

Analisis MAKANAN DAN MINUMAN



Rida Evalina Tarigan | Emelda | Ayu Puspitasari | Nuradi | Christ Kartika Rahayuningsih
Muhammad Izzul Widad Fahmi | Islawati | Artati | Afiska Prima Dewi | Rahma Diyan Martha
Ahmad Irsyad Aliah | Tri Minarsih | Atep Dian Supardan | Argo Ganda Gumilar
Ariyanto Nugroho | Bambang Supriyanta | Dwi Ayu Lestari | Subur Wibowo
Tuty Hertati Purba



30: 0.5 ml
20°C ± 0.5 m
50 m

40

30

20

10

EDITOR :

Dr. Nasrudin, S.Pd., M.Si

Dr. Irnawati, S.Si., M.Sc





Buku analisis makanan dan minuman yang berada ditangan pembaca ini terdiri atas 19 bab, yaitu :

- Bab 1 Dasar-Dasar Kimia Makanan dan Minuman
- Bab 2 Karbohidrat : Pengertian, Sumber, Jenis dan Analisis Karbohidrat
- Bab 3 Protein : Pengertian, Sumber, Fungsi, Jenis dan Analisis Protein
- Bab 4 Lemak : Komponen Lemak, Sumber, Fungsi, Jenis dan Analisis Lemak
- Bab 5 Minyak : Standard dan Faktor-Faktor Penentu Mutu Minyak
- Bab 6 Vitamin : Pengertian, Klasifikasi, Fungsi, Sumber, dan Analisis Vitamin
- Bab 7 Mineral : Pengertian, Klasifikasi, Fungsi, Sumber, dan Analisis Mineral
- Bab 8 Kadar Air
- Bab 9 Kadar Abu
- Bab 10 Analisis Formalin
- Bab 11 Analisis BTP
- Bab 12 Analisis Boraks
- Bab 13 Analisis Rhodamin B
- Bab 14 MPN Coliform
- Bab 15 MPN Coli Tinja
- Bab 16 ALT (Angka Lempeng Total)
- Bab 17 Bahan Tambahan Makanan
- Bab 18 Kerusakan Makanan dan Minuman
- Bab 19 Keamanan Pangan

Analisis MAKANAN DAN MINUMAN

ANALISIS MAKANAN DAN MINUMAN

Dr. apt. Rida Evalina Tarigan, S.Farm., M.Si

apt. Emelda, M.Farm

Ayu Puspitasari, ST, M.Si

Nuradi, S.Si., M.Kes

Christ Kartika Rahayuningsih, ST, M.Si

Muhammad Izzul Widad Fahmi, S.ST., M.Gz

Islawati, S.Pd., M.Pd

Artati, S.Si., M.Si

Afiska Prima Dewi, S.Gz., M.K.M

Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc

apt. Ahmad Irsyad Aliah, M.Si

apt. Tri Minarsih, S.Si, M.Sc

Atep Dian Supardan, S.Si., M.Si

Argo Ganda Gumilar, S.Tr.A.K

Dr. Ariyanto Nugroho, SKM, M.Sc

Bambang Supriyanta, S.Si., M.Sc

Dwi Ayu Lestari, S.Gz., M.Gizi

Subur Wibowo, S.SiT., M.Biomed

Tuty Hertati Purba, SKM., M.Kes



eureka
media aksara

PENERBIT CV.EUREKA MEDIA AKSARA

ANALISIS MAKANAN DAN MINUMAN

Penulis : Dr. apt. Rida Evalina Tarigan, S.Farm., M.Si |
apt. Emelda, M.Farm | Ayu Puspitasari, ST,
M.Si | Nuradi, S.Si., M.Kes | Christ Kartika
Rahayuningsih, ST, M.Si | Muhammad Izzul
Widad Fahmi, S.ST., M.Gz | Islawati, S.Pd.,
M.Pd | Artati, S.Si., M.Si | Afiska Prima Dewi,
S.Gz., M.K.M | Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc
| apt. Ahmad Irsyad Aliah, M.Si | apt. Tri
Minarsih, S.Si, M.Sc | Atep Dian Supardan, S.Si.,
M.Si | Argo Ganda Gumilar, S.Tr.A.K | Dr.
Ariyanto Nugroho, SKM, M.Sc | Bambang
Supriyanta, S.Si., M.Sc | Dwi Ayu Lestari, S.Gz.,
M.Gizi | Subur Wibowo, S.SiT., M.Biomed |
Tuty Hertati Purba, SKM., M.Kes

Editor : Dr. Nasrudin, S.Pd., M.Si
Dr. Irnawati, S.Si., M.Sc

Desain Sampul : Eri Setiawan

Tata Letak : Meuthia Rahmi Ramadani

ISBN : 978-623-120-472-1

Diterbitkan oleh : **EUREKA MEDIA AKSARA, MARET 2024**
ANGGOTA IKAPI JAWA TENGAH
NO. 225/JTE/2021

Redaksi:

Jalan Banjaran, Desa Banjaran RT 20 RW 10 Kecamatan Bojongsari
Kabupaten Purbalingga Telp. 0858-5343-1992

Surel : eurekamediaaksara@gmail.com

Cetakan Pertama : 2024

All right reserved

Hak Cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh
isi buku ini dalam bentuk apapun dan dengan cara apapun,
termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman
lainnya tanpa seizin tertulis dari penerbit.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat, karunia, dan petunjuk-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan buku Analisis Makanan dan Minuman dengan baik. Buku ini merupakan hasil dari perjalanan panjang dalam memahami lebih dalam tentang analisis makanan dan minuman serta berbagai aspek yang terkait dengannya.

Analisis makanan dan minuman adalah suatu kajian yang tidak hanya memandang dari sisi rasa dan kelezatan semata, tetapi juga memperhatikan aspek nutrisi, kesehatan, keamanan pangan dan berbagai dimensi lainnya yang relevan. Dalam buku ini, kami menyajikan informasi yang komprehensif dan terkini mengenai berbagai aspek tersebut, dengan harapan dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam kepada pembaca.

Buku analisis makanan dan minuman yang berada ditangan pembaca ini terdiri atas 19 bab, yaitu :

- Bab 1 Dasar-Dasar Kimia Makanan dan Minuman
- Bab 2 Karbohidrat : Pengertian, Sumber, Jenis dan Analisis Karbohidrat
- Bab 3 Protein : Pengertian, Sumber, Fungsi, Jenis dan Analisis Protein
- Bab 4 Lemak : Komponen Lemak, Sumber, Fungsi, Jenis dan Analisis Lemak
- Bab 5 Minyak : Standard dan Faktor-Faktor Penentu Mutu Minyak
- Bab 6 Vitamin : Pengertian, Klasifikasi, Fungsi, Sumber, dan Analisis Vitamin
- Bab 7 Mineral : Pengertian, Klasifikasi, Fungsi, Sumber, dan Analisis Mineral
- Bab 8 Kadar Air
- Bab 9 Kadar Abu
- Bab 10 Analisis Formalin
- Bab 11 Analisis BTP
- Bab 12 Analisis Boraks
- Bab 13 Analisis Rhodamin B

- Bab 14 MPN Coliform
- Bab 15 MPN Coli Tinja
- Bab 16 ALT (Angka Lempeng Total)
- Bab 17 Bahan Tambahan Makanan
- Bab 18 Kerusakan Makanan dan Minuman
- Bab 19 Keamanan Pangan

Kami mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi, baik langsung maupun tidak langsung, dalam penyusunan buku ini. Semoga buku ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dalam memahami dunia analisis makanan dan minuman secara lebih holistik.

Akhir kata, kami menyadari bahwa buku ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran dari pembaca sangat kami harapkan untuk perbaikan di masa yang akan datang. Terima kasih.

Jakarta, Februari 2024

Tim Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
BAB 1 DASAR-DASAR KIMIA MAKANAN DAN MINUMAN	1
A. Pendahuluan	1
B. Komponen Utama Makanan dan Minuman	1
C. Reaksi Kimia dalam Makanan dan Minuman	3
D. Sifat Organoleptik Makanan dan Minuman	5
E. Pengolahan Makanan dan Perubahan Kimia yang Terjadi.....	6
F. Pengawetan dan Keamanan Pangan.....	8
G. Teknik Analisis Kimia Makanan dan Minuman	9
DAFTAR PUSTAKA	12
BAB 2 KARBOHIDRAT	13
A. Pengertian Karbohidrat	13
B. Sumber-Sumber Karbohidrat.....	14
C. Jenis Karbohidrat	15
D. Analisis Komponen Karbohidrat.....	18
DAFTAR PUSTAKA	25
BAB 3 PROTEIN	26
A. Pengertian dan Sumber Protein.....	26
B. Jenis dan Fungsi Protein	30
C. Analisis Protein.....	37
DAFTAR PUSTAKA	48
BAB 4 LEMAK	50
A. Pendahuluan	50
B. Komponen Lemak	50
C. Sumber Lemak	52
D. Fungsi Lemak	53
E. Jenis Lemak.....	53
F. Trigliserida.....	54
G. Fosfolipid	55
H. Steroid	56
I. Analisis Lemak.....	58
J. Metode Analisis Lemak yang Dipilih	61

	DAFTAR PUSTAKA.....	62
BAB 5	MINYAK.....	63
	A. Pendahuluan.....	63
	B. Standar Mutu Minyak	65
	C. Faktor-Faktor Penentu Kualitas Minyak.....	66
	DAFTAR PUSTAKA.....	77
BAB 6	VITAMIN.....	78
	A. Pengertian.....	78
	B. Jenis-jenis Vitamin.....	79
	C. Analisis Vitamin	87
	DAFTAR PUSTAKA.....	93
BAB 7	MINERAL.....	96
	A. Pendahuluan.....	96
	B. Definisi Mineral	96
	C. Klasifikasi Mineral	97
	D. Defisiensi Mineral dan Makanan Sumber Mineral..	101
	E. Analisis Mineral Pada Bahan Makanan	105
	DAFTAR PUSTAKA.....	113
BAB 8	KADAR AIR	115
	A. Pendahuluan.....	115
	DAFTAR PUSTAKA.....	129
BAB 9	KADAR ABU.....	130
	A. Pendahuluan.....	130
	B. Kadar Abu.....	130
	C. Analisis Kadar Abu.....	132
	D. Persiapan Sampel	133
	E. Pengabuan Kering.....	133
	F. Pengabuan Basah.....	138
	DAFTAR PUSTAKA.....	142
BAB 10	ANALISIS FORMALIN.....	143
	A. Pendahuluan.....	143
	B. Urgensi Analisis Formalin	144
	C. Metode Analisis Formalin.....	145
	D. Jenis-Jenis Metode Analisis Formalin.....	146
	E. Tahapan Analisis Formalin dengan Metode Kromatografi.....	150
	DAFTAR PUSTAKA.....	153

BAB 11	ANALISIS BAHAN TAMBAHAN MAKANAN	154
	A. Pendahuluan	154
	B. Pewarna Makanan	155
	C. Pengawet Makanan	163
	D. Antioksidan	169
	DAFTAR PUSTAKA	174
BAB 12	ANALISIS BORAKS	175
	A. Pendahuluan	175
	B. Analisis Kualitatif	177
	C. Analisis Kuantitatif	182
	DAFTAR PUSTAKA	187
BAB 13	ANALISIS RHODAMIN B	189
	A. Pendahuluan	189
	B. Nama dan Rumus Kimia Rhodamin B	190
	C. Warna dan Kelarutan Rhodamin B	191
	D. Aplikasi Rhodamin B	191
	E. Efek Rhodamin B Terhadap Kesehatan	192
	F. Pertolongan Pertama pada Keracunan Rhodamin B	195
	G. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Rhodamin B	195
	H. Analisis Kualitatif Rhodamin B Menggunakan Benang Wol	196
	I. Analisis Kualitatif Rhodamin B Menggunakan Tes Kit	197
	J. Analisis Kuantitatif Rhodamin B menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	198
	K. Analisis Kuantitatif Rhodamin B Secara Spektrofotometer Ultraviolet dan Sinar Tampak (UV-Vis)	199
	DAFTAR PUSTAKA	203
BAB 14	MPN COLIFORM	206
	A. Pendahuluan	206
	B. Pengertian <i>Coliform</i>	208
	C. Pengertian Penelitian	212
	D. Persiapan Media Kultur	214
	E. Persiapan Sampel	217

	F. Pemilihan Jumlah Seri Tabung dan Prosedur	
	MPN	218
	G. Kesalahan Umum dalam MPN	228
	DAFTAR PUSTAKA.....	230
BAB 15	MPN COLI TINJA	233
	A. Latar Belakang	233
	B. Coliform dan Coli Tinja	234
	C. <i>Escherechia coli</i>	235
	D. Morfologi <i>Escherechia Coli</i>	236
	E. Masalah Kesehatan yang Disebabkan <i>E. coli</i>	239
	F. Pemeriksaan Bakteriologis	240
	DAFTAR PUSTAKA.....	243
BAB 16	ANGKA LEMPENG TOTAL (ALT)	245
	A. Pendahuluan	245
	B. Metode Menghitung Bakteri.....	245
	DAFTAR PUSTAKA.....	264
BAB 17	BAHAN TAMBAHAN MAKANAN.....	266
	A. Pendahuluan	266
	B. Penggolongan Bahan Tambahan Makanan	268
	C. Pengaruh Penggunaan Bahan Tambahan	
	Makanan	279
	DAFTAR PUSTAKA.....	283
BAB 18	KERUSAKAN MAKANAN DAN MINUMAN	285
	A. Pendahuluan	285
	B. Makanan Sehat	286
	C. Kerusakan Makanan dan Minuman	288
	D. Pemantauan Kualitas Makanan dan Minuman	295
	E. Kesimpulan	296
	DAFTAR PUSTAKA.....	297
BAB 19	KEAMANAN PANGAN	299
	A. Pendahuluan	299
	B. Keamanan Pangan.....	300
	C. Cemarannya Pangan	301
	D. Dampak Cemarannya Pangan	302
	E. Peranan Makanan Sebagai Perantara Penularan	
	Penyakit	303

F. Kunci Keamanan Pangan	304
G. Pengendalian Keamanan Pangan.....	309
DAFTAR PUSTAKA.....	314
TENTANG PENULIS	316



ANALISIS MAKANAN DAN MINUMAN

Dr. apt. Rida Evalina Tarigan, S.Farm., M.Si
apt. Emelda, M.Farm
Ayu Puspitasari, ST, M.Si
Nuradi, S.Si., M.Kes
Christ Kartika Rahayuningsih, ST, M.Si
Muhammad Izzul Widad Fahmi, S.ST., M.Gz
Islawati, S.Pd., M.Pd
Artati, S.Si., M.Si
Afiska Prima Dewi, S.Gz., M.K.M
Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc
apt. Ahmad Irsyad Aliah, M.Si
apt. Tri Minarsih, S.Si, M.Sc
Atep Dian Supardan, S.Si., M.Si
Argo Ganda Gumilar, S.Tr.A.K
Dr. Ariyanto Nugroho, SKM, M.Sc
Bambang Supriyanta, S.Si., M.Sc
Dwi Ayu Lestari, S.Gz., M.Gizi
Subur Wibowo, S.SiT., M.Biomed
Tuty Hertati Purba, SKM., M.Kes

BAB

1

DASAR-DASAR KIMIA MAKANAN DAN MINUMAN

Dr. apt. Rida Evalina Tarigan, S.Farm., M.Si

A. Pendahuluan

Kimia makanan dan minuman adalah cabang ilmu kimia yang khusus mempelajari komposisi, sifat, struktur, reaksi, dan interaksi bahan-bahan yang terdapat dalam makanan dan minuman. Bidang ini mencakup berbagai aspek yang berkaitan dengan aspek kimia dalam produksi, pengolahan, pengawetan, dan konsumsi makanan dan minuman. Ini melibatkan pemahaman struktur molekul komponen makanan seperti karbohidrat, protein, lipid, vitamin, mineral, dan air, serta perannya dalam nutrisi, rasa, aroma, tekstur, dan warna. Kimia makanan dan minuman juga melibatkan penyelidikan reaksi kimia yang terjadi selama pemasakan, fermentasi, oksidasi, dan metode pengolahan lainnya, serta pengembangan dan analisis bahan tambahan makanan, pengawet, dan senyawa perasa. Secara keseluruhan, bahan kimia makanan dan minuman memainkan peran penting dalam memastikan keamanan, kualitas, dan atribut sensorik produk makanan dan minuman (Cheung dan Mehta, 2015).

B. Komponen Utama Makanan dan Minuman

Komponen utama makanan dan minuman mencakup berbagai zat kimia yang menyusun struktur dasar dan memberikan sifat khas pada makanan dan minuman. Berikut adalah komponen utama makanan dan minuman:

1. Karbohidrat

Karbohidrat adalah sumber utama energi dalam makanan dan minuman. Karbohidrat terdiri dari unit-unit gula seperti glukosa, fruktosa, sukrosa dan pati. Sumber utama karbohidrat termasuk sereal, biji-bijian, roti, pasta, buah-buahan dan sayuran. Fungsi utama karbohidrat adalah menyediakan energi untuk tubuh (Fahmi, 2022).

2. Protein

Protein adalah molekul yang terdiri dari rantai asam amino. Fungsi protein sangat beragam, termasuk pembentukan dan perbaikan jaringan tubuh, produksi enzim dan hormon, serta transportasi zat-zat dalam tubuh. Sumber protein termasuk daging, ikan, telur, produk susu, kacang-kacangan, biji-bijian dan kedelai.

3. Lemak

Lemak adalah sumber energy yang padat. Terdiri dari asam lemak jenuh dan tak jenuh, serta memiliki peran penting dalam penyediaan energi, penyerapan vitamin larut dalam lemak (seperti vitamin A, D, E, dan K), dan pembentukan membran sel. Sumber lemak termasuk minyak nabati, mentega, daging berlemak, kacang-kacangan.

4. Vitamin

Vitamin adalah senyawa organik yang diperlukan dalam jumlah kecil untuk fungsi tubuh yang sehat. Mereka terlibat dalam berbagai proses biokimia yang penting. Vitamin dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan kelarutannya dalam air: vitamin larut dalam air (misalnya vitamin C dan vitamin B kompleks) dan vitamin larut dalam lemak (misalnya vitamin A, D, E, dan K). Sumber vitamin termasuk buah-buahan, sayuran, biji-bijian, produk susu, daging, dan ikan (Tarigan, 2019).

5. Mineral

Mineral adalah zat anorganik yang diperlukan untuk fungsi tubuh yang normal. Mereka berperan dalam proses metabolisme, pembentukan jaringan tubuh, dan menjaga

keseimbangan air dan elektrolit. Contoh mineral termasuk kalsium, besi, magnesium, natrium, kalium, fosfor, dan seng. Sumber mineral termasuk produk susu, sayuran hijau, daging, ikan, biji-bijian, kacang-kacangan, dan makanan yang diperkaya.

6. Air

Air adalah komponen utama dalam makanan dan minuman serta esensial bagi kehidupan. Fungsi air termasuk menjaga keseimbangan cairan tubuh, mengatur suhu tubuh, serta melarutkan dan mengangkut nutrisi dalam tubuh. Air juga digunakan dalam proses memasak, pengolahan makanan, dan pembuatan minuman (Galuh, 2019).

C. Reaksi Kimia dalam Makanan dan Minuman

Adapun reaksi kimia dalam makanan dan minuman adalah sebagai berikut:

1. Reaksi Maillard

Reaksi Maillard adalah reaksi antara gula (biasanya glukosa atau fruktosa) dengan asam amino bebas (biasanya lisin atau arginin) dalam kehadiran panas. Ini umumnya terjadi selama proses pemanggangan, penggorengan, atau pengolahan makanan pada suhu tinggi. Dalam reaksi ini, gula bereaksi dengan gugus amina pada asam amino untuk membentuk senyawa-senyawa kompleks yang memberikan rasa, aroma, dan warna khas pada makanan yang diproses panas, seperti kerak roti, kopi panggang, atau daging panggang. Senyawa yang dihasilkan dari reaksi Maillard termasuk melanoidin, yang memberikan warna coklat pada roti panggang dan rasa yang khas pada kopi panggang (Basuki, dkk., 2019).

2. Reaksi Fermentasi

Fermentasi adalah proses biokimia di mana mikroorganisme, seperti ragi, bakteri, atau jamur, mengonsumsi gula dan mengubahnya menjadi produk sampingan, seperti alkohol, asam organik, atau gas. Contoh fermentasi dalam makanan termasuk fermentasi susu

menjadi yogurt atau keju oleh bakteri asam laktat, atau fermentasi anggur atau bir oleh ragi yang menghasilkan alkohol dan karbon dioksida. Fermentasi juga digunakan untuk menghasilkan berbagai produk pangan seperti tempe, kimchi, dan sauerkraut, yang semuanya mengalami perubahan kimia yang terkait dengan pertumbuhan mikroorganisme (Setiarto, 2020).

