



**PENGEMBANGAN *TIME TEMPERATURE INDICATOR* BERBASIS ENZIM  
LIPASE UNTUK PEMONITORAN KESEGRAN SUSU**

**SKRIPSI**

Oleh

**Yuliana Ayu Puspitasari**

**NIM 142210101007**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang atas rahmat beserta hidayahnya memberikan petunjuk, tuntunan serta limpahan kasih-Nya memberikan kemudahan selama mengerjakan skripsi ini, memberikan saya arti kekuatan hidup, dan Nabi Muhammad SWT sebagai panutan hidup;
2. Ibuku Sri murniati, Ayahku Lolok Dwi Cahyono dan papaku Hardjoko Dwi Bambang Winarso yang senantiasa mendoakan dan memberi semangat saya dalam mengerjakan skripsi. Terima kasih untuk semua kepercayaan, bantuan, dukungan, cinta kasih dan doa yang tulus tanpa putus yang selalu mengiringi langkah hidupku;
3. Kakakku Adhi Kurniawan yang menjadi penyemangat dan selalu memberikan doa untuk menyelesaikan studi ini;
4. Pratama Putra Ramadhan, terimakasih atas bantuan, dukungan dan yang tidak pernah putus dalam saling mendoakan dan selalu memotivasi penulis;
5. Keluarga besar Alm. Mbah Achyak dan mbah Riskiyah atas doa, semangat dan dukungannya selama ini;
6. Bapak ibu Guru di TK Dharmawanita Arjasa, SDN 1 Kebundadap Timur, SMPN 2 Saronggi, dan SMAN 1 Sumenep serta Dosen-dosen dan segenap civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Jember atas keikhlasannya memberikan ilmu dan membimbing penulis;
7. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

**Teruslah bersyukur kepada Allah, bertawakkal dan tetaplah berprasangka baik kepada Allah, *happy ending is in the making.***



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Yuliana Ayu Puspitasari

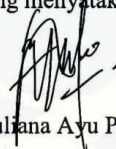
NIM : 142210101007

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Pengembangan *Time Temperature Indicator* Berbasis Enzim Lipase untuk Pemonitoran Kesegaran Susu” 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, 23 Agustus 2018

Yang menyatakan,



(Yuliana Ayu Puspitasari)

NIM 142210101007

**SKRIPSI**

**PENGEMBANGAN *TIME TEMPERATURE INDICATOR*  
BERBASIS ENZIM LIIPASE UNTUK PEMONITORAN KESEGERAN SUSU**

Oleh:

Yuliana Ayu Puspitasari

NIM 142210101007

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Lestyo Wulandari S.Si., Apt., M. Farm.

PENGESAHAN

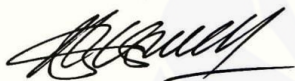
Skripsi berjudul “Pengembangan *Time Temperature Indicator* Berbasis Enzim Lipase untuk Pemantauan Kesegaran Susu” karya Yuliana Ayu Puspitasari telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : 23 Agustus 2018

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua



Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.  
NIP 196902011994031002

Anggota I



Nia Kristiningrum S.Farm., M.Farm., Apt.  
NIP 198204062006042001

Anggota II



Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.  
NIP 197604142002122001

Anggota III



Dwi Koko Pratoko S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP 198504282009121004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.  
NIP 197604142002122001

## RINGKASAN

**Pengembangan *Time-Temperature Indicator* Berbasis Enzim Lipase Untuk Pemantauan Kesegaran Susu;** Yuliana Ayu Puspitasari; 142210101007; 2018; 76 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Susu merupakan salah satu produk makanan dan minuman yang memiliki gizi tinggi karena mengandung zat-zat makanan yang lengkap dan seimbang. Susu merupakan makanan yang tidak tahan lama (*perishable food*) karena kualitas susu yang sulit dipertahankan hingga sampai ke tangan konsumen. Kandungan gizi yang tinggi menyebabkan susu merupakan media yang sangat baik untuk pertumbuhan bakteri dan menjadi sarana penyebaran bakteri yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Mutu susu dapat berubah akibat pertumbuhan bakteri, ditandai dengan perubahan rasa, aroma, warna dan penampakan yang menyebabkan susu menjadi rusak. Potensi kontaminasi bakteri tersebut dapat terjadi akibat penyimpangan suhu yang biasa terjadi selama proses penyimpanan. Salah satu perangkat yang saat ini dikembangkan adalah *time temperature indicator* (TTI) merupakan suatu alat sederhana yang dapat digunakan untuk menunjukkan hubungan antara waktu dan temperatur dengan memberikan perubahan pada sifat fisiknya yang dapat diamati secara visual dengan adanya perubahan warna. Ketika perubahan warna terjadi dengan cepat, maka semakin cepat pula indikator akan mendeteksi akhir dari *shelf life* pada produk.

Pada penelitian ini dikembangkan desain TTI sebagai sensor untuk memonitoring penurunan kualitas kesegaran susu dengan menggunakan enzim lipase dan substrat trigliserida dengan *phenol red* sebagai indikator warna dan untuk mengetahui korelasi antara penurunan kesegaran susu penyimpanan suhu ruang, *chiller* dan *freezer* dengan sensitivitas perubahan warna TTI, serta untuk mengetahui apakah TTI dapat digunakan sebagai sensor untuk mendeteksi penurunan kesegaran susu sapi yang berada dipasaran dalam kondisi penyimpanan suhu *chiller* dan suhu ruang.

Penelitian ini dilakukan fabrikasi TTI, dimana terdiri dari dua membran terpisah yang masing-masing direkatkan pada *plastic mica* transparan. Membran pertama berisi campuran larutan substrat trigliserida dengan indikator *phenol red* yang diimobilisasi kedalam kertas whatman dan membran kedua berisi larutan enzim lipase yang juga diimobilisasi kedalam kertas whatman berdiameter 6 mm. Desain TTI adalah perubahan warna TTI yang semula berwarna merah menjadi kuning terang ketika dalam suasana asam. Pada saat produk susu sudah tidak segar lagi, diharapkan membran akan berubah warna menjadi kuning terang. Ketika warna membran telah berubah menjadi kuning terang maka susu sapi tersebut telah tidak segar atau sudah tidak layak untuk dikonsumsi.

Pengamatan uji kualitas kesegaran susu meliputi uji pH, organoleptis dan total mikroba. Pengamatan pH susu dilakukan dengan menggunakan pH meter. Uji organoleptis menggunakan penilaian panelis dan perhitungan total mikroba dilakukan dengan metode *Total Plate Count* menggunakan media agar PCA (*Plate Count Agar*). Hasil pH menunjukkan susu tidak segar, ketidak sukaan panelis terhadap organoleptis susu dan total mikroba yang melebihi batas maksimum susu segar terjadi pada jam ke-5 penyimpanan suhu ruang, hari ke-3 pada suhu *chiller* dan hari ke-5 suhu *freezer*.

Berdasarkan hasil optimum membran indikator TTI adalah konsentrasi substrat 5% dan konsentrasi indikator 1000 ppm dengan rasio (1:1), menghasilkan membran indikator berwarna merah dan konsentrasi optimum enzim adalah 100 ppm (0,02 Unit). Korelasi Perubahan warna TTI berbasis enzim lipase berbanding lurus dengan penurunan kesegaran susu sapi pada penyimpanan suhu *chiller* dan suhu ruang, sedangkan pada penyimpanan suhu *freezer* tidak dapat memiliki perubahan yang persisten terhadap kesegaran susu, dimana sensor memberikan perubahan warna kuning lebih cepat. Susu dalam keadaan tidak segar pada jam-5 suhu ruang dan hari ke-3 penyimpanan suhu *chiller* diikuti dengan kenaikan nilai *mean red* yang mengindikasikan kualitas susu semakin buruk. Semakin lama susu disimpan pada suhu *chiller* dan ruang, maka kualitas kesegaran susu semakin menurun dan TTI akan memberi tanda melalui perubahan warna dari merah menjadi kuning.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengembangan *Time Temperature Indicator* Berbasis Enzim Lipase untuk Pemonitoran Kesegaran Susu”. 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 Lesty Wulandari, S. Si., M. Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph. D. dan Ibu Lesty Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran perhatian serta dengan sabar membimbing penulis untuk menyelesaikan penelitian dan skripsi ini;
3. Ibu Nia Kristiningrum S.Farm., Apt., M.Farm. dan bapak Dwi Koko Pratoko, S. Farm., M. Sc., Apt. selaku Dosen Penguji yang dengan sabar memberikan saran dalam penulisan skripsi ini;
4. Prof. Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph. D. 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 Parka selaku teknisi Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember yang telah membantu penulis selama penelitian;

7. Orang tua tercinta Sri Murniati papa Hardjoko Dwi Bambang Winarso dan ayah Lolok Dwi Cahyono, kakak Adhi Kurniawan, serta keluarga besar Alm. Mbah Achyak dan Mbah riskiyah yang senantiasa memberikan semangat, doa dan dukungannya selama ini;
8. Partner pejuang Chemo dan Biosensor (zahra, ain, liya, yanti, ninik, ari, rafli, Sheyla, alfi, putu, osy, riski, resa, arum, lely kekek, ila, alfiatur, mas hilmi dan mbak galen) yang selalu memberikan bantuan, berdiskusi serta bertukar pendapat selama ini;
9. Sahabat-sahabatku, mbak Ririz, hasnia, hilma, zahra, ain, liya, mia, tunung dan teman-teman kost Muslimah yang telah menemani dan mendengarkan segala curahan hati serta keluh kesah penulis selama penelitian ini;
10. Teman majelis taklim (Mas putra, Om dan tante Dewi, mas lukman, mas alan, mas yudi) terimakasih atas motivasi, dukungan dan pengalaman serunya yang tak terlupakan;
11. Teman-teman seperjuangan Pharmagen 2014 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, 9 Juni 2018

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 PEMBIMBING .....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvii</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 .....</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>4</b>
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tinjauan Tentang Susu Sapi .....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Pengertian Susu.....	5
2.1.2 Sifat Fisika dan Kimia Susu.....	5
2.1.3 Komposisi Kimiawi Susu .....	9
2.1.4 Mikrobiologi Susu .....	10
2.1.5 Kerusakan Susu Akibat Mikroorganisme .....	11
2.1.6 Kerusakan Susu Akibat Kesalahan Suhu Penyimpanan .....	12

2.1.7	Pemeriksaan Kualitas Susu .....	12
2.1.8	Persyaratan Mutu Susu Segar .....	13
<b>2.2</b>	<b>Tinjauan Tentang Sensor .....</b>	<b>15</b>
2.2.1	Pengertian Sensor Biologi .....	15
2.2.2	Enzim Biosensor .....	15
2.2.3	Teknik Imobilisasi .....	16
<b>2.3</b>	<b><i>Time Temperature Indicator</i> (TTI).....</b>	<b>18</b>
<b>2.4</b>	<b>Tinjauan Tentang Enzim Lipase.....</b>	<b>20</b>
<b>2.5</b>	<b>Gliserol Tributirat .....</b>	<b>22</b>
<b>2.6</b>	<b>Indikator Asam Basa.....</b>	<b>23</b>
<b>2.7</b>	<b>Indikator <i>Phenol Red</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>2.8</b>	<b>Mekanisme TTI Enzimatik.....</b>	<b>24</b>
<b>2.9</b>	<b>Tinjauan Tentang Pembacaan warna pada imageJ.....</b>	<b>26</b>
<b>BAB 3</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>27</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2</b>	<b>Waktu dan Tempat Penelitian.....</b>	<b>27</b>
<b>3.3</b>	<b>Bahan Penelitian .....</b>	<b>27</b>
<b>3.4</b>	<b>Alat Penelitian.....</b>	<b>27</b>
<b>3.5</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>28</b>
3.5.1	Variabel Bebas.....	28
3.5.2	Variabel Terkendali .....	28
3.5.3	Variabel Terikat .....	28
<b>3.6</b>	<b>Definisi Operasional .....</b>	<b>28</b>
<b>3.7</b>	<b>Rancangan Penelitian.....</b>	<b>30</b>
3.7.1	Diagram Alur Penelitian.....	30
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian .....</b>	<b>31</b>
3.8.1	Fabrikasi TTI.....	31
3.8.2	Optimasi TTI.....	34
3.8.3	Karakteristik TTI.....	35

3.8.4 Pengukuran Parameter Kesegaran Susu .....	37
3.8.5 Korelasi Perubahan Warna TTI dengan Kesegaran Susu .....	39
3.8.6 Aplikasi Sensor Pada Kemasan Susu Segar di Pasaran .....	39
3.8.7 Analisis Data .....	40
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>41</b>
<b>4.1 Fabrikasi TTI.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2 Optimasi TTI.....</b>	<b>43</b>
4.2.1 Optimasi Konsentrasi Substrat dan Indikator .....	43
4.2.2 Optimasi Konsentrasi Enzim .....	44
<b>4.3 Pengukuran Parameter Kesegaran Susu.....</b>	<b>47</b>
4.3.1 Pengukuran pH Susu .....	47
4.3.2 Pengamatan Organoleptis Susu .....	49
4.3.3 Perhitungan Total Mikroba Susu .....	52
<b>4.4 Karakterisasi TTI.....</b>	<b>54</b>
4.4.1 Pengukuran Perubahan Warna TTI .....	54
4.4.2 Stabilitas TTI .....	56
4.4.3 Waktu Pakai TTI.....	58
4.4.4 Reprodusibilitas .....	61
<b>4.4 Korelasi Perubahan Warna TTI dengan Kesegaran Susu .....</b>	<b>63</b>
<b>4.5 Aplikasi TTI pada Kemasan Susu di Pasaran .....</b>	<b>70</b>
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>77</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>77</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>78</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>79</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>85</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Berat jenis susu berbagai jenis ternak dan ASI.....	7
2.2 Nilai pH susu berbagai jenis ternak dan ASI .....	8
2.3 Komponen kimia susu sapi .....	10
2.4 Syarat mutu susu menurut SNI No. 3141.1:2011 .....	14
2.5 Karakteristik teknik imobilisasi.....	18
2.6 Pengembangan TTI dengan enzim lipase .....	22
4.1 Hasil optimasi konsentrasi dan perbandingan komposisi substrat dan indikator ...	43
4.2 Hasil optimasi membran indikator dengan konsentrasi enzim .....	45
4.3 Nilai RSD pada uji reproduibilitas .....	62

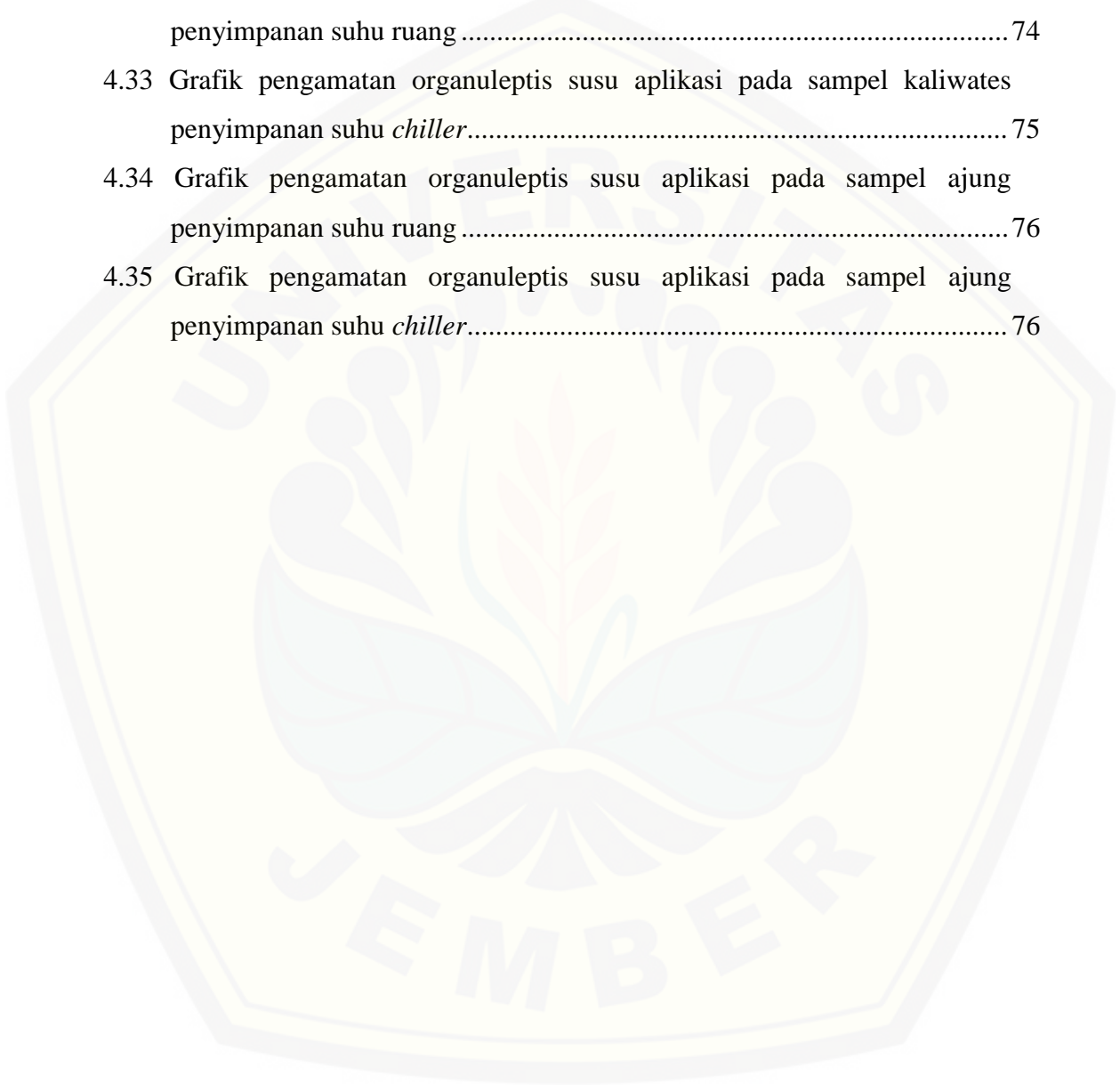
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Skema sensor biologi . . . . .	15
2.2 Skematis prinsip kerja enzim biosensor . . . . .	16
2.3 Hidrolisis triasilgleserol dengan lipase . . . . .	21
2.4 Struktur gliserol tributirat. . . . .	22
2.5 Struktur <i>phenol red</i> . . . . .	24
2.6 Mekanisme TTI . . . . .	25
2.7 Program imageJ . . . . .	27
2.8 Cara perhitungan nilai RGB dengan program imageJ . . . . .	27
3.1 Diagram alur penelitian. . . . .	30
3.2 Desain TTI tampak samping . . . . .	33
3.3 Desain warna <i>Time Temperature Indicator</i> . . . . .	34
3.4 Aplikasi TTI pada kemasan susu . . . . .	39
4.1 Sensor <i>Time Temperature Indicator</i> . . . . .	42
4.2 Grafik perubahan warna membran indikator substrat 5% dan konsentrasi enzim. . . . .	46
4.3 Grafik perubahan warna membran indikator substrat 10% dan konsentrasi enzim. . . . .	47
4.4 Grafik hasil pengamatan pH susu pada suhu ruang . . . . .	48
4.5 Grafik hasil pengamatan pH susu pada suhu <i>chiller</i> . . . . .	48
4.6 Grafik hasil pengamatan pH susu pada suhu <i>freezer</i> . . . . .	49
4.7 Grafik hasil pengamatan organoleptis susu pada suhu ruang . . . . .	51
4.8 Grafik hasil pengamatan organoleptis susu pada suhu <i>chiller</i> . . . . .	51
4.9 Grafik hasil pengamatan organoleptis susu pada suhu <i>frezeer</i> . . . . .	52

4.10 Grafik hasil total mikroba pada suhu ruang .....	53
4.11 Grafik hasil total mikroba pada suhu <i>chiller</i> .....	54
4.12 Grafik hasil total mikroba pada suhu <i>freezer</i> .....	54
4.13 Grafik perubahan warna TTI pada suhu ruang .....	55
4.14 Grafik perubahan warna TTI pada suhu <i>chiller</i> dan <i>freezer</i> .....	55
4.15 Grafik stabilitas TTI.....	57
4.16 Grafik waktu pakai (a) hari ke-0 sampai 4 (b) hari ke-6 pada suhu ruang....	59
4.17 Grafik waktu pakai (a) hari ke-0 sampai 4 (b) hari ke-6 pada suhu <i>chiller</i> ..	60
4.18 Grafik waktu pakai (a) hari ke-0 sampai 4 (b) hari ke-6 pada suhu <i>freezer</i> ..	61
4.19 Grafik korelasi antara <i>mean red</i> dengan pH susu pada suhu ruang .....	64
4.20 Grafik korelasi antara <i>mean red</i> dengan pH susu pada suhu <i>chiller</i> .....	64
4.21 Grafik korelasi antara <i>mean red</i> dengan pH susu pada suhu <i>freezer</i> .....	65
4.22 Grafik korelasi antara <i>mean red</i> dengan organoleptis susu pada suhu ruang .....	66
4.23 Grafik korelasi antara <i>mean red</i> dengan organoleptis susu pada suhu <i>chiller</i> .....	67
4.24 Grafik korelasi antara <i>mean red</i> dengan organoleptis susu pada suhu <i>freezer</i> .....	67
4.25 Grafik korelasi antara <i>mean red</i> dengan total mikroba susu pada suhu ruang .....	69
4.26 Grafik korelasi antara <i>mean red</i> dengan total mikroba susu pada suhu <i>chiller</i> .....	69
4.27 Grafik korelasi antara <i>mean red</i> dengan total mikroba susu pada suhu <i>freezer</i> .....	70
4.28 Grafik pH susu aplikasi pada sampel dipasaran penyimpanan suhu ruang ..	71
4.29 Grafik pH susu aplikasi pada sampel dipasaran penyimpanan suhu <i>chiller</i> .	72
4.30 Grafik pengamatan organoleptis susu aplikasi pada sampel rembangan penyimpanan suhu ruang .....	73

