). Suatu diagram sederhana spektrofotometer UV-Vis ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2. 6 Diagram Skematis Spektrofotometer UV-Vis (Gandjar dan Rohman, 2007)

## 2.12 Tinjauan tentang Pembacaan Warna pada *ImageJ*

*ImageJ* merupakan suatu program analisis untuk gambar yang dibuat oleh *National Institutes of Health*. Program *ImageJ* berisi *menu bar*, *tool bar*, *status bar* dan *progress bar*. Gambar, histogram, profil garis dan lain-lain ditampilkan dalam menu tambahan. Jika kursor berada di atas gambar, maka akan ditampilkan koordinat dan nilai koordinat tersebut diukur dalam *pixel*/detik. Dalam gambar digital, *pixel* adalah titik tunggal dalam pencitraan atau elemen terkecil dari gambar yang dapat dikendalikan dalam gambar digital. *ImageJ* mengukur gambar secara nyata dengan kemampuan pengukuran 8-bit, 16-bit dan 32-bit untuk gambar *grayscale* dan 8-bit serta 32-bit untuk gambar berwarna. Ketajaman suatu gambar merupakan jumlah digit biner (bit) yang diperlukan untuk menggambarkan nilai *pixel* (Bailer, 2006).

*ImageJ* dapat digunakan untuk gambar *grayscale* yang memiliki ketajaman 1 bit (gambar hanya menunjukkan *pixel* dalam gambar hitam atau putih) sampai 32 bit per *pixel*. Sedangkan untuk gambar yang berwarna terdiri dari tiga warna yang mewakili warna primer yaitu merah, hijau dan biru. Dipilih warna merah, hijau dan biru karena merupakan warna cahaya yang dapat menghasilkan spektrum sehingga dapat terlihat oleh pembaca. Selain itu ketiga warna tersebut dapat bercampur untuk

membentuk warna apapun. Jika intensitas tertinggi dari setiap warna dicampur, maka akan diperoleh cahaya putih. Sedangkan ketika setiap warna dicampur bersama dengan intensitas sama dengan nol, hasilnya adalah cahaya hitam (Reinking, 2007).



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *eksperimental laboratoris*.

### 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Sensor Kimia dan Biosensor Fakultas Farmasi, Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi dan Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember sejak bulan Januari sampai Mei 2016.

### 3.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar yang dibeli langsung dari agen penjual susu di peternakan sapi Rembangan, kertas saring, kertas *whatman* No 1001 150, etanol 96%, aquadestilata, asam asetat 10%, plastik mika, blister, jarum, isolasi, NaOH, ekstrak kulit manggis sebagai indikator pH alami dan media agar (PCA/ *Plate Count Agar*).

### 3.4 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *ball pipet*, *beaker glass*, batang pengaduk, labu ukur, pipet tetes, pipet volume, tabung reaksi, pH meter, erlenmeyer, *blender*, timbangan analitik, *incubator*, *petry disk*, gelas ukur, mikropipet, plat tetes, *yellow tip*, *blue tip*, *refrigerator*, *Laminar Air Flow*, autoklaf, gunting termometer, pinset, jarum dan *scanner* Canon LiDE 110.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perubahan warna TTI dari coklat menjadi kuning terang.

#### 3.5.2 Variabel Terkendali

- a. Sampel susu yang digunakan ialah susu sapi “Rembangan” yang dibeli dari agen penjual susu di peternakan sapi Rembangan, Jember.
- b. Suhu penyimpanan susu sapi yang diletakkan pada suhu ruang ( $29\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).
- c. Asam asetat sebagai agen yang merubah warna TTI, dan NaOH sebagai agen pembasa.

#### 3.5.3 Variabel Terikat

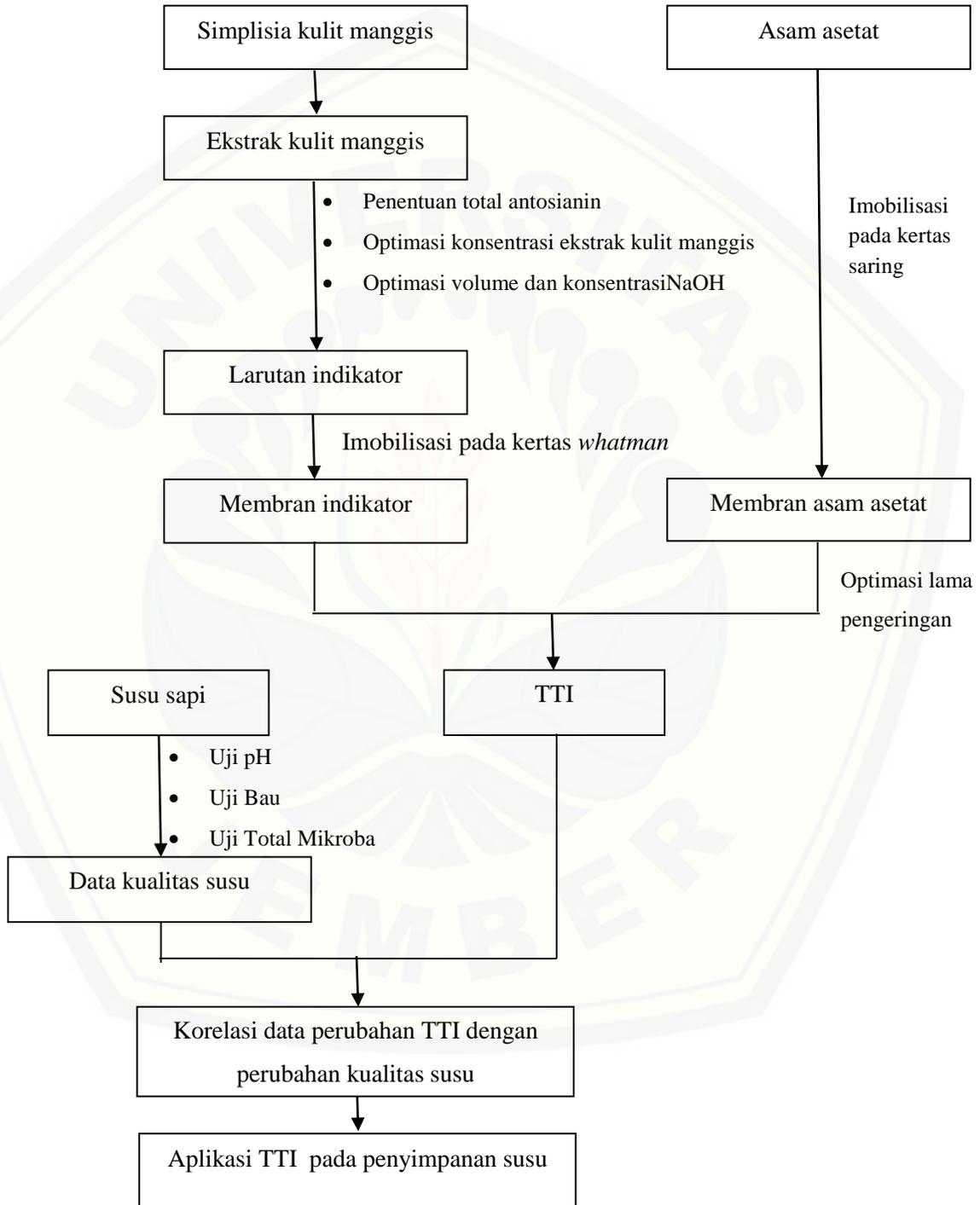
Variabel terikat dalam penelitian ini adalah perubahan warna TTI, perubahan pH, perubahan bau dan total mikroba terhitung.

### 3.6 Definisi Operasional

- a. Jenis susu yang digunakan adalah susu sapi “Rembangan” yang dibeli dari agen penjual susu di peternakan sapi Rembangan, Jember.
- b. Suhu penyimpanan susu sapi yang diletakkan pada suhu ruang ( $29\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).
- c. *RGB* (*red*, *green* dan *blue*) adalah intensitas warna merah, hijau dan biru akibat perubahan warna yang terjadi pada saat membran indikator terkena uap asam asetat dari coklat menjadi kuning terang.
- d. Pengukuran *mean RGB* merupakan nilai rata-rata *Red*, *Green* dan *Blue* pada masing-masing pembacaan warna dengan program *ImageJ for Windows*.