3. Oksidasi Lemak

Oksidasi lemak terjadi ketika lemak dalam makanan bereaksi dengan oksigen udara, menghasilkan senyawa oksidasi seperti aldehida dan keton. Proses ini dapat menyebabkan ketengikan pada makanan, yang ditandai dengan perubahan rasa dan aroma yang tidak diinginkan. Misalnya, minyak sayur atau lemak hewani dapat menjadi asam lemak bebas yang memiliki rasa dan bau yang tidak sedap. Untuk menghambat oksidasi lemak, bahan tambahan antioksidan seperti vitamin E atau BHA (butylated hydroxyanisole) sering ditambahkan ke dalam makanan dan minuman yang mengandung lemak (Apriyanto, 2021).

4. Hidrolisis

Hidrolisis adalah reaksi kimia di mana molekul-molekul besar dipecah menjadi molekul-molekul kecil dengan penambahan air. Ini sering terjadi selama pencernaan makanan di dalam tubuh manusia atau selama proses pengolahan makanan. Sebagai contoh, amilase dalam saliva dan pankreas membantu menghidrolisis karbohidrat kompleks seperti pati menjadi gula sederhana seperti glukosa dan maltosa selama pencernaan makanan. Hidrolisis juga terjadi selama pengolahan makanan, seperti pembuatan saus tomat di mana enzim atau asam ditambahkan untuk memecahkan sel-sel buah tomat menjadi pasta.

5. Polimerisasi

Polimerisasi adalah proses kimia di mana molekul-molekul kecil bergabung membentuk molekul-molekul yang lebih besar, disebut polimer. Dalam makanan, polimerisasi

dapat terjadi selama pemanasan atau proses pengolahan lainnya. Misalnya, kolagen dalam daging bisa mengalami polimerisasi selama pemasakan, membentuk gelatin yang memberikan tekstur kenyal pada makanan seperti agar-agar atau marshmallow. Polimerisasi juga dapat terjadi selama proses pembuatan roti, di mana protein gluten dalam tepung terigu berinteraksi dan membentuk jaringan protein yang memberikan tekstur elastis pada adonan roti (Hastuti. 2016).

D. Sifat Organoleptik Makanan dan Minuman

Sifat organoleptik makanan dan minuman mengacu pada karakteristik yang dapat dirasakan oleh indera manusia, yaitu sebagai berikut:

1. Rasa

Rasa adalah sensasi yang dirasakan di lidah yang berasal dari interaksi zat kimia dengan reseptor rasa di lidah. Lima rasa dasar yang diakui adalah manis, asam, asin, pahit, dan umami. Kombinasi rasa ini memberikan kompleksitas yang khas pada makanan dan minuman. Contoh rasa dalam makanan termasuk manisnya gula dalam permen, keasaman dari buah citrus, asinnya garam, pahitnya kopi, dan umami yang terasa dalam daging panggang.

2. Aroma

Aroma adalah sensasi yang dirasakan melalui indera penciuman, yang berasal dari uap senyawa-senyawa volatil yang terlepas dari makanan atau minuman. Aroma dapat memberikan informasi tentang kualitas dan jenis makanan, serta mempengaruhi pengalaman sensorik secara keseluruhan. Contoh aroma dalam makanan termasuk aroma segar dari buah-buahan, aroma khas dari kopi panggang, aroma bunga yang menyegarkan dari teh herbal, dan aroma rempah-rempah yang kaya dari masakan kari.

3. Warna

Warna makanan dan minuman dapat memberikan indikasi tentang kematangan, jenis, dan kualitasnya. Warna dapat dipengaruhi oleh pigmen alami atau bahan tambahan

pewarna yang ditambahkan selama proses pengolahan. Contoh warna dalam makanan termasuk merah cerah dari tomat matang, hijau segar dari sayuran daun, coklat dari cokelat, dan kuning dari telur.

4. Tekstur

Tekstur mengacu pada bentuk fisik saat makanan atau minuman dimakan, termasuk kelembutan, kekenyalan, kerapuhan, atau kerenyahan. Tekstur dipengaruhi oleh komposisi kimia, struktur, dan metode pengolahan makanan atau minuman. Contoh tekstur dalam makanan termasuk tekstur lembut dari krim keju, tekstur renyah dari keripik kentang, tekstur kenyal dari jelly, dan tekstur berserat dari daging panggang (Tarigan, 2019).

E. Pengolahan Makanan dan Perubahan Kimia yang Terjadi

Pengolahan makanan adalah serangkaian proses yang dilakukan untuk mengubah bahan mentah menjadi produk makanan yang siap dikonsumsi. Selama proses ini, berbagai perubahan kimia terjadi yang mempengaruhi sifat organoleptik, keamanan, dan kualitas nutrisi dari makanan yang dihasilkan. Pengolahan makanan dan perubahan kimia yang terjadi selama proses tersebut adalah sebagai berikut (Estiasih, dkk., 2022):

1. Pemanasan

Pemanasan adalah proses yang umum digunakan dalam pengolahan makanan untuk mengubah atau memperbaiki tekstur, rasa, dan keamanan pangan. Selama pemanasan, terjadi berbagai reaksi kimia, termasuk Reaksi Maillard yang terjadi antara gula dan asam amino, membentuk rasa dan aroma yang khas pada makanan yang dipanggang atau dipanggang. Pemanasan juga dapat mengaktifkan enzim dalam makanan atau membunuh mikroorganisme patogen yang berpotensi menyebabkan keracunan makanan.

2. Pendinginan

Pendinginan adalah proses mengurangi suhu makanan setelah pemanasan atau selama penyimpanan untuk memperlambat pertumbuhan mikroorganisme dan mencegah kerusakan. Perubahan kimia yang terjadi selama pendinginan biasanya terkait dengan pengurangan laju reaksi kimia dan pertumbuhan mikroba karena suhu yang lebih rendah. Pendinginan dapat mengubah tekstur makanan, seperti pembekuan air yang menghasilkan kristal es, yang dapat mempengaruhi struktur makanan seperti daging atau buah.

3. Pengeringan

Pengeringan adalah proses menghilangkan sebagian besar air dari makanan untuk memperpanjang umur simpan, mengurangi berat, dan mempertahankan kualitas nutrisi. Perubahan kimia yang terjadi selama pengeringan dapat meliputi konsentrasi senyawa rasa dan aroma, peningkatan kandungan gula, dan pembentukan senyawa baru akibat reaksi Maillard. Pengeringan juga dapat mempengaruhi tekstur makanan, menghasilkan produk yang lebih renyah atau kering, tergantung pada proses pengeringan yang digunakan.

4. Pengawetan

Pengawetan adalah proses menjaga makanan agar tetap segar dan aman untuk dikonsumsi dengan menghambat pertumbuhan mikroorganisme, oksidasi, atau perubahan enzimatik. Perubahan kimia yang terjadi selama pengawetan mungkin melibatkan penggunaan bahan tambahan seperti garam, gula, atau asam, yang mengubah kandungan air, pH, atau aktivitas air produk. Pengawetan juga dapat melibatkan proses kimia seperti pengasaman, pengasinan, atau pengalengan, yang dapat mengubah sifat organoleptik makanan.

5. Pengolahan Pangan Modern

Pengolahan pangan modern melibatkan penggunaan teknologi canggih seperti pemrosesan termal, pengawetan tekanan tinggi, atau iradiasi makanan. Proses ini dapat menyebabkan perubahan kimia seperti denaturasi protein, degradasi vitamin, atau pembentukan senyawa toksik. Pengolahan modern juga dapat melibatkan penggunaan bahan tambahan atau aditif makanan, yang dapat mempengaruhi komposisi kimia dan sifat organoleptik makanan.

F. Pengawetan dan Keamanan Pangan

Pengawetan dan keamanan pangan merupakan dua aspek penting yang berperan dalam menjaga kualitas, kesegaran, dan keamanan produk pangan yang dikonsumsi oleh masyarakat. Dalam upaya menjaga produk pangan tetap layak konsumsi dan aman, beberapa hal yang perlu dipertimbangkan termasuk penggunaan bahan pengawet, aditif pangan, pencegahan kontaminasi, dan keamanan produk pangan (Sulandari dan Bahar, 2021).

1. Penggunaan Bahan Pengawet

Penggunaan bahan pengawet merupakan salah satu strategi yang umum digunakan dalam industri makanan untuk memperpanjang masa simpan produk pangan. Bahan pengawet berperan dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang dapat menyebabkan kerusakan atau keracunan makanan. Berbagai jenis bahan pengawet, baik alami maupun sintesis, digunakan dalam proses pengawetan makanan untuk menjaga kesegaran dan keamanannya.

2. Aditif Pangan

Aditif pangan adalah zat yang ditambahkan ke dalam produk pangan untuk tujuan tertentu, seperti memperbaiki rasa, tekstur, warna, atau memperpanjang masa simpan. Aditif pangan dapat berupa zat kimia atau bahan alami yang harus melewati penilaian keamanan sebelum digunakan dalam produksi makanan. Penggunaan aditif pangan yang

tepat dapat membantu meningkatkan kualitas produk pangan tanpa mengorbankan keamanan konsumen.

3. Kontaminasi dan Cara Pencegahannya

Kontaminasi makanan dapat terjadi melalui berbagai jalur, baik mikrobiologis, kimia, maupun fisik. Kontaminasi mikrobiologis oleh bakteri, virus, atau parasit dapat menyebabkan keracunan makanan dan penyakit terkait. Kontaminasi kimia dapat berasal dari zat berbahaya yang terdapat dalam bahan baku atau lingkungan produksi. Sedangkan kontaminasi fisik dapat terjadi melalui benda asing yang masuk ke dalam produk pangan. Pencegahan kontaminasi melibatkan praktik sanitasi yang baik, pengawasan ketat terhadap bahan baku dan lingkungan produksi, serta pemilihan metode pengawetan yang sesuai.

4. Keamanan Produk Pangan

Keamanan produk pangan merupakan prioritas utama dalam industri makanan untuk melindungi kesehatan konsumen. Untuk memastikan keamanan produk pangan, diperlukan pengawasan yang ketat dari tahap produksi hingga distribusi, termasuk pemantauan bahan baku, proses produksi yang higienis, penggunaan bahan pengawet dan aditif pangan yang aman, serta pengujian produk akhir sebelum dipasarkan. Regulasi pangan yang ketat dan sistem pelacakan dan penarikan juga penting dalam menangani masalah keamanan pangan dengan cepat dan efektif.

G. Teknik Analisis Kimia Makanan dan Minuman

Teknik analisis kimia makanan dan minuman digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur komponen-komponen kimia dalam sampel makanan dan minuman. Berikut adalah beberapa teknik analisis kimia yang umum digunakan dalam industri makanan dan minuman (Tarigan, 2019).

1. Spektrofotometri Ultraviolet-Visible

Teknik ini digunakan untuk mengukur absorpsi cahaya ultraviolet-visible oleh senyawa-senyawa kimia dalam sampel. Ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi

senyawa seperti pigmen, vitamin, dan fenolat dalam makanan dan minuman.

2. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Kromatografi cair kinerja tinggi adalah teknik pemisahan yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengukur komponen-komponen kimia dalam sampel. Ini sering digunakan untuk analisis senyawa-senyawa seperti vitamin, asam amino, dan pengawet dalam makanan dan minuman.

3. Kromatografi Gas

Kromatografi gas adalah teknik pemisahan yang digunakan untuk memisahkan dan mengukur senyawa-senyawa yang mudah menguap dalam sampel. Ini sering digunakan untuk analisis lemak, minyak atsiri, dan senyawa volatil lainnya dalam makanan dan minuman.

4. Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR)

Teknik ini digunakan untuk menganalisis spektrum inframerah yang dihasilkan oleh molekul-molekul dalam sampel. Ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa seperti lemak, karbohidrat, dan protein dalam makanan dan minuman.

5. Elektroforesis Kapiler

Teknik ini digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan muatan dan ukuran mereka dalam sampel. Ini sering digunakan untuk analisis protein, asam nukleat, dan vitamin dalam makanan dan minuman.

6. Spektrometri Massa

Teknik analisis ini digunakan untuk mengukur massa molekul senyawa-senyawa dalam sampel. Ini sering digunakan bersama dengan teknik pemisahan seperti kromatografi cair kinerja tinggi atau kromatografi gas untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa kompleks dalam makanan dan minuman.

7. Metode Kimia Konvensional

Metode kimia konvensional seperti titrasi, gravimetri, dan spektrofotometri sering digunakan untuk mengukur konsentrasi senyawa-senyawa spesifik dalam makanan dan minuman.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyanto, M. (2021) Buku Ajar Kimia Pangan. Yogyakarta: Nuta Media.
- Basuki, E., Widyaastuti, S., Prarudiyanto, A., Saloko, S., Cicilia, S., Amaro, M. (2019) Buku Ajar Kimia Pangan. Mataram: Mataram University Press.
- Cheung, P. C.K dan Mehta, B.M. (2015) Handbook Of Food Chemistry. Springer Berlin Heidelberg.
- Estiasih, T., Harijono, Waziroh E., Fibrianto, K. (2016) Kimia dan Fisik Pangan. Jakarta: Bumi Aksara.
- Fahmi, F. (2022) Bahan Ajar Analisis Makanan dan Minuman. Bandung: Widina Media Utama.
- Galuh, G. R. (2019) Bahan Ajar Kimia Amami (Analisa Makanan Minuman). Sidoarjo: Umsida Press.
- Hastuti, S. B. (2016) Kimia dan Fisik Pangan. Jakarta: Bumi Aksara.
- Setiarto, R. H. B (2020) Teknologi Fermentasi Pangan Tradisional dan Produk Olahannya. Ciracas: Guepedia.
- Sulandari, L. dan Bahar, A. (2021) Modul Dasar-Dasar Pengawetan Pangan (1). Surabaya: Scopindo Media Pustaka
- Tarigan, I. L. (2019) Dasar-Dasar Kimia Air Makanan dan Minuman. Malang: Media Nusa Creative.

BAB

2

KARBOHIDRAT

apt. Emelda, M.Farm

A. Pengertian Karbohidrat

Karbohidrat adalah suatu biomolekul yang terdiri atas unsur Karbon (C), Hidrogen (H) dan Oksigen (O). Memiliki formula empiris $C_m(H_2O)_n$, dimana m adalah banyaknya jumlah atom karbon dan n adalah banyaknya jumlah molekul H_2O . Jumlah m dan n dapat sama ataupun berbeda. Dalam biokimia, istilah karbohidrat biasa disebut dengan istilah Sakarida yang merupakan suatu kelompok yang mencakup gula, pati, dan selulosa. Pada beberapa literatur, karbohidrat juga mempunyai nama lain seperti gula, ose, glucide, *hydrate of carbon*, atau komponen polihidroksi (-OH) dengan penyusun Aldehid atau keton. Bahkan pada beberapa referensi yang berhubungan dengan pangan, karbohidrat sering diartikan dengan bahan makanan apapun yang kaya akan pati disebut dengan karbohidrat kompleks seperti sereal, roti, pasta dan makanan yang mengandung karbohidrat sederhana seperti gula yang biasa terdapat dalam permen, dessert, dan selai.

Karbohidrat mempunyai peran penting pada makhluk hidup. Seperti Polisakarida yang berperan dalam penyimpanan energi (Contoh: pati, glikogen) dan sebagai penyusun struktural seperti selulosa yang terdapat dalam tanaman dan Chitin yang ada pada arthropoda (Benjamin, 2022).

B. Sumber-Sumber Karbohidrat

Sumber utama karbohidrat terdapat pada sayuran, buah-buahan, biji-bijian, susu, dan produk susu. Pati banyak terkandung pada biji-bijian dan sayuran terutama jagung dan kentang. Sedangkan ubi jalar mengandung sebagian besar sukrosa. Buah-buahan dan sayuran yang berwarna hijau tua mengandung sedikit atau tidak mengandung pati. Tetapi banyak menyediakan gula dan serat makanan (Slavin and Carlson, 2014). Sumber-sumber karbohidrat dapat dikelompokkan menjadi 4 tipe yaitu karbohidrat sederhana (Simple carbohydrate), karbohidrat bertepung (Starchy carbohydrate), Karbohidrat berserat (Fibrous carbohydrate), karbohidrat kompleks (complex carbohydrate). Karbohidrat sederhana ditemukan pada buah-buahan segar seperti apel, pisang, jeruk, nanas, kentang-kentangan, buah beri. Selain itu susu juga mengandung karbohidrat sederhana. Karbohidrat bertepung ditemukan pada biji-bijian, roti, gandum, kacang-kacangan, kentang, ubi jalar dan sereal. Karbohidrat berserat ditemukan pada sayuran segar seperti labu kuning, wortel, tomat, buncis, brokoli, mentimun, labu siam dan sayuran segar yang lain. Karbohidrat kompleks ditemukan pada kacang-kacangan, kacang polong, biji-bijian, barley, oat, beras, nasi merah. Karbohidrat kompleks merupakan karbohidrat yang baik karena mengandung pati dan serat. Karbohidrat jenis ini tidak meningkatkan kadar gula dalam darah.

Tabel 2.1. Jenis Karbohidrat dan Sumbernya (*CH103 - Chapter 8: The Major Macromolecules - Chemistry, no date*)

Jenis karbohidrat	Contoh	Sumber
Monosakarida	Glukosa	Anggur manis, gula darah
	Galaktosa	Komponen laktosa dalam susu
	Fructosa	Buah-buahan dan madu

Jenis karbohidrat	Contoh	Sumber
	Ribosa	DNA
	Deoksiribosa	RNA
Disakarida	Sukrosa	Gula tebu, Gula beet
	Laktosa	Susu
	Maltosa	Biji-bijian, komponen pembuatan bir
Polisakarida	Pati	Gandum beras, jagung, oat, barley, umbi-umbian
	Selulosa	Dinding sel tanaman
	Glikogen	Hewan dan manusia

C. Jenis Karbohidrat

Berdasarkan referensi, karbohidrat secara garis besar dibedakan menjadi 3 jenis yaitu Gula, Gula alkohol (Polyols) dan jenis karbohidrat lain (oligosakarida dan pati-patian) serta serat makanan. **Gula** secara konvensional menunjukkan suatu monosakarida seperti gula, fruktosa, dan galaktosa; disakarida seperti sukrosa, maltosa dan laktosa yang diserap, dicerna dan dimetabolisme secara utuh. Pengelompokan jenis karbohidrat dan penyerapannya di dalam usus halus ditunjukkan pada Gambar 2.1.

Gula alkohol (polyols) adalah bentuk karbohidrat yang berasal dari mono dan disakarida yang mengandung alkohol. Contoh dari gula alkohol adalah Erythritol, pati hidrolisat terhidrogenasi, isomalt, Lactitol, Maltitol, Mannitol, Sorbitol, Xylitol. Jenis ini biasa digunakan sebagai bahan tambahan makanan pada penelitian yang membandingkan gula alkohol dengan fruktosa, sukrosa atau glukosa dalam jumlah yang sama pada individu dengan diabetes. Gula alkohol menghasilkan

respon glukosa prandial yang jauh lebih rendah. Karbohidrat lain seperti amilopektin dan amilosa. Amilopektin mengandung polimer glukosa linier dan bercabang membentuk sekitar 70-80% pati dan cukup dapat dicerna. Sedangkan amilosa merupakan sekumpulan polimer glukosa linier yang membentuk sekitar 20-30% pati, kurang dapat dicerna dibandingkan amilopektin. **Serat makanan** adalah polisakarida bukan pati dan lignin yang tidak dicerna oleh enzim di usus halus sehingga tidak dianggap sebagai bagian dari suplai glukosa secara langsung (Wheeler and Pi-Sunyer, 2008).