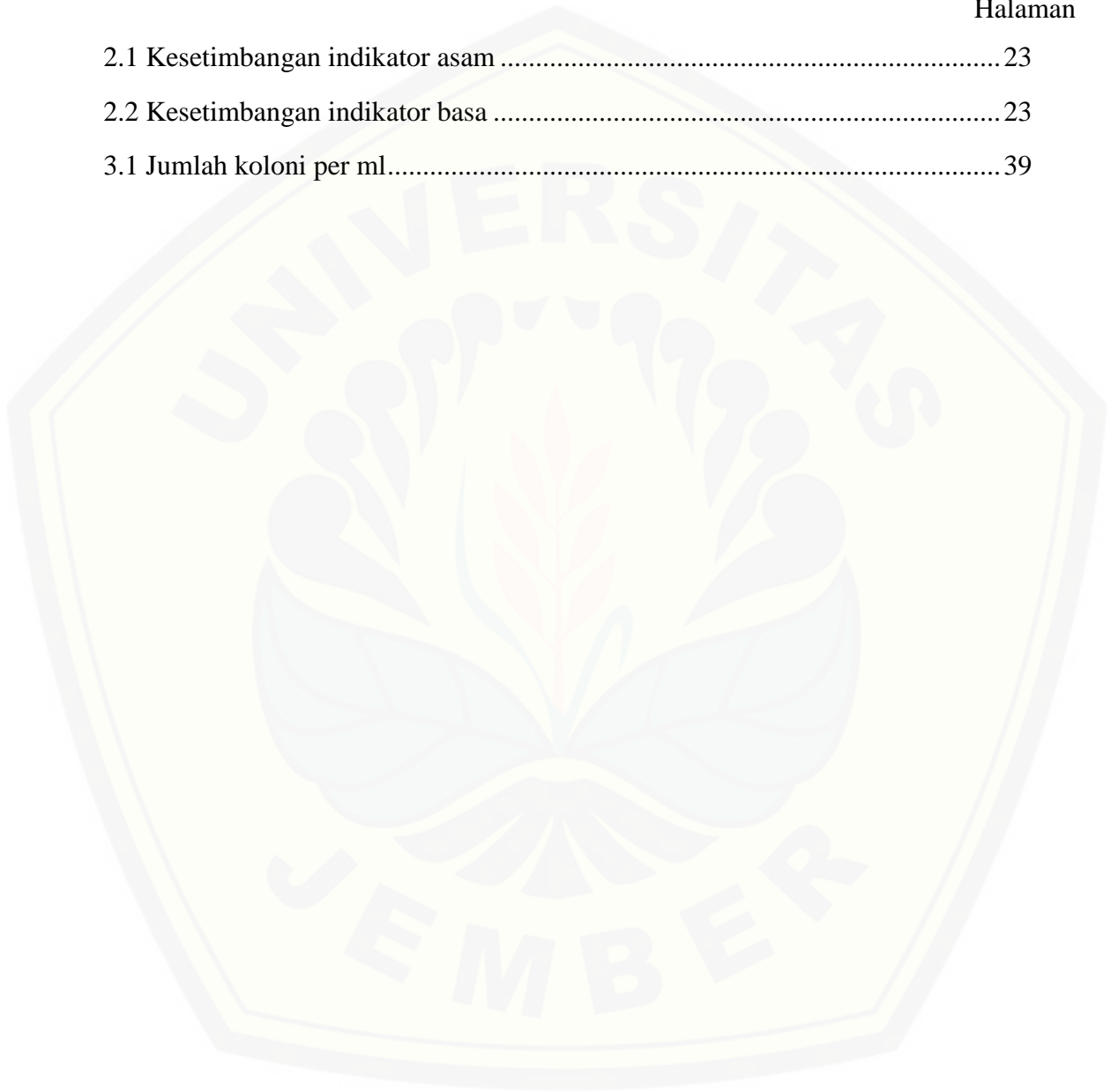


4.31 Grafik pengamatan organoleptis susu aplikasi pada sampel rembangan penyimpanan suhu <i>chiller</i> .....	73
4.32 Grafik pengamatan organoleptis susu aplikasi pada sampel kaliwates penyimpanan suhu ruang .....	74
4.33 Grafik pengamatan organoleptis susu aplikasi pada sampel kaliwates penyimpanan suhu <i>chiller</i> .....	75
4.34 Grafik pengamatan organoleptis susu aplikasi pada sampel ajung penyimpanan suhu ruang .....	76
4.35 Grafik pengamatan organoleptis susu aplikasi pada sampel ajung penyimpanan suhu <i>chiller</i> .....	76



**DAFTAR RUMUS**

	Halaman
2.1 Kesetimbangan indikator asam .....	23
2.2 Kesetimbangan indikator basa .....	23
3.1 Jumlah koloni per ml.....	39



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data hasil pengamatan pH susu .....	85
B. Data hasil pengamatan organoleptis susu .....	86
B.1 Data hasil pengukuran organoleptis susu pada suhu ruang .....	86
B.2 Data hasil pengukuran organoleptis susu pada suhu <i>chiller</i> .....	87
B.3 Data hasil pengukuran organoleptis susu pada suhu <i>freezer</i> .....	88
C. Data hasil pengamatan total mikroba susu.....	89
C.1 Data hasil pengamatan total mikroba susu pada suhu ruang.....	90
C.2 Data hasil pengamatan total mikroba susu pada suhu <i>chiller</i> .....	98
C.3 Data hasil pengamatan total mikroba susu pada suhu <i>freezer</i> .....	105
D. Hasil pengukuran perubahan warna membran indikator dan konsentrasi enzim pada suhu ruang .....	112
E. Data Hasil pengamatan perubahan warna TTTI berdasarkan <i>imageJ</i> .....	114
E.1 Perubahan warna TTI pada suhu ruang .....	114
E.2 Perubahan warna TTI pada suhu <i>chiller</i> .....	114
E.3 Perubahan warna TTI pada suhu <i>freezer</i> .....	115
F. Stabilitas TTI.....	116
G. Pengamatan waktu pakai TTI .....	117
G.1 Hasil pengukuran waktu pakai TTI pada suhu ruang.....	117
G.2 Hasil pengukuran waktu pakai TTI pada suhu <i>chiller</i> .....	118
G.3 Hasil pengukuran waktu pakai TTI pada suhu <i>freezer</i> .....	119
H. Reprodusibilitas .....	120
H.1 Reprodusibilitas pada suhu ruang .....	120
H.2 Reprodusibilitas pada suhu <i>chiller</i> .....	121
H.3 Reprodusibilitas pada suhu <i>freezer</i> .....	122
I. Hubungan parameter kesegaran susu dengan perubahan warna TTI.....	123

I.1 Hubungan parameter kesegaran susu dengan perubahan warna TTI suhu ruang.....	123
I.2 Hubungan parameter kesegaran susu dengan perubahan warna TTI suhu <i>chiller</i> .....	123
I.3 Hubungan parameter kesegaran susu dengan perubahan warna TTI suhu <i>freezer</i> .....	124
J. Data hasil pengukuran kualitas kesegaran susu dipasaran.....	125
J.1 Data hasil pengukuran pH susu “Rembangan 1” .....	125
J.2 Data hasil pengukuran pH susu “Kaliwates” .....	125
J.3 Data hasil pengukuran pH susu “Ajung” .....	126
J.4 Data hasil uji organoleptis susu “Rembangan 1” .....	127
J.5 Data hasil uji organoleptis susu “Kaliwates” .....	129
J.6 Data hasil uji organoleptis susu “Ajung” .....	131
K. Kuesioner penelitian .....	133
L. Aplikasi TTI pada kemasan susu dipasaran.....	135
M. Desain kemasan produk .....	137
N. Brosur produk .....	138

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk yang cukup besar dan seiring berjalannya waktu penduduknya terus bertambah, sehingga tingkat konsumsi masyarakat semakin meningkat (Utama, 2011). Tentu saja kebutuhan akan pangan atau makanan sebagai salah satu kebutuhan yang paling mendasar juga semakin meningkat disamping kebutuhan masyarakat akan pangan dan papan. Hal ini mendorong para pengusaha yang bergerak di bidang produksi dan pengolahan pangan untuk memproduksi makanan dan minuman dalam jumlah yang besar (Kapitania, 2010).

Susu merupakan salah satu produk makanan dan minuman yang banyak digemari masyarakat. Susu adalah produk yang bernilai gizi tinggi karena mengandung zat-zat makanan yang lengkap dan seimbang yang diperoleh dari hasil pemerahan (Usmiati dan Abubakar, 2009). Ditinjau dari komposisi kimianya, susu mengandung hampir semua gizi serta mempunyai nilai nutrisi lengkap yang diperlukan tubuh manusia sehingga baik untuk dikonsumsi (Wahyudi, 2006). Kandungan makronutrien dalam susu yaitu protein, karbohidrat dan lemak. Sementara kandungan mikronutrien dalam susu adalah vitamin dan mineral. Komponen penting lain dalam susu terdapat laktosa serta enzim-enzim dan beberapa jenis mikroba yang bermanfaat bagi kesehatan sebagai probiotik (Wardana, 2012).

Susu merupakan makanan yang tidak tahan lama (*perishable food*) karena kualitas susu yang sulit dipertahankan hingga sampai ke tangan konsumen (Saleh, 2004). Kandungan gizi yang tinggi menyebabkan susu merupakan media yang sangat baik untuk pertumbuhan bakteri dan dapat menjadi sarana penyebaran bakteri yang berbahaya bagi kesehatan manusia (Gustiani, 2009). Waktu simpan susu menjadi singkat dan akhirnya tidak layak dikonsumsi bila tidak ditangani dengan benar (Saleh, 2004). Mutu susu dapat berubah akibat pertumbuhan bakteri, ditandai dengan perubahan rasa, aroma, warna dan penampakan yang menyebabkan susu menjadi rusak

(Abubakar dkk., 2001). Potensi kontaminasi bakteri tersebut dapat terjadi akibat penyimpangan suhu yang biasa terjadi selama proses penyimpanan, distribusi, penjualan, hingga penanganan oleh konsumen (Budiyono, 2009).

Berdasarkan permasalahan diatas, diperlukan suatu alat atau perangkat sensor yang dapat mendeteksi penurunan kualitas kesegaran susu selama penyimpanan dalam kondisi suhu yang berbeda dengan suhu *freezer*, misalnya di suhu *chiller* atau suhu ruang sehingga dapat memberi suatu informasi tentang penurunan kualitas kesegaran susu. Salah satu perangkat yang saat ini banyak dikembangkan adalah *time temperature indicator* (TTI) merupakan suatu peralatan sederhana yang dapat digunakan untuk menunjukkan hubungan antara waktu dan temperatur (Feliciano, 2007). Alat ini didesain sebagai label serta memiliki perubahan pada sifat fisik TTI, umumnya dapat diamati secara visual dengan adanya perubahan warna (Haarer dkk., 2011). Ketika perubahan warna terjadi dengan cepat, maka semakin cepat pula indikator akan mendeteksi akhir dari *shelf life* pada produk (Prusik dkk., 1989). Salah satu penelitian yang dilakukan Dan Wu dkk. (2014) telah membuktikan bahwa TTI berbasis lipase memiliki potensi untuk diaplikasikan sebagai TTI enzimatik.

Pada penelitian ini dikembangkan desain TTI sebagai sensor untuk memonitoring penurunan kualitas kesegaran susu dengan menggunakan enzim lipase dan substrat trigliserida dengan *phenol red* sebagai indikator warna. Digunakan enzim lipase karena aktivitas enzim lipase salah satunya dipengaruhi oleh temperatur. Pada umumnya lipase memiliki temperatur optimum berkisar antara 30°C dan 40°C (Kurnia, 2010). Pada suhu rendah aktivitas enzim lipase akan berkurang dan laju reaksinya turun ke nol pada suhu 0°C (Mayordomo, 2000). Desain TTI ini terdiri dari dua membran terpisah yang masing-masing direkatkan pada plastik mika transparan. Membran pertama berisi campuran larutan substrat trigliserida dengan indikator *phenol red* yang diimobilisasi kedalam kertas *whatman* sedangkan membran kedua berisi larutan enzim lipase yang juga diimobilisasi kedalam kertas *whatman*. Ketika akan diaplikasikan, kedua membran tersebut nantinya akan disatukan kemudian bereaksi seiring berjalannya waktu, campuran substrat dan indikator warna pada membran pertama

akan bereaksi dengan enzim pada membran kedua sehingga terjadi perubahan warna pada membran indikator. Membran TTI yang semula berwarna merah menjadi kuning terang ketika dalam suasana asam. Pada saat produk susu sudah tidak segar lagi, diharapkan membran akan berubah warna menjadi kuning terang. Ketika warna membran telah berubah menjadi kuning terang maka susu sapi tersebut telah tidak segar atau sudah tidak layak untuk dikonsumsi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Permasalahan yang ingin dipelajari dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimanakah kondisi optimum fabrikasi TTI berbasis enzim lipase dengan indikator *phenol red* sebagai sensor kesegaran susu sapi?
2. Bagaimanakah korelasi antara perubahan warna TTI berbasis enzim lipase dengan penurunan kesegaran susu sapi pada penyimpanan suhu *freezer*, *chiller* dan suhu ruang?
3. Apakah TTI berbasis enzim lipase dapat diaplikasikan sebagai sensor untuk mendeteksi penurunan kesegaran susu sapi yang berada dipasaran dalam kondisi penyimpanan suhu *chiller* dan suhu ruang?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan kondisi optimum fabrikasi TTI berbasis enzim lipase dengan indikator *phenol red* sebagai sensor kesegaran susu sapi.
2. Menentukan korelasi antara perubahan warna TTI berbasis enzim lipase dengan penurunan kesegaran susu pada sapi penyimpanan suhu *freezer*, *chiller* dan suhu ruang.
3. Untuk mengetahui TTI berbasis enzim lipase dapat diaplikasikan sebagai sensor untuk mendeteksi penurunan kesegaran susu sapi yang berada dipasaran dalam kondisi penyimpanan suhu *chiller* dan suhu ruang.

#### 1.4 Manfaat penelitian

Pelaksanaan penelitian ini diharapkan memberikan manfaat berikut:

1. Sensor TTI tersebut dapat diaplikasikan sebagai *device* untuk mendeteksi penurunan kualitas kesegaran susu sapi saat penyimpanan.
2. Sensor TTI pada kemasan produk dapat membantu konsumen untuk mengetahui adanya perubahan kualitas produk susu sehingga konsumen dapat lebih berhati-hati dalam menyimpan dan mengonsumsi produk susu sapi.
3. Sensor TTI ini dapat diaplikasikan pula pada produk kesehatan lainnya seperti obat-obatan, darah dan vaksin, yang stabilitasnya sangat dipengaruhi oleh suhu sehingga tenaga kesehatan dapat menyimpan produk kesehatan tersebut secara benar.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tentang Susu Sapi

#### 2.1.1 Pengertian Susu

Susu merupakan salah satu makanan yang penting bagi kehidupan manusia. Susu merupakan salah satu pangan yang telah diakui secara universal sebagai bahan makanan yang lengkap dan kaya akan gizi karena memiliki kandungan komponen penting seperti protein, laktosa, lemak, mineral dan vitamin dalam bentuk yang mudah dicerna, serta direkomendasikan sebagai bahan makanan wajib harian untuk ibu hamil dan anak-anak (Javaid dkk., 2009). Menurut Saleh (2004), susu termasuk bahan pangan hewani, yang berupa cairan berwarna putih hasil yang diperoleh dari pemerahan sapi atau hewan menyusui lainnya. Definisi di dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) nomor 3141.1:2011 dijelaskan bahwa susu segar merupakan cairan yang berasal dari ambing sapi sehat dan bersih, yang diperoleh dengan cara pemerahan yang benar, kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun kecuali proses pendinginan. Kandungan gizi yang tinggi dan merupakan bahan makanan yang sempurna karena mengandung hampir semua zat gizi yang diperlukan tubuh manusia (Gustiani, 2009).

#### 2.1.2 Sifat Fisika dan Kimia Susu

##### a. Sifat Fisika Susu

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

##### 1) Warna

Warna susu yang normal adalah putih sedikit kekuningan. Warna susu berkisar dari putih kebiruan sampai kuning keemasan. Warna putih pada susu diakibatkan oleh *disperse* yang merefleksikan sinar dari globula lemak serta partikel koloid senyawa

kasein dan kalsium fosfat. Warna kuning dalam susu karena senyawa karoten yang dapat larut didalam lemak susu (Legowo, 2002). Warna susu dapat berubah-ubah, tergantung dari jenis pakan, bangsa ternak, jumlah lemak, bahan padat serta bahan pembentuk warna. Bila lemak diambil dari susu maka susu akan menunjukkan warna putih sedikit kebiruan (Saleh, 2004)

## 2) Rasa dan Bau

Kedua komponen ini berhubungan erat dalam penentuan kualitas kesegaran susu. Susu segar memiliki rasa sedikit manis dan bau (aroma) khas. Rasa sedikit manis akibat adanya gula laktosa dalam susu, rasa asin berasal dari garam mineral seperti klorida, natrium sitrat dan lainnya. Bau (aroma) khas susu disebabkan beberapa senyawa yang memiliki aroma yang spesifik (Legowo, 2002).

Menurut Buckle dkk. (1987) cita rasa yang kurang normal dapat berkembang dalam susu mungkin disebabkan oleh:

- a) Faktor fisiologis seperti cita rasa pakan sapi yang berubah misalnya alfalfa, bawang merah, bawang putih dan alga yang masuk ke dalam susu kemudian mencemari pakan dan air minum sapi.
- b) Faktor enzimatik seperti cita rasa tengik pada lemak susu dapat terbentuk oleh adanya enzim lipase.
- c) Faktor kimiawi, yang disebabkan oksidasi lemak pada susu.
- d) Faktor mikrobiologis, timbul sebagai akibat dari pencemaran dan pertumbuhan bakteri yang menyebabkan peragian laktosa menjadi asam laktat.
- e) Faktor mekanis, bau susu menjadi tidak sedap dapat pula dipengaruhi oleh sifat lemak susu yang mungkin dapat menyerap bau disekitarnya.

## 3) Titik Didih dan Titik Beku

Berdasarkan *codex* susu, disebutkan bahwa titik beku susu adalah  $-0,500^{\circ}\text{C}$  dan untuk Indonesia yaitu  $-0,520^{\circ}\text{C}$ . *Codex* susu ini merupakan suatu daftar satuan yang

harus dipenuhi susu sebagai bahan makanan. Daftar daftar tersebut sudah disepakati oleh ahli gizi dan kesehatan sedunia, meskipun setiap daerah atau negara memiliki ketentuan sendiri. Standar titik didih susu untuk indonesia adalah  $100,16^{\circ}\text{C}$  dan titik beku susu sebesar  $-0,520^{\circ}\text{C}$  (Saleh, 2004).

#### 4) Berat Jenis

Susu merupakan sistem koloid yang kompleks, yaitu terdispersinya gula, garam-garam, dan senyawa lain dalam media air, oleh karena itu berat jenis susu lebih besar dari berat jenis air. Berat jenis susu pada suhu  $20^{\circ}\text{C}$  pada umumnya berkisar antara  $1,027-1,035 \text{ g/dm}^3$  (Legowo, 2002). Berat jenis susu menurut *codex* susu adalah  $1,028 \text{ g/dm}^3$  (Saleh, 2004). Rata-rata berat jenis susu dari beberapa jenis ternak dan ASI terdapat pada Tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Berat jenis susu berbagai jenis ternak dan ASI

No	Jenis Susu	Berat Jenis ( $\text{g/dm}^3$ )
1	Susu domba	1,036
2	Susu kambing	1,033
3	Susu kerbau	1,031
4	Susu unta	1,030
5	Susu sapi	1,030
6	ASI	1,029

Sumber: (Legowo, 2002)

#### 5) Viskositas

Susu memiliki viskositas yang lebih tinggi daripada air. Pada suhu  $20^{\circ}\text{C}$ , Viskositas susu biasanya berkisar antara 1,5-2,0 cP. viskositas susu skim 1,5 cP, viskositas whey 1,2 cP dan susu segar adalah 2,0 cP (Saleh, 2004).

b. Sifat Kimia Susu

1) Keasaman

Susu segar memiliki sifat amfoter, yaitu dapat bersifat asam dan basa sekaligus. Ketika diberi kertas lakmus merah maka berubah warna menjadi biru, Sedangkan ketika diberikan kertas lakmus biru akan berubah menjadi merah (Saleh, 2004). Hal tersebut dipengaruhi adanya gugus amin bersifat basa dan gugus karboksil bersifat asam pada protein dari asam amino dalam susu (Asriyani, 2012). Keasaman susu cenderung meningkat selama penyimpanan disebabkan oleh laktosa yang diubah menjadi asam laktat dan asam organik lainnya. Nilai keasaman akan berbanding terbalik dengan pH. Susu normal memiliki nilai keasaman berkisar antara 5,8-6,2°SH (Legowo, 2002).

2) pH Susu

Menurut legowo (2002) dan saleh (2004), Potensial ion hidrogen (pH) susu normal pada suhu 25°C adalah berkisar antara 6,5-6,7. Menurut SNI (2011) diantara 6,3-6,8. Nilai pH susu berbagai ternak dan ASI dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2. 2 Nilai pH susu berbagai jenis ternak dan ASI

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

Sumber: (Legowo, 2002)

### 2.1.3 Komposisi Kimiawi Susu

Komposisi susu dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor misalnya keturunannya (hereditas) dan jenis ternak, umur ternak, pakan ternak, nutrisi, tingkat laktasi, infeksi atau peradangan pada kelenjar mammae, lingkungan serta prosedur pemerahan susu. Komponen terpenting dalam susu adalah protein serta lemak. Kandungan protein susu berkisar antara 3-5%, sedangkan kandungan lemak susu antara 3-8%. Kandungan energi dalam susu adalah 65 kkal (Saleh, 2004).

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

Tabel 2. 3 Komponen kimia susu sapi

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

Sumber: (Wahidin, 2009)

#### 2.1.4 Mikrobiologi Susu

Mikroba atau mikroorganisme sudah mulai ada dalam susu saat pemerahan. Susu hampir tidak mengandung mikroba sewaktu didalam kelenjar susu (ambing), kecuali pada sapi yang sedang terinfeksi atau sakit. Kontaminasi awal terjadi terutama pada saluran puting yaitu oleh bakteri *Streptococcus* dan *Micrococcus* yang akan menyebar kedalam kelenjar susu (ambing). Kontaminasi lainnya dapat bersumber dari tangan dan bagian tubuh pemerah, kulit ternak, udara, serta peralatan untuk pemerah susu (Legowo, 2002).

Bakteri yang dapat mencemari susu terdiri atas dua golongan, yaitu bakteri pembusuk dan bakteri patogen. Kedua golongan bakteri tersebut dapat menyebabkan penyakit yang ditimbulkan oleh susu (*milkborne disease*), seperti tuberculosis, brucellosis, dan demam tipoid. Mikroorganisme lain yang terdapat didalam susu dan dapat menyebabkan penyakit adalah *Salmonella*, *Shigella*, *Bacillus cereus*, dan *S. aureus* (Gustiani, 2009). Bakteri yang dominan ada di dalam susu segar yang diperoleh dari hasil pemerahan adalah bakteri golongan *Micrococcus* dan *Staphylococcus*, yakni mencapai sekitar 46% dari total bakteri (Cross, H.R. and Overby, 1990). Bakteri lain yang banyak ditemukan di dalam susu adalah bakteri asam laktat (BAL) antara lain *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus thermophilus* dan *Streptococcus thermophilus*. Aktivitas BAL dalam susu dapat menyebabkan susu menjadi asam karena BAL ini dapat menguraikan laktosa menjadi asam laktat. Susu dengan kondisi pemerahan yang higienis, mengandung bakteri tidak kurang dari 10.000 sel/ml. Selama penanganannya bakteri dapat berkembang biak mencapai ratusan ribu atau bahkan sampai jutaan sel per ml (Legowo, 2002).

#### 2.1.5 Kerusakan Susu Akibat Mikroorganisme

Susu merupakan media yang sangat baik bagi pertumbuhan mikroorganisme yang dapat membahayakan kesehatan manusia (Gustiani, 2009). Kandungan protein, glukosa, lipida, garam mineral, vitamin dan pH sekitar 6,8 yang menyebabkan mikroorganisme mudah tumbuh dalam susu (Suwito, 2010). Beberapa mikroorganisme dapat membentuk pigmen yang merubah warna susu, mensintesis polisakarida dan menghasilkan lendir pada susu (Legowo, 2002). Mutu susu dapat berubah akibat pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan perubahan rasa, aroma, warna dan penampakan yang menyebabkan susu menjadi rusak (Abubakar dkk., 2001).