### 3.7 Rancangan Penelitian

#### 3.7.1 Diagram Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Diagram Alur Penelitian

### 3.8 Prosedur Penelitian

Penelitian ini bersifat identifikasi terhadap perubahan sifat fisik, kimia dan mikrobiologi susu yang disertai dengan perubahan warna TTI. TTI ini ditempatkan di bagian luar kemasan susu untuk mengetahui kesalahan suhu penyimpanan. Penyimpanan susu sapi dilakukan pada suhu ruang ( $29\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) lalu dilakukan pengamatan tiap jam selama 8 jam. Kemudian dilanjutkan dengan analisis pH, total mikroba terhitung dan perubahan bau susu sapi serta korelasinya terhadap perubahan warna TTI.

#### 3.8.1 Fabrikasi TTI

##### a. Pembuatan Larutan Indikator dalam Suasana Basa

Sejumlah serbuk kulit manggis dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% sehingga didapatkan konsentrasi ekstrak kulit manggis yang optimum. Larutan ekstrak kulit manggis kemudian ditambah dengan NaOH dengan konsentrasi dan perbandingan volume yang optimum.

##### b. Pembuatan Membran Indikator

Kertas *whatman* yang telah dipotong melingkar dengan diameter 1,5 cm kemudian direndam dalam larutan indikator dalam suasana basa selama 1 jam kemudian membran dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

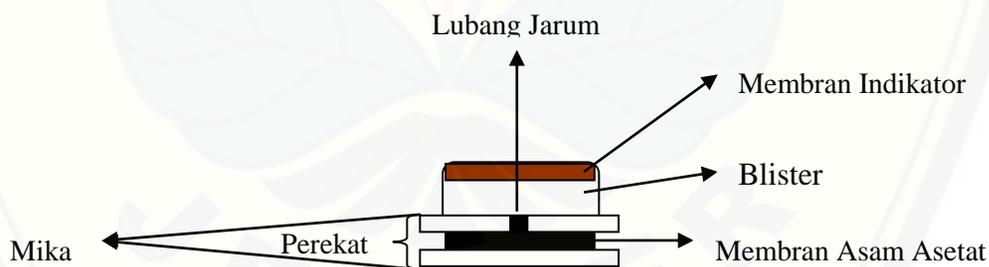
##### c. Pembuatan Membran Asam Asetat

Kertas saring dipotong dengan diameter 1,8 cm, kemudian dibasahi dengan asam asetat sebanyak 35  $\mu\text{l}$ . Pembasahan dilakukan dengan meneteskan asam asetat menggunakan mikropipet secara terpusat kemudian dikeringkan dalam lemari asam dengan suhu ruang. Membran yang mengandung asam asetat kemudian diletakkan dibawah membran indikator. Kemudian membran asetat ditutup menggunakan plastik

mika, hal ini dilakukan agar asam asetat hanya menguap ke atas menuju membran indikator.

d. Pembuatan TTI

Sisi membran indikator yang berada dalam blister diletakkan berhadapan dengan membran asam asetat. Membran indikator ditutup dengan mika plastik berbentuk persegi sehingga menutupi semua permukaan dasar blister. Mika tersebut diberi satu lubang di bagian tengahnya menggunakan jarum berdiameter  $\pm 1$  mm, hal ini dilakukan untuk memperlambat masuknya uap asam asetat dari membran asam asetat ke dalam membran indikator. Kemudian sisi bawah membran asam asetat ditutup dengan mika lagi agar asam asetat hanya menguap ke atas menuju membran indikator. Seiring berjalannya waktu, uap asam asetat akan mentitrasi membran indikator sehingga terjadi perubahan warna yang mula-mula berwarna coklat menjadi kuning terang, maka produk susu tersebut telah tidak segar atau tidak layak untuk dikonsumsi. Adapun desain TTI seperti yang terlihat pada Gambar 3.2.



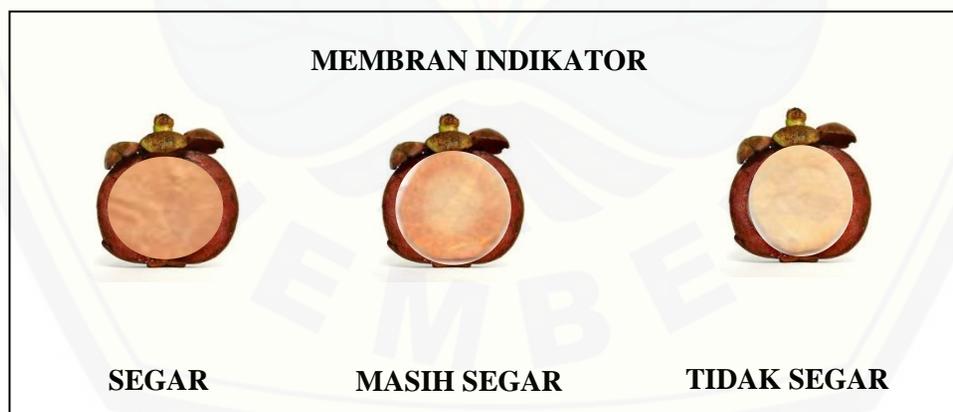
Gambar 3. 2 Desain TTI Tampak Samping

### 3.8.2 Desain TTI

Desain diaplikasikan pada kemasan susu sebagai pendeteksi kesalahan suhu penyimpanan. Pada TTI yang telah terfabrikasi diberi penanda kualitas susu yang mencakup “segar”, “masih segar” dan “tidak segar”. Penanda pada TTI terfabrikasi

merupakan titik dimana membran indikator berubah warna dari coklat menjadi kuning terang. Setelah TTI terpapar suhu ruang selama beberapa jam. Selama optimasi jumlah penambahan warna pada membran indikator dimulai jam ke-0 hingga jam ke-8. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap nilai pH, perubahan bau susu dan total mikroba terhitung yang kemudian dikorelasikan dengan perubahan warna pada membran indikator. Data inilah yang kemudian digunakan saat memberi tanda kesegaran susu pada TTI.

Desain TTI ini berfungsi untuk mempermudah interpretasi kondisi susu sehingga dapat dengan mudah diamati penurunan kualitas susu akibat kesalahan suhu penyimpanan. Desain TTI berbentuk bulat sesuai dengan bentuk blister yang digunakan. Warna awal dari membran indikator adalah coklat yang menunjukkan susu masih dalam keadaan segar. Setelah disimpan pada suhu ruang, maka warna dari membran indikator akan berubah menjadi coklat sebagian (menunjukkan susu masih segar) kemudian berubah menjadi kuning terang (menunjukkan susu sudah tidak segar).



Gambar 3. 3 Desain *Time Temperature Indicator*

Keterangan:



: Warna coklat menunjukkan susu sapi segar



: Warna coklat sebagian menunjukkan susu sapi masih segar



: Warna kuning terang menunjukkan susu sapi tidak segar

### 3.8.3 Pengukuran Parameter Kualitas Susu

#### a. pH susu sapi (Javaid *et al.*, 2009)

Pengukuran pH susu sapi dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan larutan buffer pH 4,0; 7,0 dan 10,0. Nilai yang terbaca pada pH meter merupakan pH susu sapi.

#### b. Uji sensoris (bau) susu sapi (Diastari & Agustina, 2013)

Uji sensoris ini bersifat organoleptis dengan menentukan beberapa orang (10 orang) sebagai panelis yang dapat dianggap mewakili populasi konsumen. Sampel susu disimpan pada suhu ruang selama 8 jam dan diberikan pada panelis untuk dinilai perubahan baunya tiap jam. Skala perubahan bau terdiri dari 5 tingkat, yaitu (1) normal, (2) masih normal, (3) agak basi, (4) basi dan (5) sangat basi.

#### c. Total Mikroba Terhitung (Hidayat, 2013)

Alat, media dan larutan pengencer yang digunakan dalam analisis total mikroba harus dalam kondisi steril. Sampel dipipet 10 ml lalu dimasukkan dalam erlenmeyer yang telah berisi 90 ml aquadest steril sebagai larutan pengencer, kemudian dikocok hingga larutan homogen. Dari larutan tersebut diperoleh larutan

induk lalu diambil sebanyak 1,0 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9,0 ml aquadest steril. Dari larutan tersebut diperoleh larutan dengan seri pengenceran  $10^{-1}$  lalu diambil sebanyak 1,0 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9,0 ml aquadest steril, diperoleh larutan dengan seri pengenceran  $10^{-2}$ , demikian seterusnya hingga diperoleh larutan dengan seri pengenceran  $10^{-13}$ . Larutan dengan tiga seri pengenceran terakhir diambil 1,0 ml kemudian dimasukkan dalam cawan petri dan dituangi  $\pm 15$  ml media agar (PCA). Cawan petri tersebut digoyangkan sampai merata dan dibiarkan sampai memadat. Cawan diinkubasi selama 48 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Jumlah koloni dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Koloni per ml} = \text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \dots\dots\dots (3.1)$$

#### 3.8.4 Pembuatan Ekstrak Kulit Manggis

##### a. Ekstraksi Kulit Manggis

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode ini dilakukan dengan cara simplisia serbuk kulit manggis dimasukkan ke dalam maserator, setelah itu ditambahkan pelarut etanol 96% selama 120 menit kemudian disaring dan didapatkan ekstrak kulit manggis.