Tabel 2.2. Pengelompokan Jenis Karbohidrat dan penyerapannya di dalam usus halus (Wheeler and Pi-Sunyer, 2008)

No.	Jenis karbohidrat	Contoh	Penyerapan dan Pencernaan di dalam usus halus
1	Monosakarida	Glukosa Fruktosa Galaktosa	+
		Sorbitol, mannitol	+/-
2	Disakarida	Sukrosa Maltosa Laktosa	+
		Lactitol Maltitol	+/-
3	Oligosakarida	□-galaktosida (raffinose, stachyose)	-
		Fruktooligosakari da	-
		Maltodekstrin	+
		polidekstroza	-

No.	Jenis karbohidrat	Contoh	Penyerapan dan Pencernaan di dalam usus halus
4	Pati polisakarida (□-glucans)	Amilosa Amilopektin Pati termodifikasi	+/-
5	Polisakarida non pati (non-□-glucans)	Selulosa Hemiselulosa Pektin □-Glucans	-
		Inulin atau Fructan	-
		Eksudat tanaman (ispaghula/psyllium)	-
		Polisakarida Algal	-

Keterangan:

+ : Tercerna dan terserap 100% di dalam usus halus

+/- : Tercerna dan terserap 2-90% di dalam usus halus

- : Tidak tercerna dan tidak terserap di dalam usus halus

Tabel 2.3. Perbedaan Jenis Karbohidrat Berdasarkan Karakter yang dimiliki (Mondal, 2017)

Karakter	Monosakarida	Oligosakarida	Polisakarida
Jumlah molekul gula	1	2-9	>9
Ikatan glikosidik	Tidak ada	Ada	Ada
Rasa	Manis	Sedikit manis	Tidak manis
Kelarutan	Larut	Larut	Tidak Larut
Sifat	Gula pereduksi	Gula pereduksi dan non gula pereduksi	Non gula pereduksi

Karakter	Monosakarida	Oligosakarida	Polisakarida
Contoh	Glukosa, Fruktosa, Galaktosa	Sukrosa, Maltosa	Pati, Glikogen, Dekstrin, Selulosa

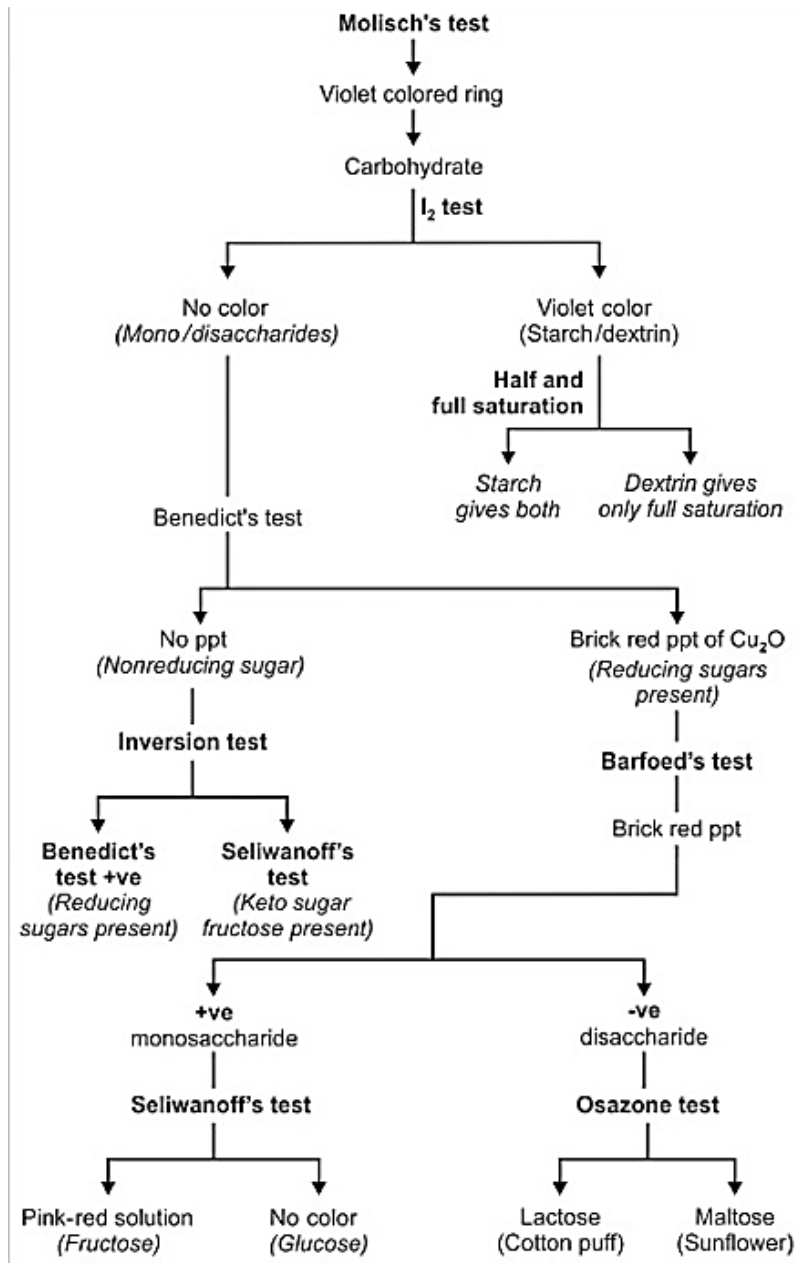
D. Analisis Komponen Karbohidrat

Komponen karbohidrat dapat dianalisis secara kualitatif maupun kuantitatif. Analisis secara kualitatif dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti uji Molisch, uji Benedict, Barfoed Seliwanoff's dan osazon (Gambar 2.1). Secara kuantitatif dapat ditetapkan dengan beberapa cara berikut:

1. Metode Kolorimetri

a. Asam Sulfat-Fenol

Metode ini dapat digunakan untuk pengukuran kandungan gula sederhana, oligosakarida dan turunannya termasuk kelompok Pentosa metilase pada polisakarida proteoglycans, glycoprotein, dan glikolipid. Metode ini banyak digunakan karena metodenya yang sederhana, cepat dan memiliki sensitivitas yang baik. Asam sulfat pekat akan memecah polisakarida, oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida. Monosakarida akan didehidrasi dengan asam sulfat pekat dan membentuk turunan furfural. Kemudian furfural yang direaksikan dengan fenol akan membentuk kompleks berwarna kuning. Komponen akan teramati pada Panjang gelombang maksimum 490 nm untuk Heksosa dan 480 nm untuk Pentosa dan Asam uronic (asam glucuronic dan asam galakturonik) (Kurzyna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022)



Gambar 2.1. Analisis karbohidrat secara kualitatif (Purohit, 2013)

b. Anthrone

Metode Anthrone mempunyai kesamaan dengan asam sulfat-fenol yaitu pengujian berdasarkan reaksi pembentukan senyawa furfural yang akan mengoksidasi asam sulfat dengan anthrone (9,10-dihydro-9-ozoanthracene) membentuk senyawa reaktif anthranol. Reaksi kompleks biru-hijau yang terbentuk akan terbaca pada Panjang gelombang maksimum 625 nm. Intensitas warna pada Panjang gelombang maksimum akan bervariasi tergantung pada komposisi polisakarida. Intensitas warna rendah apabila polisakarida yang dianalisis mengandung campuran asam uronat dan heksosamin seperti fukosamin, glukosamin, galaktosamin, mannosamin, dan pneusamine. Metode ini mempunyai keterbatasan dari stabilitas pada reagen warna. Anthranol aktif menjadi tidak stabil karena adanya proses oksidasi yang menyebabkan hilangnya kromomer yang menghasilkan warna kecoklatan. Untuk menghindari ini, pada pengujian biasa ditambahkan antioksidan seperti tiourea. Metode ini sangat bergantung pada konsentrasi asam sulfat dan jalannya lama reaksi karena adanya perbedaan sensitivitas terhadap gula monomer dan polimer. Modifikasi metode ini telah dilakukan seperti modifikasi mikrotimer yang menggantikan reagen anthrone dengan 2-fenoksietanol yang memiliki sensitifitas lebih baik dan reaktivitas yang tinggi terhadap asam uronat yang akan terbaca pada Panjang gelombang maksimum 500 nm (Kurzyna-Szklarek, Czybulska and Zdunek, 2022).

c. 3-Methyl-2-benzo thiazoline Hydrazine Hydrochloride (MBTH)

Metode ini terdiri atas 3 tahapan. Tahap pertama melibatkan reduksi monosakarida dengan Kalium Borohidrida (KBH_4) menjadi alditol yang sesuai. Kemudian di tahap kedua, alditol diolah menjadi Asam Per-Iodic (HIO_4) dan gugus alditol glikol menghasilkan

formaldehida. Pada tahap ke-3, senyawa akan bereaksi dengan MBTH membentuk kompleks biru yang terbaca pada Panjang gelombang maksimum 635 nm. Jenis karbohidrat yang dapat dianalisis dengan metode ini adalah gula netral (pentosa, heksosa, dan gula deoksi), gula amino, asam uronat, gula alcohol, dan beberapa disakarida seperti maltosa. Metode ini memiliki LOD yang rendah yaitu 420-500 nM dengan presisi di bawah 10% pada tingkat μ m. karena metode ini melibatkan 3 tahapan reaksi, sehingga memiliki kekurangan yaitu waktu dan tenaga yang relatif tinggi (Kurzyna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022).

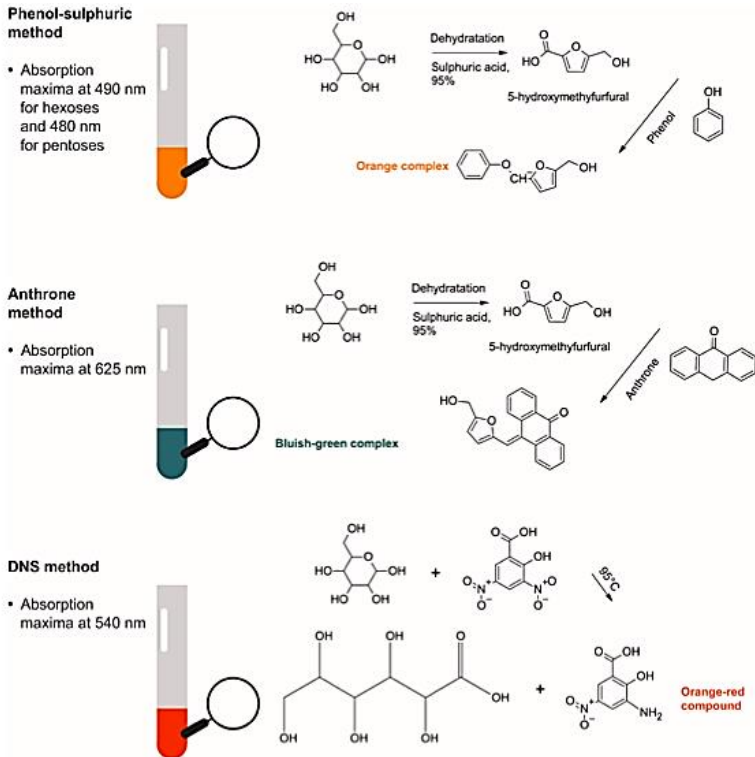
d. Dinitrosalicylic acid (DNS)

Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi gula pereduksi yang dianggap sebagai metode yang cepat dan mudah dilakukan. Metode ini berdasarkan pada reaksi oksidasi gugus gula aldehida fungsional menjadi asam karboksilat dan reduksi asam 3,5-dinitrosalisilat menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat pada kondisi basa dan panas. Menghasilkan komponen warna aromatic yang terbaca pada Panjang gelombang maksimum 540 nm dan glukosa sebagai standar. Metode ini mempunyai keterbatasan pada intensitas warna yang berbeda tergantung pada jenis gula pereduksi. Gula dengan ikatan yang lebih banyak akan mengalami oksidasi berlebih sehingga metode ini kurang cocok untuk mengukur gula dalam campurannya (Kurzyna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022).

e. Somogyi and nelson's (SN)

Metode ini digunakan untuk menentukan kandungan gula pereduksi berdasarkan pada kemampuannya melakukan oksidasi dan pengukuran reduksi dengan reagen Cu(tembaga) pada larutan basa. Reagen Somogyi (Alkaline copper tartrate) ditambahkan pada larutan gula pereduksi. Setelah pemanasan, gula akan mereduksi tembaga menjadi tembaga oksida.

Reagen Nelson (asam arsenomolibdenat) digunakan untuk menghindari reoksidasi karena tembaga oksida yang tidak stabil yang akan menghasilkan warna Molybdenum biru pada Panjang gelombang maksimum 520 nm.



Gambar 2.2. Gambaran Metode Deteksi Karbohidrat menggunakan metode Asam sulfat-fenol, Antrone dan DNS

2. HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Metode ini paling efektif untuk penentuan karbohidrat secara kualitatif maupun kuantitatif yang direkomendasikan oleh AOAC internasional sebagai teknik standar untuk analisis karbohidrat. Teknik analisis cepat, menghasilkan uji yang akurat. Namun memiliki kesulitan dalam analisis monosakarida karena monosakarida yang memiliki sifat kimia serupa dan sebagian besar dalam bentuk enantiomer,

diastereomer, dan epimer sehingga sulit dipisahkan secara bersamaan. Sebagian besar monosakarida tidak dapat dianalisis dengan menggunakan detektor seperti HPLC, Ultraviolet (UV), fotodiode (PDA) dan Fluoresensi (FD) karena pada strukturnya tidak mengandung kromofor dan fluorofor, dan Sebagian besar karbohidrat tidak bermuatan (Kurzyrna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022).

3. ELSD (Evaporative Light Scattering Detector)

ELSD biasa digunakan sebagai detector untuk mendeteksi karbohidrat dan asam organik yang tidak dapat teramati dengan detektor lain tanpa proses derivatisasi. Intensitas sinyal detektor bergantung pada konsentrasi sampel dan tidak terkait dengan sifat spectral atau fisikokimia. ELSD cocok digunakan untuk deteksi monosakarida, oligosakarida serta polisakarida seperti pati (Kurzyrna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022).

4. CAD (Corona Charged Aerosol Detector)

Merupakan metode yang hampir sama seperti ELSD. Detektor CAD relatif mudah digunakan karena hanya memerlukan tekanan nitrogen tinggi dan harga yang rendah. Respon CAD tidak bergantung pada sifat molekul yang dianalisis serta sifat spektral dan fisikokimianya. Sangat cocok untuk mendeteksi semua molekul yang tidak mudah menguap (Kurzyrna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022).

5. RID (Refractive Index Detector)

Prinsip metode ini adalah berdasarkan pada pengukuran indeks bias sampel yang dilusi. Metode ini ini biasa digunakan untuk analisis gula bersamaan dengan teknik kromatografi (Kurzyrna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022).

6. UV/UV-VIS

Deteksi Fluoresensi dan UV jarang digunakan untuk deteksi gula karena sensitivitas yang relatif rendah, memerlukan waktu lama untuk preparasi dan dapat

merubah struktur kimia gula (Kurzyna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022).

7. LC/MS

Metode ini digunakan untuk analisis karbohidrat karena memiliki sensitivitas, spesifisitas, simplisitas dan waktu yang pendek. Prinsip berdasarkan pada ionisasi komponen kimia dan juga pembentukan partikel atau fragmen bermuatan. Detektor MS digunakan untuk identifikasi monosakarida maupun jenis karbohidrat yang belum diketahui (Kurzyna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022).

8. Kromatografi Gas (GC)

Kromatografi gas merupakan metode yang baik untuk penentuan karbohidrat jenis monosakarida. Dibandingkan kromatografi cair, GC mempunyai kemampuan pemisahan yang lebih baik dan dapat mendeteksi komponen kiral dengan waktu yang relatif singkat. Derivatisasi perlu dilakukan sebelum analisis karena sifat karbohidrat yang tidak mudah menguap. Penentuan karbohidrat menggunakan GC dapat dilakukan derivatisasi menggunakan agen derivatif turunan metil ester, trifloroasetat, trimetilsilil eter (TMS), trimetilsilil oksil (TMSO). TMS dan TMSO biasa digunakan karena memiliki kemampuan reduksi ketose dan aldose, melindungi keton dan aldehid dan mencegah pembentukan struktur cincin (Kurzyna-Szklarek, Cybulska and Zdunek, 2022).

DAFTAR PUSTAKA

- Benjamin, L. (2022) Biochemistry of carbohydrates, Biochemical Education. doi: 10.1016/0307-4412(76)90120-5.
- CH103 - Chapter 8: The Major Macromolecules - Chemistry (no date). Available at: <https://wou.edu/chemistry/chapter-11-introduction-major-macromolecules/> (Accessed: 22 February 2024).
- Kurzyna-Szklarek, M., Cybulska, J. and Zdunek, A. (2022) 'Analysis of the Chemical Composition Of Natural Carbohydrates - An overview of methods', Food Chemistry, 394, p. 133466. doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2022.133466.
- Mondal, S. (2017) UNIT - II Carbohydrate Metabolism (Chemistry of Carbohydrates). doi: 10.13140/RG.2.2.32509.67040.
- Purohit, P. (2013) Practical Biochemistry for BDS. Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Slavin, J. and Carlson, J. (2014) 'Carbohydrates', Advances in Nutrition, 5(6), p. 760. doi: 10.3945/AN.114.006163.
- Wheeler, M. L. and Pi-Sunyer, F. X. (2008) 'Carbohydrate Issues: Type and Amount', Journal of the American Dietetic Association, 108(4), pp. S34-S39. doi: 10.1016/J.JADA.2008.01.024.

BAB

3

PROTEIN

Ayu Puspitasari, ST, M.Si

A. Pengertian dan Sumber Protein

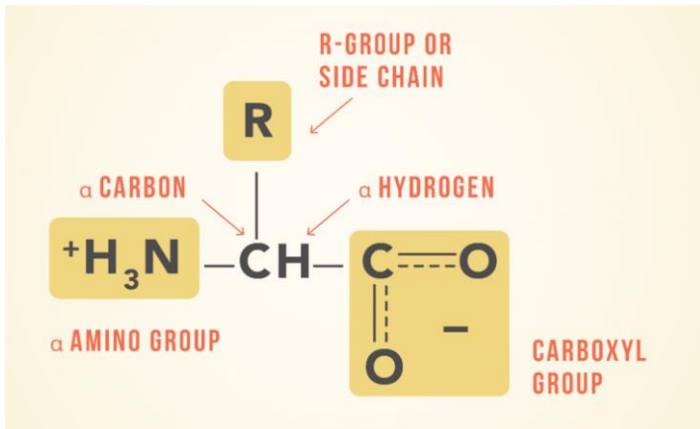
Berasal dari Bahasa Yunani '*proteios*' yang berarti peringkat pertama, protein merupakan makromolekul biologis yang tersusun atas rantai panjang asam amino dan berikatan dengan ikatan peptida. Bersama dengan karbohidrat dan lemak, protein menjadi makronutrien utama yang diperlukan oleh tubuh manusia. Protein sangat menarik untuk dipelajari. Di samping fungsi-fungsinya yang sangat penting untuk kehidupan, protein juga merupakan senyawa yang mempunyai berat molekul sangat besar. Jauh lebih berat daripada karbohidrat dan lemak.

Terdapat lebih dari 300 jenis asam amino di alam, namun hanya 20 jenis yang bisa menyusun protein. Dari 20 jenis asam amino tersebut, manusia dan hewan hanya dapat mensintesis 10 jenis di dalam tubuh. Sehingga, diperlukan asam amino esensial dari tanaman atau tumbuhan. Dengan kombinasi dari 20 jenis asam amino tersebut, sel tubuh dapat membuat berbagai jenis protein yang diperlukan tubuh. Protein mengandung karbon (C), hidrogen (H), oksigen (O), dan nitrogen (N) sebagai komponen utama serta fosfor dan sulfur sebagai komponen minor.

Tidak semua polimer asam amino adalah protein. Berdasarkan jumlah asam amino penyusun, maka rantai asam amino dapat dibagi menjadi:

1. Dipeptida: dua asam amino yang berikatan dengan ikatan peptida.
2. Tripeptida: tiga asam amino yang berikatan dengan ikatan peptida.
3. Polipeptida: 10-100 asam amino.
4. Protein: 100 asam amino.

Asam amino larut dalam air, namun agak susah larut dalam pelarut organik. Struktur asam amino diperlihatkan pada gambar 3.1. Setiap asam amino terdiri dari satu karbon- α yang mengikat satu atom hidrogen, satu gugus amina (NH_2), satu gugus karboksil (COO), dan satu gugus rantai pendukung (*R-group*). Gugus amina akan berperan sebagai basa, sedangkan gugus karboksil akan berperan sebagai asam. Dua peran ini menjadikan asam amino disebut juga sebagai senyawa amfoter.



Gambar 3.1. Struktur Asam Amino

Gugus rantai pendukung pada asam amino menjadi kunci pembeda jenis asam amino. Glisin adalah asam amino yang paling sederhana, dengan gugus rantai berupa hidrogen. Karbon- α pada semua jenis asam amino mengikat empat kelompok atom yang berbeda, kecuali glisin. Asam amino dapat dibagi menjadi asam amino esensial dan asam amino non esensial. Tubuh tidak dapat menghasilkan sendiri atau tak cukup cepat memproduksi asam amino esensial, sehingga harus didapatkan dari makanan atau minuman. Delapan asam amino

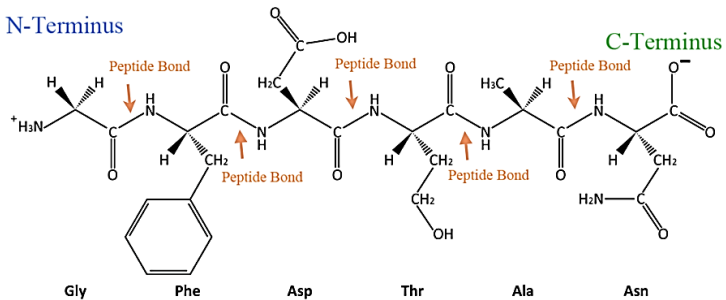
esensial untuk orang dewasa adalah valin, leusin, isoleusin, fenilalanin, treonin, metionin, triptofan, dan lisin. Dua asam amino esensial untuk bayi adalah arginin dan histidin. Asam amino non esensial dapat menjadi asam amino esensial bagi tubuh (disebut asam amino non esensial kondisional), apabila tubuh mengalami kesulitan untuk memproduksinya. Hal ini dapat terjadi jika tubuh sedang sakit dan metabolisme protein terganggu. Keseluruhan 20 jenis asam amino yang penting untuk tubuh dijabarkan pada tabel 3.1.