Beberapa kerusakan pada susu yang disebabkan oleh mikroorganisme antara lain:

1. Pengasaman dan penggumpalan, akibat fermentasi laktosa menjadi asam laktat sehingga pH susu turun dan kemungkinan kasein menggumpal.

2. Susu berlendir seperti tali terjadi karena pengentalan dan pembentukan lender akibat pengeluaran bahan seperti kapsul yang bergetah oleh beberapa jenis bakteri.
3. Penggumpalan susu yang timbul ke permukaan susu tanpa penurunan pH yang disebabkan oleh bakteri *Bacillus cereus* (Gustiani, 2009).

#### 2.1.6 Kerusakan Susu Akibat Kesalahan Suhu Penyimpanan

Suhu penyimpanan susu merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya kerusakan susu. Menurut pernyataan Mäkellä dan Kosonen (2006), produk yang terbuat dari bahan susu segar lebih baik disimpan pada suhu rendah dimana kerusakan akibat bakteri berbahaya lebih rendah, sedangkan pada temperatur penyimpanan yang cukup tinggi bakteri akan berkembangbiak dengan cepat meskipun telah dilakukan pendinginan kembali *shelf life* produk telah berkurang. Pertumbuhan bakteri pada umumnya terjadi pada suhu 0-70°C, sedangkan untuk jamur dan *yeast* dapat tumbuh dengan baik pada kisaran suhu 20-40°C (Legowo, 2002). Menurut Legowo (2002) menyatakan bahwa hanya selang 4 jam setelah pemerahan pada suhu ruang susu segar akan berangsur-angsur rusak dan membusuk, sedangkan menurut Suwito (2002) Susu akan rusak setelah disimpan pada suhu ruang lebih dari 5 jam. Susu segar pada penyimpanan suhu ruang ditinjau dari tingkat keasaman (pH), uji didih dan waktu reduktase memiliki ketahanan selama 4 jam (Nababan dkk., 2014). Susu disarankan dapat disimpan selama 5 hari dalam penyimpanan pada kisaran suhu 0-5°C (Fisher dan Medeiros, 2010). Produk susu lebih baik disimpan pada suhu rendah karena pada suhu rendah metabolisme bakteri akan terganggu sehingga kemampuan berkembangbiaknya menjadi terbatas (Legowo, 2002).

#### 2.1.7 Pemeriksaan Kualitas Susu

Pemeriksaan kualitas kesegaran susu dapat dilakukan secara fisik, kimia dan biologis. Pemeriksaan secara fisik dilakukan dengan memeriksa penampakan warna, rasa serta aroma susu menggunakan indera, untuk pemeriksaan susu secara kimia



dilakukan dengan reaksi kimia atau menggunakan zat kimia tertentu. Pemeriksaan susu secara biologis dapat dilakukan dengan mikroskopik, bakteriologis dan biokemis (Saleh, 2004). Menurut Javaid dkk. (2009) menjelaskan beberapa pemeriksaan kualitas susu yaitu pemeriksaan kimia meliputi presentase kadar padatan total, kadar padatan bukan lemak, kadar kasein, kadar protein, kadar abu dan kadar laktosa, sedangkan pemeriksaan fisik susu meliputi pemeriksaan pH, viskositas, berat jenis dan titik beku. Pemeriksaan mikrobiologis susu dapat dilakukan dengan perhitungan total mikroba dengan metode *Standart Plate Count* (SPC) dengan menggunakan *Plate Count Agar* (PCA) (Maitimu dkk., 2012).

Penggolongan kualitas susu di negara-negara barat dan maju lainnya berdasarkan jumlah bakteri yang terdapat dalam susu, yaitu:

- a. Susu kualitas baik atau kualitas A (No. 1) jika didalam susu segar jumlah bakterinya tidak lebih dari 100.000 setiap mililiter dan bakteri-bakteri koli tidak lebih dari 10/ml.
- b. Susu kualitas sedang atau kualitas B (No.2) jika didalam susu segar jumlah bakterinya antara 100.000-1.000.000/ml dan jumlah bakteri koli tidak lebih dari 10/ml.
- c. Susu kualitas buruk atau kualitas C (no. 3) jika jumlah bakterinya lebih dari 1.000.000/ml (Saleh, 2004).

#### 2.1.8 Persyaratan Mutu Susu Segar

Menurut Badan Standarisasi Nasional mempersyaratkan parameter kesegaran susu yang layak untuk dikonsumsi. Berikut merupakan syarat mutu susu sesuai SNI No. 3141.1:2011 (Standar Nasional Indonesia, 2011) dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2. 4 Syarat mutu susu menurut SNI No. 3141.1:2011

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

## 2.2 Tinjauan Tentang Sensor

### 2.2.1 Pengertian Sensor Biologi

Sensor didefinisikan sebagai alat atau perangkat yang digunakan untuk mendeteksi, mencari atau mengukur energi atau suatu zat, dengan memberikan sinyal untuk pendeteksian atau pengukuran suatu sifat fisika atau kimia sebagai respon suatu perangkat (Kress-Rogers dan Brimelow, 2001). Sensor biologi merupakan suatu peralatan analisis yang menggunakan material biologi atau biomolekul (misalnya jaringan, mikroorganism, organella, sel, enzim, antibodi, DNA dsb.), yang terintegrasi dengan sebuah transduser fisika-kimia, yang bias berupa optik, elektrokimia, termometrik, piezoelektrik atau magnetik, yang dapat menghasilkan sinyal elektronik baik secara diskret atau kontinu yang proporsional dengan jumlah suatu analit atau kelompok analit tertentu. Biosensor dapat diartikan pula sebagai piranti analit yang menggunakan interaksi biologi untuk menghasilkan sinyal baik secara kualitatif atau kuantitatif (Kuswandi, 2010). Secara garis besar gambar skematis dari sensor biologi seperti Gambar 2.4.

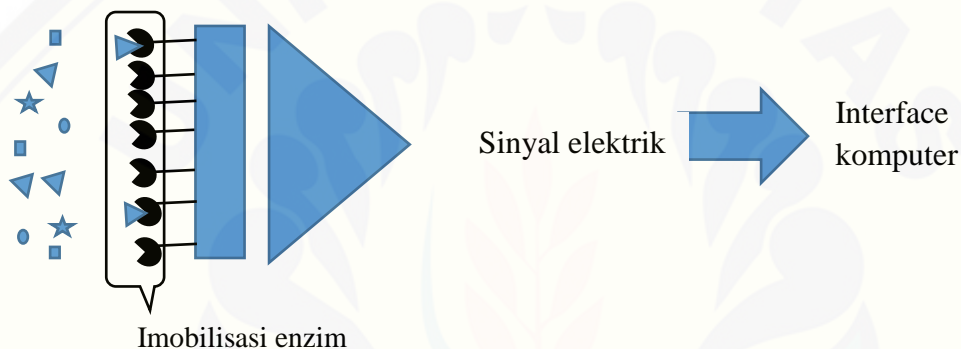


Gambar 2. 1 Skema sensor biologi (Kuswandi, 2010)

### 2.2.2 Enzim Biosensor

Biosensor berbasis enzim merupakan suatu sensor, dimana unsur biologis yang digunakan yaitu enzim yang bereaksi secara selektif dengan substratnya (Amine dkk., 2006). Menurut Kuswandi (2010) Enzim biosensor merupakan piranti analitik yang menggunakan enzim sebagai elemen sensoran dengan sebuah transduser untuk menghasilkan sinyal yang proporsional dengan konsentrasi dari target analit, seperti substrat, inhibitor atau aktivator. Sinyal yang diberikan dapat dihasilkan dari perubahan

konsentrasi proton, dihasilkannya atau dikonsumsi gas-gas tertentu (seperti  $\text{NH}_3$ ,  $\text{O}_2$  atau  $\text{CO}_2$ ) cahaya emisi, absorpsi atau reflektansi, perubahan massa, panas dan sebagainya. Sinyal kemudian dikonversi menjadi respon sinyal yang dapat diukur baik yang berupa arus, tegangan, absorpsi cahaya, perubahan massa atau temperatur, melalui transduksi elektrokimia, optik, piezoelektrik ataupun termometrik. Kemudian sinyal tersebut dapat diproses lebih lanjut untuk disimpan atau dianalisa (Kuswandi, 2010). Secara garis besar skematis prinsip kerja enzim biosensor dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Skematis prinsip kerja enzim biosensor

### 2.2.3 Teknik Imobilisasi

Untuk sebuah biosensor agar memiliki performansi yang baik, maka komponen biologisnya bisa berupa biomolekul atau bioreseptor yang menentukan biodeteksi terhadap target analit harus selalu terikat secara permanen pada permukaan sensor atau transduser, proses ini yang disebut sebagai imobilisasi. Imobilisasi sendiri merupakan proses pengikatan molekul reagen pada bahan pendukung atau media sehingga molekul reagen dapat tersebar pada media secara merata dan homogen serta aktivitas reagensinya tetap ada. Secara umum teknik imobilisasi biomolekul atau bioreseptor dapat dibagi kedalam dua golongan utama yaitu imobilisasi secara fisika yang meliputi penyerapan (adsorpsi), pengkapsulan (enkapsulasi) dan pemerangkapan

(*entrapment*), sedangkan imobilisasi secara kimia meliputi pembentukan ikatan kovalen dan *cross-link* (Kuswandi, 2010).

#### 1. Teknik Adsorpsi

Teknik imobilisasi secara adsorpsi merupakan sebuah cara yang paling sederhana dan memerlukan persiapan yang minimal dalam imobilisasi biomolekul atau bioreseptor pada permukaan suatu sensor. Teknik adsorpsi ini memiliki ikatan yang lemah (Kuswandi, 2010).

#### 2. Teknik enkapsulasi

Merupakan teknik yang digunakan untuk mengimobilisasi biomolekul atau bioreseptor dengan cara dienkapsulasi atau dijerat atau diperangkapkan dalam sebuah membran pada permukaan suatu biosensor (Kuswandi, 2010). Teknik ini stabil terhadap perubahan suhu, pH, ionik dan komponen kimia lainnya (Eggins, 1996).

#### 3. Teknik entrapmen

Merupakan teknik yang hampir mirip dengan enkapsulasi, hanya saja pada cara ini, biomolekul atau bioreseptor diperangkapkan atau dijerat dalam bentuk sebuah matrik dari suatu gel, pasta atau sebuah polimer (Kuswandi, 2010). Namun teknik ini dapat menghambat difusi substrat sehingga dapat memperlambat reaksinya. Selain itu juga dapat mengakibatkan hilangnya bioaktivitas melalui pori-pori dalam gel (Eggins, 1996).

#### 4. Teknik ikatan kovalen

Pada teknik ini imobilisasi biomolekul atau bioreseptor dengan menggunakan ikatan kimia secara kovalen (*covalent chemical bonds*) yang dibentuk antara biomolekul tersebut dengan permukaan suatu sensor atau transduser (Kuswandi, 2010).

#### 5. Teknik *cross-linking*

Teknik ikatan cross-link (*cross-linking*), pada teknik ini digunakan sebuah agen penghubung (*a bifunctional agent*) yang digunakan untuk membentuk ikatan kimia antara biomolekul tersebut dengan permukaan sensor (Kuswandi, 2010)

Pemilihan teknik imobilisasi didasarkan pada kesesuaian dengan sifat-sifat reagen. Berikut kelebihan dan kekurangan dari setiap teknik imobilisasi yang biasa dilakukan dalam mengimobilisasi suatu reagen ditunjukkan pada Tabel 2.5.

Tabel 2. 5 Karakteristik teknik imobilisasi

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

Sumber: Kuswandi, 2010

### 2.3 Time Temperature Indicator (TTI)

*Time temperature indicator* (TTI) merupakan alat pengukur sederhana yang dapat digunakan untuk menunjukkan hubungan yang proporsional antara waktu dan temperatur yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna yang *irreversible* (Feliciano, 2007). Alat ini didesain sebagai label yang cenderung sederhana dan tidak mahal, biasanya diaplikasikan pada barang-barang yang tidak tahan lama, TTI dirancang untuk memonitor kondisi hubungan antara waktu dan temperatur yang dipaparkan pada barang tersebut serta memiliki respon TTI berupa perubahan sifat fisik yang umumnya dapat diamati secara visual dengan adanya perubahan warna sehingga dapat memberikan petunjuk terhadap kondisi kesegaran produk tersebut (Haarer dkk., 2011). Oleh karena itu perlu adanya hubungan antara temperatur dan respon TTI yang mirip dengan penurunan kualitas produk dan respon TTI saat *endpoint* harus sesuai dengan berakhirnya *shelf life* produk (Koutsoumanis dan Gougouli, 2015).

Prinsip kerja TTI diantaranya adalah mekanik, kimia, enzimatik atau perubahan mikrobiologis yang irreversible, biasanya dinyatakan sebagai respon yang dapat diamati secara visual dalam bentuk perubahan warna. Untuk respon fisik atau kimia, hal ini berdasarkan pada reaksi kimia atau perubahan fisik terhadap waktu dan temperatur seperti reaksi asam-basa, pencairan, polimerisasi dll. Sementara untuk respon biologis didasarkan pada perubahan aktivitas biologis, seperti mikroorganisme, spora, atau enzim terhadap waktu dan temperatur (Pavelkova, 2012). TTI pada umumnya, semakin tinggi suhu yang di paparkan pada indikator, semakin cepat perubahan warna yang terjadi sehingga indikator dapat semakin cepat pula dalam mendeteksi akhir dari *shelf life* pada produk (Prusik dkk., 1989).

TTI yang banyak dikembangkan dan dipasarkan saat ini umumnya bekerja menggunakan salah satu prinsip berikut ini:

1. Difusi molekul

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

2. Perubahan enzimatik

Hidrolisis enzimatik pada substrat lipid menyebabkan pelepasan asam dan penurunan pH, penurunan pH akan diterjemahkan ke dalam perubahan warna pada indikator pH, contohnya *Check Point TTI* (Pavelkova, 2012).

3. Perubahan mikroorganisme

Aktivitas metabolisme bakteri asam laktat akan mengasamkan medium TTI. Perubahan pH pada medium TTI akan menginduksi terjadinya perubahan warna indikator, contohnya *Cryolog TTI* (Vaikousi dkk., 2008).

#### 4. Reaksi polimerisasi

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

#### 5. Penguapan asam asetat

Asam asetat merupakan senyawa yang mudah menguap pada suhu ruang dan 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 kemudian menyebabkan medium TTI yang semula basa menjadi asam. Medium TTI mengandung indikator pH sehingga perubahan pH akan menyebabkan perubahan warna pada TTI (Kurniawan, 2012).

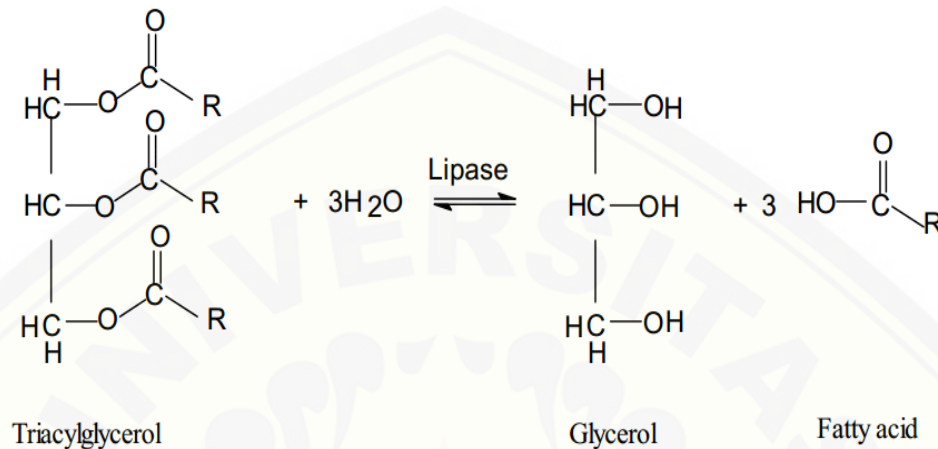
### 2.4 Tinjauan Tentang Enzim Lipase

Enzim merupakan biokatalisator yang sangat efektif akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia spesifik secara nyata, dimana reaksi ini akan berlangsung lambat tanpa adanya enzim. Enzim merupakan senyawa protein yang dapat mengkatalisis reaksi kimia dalam system biologis. Enzim memiliki keunggulan sifat yaitu mempunyai aktivitas yang tinggi, efektif, spesifik dan ramah lingkungan. Hal ini menyebabkan reaksi yang dikatalisis secara enzimatik menjadi lebih efisien dibandingkan dengan reaksi yang dikatalisis oleh katalis kimia (Kurnia, 2010).

Lipase merupakan salah satu enzim yang memiliki peran yang penting dalam bioteknologi modern. Banyak industri yang telah mengaplikasikan penggunaan enzim sebagai biokatalis (Wulan dkk., 2007). Lipase (triasilgliserol asilhidrolidase E.C. 3.1.1.3) adalah enzim yang dapat mengkatalisis hidrolisis triasilgliserol menjadi diasilgliserol, monoasilgliserol asam lemak dan gliserol. Lipase juga dapat mengkatalisis hidrolisis trigliserol dalam berbagai pelarut organik, termasuk



superkritikal karbon dioksida (Thomson dkk., 2006). Reaksi hidrolisis triasilgliserol dengan enzim lipase dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2. 3 Hidrolisis triasilgleserol dengan lipase (Kulkarni, 2002)

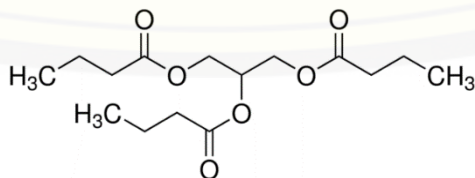
Enzim lipase secara luas dapat ditemukan pada hewan, tanaman dan mikroorganisme. Berdasarkan penelitian, lipase yang diperoleh dari mikroorganisme selain lebih murah juga lebih stabil terhadap lingkungan dengan demikian mempunyai spektrum yang lebih luas untuk diaplikasikan di industri, diantaranya industri lemak, minyak, susu dan obat-obatan (Kurnia, 2010). Enzim lipase memiliki potensi untuk diaplikasikan sebagai TTI enzimatik, selain itu aktivitas enzim lipase salah satunya dipengaruhi oleh temperatur. Pada umumnya lipase memiliki temperatur optimum berkisar antara 30°C dan 40°C (Kurnia, 2010). Pada suhu rendah aktivitas enzim lipase akan berkurang dan laju reaksinya turun ke nol pada suhu 0°C (Mayordomo, 2000). Enzim lipase telah banyak digunakan dalam penelitian pengembangan TTI (*Time Temperature Indicator*) dapat dilihat pada table 2.6.

Tabel 2. 6 Pengembangan TTI dengan enzim lipase

Lipase	Substrat	Indikator	pH		Warna		Referensi
			Awal	Akhir	Awal	Akhir	
<i>Aspergillus niger</i> lipase	glycerol tributyrat	thymol blue	10.20	8.00 ± 0.01	Biru	Kuning	(Wu dkk., 2014)
Alkaline Lipase	glycerol tributyrat	thymol blue	10.2	<8.00	Biru	Kuning	(Dan dkk., 2014)
<i>Burkholderia cepacia</i> Lipase	tricaprylin	bromothymol blue, methyl red, and neutral red at 12:4:1 ratio	8	5.88±0.05	Hijau	Merah	(Kim dkk., 2012)
<i>Candida cylindracea</i> Lipase	Trygliceride	bromothymol blue, methyl red, and neutral red	8	6.5 – 8	-	-	(Yoon dkk., 1994)

## 2.5 Gliserol tributirat

Gliserol tributirat merupakan substrat yang biasanya digunakan untuk penentuan akativitas lipase. Beberapa kelebihan menggunakan substrat gliserol tributirat sebagai substrat uji yaitu dapat mengkondisikan enzim lipase menjadi lebih stabil serta aktivitasnya dapat dua atau tiga kali lebih tinggi dibandingkan dengan gliserol trioleat dan minyak zaitun (Wu dkk., 2014). Gliserol tributirat (C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub>) berbentuk cairan jernih, tidak berwarna. Gliserol tributirat memiliki kerapatan relatif 1,032 g / mL pada 20 ° C dan bobot molekul 302,36 g/mol. Struktur gliserol tributirat dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur gliserol tributirat

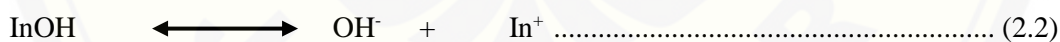
## 2.6 Indikator Asam Basa

Indikator dapat didefinisikan sebagai senyawa kimia yang menunjukkan ada atau tidaknya senyawa kimia lain atau adanya reaksi antara dua atau lebih senyawa yang dapat memberikan perubahan karakteristik, khususnya perubahan warna (Kerry dkk., 2006). Indikator asam basa merupakan suatu senyawa organik yang dapat berubah warna dengan berubahnya pH, biasa digunakan untuk membedakan suatu larutan bersifat asam atau basa dengan cara memberikan perubahan warna yang berbeda pada larutan asam dan basa (Nuryanti dan Ratman, 2016).

Struktur molekul indikator asam basa ini mengandung gugus pembawa sifat asam atau basa dan struktur konjugasinya dapat memberikan perubahan warna. Berubahnya struktur konjugasi bentuk tak terion menjadi struktur konjugasi yang lain dari bentuk ionnya akan menyebabkan perubahan warna pada indikator asam basa. disebabkan Ionisasi indikator asam basa dipengaruhi oleh tingkat keasaman larutan (Chang, 2003). Menurut Bassett dkk. (1994) menjelaskan bahwa indikator basa yang tak berdisosiasi ( $\text{InOH}$ ) atau indikator asam yang tak berdisosiasi ( $\text{HIn}$ ) memberikan warna yang berbeda dari ionnya. Keseimbangan-keseimbangan dalam larutan air dapat ditulis sebagai berikut:



atau



(warna1)

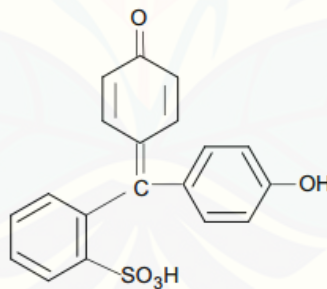
(warna 2)

Ketika indikator tersebut asam lemah, maka adanya ion  $\text{H}^+$  berlebih dalam larutan asam akan menekan ionisasi dengan adanya efek ion sekutu, sehingga menyebabkan konsentrasi  $\text{In}^-$  akan sangat kecil dan warna merupakan warna dari bentuk yang tak terionisasi. Suasana basa, penurunan konsentrasi  $\text{H}^+$  akan mengakibatkan ionisasi indikator lebih lanjut,  $\text{In}^-$  akan naik dan warna dari bentuk tak terionisasi menjadi nampak. Begitu pula sebaliknya dengan indikator yang merupakan

basa lemah. Warna sesungguhnya dari indikator bergantung pada angka banding dari konsentrasi bentuk terionisasi dan bentuk tak terionisasi, sangat berkaitan langsung dengan konsentrasi ion hidrogen dalam larutan (Bassett dkk. 1994).