##### b. Penentuan Total Antosianin (Lee *et al.*, 2005)

Pengukuran konsentrasi antosianin pewarna alami bentuk cair dilakukan dengan menggunakan metode *pH differential*. Sebanyak dua tabung reaksi disiapkan, tabung reaksi pertama dimasukkan larutan dapar kalium klorida pH 1 sebanyak 0,1 ml dan tabung reaksi kedua dimasukkan larutan dapar natrium asetat pH 4,5 sebanyak 0,1 ml. Masing-masing tabung reaksi tersebut ditambahkan sampel pewarna sebanyak 3 ml dan didiamkan selama  $\pm 20$  menit. Pengukuran absorbansi dari kedua perlakuan pH diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dan 700 nm. Nilai absorbansi dihitung dengan persamaan:

$$A = [(A_{\lambda_{\text{max}}}-A_{700\text{nm}})_{\text{pH 1}} - (A_{\lambda_{\text{max}}}-A_{700\text{nm}})_{\text{pH 4,5}}] \dots\dots\dots (3.2)$$

Total antosianin dihitung sebagai sianidin-3-glikosida menggunakan koefisien ekstingsi molar sebesar 26.900 L/mol · cm dan berat molekul (BM) sebesar 449,2 g/mol.

$$\text{Konsentrasi antosianin (mg/L)} = \frac{(A \times MW \times DF \times 10^3)}{\epsilon \times l} \dots\dots\dots (3.3)$$

Dimana:

A = absorbansi

MW = *Molecular Weight* (berat molekul = 449,2 g/mol)

DF = *Dilution Factor* (faktor pengenceran)

$\epsilon$  = koefisien molar (26.900 L/mol · cm)

l = lebar sel (1 cm)

### 3.8.5 Optimasi TTI

#### a. Optimasi Konsentrasi Ekstrak Kulit Manggis dan konsentrasi NaOH

Optimasi konsentrasi ekstrak kulit manggis dan konsentrasi NaOH yang nantinya dapat memberikan warna membran yang ideal dan jelas. Sebanyak 0,5 gram dan 1 gram serbuk simplisia kulit manggis ditambah 10 ml larutan etanol 96%, dimaserasi selama 120 menit kemudian disaring dan didapatkan ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 5% b/v dan 10% b/v. Ekstrak konsentrasi 5% b/v dan 10% b/v dicampur dengan NaOH dalam plat tetes sehingga menghasilkan membran awal yang berwarna coklat. Sedangkan untuk optimasi konsentrasi NaOH yang digunakan yaitu 0,05 N dan 0,1 N. Penambahan NaOH bertujuan untuk membuat ekstrak dalam kondisi basa.

b. Optimasi Volume NaOH

Optimasi volume NaOH bertujuan untuk mengetahui volume optimum dari NaOH yang digunakan sebagai agen pembasa dimana akan mempengaruhi perubahan warna TTI. Konsentrasi NaOH yang telah dipilih dengan rasio perbandingan volume ekstrak:NaOH adalah 3:1, 4:1 dan 5:1.

c. Optimasi Lama Pengeringan Membran Asam Asetat

Optimasi ini dilakukan untuk menentukan waktu optimum yang digunakan untuk mengeringkan kertas saring yang telah dibasahi dengan asam asetat sehingga berpengaruh terhadap perubahan warna pada membran indikator karena adanya perubahan pH dari suasana basa ke suasana asam. Optimasi waktu pengeringan dalam penelitian ini yaitu 40 menit, 50 menit dan 60 menit pada suhu ruang.

### 3.8.6 Korelasi Perubahan Warna TTI dengan Perubahan Kualitas Susu

Perubahan warna TTI dikorelasikan dengan perubahan kualitas pada susu sapi. Korelasi tersebut didasarkan pada pengukuran parameter kualitas susu sapi yang meliputi pH, perubahan bau dan adanya mikroba yang mengkontaminasi pada sampel (total mikroba terhitung). Apabila kualitas susu sapi mulai menurun, maka TTI akan memberikan tanda melalui perubahan warna. TTI berwarna coklat apabila susu sapi dalam keadaan segar, berwarna coklat sebagian apabila susu sapi dalam keadaan masih segar dan berwarna kuning terang apabila susu sapi sudah dalam keadaan tidak segar dan tidak layak untuk dikonsumsi.

### 3.8.7 Karakterisasi TTI

a. Perubahan Warna TTI

Perubahan warna TTI terjadi dari warna coklat hingga kuning terang selama terpapar suhu ruang. Perubahan warna yang terjadi setiap jamnya diukur nilai *mean* RGB nya untuk mengetahui perubahan warna secara kuantitatif. Data berupa *mean* RGB selanjutnya dibuat kurva hubungan dengan lamanya waktu penyimpanan pada

suhu ruang dari jam ke-0 hingga jam ke-8 yang kemudian dikorelasikan dengan penurunan kualitas susu.

b. Stabilitas TTI

Penentuan stabilitas TTI dilakukan dengan membungkus membran indikator dan membran asam asetat secara terpisah dengan *aluminium foil* dan dimasukkan ke dalam *plastic flip* kemudian disimpan selama beberapa hari pada suhu *chiller* ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Uji stabilitas TTI dilakukan setiap dua hari sekali selama enam hari dan diamati perubahan warna untuk setiap dua harinya apakah stabil dan tetap mempertahankan intensitas warna cokelat dalam penyimpanan. Selanjutnya dilakukan pengukuran *mean* RGB untuk mengetahui perubahan respon dari membran indikator selama penyimpanan dimana sensor masih boleh digunakan jika perubahan respon  $\leq 15\%$  dari respon sensor awal (Kuswandi, 2010). Penentuan stabilitas selanjutnya dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara waktu dengan nilai *mean* RGB.

c. Waktu pakai TTI

TTI yang telah mengalami masa penyimpanan pada suhu *chiller* ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ), setelah diamati stabilitasnya selanjutnya diamati perubahan warnanya secara visual apabila diaplikasikan pada suhu ruang apakah tetap memberikan perubahan warna sesuai dengan prosedur yang ditetapkan sebelumnya. Menurut Kuswandi (2010), waktu pakai sensor dapat dinyatakan sebagai waktu dimana sensor tersebut masih memberikan reaksi yang sama dan stabil terhadap suatu analit pada konsentrasi yang sama hingga waktu respon sensor terhadap analit mengalami penurunan drastis. Dengan cara ini maka dapat ditentukan berapa lama suatu sensor dapat digunakan untuk pengukuran suatu analit. Waktu pakai TTI dilakukan dengan cara mengukur *mean* RGB membran indikator setelah dijadikan satu dengan membran asam asetat setiap dua hari sekali pada jam ke-0 hingga jam ke-8 selama enam hari.

### 3.8.8 Analisis Data

Metode yang digunakan dalam analisis data adalah metode deskriptif dan analisis. Pengamatan terhadap perubahan TTI dilakukan tiap jam kemudian di-*scan* menggunakan *scanner*. Hasil *scan* yang berupa gambar selanjutnya dianalisis menggunakan program *ImageJ Version 1.38* dan dihasilkan data berupa intensitas rata-rata komponen warna merah, hijau dan biru yang ditunjukkan nilai *mean* RGB. Data hasil pengamatan yang meliputi korelasi perubahan warna TTI dengan parameter kualitas susu (perubahan pH, bau dan total mikroba terhitung) ditampilkan dalam bentuk tabel dan untuk mempermudah interpretasi data maka dibuat grafik.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Fabrikasi TTI terdiri dari dua komponen utama yaitu membran indikator yang terbuat dari kertas *whatman* berdiameter 1,5 cm yang telah diimobilisasi dengan larutan indikator dan diletakkan di dalam blister kemudian ditutup dengan mika yang memiliki lubang  $\pm 1$  mm di bagian tengahnya kemudian diletakkan membran asam asetat dibuat dari kertas saring berdiameter 1,8 cm dan ditutup dengan mika agar uap asam asetat hanya menuju pada membran indikator sehingga terjadi perubahan warna pada membran indikator dari coklat (susu segar), coklat sebagian (susu masih segar) dan kuning terang (susu tidak segar).
2. Kondisi optimum TTI berbasis ekstrak kulit manggis adalah:
  - a. Konsentrasi ekstrak kulit manggis 5% b/v dengan kadar antosianin sebesar 11,710 mg/L sedangkan untuk konsentrasi NaOH yaitu 0,1 N.
  - b. Perbandingan volume antara ekstrak kulit manggis 5% b/v dengan NaOH 0,1 N adalah 3:1.
  - c. Lama pengeringan asam asetat adalah 60 menit pada lemari asam dengan suhu ruang.
3. Korelasi antara penurunan kualitas susu akibat kesalahan suhu penyimpanan berbanding lurus dengan perubahan warna TTI. Semakin lama susu disimpan pada suhu ruang, maka kualitas susu akan semakin menurun dan TTI akan memberikan tanda melalui perubahan warna dari coklat menjadi kuning terang.