Tabel 3.1. Jenis Asam Amino

Asam Amino	Simbol	Singkatan	Gugus R
Alanin	A	Ala	-CH ₃
Sistein	C	Cys	-CH ₂ SH
Asam Aspartat	D	Asp	-CH ₂ COOH
Asam Glutamat	E	Glu	-CH ₂ CH ₂ COOH
Fenilalanin	F	Phe	-CH ₂ C ₆ H ₅
Glisin	G	Gly	-H
Histidin	H	His	-CH ₂ -C ₃ H ₃ N ₂
Isoleusin	I	Ile	-CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃
Lisin	K	Lys	-(CH ₂) ₄ NH ₂
Leusin	L	Leu	-CH ₂ CH(CH ₃) ₂
Metionin	M	Met	-CH ₂ CH ₂ SCH ₃
Asparagin	N	Asn	-CH ₂ CONH ₂
Prolin	O	Pro	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -
Glutamin	P	Gln	-CH ₂ CH ₂ CONH ₂
Arginin	R	Arg	-(CH ₂) ₃ NH-C(NH)NH ₂
Serin	S	Ser	-CH ₂ OH
Treonin	T	Thr	-CH(OH)CH ₃
Valin	V	Val	-CH(CH ₃) ₂
Triptofan	W	Trp	-CH ₂ C ₈ H ₆ N
Tirosin	Y	Tyr	-CH ₂ -C ₆ H ₄ OH

Gambar 3.2 menunjukkan contoh ikatan peptida antar dua asam amino. Gugus yang terikat dengan ikatan peptida (CO-NH) ini selalu merupakan gugus amina (NH₂) pada satu asam amino dan gugus karboksilat (COOH) pada asam amino

lainnya. Ikatan peptida umumnya adalah ikatan kovalen dan dalam pembentukannya satu molekul air dilepaskan.



Gambar 3.2. Ikatan Peptida Antar Asam Amino

Sumber dari protein di dunia berasal dari hewan dan tumbuhan. Sebagian kecil protein juga berasal dari jamur dan alga. Namun, tidak ada bahan pangan yang mengandung 100 % protein. Kandungan maksimal protein dalam bahan pangan adalah sekitar 45%. Kandungan protein dalam berbagai bahan pangan yang tersedia baik di alam maupun olahan, disajikan pada tabel 3.2. Protein yang memiliki keseluruhan asam amino esensial disebut Protein Lengkap. Contoh dari bahan pangan yang mengandung protein lengkap adalah daging, ikan, susu, dan telur, yang semuanya berasal dari hewani. Protein yang tidak mengandung satu atau lebih asam amino esensial disebut protein yang tidak lengkap. Protein yang berasal dari tumbuhan atau nabati umumnya merupakan protein yang tidak lengkap. Jagung, beras, dan tepung gandum tidak memiliki asam amino jenis lisin. Kacang-kacangan hampir mengandung protein lengkap, kecuali metionin. Apabila seseorang menjadi vegetarian, maka orang tersebut memiliki kemungkinan untuk mengalami defisiensi asam amino esensial. Vegetarian dapat mencukupi semua kebutuhan asam amino esensialnya, apabila dipastikan jenis pangan yang dikonsumsi bervariasi sehingga mengandung semua asam amino esensial.

Tabel 3.2. Kandungan Protein Dalam Berbagai Bahan Pangan

Bahan Pangan	Kandungan Protein (%)	Bahan Pangan	Kandungan Protein (%)
Daging sapi tanpa lemak	20	Kacang tanah	24
Telur	12	Kacang polong	6
Ikan Kembang	22	Tepung kedelai rendah lemak	45
Keju Cheddar	25	Tepung kedelai tinggi lemak	37
Daging sapi berlemak	8	Roti gandum	9
Susu Sapi	3	Beras	7
Ikan Salmon	20	Kacang Pistachio	21
Yoghurt	3	Lentil	25
Daging ayam	24	Canola	21
Bubuk susu skim	35	Almond	21
Susu Kambing	7	Mikro Alga	14
Daging kambing	22	Makro Alga	5

B. Jenis dan Fungsi Protein

Protein dapat diklasifikasikan menurut beberapa kategori. Berdasarkan komponen penyusun, protein dapat dibedakan menjadi:

1. Protein Sederhana

Protein yang asam amino penyusunnya tidak terikat dengan gugus senyawa lain. Contoh dari protein sederhana adalah globulin dan albumin. Keduanya terdapat pada telur,

susu, dan darah. Contoh lainnya adalah gliadin yang termasuk protein tumbuhan, dan skleroprotein (keratin dan kolagen) yang merupakan protein struktural dan tidak dapat dicerna tubuh.

2. Protein Konjugasi

Protein yang asam amino penyusunnya berikatan dengan gugus senyawa penting lainnya seperti lipid, karbohidrat, fosfat, dan nukleat. Lipoprotein, fosfoprotein, glikoprotein, dan nukleoprotein adalah jenis dari protein konjugasi. Kombinasi RNA dan ribosom, *Low Density Lipoprotein* (LDL), *High Density Lipoprotein* (HDL), hemoglobin, musin, kasein, adalah sejumlah contoh dari protein konjugasi.

Apabila berdasarkan bentuknya, protein diklasifikasikan menjadi:

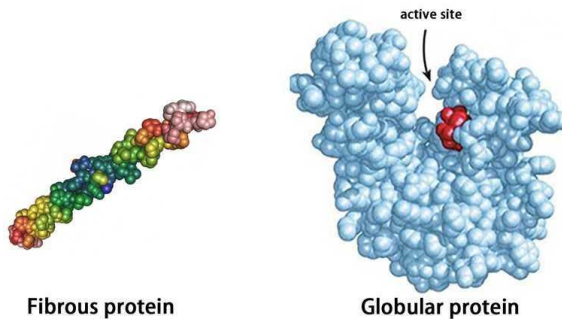
1. Protein Fibrous

Protein fibrous memiliki struktur yang panjang dan serat-serat atau filamen yang melingkar atau paralel. Jenis protein ini umumnya kuat dan tidak larut dalam air, serta sering berperan dalam fungsi struktural atau mekanik pada organisme. Beberapa contoh protein fibrous termasuk kolagen, keratin, dan elastin. Kolagen merupakan komponen utama dari jaringan ikat, kulit, tulang, dan tendon, serta memberikan kekuatan dan kekakuan pada jaringan tersebut. Keratin ditemukan dalam rambut, kuku, dan kulit manusia dan hewan. Ini memberikan struktur dan kekuatan pada rambut dan kuku, serta melindungi kulit dari kerusakan dan infeksi. Elastin adalah protein fibrous yang memberikan elastisitas pada jaringan tubuh, dan banyak ditemukan pada pembuluh darah, paru-paru, dan kulit. Elastin memungkinkan jaringan untuk meregang dan berkontraksi kembali ke bentuk aslinya, setelah ditarik atau ditekan.

2. Protein Globular

Protein globular memiliki struktur yang lebih bulat atau berbentuk bola dan umumnya larut dalam air. Protein ini berperan dalam fungsi katalitik, transportasi, dan regulasi dalam tubuh. Beberapa contoh protein globular termasuk protein sebagai enzim, hormon, dan antibodi. Contoh lainnya adalah hemoglobin dan albumin. Protein globular juga dapat ditemukan dalam makanan, seperti dalam telur, susu, dan kacang-kacangan.

Contoh struktur protein fibrous dan globular ditunjukkan pada gambar 3.3.



Gambar 3.3. Struktur Protein Fibrous dan Protein Globular

Selanjutnya protein dibedakan dari asalnya yaitu protein hewani dan nabati. Sumber protein hewani dan nabati telah ditunjukkan pada tabel 3.2. Protein hewani berasal dari hewan dan mengandung semua asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Protein hewani juga merupakan sumber vitamin dan mineral yang penting, seperti vitamin B12, zat besi, dan kalsium. Namun, protein ini juga sering kali mengandung lemak jenuh dan kolesterol, yang dapat mempengaruhi kesehatan jantung. Protein nabati berasal dari tumbuhan dan sering kali mengandung sejumlah besar serat, vitamin, mineral, dan antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan. Protein ini umumnya rendah lemak jenuh dan kolesterol, sehingga dapat membantu menjaga kesehatan

jantung dan kolesterol darah. Namun, protein nabati sering kali tidak mengandung semua asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh manusia, sehingga perlu dikonsumsi dalam kombinasi dengan sumber protein nabati lainnya untuk memastikan asupan asam amino yang cukup.

Struktur protein yang berasal dari hewani dan nabati mempunyai perbedaan. Hal tersebut disebabkan oleh jumlah dan urutan polipeptida atau asam amino penyusun dan lingkungan tumbuh yang berbeda. Sehingga protein hewani dan nabati memiliki jumlah struktur sekunder dan tersier yang berbeda. Perbedaan konformasi ini menghasilkan sifat fungsional seperti kelarutan, emulsifikasi, dan pembentukan buih yang bervariasi. Sifat fungsional dan fisikokimia protein hewani dan nabati juga sangat berbeda. Protein nabati biasanya lebih kurang larut air dan cenderung membentuk kelompok serta memiliki fleksibilitas lebih dari protein hewani. Hal ini mengakibatkan penggunaan protein nabati pada berbagai produk makanan lebih menantang, karena seringkali menyebabkan dampak negatif pada rasa atau kualitas sensori. Contohnya, kelarutan rendah dalam air membuat protein nabati sulit untuk menjadi bahan dalam minuman. Kecenderungan protein nabati kecenderungan untuk menjadi padat, mengelompok, dan kaku, membatasi kemampuannya untuk membentuk produk yang stabil. Namun, kelemahan sifat fungsionalitas protein dapat diperbaiki dengan berbagai pendekatan kimia, fisika, dan biokimia.

Fungsi-fungsi protein dalam tubuh sangat penting. Protein adalah molekul utama dalam kerja metabolisme tubuh. Fungsi utamanya adalah pembangun tubuh yaitu menjadi penyusun sel pada makhluk hidup. Fungsi lainnya adalah sebagai regulator, pemberi signal (*signalling*), alat transpor, katalis, dan alat pergerakan (*movement*). Berikut adalah penjelasan tentang fungsi protein dalam tubuh manusia.

1. Penyusun Struktur Ekstraselular & Intraselular

Protein merupakan komponen utama sel, jaringan, dan organ tubuh. Protein membentuk struktur seluler seperti membran sel, sitoskeleton, dan organel sel. Protein juga membentuk struktur jaringan tubuh seperti otot, tulang, dan kulit. Kolagen, keratin, dan elastin adalah contoh dari protein penyusun sel.

2. Katalis Untuk Reaksi Metabolisme

Enzim diperlukan pada semua reaksi metabolisme tubuh untuk mempercepat reaksi atau sebagai katalisator. Enzim adalah suatu protein, sehingga sifat-sifat enzim juga mengikuti sifat protein, termasuk mengalami denaturasi pada suhu tinggi dan dengan penambahan asam.

3. Transpor

Protein berperan besar sebagai alat transport molekul dan ion dalam tubuh. Contohnya, hemoglobin adalah protein yang membawa oksigen dari paru-paru ke sel-sel tubuh, dan albumin adalah protein yang membawa berbagai molekul ke dalam aliran darah. Contoh lainnya adalah mioglobin dan transferrin.

4. Perlindungan Tubuh

Antibodi yang dikenal sebagai sistem pertahanan tubuh juga merupakan suatu protein. Antibodi membantu tubuh melawan infeksi dan penyakit, dengan cara mengenali dan mengikat zat-zat asing yang masuk ke dalam tubuh. Selain itu, protein juga berperan dalam pembekuan darah, sehingga tubuh terhindar dari kehilangan darah dalam jumlah besar jika terluka.

5. Regulator

Protein berperan dalam regulasi berbagai proses biologis dalam tubuh, seperti pertumbuhan dan perkembangan, metabolisme, dan reproduksi. Hormon adalah senyawa yang berfungsi sebagai sinyal kimia dalam tubuh dan mengatur berbagai fungsi tubuh. Beberapa

hormon dibentuk dari protein, contohnya insulin, GH, dan ACTH.

6. Sumber Energi

Protein juga berfungsi sebagai sumber energi dalam tubuh. Protein yang tidak digunakan untuk sintesis protein atau fungsi lainnya dapat diubah menjadi energi melalui proses metabolisme.

7. Fungsi Khusus

Protein juga memiliki fungsi khusus dalam tubuh, seperti kontraksi otot (misalnya aktin dan miosin), pengaturan gen (misalnya faktor transkripsi), dan detoksifikasi (misalnya enzim dalam hati).

Pada bahan pangan, protein juga memiliki beberapa fungsi. Secara umum, protein memberikan pengaruh pada sifat sensoris dalam produk pangan. Beberapa fungsi protein pada bahan pangan adalah:

1. Pemberi Struktur

Protein dapat memberikan struktur pada bahan pangan, seperti dalam roti, kue, dan pasta. Misalnya, gluten adalah protein yang memberikan struktur pada adonan roti dan membuatnya elastis dan berpori.

2. Pengikat

Protein dapat bertindak sebagai pengikat yang akan mengikat bahan-bahan lain dalam adonan produk pangan. Misalnya protein dalam telur akan berperan sebagai pengikat dalam adonan kue.

3. Pengental

Protein dapat bertindak sebagai pengental, menghasilkan tekstur yang lebih kental dalam bahan pangan. Misalnya, protein dalam susu dapat bertindak sebagai pengental dalam saus krim

4. Pengemulsi

Protein dapat bertindak sebagai pengemulsi, membantu mengemulsi minyak dan air dalam bahan pangan. Misalnya, protein dalam telur dapat membantu mengemulsi minyak dalam mayones

5. Perekat

Protein dapat bertindak sebagai perekat, membantu mengikat bahan-bahan bersama-sama dalam bahan pangan. Misalnya, protein dalam daging dapat bertindak sebagai perekat dalam sosis

6. Pengatur

Protein dapat bertindak sebagai pengatur, mengatur reaksi kimia dalam bahan pangan. Misalnya, enzim dalam keju dapat mengatur proses fermentasi

7. Pemberi Warna & Aroma

Protein dapat memberikan warna dan aroma pada bahan pangan. Misalnya, protein dalam daging dapat memberikan warna merah dan aroma yang khas

8. Nutrisi

Protein adalah sumber nutrisi penting dalam bahan pangan, memberikan asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh manusia

Contoh aplikasi penggunaan protein dalam bahan pangan dan produk pangan dapat dilihat pada tabel 3.3.

Tabel 3.3. Aplikasi Fungsi Protein Pada Pangan

Fungsi	Mekanisme	Pangan	Jenis Protein
Kelarutan	Hidrofilitas	Minuman	Protein <i> whey</i>
Pengikat Air	Ikatan hidrogen dan hidrasi ionik	Sosis sapi, kue, dan roti	Protein otot, protein telur
Gelasi	Penjebakan air dan imobilisasi	Daging, gel, <i>bakery</i> , keju	Protein otot, protein telur,

Fungsi	Mekanisme	Pangan	Jenis Protein
			dan protein susu
Kohesi Adhesi	Ikatan hidrofobik, ionik, dan hidrogen	Daging, sosis, pasta, produk yang dipanggang	Protein otot, protein telur, dan protein <i>whey</i>
Elastisitas	Ikatan hidrofobik dan <i>crosslinking</i> disulfida	Daging dan <i>bakery</i>	Protein otot, protein sereal
Emulsifikasi	Adsorpsi dan pembentukan lapisan di permukaan	Sosis, daging, sup, kue, dan pencuci mulut	Protein otot, protein telur, dan protein susu
Pembentukan Buih	Adsorpsi interfacial dan pembentukan lapisan	<i>Whipped cream</i> , es krim, kue, dan pencuci mulut	Protein telur dan protein susu
Viskositas	Pengikat air, ukuran dan bentuk hidrodinamika	Sup, saus salad, makanan pencuci mulut	Gelatin
Pengikat Lemak & Pemberi Rasa	Ikatan hidrofobik	Produk <i>bakery</i> rendah lemak, donat	Protein susu, protein telur, dan protein sereal

C. Analisis Protein

Perkembangan analisis protein pangan telah mengalami evolusi yang signifikan seiring dengan kemajuan teknologi dan penemuan metode baru. Sejarah analisis protein pangan dimulai pada abad 19. Berbagai metode analisis protein pangan ditemukan oleh ilmuwan dunia. Metode awal yang dikembangkan adalah metode Dumas. Metode ini ditemukan oleh seorang ahli kimia Prancis bernama Jean-Baptiste Dumas, pada tahun 1831. Pada metode ini, yang diukur adalah nitrogen dalam sampel uji. Kemudian pada tahun 1883, mulai dikembangkan salah satu metode analisis protein yang paling

sering digunakan yaitu metode Kjeldahl. Seperti metode Dumas, metode Kjeldahl juga mengukur jumlah nitrogen pada sampel uji. Selanjutnya terdapat metode Biuret yang dikembangkan oleh seorang ahli kimia Jerman bernama Johann Friedrich Wilhelm Adolf Von Baeyer pada tahun 1878. Awalnya metode ini adalah untuk analisis kualitatif, namun kemudian dikembangkan hingga digunakan pula untuk analisis kuantitatif.

Pada abad 20, perkembangan analisis protein pangan berlangsung pesat. Metode-metode berbasis alat modern diperkenalkan. Metode Lowry yang dikembangkan oleh dua ahli kimia dari Amerika Serikat bernama Oliver H. Lowry dan Nathan J. Rosebrough pada tahun 1951, dan metode Bradford yang ditemukan oleh seorang ahli kimia Inggris yaitu Marion M. Bradford pada tahun 1976, merupakan dua metode yang menggunakan alat spektrofotometer, dan mengukur protein secara langsung. Selain itu, penggunaan alat kromatografi yang modern juga menjadi dasar analisis protein pangan hingga saat ini. Perkembangan teknologi yang pesat telah membantu meningkatkan akurasi, kecepatan, dan efisiensi dalam mengukur kandungan protein dalam bahan makanan. Hal ini penting untuk memastikan kualitas dan keamanan produk makanan serta memenuhi standar nutrisi yang ditetapkan. Berikut ini adalah penjelasan dari beberapa metode analisis pangan protein yang masih digunakan saat ini.

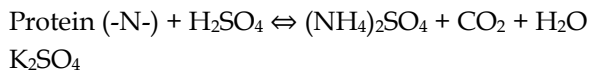
1. Metode Kjeldahl

Metode Kjeldahl hingga saat ini masih merupakan metode analisis protein pangan yang paling populer dan umum digunakan. Selain pada bahan pangan, metode ini juga digunakan untuk mengukur kandungan nitrogen pada produk pertanian, sampel lingkungan, bahan kimia, biokimia, dan farmasi. Prinsip dari metode ini adalah penggunaan asam sulfat, berbagai katalis, dan garam, akan membebaskan nitrogen pada sampel uji. Kemudian nitrogen tersebut akan diukur lebih lanjut. Terdapat tiga langkah penting pada metode ini, yaitu digesti, distilasi, dan titrasi.

a. Digesti

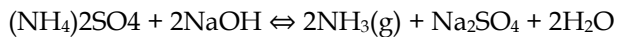
Tahap ini bertujuan untuk membebaskan nitrogen dari ikatannya dengan senyawa lain pada sampel, dan mengubahnya menjadi ion amonium (NH_4^+). Digunakan asam sulfat untuk memutuskan ikatan tersebut dan katalis logam serta garam tertentu untuk mempercepat reaksi. Jenis katalis logam yang sering digunakan adalah selenium atau garam logam dari tembaga dan titanium. Kalium sulfat ditambahkan untuk meningkatkan titik didih asam sulfat, sedangkan katalis ditambahkan untuk mempercepat dan lebih membuat reaksi efisien. Umumnya digesti dilakukan pada suhu $300 - 400\text{ }^\circ\text{C}$. Semakin tinggi suhu digesti, maka semakin cepat reaksi berlangsung. Proses digesti ini dilakukan hingga larutan jernih. Reaksi pada proses ini adalah:

katalis

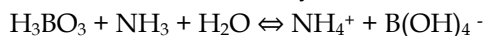


b. Distilasi

Pada labu distilasi, ion amonium pada amonium sulfat diubah menjadi amonia (NH_3) dengan penambahan natrium hidroksida (NaOH). Amonia bebas yang bersifat mudah menguap, dengan pemanasan akan diubah menjadi gas dan mengalir melalui pipa destilasi menuju labu penampung. Reaksinya adalah sebagai berikut.

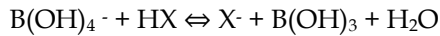


Pada labu penampung, terdapat larutan penyerap amonia, yang umumnya adalah asam borat H_3BO_3 dan asam sulfat (H_2SO_4). Reaksi ammonia dengan salah satu dari kedua larutan tersebut akan membebaskan ion amonium. Berikut adalah reaksinya.



c. Titrasi

Kemudian ion amonium yang didapatkan dari distilasi, ditentukan konsentrasinya dengan cara titrasi. Apabila larutan penyerap amonia yang digunakan adalah asam borat, maka jenis titrasi yang dipakai adalah titrasi asam basa (titrasi langsung) dengan larutan standar (pentitrasi) asam sulfat atau asam klorida (HCl). Konsentrasi yang digunakan adalah antara 0,01 N - 0,5N tergantung perkiraan konsentrasi ion amonium yang ada. Titik akhir titrasi selain berdasarkan perubahan warna, juga dapat ditetapkan dengan pH meter. Reaksinya adalah sebagai berikut.