## 2.7 Indikator *Phenol Red*

*Phenol red* memiliki sinonim fenol sulfonephthalein. Indikator ini memiliki rumus molekul  $C_{19}H_{14}O_5S$  dan bobot molekul 354,38 (Mittal dkk., 2009). *Phenol red* bersifat asam lemah yang paling umum digunakan sebagai salah satu indikator pH (Hsieh dan Whang, 2017). *Phenol red* merupakan serbuk kristal berwarna merah yang tidak larut dalam air dan natrium bikarbonat tetapi mudah larut dalam natrium hidroksida. Selain itu *phenol red* sedikit larut dalam air, larut dalam etanol, hampir tidak larut dalam eter, kloroform. Titik lelehnya  $> 300^{\circ}C$  dan titik didihnya  $562,8 \pm 50,0^{\circ}C$ . Interval perubahan warna *phenol red* adalah dari pH 6,8 – 8,4, warnanya berubah dari kuning menjadi merah (Sabnis, 2008). Struktur *phenol red* dapat dilihat pada gambar 2.5.

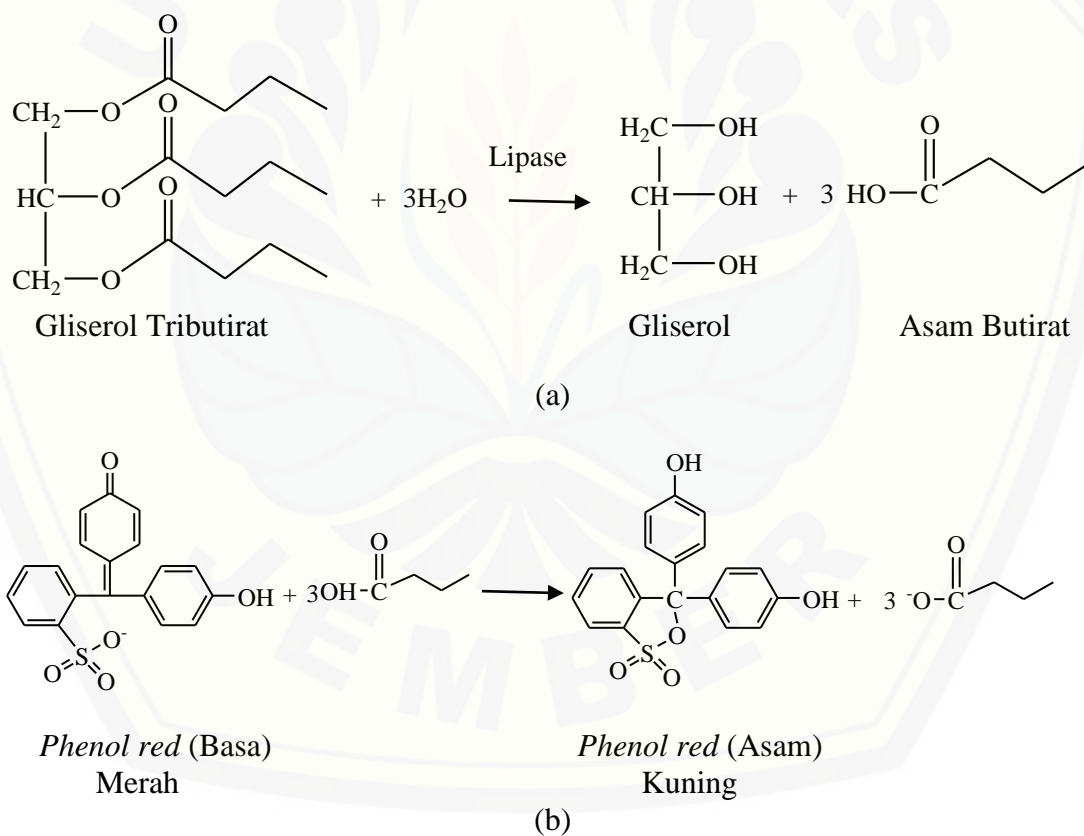


Gambar 2. 5 Struktur *phenol red* (Mittal dkk., 2009)

## 2.8 Mekanisme TTI Enzimatis

Prinsip TTI enzimatis ini berdasarkan pada perubahan warna yang disebabkan oleh penurunan pH, yang merupakan hasil hidrolisis enzimatis pada substrat lipid. Hidrolisis substrat secara enzimatis menyebabkan pelepasan asam dan penurunan pH yang akan diterjemahkan ke dalam perubahan warna oleh indikator pH (Pavelkova, 2012).

Perubahan warna oleh indikator pH *phenol red* terjadi karena reaksi hidrolisis substrat gliserol tributirat dengan enzim lipase yang menghasilkan gliserol dan asam lemak sehingga menyebabkan penurunan pH yang akan diterjemahkan ke dalam perubahan warna oleh *phenol red*. Indikator *phenol red* dalam keadaan basa dengan buffer pH tinggi akan berwarna merah. Ketika terbentuk asam lemak hasil dari reaksi hidrolisis gliserol tributirat dengan enzim lipase, maka *phenol red* dalam bentuk basa konjugat akan menerima proton (terprotonasi) dari asam lemak yang mengakibatkan penurunan pH sehingga akan merubah warna *phenol red* menjadi kuning dalam suasana asam. Mekanisme reaksi TTI dapat dilihat pada gambar 2.6.

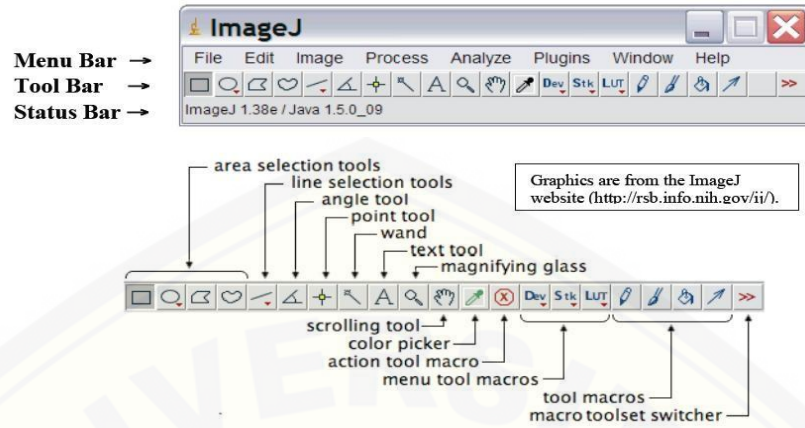


Gambar 2.6 Mekanisme TTI (a) hidrolisis gliserol tributirat dengan lipase dan (b) reaksi *phenol red* dengan asam lemak

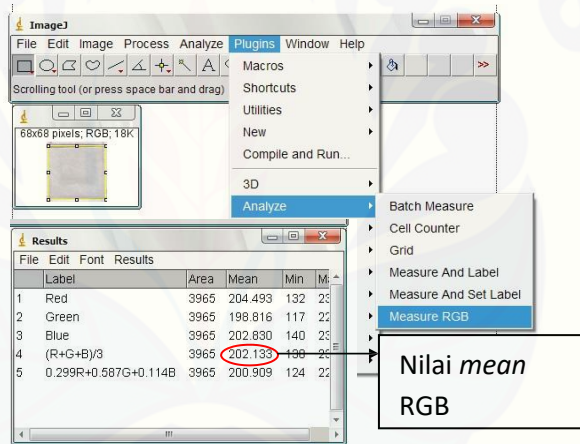
## 2.9 Tinjauan Tentang Pembacaan warna pada imageJ

*ImageJ* merupakan suatu program yang di buat oleh *National Institutes of Health* (NIH) untuk analisis suatu gambar. Program *ImageJ* berisi *menu bar*, *tool bar*, *status bar* dan *progress bar*. Ketika kursor berada di atas gambar, maka akan di tampilkan nilai koordinat, kemudian nilai koordinat tersebut diukur dalam pixel/detik. Dalam gambar digital, pixel adalah titik tunggal dalam pencitraan atau elemen terkecil dari gambar yang dapat dikenali dalam gambar digital (Reinking, 2007). *ImageJ* dapat 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* (Reinking, 2007). Penentuan nilai RGB dengan menggunakan program *ImageJ* didasarkan pada nilai perhitungan dari tiga warna yang mewakili warna primer yaitu merah, hijau dan biru. Dipilih warna merah, hijau, dan biru karena warna tersebut merupakan warna cahaya yang dapat menghasilkan spektrum sehingga dapat terlihat oleh pembaca. Selain itu, ketiga warna tersebut dapat bercampur secara bersamaan untuk membentuk warna apapun. Ketika intensitas tertinggi dari setiap warna dicampurkan bersama, maka akan diperoleh cahaya putih. Sedangkan ketika setiap warna dicampurkan bersama-sama dengan intensitas sama dengan nol, maka hasilnya adalah cahaya hitam (Ferreira dan Rasband, 2012). Cara perhitungan nilai RGB dapat dilihat pada gambar 2.8.



Gambar 2. 7 Program imageJ (Reinking, 2007)



Gambar 2. 8 Cara perhitungan nilai RGB dengan program imageJ (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 2018 sampai selesai.

### 3.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar yang dibeli langsung dari agen penjual susu peternakan sapi Rembangan, kertas *whatman* No. 1001 120, etanol 96%, etanol 90%, etanol 20%, aquadestilata, enzim lipase (Sigma Aldrich) 62301-1G-F, substrat *Glyceryl Tributyrate* (Sigma Aldrich) 91010-25ML, *phenol red* sebagai indikator warna, Tris base,  $\text{CaCl}_2$ , NaCl dan media agar (PCA/*Plate Count Agar*).

### 3.4 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *ball filler*, *beaker glass*, batang pengaduk, tabung reaksi, vial, labu ukur, pipet tetes, pipet volume, pipet ukur, gelas ukur, mikropipet, plat tetes, termometer, pH meter, *magnetic stirrer*, *hair dryer*, timbangan analitik, *yellow tip*, *blue tip*, *refrigerator*, *incubator*, *petry disk*, *Laminar Air Flow*, *Hot Plate*, autoklaf, gunting, *Infrared termometer*, pinset, spatula, *plastic flip*, *plastic wrap*, *double tape*, plastik mika, aluminium foil dan *scanner Canon LiDE 110*.



### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

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

#### 3.5.2 Variabel Terkendali

- a. Sampel susu yang digunakan ialah susu sapi segar “rembangan” yang dibeli dari agen penjual susu di peternakan sapi Rembangan, Jember.
- b. Suhu penyimpanan susu sapi segar yang diletakkan pada suhu *freezer* ( $0^{\circ}\text{C}$ ), suhu *Chiller* ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) ruang ( $29\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).
- c. Enzim Lipase dan substrat *Glyceryl Tributyrate* sebagai sensor TTI yang dibeli dari Sigma Aldrich.
- d. *Phenol red* sebagai indikator warna yang memberikan perubahan warna pada TTI.

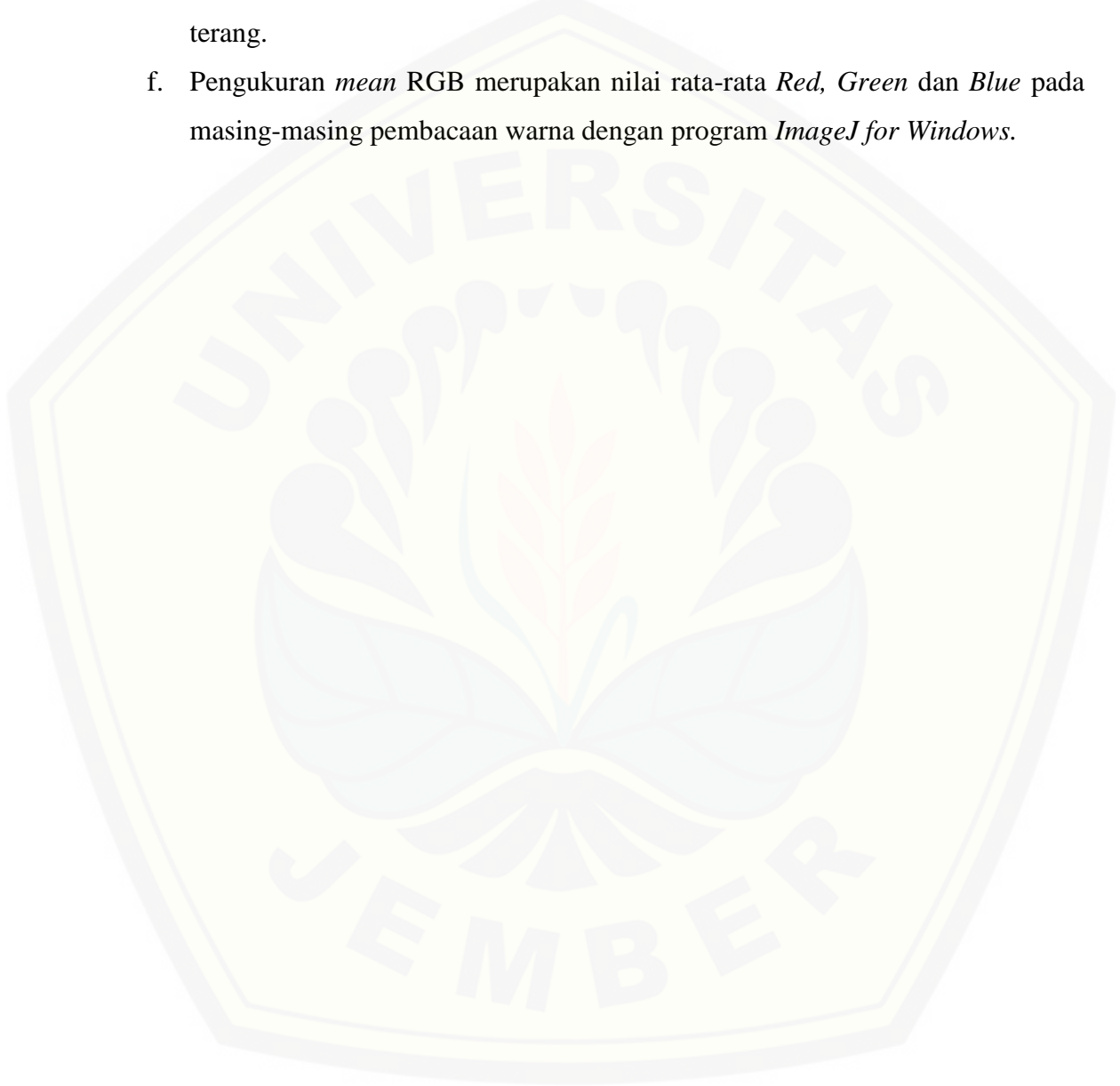
#### 3.5.3 Variabel Terikat

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

### 3.6 Definisi Operasional

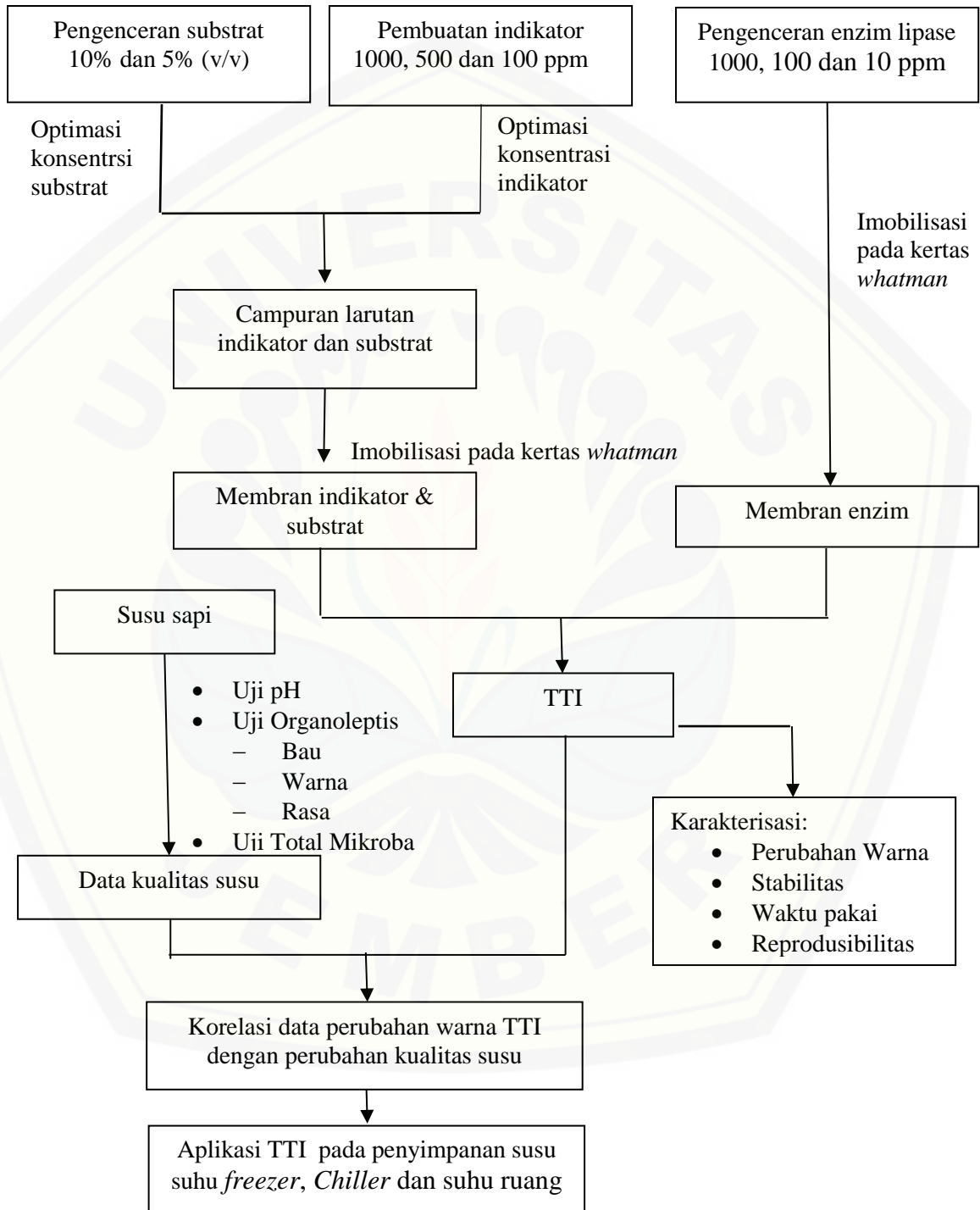
- a. Jenis susu yang digunakan adalah susu sapi segar “rembangan” yang dibeli langsung dari agen penjual susu di peternakan sapi Rembangan, Jember.
- b. Suhu penyimpanan susu sapi segar diletakkan pada suhu *freezer* ( $0^{\circ}\text{C}$ ), suhu *Chiller* ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) ruang ( $29\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).
- c. Jenis enzim Lipase yang digunakan adalah enzim lipase yang berasal dari *Aspergillus niger* yang dibeli dari Sigma Aldrich.
- d. Jenis substrat yang digunakan adalah *Glyceryl Tributyrate* yang dibeli dari Sigma Aldrich.

- e. RGB (*red*, *Green* dan *Blue*) adalah intensitas warna merah, hijau dan biru akibat perubahan warna yang terjadi pada saat membran indikator dan substrat telah bereaksi dengan enzim lipase berubah warna dari merah menjadi kuning terang.
- f. 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 pemonitor kesegaran susu. Penyimpanan susu sapi dilakukan pada suhu *freezer* ( $0^{\circ}\text{C}$ ), *chiller* ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu ruang ( $29\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) lalu dilakukan pengamatan tiap jam selama 8 jam. Kemudian dilanjutkan dengan analisis pH, perubahan organoleptis dan total mikroba terhitung susu sapi serta korelasinya terhadap perubahan warna TTI.

#### 3.8.1 Fabrikasi TTI

##### a. Pembuatan Larutan Enzim Lipase

Sebanyak 0,01 g serbuk enzim lipase dilarutkan dalam 10 ml larutan dapar Tris- $\text{CaCl}_2$ -NaCl (pH 8) kemudian diencerkan 0,1 ml dalam 10 larutan dapar Tris- $\text{CaCl}_2$ -NaCl (pH 8) (Yoon dkk., 1994).

##### b. Pembuatan Larutan Indikator

Indikator *phenol red* dibuat dengan melarutkan 0,025 g *phenol red* dalam 2,85 ml 0,05 N NaOH dan 5 ml etanol 90% dengan pemanasan, kemudian saat pelarutan selesai diencerkan dalam etanol 20% (v/v) sampai 25 ml.

##### c. Pengenceran Larutan Substrat dalam Dapar pH 8

Pengenceran larutan substrat dilakukan dengan memipet larutan substrat sejumlah yang diinginkan kemudian dilarutkan dalam larutan dapar Tris- $\text{CaCl}_2$ -NaCl (pH 8) sesuai volume untuk mendapatkan konsentrasi yang akan dibuat.

d. Pembuatan Larutan Indikator Campur Substrat

Larutan indikator dilarutkan dalam larutan substrat dengan perbandingan volume indikator dan substrat adalah 1:5, 1:3 dan 1:1 kemudian pencampuran dihomogenkan dengan pengadukan 100 rpm.

e. Imobilisasi Larutan Campuran Substrat dan Indikator pada Membran

Kertas *whatman* yang telah dipotong melingkar dengan diameter 6 mm kemudian larutan indikator dan substrat yang telah di campurkan dengan pengadukan 100 rpm, kemudan di teteskan ke masing-masing membran sebanyak 5  $\mu$ l dengan 5 kali penotolan, setiap penotolan ditunggu hingga larutan yang ditotolkan meresap secara merata sampai diperoleh warna indikator yang intens. Kemudian membran dikeringkan dengan cara diangin-anginkan lalu di diamkan sampai terlihat kering.