4. TTI sebagai sensor penurunan kualitas susu akibat kesalahan suhu penyimpanan dapat diaplikasikan pada susu yang ada di pasaran dengan cara ditempelkan pada bagian luar kemasan susu karena perubahan warna TTI sesuai dengan perubahan kualitas susu dalam kemasan pada penyimpanan suhu ruang.

## 5.2 Saran

Adapun saran yang diberikan penulis sehubungan dengan pengembangan penelitian ini, antara lain:

1. Diperlukan pengembangan lebih lanjut untuk memperoleh desain TTI berbasis ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai sensor penurunan kualitas susu sapi akibat kesalahan suhu penyimpanan pada penggunaan suhu *chiller* maupun suhu ruang sehingga didapatkan TTI yang lebih stabil pada 2 kondisi penyimpanan tersebut.
2. Diperlukan pengembangan TTI lebih lanjut untuk mendeteksi kesalahan penyimpanan pada produk-produk pangan tidak tahan lama, misalnya susu kedelai dan produk-produk farmasi seperti vaksin *multiple dose*.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan indikator/ penanda perubahan warna berbasis bahan alam lain sehingga dapat menambah jumlah indikator alami yang dapat digunakan sebagai TTI.
4. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh TTI berbasis bahan alam yang lebih stabil.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abubakar, Triyantini, Sunarlim, R., Setiyanto, H. & Nurjannah. 2000. *Pengaruh Suhu dan Waktu Pasteurisasi Terhadap Mutu Susu Selama Penyimpanan*. Vol 6 Issue 1. Hal: 45-50.
- Adnan, M. 1984. *Kimia dan Teknologi Pengolahan Air Susu*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Ali, D. S. 2009. Identification of An Anthocyanin Compound from Strawberry Fruits then Using as An Indicator in Volumetric Analysis. *Journal of Family Medicine*. Vol 7 Issue 7. Hal: 18-25.
- Al-Rwaily, M. A., Herzallah, S. M., Humeid, M. A. & Yamani, M. I. 2005. Effect of Dried Dates Extract on the Growth and Viability of Bifidobacteria in Different Milk Types. *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol 4 Issue 3. Hal: 142-147.
- Andarwulan, N. & Faradilla, F. H. F. 2012. *Pewarna Alami untuk Pangan*. Bogor: SEAFast Center, ITB.
- Arja S. F., Darwis, D. & Santoni, A. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Antioksidan Senyawa Antosianin dari Buah Senduduk (*Melastoma malabathricum* L.) serta Aplikasinya sebagai Pewarna Alami. *Jurnal Kimia Unand*. Volume 2 Issue 1.
- Asokawaty, R. V. 2012. *Isolasi Antosianin dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Aplikasinya sebagai Chemosensor*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Asriyani, R. 2012. *Umur Simpan Yoghurt Simbiotik dengan Variasi Bahan Kemasan dan Suhu Penyimpanan*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Bailer, W. 2006. *Writing ImageJ Plugins-A tutorial*. Austria. Upper Austria University of Applied Sciences Dept. of Media Technology and Design.

- Bassett, J., Denney, R. C., Jeffrey, G. H. & Mendham, J. *Buku Ajar Vogel: Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Alih Bahasa A. Hadnyana P. Dan L. Setiono. 1994. Jakarta: EGC.
- Buckle, K. A. & Edwards, R. A. 1987. *Ilmu Pangan*. Diterjemahkan oleh Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta: UI Press.
- Chang, R. 2003. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti*. Alih Bahasa Departemen Kimia ITB. *General Chemistry: The Essential Concept Third Edition*. 2005. Jakarta: Erlangga.
- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Cross, H. R. & Overby, A. J. 1988. *Meat Science, Milk Science and Technology*. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan republik Indonesia.
- Dewi, I. D. A. D. Y., Astuti K. W. & Warditiani, N. K. 2013. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*. Vol 2 Issue 4. Hal: 1-6.
- Ernawati, Mansjoer, S. S. & Rukmiasih. 1986. Pengaruh Penanganan dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Air Susu Sapi. *Media Peternakan*. Vol 11. Hal: 50-59.
- Feliciano, L. 2007. *Color Changing Plastics for Food Packaging*. Ohio: Ohio State University Columbus.
- Hidayat, I. R., Kusrahayu & Mulyani, S. 2013. Total Bakteri Asam Laktat, Nilai pH dan Sifat Organoleptik *Drink Yoghurt* dari Susu Sapi yang diperkaya dengan Ekstrak Buah Mangga. *Animal Agriculture Journal*. Vol 2 Issue 1. Hal: 160-167.

- Gandjar, I. G. & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisi*. Yogyakarta: Pustaka Belajar.
- Giusti, M. M. & Wrolstad, R. E. 2001. *Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy*. Oregon States University.
- Goff, H. D. & Hill, A. R. 1993. *Chemistry and Physics*. In: YH Hui (ed). *Diary Sciencen and Technology Handbook*. Vol. 1. New York: VCH Publishers.
- Haarer, D., Gueta-neyroud, T. & Salman, H. 2011. *Time Temperature Indicator*. USA: United States Patent Application.
- Hadiwiyoto, S. 1994. *Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya*. Yogyakarta: Liberti.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Terjemahan oleh Padmawinata K. dan Soediro I. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hendayana, S., Kadarohman, A., Sumarna, A. A. & Supriatna, A. 1994. *Kimia Analisis Instrumen Edisi Kesatu*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Herzallah, S. M. 2005. Influence of Microwaving and Conventional Heating of Milk on Cholesterol Content and Cholesterol Oxides Formation. *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol. 4 Issue 2. Hal: 85-88.
- Hikmah, M. N. & Zuliyana. 2010. *Pembuatan Metil Ester (Biodiesel) dari Minyak Dedak dan Methanol dengan Proses Esterifikasi dan Transferikasi*. *Diponegoro University Journal*.
- Idris, S. 1992. *Pengantar Teknologi Pengolahan Susu*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Integrated Taxonomy Information System*. 2011. *Garcinia mangostana L. Clusiaceae of North America Update Database Version 2011*. No.: 21484. [1 Maret 2016].

- Javaid, S. B., Gadahi, J. A., Khaskeli, M., Bhutto, M. B., Kumbher, S. & Panhwar, A. H. 2009. Physical and Chemical Quality of Market Milk Sold at Tandojam, Pakistan. *Pakistan Vet. J.* Vol. 29 Issue 1. Hal: 27-31.
- Justiana, S. dan Muchtaridi. 2009. *Kimia I*. Jakarta: Yudistira.
- Kapitania, B. W. 2010. “Perlindungan Hukum Bagi Konsumen Atas Produk Makanan dalam Kemasan di Pasar Kota Sukoharjo”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Khopkar, S. M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Kress-Rodgers, E. 1998. Terms in Instrumentation and Sensors Technology. Dalam E. Kress-Rodgers (Ed.). *Instrumentation and Sensors for the Food Industry* (Hal: 637-691). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd.
- Kurniawan, A. P. 2012. *Pengembangan Tutup Botol Pintar “Smart Cap” untuk Sirup Kering Amoksisilin*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Kuswandi, B. 2010. *Sensor Kimia: Teori, Praktek & Aplikasi*. Jember University Press.
- Lee, J., Durst, R. W. & Wrolstad, R. E. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants and Wines by pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*. Vol. 88 Issue 5.
- Legowo, A. M. 2002. *Sifat Kimiawi, Fisik dan Mikrobiologi Susu*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Mäkellä, T. & Kosonen, H. 2006. *Temperature Detector/Indicator*. European Patent EP 1597552.
- Padmaningrum, R. T., Marwati, S. & Wiyarsi, A. 2012. *Karakterisasi Ekstrak Zat Warna Kayu Secang (Caesalpinia Sappan L.) Sebagai Indikator Titrasi Asam Basa*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.