Apabila asam sulfat yang digunakan sebagai larutan penyerap amonia, maka titrasi yang dipakai berjenis titrasi tidak langsung. Kelebihan asam sulfat yang tidak bereaksi dengan amonia dititrasi dengan larutan standar (pentitrasi) amonium hidroksida (NaOH). Kemudian dihitung jumlah asam sulfat yang bereaksi dengan amonium dengan cara mengurangkan jumlah asam sulfat awal dengan jumlah asam sulfat akhir. Jumlah asam sulfat yang bereaksi ion amonia akan sebanding dengan jumlah nitrogen dalam sampel uji. Reaksi titrasinya adalah sebagai berikut.



Dari perhitungan akhir didapatkan jumlah nitrogen total dari sampel. Apabila larutan penyerap yang digunakan adalah asam borat, maka rumus perhitungannya adalah sebagai berikut.

$$\% \text{N} = \frac{(\text{V A} - \text{V B}) \times \text{N A} \times 1,4007}{\text{m sampel (gram)}}$$

Keterangan:

V A = Volume Titrasi [Asam (mL)]

V B = Volume Titrasi Blanko [Asam (mL)]

N_A = Normalitas Asam (N)

Apabila larutan penyerap yang digunakan adalah asam sulfat, maka rumus perhitungannya adalah sebagai berikut.

$$\%N = \frac{[(V_A \times N_A) - (V_B \times N_C)] - (V_C \times N_C)}{m \text{ sampel (gram)}} \times 1,4007$$

Keterangan:

V_A = Volume H_2SO_4 (larutan penyerap) (mL)

N_A = Normalitas H_2SO_4 (larutan penyerap) (N)

V_B = Volume Titrasi Blanko [NaOH (mL)]

V_C = Volume Titrasi [NaOH (mL)]

N_C = Normalitas NaOH (N)

Untuk mengetahui kadar protein dari sampel, jumlah nitrogen total tersebut harus dikalikan lagi dengan faktor konversi. Setiap bahan pangan memiliki faktor konversi yang berbeda. Tabel 3.4 memuat faktor konversi beberapa bahan pangan yang mengandung protein.

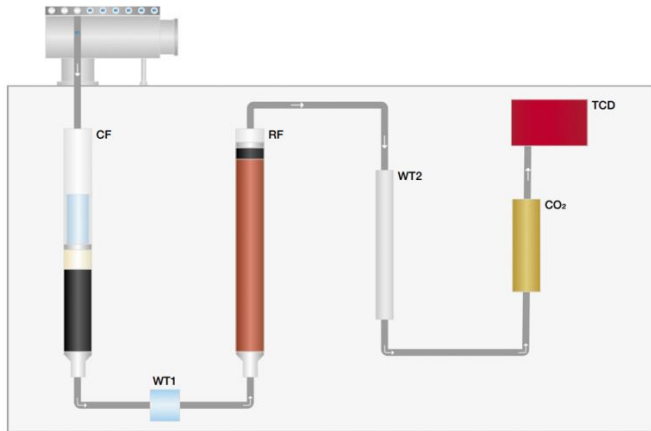
Tabel 3.4. Faktor Konversi Metode Kjeldahl

Bahan Pangan	Faktor Konversi
Sirup, biji-bijian	6,25
Buah-buahan, teh, anggur, malt	6,25
Beras	5,95
Roti, gandum, makaroni, mie	5,70
Kacang Tanah	5,46
Kedelai	5,75
Kenari	5,18
Produk Susu	6,38
Tepung	5,7
Daging sapi, ayam, ikan, telur	6,25

2. Metode Dumas

Prinsip dari metode Dumas adalah pembakaran sempurna pada suatu tungku (*furnace*) yang dipertahankan pada suhu 950 - 1100 °C akan mengubah nitrogen dalam sampel uji menjadi gas nitrogen oksida (NO_x). Kemudian gas (NO_x) akan direduksi menjadi N₂ dan diukur menggunakan suatu detektor jenis konduktivitas termal. Pada abad 19, metode ini masih menemui kesulitan dalam aplikasinya. Namun seiring perkembangan teknologi, maka metode ini semakin gampang untuk dilakukan. Metode Dumas juga mengukur kandungan nitrogen pada bahan uji. Namun terdapat perbedaan dengan metode Kjeldahl. Pada metode Dumas, total Nitrogen termasuk fraksi anorganik seperti nitrit dan nitrat dideteksi, sementara metode Kjeldahl hanya menentukan nitrogen organik dan amonia. Sehingga hasil kandungan nitrogen pada metode Dumas umumnya lebih besar dari metode Kjeldahl untuk sampel yang sama.

Prosedur metode Dumas konvensional adalah sebagai berikut. Sampel dipanaskan pada suhu 1000 °C dengan ditambahkan oksigen dan tembaga. Dengan menambahkan tembaga ke campuran gas ini, tembaga mengalami oksidasi menjadi produk sampingan air (H₂O), karbon dioksida, dan nitrogen oksida (NO_x). Pada langkah berikutnya, nitrogen oksida direduksi menjadi nitrogen (N₂) melalui kawat tembaga, dan produk samping dibuang. Nitrogen ini kemudian melewati larutan kalium hidroksida dan dikumpulkan serta diukur oleh detektor.



Gambar 3.4. Apparatus Pada Metode Dumas

Gambar 3.4 memperlihatkan analisa protein menggunakan metode Dumas yang modern. Sampel yang sudah dihomogenkan, dibakar dalam tungku suhu tinggi (CF) pada sekitar 1000 °C dengan penambahan oksigen murni (O₂). Campuran gas yang dihasilkan yaitu terdiri dari air, karbon dioksida, nitrogen oksida, dan nitrogen, dilewatkan melalui gas pembawa (umumnya adalah helium). Kemudian, nitrogen oksida melewati tembaga panas hingga terkonversi menjadi nitrogen. Air akan dipisahkan di di *Water Trap* yaitu WT₁ dan WT₂. Kemudian campuran yang tersisa bergerak melewati Tabung kuning (CO₂). Karbondioksida akan diserap, dan yang diloloskan hanyalah nitrogen. Selanjutnya *Thermal Conductivity Detector* akan mengukur dan mengkonversi sinyal hingga menjadi kadar nitrogen.

Metode Dumas yang modern dianggap memiliki beberapa keuntungan dibandingkan metode Kjeldahl. Diantaranya adalah waktu yang lebih singkat, lebih gampang pengaplikasiannya, dan lebih aman dari sisi reagen yang digunakan.

3. Metode Spektrofotometri

Penetapan kadar protein menggunakan alat spektrofotometri dapat dilakukan dengan beberapa metode. Diantaranya adalah metode Biuret, metode Bradford, dan metode Lowry. Secara garis besar, prosedur dari ketiga metode tersebut memiliki kesamaan, hanya prinsip reaksinya saja yang berbeda. Larutan BSA (*Bovine Serum Albumin*) menjadi larutan standar protein untuk menghasilkan kurva standar pada ketiga metode ini. Berikut penjelasan dari ketiga metode tersebut.

a. Metode Biuret

Metode ini didasarkan pada reaksi biuret, yaitu reaksi antara ion tembaga (II) dan ikatan peptida dalam protein membentuk kompleks tembaga-peptida yang berwarna ungu. Kompleks ini kemudian menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, yang dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer. Panjang gelombang yang digunakan umumnya adalah 540 nm. Kadar protein dalam sampel kemudian dihitung berdasarkan absorbansi yang diukur, dan telah masukkan pada rumus linier dari kurva standar.

b. Metode Lowry

Metode ini didasarkan pada reaksi biuret yaitu antara ion tembaga (II) dan gugus peptida dalam protein, membentuk kompleks tembaga-peptida. Kompleks ini kemudian bereaksi dengan asam folin, yang menghasilkan warna biru yang intens. Intensitas warna biru ini kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. Kadar protein dalam sampel kemudian dihitung berdasarkan absorbansi yang diukur.

c. Metode Bradford

Metode ini didasarkan pada reaksi antara gugus peptida dalam protein dan pewarna Coomassie Brilliant Blue G-250 untuk membentuk kompleks protein-pewarna

biru. Kompleks ini kemudian menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, yang dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer. Kadar protein dalam sampel kemudian dihitung berdasarkan absorbansi yang diukur.

4. Metode HPLC

HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) adalah metode analisis kimia yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan mengukur konsentrasi berbagai senyawa dalam sampel. HPLC sering digunakan dalam analisis protein untuk menentukan kandungan protein dalam sampel. Tingkat akurasi tinggi, dan metode HPLC dapat langsung menentukan kandungan protein dalam suatu bahan uji. Langkah-langkah umum dalam penetapan kandungan protein pada suatu bahan pangan menggunakan metode HPLC adalah sebagai berikut. Sampel yang sebelumnya telah dipreparasi, diinjeksikan ke dalam kolom HPLC. Kolom HPLC adalah kolom yang berisi fase diam, berupa partikel kecil yang dilapisi dengan fase gerak, yang biasanya berupa pelarut organik. Sampel yang diinjeksikan kemudian dielusikan dengan menggunakan fase gerak. Fase gerak adalah pelarut organik yang dipompa melalui kolom HPLC dengan tekanan tinggi. Senyawa dalam sampel kemudian dipisahkan berdasarkan sifat fisikokimia mereka, seperti ukuran, muatan, dan afinitas untuk fase diam. Senyawa yang dipisahkan kemudian dideteksi menggunakan detektor HPLC. Detektor HPLC adalah alat yang mengukur absorbansi atau fluoresensi senyawa yang melewati kolom HPLC. Kadar protein dalam sampel kemudian dihitung berdasarkan absorbansi atau fluoresensi yang diukur.

Metode-metode penetapan kadar protein dalam bahan pangan tersebut memiliki keunggulan dan kekurangan masing-masing. Pemilihan metode didasarkan oleh faktor waktu, keamanan, biaya, serta tingkat akurasi yang

diinginkan. Tabel 3.5 memperlihatkan kelebihan dan kekurangan dari enam metode penetapan kadar protein yang telah dijelaskan sebelumnya.

Tabel 3.5. Perbandingan Metode Analisa Kadar Protein Pangan

Metode	Kelebihan	Kekurangan
Kjeldahl	Metode standar secara global, mudah dilakukan karena tidak memerlukan peralatan yang rumit	Tidak mengukur protein secara langsung dan harus menggunakan faktor koreksi, penggunaan reagen kimia berbahaya, waktu lama
Dumas	Cepat, mudah, tidak menggunakan reagen kimia, dapat mengukur beberapa sampel dalam satu waktu	Tidak mengukur protein secara langsung, cenderung mahal
Biuret	Cepat, mudah, cukup akurat karena tidak terpengaruh oleh komposisi asam amino	Kurang sensitif
Bradford	Lebih cepat dari metode spektrofotometer lainnya, dapat dilakukan pada suhu ruang, cocok dengan banyak pelarut	Sensitivitas kurang, reagen kurang stabil, dapat diintervensi oleh senyawa detergen, sangat dipengaruhi oleh komposisi asam amino

Metode	Kelebihan	Kekurangan
Lowry	Cepat, mudah, sensitif	Dipengaruhi komposisi asam amino
HPLC	Tingkat akurasi tinggi	Mahal, waktu yang diperlukan cukup lama

DAFTAR PUSTAKA

- Ahern , K., Rajagopal , I. & Tan, T., 2018. *Biochemistry Free For All*. First ed. s.l.:Oregon State University.
- Anon., n.d. Creative Biostructure. [Online] Available at: <https://www.creative-biostructure.com/levels-of-protein-structure.htm> [Accessed 19 February 2024].
- Anon., n.d. Dumas And Kjeldahl Method Comparison: Protein Determination in Feed. s.l.:Velp Scientifica.
- Aquilar, M. I., 2004. HPLC of Peptides and Proteins: Methods And Protocols. s.l.:Humana Press.
- Beniwal, A. & Das, M., 2023. Protein: It's Application In Food Industry. In: Research Trends in Nutrition Science. s.l.:Bumi Publishing, pp. 1-25.
- Biswas, S., 2021. Protein. In: Basic Food Chemistry. s.l.:OCEAN PUBLISHING HOUSE, pp. 25-45.
- Bradford, M. M., 1976. Rapid And Sensitive Method For Quantitation Of Microgram Quantities Of Protein Utilizing Principle Of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, Volume 72, pp. 248-254.
- Day, L., Cakebread, J. A. & Loveday, S. M., 2022. Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, Volume 119, pp. 428-442.
- Hartree, E. F., 1972. Determination of protein – Modification of Lowry Method That Gives A Linear Photometricresponse. *Analytical Biochemistry*, Volume 48, pp. 422-477.
- Hayes, M., 2020. Measuring Protein Content in Food: An Overview of Methods. *Foods*, Volume 9.
- Kessel, A. & Ben-Tal, N., 2018. Introduction To Proteins Structure, Function, And Motion. Second ed. New York: CRC Press.

- Lean, M. E., 2013. Ilmu Pangan, Gizi & Kesehatan. 7 ed. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Loveday, S. M., 2019. Food Proteins: Technological, Nutritional, and Sustainability Attributes of Traditional and Emerging Proteins. *Annual Review of Food Science and Technology*, Volume 10, pp. 311-339.
- Mæhre, H. K. et al., 2018. Protein Determination – Method Matters. *Foods*, Volume 7.
- Martina, V. & Vojtech, K., 2015. A Comparison Of Biuret, Lowry And Bradford Methods For Measuring The Egg's Proteins. *Mendelnet*, pp. 394-398.
- Sa´ez-Plaza, P.´. et al., 2013. An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part II. Sample Preparation, Working Scale, Instrumental Finish, and Quality Control. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, Volume 43, pp. 224-272.
- Srinivasan, D. & Parkin, K. L., 2017. *Fennema's Food Chemistry*. Fifth ed. s.l.:CRC Press.
- Steward, K., 2019. *Technology Network Applied Science*. [Online] Available at: <https://www.technologynetworks.com/applied-sciences/articles/essential-amino-acids-chart-abbreviations-and-structure-324357> [Accessed 19 February 2024].
- Sudarmadji, S., Haryono, B. & Suhardi, 2007. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Wamser, C. C., 2010. *Portland State University*. [Online] Available at: https://web.pdx.edu/~wamser/C336S09/Wade_Ch24.pdf [Accessed 16 February 2024].

BAB

4

LEMAK

Nuradi, S.Si., M.Kes

A. Pendahuluan

Lipid adalah kelompok senyawa organik yang beragam dengan berbagai fungsi penting dalam tubuh. Klasifikasi lipid didasarkan atas komponen dasar, sumber penghasilnya, kandungan asam lemaknya, dan sifat-sifat kimianya.

Kombinasi lipid dengan senyawa lain menghasilkan struktur dan fungsi yang beragam. Lipid merupakan komponen penting dalam banyak proses biologis.

Klasifikasi lipid berdasarkan komponen dasar dan sumbernya membantu dalam memahami struktur, fungsi, dan sumber lipid.

Lipid memiliki berbagai peran penting dalam biologi, termasuk komponen struktur membran sel, penyimpanan energi, lapisan pelindung dan insulator, sinyal kimia, pigmen, vitamin, dan hormon.

B. Komponen Lemak

Lemak adalah kelompok besar molekul yang memiliki berbagai fungsi penting dalam tubuh. Komponen lemak dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu:

1. Komponen Penyusun Utama

Komponen penyusun utama lemak adalah asam lemak dan gliserol.

a. Asam lemak adalah molekul hidrokarbon dengan gugus karboksil (-COOH) pada salah satu ujungnya. Asam lemak dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu:

1) Asam lemak jenuh adalah jenis lemak yang memiliki beberapa manfaat dan kekurangan. Konsumsi asam lemak jenuh yang berlebihan dapat meningkatkan risiko penyakit jantung dan diabetes tipe 2. Oleh karena itu, penting untuk mengonsumsi asam lemak jenuh dalam jumlah yang moderat dan seimbang dengan jenis lemak lainnya, seperti asam lemak tak jenuh.

2) Asam lemak tak jenuh adalah jenis lemak yang penting untuk kesehatan. Asam lemak tak jenuh dapat membantu menurunkan risiko penyakit jantung, meningkatkan kesehatan otak, mengontrol peradangan, dan meningkatkan kesehatan kulit. Asam lemak tak jenuh dapat ditemukan dalam berbagai makanan, seperti minyak nabati, kacang-kacangan, ikan berlemak, dan alpukat.

Akan tetapi, asam lemak tak jenuh juga dapat menjadi oksidan. Oksidan adalah molekul yang dapat merusak sel-sel tubuh. Untuk mengurangi risiko kerusakan sel akibat oksidan, sebaiknya konsumsi asam lemak tak jenuh bersama dengan antioksidan, seperti vitamin C dan vitamin E.

b. Gliserol adalah trihidroksi alkohol dengan rumus kimia $C_3H_8O_3$. Gliserol berfungsi sebagai gugus kepala yang menghubungkan tiga asam lemak.

2. Komponen penyusun tambahan

Komponen penyusun tambahan lemak adalah sterol, vitamin larut lemak, dan senyawa lain.

a. Sterol adalah senyawa hidrokarbon dengan gugus fungsi alkohol. Sterol yang paling umum adalah kolesterol.

Kolesterol merupakan komponen penting dari membran sel, hormon steroid, dan vitamin D.

- b. Vitamin larut lemak adalah vitamin yang membutuhkan lemak untuk diserap oleh tubuh. Vitamin larut lemak meliputi vitamin A, D, E, dan K.
- c. Senyawa lain yang dapat ditemukan dalam lemak adalah fosfolipid, glikolipid, dan terpenoid.

C. Sumber Lemak

Lemak dapat ditemukan dalam berbagai makanan, baik hewani maupun nabati. Sumber lemak hewani meliputi daging, susu, telur, dan unggas. Sumber lemak nabati meliputi minyak, kacang-kacangan, dan biji-bijian.

Tabel 4.1. Contoh Sumber Lemak Hewani dan Nabati

Sumber lemak hewani	Contoh
Daging	Daging sapi, daging ayam, dan kambing, daging babi
Susu	Susu murni, keju, mentega
Telur	Telur ayam, telur bebek
Unggas	Ayam, bebek, burung
Sumber lemak nabati	Contoh
Minyak	Minyak kelapa, minyak sawit, minyak zaitun, minyak kanola
Kacang-kacangan	Kacang tanah, kacang almond, kacang kenari, kacang mete
Biji-bijian	Biji bunga matahari, biji rami, biji wijen

D. Fungsi Lemak

Lemak memiliki banyak fungsi penting bagi tubuh, antara lain:

1. Sebagai sumber energi. Lemak merupakan sumber energi yang paling efisien di dalam tubuh. Satu gram lemak menghasilkan 9 kalori, yang lebih tinggi dari kalori yang dihasilkan karbohidrat atau protein.
2. Sebagai pelarut vitamin. Vitamin A, D, E, dan K merupakan vitamin larut lemak, sehingga membutuhkan lemak untuk diserap oleh tubuh.
3. Sebagai komponen membran sel. Membran sel
4. Tersusun dari lemak dan protein. Lemak berfungsi untuk memberikan struktur dan stabilitas pada membran sel.
5. Sebagai bahan baku hormon. Hormon steroid, seperti hormon testosteron dan estrogen, merupakan senyawa yang mengandung lemak.
6. Sebagai pelindung organ. Lemak berfungsi untuk melindungi organ-organ tubuh dari benturan dan kerusakan.
7. Sebagai cadangan energi. Lemak disimpan di dalam tubuh sebagai cadangan energi untuk digunakan saat dibutuhkan.

E. Jenis Lemak

Lemak dapat dibedakan menjadi beberapa jenis berdasarkan strukturnya, yaitu:

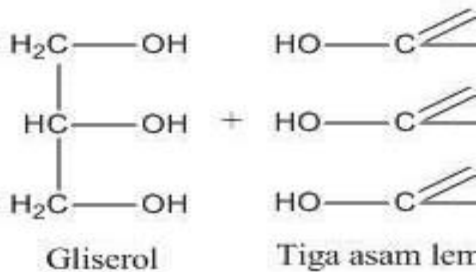
1. Trigliserida adalah jenis lemak yang paling umum yang merupakan sumber energi utama bagi tubuh.
2. Fosfolipid adalah jenis lemak yang mengandung fosfat. Fosfolipid merupakan komponen penting dari membran sel.
3. Steroid adalah jenis lemak yang mengandung cincin karbon. Steroid merupakan komponen penting dari hormon, vitamin D, dan kolesterol.
4. Terpenoid adalah jenis lemak yang mengandung unit isoprena. Terpenoid merupakan komponen penting dari minyak esensial, getah, dan vitamin A.