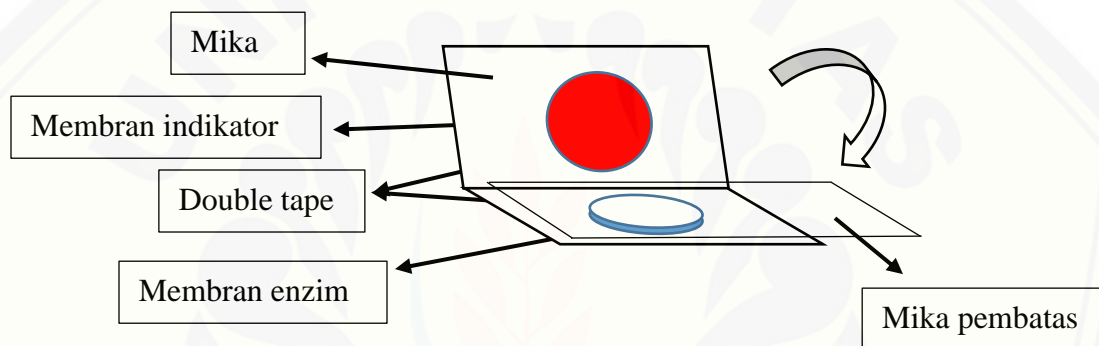
f. Imobilisasi Enzim pada Membran

Kertas *whatman* yang telah dipotong melingkar dengan diameter 6 mm kemudian larutan enzim kemudan di teteskan ke masing-masing membran sebanyak 5  $\mu$ l dengan 5 kali penotolan, setiap penotolan ditunggu hingga larutan yang ditotolkan meresap secara merata pada membran. Kemudian membran enzim tersebut disimpan dalam suhu *chiller*.

g. Pembuatan TTI

Label ini terdiri dari dua membran terpisah yang masing-masing direkatkan pada plastik mika transparan. Membran pertama berisi campuran larutan substrat gliserol tributirat dengan indikator *phenol red* yang diimobilisasi kedalam kertas *whatman* sedangkan membran kedua berisi larutan enzim lipase yang juga diimobilisasi kedalam kertas *whatman*. Kedua membran diletakkan berhadapan dan diberi pemisah plastik mika yang nantinya ketika akan diaplikasikan atau digunakan, plastik pemisahanya dapat ditarik sehingga kedua membran tersebut bisa menyatu dan saling bertemu kemudian bereaksi seiring berjalannya waktu,

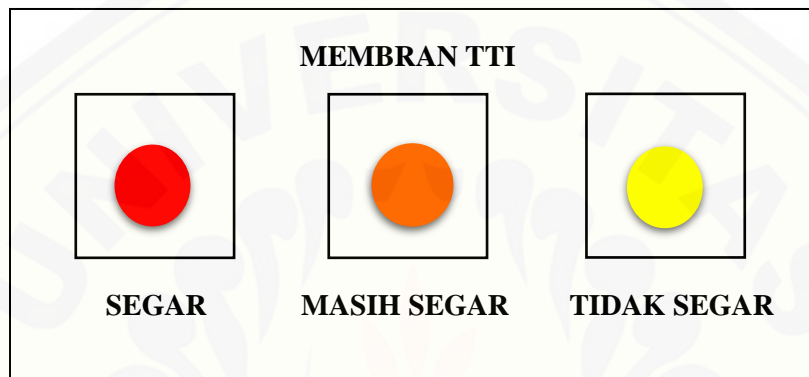
campuran substrat dan indikator pada membran pertama akan bereaksi dengan enzim pada membran kedua sehingga terjadi perubahan warna pada membran indikator. Membran TTI yang semula berwarna merah menjadi kuning terang ketika dalam suasana asam. Pada saat produk susu sudah tidak segar lagi, diharapkan membran akan berubah warna menjadi kuning terang. Ketika warna membran telah berubah menjadi kuning terang maka susu sapi tersebut telah tidak segar atau sudah tidak layak untuk dikonsumsi. Adapun desain TTI tampak samping seperti yang terlihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3. 2 Desain TTI tampak samping

Desain TTI diaplikasikan pada kemasan produk susu sapi sebagai pendeteksi kesegaran. TTI yang telah terfabrikasi diberi penanda kualitas susu yang mencakup “segar”, “masih segar” dan “tidak segar”. Penanda pada TTI terfabrikasi terjadi dimana membran indikator berubah warna dari merah menjadi kuning terang. Setelah TTI terpapar suhu ruang selama beberapa jam, suhu *chiller* dan suhu *freezer* selama beberapa hari. Selama optimasi perubahan warna pada membran indikator dimulai jam ke-0 hingga jam ke-8 dalam kondisi suhu ruang dan dari hari ke-0 sampai hari ke 6 untuk suhu *chiller* dan *freezer*. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap nilai pH, perubahan bau, rasa dan warna yang kemudian dikorelasikan dengan perubahan warna pada membran indikator. Data inilah yang kemudian digunakan saat memberi tanda kesegaran susu pada TTI.

Desain TTI dibuat berbentuk bulat dengan warna awal dari membran indikator adalah merah yang menunjukkan susu masih dalam keadaan segar. Setelah disimpan pada suhu ruang, maka warna dari membran indikator akan berubah menjadi oranye (menunjukkan susu masih segar) kemudian berubah menjadi kuning terang (menunjukkan susu sudah tidak segar).



Gambar 3. 3 Desain warna *Time Temperature Indicator*

Keterangan:



: Warna merah menunjukkan susu sapi segar



: Warna oranye menunjukkan susu sapi masih segar



: Warna kuning terang menunjukkan susu sapi tidak segar

### 3.8.2 Optimasi TTI

#### a. Optimasi Konsentrasi Substrat dan Indikator

Optimasi konsentrasi substrat dan indikator dilakukan untuk mengetahui konsentrasi optimum substrat dan indikator yang dapat memberikan perubahan warna TTI yang sesuai dan jelas. Optimasi konsentrasi substrat yang digunakan yaitu 10% dan 5% (v/v). Sedangkan optimasi konsentrasi indikator yang digunakan yaitu 1000

ppm, 500 ppm dan 100 ppm. Optimasi konsentrasi substrat dan indikator dilakukan dengan rasio perbandingan volume substrat : indikator adalah 1:1, 3:1 dan 5:1. Optimasi konsentrasi substrat dan indikator disebut optimum bila memberikan warna merah intensif.

b. Optimasi Konsentrasi Enzim

Optimasi konsentrasi enzim dilakukan agar memberikan perubahan warna membran ketika di reaksikan bersama membran indikator yang dapat memberikan respon perubahan warna yang sesuai dan jelas. Sebanyak 10 mg enzim dilarutkan dalam 10 ml dapar pH 8 sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk enzim dengan konsentrasi 1000 ppm, diencerkan hingga didapatkan konsentrasi enzim 100 ppm dan 10 ppm. Kemudian dilakukan optimasi konsentrasi enzim dengan konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm. Disebut optimum bila dapat memberikan perubahan warna TTI dari warna merah menjadi kuning setelah 5 jam pada suhu ruang.

### 3.8.3 Karakteristik TTI

a. Pengukuran Perubahan Warna TTI

Perubahan warna TTI terjadi dari warna merah hingga kuning terang selama terpapar suhu ruang, *chiller* dan *freezer*. Perubahan yang terjadi setiap jamnya diukur nilai *mean red* nya untuk mengetahui perubahan warna secara kuantitatif. Data berupa *mean red* selanjutnya dibuat kurva hubungan dengan lamanya waktu penyimpanan pada suhu ruang dari jam ke-0 hingga jam ke-8 dan setiap harinya pada suhu *chiller* dan *freezer*.

b. Stabilitas TTI

Penentuan stabilitas TTI dilakukan dengan membungkus membran indikator dan enzim dengan alumunium 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 merah pada membran indikator dan tidak berwarna untuk membran enzim selama penyimpanan. Selanjutnya dilakukan pengukuran *mean red* untuk mengetahui perubahan respon dari membran indikator selama penyimpanan dimana sensor masih dapat digunakan apabila memberikan perubahan respon sebesar  $\leq 15\%$  dari respon sensor awal (Kuswandi, 2010). Kemudian penentuan stabilitas dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara waktu dengan nilai *mean red*.

c. Waktu Pakai TTI

TTI yang disimpan dalam suhu *chiller* ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) dan telah diamati stabilitasnya kemudian dilakukan pengamatan perubahan warnanya secara visual apabila diaplikasikan pada suhu ruang, suhu *chiller* dan suhu *freezer* tetap memberikan perubahan warna sesuai dengan prosedur yang ditetapkan sebelumnya. Menurut Kuswandi (2010), waktu pakai sensor adalah waktu dimana sensor masih memberikan reaksi yang sama dan stabil terhadap suatu analit pada konsentrasi yang sama hingga waktu respon sensor terhadap analitnya mengalami penurunan drastis. Maka dengan metode ini dapat ditentukan berapa lama suatu sensor TTI dapat digunakan untuk mengukur suatu analit atau sampel yang digunakan dalam penelitian ini. Waktu pakai TTI dilakukan dengan cara mengukur *mean red* membran indikator dan enzim yang telah direaksikan kemudian setiap dua hari sekali pada jam ke-0 hingga jam ke-8 selama enam hari di suhu ruang, dan pada hari ke-0 hingga hari ke-8 pada suhu *chiller* dan *freezer*.

d. Reprodusibilitas

Reprodusibilitas dapat dinyatakan sebagai kepresisian respon TTI yang diukur pada waktu yang sama dalam kondisi yang relatif sama. Pada penelitian ini reprodusibilitas TTI ditentukan dengan menghitung standar deviasi relatif (RSD) dari 3 kali replikasi terhadap TTI yang berbeda dengan kondisi suhu *freezer* dan *chiller*

pada setiap minggu selama 3 minggu sedangkan di suhu ruang pada setiap harinya selama 3 hari yang berbeda. Data diukur menggunakan nilai *mean red* dan dihitung nilai RSD. Reprodusibilitas sensor dapat digolongkan baik bila kesesuaian respon tersebut antara satu respon dengan respon lainnya yang dinyatakan dengan  $RSD < 5\%$  (Kuswandi, 2010).

#### 3.8.4 Pengukuran Parameter Kesegaran Susu

##### a. pH susu sapi (Javaid dkk., 2009)

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

##### b. Uji Organoleptis

Uji organoleptis meliputi uji bau, rasa dan warna.

##### 1) Uji sensoris (bau) susu sapi (Diastari dan Agustina, 2013)

Uji secara organoleptis yaitu dengan uji sensoris bau dilakukan dengan menentukan beberapa orang (10 orang) sebagai panelis yang dapat dianggap mewakili populasi konsumen. Sampel susu disimpan pada suhu ruang selama 8 jam diberikan kepada panelis untuk dinilai perubahan baunya setiap jam. Sedangkan untuk susu yang disimpan di suhu *chiller* dan *freezer* selama 8 hari diberikan pula pada panelis untuk dinilai perubahannya tiap hari. Skala perubahan bau terdiri dari 5 tingkat, yaitu (1) normal, (2) masih normal, (3) agak basi, (4) basi, dan (5) sangat basi.

##### 2) Uji sensoris (rasa) susu sapi (Diastari dan Agustina, 2013)

Uji sensoris rasa dilakukan dengan menentukan beberapa orang (10 orang) sebagai panelis yang dapat dianggap mewakili populasi konsumen. Sampel susu disimpan pada suhu ruang selama 8 jam, sedangkan pada suhu *chiller* dan *freezer* selama 6 hari diberikan pula pada panelis untuk dicicipi dan rasakan susu tersebut. Rasa susu normal sedikit manis, Skala perubahan rasa susu terdiri dari 5 tingkat ,

yaitu (1) normal sedikit manis, (2) masih normal, (3) agak asam, (4) asam, (5) sangat asam.

3) Uji sensoris (warna) susu sapi (Diastari dan Agustina, 2013)

Uji sensoris warna dilakukan dengan menentukan beberapa orang (10 orang) sebagai panelis yang dapat dianggap mewakili populasi konsumen. Sampel susu disimpan pada suhu ruang selama 8 jam, sedangkan pada suhu *chiller* dan *freezer* selama 6 hari diberikan pula pada panelis untuk dilihat dengan latar belakang putih. Diamati warna susu dan kemungkinan adanya kelainan pada warna susu. Skala perubahan warna susu terdiri dari 5 tingkat, yaitu (1) normal putih, (2) masih normal, (3) agak putih kekuningan, (4) putih kekuningan, (5) sangat putih kekuningan.

c. Total Mikroba /*Total Plate Count* (TPC)

Pengujian total mikroba dilakukan dengan metode *Standart Plate Count* (SPC) dengan menggunakan *Plate Count Agar* (PCA) (Maitimu dkk., 2012). Peralatan media dan larutan pengencer yang digunakan dalam analisis total mikroba harus dalam kondisi steril. Pertama dilakukan pengenceran dengan memipet 10 ml sampel dimasukkan dalam erlenmeyer yang 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 dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9,0 ml aquadest steril. Dari larutan tersebut diperoleh larutan dengan seri pengenceran  $10^{-1}$  kemudian diambil sebanyak 1,0 ml 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 media agar (PCA) setengah padat  $\pm 10$  ml. Cawan petri kemudian digoyangkan agar homogen dan dibiarkan sampai memadat. Cawan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam (Hidayat, 2013). Jumlah koloni dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

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

### 3.8.5 Korelasi Perubahan Warna TTI dengan Kesegaran Susu

Perubahan warna TTI dikorelasikan dengan perubahan kesegaran pada susu sapi. Korelasi tersebut berdasarkan pada pengukuran parameter kesegaran susu sapi yang meliputi pH, perubahan organoleptis dan adanya mikroba yang mengkontaminasi pada sampel (*Total Plate Count*). Apabila kesegaran susu sapi mulai menurun, maka TTI akan memberikan tanda melalui perubahan warna. TTI berwarna merah apabila susu sapi masih dalam keadaan segar, berwarna jingga apabila susu sapi dalam keadaan masih segar dan berwarna kuning terang apabila susu sapi sudah dalam keadaan tidak segar atau sudah tidak layak untuk dikonsumsi.

### 3.8.6 Aplikasi Sensor Pada Kemasan Susu Segar di Pasaran

Sensor TTI dirancang secara sederhana, mudah dalam penggunaannya dan dapat dilihat dengan jelas yaitu dengan menempelkan TTI pada bagian luar kemasan susu. TTI akan memberikan tanda melalui perubahan warnanya apabila terjadi penurunan kualitas susu. Desain pengaplikasian TTI pada kemasan susu sapi dapat dilihat pada Gambar 4. Berikut.



Gambar 3.4 Aplikasi TTI pada kemasan susu

Metode ini dilakukan untuk mengetahui TTI berbasis enzim lipase ini dapat diaplikasikan sebagai sensor untuk mendeteksi penurunan kesegaran susu sapi yang berada dipasaran, kemudian kondisi susu akan dinilai oleh 10 orang panelis. Pada penelitian ini dilakukan pengujian pH susu sapi serta pengujian secara organoleptis dalam kondisi penyimpanan suhu *chiller* dan suhu ruang. TTI berwarna merah pada kondisi susu segar, warna oranye pada kondisi susu masih segar dan berwarna kuning terang pada kondisi susu tidak segar yang menandakan susu sudah tidak boleh untuk dikonsumsi.

#### 3.8.7 Analisis Data

Metode analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dan analisis. Pengamatan terhadap perubahan TTI dilakukan tiap jam untuk sensor di suhu ruang, tiap hari pada suhu *chiller* dan suhu *freezer*, kemudian diambil gambarnya. Hasil berupa gambar kemudian dianalisis menggunakan program ImageJ Version 1.38 selanjutnya dihasilkan data berupa intensitas rata-rata komponen warna merah, hijau, biru yang didapatkan dari nilai RGB. Data hasil pengamatan meliputi korelasi perubahan warna TTI dengan parameter kesegaran susu (pH, bau, warna dan rasa, total mikroba) ditampilkan dalam bentuk tabel dan juga 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. Kondisi optimum fabrikasi TTI berbasis enzim lipase dengan indikator *phenol red* adalah :
  - a. Fabrikasi TTI terdiri dari dua membran terpisah yang masing-masing direkatkan pada plastik mika transparan serta diantara kedua membran terdapat pemisah plastik mika sebelum direaksikan. Membran pertama berisi campuran larutan substrat trigliserida dengan indikator *phenol red* yang diimobilisasi kedalam kertas whatman sedangkan membran kedua berisi larutan enzim lipase yang juga diimobilisasi kedalam kertas whatman berdiameter sama yaitu 6 mm.
  - b. Konsentrasi optimum yang dipilih adalah konsentrasi substrat 5% dan konsentrasi indikator 1000 ppm dengan rasio (1:1)
  - c. konsentrasi optimum enzim adalah 100 ppm (0,02 Unit)
2. Perubahan warna TTI berbasis enzim lipase berbanding lurus dengan penurunan kesegaran susu sapi pada penyimpanan suhu *chiller* dan suhu ruang, sedangkan perubahan warna TTI pada penyimpanan suhu *freezer* tidak dapat memiliki perubahan yang persis terhadap kesegaran susu, dimana sensor memberikan perubahan warna kuning lebih cepat dari pada kebusukan susu, maka sensor ini dapat digunakan sebagai antisipasi terhadap kerusakan susu pada penyimpanan suhu *freezer*. Semakin lama susu disimpan pada suhu *freezer*, *chiller* dan ruang, maka kualitas kesegaran susu semakin menurun dan TTI akan memberikan tanda melalui perubahan warna dari merah menjadi kuning.

3. TTI berbasis enzim lipase dapat diaplikasikan sebagai sensor untuk mendeteksi penurunan kesegaran susu sapi yang berada dipasaran dengan cara ditempelkan pada bagian luar kemasan susu dalam kondisi penyimpanan suhu *chiller* dan suhu ruang.

## 5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan penulis sehubungan dengan pengembangan *Time Temperature Indicator* dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Diperlukan adanya inovasi lebih lanjut untuk memperoleh desain TTI berbasis enzim lipase sebagai sensor penurunan kesegaran susu sapi yang lebih stabil pada penyimpanan suhu ruang, *chiller* dan *Freezer* sehingga waktu pakai sensor menjadi lebih lama.
2. Diperlukan pengembangan sensor TTI berbasis enzim lipase untuk mendeteksi kesalahan penyimpanan pada produk kesehatan seperti obat-obatan, darah dan vaksin *multiple dose*.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abubakar, Triyantini, R. Sunarlim, H. Setiyanto, dan Nurjannah. 2001. Pengaruh Suhu dan Waktu Pasteurisasi Terhadap Mutu Susu Selama Penyimpanan. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*. 6(1):45–50.
- Amine, A., H. Mohammadi, I. Bourais, dan G. Palleschi. 2006. Enzyme inhibition-based biosensors for food safety and environmental monitoring. *Biosensors and Bioelectronics*. 21(8):1405–1423.
- Asriyani, R. 2012. *Umur Simpan Yoghurt Simbiotik Dengan Variasi Bahan Kemasan Dan Suhu Penyimpanan*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Bailer, W. 2006. *Writing ImageJ Plugins — A Tutorial*. Austria University: Dept. of Media Technology and Design Hagenberg.
- 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.
- Budiyono, H. 2009. Analisis Daya Simpan Produk Susu Pasteurisasi Berdasarkan Kualitas Bahan Baku Mutu Susu. *Jurnal Paradigma*
- Chang, R. 2003. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti*. Alih Bahasa Departemen Kimia ITB. *General Chemistry: The Essential Concept Third Edition*. 2005. Jakarta: Erlangga.
- Cross, H.R. and Overby, A. J. 1990. *Milk Science and Technology*. 25:265–267.



- Dan, W., P. A. N. Juzhong, C. Jianchu, Y. E. Xingqian, dan L. I. U. Donghong. 2014. Dynamics Research Of Time-Temperature Indicating System Based On Alkaline Lipase. 469:422–427.
- Diastari, I. G. A. F. dan K. K. Agustina. 2013. Uji Organoleptik dan Tingkat Keasaman Susu Sapi Kemasan Yang Dijual Di Pasar Tradisional Kota Denpasar. 2(4):453–460.
- Eggins, B. R. 1996. *Biosensors : An Introduction*. New York: University of Ulster at lordanstown Gjwley.
- Feliciano, L. 2007. Color Changing Plastics For Food Packaging. *Ohio State University, Columbus, Ohio*. 1–13.
- Ferreira, T. dan W. Rasband. 2012. *ImageJ User Guide*. Edisi IJ 1.46r.
- Fisher, L. dan L. Medeiros. 2010. Refrigerator storage. *The Ohio State University*. 1–6
- Gustiani, E. 2009. Pengendalian Cemaran Mikroba Pada Bahan Pangan Asal Ternak (Daging dan Susu) Mulai Dari Peternakan Sampai Dihidangkan. *Jurnal Litbang Pertanian*. 28(80):96–100.
- Haarer, D., T. Gueta-neyround, dan H. Salman. 2011. Time Temperature Indicator. *European Patent Specification*. 1(19):1–10.
- 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.
- Hsieh, M. dan T. Whang. 2017. Mechanistic Investigation On The Electropolymerization Of Phenol Red By Cyclic Voltammetry And The Catalytic Reactions Toward Acetaminophen and Dopamine Using Poly(Phenol Red)-Modified Gce. *Journal of Electroanalytical Chemistry*

- Javaid, S. B., J. A. Gadahi, M. Khaskeli, M. B. Bhutto, dan H. Kumbher, S. and Panhwar. 2009. Physical and Chemical Quality Of Market Milk Sold At Tandojam, Pakistan. *Faculty of Animal Husbandry and Veterinary Sciences, Sindh Agriculture University, Tandojam, Pakistan*. 29(1):27–31.
- Kapitania, B. W. 2010. Perlindungan Hukum Bagi Konsumen Atas Produk Makanan Dalam Kemasan Di Pasar Kota Sukoharjo. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Kurniawan, A. P. 2012. Pengembangan Tutup Botol Pintar “Smart Cap” untuk Sirup Kering Amoksisilin. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Kuswandi, B. 2010. *Biosensor: Konsep, Desain dan Eksperimentasi*. Jember University Press.
- Kerry, J. P., M. N. O. Grady, dan S. A. Hogan. 2006. Past , Current And Potential Utilisation Of Active And Intelligent Packaging Systems For Meat And Muscle-Based Products : a review. 74:113–130.
- Kim, W., E. Park, dan K. W. Hong. 2012. Development Of A Time-Temperature Integrator System Using Burkholderia Cepacia Lipase. *Food Science and Biotechnology*. 21(2):497–502.
- Koutsoumanis, K. P. dan M. Gougouli. 2015. Use Of Time Temperature Integrators In Food Safety Management. *Trends in Food Science & Technology*. 43(2):236–244.
- Kress-Rogers, E. dan C. J. B. Brimelow. 2001. *Instrumentation and Sensors for the Food Industry. Measurement Techniques*.
- Kulkarni, N. 2002. Studies on Lipase Enzyme from Pseudomonas Fluorescens NS2W. *Thesis*. India: University Of Pune

Kurnia, D. R. D. 2010. Studi Aktivitas Enzim Lipase Dari *Aspergillus Niger* Sebagai Biokatalis Pada Proses Gliserolisis Untuk Menghasilkan Monoasilgliserol. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.

Legowo, M. A. 2002. *Sifat Kimiawi, Fisik Dan Mikrobiologis Susu*. Semarang.

Maitimu, C. V., A. M. Legowo, dan A. N. Al-Baarri. 2012. Karakteristik Mikrobiologis, Kimia, Fisik dan Organoleptik Susu Pasteurisasi Dengan Penambahan Ekstrak Daun Aileru (*Wrightia Calycina*) Selama Penyimpanan. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*

Mayordomo, I., F. Randez-Gil and J. Prieto. 2000. Isolation, purification, and characterization of a cold-active lipase from *Aspergillus nidulans*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*

Mittal, A., D. Kaur, A. Malviya, J. Mittal, dan V. K. Gupta. 2009. Adsorption Studies On The Removal Of Coloring Agent Phenol Red From Wastewater Using Waste Materials As Adsorbents. *Journal of Colloid And Interface Science*. 337(2):345–354.

Nababan, Lely Anggriani, Suada, I Ketut, Swacita, I. B. N. 2014. Ketahanan Susu Segar Pada Penyimpanan Suhu Ruang Ditinjau dari Uji Tingkat Keasaman, Didih, dan Waktu Reduktase. *Indonesia Medicus Veterinus*. 3(4):274–282.

Nuryanti, S. dan Ratman. 2016. Indikator Asam-Basa Dari Bunga Dadap Merah ( *Erythrina Acid-Base Indicators Of Dadap Red Flowers ( Erythrina Crista-Galli* 1 ). 5(1):29–36.

Pavelkova, A. 2012. Time Temperature Indicators As Devices Intelligent Packaging. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. 61(1):245–251.

Prusik, T., Roosevelt, R. M. Arnold, dan Harrisonville. 1989. Multifunctional time-temperature indicator. *Unitrd State Patent*

Reinking, L. 2007. *ImageJ Basics*. Departement of Biology, Millersville University.