- Perry, R. H. & Green, D. W. 1984. *Perry's Chemical Engineering Handbook*. 6<sup>th</sup> Edition. New York: Mc Graw Hill Book Company.
- Prihatman, K. 2000. *Manggis (Garcinia mangostana L.)*. Jakarta: Kantor Deputi Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
- Prusik, T., Arnold, R. M. & Harissonville, N. J. 1991. *Multifunctional Time-Temperature Indicator*. USA: United States Patent.
- Pullinger, E. J. & Kemp, A. E. 1938. Growth of *Salmonella typhi* and Other Members of the Salmonella Group in Milk and Butter Stored at Atmospheric Temperatures. *Journal of Hygiene*. Vol. 16 Issue 2. Hal: 122-126.
- Rahman, A. W. 2007. *Hubungan Tingkat Mastitis dengan Kualitas Susu Berdasarkan Uji Reduktase*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Malang: Universitas Brawijaya.
- Reinking, I. 2007. *ImageJ Basics*. Pennsylvania: Departemen of Biology Millersvilley University.
- Riaz, R. A., Shaheen, M., Butt, M. S., Hashmi, A. M. & Ali, A. 1994. Some Factors Affecting Lipid Peroxidation in Raw Milk During Bulk Handling and Storage. *Jour. Chem. Soc. Pak*. Vol. 16 Issue 2. Hal: 122-126.
- Saleh, E. 2004a. *Dasar Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak*. Medan: USU Digital Library.
- Saleh, E. 2004b. *Teknologi Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak*. Medan: USU Digital Library.
- Sarsojoni. 1996. *Ikamus Kimia*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Semma, M. 2002. Trans Fatty Acids: Properties, Benefits and Risk. *J. Health Sci*. Vol. 48. Hal: 7-13.
- Soedibyo, M. 1998. *Alam Sumber Kesehatan*. Jakarta: Balai Pustaka.

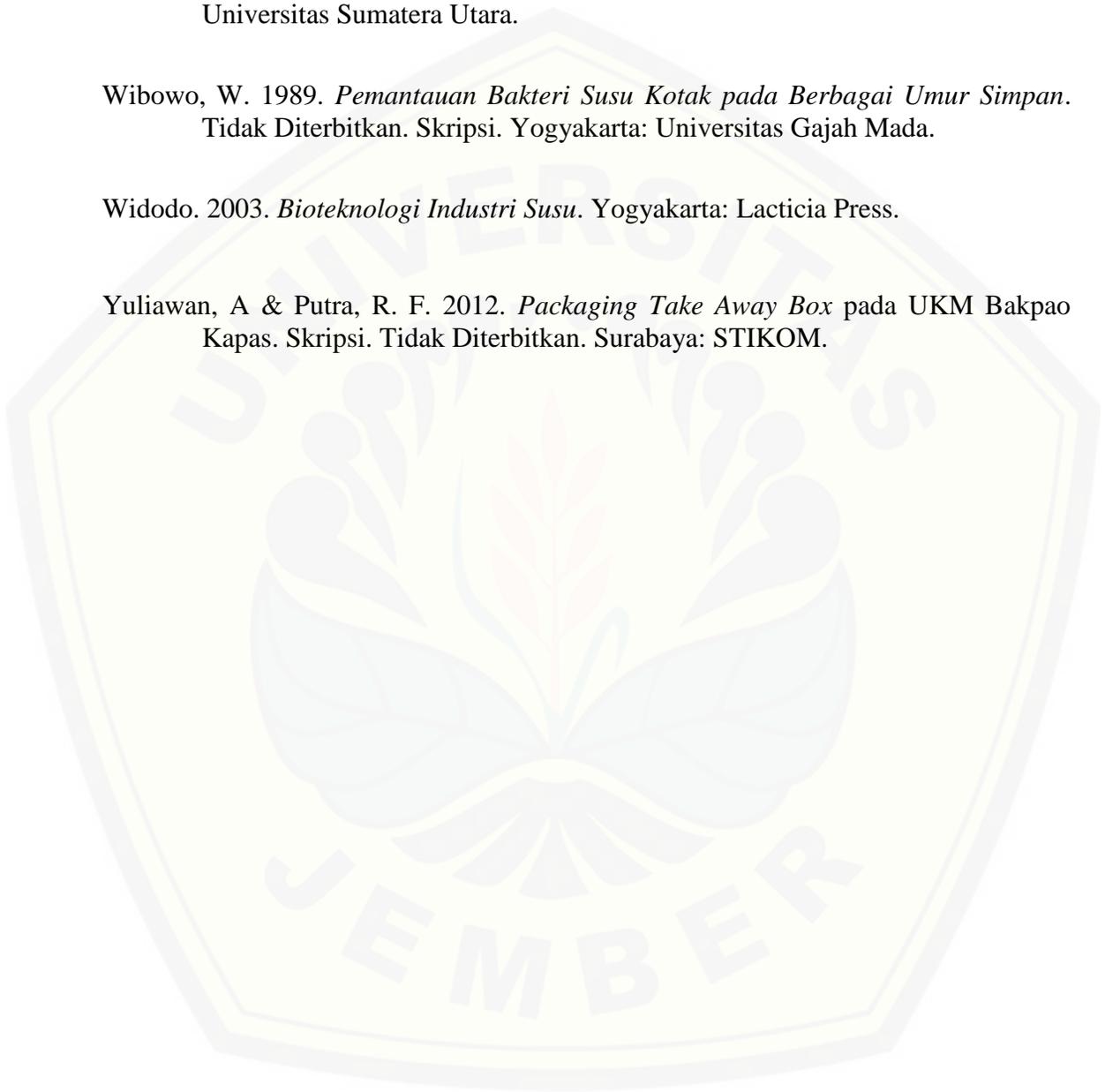
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 1998. *Susu Segar*. No. 01/3141. Jakarta: Badan Standarisasi Indonesia.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2011. *Susu Segar-Bagian I: Sapi*. No. 01/3141. Badan Standarisasi Indonesia.
- Sukarta, I. N. 1999. *Penggunaan Ekstrak Bunga Angsoka Merah (Ixora gandiflora) sebagai Indikator Alternatif dalam Titrasi Asam-Basa*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Singaraja: FMIPA STKIP.
- Sulistiyowati, Y. 2009. *Pemeriksaan Mikrobiologik Susu Sapi Murni dari Kecamatan Musuk Kabupaten Boyolali*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Suwito, W. 2010. Bakteri yang Sering Mencemari Susu: Deteksi, Patogenesis, Epidemiologi dan Cara Pengendaliannya. *Jurnal Litbang Pertanian*. Vol. 29 Issue 3. Hal: 96-100.
- Syukri, S. 1999. *Kimia Dasar 2*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Tassew, A. & Seifu, E. 2011. Microbial Quality of Raw Cow's Milk Collected from Farmers and Dairy Coperatives in Bahir Dar Zuria and Mecha District, Ethiopia. *Agriculture and Biology Journal of North America*. Vol 2 Issue 1. Hal: 29-33.
- Triharto, D. 2010. *Studi Ketahanan Korosi SUS 316L, SUS 317L, SUS 329J dan Hastelloy C-276 dalam Asam Asetat yang Mengandung Ion Bromida*. Tidak Diterbitkan. Tesis. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Vaikousi, H., Biliaderis, C. G. & Koutsoumanis, K. P. 2008. Development of a Microbial Time/Temperature Indicator Prototype for Monitoring the Microbiological quality of Chilled Foods. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 74 Issue 10. Hal: 3242-3250.

Wahidin. 2009. *Analisis Zat Besi dari Susu Sapi Murni dan Minuman Susu Fermentasi Yakult, Calpico dan Vitacharm secara Destruksi dengan Metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Medan: Universitas Sumatera Utara.

Wibowo, W. 1989. *Pemantauan Bakteri Susu Kotak pada Berbagai Umur Simpan*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.

Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Yogyakarta: Lacticia Press.

Yuliawan, A & Putra, R. F. 2012. *Packaging Take Away Box pada UKM Bakpao Kapas*. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Surabaya: STIKOM.