Tabel 4.2. Jenis-Jenis Lemak Berdasarkan Strukturnya

Jenis lemak	Struktur	Fungsi
Trigliserida	Trigliserida terdiri dari tiga molekul asam lemak yang terikat pada molekul gliserol	Sumber energi utama bagi tubuh
Fosfolipid	Fosfolipid mengandung fosfat.	Komponen penting dari membran sel.
Steroid	Steroid	

F. Triglicerida

Trigliserida adalah jenis lemak yang paling umum. Struktur trigliserida dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 4.1. Struktur trigliserida

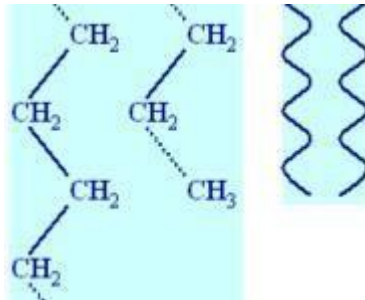
Gambar tersebut menunjukkan bahwa trigliserida terdiri dari tiga molekul asam lemak yang terikat pada molekul gliserol. Asam lemak adalah molekul hidrokarbon yang memiliki gugus karboksil (-COOH) pada salah satu ujungnya. Gliserol adalah trihidroksi alkohol dengan rumus kimia C₃H₈O₃.

Asupan trigliserida yang dianjurkan untuk orang dewasa adalah sekitar 20-35% dari total kalori harian. Asupan trigliserida yang berlebihan dapat meningkatkan risiko obesitas, penyakit jantung, dan stroke.

G. Fosfolipid

Fosfolipid adalah jenis lemak yang mengandung fosfat. Fosfolipid merupakan komponen penting dari membran sel.

Struktur fosfolipid dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 4.2. Struktur fosfolipid

Gambar tersebut menunjukkan bahwa fosfolipid terdiri dari dua gugus asam lemak yang terikat pada molekul gliserol, dan satu gugus fosfat yang terikat pada molekul gliserol.

Asam lemak yang terikat pada fosfolipid dapat berupa asam lemak jenuh atau asam lemak tak jenuh. Gugus fosfat pada fosfolipid mengandung gugus karboksil (-COOH) dan gugus hidroksil (-OH). Gugus karboksil bersifat asam, sedangkan gugus hidroksil bersifat basa.

Fungsi fosfolipid antara lain:

1. Sebagai komponen membran sel. Membran sel tersusun dari dua lapisan fosfolipid.
2. Sebagai pengemulsi. Fosfolipid dapat mengemulsi zat-zat yang tidak larut dalam air, seperti lemak dan protein.
3. Sebagai sumber energi. Fosfolipid dapat digunakan sebagai sumber energi, tetapi tidak sebanyak trigliserida.

Asupan fosfolipid yang dianjurkan untuk orang dewasa adalah sekitar 1-2% dari total kalori harian.

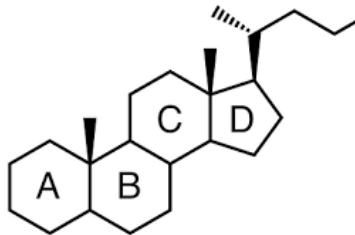
Fosfolipid dapat dibedakan menjadi beberapa jenis berdasarkan strukturnya, yaitu:

1. Lecithin adalah jenis fosfolipid yang paling umum.
Lecithin terdiri dari gugus fosfat yang terikat pada molekul gliserol, dan satu gugus kolin. Kolin adalah senyawa yang penting untuk fungsi otak dan sistem saraf.
2. Sphingomyelin adalah jenis fosfolipid yang mengandung gugus sfingosin. Sfingosin adalah senyawa yang mengandung cincin heterosiklik.
3. Gangliosida adalah jenis fosfolipid yang mengandung gugus gula. Gangliosida merupakan komponen penting dari membran sel saraf.
4. Fosfolipid juga dapat dibedakan berdasarkan jumlah ikatan rangkap pada asam lemaknya.
 - a. Fosfolipid jenuh adalah fosfolipid yang mengandung asam lemak jenuh. Fosfolipid jenuh umumnya berbentuk padat pada suhu kamar.
 - b. Fosfolipid tak jenuh adalah fosfolipid yang mengandung asam lemak tak jenuh. Fosfolipid tak jenuh umumnya berbentuk cair pada suhu kamar.

H. Steroid

Steroid adalah jenis lemak yang mengandung empat cincin karbon. Steroid merupakan komponen penting dari hormon, vitamin D, dan kolesterol.

Struktur steroid dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 4.3. Struktur steroid

Gambar tersebut menunjukkan bahwa steroid terdiri dari empat cincin karbon yang tersusun dalam satu bidang. Empat cincin tersebut adalah cincin A, cincin B, cincin C, dan cincin D. Cincin A dan cincin B selalu terikat satu sama lain, sedangkan cincin C dan cincin D dapat terikat satu sama lain atau terpisah. Fungsi steroid antara lain:

1. Sebagai komponen hormon. Hormon steroid, seperti hormon testosteron dan estrogen, merupakan senyawa yang mengandung steroid. Hormon- hormon ini berperan penting dalam berbagai fungsi tubuh, seperti pertumbuhan, perkembangan, reproduksi, dan metabolisme.
2. Sebagai komponen vitamin D. Vitamin D merupakan vitamin yang larut dalam lemak. Vitamin D berperan penting dalam penyerapan kalsium dan fosfor dari makanan.
3. Sebagai komponen kolesterol. Kolesterol merupakan senyawa yang penting untuk struktur membran sel dan produksi hormon steroid.

Steroid dapat dibedakan menjadi beberapa jenis berdasarkan strukturnya, yaitu:

1. Kolesterol adalah jenis steroid yang paling umum.
Kolesterol merupakan komponen penting untuk struktur membran sel dan produksi hormon steroid.
2. Hormon steroid adalah jenis steroid yang berperan penting dalam berbagai fungsi tubuh, seperti pertumbuhan, perkembangan, reproduksi, dan metabolisme. Hormon steroid dapat dibedakan menjadi beberapa jenis, yaitu:
 - a. Hormon androgen, seperti testosteron dan dihidrotestosteron, berperan penting dalam perkembangan dan fungsi seksual pria.
 - b. Hormon estrogen, seperti estradiol dan estriol,
 - c. berperan penting dalam perkembangan dan fungsi seksual wanita.
 - d. Hormon progesteron berperan penting dalam
 - e. kehamilan.

- f. Hormon kortisol berperan penting dalam metabolisme glukosa dan respons terhadap stres.
3. Vitamin D adalah vitamin yang larut dalam lemak.
Vitamin D berperan penting dalam penyerapan kalsium dan fosfor dari makanan.
Asupan steroid yang dianjurkan untuk orang dewasa adalah sesuai dengan kebutuhan masing-masing individu. Asupan steroid yang berlebihan dapat meningkatkan risiko berbagai penyakit, seperti penyakit jantung, stroke, dan kanker.

I. Analisis Lemak

Analisis lemak adalah prosedur yang digunakan untuk menentukan komposisi lemak, termasuk jenis lemak, kadar lemak, dan sifat-sifat lemak. Analisis lemak dapat dilakukan dengan berbagai cara, tergantung pada tujuan analisis dan jenis lemak yang akan dianalisis.

Berikut adalah beberapa cara analisis lemak yang umum digunakan:

1. Metode Gravimetri

Metode gravimetri adalah metode yang digunakan untuk menentukan kadar lemak dengan cara menguapkan lemak dan kemudian menimbang sisa padatan.

Metode gravimetri dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu:

a. Metode Soxhlet

Metode soxhlet adalah metode yang menggunakan alat soxhlet untuk menguapkan lemak. Alat soxhlet terdiri dari dua buah labu, yaitu labu soxhlet dan labu destilasi. Labu soxhlet berisi sampel lemak dan pelarut organik, sedangkan labu destilasi berisi air. Pelarut organik akan menguap dan terkondensasi kembali ke labu soxhlet. Proses ini akan berulang-ulang sehingga lemak akan teruapkan dan terkumpul di labu destilasi.

b. Metode Destilasi

Metode destilasi adalah metode yang menggunakan alat destilasi untuk menguapkan lemak. Alat destilasi terdiri dari dua buah labu, yaitu labu destilasi dan labu penerima. Sampel lemak dan pelarut organik dimasukkan ke dalam labu destilasi. Pelarut organik akan menguap dan terkondensasi kembali ke labu penerima. Proses ini akan berulang-ulang sehingga lemak akan teruapkan dan terkumpul di labu penerima.

2. Metode Titrasi

Metode titrasi adalah metode yang digunakan untuk menentukan kadar lemak dengan cara mereaksikan lemak dengan larutan titrasi.

Metode titrasi yang dapat digunakan untuk analisis lemak antara lain:

a. Metode Titrasi Asam-Basa

Metode titrasi asam-basa digunakan untuk menentukan kadar lemak jenuh. Lemak jenuh akan bereaksi dengan larutan asam kuat, seperti asam klorida (HCl), untuk membentuk asam lemak bebas. Asam lemak bebas ini kemudian dititrasi dengan larutan basa kuat, seperti natrium hidroksida (NaOH).

b. Metode Titrasi Redoks

Metode titrasi redoks digunakan untuk menentukan kadar lemak tak jenuh. Lemak tak jenuh akan bereaksi dengan larutan permanganat (KMnO_4) untuk membentuk asam lemak rantai pendek. Asam lemak rantai pendek ini kemudian dititrasi dengan larutan ferro sulfat (FeSO_4).

3. Spektroskopi

Spektroskopi adalah metode yang digunakan untuk menentukan komposisi lemak berdasarkan spektrumnya.

Spektroskopi yang dapat digunakan untuk analisis lemak antara lain:

- a. Spektroskopi Infra Merah
Spektroskopi infra merah digunakan untuk menentukan jenis lemak dan sifat-sifat lemak, seperti panjang rantai karbon, ikatan rangkap, dan esterifikasi.
- b. Spektroskopi Ultraviolet
Spektroskopi ultraviolet digunakan untuk menentukan kadar lemak dan sifat-sifat lemak, seperti panjang rantai karbon dan ikatan rangkap.
- c. Spektroskopi Massa
Spektroskopi massa digunakan untuk menentukan jenis lemak dan sifat-sifat lemak, seperti panjang rantai karbon, ikatan rangkap, dan esterifikasi.

4. Kromatografi

Kromatografi adalah metode yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen lemak berdasarkan perbedaan sifatnya.

Kromatografi yang dapat digunakan untuk analisis lemak antara lain:

- a. Kromatografi Gas-Cair
Kromatografi Gas-Cair (GC) digunakan untuk memisahkan komponen-komponen lemak berdasarkan perbedaan titik didihnya. GC merupakan metode yang paling umum digunakan untuk analisis lemak.
- b. Kromatografi Cair-Cair
Kromatografi Cair-Cair (LC) digunakan untuk memisahkan komponen-komponen lemak berdasarkan perbedaan kelarutannya.
- c. Kromatografi Kertas
Kromatografi Kertas digunakan untuk memisahkan komponen-komponen lemak berdasarkan perbedaan distribusinya.

5. Spektroskopi Resonansi Magnetik Nuklir, Spektroskopi Resonansi Magnetik Nuklir (NMR) digunakan untuk menentukan struktur lemak. NMR merupakan metode yang sensitif dan akurat untuk analisis lemak.

J. Metode Analisis Lemak yang Dipilih

Metode analisis lemak yang dipilih tergantung pada tujuan analisis dan jenis lemak yang akan dianalisis. Misalnya, jika tujuan analisis adalah untuk menentukan kadar lemak, maka metode gravimetri atau titrasi dapat digunakan. Jika tujuan analisis adalah untuk menentukan jenis lemak, maka metode spektroskopi atau kromatografi dapat digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Hamong Suharsono (2022) *Membran Biologi: Struktur, Fungsi, dan Perannya dalam Absorpsi*, diterbitkan dalam Jurnal Kedokteran Hewan Universitas Udayana.
- Muhammad Ilyas (2020) *Pengaruh Struktur Lipid Membran terhadap Absorpsi Obat*, diterbitkan dalam Jurnal Farmasi Universitas Airlangga.
- Nurul Hidayah (2021) *Mekanisme Absorpsi Obat Melalui Membran Epitel Usus Halus*, diterbitkan dalam Jurnal Farmasi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Purwanti, E.,Y. (2019) *Mekanisme Absorpsi Nutrisi Melalui Membran Epitel Usus Halus*, diterbitkan dalam Jurnal Ilmu Gizi Universitas Sebelas Maret.

BAB

5

MINYAK

Christ Kartika Rahayuningsih, ST, M.Si

A. Pendahuluan

Minyak disebut juga gliserida dan sebagian besar berupa trigliserida, dimana hasil hidrolisis minyak adalah asam karboksilat dan gliserol. Trigliserida terbentuk dari hasil kondensasi 1 molekul gliserol dengan 3 molekul asam-asam lemak yang menghasilkan 1 molekul trigliserida dan 3 molekul air. Asam karboksilat juga disebut asam lemak dengan rantai hidrokarbon yang panjang dan tidak bercabang. Bila gugus -OH dalam struktur gliserol yang diesterkan berjumlah satu disebut monogliserida, sedangkan bila yang diesterkan berjumlah dua atau tiga gugus -OH, maka disebut digliserida atau trigliserida. Senyawa trigliserida sering disebut sebagai trigliserol (Sudarmadji, S, 2010)

Minyak atau lemak merupakan golongan lipida, yaitu senyawa organik yang banyak di alam dan tidak larut pada air, tetapi dapat larut pada pelarut organik non polar karena minyak mempunyai polaritas yang sama, seperti benzene. Sifat kelarutan tersebut yang membedakan golongan lipida dari golongan protein dan karbohidrat yang tidak larut pada pelarut non polar (Sudarmadji, S, 2010).

Minyak merupakan salah satu zat yang berfungsi untuk menjaga kesehatan tubuh makhluk hidup dan sebagai sumber energi efektif. 1 gram minyak dapat menghasilkan 9 kalori/gram, tetapi karbohidrat dan protein hanya

menghasilkan 4 kalori/gram. Sebagai contoh yaitu minyak nabati mengandung asam-asam lemak essensial (penting) yaitu asam linoleat, asam linoleat, dan arakidonat bermanfaat agar tidak terjadi penyempitan pembuluh darah (Aterosklerosis) yang disebabkan oleh penumpukan plak sehingga dapat mengakibatkan resiko penyakit jantung. Selain itu, minyak berfungsi juga sebagai sumber dan pelarut vitamin-vitamin A, D, E dan K., serta berfungsi sebagai media penghantar panas seperti minyak goreng (Winarno., 2002)

Minyak goreng merupakan kebutuhan pokok bagi masyarakat Indonesia yang sangat penting dalam memenuhi kehidupan sehari-hari sebagai media pengolahan bahan pangan, bahan penghantar panas, penambah rasa gurih, nilai gizi dan kalori bahan pangan (Ketaren, 2008). Mutu dari minyak goreng salah satunya faktor penentunya adalah titik asap dengan suhu pemanasan minyak minimal 200 °C sampai terbentuk akrolein yang dapat menimbulkan rasa gatal pada tenggorokan, dimana pada proses hidrasi gliserol terbentuk aldehida tidak jenuh, sehingga semakin tinggi titik asap, maka semakin baik mutu minyak goreng tersebut (SNI, 3741-2010).

Bahan-bahan mentah dari minyak goreng antara lain yaitu kelapa, kelapa sawit, kacang kedelai, biji jagung, biji bunga matahari dan biji zaitun. Minyak goreng yang beredar dipasaran terdiri dari 2 jenis, yaitu dalam bentuk kemasan, dengan 2 kali penyaringan dan dalam bentuk curah dengan 1 kali penyaringan (Lempang. I. R, 2016)

Minyak goreng yang mengandung asam lemak tidak jenuh, apabila digunakan untuk menggoreng pada suhu 200-250 °C akan terjadi kerusakan yaitu akan teroksidasi dengan udara dan suhu tinggi. Selain itu, unsur-unsur penting yang terkandung dalam minyak goreng tersebut juga terjadi kerusakan dan hilang. Selama digunakan untuk proses menggoreng, sifat-sifat fisika-kimia minyak akan berubah dan semakin lama digunakan secara berulang dengan suhu yang semakin tinggi, maka semakin banyak perubahan yang terjadi antara yaitu warna, bentuk, bau akibat polimerisasi asam-asam

lemak, angka peroksida dan asam lemak bebas tinggi, terdapat logam-logam berat dan kadar air dalam minyak akan terhidrolisis dari bahan pangan tersebut (Ketaren, 2008)

Kerusakan secara kimiawi pada minyak tergantung dari jenis minyak yang dipanaskan pada suhu tinggi (200-250 °C), sehingga senyawa-senyawa yang membahayakan bagi kesehatan tubuh seperti asam lemak bebas dalam jumlah banyak dapat menyebabkan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) dalam darah tinggi dengan resiko terjadinya penyakit jantung (Suroso, 2013).

B. Standar Mutu Minyak

Mutu minyak saat ini sudah diatur sesuai standar bahwa minyak goreng harus sudah terstandar (revisi SNI 01-3741-2002) dengan tujuan dilakukan standar pada minyak goreng, yaitu:

1. Penyesuaian dengan kemajuan teknologi yang terus berkembang yaitu metode uji dan syarat mutu
2. Penyesuaian dengan peraturan-peraturan yang berlaku
3. Perlindungan terhadap kesehatan masyarakat yang mengkonsumsi
4. Terjaminnya perdagangan pangan secara jujur, adil dan bertanggung jawab
5. Memberikan dukungan terhadap perkembangan dan diversifikasi industri minyak goreng.

Standar mutu minyak goreng di Indonesia diatur dalam SNI-3741-2013 yang dapat dilihat pada Tabel 5.1 sebagai berikut.

Tabel 5.1. Kriteria Uji dan Standar Mutu Minyak Goreng

NO.	Kriteria Uji	Satuan	Syarat
Kondisi			
1	Bau	-	Normal
2	Warna	-	Normal
3	Kadar air dan bahan menguap	%(b/b)	Maks 0,15
4	Bilangan Asam	Mg KOH/g	Maks 0,6
5	Bilangan Peroksida	Mek O ₂ /kg	Maks 10

NO.	Kriteria Uji	Satuan	Syarat
6	Asam linoleat (C18:3) dalam komposisi asam lemak minyak	%	Maks 2
Cemaran Logam-Logam			
1	Cadmium	mg/kg	Maks 0,2
2	Timbal	mg/kg	Maks 0,1
3	Timah	mg/kg	Maks 40/250 *
4	Merkuri	mg/kg	Maks 0,05
5	Cemaran Arsen	mg/kg	Maks 0,1
Catatan: * Dalam kemasan kaleng			

C. Faktor-Faktor Penentu Kualitas Minyak

1. Sifat Fisik dan Kimia Minyak

a. Sifat Fisik

Sifat-sifat fisik minyak, antara lain adalah: (Sudarmadji. S, 2010)

1) Warna

Zat warna dalam minyak terdiri dari 2 jenis, yaitu:

a) Zat Warna Alamiah

Zat warna golongan ini secara alamiah terdapat dalam bahan yang mengandung minyak dan ikut terekstrak bersama minyak pada proses ekstraksi, yaitu zat warna karoten, xanthofil, dan klorofil. Zat warna ini menyebabkan minyak berwarna kuning, kuning kecoklatan, kehijau-hijauan dan kemerah-merahan. Pigmen merah jingga terjadi oleh karotenoid yang bersifat larut dalam minyak. Karotenoid merupakan senyawa hidrokarbon tidak jenuh, dan jika minyak dihidrogenasi, maka karoten akan terikut, sehingga intensitas warna kuning berkurang, dimana karotenoid bersifat tidak stabil suhu tinggi, dan jika

minyak dialiri uap panas, maka warna kuning akan hilang. Karotenoid tidak dapat dihilangkan dengan proses oksidasi.

b) **Warna Hasil Degradasi Warna Alami**

Warna terjadi akibat proses oksidasi dan degradasi komponen kimia yang terdapat di dalam minyak

2) Bau

Secara alami bau muncul dari minyak tersebut, karena pembentukan asam-asam yang berantai pendek.

3) Kelarutan

Minyak tidak larut dalam air, tetapi larut dalam alkohol, eter, karbon disulfide dan pelarut-pelarut bersifat halogen.

4) Titik Cair dan Polymorphism

Suatu pengukuran titik cair minyak yang digunakan dalam penentuan atau pengenalan komponen-komponen organik yang murni. Polymorphism adalah keadaan dimana terdapat lebih dari satu bentuk kristal.

5) Titik Didih (Boiling Point)

Titik didih dari asam-asam lemak akan semakin meningkat dengan bertambah panjangnya rantai karbon asam lemak tersebut.

6) Bobot Jenis

Bobot jenis dari minyak ditentukan pada temperatur 25 °C, tetapi penting diukur pada temperatur 40 °C atau 60 °C untuk lemak yang titik cairnya tinggi.

7) Titik Lunak (Softening Point)

Titik lunak digunakan untuk identifikasi minyak, dimana temperatur pada saat permukaan dari minyak dalam tabung kapiler mulai naik yaitu dengan

menggunakan tabung kapiler yang diisi dengan minyak.