- Sabnis, R. W. 2008. *Handbook of Acid-Base Indicators*. San Francisco, U.S.A.: Squire, Sanders & Dempsey LLP.
- Saleh, E. 2004. *Dasar Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak*. Medan: USU Digital Library.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2011. *Susu Segar-Bagian I: Sapi*. No. 01/3141. Badan Standarisasi Indonesia.
- Suwito, W. 2010. Bakteri Yang Sering Mencemari Susu: Deteksi, Patogenesis, Epidemiologi, dan Cara Pengendaliannya. 29(28)
- Thomson, C. A., P. J. Delaquis, G. Mazza, C. A. Thomson, P. J. Delaquis, dan G. Mazza. 2006. Detection and Measurement Of Microbial Lipase Activity : A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. (August 2012):37–41.
- Usmiati, S. dan Abubakar. 2009. *Teknologi Pengolahan Susu* . Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian.
- Utama, M. 2011. Analisis Pendapatan Usaha Pengolahan Fillet Ikan. *Skripsi*. Jakarta:Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Vaikousi, H., C. G. Biliaderis, dan K. P. Koutsoumanis. 2008. Development Of A Microbial Time/Temperature Indicator Prototype For Monitoring The Microbiological Quality Of Chilled Foods. *Applied and Environmental Microbiology*. 74(10):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). Universitas Sumatera Utara Medan.
- Wahyudi, M. 2006. Proses Pembuatan dan Analisis Mutu Yoghurt. *Buletin Teknik Pertanian*. 11(12):12–16.

- Wardana, A. S. 2012. Teknologi Pengolahan Susu. Surakarta: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Slamet Riyadi
- Wu, D., S. Hou, J. Chen, Y. Sun, X. Ye, D. Liu, R. Meng, dan Y. Wang. 2014. Lwt - Food Science And Technology Development and Characterization Of An Enzymatic Time-Temperature Indicator ( TTI ) Based On Aspergillus Niger Lipase. *LWT - Food Science and Technology*. 1–5.
- Wulan, P. P. D. K., M. T. Rejoso, dan H. Hermansyah. 2007. Reaksi Hidrolisis Minyak Zaitun Menggunakan Lipase Rhizopus Oryzae Yang Di Imobilisasi Melalui Metode Adsorpsi
- Yoon, S. H., C. H. Lee, D. Y. Kim, J. W. Kim, dan K. H. Park. 1994. Time-Temperature Indicator Using Phospholipid-Phospholipase System and Application To Storage Of Frozen Pork. *Journal of Food Science*. 59(3):490–493.

**Lampiran A. Data Hasil Pengamatan pH Susu**

	Jam ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	RSD
		Rep I	Rep II	Rep III			
Ruang	0	6,87	6,82	6,86	6,85	0,03	0,39%
	1	6,81	6,78	6,80	6,80	0,02	0,22%
	2	6,76	6,73	6,75	6,75	0,02	0,23%
	3	6,67	6,61	6,69	6,66	0,04	0,63%
	4	6,46	6,40	6,53	6,46	0,07	1,01%
	5	6,3	6,27	6,28	6,28	0,02	0,24%
	6	6,24	6,18	6,28	6,23	0,05	0,81%
	7	6,11	5,97	6,13	6,07	0,09	1,44%
	8	5,89	5,85	5,95	5,90	0,05	0,85%
	Hari ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	RSD
		Rep I	Rep II	Rep III			
<i>Chiller</i>	0	6,85	6,83	6,82	6,83	0,02	0,22%
	1	6,72	6,78	6,61	6,70	0,09	1,29%
	2	6,20	6,54	6,39	6,38	0,17	2,67%
	3	6,08	6,12	6,15	6,12	0,04	0,57%
	4	5,50	5,56	5,68	5,58	0,09	1,64%
	5	5,24	5,15	5,30	5,23	0,08	1,44%
	6	4,98	4,82	4,85	4,88	0,09	1,74%
	7	4,68	4,75	4,78	4,74	0,05	1,08%
	8	4,55	4,58	4,59	4,57	0,02	0,46%
	Hari ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	RSD
		Rep I	Rep II	Rep III			
<i>Freezer</i>	0	6,83	6,8	6,82	6,82	0,02	0,22%
	1	6,76	6,71	6,77	6,75	0,03	0,48%
	2	6,64	6,66	6,69	6,66	0,03	0,38%
	3	6,57	6,5	6,49	6,52	0,04	0,67%
	4	6,43	6,39	6,40	6,41	0,02	0,32%
	5	6,25	6,18	6,28	6,24	0,05	0,82%
	6	6,08	5,94	6,12	6,05	0,09	1,56%
	7	5,82	5,89	5,95	5,89	0,07	1,11%
	8	5,56	5,74	5,84	5,71	0,14	2,48%

**Lampiran B. Data Hasil Pengamatan Organoleptis Susu**

## Lampiran B.1 Data hasil pengukuran organoleptis susu pada suhu ruang

	Jam ke-	Panelis										Rata-rata	SD
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j		
Bau	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1,1	0,316
	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	1	1,8	0,422
	3	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2,1	0,316
	4	3	3	2	3	3	3	2	3	3	2	2,7	0,483
	5	4	4	2	4	4	4	3	3	3	3	3,4	0,699
	6	4	4	3	4	4	4	3	4	3	4	3,7	0,483
	7	5	4	4	5	4	5	4	5	4	5	4,5	0,527
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000
Warna	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1,1	0,316
	2	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1,3	0,483
	3	2	2	2	3	2	1	2	2	2	2	2,0	0,471
	4	2	3	3	3	3	3	2	3	2	3	2,7	0,483
	5	3	4	4	4	4	4	4	3	3	4	3,7	0,483
	6	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3,9	0,316
	7	5	4	4	5	4	4	4	5	4	5	4,4	0,516
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4,9	0,316
Rasa	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
	2	2	2	1	2	2	2	3	2	1	1	1,8	0,632
	3	2	2	2	2	2	2	3	1	2	2	2,0	0,471
	4	3	3	3	3	2	3	4	3	2	3	2,9	0,568
	5	4	4	3	4	4	4	4	3	4	4	3,8	0,422
	6	4	4	4	4	4	5	4	4	5	4	4,2	0,422
	7	5	5	4	5	4	5	5	4	5	5	4,7	0,483
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000

Keterangan :

1,0 – 2,0 : Susu Segar

2,1 – 3,0 : Susu Masih Segar

3,1 – 5,0 : Susu Tidak Segar

Lampiran B.2 Data hasil pengukuran organoleptis susu pada suhu *chiller*

	Hari ke-	Panelis										Rata-rata	SD
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j		
Bau	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
	1	1	2	2	1	2	1	2	1	1	2	1,5	0,527
	2	2	2	1	3	3	3	3	2	2	2	2,3	0,675
	3	3	3	3	4	3	3	4	3	4	4	3,4	0,516
	4	3	4	4	4	4	4	4	3	4	3	3,7	0,483
	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4,0	0,000
	6	4	4	4	5	4	5	5	5	3	5	4,4	0,699
	7	5	5	4	5	5	5	5	5	4	5	4,8	0,422
	8	5	5	4	5	5	5	5	5	5	5	4,9	0,316
Warna	0	1	1	2	2	1	1	1	1	1	2	1,3	0,483
	1	1	1	2	2	2	1	2	1	1	2	1,5	0,527
	2	2	2	3	3	4	2	3	3	1	3	2,6	0,843
	3	2	3	3	4	4	3	3	3	2	4	3,1	0,738
	4	3	3	4	3	4	3	3	2	3	4	3,2	0,632
	5	4	4	4	4	5	3	4	3	4	4	3,9	0,568
	6	4	4	4	4	5	4	4	2	4	5	4,0	0,816
	7	4	4	5	4	5	4	4	3	4	4	4,1	0,568
	8	4	5	5	4	5	4	5	3	5	5	4,5	0,707
Rasa	0	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1,2	0,422
	1	1	2	2	2	2	3	2	2	1	2	1,9	0,568
	2	2	3	3	2	3	3	3	3	3	3	2,8	0,422
	3	2	3	3	4	3	4	4	4	3	4	3,4	0,699
	4	3	4	4	3	4	4	4	3	4	4	3,7	0,483
	5	3	5	3	5	4	4	5	4	5	3	4,1	0,876
	6	5	5	4	5	4	5	5	5	4	4	4,6	0,516
	7	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000

Keterangan :

1,0 – 2,0 : Susu Segar

2,1 – 3,0 : Susu Masih Segar

3,1 – 5,0 : Susu Tidak Segar



Lampiran B.3 Data hasil pengukuran organoleptis susu pada suhu *freezer*

	Hari ke-	Panelis										Rata-rata	SD
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j		
Bau	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1,1	0,316
	1	1	1	1	1	2	1	2	1	2	1	1,3	0,483
	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1,8	0,422
	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,0	0,000
	4	3	3	2	2	2	4	2	2	2	3	2,5	0,707
	5	4	4	3	3	3	4	3	3	3	4	3,4	0,516
	6	4	4	4	3	4	3	4	4	3	4	3,7	0,483
	7	5	4	4	4	5	4	4	5	3	4	4,2	0,632
	8	5	4	5	5	5	4	5	5	4	5	4,7	0,483
Warna	0	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1,1	0,316
	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	1	1,2	0,422
	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	1	1,6	0,516
	3	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	2,2	0,422
	4	3	2	3	2	2	3	3	2	4	2	2,6	0,699
	5	3	3	3	3	3	3	4	3	4	3	3,2	0,422
	6	4	3	4	3	3	2	4	4	4	4	3,5	0,707
	7	4	3	4	4	4	4	5	5	4	5	4,2	0,632
	8	5	3	5	4	4	4	5	5	4	5	4,4	0,699
Rasa	0	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1,1	0,316
	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	2	1,3	0,483
	2	1	1	2	2	2	2	2	3	1	2	1,8	0,632
	3	2	2	2	2	2	2	2	4	2	2	2,2	0,632
	4	3	3	2	3	3	2	3	4	3	3	2,9	0,568
	5	4	3	3	3	4	4	3	4	4	4	3,6	0,516
	6	4	4	4	4	4	4	4	5	4	4	4,1	0,316
	7	5	4	4	4	4	5	4	5	5	5	4,5	0,527
	8	5	4	5	5	5	4	5	5	5	5	4,8	0,422

Keterangan :

1,0 – 2,0 : Susu Segar

2,1 – 3,0 : Susu Masih Segar

3,1 – 5,0 : Susu Tidak Segar

**Lampiran C. Data Hasil Pengamatan Total Mikroba Susu**

	Jam ke-	Total Mikroba (log CFU/ml)			Rata-rata	SD	RSD
		Rep 1	Rep 2	Rep 3			
Ruang	0	3,053	3,025	2,991	3,023	0,031	1,027%
	2	4,204	4,170	4,097	4,157	0,054	1,315%
	4	6,257	6,152	6,017	6,142	0,120	1,959%
	6	9,136	9,072	8,897	9,035	0,123	1,369%
	8	13,344	13,262	13,214	13,273	0,065	0,495%
	Hari ke-	Total Mikroba (log CFU/ml)			Rata-rata	SD	RSD
		Rep 1	Rep 2	Rep 3			
<i>Chiller</i>	0	3,053	3,025	2,991	3,023	0,031	1,027%
	2	6,350	6,315	6,255	6,307	0,048	0,762%
	4	9,185	9,103	8,944	9,077	0,122	1,350%
	6	11,472	11,372	11,294	11,379	0,089	0,784%
	8	14,467	14,324	14,272	14,354	0,101	0,703%
	Hari ke-	Total Mikroba (log CFU/ml)			Rata-rata	SD	RSD
		Rep 1	Rep 2	Rep 3			
<i>Freezer</i>	0	3,053	3,025	2,991	3,023	0,031	1,027%
	2	4,429	4,394	4,257	4,360	0,090	2,085%
	4	6,457	6,332	6,243	6,344	0,107	1,695%
	6	8,387	8,201	8,104	8,231	0,143	1,747%
	8	13,45	13,373	13,296	13,373	0,077	0,576%

Lampiran C.1 Data hasil pengamatan total mikroba susu pada suhu ruang

Jam ke-	Pengenceran												
	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	113	67											
	106	51											
	98	42											
2		160	88	21									
		148	63	19									
		125	52	10									
4			TBUD	181	92	22							
			TBUD	142	78	17							
			TBUD	104	56	9							
6						TBUD	137	93	29				
						TBUD	118	81	24				
						TBUD	79	46	16				
8										TBUD	221	173	
										TBUD	183	139	
										TBUD	164	98	

**Jam ke-0**

$\Sigma$ Koloni per pengenceran		Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-1}$	$10^{-2}$		
113	67	$0,00113 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
106	51	$0,00106 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
98	42	$0,00098 \times 10^6$	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  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 113 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00113 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 67 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0067 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{0,0067 \times 10^6}{0,00113 \times 10^6} = 5,929 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00113 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,053$$

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

$$= 106 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00106 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 51 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0051 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{0,0051 \times 10^6}{0,00106 \times 10^6} = 4,811 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00106 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 3,025$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 98 \times \frac{1}{10^{-1}} = 0,00098 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 42 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0042 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{0,0042 \times 10^6}{0,00098 \times 10^6} = 4,285 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,00098 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\begin{aligned}
 \Rightarrow \text{Log CFU/ml} &= 2,991 \\
 \Rightarrow \frac{(0,00113 \times 10^6) + (0,00106 \times 10^6) + (0,00098 \times 10^6)}{3} &= 0,00105 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 \Rightarrow \text{Log CFU/ml} &= 3,023
 \end{aligned}$$

### Jam ke-2

$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$		
160	88	21	$0,016 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
148	63	19	$0,0148 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
125	52	10	$0,0125 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2

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

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Pengenceran 2} &= \text{pengenceran awal} \times \text{pengenceran selanjutnya} \times \text{jumlah yang dibutuhkan} \\
 &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml} \\
 &= 10^{-3}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 1} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 160 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,016 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 88 \times \frac{1}{10^{-3}} = 0,088 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{0,088 \times 10^6}{0,016 \times 10^6} = 5,500 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,016 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 4,204$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 2} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 148 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0148 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 63 \times \frac{1}{10^{-3}} = 0,063 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{0,063 \times 10^6}{0,0148 \times 10^6} = 4,256 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,0148 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 4,170$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 125 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0125 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 52 \times \frac{1}{10^{-3}} = 0,052 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{0,052 \times 10^6}{0,0125 \times 10^6} = 4,160 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,0125 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 4,097$$

$$\Rightarrow \frac{(0,016 \times 10^6) + (0,0148 \times 10^6) + (0,0125 \times 10^6)}{3} = 0,014 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 4,142$$

#### Jam ke-4

$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$		
181	92	22	$1,810 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
142	78	17	$1,420 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
104	56	9	$1,040 \times 10^6$	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  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 181 \times \frac{1}{10^{-4}} = 1,810 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 92 \times \frac{1}{10^{-5}} = 9,20 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{9,20 \times 10^6}{1,810 \times 10^6} = 5,082 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $1,810 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,257$$

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

$$= 142 \times \frac{1}{10^{-4}} = 1,420 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 78 \times \frac{1}{10^{-5}} = 7,80 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{7,80 \times 10^6}{1,420 \times 10^6} = 5,492 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $1,420 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,152$$

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

$$= 104 \times \frac{1}{10^{-4}} = 1,04 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 56 \times \frac{1}{10^{-5}} = 5,60 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{5,60 \times 10^6}{1,04 \times 10^6} = 5,384 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $1,04 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,017$$

$$\Rightarrow \frac{(1,810 \times 10^6) + (1,420 \times 10^6) + (1,04 \times 10^6)}{3} = 1,423 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,142$$

**Jam ke-6**

Σ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>		
137	93	29	1370 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2
118	81	24	1180 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2
79	46	16	790 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2

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

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

$$= 10^{-7}$$

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

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

$$= 10^{-8}$$

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

$$= 137 \times \frac{1}{10^{-7}} = 1370 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 93 \times \frac{1}{10^{-8}} = 9300 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{9300 \times 10^6}{1370 \times 10^6} = 6,788 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni 1370 x 10<sup>6</sup> CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 9,136$$

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

$$= 118 \times \frac{1}{10^{-7}} = 1180 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 81 \times \frac{1}{10^{-8}} = 8100 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{8100 \times 10^6}{1180 \times 10^6} = 6,864 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni 1180 x 10<sup>6</sup> CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,897$$





$$= 173 \times \frac{1}{10^{-12}} = 1730 \times 10^{11} \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1730 \times 10^{11}}{221 \times 10^{11}} = 7,828 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $221 \times 10^{11}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 13,344$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 2} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 183 \times \frac{1}{10^{-11}} = 183 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\ &= 139 \times \frac{1}{10^{-12}} = 1390 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{1390 \times 10^{11}}{183 \times 10^{11}} = 7,595 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $183 \times 10^{11}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 13,262$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 164 \times \frac{1}{10^{-11}} = 164 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\ &= 98 \times \frac{1}{10^{-12}} = 980 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{980 \times 10^{11}}{164 \times 10^{11}} = 5,976 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $164 \times 10^{11}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 13,214$$

$$\Rightarrow \frac{(221 \times 10^{12}) + (183 \times 10^{11}) + (164 \times 10^{11})}{3} = 189,3 \times 10^{11} \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 4,354$$

Lampiran C.2 Data hasil pengamatan total mikroba susu pada suhu *chiller*

Jam ke-	Pengenceran												
	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>
2			TBUD	224	138	28							
			TBUD	207	102	16							
			TBUD	172	84	7							
4						TBUD	153	83	18				
						TBUD	127	67	10				
						TBUD	88	43	5				
6								TBUD	287	170	24		
								TBUD	236	115	12		
								TBUD	197	86	9		
8										TBUD	369	293	153
										TBUD	348	211	129
										TBUD	315	187	96

**Hari ke-2**

Σ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>		
224	138	28	2,24 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2
207	102	16	2,07 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2
172	84	7	1,72 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2

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

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

$$= 10^{-4}$$

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  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 224 \times \frac{1}{10^{-4}} = 2,24 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 138 \times \frac{1}{10^{-5}} = 13,8 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{13,8 \times 10^6}{2,24 \times 10^6} = 6,160 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni 2,24 x 10<sup>6</sup> CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,350$$

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

$$= 207 \times \frac{1}{10^{-4}} = 2,07 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 102 \times \frac{1}{10^{-5}} = 10,2 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{10,2 \times 10^6}{2,07 \times 10^6} = 4,927 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni 2,07 x 10<sup>6</sup> CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,315$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 172 \times \frac{1}{10^{-4}} = 1,72 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 84 \times \frac{1}{10^{-5}} = 8,4 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{8,4 \times 10^6}{1,72 \times 10^6} = 4,827 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $1,72 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,255$$

$$\Rightarrow \frac{(2,24 \times 10^6) + (2,07 \times 10^6) + (1,72 \times 10^6)}{3} = 02.01 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,307$$

#### Hari ke-4

$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$		
153	83	18	$1530 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
127	67	10	$1270 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
88	43	5	$880 \times 10^6$	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

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

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

$$= 153 \times \frac{1}{10^{-7}} = 1530 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 83 \times \frac{1}{10^{-8}} = 8300 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{8300 \times 10^6}{1530 \times 10^6} = 5,424 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $1530 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 9,185$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 2} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 127 \times \frac{1}{10^{-7}} = 1270 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 67 \times \frac{1}{10^{-8}} = 6700 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{6700 \times 10^6}{1270 \times 10^6} = 5,275 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $1270 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 9,103$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 88 \times \frac{1}{10^{-7}} = 880 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 43 \times \frac{1}{10^{-8}} = 4300 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{4300 \times 10^6}{880 \times 10^6} = 4,886 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $880 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,944$$

$$\Rightarrow \frac{(1530 \times 10^6) + (1270 \times 10^6) + (880 \times 10^6)}{3} = 1226,6 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 9,077$$

### Hari ke-6

Σ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-11}$		
287	170	24	$287 \times 10^9$	Hitung rata-rata >2
236	115	12	$136 \times 10^9$	Hitung rata-rata >2
197	86	9	$197 \times 10^9$	Hitung rata-rata >2

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

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

$$= 10^{-9}$$

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

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

$$= 10^{-10}$$

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

$$= 287 \times \frac{1}{10^{-9}} = 287 \times 10^9 \text{ CFU/ml}$$

$$= 170 \times \frac{1}{10^{-12}} = 1700 \times 10^9 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1700 \times 10^9}{287 \times 10^9} = 5,923 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $287 \times 10^9$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 11,472$$

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

$$= 236 \times \frac{1}{10^{-9}} = 236 \times 10^9 \text{ CFU/ml}$$

$$= 115 \times \frac{1}{10^{-10}} = 1150 \times 10^9 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1150 \times 10^9}{236 \times 10^9} = 4,872 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $236 \times 10^9$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 11,372$$

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

$$= 197 \times \frac{1}{10^{-9}} = 197 \times 10^9 \text{ CFU/ml}$$

$$= 86 \times \frac{1}{10^{-10}} = 860 \times 10^9 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{860 \times 10^9}{197 \times 10^9} = 4,365 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $197 \times 10^9$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 11,294$$





$$= 129 \times \frac{1}{10^{-13}} = 1290 \times 10^{12} \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1290 \times 10^{12}}{211 \times 10^{12}} = 6,133 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $211 \times 10^{12}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 14,324$$

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

$$= 187 \times \frac{1}{10^{-12}} = 187 \times 10^{12} \text{ CFU/ml}$$

$$= 96 \times \frac{1}{10^{-13}} = 960 \times 10^{12} \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{960 \times 10^{12}}{187 \times 10^{12}} = 5,134 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $187 \times 10^{12}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 14,272$$

$$\Rightarrow \frac{(293 \times 10^{12}) + (211 \times 10^{12}) + (187 \times 10^{12})}{3} = 230,3 \times 10^{12} \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 11,379$$

Lampiran C.3 Data hasil pengamatan total mikroba susu pada suhu *freezer*

Jam ke-	Pengenceran												
	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>
2		269	128	23									
		248	106	18									
		181	74	11									
4			TBUD	287	152	27							
			TBUD	215	88	22							
			TBUD	175	56	14							
6					TBUD	244	174	28					
					TBUD	159	105	16					
					TBUD	127	84	10					
8									TBUD	TBUD	282	193	27
									TBUD	TBUD	236	159	15
									TBUD	TBUD	198	117	8

**Hari ke-2**

Σ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>		
269	128	23	0,0269 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2
248	106	18	0,0248 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2
181	74	11	0,0181 x 10 <sup>6</sup>	Hitung rata-rata >2

Faktor Pengenceran 1 = pengenceran awal x jumlah yang dibutuhkan

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

$$= 10^{-2}$$

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

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

$$= 10^{-3}$$

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

$$= 269 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0269 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 128 \times \frac{1}{10^{-3}} = 0,128 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{0,128 \times 10^6}{0,0269 \times 10^6} = 4,758 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni 0,0269 x 10<sup>6</sup> CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 4,429$$