**LAMPIRAN A. DATA HASIL PENGAMATAN pH SUSU**

Jam ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	%RSD
	Rep I	Rep II	Rep III			
0	6,78	6,83	6,81	6,81	0,03	0,37
1	6,69	6,75	6,71	6,72	0,03	0,45
2	6,61	6,63	6,60	6,61	0,02	0,23
3	6,57	6,47	6,52	6,52	0,05	0,77
4	6,34	6,30	6,31	6,32	0,02	0,33
5	6,19	6,14	6,09	6,14	0,05	0,81
6	5,89	6,01	6,01	5,97	0,07	1,16
7	5,81	5,86	5,85	5,84	0,03	0,45
8	5,68	5,81	5,79	5,76	0,07	1,22

**LAMPIRAN B. DATA HASIL PENGAMATAN BAU SUSU**

Jam ke-	Panelis										Rata- rata	SD
	a	b	c	d	e	F	g	h	i	j		
0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
1	1	2	2	1	1	2	2	2	1	2	1,6	0,516
2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1,9	0,316
3	2	2	3	3	2	3	3	3	2	2	2,5	0,527
4	2	3	3	3	3	4	4	3	3	3	3,0	0,471
5	3	3	4	4	4	4	4	4	3	3	3,6	0,707
6	4	4	4	5	5	4	4	5	4	4	4,3	0,483
7	4	5	5	5	5	5	5	5	4	5	4,7	0,483
8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000

Keterangan:

1 = segar

2 = masih segar

3 = agak basi

4 = basi

5 = sangat basi

## LAMPIRAN C. DATA HASIL PENGHITUNGAN TOTAL MIKROBA SUSU

Pengenceran Jam ke-	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>
0	83 97 80	32 38 30											
1	185 178 181	63 59 61	17 14 9										
2	266 241 257	117 134 128	21 29 19										
3		TBUD TBUD TBUD	256 248 254	111 124 130	31 26 24								
4			TBUD TBUD TBUD	209 221 218	157 134 142	26 23 15							
5				TBUD TBUD TBUD	281 278 268	142 153 148	21 18 28						
6					TBUD TBUD TBUD	284 267 270	163 145 159	22 17 28					
7						TBUD TBUD TBUD	293 282 290	152 122 143	36 26 12				
8									TBUD TBUD TBUD	TBUD TBUD TBUD	418 431 382	253 292 284	163 173 159

TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung

**Jam ke-0**

$\Sigma$ Koloni per pengenceran		Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-1}$	$10^{-2}$		
83	32	$0,00083 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
97	38	$0,00097 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
80	30	$0,00080 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2

$$\begin{aligned} \text{Faktor Pengenceran 1} &= \text{pengenceran awal} \times \text{jumlah yang dibutuhkan} \\ &= \frac{10}{100} \times 1,0 \text{ ml} \\ &= 10^{-1} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor Pengenceran 2} &= \text{pengenceran awal} \times \text{pengenceran selanjutnya} \times \text{jumlah yang dibutuhkan} \\ &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml} \\ &= 10^{-2} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 1} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 83 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00083 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 32 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0032 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{0,0032 \times 10^6}{0,00083 \times 10^6} = 3,86 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00083 \times 10^6$  CFU/ ml.  
 $\Rightarrow$  Log CFU/ml = 2,919

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 2} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 97 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00097 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 38 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0038 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{0,0038 \times 10^6}{0,00097 \times 10^6} = 3,91 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00097 \times 10^6$  CFU/ ml.  
 $\Rightarrow$  Log CFU/ml = 2,987

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 80 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00080 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 30 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0030 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{0,0030 \times 10^6}{0,00080 \times 10^6} = 3,75 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00080 \times 10^6$  CFU/ ml.  
 $\Rightarrow$  Log CFU/ml = 2,903

$$\Rightarrow \frac{(0,00083 \times 10^6) + (0,00097 \times 10^6) + (0,00080 \times 10^6)}{3} = 0,00087 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 2,939$$

**Jam ke-1**

$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$		
185	63	17	$0,00185 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
178	59	14	$0,00178 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
181	61	9	$0,00181 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2

Faktor Pengenceran 1 = pengenceran awal x jumlah yang dibutuhkan

$$= \frac{10}{100} \times 1,0 \text{ ml}$$

$$= 10^{-1}$$

Faktor Pengenceran 2 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml}$$

$$= 10^{-2}$$

Koloni per ml 1 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 185 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00185 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 63 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0063 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{0,0063 \times 10^6}{0,00185 \times 10^6} = 3,405 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00185 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$ .

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,267$$

Koloni per ml 2 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 178 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00178 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 59 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0059 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{0,0059 \times 10^6}{0,00178 \times 10^6} = 3,315 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00178 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$ .

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,250$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 181 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00181 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 61 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0061 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{0,0061 \times 10^6}{0,00181 \times 10^6} = 3,370 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00181 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,258$$

$$\Rightarrow \frac{(0,00185 \times 10^6) + (0,00178 \times 10^6) + (0,00181 \times 10^6)}{3} = 0,00181 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,258$$

**Jam ke-2**

$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$		
266	117	21	$0,00266 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
241	134	29	$0,00241 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
257	128	19	$0,00257 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Pengenceran 1} &= \text{pengenceran awal} \times \text{jumlah yang dibutuhkan} \\
 &= \frac{10}{100} \times 1,0 \text{ ml} \\
 &= 10^{-1}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Pengenceran 2} &= \text{pengenceran awal} \times \text{pengenceran selanjutnya} \times \text{jumlah yang dibutuhkan} \\
 &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml} \\
 &= 10^{-2}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 1} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 266 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00266 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 117 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0117 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{0,0117 \times 10^6}{0,00266 \times 10^6} = 4,398 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00266 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,425$$

$$\text{Koloni per ml 2} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

$$\begin{aligned}
 &= 241 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00241 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 134 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0134 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{0,0134 \times 10^6}{0,00241 \times 10^6} = 5,560 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00241 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,382$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 257 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00257 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 128 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0128 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{0,0128 \times 10^6}{0,00257 \times 10^6} = 4,981 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00257 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,410$$

$$\Rightarrow \frac{(0,00266 \times 10^6) + (0,00241 \times 10^6) + (0,00257 \times 10^6)}{3} = 0,00241 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,382$$

### Jam ke-3

	$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$		
TBUD		256	111	$0,256 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
TBUD		248	124	$0,248 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
TBUD		254	130	$0,254 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2

Faktor Pengenceran 1 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$\begin{aligned}
 &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml} \\
 &= 10^{-3}
 \end{aligned}$$

Faktor Pengenceran 2 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$\begin{aligned}
 &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml} \\
 &= 10^{-4}
 \end{aligned}$$

Koloni per ml 1 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 256 \times \frac{1}{10^{-3}} = 0,256 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 111 \times \frac{1}{10^{-4}} = 1,110 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1,110 \times 10^6}{0,256 \times 10^6} = 4,336 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,256 \times 10^6$  CFU/ ml.  
 $\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 5,408$

Koloni per ml 2 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 248 \times \frac{1}{10^{-3}} = 0,248 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 124 \times \frac{1}{10^{-4}} = 1,240 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1,240 \times 10^6}{0,248 \times 10^6} = 5,000 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,248 \times 10^6$  CFU/ ml.  
 $\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 5,394$

Koloni per ml 3 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 254 \times \frac{1}{10^{-3}} = 0,254 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 130 \times \frac{1}{10^{-4}} = 1,300 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1,300 \times 10^6}{0,254 \times 10^6} = 5,118 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,254 \times 10^6$  CFU/ ml.  
 $\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 5,405$

$$\Rightarrow \frac{(0,256 \times 10^6) + (0,248 \times 10^6) + (0,254 \times 10^6)}{3} = 0,252 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 5,401$$

**Jam ke-4**

$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$		
209	157	26	$2,090 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
221	134	23	$2,210 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
218	142	15	$2,180 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2

Faktor Pengenceran 1 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml}$$

$$= 10^{-4}$$

Faktor Pengenceran 2 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml}$$

$$= 10^{-5}$$

Koloni per ml 1 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 209 \times \frac{1}{10^{-4}} = 2,090 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 157 \times \frac{1}{10^{-5}} = 15,700 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{15,700 \times 10^6}{2,090 \times 10^6} = 7,512 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $2,090 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,320$$

Koloni per ml 2 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 221 \times \frac{1}{10^{-4}} = 2,210 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 134 \times \frac{1}{10^{-5}} = 13,400 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{13,400 \times 10^6}{2,210 \times 10^6} = 6,063 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $2,210 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,344$$

Koloni per ml 3 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 218 \times \frac{1}{10^{-4}} = 2,180 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 142 \times \frac{1}{10^{-5}} = 14,200 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{14,200 \times 10^6}{2,180 \times 10^6} = 6,514 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $2,180 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,338$$

$$\Rightarrow \frac{(2,090 \times 10^6) + (2,210 \times 10^6) + (2,180 \times 10^6)}{3} = 2,160 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,334$$