8) Slipping Point

Slipping point ini digunakan untuk pengenalan minyak dan pengaruh adanya komponen-komponen dalam minyak tersebut.

9) Shot Melting Point

Temperatur saat terjadi tetesan pertama dari minyak.

10) Indeks Bias

Derajat penyimpangan dari cahaya yang dilewatkan pada suatu medium yang cerah. Indeks bias digunakan saat pengenalan unsur kimia dan pengujian kemurnian minyak.

11) Titik Asap, Titik Nyala dan Titik Api

Titik asap adalah temperatur pada minyak atau lemak menghasilkan asap kebiru-biruan pada saat pemanasan. Titik nyala adalah temperatur pada saat campuran uap dari minyak dengan udara mulai terbakar. Sedangkan, titik api adalah temperatur saat dihasilkan pembakaran yang terus-menerus, sampai habisnya bahan uji

12) Titik Kekeruhan (Turbidity Point)

Titik kekeruhan ini ditentukan dengan cara mendinginkan campuran minyak dengan pelarut lemak. Temperatur pada waktu mulai terjadi kekeruhan.

b. Sifat Kimia

Sifat kimia pada minyak goreng terdiri dari beberapa sifat kimia antara lain yaitu: (Ketaren, 2008)

1) Hidrolisa

Enzim lipase menghidrolisis lemak, memecahnya menjadi gliserol dan asam lemak. Lipase

dapat terkandung secara alamiah pada minyak, tetapi enzim itu dapat diinaktivasi dengan pemanasan. Enzim ini juga dapat dihasilkan oleh mikroorganisme yang terdapat pada bahan makanan berlemak. Asam lemak bebas yang dihasilkan pada reaksi ini dapat memberikan rasa dan bau tidak sedap. Reaksi hidrolisis yang dapat mengakibatkan kerusakan minyak terjadi karena terdapatnya sejumlah air dalam minyak.

2) Oksidasi

Proses oksidasi dapat berlangsung bila terjadi kontak antara sejumlah oksigen dengan minyak atau lemak. Terjadinya reaksi oksidasi ini akan mengakibatkan bau tengik pada minyak. Hal ini disebabkan oleh otooksidasi radikal asam lemak tidak jenuh dalam lemak. Otooksidasi dimulai dengan pembentukan radikal-radikal bebas yang disebabkan oleh faktor-faktor yang dapat mempercepat cahaya, panas, peroksida lemak, atau hidroperoksida, logam-logam berat.

3) Hidrogenasi

Proses hidrogenasi bertujuan untuk memperoleh kestabilan terhadap oksidasi, memperbaiki warna, dan mengubah lemak cair menjadi bersifat plastis yang penting dalam industri-industri makanan. Hidrogen akan mengikat ikatan rangkap asam lemak tidak jenuh, sehingga mengubah jumlah dan letak ikatan rangkap dan menyebabkan sifat fisik dan kimianya juga berubah.

4) Esterifikasi

Proses esterifikasi bertujuan untuk mengubah asam-asam lemak dari trigliserida dalam bentuk ester. Dengan menggunakan prinsip reaksi ini, hidrokarbon rantai pendek dalam asam lemak yang menyebabkan

bau tidak enak, dapat diganti dengan rantai panjang yang bersifat tidak menguap.

2. Penentuan Sifat Minyak

Jenis minyak dapat dibedakan berdasarkan sifat-sifatnya. Pengujian sifat-sifat minyak antara lain adalah uji penyabunan, uji ketidakjenuhan, uji kelarutan, uji titik cair, indeks bias, bobot jenis dan lain-lain (Sudarmadji, S, 2010)

a. Angka Penyabunan

Angka penyabunan dipergunakan untuk menentukan berat molekul minyak dan lemak secara kasar. Minyak yang disusun oleh asam lemak berantai C pendek berarti mempunyai berat molekul relatif kecil akan mempunyai angka penyabunan yang besar dan sebaliknya minyak dengan berat molekul besar mempunyai angka penyabunan relatif kecil. Angka penyabunan adalah bilangan penyabunan yang dinyatakan sebagai banyaknya (mg) KOH yang dibutuhkan untuk menyabunkan satu gram lemak atau minyak.

b. Angka Ester

Angka ester merupakan jumlah asam organik yang bersenyawa sebagai ester dan dapat dihitung sebagai selisih antara angka penyabunan dengan angka asam.

c. Angka Iod

Angka iod merupakan ketidakjenuhan asam lemak penyusun minyak atau lemak tersebut. Asam lemak tidak jenuh akan mengikat iod dan membentuk senyawaan jenuh, dimana banyaknya ion yang diikat menunjukkan banyaknya ikatan rangkap dalam minyak atau lemak. Sehingga Angka iod merupakan banyaknya gram iod yang diikat oleh 100 gram minyak atau lemak. angka iod dapat dicari dengan cara Hanus atau Wiys, dan yang biasa digunakan adalah cara Hanus.

d. **Angka Reichert-Meissl**

Angka Reichert-Meissl merupakan jumlah (mL) NaOH 0,1 N yang digunakan untuk menetralkan asam lemak yang menguap dan larut dalam air yang diperoleh dari hasil penyulingan 5 gram minyak atau lemak pada kondisi tertentu. Asam lemak yang menguap dan mudah larut dalam air adalah yang mempunyai rantai atom karbon 4-6.

e. **Angka Polenske**

Angka Polenske adalah jumlah mL NaOH 0,1 N yang diperlukan untuk menetralkan asam lemak yang menguap dan tidak larut dalam air, tetapi larut dalam alkohol yang diperoleh dari hasil penyulingan 5 gram minyak atau lemak. Hal ini menunjukkan asam lemak yang diperoleh berantai karbon 8-14.

f. **Titik Cair**

Titik cair minyak atau lemak tidak merupakan suhu yang tepat tetapi merupakan kisaran suhu tertentu. Hal ini disebabkan minyak atau lemak disusun oleh campuran gliserida dan komponen lainnya. Asam lemak selalu menunjukkan kenaikan titik cair dengan semakin panjangnya rantai karbon dan semakin jenuhnya lemak tersebut. Lemak yang berstruktur trans mempunyai titik cair yang lebih tinggi daripada bentuk Cis.

g. **Bobot Jenis**

Bobot jenis merupakan perbandingan berat dari volume minyak atau lemak pada suhu 25 °C dengan berat air pada volume dan suhu yang sama.

h. **Indeks Bias**

Indeks bias minyak atau lemak merupakan perbandingan sinus sudut sinar jatuh dan sinus sudut sinar pantul cahaya yang melalui minyak. Pembiasaan ini disebabkan karena adanya interaksi antara gaya elektrostatis dan elektromagnetik atom-atom dalam molekul minyak. Pengujian indeks bias dapat digunakan

untuk mengetahui kemurnian minyak. Alat yang digunakan untuk menentukan indeks bias minyak adalah refraktometer. Penentuan indeks bias minyak pada suhu 25 °C, sedangkan untuk lemak pada suhu 40 °C. Nilai indeks bias dipengaruhi oleh suhu.

3. Penentuan Kualitas Minyak

Faktor penentu minyak yaitu angka asam, angka asam lemak bebas, angka peroksida, angka TBA dan kadar air. (Sudarmadji, S, 2010)

a. Angka Asam

Angka asam dinyatakan sebagai jumlah miligram KOH yang diperlukan untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat dalam satu gram minyak atau lemak. Angka asam yang besar menunjukkan asam lemak bebas yang besar yang berasal dari hidrolisa minyak ataupun karena proses pengolahan yang kurang baik. Makin tinggi angka asam makin rendah kualitasnya.

b. Angka Peroksida

Kerusakan minyak atau lemak yang utama adalah karena peristiwa oksidasi dan hidrolitik, baik ensimatik maupun non-enzimatik. Kerusakan pada minyak yang kemungkinan sering terjadi adalah karena autoksidasi yang paling besar pengaruhnya terhadap cita rasa dan hasil yang diakibatkan adanya oksidasi lemak antara lain adalah peroksida, asam lemak, aldehid dan keton. Sedangkan bau tengik terutama disebabkan oleh aldehid dan keton. Tingkat kerusakan minyak dapat dinyatakan sebagai angka peroksida atau angka asam thiobarbiturat (TBA). Penentuan angka peroksida dapat dilakukan dengan metode Iodin, yaitu:

1) Asam Thiobarbiturat (TBA)

Minyak yang mengalami ketengikan mengandung aldehid, dimana sebagian besar mengandung malonaldehid. Komposisi malonaldehid dapat ditentukan dengan metode destilasi terlebih

dahulu. Kemudian, Malonaldehid direaksikan dengan TBA hingga terbentuk kompleks berwarna merah. Intensitas warna merah sesuai dengan jumlah malonaldehid dan absorbansi (A) ditentukan dengan metode spektrofotometer pada panjang gelombang 528 nm. Semakin besar angka TBA yang diperoleh pada minyak, maka semakin tengik minyak tersebut.

2) Kadar Air Minyak

Kadar air pada minyak menggunakan metode Thermogravimetri atau Thermovolumetri. Metode yang sering dilakukan adalah thermogravimetri, yaitu penimbangan berat kering minyak setelah dilakukan proses pemanasan dengan oven pada suhu yang telah ditentukan. Kemudian, hasil berat (gram) dimasukkan dalam rumus untuk mengetahui kadar air minyak tersebut.

4. Kerusakan Minyak

Kerusakan minyak dapat berpengaruh pada mutu dan nilai gizi bahan pangan yang digoreng. Minyak yang rusak akibat proses oksidasi dan polimerisasi dapat menghasilkan bahan dengan cita rasa yang tidak enak, serta rusaknya sebagian besar vitamin alami dan asam lemak esensial yang terdapat dalam minyak. Oksidasi minyak berlangsung ketika terjadi kontak secara langsung antara sejumlah oksigen dengan minyak. Oksidasi biasanya dimulai dengan pembentukan peroksida dan hidroperoksida. Selanjutnya akan terjadi peruraian asam-asam lemak dengan konversi hidroperoksida menjadi aldehid dan keton serta asam-asam lemak bebas (Ketaren, 2008)

Jadi ketengikan terbentuk oleh aldehida bukan oleh peroksida. Oksida minyak juga akan menghasilkan senyawa hidrokarbon, alkohol, dan senyawa-senyawa aromatis dengan bau tengik dan rasa getir. Senyawa polimer terbentuk selama proses menggoreng karena terjadi reaksi polimerisasi adisi dari asam lemak tidak jenuh yaitu dengan terbentuknya

bahan seperti gum yang mengendap di dasar tempat penggorengan. Oksidasi merupakan faktor utama dari perubahan kimiawi dari minyak.

Perubahan secara kimiawi pada minyak, tidak semuanya berpotensi berbahaya bagi kesehatan, karena ada beberapa produk yang tidak berbahaya dan layak untuk dikonsumsi. Laju perubahan kimia dan tingkat perubahan tergantung pada jenis minyak. Kerusakan minyak akibat pemanasan pada suhu tinggi (200-250 °C) mengakibatkan keracunan dalam tubuh dan terjadi berbagai macam penyakit, misalnya lemak yang mengendap dalam pembuluh darah, kanker dan nilai cerna lemak yang menurun. Kerusakan minyak juga bisa terjadi selama penyimpanan, Dimana penyimpanan yang salah dalam jangka waktu pendek maupun panjang dapat menyebabkan pecahnya ikatan trigliserida pada minyak yang kemudian membentuk gliserol dan asam lemak bebas

5. Faktor-Faktor Akibat Proses Oksidasi

Faktor-faktor yang dapat mempercepat dan menghambat proses oksidasi dibagi menjadi 3 kelas yaitu: (Ketaren, 2008)

a. Suhu

Kecepatan oksidasi lemak bila dibiarkan di udara akan bertambah dengan kenaikan suhu dan akan berkurang dengan penurunan suhu. Kecepatan akumulasi peroksida selama proses aerasi minyak pada suhu 100-115 °C adalah 2 kali lebih besar dibanding suhu 10 °C, sehingga untuk mengurangi kerusakan bahan pangan berlemak dan dapat tahan lebih lama, dapat dilakukan dengan cara menyimpan dalam ruang suhu dingin.

b. Cahaya

Cahaya adalah akselerator terhadap timbulnya ketengikan. Kombinasi dari oksigen dan cahaya dapat mempercepat proses oksidasi. Hal ini terjadi karena

dekomposisi peroksida secara alami telah terdapat dalam lemak. Cahaya berpengaruh sebagai akselerator pada oksidasi tidak jenuh dalam lemak, dan untuk mengatasinya dapat digunakan bahan pembungkus yang dapat berperan sebagai absorpsi sinar aktif yang terbuat dari cellophane berwarna tua yaitu warna biru tua, hijau tua, coklat tua, merah tua.

c. Katalis logam

Logam dalam jumlah kecil yang terdapat di bahan pangan biasanya telah terdapat secara alamiah atau sengaja ditambahkan dalam bahan tersebut untuk tujuan tertentu, dalam bentuk garam kompleks, garam organik maupun garam inorganik. Garam-garam ini biasanya sukar melepaskan secara sempurna dari lemak. Beberapa logam seperti Fe, Cu, Mn, Ni, Co, secara umum dapat mempercepat kerusakan lemak dalam bahan pangan. Sehingga, mengakibatkan bau apek pada konsentrasi di bawah 100 ppm. Fungsi logam sebagai katalisator oksidasi dapat dihambat dengan melepaskan katalis logam dari minyak atau lemak selama tahap awal proses oksidasi dan menambahkan zat penghambat yang kuat dalam sistem autooksidasi untuk mencegah oksidasi berkelanjutan.

6. Faktor-Faktor Pemanasan Penyebab Kerusakan Minyak

Faktor-faktor pemanasan yang dapat menyebabkan kerusakan minyak, antara lain adalah: (Ketaren, 2008)

a. Lamanya Minyak Kontak dengan Panas

Berdasarkan penelitian terhadap minyak bahwa pada pemanasan 10-12 jam pertama, bilangan iod berkurang dengan kecepatan konstan, dan jumlah oksigen dalam minyak bertambah dan lalu menurun setelah pemanasan 4 jam berikutnya. Kandungan persenyawaan karbonil bertambah dalam minyak selama prose pemanasan, kemudian berkurang sesuai dengan berkurangnya jumlah oksigen.

b. Suhu

Pengaruh suhu terhadap kerusakan minyak telah diselidiki dengan menggunakan minyak yang dipanaskan selama 24 jam pada suhu 1200, 1600 dan 2000 °C. Minyak dialiri udara pada 150ml/menit/kilo. Minyak yang dipanaskan pada suhu 1600 dan 2000 °C menghasilkan bilangan peroksida lebih rendah dibandingkan dengan pemanasan pada suhu 1200 °C. Hal ini disebabkan karena persenyawaan peroksida bersifat tidak stabil terhadap panas. Kenaikan nilai kekentalan dan indeks bias paling besar pada suhu 2000 °C, karena pada suhu tersebut jumlah senyawa polimer yang terbentuk cukup besar. Akselerator Oksidasi kecepatan aerasi juga berperan penting dalam menentukan perubahan-perubahan selama oksidasi suhu. Nilai kekentalan naik secara proporsional dengan kecepatan aerasi, sedangkan bilangan iod semakin menurun dengan bertambahnya kecepatan aerasi. Konsentrasi persenyawaan karbonil akan bertambah dengan penurunan kecepatan aerasi. Senyawa karbonil dalam minyak yang telah dipanaskan dapat berfungsi sebagai prooksidan atau akselerator pada proses oksidasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ade Maria Ulfa, A. R. A., 2017. Penetapan Kadar Asam Lemak Bebas Pada Minyak Kelapa, Minyak Kelapa Sawit dan Minyak Zaitun Kemasan Secara Alkalimetri. *Jurnal Analis Farmasi*, 2(4), pp. 242-250.
- Christ Kartika R, W. S. W., 2016. Efektivitas bawang Merah Segar Terhadap Perubahan Bilangan Iodium dan Adsorpsi Warna Oleh Karbon Aktif Pada Minyak Goreng Curah. Surabaya, Semnas Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya.
- Eva Widhia Sapri Sipa, I. E. S. R., 2023. Penetapan Kadar Asam Lemak Bebas Pada Berbagai Minyak Goreng Setelah dan Sebelum Penggorengan Dengan Metode Titrasi Alkalimetri. *MEDFARM: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 12(1), pp. 1-8.
- Ketaren, S., 2008. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak. Jakarta: UI-Press.
- Lempang. I. R. F. & P. N. C., 2016. Uji Kualitas Minyak Goreng Curah dan Minyak Goreng Kemasan di Manado. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(4).
- SNI, 3741-2010. Persyaratan Mutu Titik Asap Minyak Goreng, Jakarta: Departemen Perindustrian.
- SNI, 3741-2013. Syarat Mutu Minyak Goreng, Jakarta: Badan Standardisasi Nasional ICS 67.200.10.
- Sudarmadji. S, H. B. S., 2010. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. kedua ed. Yogyakarta: Liberty.
- Suroso, 2013. Kualitas Minyak Goreng Habis Pakai Ditinjau Dari Bilangan Peroksida, Bilangan Asam dan Kadar Air. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 3(2), pp. 77-88.
- Winarno., 2002. Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

BAB

6

VITAMIN

Muhammad Izzul Widad Fahmi, S.ST., M.Gz

A. Pengertian

Vitamin merupakan senyawa organik yang terdiri dari unsur karbon, hidrogen, oksigen dan nitrogen. Vitamin memiliki struktur molekuler yang kompleks dan bervariasi tergantung pada jenisnya. Vitamin dibutuhkan tubuh untuk melakukan proses metabolisme, pertumbuhan dan perkembangan. Secara umum, tubuh manusia tidak mampu menghasilkan vitamin sendiri, sehingga perlu mendapatkannya secara eksternal yaitu dalam bentuk asupan makanan. Vitamin hanya dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit, sehingga tergolong sebagai mikronutrien. Selain itu, vitamin juga memiliki peran penting dalam pembentukan hormon, materi genetik dan menjaga fungsi sistem saraf yang optimal (Williams dan Wilkins, 2011).

Terdapat lebih dari 20 macam vitamin yang diketahui saat ini (Cahyono, 2020). Namun secara keseluruhan yang dibutuhkan tubuh manusia hanya sebanyak 13 vitamin. Yaitu dari vitamin A, vitamin B kompleks, vitamin C, vitamin D, vitamin E dan vitamin K. Seluruh vitamin ini tidak dapat diproduksi oleh tubuh manusia kecuali vitamin D dan K walaupun dalam jumlah sedikit dan tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan harian. Namun selain kekurangan vitamin, kelebihan vitamin juga dapat menimbulkan masalah pada kesehatan. Kekurangan vitamin dapat mengakibatkan berbagai penyakit, sedangkan kelebihan vitamin tertentu dapat

menyebabkan toksisitas. Oleh karena itu, penting untuk mengonsumsi makanan yang seimbang dan bervariasi untuk memastikan asupan vitamin yang cukup dan mencegah masalah kesehatan yang terkait dengan defisiensi zat gizi.

Secara garis besar, vitamin diklasifikasikan berdasarkan kelarutannya dalam air menjadi dua kelompok, yaitu (Muchtadi, 2008):

1. Vitamin Larut Air

Vitamin-vitamin ini tidak larut dalam lemak dan disimpan dalam tubuh dalam jumlah yang sedikit. Vitamin ini cenderung diekskresikan dalam urin jika tidak digunakan. Vitamin yang termasuk dalam kategori larut air adalah vitamin C dan vitamin B kompleks (B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12) (Williams dan Wilkins, 2011). Kebanyakan sumber makanan yang mengandung vitamin larut air adalah buah-buahan, sayuran, sereal dan produk-produk biji-bijian.

2. Vitamin Tidak Larut Air

Vitamin-vitamin ini larut dalam lemak dan disimpan dalam jaringan tubuh dalam jumlah yang signifikan. Kelompok vitamin ini memerlukan lemak sebagai pelarut untuk diserap oleh tubuh. Oleh karena itu, kekurangan lemak dalam diet juga dapat menyebabkan kekurangan vitamin ini. Vitamin yang termasuk tidak larut air adalah vitamin A, vitamin D, vitamin E, dan vitamin K (Williams dan Wilkins, 2011). Sumber makanan yang mengandung vitamin-vitamin ini biasanya ditemukan dalam makanan yang kaya lemak, seperti minyak, kacang-kacangan dan produk-produk susu.

B. Jenis-jenis Vitamin

Pemahaman akan beragam jenis vitamin dan peran krusialnya dapat membantu kita dalam merancang pola makan yang seimbang dan memastikan bahwa kebutuhan zat gizi terpenuhi. Seiring dengan pengetahuan yang berkembang, telah teridentifikasi berbagai kelompok vitamin yang memiliki peran yang sangat penting dalam menjaga fungsi tubuh yang optimal. Setiap vitamin memiliki karakteristik dan peran yang spesifik

dalam tubuh. Berikut jenis vitamin yang diperlukan oleh tubuh manusia dan fungsinya dalam menjaga kesehatan kita sehari-hari:

1. Vitamin A

Vitamin A, sebagai salah satu jenis vitamin larut lemak, memiliki sifat-sifat tertentu yang mempengaruhi stabilitas dan penyerapannya dalam tubuh. Faktor-faktor seperti suhu dan tempat penyimpanan memainkan peran penting dalam mempengaruhi stabilitas vitamin A (Rahayu dan Pribadi, 2012). Secara khusus, vitamin A cenderung stabil terhadap panas, asam, dan alkali, tetapi rentan terhadap oksidasi oleh udara dan dapat mengalami kerusakan pada suhu yang tinggi (Winarno, 2002).