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

$$= 248 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0248 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 106 \times \frac{1}{10^{-3}} = 0,106 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{0,106 \times 10^6}{0,0248 \times 10^6} = 4,274 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni 0,0248 x 10<sup>6</sup> CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 4,394$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 181 \times \frac{1}{10^{-2}} = 0,0181 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 74 \times \frac{1}{10^{-3}} = 0,074 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{0,074 \times 10^6}{0,0181 \times 10^6} = 4,088 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $0,0181 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\begin{aligned}
 \Rightarrow \text{Log CFU/ml} &= 4,257 \\
 \Rightarrow \frac{(0,0269 \times 10^6) + (0,0248 \times 10^6) + (0,0181 \times 10^6)}{3} &= 0,023 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 \Rightarrow \text{Log CFU/ml} &= 4,360
 \end{aligned}$$

#### Hari ke-4

$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$		
287	152	27	$2,87 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
215	88	22	$2,15 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
175	56	14	$1,75 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Pengenceran 1} &= \text{pengenceran awal} \times \text{pengenceran selanjutnya} \times \text{jumlah yang dibutuhkan} \\
 &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml} \\
 &= 10^{-4}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Pengenceran 2} &= \text{pengenceran awal} \times \text{pengenceran selanjutnya} \times \text{jumlah yang dibutuhkan} \\
 &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times 1,0 \text{ ml} \\
 &= 10^{-5}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Koloni per ml 1} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\
 &= 287 \times \frac{1}{10^{-4}} = 2,87 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= 152 \times \frac{1}{10^{-5}} = 15,2 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{15,2 \times 10^6}{2,87 \times 10^6} = 5,296 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $2,87 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,457$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 2} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 215 \times \frac{1}{10^{-4}} = 2,15 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 102 \times \frac{1}{10^{-5}} = 8,80 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{8,80 \times 10^6}{2,15 \times 10^6} = 4,093 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $2,15 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,332$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 175 \times \frac{1}{10^{-4}} = 1,75 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= 56 \times \frac{1}{10^{-5}} = 5,6 \times 10^6 \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{5,6 \times 10^6}{1,75 \times 10^6} = 3,200 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $1,75 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 6,243$$

$$\Rightarrow \frac{(2,87 \times 10^6) + (2,15 \times 10^6) + (1,75 \times 10^6)}{3} = 2,256 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

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

### Hari ke-6

$\Sigma$ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$		
244	174	28	$244 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
159	105	16	$159 \times 10^6$	Hitung rata-rata >2
127	84	10	$127 \times 10^6$	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  $\frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

$$= 244 \times \frac{1}{10^{-6}} = 244 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 174 \times \frac{1}{10^{-7}} = 1740 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1740 \times 10^6}{244 \times 10^6} = 7,131 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $244 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,387$$

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

$$= 159 \times \frac{1}{10^{-6}} = 159 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 105 \times \frac{1}{10^{-7}} = 1050 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{1050 \times 10^6}{159 \times 10^6} = 6,604 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $159 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,201$$

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

$$= 127 \times \frac{1}{10^{-6}} = 127 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= 84 \times \frac{1}{10^{-7}} = 840 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$= \frac{840 \times 10^6}{127 \times 10^6} = 6,614 (> 2)$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $127 \times 10^6$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,104$$

$$\Rightarrow \frac{(244 \times 10^6) + (159 \times 10^6) + (127 \times 10^6)}{3} = 176,667 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 8,231$$

**Hari ke-8**

Σ Koloni per pengenceran			Standart Plate Count	Keterangan
10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>		
282	193	27	282 x 10 <sup>11</sup>	Hitung rata-rata >2
236	159	15	236 x 10 <sup>11</sup>	Hitung rata-rata >2
198	117	8	198 x 10 <sup>11</sup>	Hitung rata-rata >2

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

$$\begin{aligned}
 &= \frac{10}{100} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \times \frac{1}{10} \\
 &\times 1,0 \text{ ml} \\
 &= 10^{-11}
 \end{aligned}$$

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

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

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

$$\begin{aligned}
 &= 282 \times \frac{1}{10^{-11}} = 282 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\
 &= 193 \times \frac{1}{10^{-12}} = 1930 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{1930 \times 10^{11}}{282 \times 10^{11}} = 6,844 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni 282 x 10<sup>11</sup> CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 13,450$$

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

$$\begin{aligned}
 &= 236 \times \frac{1}{10^{-11}} = 236 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\
 &= 159 \times \frac{1}{10^{-12}} = 1590 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\
 &= \frac{1590 \times 10^{11}}{236 \times 10^{11}} = 6,737 (> 2)
 \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $236 \times 10^{12}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 13,373$$

$$\begin{aligned} \text{Koloni per ml 3} &= \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \\ &= 189 \times \frac{1}{10^{-11}} = 189 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\ &= 117 \times \frac{1}{10^{-12}} = 1170 \times 10^{11} \text{ CFU/ml} \\ &= \frac{1170 \times 10^{11}}{189 \times 10^{11}} = 5,909 (> 2) \end{aligned}$$

Sehingga yang dilaporkan adalah yang terkecil, yakni  $189 \times 10^{11}$  CFU/ ml.

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 13,296$$

$$\Rightarrow \frac{(282 \times 10^{11}) + (236 \times 10^{11}) + (189 \times 10^{11})}{3} = 235,667 \times 10^{11} \text{ CFU/ml}$$

$$\Rightarrow \text{Log CFU/ml} = 13,373$$












**Lampiran D. Hasil Pengukuran Perubahan Warna Membran Indikator Dan Konsentrasi Enzim Pada Suhu Ruang**

Substrat	Enzim	Jam	Rata-rata	SD	RSD	jam vs <i>mean Red</i>
			<i>Mean Red</i>			
5%	1000 ppm (0,2 Unit)	0	206,477	2,567	1,215%	$y = 2,329x + 215,12$ $R^2 = 0,7261$
		1	222,146	1,624	0,734%	
		2	222,683	1,154	0,519%	
		3	227,752	2,147	0,963%	
		4	228,730	1,305	0,583%	
		5	228,820	1,471	0,651%	
		6	229,841	0,376	0,164%	
		7	230,139	1,113	0,483%	
		8	235,321	1,518	0,980%	
	100 ppm (0,02 Unit)	0	203,387	1,621	0,797%	$y = 3,3419x + 207,01$ $R^2 = 0,9251$
		1	209,156	1,173	0,561%	
		2	214,137	1,854	0,866%	
		3	219,874	0,870	0,396%	
		4	223,666	1,237	0,553%	
		5	226,086	0,610	0,270%	
		6	227,982	0,713	0,313%	
		7	228,681	1,031	0,451%	
		8	230,395	0,560	0,243%	
	10 ppm (0,002 Unit)	0	194,298	0,926	0,476%	$y = 2,7402x + 196,37$ $R^2 = 0,9116$
		1	197,986	2,157	1,089%	
		2	205,493	1,168	0,586%	
		3	207,485	1,084	0,535%	
		4	207,209	1,038	0,503%	
		5	208,477	1,394	0,668%	
6		210,299	0,762	0,362%		
7		214,113	9,241	4,218%		
8		220,654	1,926	0,839%		










1000 ppm (0,2 Unit)	0	199,438	2,756	1,384%	$y = 3,1443x + 212,68$ $R^2 = 0,6711$
	1	220,688	0,957	0,434%	
	2	225,244	0,377	0,169%	
	3	225,901	1,095	0,485%	
	4	228,001	1,021	0,448%	
	5	230,122	0,598	0,260%	
	6	231,958	0,802	0,346%	
	7	233,172	0,865	0,371%	
	8	232,827	0,903	0,385%	
100 ppm (0,02 Unit)	0	202,635	2,517	1,242%	$y = 3,2779x + 209,64$ $R^2 = 0,8767$
	1	215,673	1,804	0,837%	
	2	217,367	1,871	0,861%	
	3	224,119	5,605	2,558%	
	4	225,059	0,704	0,313%	
	5	225,831	2,010	0,882%	
	6	228,791	0,994	0,435%	
	7	231,490	1,087	0,470%	
	8	233,801	0,892	0,382%	
10 ppm (0,002 Unit)	0	194,298	0,926	0,476%	$y = 3,018x + 193,93$ $R^2 = 0,9124$
	1	197,986	2,157	1,089%	
	2	195,493	1,168	0,586%	
	3	207,485	1,084	0,535%	
	4	206,209	1,038	0,503%	
	5	208,477	1,394	0,668%	
	6	210,299	0,762	0,362%	
	7	213,447	0,650	0,304%	
	8	220,321	3,431	1,483%	

### Lampiran E. Data Hasil Pengamatan Perubahan Warna TTI Berdasarkan *ImageJ*










Lampiran E.1 Perubahan warna TTI pada suhu ruang

Jam	Perubahan Warna	Replikasi			Rata-rata <i>Mean Red</i>	SD	%RSD
		1	2	3			
0		204,798	201,616	203,746	203,387	1,621	0,797%
1		210,136	209,475	207,856	209,156	1,173	0,561%
2		215,492	212,024	214,895	214,137	1,854	0,866%
3		219,677	219,12	220,826	219,874	0,870	0,396%
4		222,457	223,611	224,929	223,666	1,237	0,553%
5		225,681	225,789	226,787	226,086	0,610	0,270%
6		228,277	228,501	228,169	228,316	0,169	0,074%
7		231,588	228,56	229,895	230,014	1,518	0,660%
8		231,496	230,792	231,898	231,395	0,560	0,242%





Lampiran E.2 Perubahan warna TTI pada suhu *chiller*

hari ke-	Perubahan Warna	Replikasi			Rata-rata <i>Mean Red</i>	SD	%RSD
		1	2	3			
0		204,611	203,948	207,294	205,284	1,772	0,863%
1		207,294	210,380	208,880	208,851	1,543	0,739%
2		221,562	215,843	218,289	218,565	2,869	1,313%
3		223,822	224,997	221,839	223,553	1,596	0,714%
4		225,201	225,079	222,635	224,305	1,448	0,645%
5		228,006	225,443	229,226	227,558	1,931	0,848%
6		229,936	231,831	230,229	230,665	1,020	0,442%
7		235,927	232,006	235,929	234,621	2,264	0,965%
8		237,893	235,971	238,062	237,309	1,162	0,489%

Lampiran E.3 Perubahan warna TTI pada suhu *freezer*

hari ke-	Perubahan Warna	Replikasi			Rata-rata <i>Mean Red</i>	SD	%RSD
		1	2	3			
0		204,874	202,089	203,099	203,354	1,410	0,693%
1		209,283	209,878	210,598	209,920	0,658	0,314%
2		215,236	212,845	214,851	212,977	0,224	0,104%
3		220,498	220,36	218,476	219,778	1,130	0,514%
4		222,810	222,867	223,674	223,117	0,483	0,217%
5		226,351	224,743	226,896	225,663	1,213	0,542%
6		228,966	225,152	227,501	227,540	1,231	0,543%
7		230,584	227,048	228,565	229,732	0,769	0,338%
8		232,663	229,205	230,509	231,126	0,801	0,348%

## Lampiran F. Stabilitas TTI

Hari ke-	Perubahan Warna TTI	Replikasi			<i>Mean Red</i>	SD	RSD	%Penurunan
		1	2	3				
0		198,866	200,064	198,526	199,152	0,808	0,406%	0%
2		204,379	207,219	207,506	206,368	1,728	0,838%	4%
4		221,032	219,683	222,747	221,154	1,536	0,694%	11%
6		232,598	230,43	233,842	232,290	1,727	0,743%	17%

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

$$\text{Hari ke-2} = \frac{206,368 - 199,152}{199,152} \times 100\% = 4\%$$

$$\text{Hari ke-4} = \frac{221,154 - 199,152}{199,152} \times 100\% = 11\%$$

$$\text{Hari ke-6} = \frac{232,290 - 199,152}{199,152} \times 100\% = 17\%$$

**Lampiran G. Pengamatan Waktu Pakai TTI**

Lampiran G.1 Hasil pengukuran waktu pakai TTI pada suhu ruang

Hari ke-	Jam ke-	Rata-rata <i>Mean Red</i>	SD	RSD	jam vs <i>mean Red</i>
0	0	203,387	1,621	0,797%	$y = 3,4863x + 206,72$ $R^2 = 0,9426$
	1	209,156	1,173	0,561%	
	2	214,137	1,854	0,866%	
	3	219,874	0,870	0,396%	
	4	223,666	1,237	0,553%	
	5	226,086	0,610	0,270%	
	6	228,316	0,169	0,074%	
	7	230,014	1,518	0,660%	
	8	231,395	0,560	0,242%	
2	0	204,912	5,704	2,839%	$y = 3,3203x + 204,68$ $R^2 = 0,9224$
	1	208,303	6,905	3,315%	
	2	213,461	5,937	2,781%	
	3	216,007	2,681	1,241%	
	4	217,565	1,489	0,678%	
	5	222,621	1,455	0,654%	
	6	225,935	2,821	1,266%	
	7	229,140	1,663	0,742%	
	8	232,699	1,813	0,803%	
4	0	208,519	0,420	0,201%	$y = 2,4146x + 207,4$ $R^2 = 0,9379$
	1	210,203	2,074	0,986%	
	2	211,471	0,515	0,244%	
	3	211,901	0,620	0,293%	
	4	219,615	2,687	1,223%	
	5	219,270	2,890	1,324%	
	6	220,808	1,896	0,851%	
	7	224,391	1,264	0,562%	
	8	226,336	1,757	0,776%	
6	0	212,261	2,507	1,204%	$y = 1,8211x + 213,41$ $R^2 = 0,9402$
	1	213,709	1,453	0,689%	
	2	218,876	1,019	0,474%	
	3	219,157	1,049	0,483%	
	4	221,410	1,773	0,799%	
	5	223,890	1,082	0,486%	
	6	225,090	1,897	0,845%	
	7	225,119	1,250	0,548%	
	8	226,730	0,758	0,329%	

Lampiran G.2 Hasil pengukuran waktu pakai TTI pada suhu *chiller*

Waktu Pakai Hari ke-	Hari ke-	Rata-rata <i>Mean Red</i>	SD	RSD	Jam vs <i>Mean Red</i>
0	0	205,284	1,772	0,863%	$y = 3,9102x + 207,66$ $R^2 = 0,9615$
	1	208,851	1,543	0,739%	
	2	218,565	2,869	1,313%	
	3	222,553	1,596	0,714%	
	4	224,305	1,448	0,645%	
	5	227,558	1,931	0,848%	
	6	230,665	1,020	0,442%	
	7	234,621	2,264	0,965%	
	8	237,309	1,162	0,489%	
2	0	206,920	2,118	1,024%	$y = 2,9473x + 211,29$ $R^2 = 0,9001$
	1	213,016	1,619	0,760%	
	2	221,537	1,315	0,594%	
	3	223,550	1,544	0,691%	
	4	224,599	1,149	0,512%	
	5	225,098	1,150	0,511%	
	6	228,236	0,043	0,019%	
	7	230,252	0,619	0,269%	
	8	234,466	0,984	0,420%	
4	0	208,724	3,629	1,738%	$y = 2,8913x + 212,27$ $R^2 = 0,9223$
	1	213,997	4,132	1,931%	
	2	222,022	1,006	0,453%	
	3	222,606	1,458	0,655%	
	4	225,566	1,301	0,577%	
	5	225,540	1,385	0,614%	
	6	229,910	0,824	0,359%	
	7	233,019	0,642	0,275%	
	8	233,150	0,773	0,332%	
6	0	211,740	1,381	0,655%	$y = 2,1169x + 215,04$ $R^2 = 0,9198$
	1	219,084	0,599	0,275%	
	2	220,661	1,180	0,535%	
	3	222,296	1,617	0,727%	
	4	222,533	1,634	0,734%	
	5	226,221	1,403	0,620%	
	6	228,616	1,188	0,524%	
	7	230,408	0,476	0,207%	
	8	230,042	1,667	0,722%	

Lampiran G.3 Hasil pengukuran waktu pakai TTI pada suhu *freezer*

waktu pakai hari ke-	Hari ke-	Rata-rata <i>Mean Red</i>	SD	RSD	Jam vs <i>Mean Red</i>
0	0	203,354	1,410	0,693%	$y = 3,4256x + 206,65$ $R^2 = 0,9463$
	1	209,920	0,658	0,314%	
	2	212,977	0,224	0,104%	
	3	219,778	1,130	0,514%	
	4	223,117	0,483	0,217%	
	5	225,663	1,213	0,542%	
	6	227,540	1,231	0,543%	
	7	229,732	0,769	0,338%	
	8	231,126	0,801	0,348%	
2	0	210,810	0,950	0,451%	$y = 2,8633x + 213,19$ $R^2 = 0,9199$
	1	213,128	0,779	0,366%	
	2	221,245	1,222	0,552%	
	3	225,180	0,285	0,127%	
	4	225,608	0,529	0,235%	
	5	229,304	2,991	1,305%	
	6	230,035	2,595	1,128%	
	7	233,055	1,741	0,747%	
	8	233,388	0,576	0,247%	
4	0	210,861	1,351	0,638%	$y = 2,6566x + 213,51$ $R^2 = 0,9416$
	1	216,281	1,899	0,878%	
	2	218,416	1,398	0,640%	
	3	225,137	0,945	0,420%	
	4	225,055	1,341	0,596%	
	5	226,594	1,867	0,824%	
	6	230,461	1,605	0,696%	
	7	231,484	2,044	0,883%	
	8	232,921	1,084	0,468%	
6	0	214,138	2,621	1,236%	$y = 1,947x + 216,21$ $R^2 = 0,9356$
	1	219,591	0,797	0,363%	
	2	220,063	2,119	0,963%	
	3	221,076	1,722	0,779%	
	4	225,493	0,705	0,312%	
	5	227,300	1,765	0,776%	
	6	228,710	0,604	0,264%	
	7	229,685	0,884	0,385%	
	8	229,893	1,331	0,579%	



**Lampiran H. Reprodusibilitas**

## Lampiran H.1 Reprodusibilitas pada suhu ruang

hari ke-	jam ke-	Replikasi			Rata-rata <i>Mean Red</i>	SD	%RSD
		1	2	3			
1	0	204,798	201,616	203,746	203,387	1,621	0,797%
	1	210,136	209,475	207,856	209,156	1,173	0,561%
	2	215,492	212,024	214,895	214,137	1,854	0,866%
	3	219,677	219,12	220,826	219,874	0,870	0,396%
	4	222,457	223,611	224,929	223,666	1,237	0,553%
	5	225,681	225,789	226,787	226,086	0,610	0,270%
	6	228,277	228,501	228,169	228,316	0,169	0,074%
	7	231,588	228,56	229,895	230,014	1,518	0,660%
2	8	231,496	230,792	231,898	231,395	0,560	0,242%
	0	198,798	212,616	212,746	208,053	8,016	3,853%
	1	215,345	216,305	213,941	215,197	1,189	0,552%
	2	217,245	218,045	220,878	218,723	1,909	0,873%
	3	217,645	219,211	220,830	219,229	1,593	0,726%
	4	224,457	222,133	228,966	225,185	3,474	1,543%
	5	225,617	225,709	228,775	226,700	1,797	0,793%
	6	230,233	228,561	227,928	228,907	1,191	0,520%
3	7	232,821	227,456	227,755	229,344	3,015	1,315%
	8	232,626	229,402	227,908	229,979	2,411	1,048%
	0	198,988	202,506	210,622	204,039	5,967	2,924%
	1	212,347	216,854	216,217	215,139	2,439	1,134%
	2	215,845	220,556	222,037	219,479	3,233	1,473%
	3	218,967	219,309	222,353	220,210	1,864	0,846%
	4	220,507	222,293	225,106	222,635	2,319	1,041%
	5	225,733	223,889	226,675	225,432	1,417	0,629%
	6	229,403	228,781	227,228	228,471	1,120	0,490%
	7	232,003	228,336	226,559	228,966	2,776	1,212%
	8	231,996	229,278	227,893	229,722	2,087	0,909%

Lampiran H.2 Reprodusibilitas pada suhu *chiller*










hari ke-	hari ke-	Replikasi			Rata-rata <i>Mean Red</i>	SD	%RSD
		1	2	3			
1	0	204,611	203,948	207,294	205,284	1,772	0,863%
	1	207,294	210,38	208,88	208,851	1,543	0,739%
	2	221,562	215,843	218,289	218,565	2,869	1,313%
	3	223,822	224,997	221,839	223,553	1,596	0,714%
	4	225,201	225,079	222,635	224,305	1,448	0,645%
	5	228,006	225,443	229,226	227,558	1,931	0,848%
	6	229,936	231,831	230,229	230,665	1,020	0,442%
	7	235,927	232,006	235,929	234,621	2,264	0,965%
2	8	237,893	235,971	238,062	237,309	1,162	0,489%
	0	199,371	205,248	200,549	201,723	3,109	1,541%
	1	200,498	210,590	206,480	205,856	5,075	2,465%
	2	220,282	223,903	222,219	222,135	1,812	0,816%
	3	220,320	225,722	226,925	224,322	3,518	1,568%
	4	225,791	226,299	229,765	227,285	2,163	0,952%
	5	226,106	226,096	230,616	227,606	2,607	1,145%
	6	228,506	229,191	231,569	229,755	1,608	0,700%
3	7	230,290	232,670	234,960	232,640	2,335	1,004%
	8	232,379	232,120	235,291	233,263	1,761	0,755%
	0	200,229	197,921	201,825	199,992	1,963	0,981%
	1	205,908	209,660	213,970	209,846	4,034	1,922%
	2	220,995	220,325	222,859	221,393	1,313	0,593%
	3	222,205	222,701	224,913	223,273	1,442	0,646%
	4	224,826	225,039	226,728	225,531	1,042	0,462%
	5	227,227	228,634	229,196	228,352	1,014	0,444%
	6	230,966	233,291	232,102	232,120	1,163	0,501%
	7	232,705	232,119	230,250	231,691	1,282	0,553%
	8	235,897	232,735	231,228	233,287	2,383	1,021%

Lampiran H.3 Reprodusibilitas pada suhu *freezer*










hari ke-	hari ke-	Replikasi			Rata-rata <i>Mean Red</i>	SD	%RSD
		1	2	3			
1	0	204,874	202,089	203,099	203,354	1,410	0,693%
	1	209,283	209,878	210,598	209,920	0,658	0,314%
	2	215,236	212,845	214,851	212,977	0,224	0,104%
	3	220,498	220,360	218,476	219,778	1,130	0,514%
	4	222,813	222,867	223,674	223,117	0,483	0,217%
	5	226,351	224,743	226,896	225,663	1,213	0,542%
	6	228,966	225,152	227,501	227,540	1,231	0,543%
	7	230,584	227,048	228,565	229,732	0,769	0,338%
2	8	232,663	229,205	230,509	231,126	0,801	0,348%
	0	200,210	198,580	196,498	198,429	1,861	0,938%
	1	205,066	203,372	207,768	205,402	2,217	1,079%
	2	211,109	215,460	214,039	213,536	2,219	1,039%
	3	219,768	216,294	217,907	217,990	1,738	0,798%
	4	225,001	220,299	223,943	223,081	2,467	1,106%
	5	228,589	225,352	227,116	227,019	1,621	0,714%
	6	228,496	228,970	230,122	229,196	0,836	0,365%
3	7	230,255	227,848	232,095	230,066	2,130	0,926%
	8	230,393	230,480	231,679	230,851	0,719	0,311%
	0	201,810	197,204	202,678	200,564	2,942	1,467%
	1	203,628	205,812	205,707	205,049	1,232	0,601%
	2	209,119	212,684	206,029	209,277	3,330	1,591%
	3	215,694	224,246	218,405	219,448	4,370	1,992%
	4	223,290	226,669	227,918	225,959	2,394	1,060%
	5	225,098	228,223	225,588	226,303	1,681	0,743%
	6	230,695	229,209	232,468	230,791	1,632	0,707%
	7	232,725	231,081	234,780	232,862	1,853	0,796%
	8	232,682	230,911	230,453	231,349	1,177	0,509%