**Jam ke-5**

Σ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>		
281	142	21	28,1 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2
278	153	18	27,8 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2
268	148	28	26,8 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2

Faktor Pengenceran 1 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml}$$

$$= 10^{-5}$$

Faktor Pengenceran 2 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml}$$

$$= 10^{-6}$$

$$\text{Koloni per ml 1} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

$$= 281 \times \frac{1}{10^{-5}} = 28,1 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 142 \times \frac{1}{10^{-6}} = 142 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{142 \times 10^6}{28,1 \times 10^6} = 5,05 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni 28,1 x 10<sup>6</sup> CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 7,449$$

$$\text{Koloni per ml 2} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

$$= 278 \times \frac{1}{10^{-5}} = 27,8 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 153 \times \frac{1}{10^{-2}} = 153 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{153 \times 10^6}{27,8 \times 10^6} = 5,504 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni 27,8 x 10<sup>6</sup> CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 7,444$$

$$\text{Koloni per ml 3} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

$$= 268 \times \frac{1}{10^{-5}} = 26,8 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 148 \times \frac{1}{10^{-6}} = 148 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{148 \times 10^6}{26,8 \times 10^6} = 5,522 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $26,8 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 7,428$$

$$\Rightarrow \frac{(28,1 \times 10^6) + (27,8 \times 10^6) + (26,8 \times 10^6)}{3} = 27,567 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 7,440$$

**Jam ke-6**

Σ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$		
284	163	22	$284 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
267	145	17	$267 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
270	159	28	$270 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2

Faktor Pengenceran 1 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml}$$

$$= 10^{-6}$$

Faktor Pengenceran 2 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml}$$

$$= 10^{-7}$$

Koloni per ml 1 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 284 \times \frac{1}{10^{-6}} = 284 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 163 \times \frac{1}{10^{-7}} = 1.630 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1630 \times 10^6}{284 \times 10^6} = 5,739 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $284 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,453$$

Koloni per ml 2 = jumlah koloni x  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 267 \times \frac{1}{10^{-6}} = 267 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 145 \times \frac{1}{10^{-7}} = 1.450 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1450 \times 10^6}{267 \times 10^6} = 5,431 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $267 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,427$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 270 \times \frac{1}{10^{-6}} = 270 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 159 \times \frac{1}{10^{-7}} = 1.590 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{1590 \times 10^6}{270 \times 10^6} = 5,889 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $270 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,431$$

$$\Rightarrow \frac{(284 \times 10^6) + (267 \times 10^6) + (270 \times 10^6)}{3} = 273,667 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,437$$

**Jam ke-7**

$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$		
293	152	36	$2.930 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
282	122	26	$2.820 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
290	143	12	$2.900 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2

Faktor Pengenceran 1 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$\begin{aligned} &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml} \\ &= 10^{-7} \end{aligned}$$

Faktor Pengenceran 2 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$\begin{aligned} &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml} \\ &= 10^{-8} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 1} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 293 \times \frac{1}{10^{-7}} = 2.930 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 152 \times \frac{1}{10^{-8}} = 15.200 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{15.200 \times 10^6}{2.930 \times 10^6} = 5,188 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $2.930 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 9,467$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 2} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 282 \times \frac{1}{10^{-7}} = 2.820 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 122 \times \frac{1}{10^{-8}} = 12.200 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{12.200 \times 10^6}{2.820 \times 10^6} = 4,326 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $2.820 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 9,450$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 290 \times \frac{1}{10^{-7}} = 2.900 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 143 \times \frac{1}{10^{-8}} = 14.300 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{14.300 \times 10^6}{2.900 \times 10^6} = 4,931 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $2.900 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 9,462$$

$$\Rightarrow \frac{(2.930 \times 10^6) + (2.820 \times 10^6) + (2.900 \times 10^6)}{3} = 2.883,33 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 9,460$$

**Jam ke-8**

	Σ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>		
418	253	163		253 x 10 <sup>12</sup>	Hitung rata-rata >2
431	292	173		292 x 10 <sup>12</sup>	Hitung rata-rata >2
382	284	159		284 x 10 <sup>12</sup>	Hitung rata-rata >2

Faktor Pengenceran 1 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$\begin{aligned}
 &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \\
 &\times 1,0 \text{ ml} \\
 &= 10^{-12}
 \end{aligned}$$

Faktor Pengenceran 2 = pengenceran awal x pengenceran selanjutnya x jumlah yang dibutuhkan

$$\begin{aligned}
 &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \\
 &\times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 10^{-13} \\
 \text{Koloni per ml 1} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 253 \times \frac{1}{10^{-12}} = 253 \times 10^{12} \text{ CFU/ml} \\
 &= 163 \times \frac{1}{10^{-13}} = 1630 \times 10^{12} \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{1630 \times 10^{12}}{253 \times 10^{12}} = 6,443 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $253 \times 10^{12}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 14,403$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 2} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 292 \times \frac{1}{10^{-12}} = 292 \times 10^{12} \text{ CFU/ml} \\
 &= 173 \times \frac{1}{10^{-13}} = 1730 \times 10^{12} \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{1730 \times 10^{12}}{292 \times 10^{12}} = 5,925 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $292 \times 10^{12}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 14,465$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 284 \times \frac{1}{10^{-12}} = 284 \times 10^{12} \text{ CFU/ml} \\
 &= 159 \times \frac{1}{10^{-13}} = 1590 \times 10^{12} \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{1590 \times 10^{12}}{284 \times 10^{12}} = 5,599 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $284 \times 10^{12}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 14,453$$

$$\Rightarrow \frac{(253 \times 10^{12}) + (292 \times 10^{12}) + (284 \times 10^{12})}{3} = 276,333 \times 10^{12} \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 14,441$$

Jam ke-	Total mikroba (log CFU/ml)			Rata-rata	SD	%RSD
	Rep 1	Rep 2	Rep 3			
0	2,919	2,987	2,903	2,936	0,045	1,519
1	3,267	3,250	3,258	3,258	0,009	0,261
2	3,425	3,382	3,410	3,406	0,022	0,641
3	5,408	5,394	5,405	5,402	0,007	0,136
4	6,320	6,344	6,338	6,334	0,012	0,197
5	7,449	7,444	7,428	7,440	0,011	0,147
6	8,453	8,427	8,431	8,437	0,014	0,166
7	9,467	9,450	9,462	9,460	0,009	0,092
8	14,403	14,465	14,453	14,440	0,033	0,228

### LAMPIRAN D. DATA DAN HASIL ANALISIS UJI PENENTUAN TOTAL ANTOSIANIN

#### pH 1

No	$\lambda$	Replikasi				
		I	II	III	IV	V
1	515	1,016	1,016	1,018	1,057	1,085
2	700	0,004	0,005	0,004	0,022	0,052

#### pH 4,5

No	$\lambda$	Replikasi				
		I	II	III	IV	V
1	515	0,408	0,395	0,395	0,418	0,404
2	700	0,068	0,057	0,055	0,069	0,059

#### Replikasi 1

$$A = (A_{515} - A_{700}) \text{ pH 1} - (A_{515} - A_{700}) \text{ pH 4,5}$$

$$= (1,016 - 0,004) - (0,408 - 0,068)$$

$$= 1,012 - 0,340$$

$$= 0,672$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi antosianin (mg/L)} &= (A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times l) \\ &= (0,672 \times 449,2 \times 1,03 \times 1000) / (26.900 \times 1) \\ &= 11,558 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$11,558 \text{ mg/L} \sim 1 \text{ L}$$

$$x \sim 10 \text{ ml}$$

$$\frac{11,558}{1000} = \frac{x}{10}$$

$$x = 0,116 \text{ mg} = 1,16 \times 10^{-4} \text{ gram}$$

$$\% \text{ b/b} = \frac{0,000116}{0,502} \times 100 \%$$

$$= 0,0231 \%$$

**Replikasi 2**

$$\begin{aligned}
 A &= (A_{515} - A_{700}) \text{ pH } 1 - (A_{515} - A_{700}) \text{ pH } 4,5 \\
 &= (1,016 - 0,005) - (0,395 - 0,057) \\
 &= 1,011 - 0,338 \\
 &= 0,673
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi antosianin (mg/L)} &= (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times l) \\
 &= (0,673 \times 449,2 \times 1,03 \times 1000) / (26.900 \times 1) \\
 &= 11,575 \text{ mg/L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 11,575 \text{ mg/L} &\sim 1 \text{ L} \\
 x &\sim 10 \text{ ml} \\
 \frac{11,575}{1000} &= \frac{x}{10} \\
 x &= 0,116 \text{ mg} = 1,16 \times 10^{-4} \text{ gram} \\
 \% \text{ b/b} &= \frac{0,000116}{0,502} \times 100 \% \\
 &= 0,0231 \%
 \end{aligned}$$