### Lampiran I. Hubungan Parameter Kesegaran Susu Dengan Perubahan Warna TTI










Lampiran I.1 Hubungan parameter kesegaran susu dengan perubahan warna TTI suhu ruang

Jam ke-	Gambar TTI	pH Susu	Organoleptis	Total Mikroba Susu	Mean Red
0		$6,85 \pm 0,026$	$1,0 \pm 0,000$	$3,023 \pm 0,031$	$203,387 \pm 1,621$
1		$6,78 \pm 0,015$	$1,1 \pm 0,057$		$209,156 \pm 1,173$
2		$6,75 \pm 0,015$	$1,6 \pm 0,287$	$4,157 \pm 0,055$	$214,137 \pm 1,854$
3		$6,66 \pm 0,041$	$2,0 \pm 0,058$		$219,874 \pm 0,870$
4		$6,46 \pm 0,065$	$2,8 \pm 0,115$	$6,142 \pm 0,120$	$223,666 \pm 1,237$
5		$6,28 \pm 0,015$	$3,6 \pm 0,208$		$226,086 \pm 0,610$
6		$6,23 \pm 0,050$	$3,9 \pm 0,252$	$9,035 \pm 0,124$	$228,316 \pm 0,169$
7		$6,07 \pm 0,087$	$4,5 \pm 0,153$		$230,014 \pm 1,518$
8		$5,90 \pm 0,050$	$5,0 \pm 0,058$	$13,273 \pm 0,065$	$231,395 \pm 0,560$

Lampiran I.2 Hubungan parameter kesegaran susu dengan perubahan warna TTI suhu *chiller*

Hari ke-	Gambar TTI	pH Susu	Organoleptis	Total Mikroba Susu	Mean Red
0		$6,83 \pm 0,015$	$1,1 \pm 0,153$	$3,023 \pm 0,031$	$205,284 \pm 1,772$
1		$6,70 \pm 0,086$	$1,6 \pm 0,230$		$208,851 \pm 1,543$
2		$6,38 \pm 0,171$	$2,5 \pm 0,252$	$6,307 \pm 0,048$	$218,564 \pm 2,869$
3		$6,12 \pm 0,035$	$3,3 \pm 0,173$		$222,553 \pm 1,596$
4		$5,58 \pm 0,092$	$3,5 \pm 0,289$	$9,077 \pm 0,123$	$224,305 \pm 1,447$
5		$5,23 \pm 0,075$	$4,0 \pm 0,100$		$227,558 \pm 1,931$
6		$4,88 \pm 0,085$	$4,3 \pm 0,306$	$11,379 \pm 0,089$	$230,665 \pm 1,020$
7		$4,74 \pm 0,051$	$4,6 \pm 0,472$		$234,621 \pm 2,264$
8		$4,57 \pm 0,021$	$4,8 \pm 0,264$	$14,354 \pm 0,101$	$237,309 \pm 1,162$

Lampiran I.3 Hubungan parameter kesegaran susu dengan perubahan warna TTI suhu *freezer*

Hari ke-	Gambar TTI	pH Susu	Organoleptis	Total Mikroba Susu	<i>Mean Red</i>
0		6,817± 0,015	1,1± 0,000	3,023± 0,031	203,354± 1,410
1		6,747± 0,032	1,2± 0,058		209,920± 0,658
2		6,663± 0,025	1,7± 0,115	6,307± 0,090	212,977± 0,224
3		6,520± 0,043	2,1± 0,115		219,778± 1,130
4		6,407± 0,020	2,6± 0,208	9,077± 0,107	223,117± 0,483
5		6,237± 0,051	3,4± 0,200		225,663± 1,213
6		6,047± 0,094	3,7± 0,305	11,379± 0,144	227,540± 1,231
7		5,887± 0,065	4,3± 0,173		229,732± 0,769
8		5,713± 0,142	4,6± 0,208	14,354± 0,077	231,126± 0,801

**Lampiran J. Data Hasil Pengukuran Kualitas Kesegaran Susu Dipasaran****Lampiran J.1 Data hasil pengukuran pH susu “Rembangan 1”**

	Jam ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	RSD
		Rep I	Rep II	Rep III			
Ruang	0	6,81	6,78	6,83	6,81	0,03	0,37%
	1	6,75	6,72	6,77	6,75	0,03	0,37%
	2	6,67	6,65	6,65	6,66	0,01	0,17%
	3	6,61	6,58	6,56	6,58	0,03	0,38%
	4	6,46	6,45	6,37	6,43	0,05	0,77%
	5	6,35	6,32	6,29	6,32	0,03	0,47%
	6	6,28	6,26	6,21	6,25	0,04	0,58%
	7	6,14	6,17	6,1	6,14	0,04	0,57%
	8	6,08	6,09	5,97	6,05	0,07	1,10%
	Hari ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	RSD
		Rep I	Rep II	Rep III			
Chiller	0	6,80	6,85	6,80	6,82	0,03	0,42%
	1	6,68	6,72	6,75	6,72	0,04	0,52%
	2	6,37	6,48	6,40	6,42	0,06	0,89%
	3	6,24	6,30	6,28	6,27	0,03	0,49%
	4	5,83	6,17	5,90	5,97	0,18	3,01%
	5	5,45	5,69	5,46	5,53	0,14	2,45%
	6	5,19	5,20	5,06	5,15	0,08	1,52%
	7	4,64	4,70	4,66	4,67	0,03	0,65%
	8	4,45	4,53	4,45	4,48	0,05	1,03%

**Lampiran J.2 Data Hasil pengukuran pH Susu “Kaliwates”**

	Jam ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	RSD
		Rep I	Rep II	Rep III			
Ruang	0	6,85	6,80	6,87	6,84	0,04	0,53%
	1	6,82	6,76	6,83	6,80	0,04	0,56%
	2	6,76	6,68	6,71	6,72	0,04	0,60%
	3	6,63	6,52	6,59	6,58	0,06	0,85%
	4	6,48	6,35	6,33	6,39	0,08	1,28%
	5	6,37	6,22	6,18	6,26	0,10	1,60%
	6	6,24	6,13	6,10	6,16	0,07	1,20%
	7	6,19	6,07	6,02	6,09	0,09	1,43%
	8	6,05	5,82	5,77	5,88	0,15	2,54%

	Hari ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	RSD
		Rep I	Rep II	Rep III			
<i>Chiller</i>	0	6,85	6,81	6,85	6,84	0,02	0,34%
	1	6,68	6,62	6,66	6,65	0,03	0,46%
	2	6,46	6,53	6,47	6,49	0,04	0,58%
	3	6,3	6,25	6,27	6,27	0,03	0,40%
	4	6,28	6,17	6,25	6,23	0,06	0,91%
	5	6,13	6,10	6,11	6,11	0,02	0,25%
	6	6,04	5,96	5,98	5,99	0,04	0,69%
	7	5,89	5,83	5,85	5,86	0,03	0,52%
	8	5,76	5,68	5,66	5,70	0,05	0,93%

Lampiran J.3 Data hasil pengukuran pH susu “Ajung”

	Jam ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	RSD
		Rep I	Rep II	Rep III			
<i>Ruang</i>	0	6,78	6,8	6,84	6,81	0,03	0,45%
	1	6,72	6,75	6,77	6,75	0,03	0,37%
	2	6,67	6,62	6,65	6,65	0,03	0,38%
	3	6,54	6,5	6,57	6,54	0,04	0,54%
	4	6,41	6,46	6,4	6,42	0,03	0,50%
	5	6,27	6,31	6,29	6,29	0,02	0,32%
	6	6,11	6,19	6,15	6,15	0,04	0,65%
	7	5,95	5,98	6,01	5,98	0,03	0,50%
	8	5,88	5,83	5,87	5,86	0,03	0,45%

	Hari ke-	Nilai pH			Rata-rata	SD	RSD
		Rep I	Rep II	Rep III			
<i>Chiller</i>	0	6,85	6,76	6,82	6,81	0,05	0,67%
	1	6,74	6,65	6,72	6,70	0,05	0,70%
	2	6,57	6,51	6,52	6,53	0,03	0,49%
	3	6,22	6,2	6,24	6,22	0,02	0,32%
	4	5,97	5,95	6,02	5,98	0,04	0,60%
	5	5,79	5,72	5,76	5,76	0,04	0,61%
	6	5,68	5,66	5,67	5,67	0,01	0,18%
	7	5,53	5,54	5,47	5,51	0,04	0,69%
	8	5,24	5,32	5,29	5,28	0,04	0,76%

Lampiran J.4 Data hasil uji organoleptis susu “Rembangan 1”

	Jam ke-	Panelis										Rata-rata	SD	
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j			
Ruang	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000	
	1	1	2	1	1	2	1	2	2	1	1	1,4	0,516	
	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1,6	0,516	
	3	2	2	2	2	3	3	2	2	2	2	2,2	0,422	
	Bau	4	2	2	2	2	3	4	2	3	2	2	2,4	0,699
		5	3	4	3	4	4	4	3	4	3	4	3,6	0,516
		6	3	3	3	4	5	4	4	5	4	4	3,9	0,738
		7	4	5	4	5	5	5	4	5	5	5	4,7	0,483
8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000		
Warna	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1,1	0,316	
	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1	2	1,4	0,516	
	2	1	2	2	1	2	2	1	2	2	2	1,7	0,483	
	3	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2,1	0,316	
	4	2	3	2	2	3	4	2	3	4	3	2,8	0,789	
	5	3	3	4	3	3	4	3	4	3	4	3,4	0,516	
	6	4	4	4	3	4	4	3	4	5	4	3,9	0,568	
	7	4	4	5	4	4	5	4	5	4	4	4,3	0,483	
8	5	5	5	4	5	5	4	5	5	4	4,7	0,483		
Rasa	0	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1,1	0,316	
	1	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1,6	0,516	
	2	1	2	2	2	3	2	1	3	1	1	1,8	0,789	
	3	2	2	2	2	2	2	3	3	2	2	2,2	0,422	
	4	2	3	3	2	3	3	4	3	3	2	2,8	0,632	
	5	3	3	4	3	3	3	4	4	3	3	3,3	0,483	
	6	3	4	4	3	4	4	5	4	3	4	3,8	0,632	
	7	4	4	4	4	4	4	5	5	4	4	4,2	0,422	
8	4	5	4	5	5	4	5	5	4	5	4,6	0,516		

Keterangan :

1,0 – 2,0 : Susu Segar

2,1 – 3,0 : Susu Masih Segar

3,1 – 5,0 : Susu Tidak Segar



	Hari ke-	Panelis										Rata-rata	SD
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j		
<i>Chiller</i>	0	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1,1	0,316
	1	1	2	1	1	1	2	1	2	2	1	1,4	0,516
	2	2	2	3	2	2	2	2	3	2	2	2,2	0,422
	3	3	3	3	4	3	3	4	3	4	3	3,3	0,483
	Bau	4	4	4	3	4	3	4	3	4	3	3,5	0,527
	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3,9	0,316
	6	4	5	4	5	4	4	5	5	4	4	4,4	0,516
	7	4	5	5	5	5	5	5	4	5	4	4,7	0,483
	8	4	5	5	5	5	5	5	5	4	5	4,8	0,422
Warna	0	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1,1	0,316
	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1,2	0,422
	2	1	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2,0	0,471
	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3	4	3,0	0,471
	4	3	3	4	4	4	4	4	3	3	3	3,5	0,527
	5	3	4	4	3	4	4	4	3	4	4	3,7	0,483
	6	4	4	3	4	5	4	4	4	4	5	4,1	0,568
	7	4	5	4	4	5	5	5	4	5	4	4,5	0,527
	8	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	4,9	0,316
Rasa	0	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1,1	0,316
	1	1	2	1	3	1	2	2	1	1	1	1,5	0,707
	2	2	2	2	3	2	3	3	2	1	2	2,2	0,632
	3	3	3	3	4	4	4	3	3	2	3	3,2	0,632
	4	4	3	3	4	4	4	4	4	3	3	3,6	0,516
	5	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4	3,9	0,316
	6	5	4	4	5	5	5	4	4	4	4	4,4	0,516
	7	5	5	4	5	5	5	4	5	4	4	4,6	0,516
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000

Keterangan :

1,0 – 2,0 : Susu Segar

2,1 – 3,0 : Susu Masih Segar

3,1 – 5,0 : Susu Tidak Segar

Lampiran J.5 Data hasil uji organoleptis susu “Kaliwates”

	Jam ke-	Panelis										Rata-rata	SD	
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j			
Ruang	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000	
	1	1	1	1	2	1	2	1	2	1	2	1,4	0,516	
	2	2	1	2	2	1	2	2	3	1	3	1,9	0,738	
	3	2	2	2	3	2	2	2	3	2	4	2,4	0,699	
	Bau	4	3	2	3	4	3	3	3	3	2	4	3,0	0,667
		5	3	3	4	4	3	3	4	4	3	4	3,5	0,527
		6	4	3	4	4	3	4	4	4	3	5	3,8	0,632
		7	4	4	4	5	4	4	5	5	4	5	4,4	0,516
8	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4,9	0,316		
Warna	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000	
	1	1	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1,2	0,422	
	2	1	2	2	2	1	2	1	1	2	1	1,5	0,527	
	3	2	3	3	2	2	3	2	2	2	2	2,3	0,483	
	4	2	3	3	2	2	2	2	3	3	2	2,4	0,516	
	5	3	4	4	3	3	4	3	3	3	3	3,3	0,483	
	6	3	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3,2	0,422	
	7	4	5	5	4	4	5	4	4	4	4	4,3	0,483	
8	4	5	5	4	5	5	5	5	4	4	4,5	0,527		
Rasa	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000	
	1	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1,3	0,483	
	2	1	2	1	2	1	2	2	1	2	2	1,6	0,516	
	3	2	3	2	3	2	2	1	2	2	2	2,1	0,568	
	4	2	3	2	3	2	2	3	2	3	3	2,5	0,527	
	5	3	4	3	4	3	3	4	3	3	4	3,4	0,516	
	6	3	4	3	5	3	4	4	3	4	4	3,7	0,675	
	7	3	4	4	5	4	4	5	3	4	3	3,9	0,738	
8	4	4	5	5	4	5	5	4	5	5	4,6	0,516		

Keterangan :

1,0 – 2,0 : Susu Segar

2,1 – 3,0 : Susu Masih Segar

3,1 – 5,0 : Susu Tidak Segar

	Hari ke-	Panelis										Rata-rata	SD
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j		
Bau	0	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1	1,2	0,422
	1	1	2	1	2	2	2	2	1	2	2	1,7	0,483
	2	2	2	1	2	2	2	3	2	2	2	2,0	0,471
	3	3	3	4	4	3	3	3	3	4	3	3,3	0,483
	4	3	3	3	4	3	4	3	4	4	4	3,5	0,527
	5	4	3	4	5	4	4	4	4	5	4	4,1	0,568
	6	4	4	5	5	4	3	4	5	4	5	4,3	0,675
	7	4	5	5	5	4	4	5	5	5	5	4,7	0,483
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000
Chiller Warna	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
	1	1	2	1	2	2	1	1	2	1	1	1,4	0,516
	2	1	3	2	2	2	2	2	3	3	2	2,2	0,632
	3	3	3	3	4	3	4	3	3	4	2	3,2	0,632
	4	4	3	3	4	3	4	3	4	4	4	3,6	0,516
	5	3	4	4	4	3	4	3	4	3	4	3,6	0,516
	6	4	4	4	5	4	4	4	5	4	4	4,2	0,422
	7	4	5	4	5	4	5	5	5	5	5	4,7	0,483
	8	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5	4,9	0,316
Rasa	0	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1,1	0,316
	1	2	2	1	2	2	1	1	1	2	2	1,6	0,516
	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2,2	0,422
	3	3	2	3	3	2	4	4	3	3	4	3,1	0,738
	4	3	3	3	4	3	3	4	4	4	4	3,5	0,527
	5	4	3	3	4	4	4	3	4	4	4	3,7	0,483
	6	4	4	4	3	4	4	4	3	4	5	3,9	0,568
	7	5	4	4	4	5	4	5	4	5	5	4,5	0,527
	8	5	5	5	4	5	5	5	5	5	5	4,9	0,316

Keterangan :

1,0 – 2,0 : Susu Segar

2,1 – 3,0 : Susu Masih Segar

3,1 – 5,0 : Susu Tidak Segar

Lampiran J.6 Data hasil uji organoleptis susu “Ajung”

	Jam ke-	Panelis										Rata-rata	SD
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j		
Bau	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1,2	0,422
	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	1,7	0,483
	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,0	0,000
	4	3	2	3	2	2	2	3	3	2	2	2,4	0,516
	5	3	3	3	3	4	3	4	4	3	3	3,3	0,483
	6	4	3	4	4	4	3	4	4	4	3	3,7	0,483
	7	4	4	5	5	5	4	5	4	4	4	4,4	0,516
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4,9	0,316
Ruang Warna	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1,1	0,316
	2	2	2	1	1	2	2	2	1	1	2	1,6	0,516
	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,1	0,316
	4	3	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2,2	0,422
	5	4	3	3	4	3	3	4	4	3	3	3,4	0,516
	6	4	3	3	4	4	3	4	4	3	4	3,6	0,516
	7	5	4	4	5	4	4	4	5	4	4	4,3	0,483
	8	5	4	5	5	5	4	5	5	4	5	4,7	0,483
Rasa	0	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1,1	0,316
	1	1	2	1	2	1	2	2	1	2	2	1,6	0,516
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,0	0,000
	3	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	2,2	0,422
	4	3	2	3	2	3	3	3	2	3	3	2,7	0,483
	5	4	3	4	4	4	4	4	3	3	4	3,7	0,483
	6	4	3	4	4	4	5	5	4	4	4	4,1	0,568
	7	5	4	5	5	4	5	5	5	4	4	4,6	0,516
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000

Keterangan :

1,0 – 2,0 : Susu Segar

2,1 – 3,0 : Susu Masih Segar

3,1 – 5,0 : Susu Tidak Segar

	Hari ke-	Panelis										Rata-rata	SD
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j		
Bau	0	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1,1	0,316
	1	2	2	2	2	1	1	2	1	2	1	1,6	0,516
	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2,1	0,316
	3	3	3	4	3	3	3	3	3	4	3	3,2	0,422
	4	4	3	4	4	4	3	3	4	3	4	3,6	0,516
	5	4	4	4	4	4	3	4	4	4	5	4,0	0,471
	6	4	4	5	5	5	4	4	4	5	5	4,5	0,527
	7	5	5	5	5	5	5	4	5	5	5	4,9	0,316
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000
Chiller Warna	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	0,000
	1	2	2	1	2	1	1	2	2	2	2	1,7	0,483
	2	2	2	2	3	2	2	3	2	2	3	2,3	0,483
	3	3	3	3	3	3	4	4	3	4	4	3,4	0,516
	4	3	3	4	4	3	4	4	4	4	4	3,7	0,483
	5	4	3	4	4	4	4	5	3	4	5	4,0	0,667
	6	4	4	5	5	4	5	5	4	5	5	4,6	0,516
	7	5	4	5	5	5	5	5	5	5	5	4,9	0,316
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5,0	0,000
Rasa	0	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1,1	0,316
	1	2	2	2	1	1	2	1	2	2	1	1,6	0,516
	2	2	2	3	2	2	2	3	2	3	2	2,3	0,483
	3	4	3	4	3	3	3	3	4	3	2	3,2	0,632
	4	4	3	4	3	3	4	4	4	4	3	3,6	0,516
	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3,9	0,316
	6	5	4	5	4	4	5	5	5	4	4	4,5	0,527
	7	5	4	4	5	5	5	4	5	5	4	4,6	0,516
	8	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4,9	0,316

Keterangan :

1,0 – 2,0 : Susu Segar

2,1 – 3,0 : Susu Masih Segar

3,1 – 5,0 : Susu Tidak Segar

**Lampiran K. Kuesioner Penelitian**

Nama :

Jenis Sampel : Susu Sapi

Petunjuk Pengisian : Dihadapan Anda terdapat sampel susu sapi. Anda diminta untuk memberikan penilaian terhadap bau, warna, dan rasa (organoleptis) sesuai dengan kriteria.

1. Periksa dengan seksama bau, warna dan rasa sampel.
2. Cicipi sampel yang telah di sediakan, gunakan air mineral sebagai penetral rasa.
3. Berikan penilaian dengan menuliskan skor 1-5 dalam kolom penilaian sesuai dengan penilaian anda untuk setiap nomor sampel.

**A. Sampel Susu (Ruang)**

No.	Penilaian	Waktu (Jam)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	Bau									
2.	Warna									
3.	Rasa									

**B. Sampel Susu (Chiller)**

No.	Penilaian	Waktu (Hari)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	Bau									
2.	Warna									
3.	Rasa									

**C. Sampel Susu (Freezer)**

No.	Penilaian	Waktu (Hari)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	Bau									
2.	Warna									
3.	Rasa									

Keterangan :

Bau	Warna	Rasa
Normal :1	Normal Putih :1	Normal Sedikit Manis :1
Masih Normal :2	Masih Normal :2	Masih Normal :2
Agak Basi :3	Agak Putih Kekuningan :3	Agak Asam :3
Basi :4	Putih Kekuningan :4	Asam :4
Sangat Basi :5	Sangat Putih Kekuningan :5	Sangat Asam :5



Lampiran L. Aplikasi TTI Pada Kemasan Susu Dipasaran







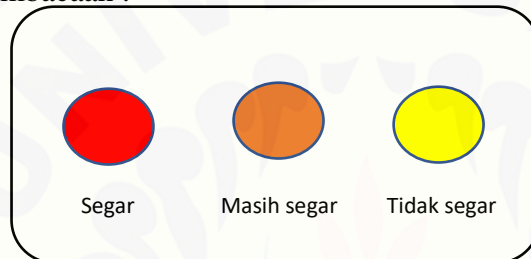
Lampiran M. Desain Kemasan Produk



**Lampiran N. Brosur Produk****MILKT Sign****Tes Kesegaran Susu**

MILKT Sign adalah alat untuk mendeteksi penurunan kualitas kesegaran susu pada suhu penyimpanan. MILKT Sign akan memberikan memberi tanda perubahan warna apabila susu mulai mengalami penurunan kualitas kesegarannya.

Cara Pembacaan :



Cara Penggunaan :

1. Lepaskan mika pemisah pada kedua membran, sehingga kedua membran dapat menyatu.
2. Lepaskan perekat pada bagian belakang kemasan, kemudian tempelkan sensor pada kemasan susu.
3. Perubahan warna akan terjadi apabila susu mengalami penurunan kualitas kesegarannya.

Cara Pembacaan :

1. Warna merah menunjukkan susu dalam keadaan segar.
2. Warna oranye menunjukkan susu dalam keadaan masih segar.
3. Warna kuning menunjukkan susu dalam keadaan tidak segar dan tidak baik untuk dikonsumsi.

**Simpan dalam lemari pendingin, terlindung dari sinar matahari.**

Diproduksi oleh:

**Chemo & Biosensor**

**Fakultas Farmasi Universitas Jember**