**Replikasi 3**

$$\begin{aligned}
 A &= (A_{515} - A_{700}) \text{ pH } 1 - (A_{515} - A_{700}) \text{ pH } 4,5 \\
 &= (1,018 - 0,004) - (0,395 - 0,055) \\
 &= 1,014 - 0,340 \\
 &= 0,674
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi antosianin (mg/L)} &= (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times l) \\ &= (0,674 \times 449,2 \times 1,03 \times 1000) / (26.900 \times 1) \\ &= 11,593 \text{ mg/ L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 11,593 \text{ mg/L} &\sim 1 \text{ L} \\ x &\sim 10 \text{ ml} \\ \frac{11,593}{1000} &= \frac{x}{10} \\ x &= 0,116 \text{ mg} = 1,16 \times 10^{-4} \text{ gram} \\ \% \text{ b/b} &= \frac{0,000116}{0,503} \times 100 \% \\ &= 0,0231 \% \end{aligned}$$

#### Replikasi 4

$$\begin{aligned} A &= (A_{515} - A_{700}) \text{ pH } 1 - (A_{515} - A_{700}) \text{ pH } 4,5 \\ &= (1,057 - 0,022) - (0,418 - 0,069) \\ &= 1,035 - 0,349 \\ &= 0,686 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi antosianin (mg/L)} &= (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times l) \\ &= (0,686 \times 449,2 \times 1,03 \times 1000) / (26.900 \times 1) \\ &= 11,799 \text{ mg/ L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 11,799 \text{ mg/L} &\sim 1 \text{ L} \\ x &\sim 10 \text{ ml} \\ \frac{11,799}{1000} &= \frac{x}{10} \\ x &= 0,118 \text{ mg} = 1,18 \times 10^{-4} \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ b/b} &= \frac{0,000118}{0,503} \times 100 \% \\ &= 0,0235 \% \end{aligned}$$

**Replikasi 5**

$$\begin{aligned} A &= (A_{515} - A_{700}) \text{ pH } 1 - (A_{515} - A_{700}) \text{ pH } 4,5 \\ &= (1,085 - 0,052) - (0,404 - 0,059) \\ &= 1,033 - 0,345 \\ &= 0,688 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi antosianin (mg/L)} &= (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times l) \\ &= (0,688 \times 449,2 \times 1,03 \times 1000) / (26.900 \times 1) \\ &= 11,833 \text{ mg/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 11,833 \text{ mg/L} &\sim 1 \text{ L} \\ x &\sim 10 \text{ ml} \\ \frac{11,833}{1000} &= \frac{x}{10} \\ x &= 0,118 \text{ mg} = 1,19 \times 10^{-4} \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ b/b} &= \frac{0,000118}{0,504} \times 100 \% \\ &= 0,0234 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata konsentrasi antosianin (mg/L)} &= \frac{R1+R2+R3+R4+R5}{5} \\ &= \frac{11,558+11,575+11,593+11,799+11,833}{5} \end{aligned}$$

$$= 11,672 \text{ mg/L}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(x-x1)^2+(x-x2)^2+(x-x3)^2+(x-x4)^2+(x-x5)^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{(11,672-11,558)^2+(11,672-11,575)^2+(11,672-11,593)^2+(11,672-11,799)^2+(11,672-11,833)^2}{5-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{0,013+0,009+0,006+0,016+0,026}{4}}$$

$$= 0,132$$

$$\% \text{ RSD} = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

$$= \frac{0,132}{11,672} \times 100\%$$

$$= 1,131 \%$$

$$\text{Rata-rata \% b/b} = \frac{R1+R2+R3+R4+R5}{5}$$

$$= \frac{0,0231+0,0231+0,0231+0,0235+0,0234}{5}$$

$$= 0,0232 \text{ \% b/b}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(x-x1)^2+(x-x2)^2+(x-x3)^2+(x-x4)^2+(x-x5)^2}{n-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{(0,0232-0,0231)^2+(0,0232-0,0231)^2+(0,0232-0,0231)^2+(0,0232-0,0235)^2+(0,0232-0,0234)^2}{5-1}}$$

$$= \sqrt{\frac{1 \times 10^{-8}+1 \times 10^{-8}+1 \times 10^{-8}+9 \times 10^{-8}+4 \times 10^{-8}}{4}}$$

$$= 2 \times 10^{-4}$$

$$\% \text{ RSD} = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

$$= \frac{2 \times 10^{-4}}{0,0232} \times 100\%$$

$$= 0,009 \%$$

**LAMPIRAN E. DATA HASIL PENGAMATAN PERUBAHAN WARNA TTI BERDASARKAN *ImageJ***

Jam	Perubahan Warna	Replikasi			Rata-rata <i>Mean</i> RGB	SD	% RSD
		1	2	3			
0		184,935	186,172	185,205	185,437	0,650	0,351
1		193,153	192,592	191,546	192,430	0,816	0,424
2		203,186	202,007	204,970	203,411	1,460	0,718
3		211,826	212,652	213,416	212,631	0,795	0,374
4		216,663	217,244	214,614	216,174	1,382	0,639
5		220,728	219,355	222,449	220,844	1,550	0,702
6		224,537	225,086	223,037	224,220	1,061	0,473
7		227,083	228,766	229,637	228,495	1,298	0,568
8		233,383	231,318	234,003	232,901	1,406	0,604

**LAMPIRAN F. HUBUNGAN PARAMETER KUALITAS SUSU DENGAN PERUBAHAN WARNA TTI**

Jam ke-	Gambar TTI	pH Susu	Bau Susu (Skor)	Total Mikroba Terhitung Susu (Log CFU/ml)	Mean RG±B
0		6,81±0,03	1,0±0,000	2,936±0,045	185,437±0,650
1		6,72±0,03	1,6±0,516	3,258±0,009	192,430±0,816
2		6,61±0,02	1,9±0,316	3,406±0,022	203,411±1,460
3		6,52±0,05	2,5±0,527	5,402±0,007	212,631±0,795
4		6,32±0,02	3,0±0,471	6,334±0,012	216,174±1,382
5		6,14±0,05	3,6±0,707	7,440±0,011	220,844±1,550
6		5,97±0,07	4,3±0,483	8,437±0,014	224,220±1,061
7		5,84±0,03	4,7±0,483	9,460±0,009	228,495±1,298
8		5,76±0,07	5,0±0,000	14,440±0,033	232,901±1,406

## LAMPIRAN G. STABILITAS TTI

Hari Ke-	Perubahan warna TTI	Replikasi			Rata-rata Mean RGB	SD	% RSD	% Penurunan
		1	2	3				
0		179,788	177,632	176,679	178,033	1,593	0,895	0
2		182,523	179,161	177,126	179,603	2,726	1,518	1
4		197,829	197,102	194,697	196,543	1,639	0,834	10
6		203,034	209,945	207,145	206,708	3,476	1,682	16

Perhitungan Stabilitas:  $\frac{\text{nilai mean RGB akhir} - \text{nilai mean RGB awal}}{\text{nilai mean RGB awal}} \times 100\%$

$$\text{Hari ke-2} = \frac{179,603 - 178,033}{178,033} \times 100\% = 1 \%$$

$$\text{Hari ke-4} = \frac{196,543 - 178,033}{178,033} \times 100\% = 10 \%$$

$$\text{Hari ke-6} = \frac{206,708 - 178,033}{178,033} \times 100\% = 16 \%$$

**LAMPIRAN H. WAKTU PAKAI TTI**

Jam ke-	Lama penyimpanan (hari ke-)			
	0	2	4	6
0				
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				



**LAMPIRAN J. KUESIONER PENELITIAN****Penilaian Sensoris (Bau) Susu Sapi****A. Petunjuk Pengisian**

1. Periksa dengan seksama bau sampel.
2. Berikan penilaian dengan mengisi tanda (√) kolom penilaian sesuai dengan penilaian anda untuk setiap nomor sampel.

No.	Normal	Masih Normal	Agak Basi	Basi	Sangat Basi
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					
8.					
9.					

Ket		Skor
Normal	:	1
Masih Normal	:	2
Agak Basi	:	3
Basi	:	4
Sangat Basi	:	5