Vitamin A terdiri dari dua bentuk utama, yaitu retinol (bentuk aktif) dan provitamin A karotenoid (bentuk pasif). Retinol adalah bentuk utama vitamin A yang ditemukan dalam makanan hewani seperti hati, telur dan produk susu. Sedangkan provitamin A seperti beta-karoten, ditemukan dalam sayuran berwarna oranye seperti wortel, ubi jalar dan paprika (Rahayu dan Pribadi, 2012) .

a. Fungsi Vitamin A

- 1) Vitamin A memiliki peran utama dalam kesehatan mata, terutama sebagai komponen penting dari retina yang membantu dalam penglihatan.
- 2) Berperan dalam pertumbuhan dan memelihara jaringan epitel tubuh (Kartasapoetra dan Marsetyo, 2003).
- 3) Berperan untuk pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel kekebalan tubuh, serta menjaga integritas selaput lendir di saluran pernapasan, pencernaan dan saluran kemih.
- 4) Diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan tulang, gigi dan jaringan lainnya pada anak-anak dan remaja.

b. Sumber Vitamin A

Tubuh manusia tidak memiliki kemampuan untuk mensintesis vitamin A sendiri, sehingga perlu diperoleh dari sumber-sumber eksternal, terutama dari sumber alami seperti biji-bijian, umbi, sayuran, buah-buahan, produk hewani seperti telur, ayam, hati ayam, hati sapi, dan susu (Salam *et al.*, 2020).

2. Vitamin B Kompleks

Vitamin B adalah jenis vitamin larut dalam air yang meliputi vitamin B1 (tiamin), vitamin B2 (riboflavin), Vitamin B3 (niasin), vitamin B6 (piridoksin), vitamin B7 (biotin), vitamin B9 (asam folat) dan vitamin B12 (sianokobalamin) (Alvarado, Mimenza dan Navarro, 2016). Vitamin B kompleks dikeluarkan dari tubuh melalui urin, mencegah penumpukan atau efek toksik di dalamnya.

a. Fungsi Vitamin B

- 1) Vitamin B1, B2, B3 dan B5 berperan dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Mereka membantu tubuh mengubah makanan menjadi energi yang diperlukan untuk fungsi normal tubuh.
- 2) Piridoksin (B6), biotin (B7), folat (B9), dan kobalamin (B12), penting untuk kesehatan sistem saraf. Mereka terlibat dalam sintesis neurotransmitter dan pembentukan sel saraf, serta menjaga kesehatan otak dan fungsi kognitif.
- 3) Vitamin B12 dan folat (B9) diperlukan untuk pembentukan sel darah merah dalam sumsum tulang
- 4) Folat (B9), sangat penting selama masa kehamilan untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan janin.

b. Sumber Vitamin B

Sumber-sumber alami vitamin B sangat beragam. Daging, ikan, telur, dan produk susu adalah sumber yang kaya akan vitamin B kompleks, terutama vitamin B12. Biji-bijian utuh, sereal yang diperkaya, serta kacang-kacangan

dan biji-bijian juga menyediakan berbagai jenis vitamin B, seperti tiamin, riboflavin dan folat. Selain itu, sayuran hijau, buah-buahan dan sayuran akar juga mengandung vitamin B.

3. Vitamin C

Vitamin C atau L-asam askorbat adalah sejenis antioksidan yang larut dalam air. Vitamin C berperan penting dalam menjaga kekebalan tubuh untuk melawan senyawa oksigen reaktif yang ada dalam sel-sel tubuh. Secara kimia, vitamin C memiliki struktur kristal putih dengan berat molekul sebesar 176,13 dan rumus molekul $C_6H_8O_6$. Vitamin C cenderung mengalami oksidasi secara reversibel yang mengakibatkan pembentukan asam dehidro L-asam askorbat dan kehilangan 2 atom hidrogen.

Vitamin C stabil dalam kondisi kering, namun rentan terhadap kerusakan atau degradasi saat berada dalam bentuk larutan. Vitamin C dapat mengalami kerusakan apabila mendapat paparan udara, tembaga (Cu), besi (Fe) dan cahaya. Efek dari paparan cahaya pada vitamin C menyebabkan perubahan warna menjadi coklat. Secara khusus, vitamin C merupakan vitamin yang paling rentan terhadap perubahan atau kerusakan (Rahmi and Puspita, 2020).

a. Fungsi Vitamin C

- 1) Vitamin C berperan melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dan stres oksidatif (Wijayanti, 2017)
- 2) Membantu meningkatkan fungsi sistem kekebalan tubuh dengan merangsang produksi dan aktivitas sel-sel kekebalan tubuh, seperti limfosit dan fagosit.
- 3) Berperan dalam sintesis kolagen untuk pembentukan dan perbaikan jaringan ikat, kulit, tulang, gigi, dan pembuluh darah.
- 4) Berperan meningkatkan penyerapan zat besi non-heme dari makanan yang bersumber dari tumbuhan

b. Sumber Vitamin C

Vitamin C harus disuplai dari eksternal tubuh melalui asupan makanan maupun suplemen (Sibagariang, 2010). Sumber-sumber alami vitamin C bervariasi dan meliputi berbagai jenis makanan. Buah-buahan segar menjadi salah satu sumber utama vitamin C, di antaranya jeruk, lemon, stroberi, kiwi, manga dan nanas. Sayuran juga kaya akan vitamin C, seperti paprika, brokoli, kubis, bayam, dan kentang. Beberapa sayuran hijau, seperti bayam dan kale juga merupakan sumber yang baik untuk memperoleh vitamin C (Sediaoetama, 2008).

4. Vitamin D

Vitamin D merupakan vitamin yang larut dalam lemak dan juga disebut juga sebagai kalsiferol. Vitamin D terdiri dari beberapa bentuk, di antaranya adalah vitamin D2 (ergokalsiferol) dan vitamin D3 (kolekalsiferol). Vitamin D2 merupakan salah satu bentuk vitamin D yang terdapat dalam sumber nabati. Vitamin D2 dihasilkan melalui proses konversi ergosterol dalam tumbuhan yang terpapar sinar UV-B.

Sedangkan vitamin D3 merupakan bentuk vitamin D yang paling aktif dan dominan dalam tubuh manusia. Vitamin D3 diproduksi oleh kulit manusia sebagai respons terhadap sinar UV-B matahari yang menyentuh kulit. Selain itu, vitamin D3 juga dapat ditemukan dalam makanan hewani, seperti ikan berlemak, kuning telur, dan produk susu. Vitamin D3 juga tersedia dalam bentuk suplemen (Nair dan Maseeh, 2012).

a. Fungsi Vitamin D

- 1) Membantu penyerapan kalsium dan fosfor dari saluran pencernaan ke dalam darah (Nair dan Maseeh, 2012)
- 2) Berperan penting dalam pembentukan dan pemeliharaan tulang yang sehat. Kekurangan vitamin

- D menyebabkan tubuh tidak dapat menyerap kalsium dengan efisien, sehingga meningkatkan risiko osteoporosis, penipisan tulang dan kerapuhan tulang
- 3) Berperan dalam menjaga kesehatan jantung. Kekurangan vitamin D dapat meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular, termasuk hipertensi, penyakit jantung koroner dan stroke (Galior et al., 2018)
 - 4) Memiliki peran dalam regulasi fungsi seluler dan genetik. Ini mempengaruhi ekspresi gen tertentu yang terlibat dalam berbagai proses biologis, termasuk pertumbuhan sel, diferensiasi sel, dan fungsi sistem kekebalan tubuh (Handono et al., 2018)
 - 5) Membantu dalam produksi dan aktivasi sel-sel kekebalan tubuh, termasuk makrofag dan sel T, yang penting dalam melawan infeksi dan penyakit (Fiannisa, 2019)

b. Sumber Vitamin D

Vitamin D memiliki karakteristik unik karena dapat diproduksi oleh kulit manusia dengan bantuan sinar matahari. Vitamin D₂, yang juga dikenal sebagai ergosterol, berasal dari viosterol dan mengalami konversi menjadi ergosterol oleh sinar ultraviolet (UV). Secara alami zat ini terdapat pada jamur yang terkena paparan sinar matahari. Sedangkan vitamin D₃, atau cholecalciferol, disintesis di dalam kulit manusia dan banyak ditemukan dalam ikan berlemak seperti salmon (Paramita dan Louisa, 2017).

Sumber vitamin D dalam makanan dapat berupa ergosterol (diperoleh dari tumbuhan) dan kolekalsiferol (yang terdapat dalam lemak hewani). Secara umum, kandungan vitamin D dalam produk hewani cenderung lebih tinggi daripada produk tumbuhan, tetapi tingkat vitamin D dalam makanan juga dipengaruhi oleh proses pengolahan (Handono *et al.*, 2018).

5. Vitamin E

Vitamin E merupakan jenis vitamin yang larut dalam lemak. Vitamin E memiliki sifat fisik yang khas, di mana semua bentuknya berupa minyak yang tidak dapat membentuk kristal. Minyak ini memiliki kekentalan yang tinggi. Vitamin E juga menunjukkan ketahanan terhadap suhu tinggi, lingkungan alkali, dan asam (Sediaoetama, 2006). Vitamin E alami tidak memiliki bau atau warna yang terlihat, sementara vitamin E sintetis yang tersedia di pasaran umumnya memiliki warna mulai dari kuning muda hingga kecoklatan (Almatsier, 2002).

Berdasarkan karakteristik kimianya, vitamin E dapat dibedakan berdasarkan jumlah gugus metil pada inti aromatik tokotrienol. Terdapat enam tokoferol pada vitamin E, yaitu α , β , δ , γ , ϵ , dan Z. Aktivitas keseluruhan vitamin E sering diukur berdasarkan konsentrasi α -tokoferol (Winarsih, 2007).

a. Fungsi Vitamin E

- 1) Menjaga kesehatan sel-sel, jaringan dan organ tubuh dari radikal bebas serta melawan proses penuaan (Hariyatmi, 2004)
- 2) Karena sifat antioksidannya, vitamin E juga dikaitkan dengan perlindungan terhadap penyakit kronis, seperti kanker, penyakit jantung dan penyakit neurodegeneratif (Lyn, 2006).
- 3) Vitamin E membantu mengurangi kerusakan kulit akibat sinar UV dan mempromosikan regenerasi sel-sel kulit.

b. Sumber Vitamin E

Vitamin E ditemukan secara alami dalam berbagai sumber makanan, terutama dalam makanan berlemak dan berbasis tumbuhan. Sumber makanan yang kaya akan vitamin E bisa dari minyak nabati seperti minyak gandum, minyak biji bunga matahari, minyak jagung, minyak biji rami dan minyak kedelai. Selain itu kacang-kacangan dan biji-bijian juga merupakan sumber vitamin

E yang baik. Sayuran hijau seperti bayam dan brokoli, buah-buahan seperti mangga, alpukat dan buah berry juga mengandung jumlah vitamin E yang signifikan (Almatsier, 2002).

6. Vitamin K

Vitamin K adalah kelompok senyawa organik yang larut dalam lemak yang diperlukan oleh tubuh untuk berbagai proses biologis. Vitamin K memiliki struktur inti yang berbeda dari vitamin-vitamin lainnya, dengan struktur yang terdiri dari cincin naftoquinona (Brody, 1999).

Meskipun ditemukan dalam beberapa bentuk, di antaranya K1 (filokinon) dan K2 (menaquinon), vitamin K secara umum merupakan koenzim yang berperan penting dalam proses koagulasi darah (Almatsier, 2002). Sebagai koenzim, vitamin K memainkan peran kunci dalam pengubahan protein tertentu menjadi bentuk aktifnya yang diperlukan untuk proses pembekuan darah yang efektif. Selain itu, vitamin K juga terlibat dalam regulasi mineralisasi tulang dengan membantu pembentukan protein yang diperlukan untuk kesehatan tulang.

a. Fungsi Vitamin K

1) Pembekuan Darah

Vitamin K diperlukan untuk konversi protein tertentu menjadi bentuk aktif yang berperan dalam membentuk bekuan darah yang efektif. Tanpa vitamin K, proses pembekuan darah akan terganggu, meningkatkan risiko pendarahan yang berlebihan (Almatsier, 2002).

2) Kesehatan Tulang

Vitamin K juga berperan dalam kesehatan tulang dengan membantu dalam pembentukan protein osteokalsin, yang berfungsi sebagai regulator mineralisasi tulang. Vitamin K membantu memastikan bahwa kalsium diarahkan ke dalam tulang dan

digunakan secara efisien untuk memperkuat struktur tulang (Vermeer dan Knapen, 2016).

3) Kesehatan Pembuluh Darah

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa vitamin K dapat membantu menjaga kesehatan pembuluh darah. Ini karena vitamin K berperan dalam regulasi klasifikasi pembuluh darah, mengurangi penumpukan kalsium yang tidak diinginkan dalam dinding pembuluh darah, yang dapat membantu mencegah penyakit kardiovaskular (Ferland, 2012).

b. Sumber Vitamin K

1) Sayuran Berdaun Hijau

Sayuran berdaun hijau merupakan salah satu sumber terbaik vitamin K, terutama vitamin K1. Contohnya seperti bayam dan sawi mengandung tinggi vitamin K (Almatsier, 2002).

2) Minyak Nabati

Minyak nabati mengandung vitamin K walaupun dalam jumlah yang lebih rendah dibandingkan dengan sayuran. Contohnya seperti minyak kedelai, minyak canola, dan minyak zaitun

3) Produk Fermentasi

dari kedelai fermentasi) mengandung vitamin K2, bentuk lain dari Produk fermentasi seperti tempe dan natto (makanan Jepang yang terbuat vitamin K yang penting untuk kesehatan tulang.

4) Produk Hewani

Sejumlah kecil vitamin K juga dapat ditemukan dalam makanan hewani seperti produk susu, hati sapi dan kuning telur.

C. Analisis Vitamin

Analisis vitamin melibatkan metode laboratorium dan teknik khusus untuk mengukur dan mengidentifikasi jumlah vitamin dalam suatu sampel. Terdapat pengukuran vitamin

secara langsung dan tidak langsung Berikut adalah beberapa metode umum yang digunakan untuk menganalisis vitamin:

1. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi/ *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC):

Kromatografi merupakan metode yang dipakai untuk memisahkan berbagai komponen yang ada dalam suatu campuran senyawa kimia. Prinsip dasar dari HPLC melibatkan pemisahan komponen-komponen dalam suatu campuran berdasarkan perbedaan laju migrasi mereka dalam suatu fase gerak cair melalui fase diam yang padat. (Supriyono, *et al.*, 2020). Metode HPLC mengurai campuran senyawa menjadi komponen-komponen terpisah sehingga pengukurannya menjadi lebih tepat. Selain itu, teknik ini mampu melakukan proses pemisahan dan pengukuran secara bersamaan. Keuntungan utama dari penggunaan HPLC dalam analisis vitamin adalah kemampuannya untuk memberikan pemisahan yang cepat, efisien dan akurat antara berbagai komponen dalam sampel (Ardianingsih, 2009). Berikut tata cara melakukan uji HPLC (Supriyono *et al.*, 2020):

a. Persiapan Sampel

Sampel yang akan dianalisis harus ditimbang dengan teliti untuk memastikan konsentrasi yang akurat. Kemudian, sampel tersebut harus dilarutkan dalam pelarut yang sesuai dengan sifat-sifat kimia sampel dan persyaratan analisis. Penting untuk menyaring sampel untuk menghilangkan partikel kasar atau zat-zat yang dapat menyumbat kolom HPLC. Setelah proses penyaringan, mungkin diperlukan proses homogenisasi yang cermat pada sampel untuk mencegah akumulasi debu atau partikel lain yang bisa mengganggu analisis. Terkadang, jika sampel terlalu kental, perlu diencerkan dengan pelarut agar mencapai konsentrasi yang sesuai untuk analisis HPLC. Selain itu, beberapa sampel rentan terhadap degradasi atau perubahan kimia, oleh karena itu, stabilisasi sampel dengan penambahan agen

pengawet atau pengaturan kondisi penyimpanan yang sesuai dapat diperlukan.

b. Injeksi Sampel

Sampel yang telah disiapkan kemudian diinjeksikan ke dalam sistem HPLC menggunakan injektor otomatis. Volume injeksi dan kondisi lainnya dapat disesuaikan sesuai dengan kebutuhan analisis.

c. Pemisahan

Sampel yang diinjeksikan mengalir melalui kolom kromatografi yang terisi dengan fase diam (*stationary phase*). Vitamin dalam sampel akan berinteraksi dengan fase diam dan fase gerak (*mobile phase*), yang biasanya berupa pelarut organik atau campuran pelarut organik dan air. Interaksi ini memungkinkan pemisahan berdasarkan perbedaan sifat fisikokimia antar vitamin.

d. Deteksi

Setelah dipisahkan, vitamin yang ada dalam sampel dideteksi oleh detektor. Detektor yang umum digunakan dalam HPLC termasuk detektor UV-Vis, detektor fluoresensi atau detektor indeks bias refraktif. Detektor menghasilkan sinyal yang sesuai dengan konsentrasi vitamin dalam sampel.

e. Analisis dan Pengolahan Data

Sinyal yang dihasilkan oleh detektor kemudian dianalisis dan diproses menggunakan perangkat lunak kromatografi. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi vitamin dalam sampel dan melakukan kuantifikasi.

2. Metode Immunologi (Immunoassay)

Metode Immunoassays adalah teknik laboratorium yang memanfaatkan prinsip reaksi antigen-antibodi untuk mendeteksi dan mengukur konsentrasi vitamin dalam sampel. Dalam metode ini, antibodi yang spesifik terhadap vitamin yang ditargetkan digunakan untuk berinteraksi

dengan vitamin dalam sampel, membentuk kompleks antigen-antibodi. Kompleks ini kemudian dideteksi dan diukur, dan konsentrasi vitamin dalam sampel dapat ditentukan berdasarkan respons deteksi yang dihasilkan (Chiu dan Christopoulos, 2012).

Metode Immunoassay dapat digunakan untuk menganalisis vitamin B12 dan Vitamin D (Augustia *et al.*, 2019). Metode ini merupakan salah satu metode yang paling bisa diandalkan untuk menganalisis vitamin selain metode HPL. Kelebihan utamanya adalah sensitivitas yang tinggi, spesifisitas, dan kecepatan relatif dalam memperoleh hasil. Namun, perlu diperhatikan bahwa persiapan sampel yang rumit dan biaya yang lebih tinggi seringkali terkait dengan metode ini. Berikut tata cara metode Imunologi (Chiu dan Christopoulos, 2012):

a. Persiapan Sampel

Pertama, sampel yang mengandung vitamin diekstraksi untuk memisahkan vitamin dari matriks atau bahan lain yang ada dalam sampel. Proses ini dapat menggunakan pelarut organik atau teknik ekstraksi khusus tergantung pada jenis vitamin yang dianalisis dan sifat matriks sampel.

b. Reaksi Antigen-Antibodi

Antibodi yang spesifik terhadap vitamin tertentu diinkubasi dengan sampel. Jika terdapat vitamin dalam sampel, maka akan terjadi reaksi antara antigen (vitamin) dan antibodi, membentuk kompleks antigen-antibodi. Setelah pembentukan kompleks antigen-antibodi, langkah selanjutnya adalah memisahkan kompleks ini dari komponen lain dalam sampel. Proses ini dapat dilakukan dengan berbagai cara tergantung pada jenis metode imunologi yang digunakan. Misalnya, dalam ELISA, kompleks antigen-antibodi biasanya terikat pada substrat yang terdapat di dalam *microplate*.

c. Deteksi

Setelah pemisahan, langkah selanjutnya adalah mendeteksi sinyal yang dihasilkan oleh kompleks antigen-antibodi. Metode ini dapat bervariasi tergantung pada jenis reaksi yang digunakan. Misalnya dalam ELISA, substrat yang diberikan akan menghasilkan sinyal berwarna jika terjadi reaksi antara antigen-antibodi. Sinyal ini kemudian dapat diukur menggunakan spektrofotometer.

d. Analisis dan Interpretasi

Sinyal deteksi dianalisis menggunakan perangkat lunak khusus. Konsentrasi vitamin dalam sampel kemudian ditentukan berdasarkan respons deteksi yang dihasilkan, yang dapat dikorelasikan dengan standar kalibrasi yang telah ditetapkan.

3. Kolorimetri

Kolorimetri adalah metode yang bergantung pada reaksi warna dan suatu reagen pewarna tertentu. Analisis vitamin menggunakan metode kolorimetri memanfaatkan perubahan warna yang dihasilkan saat senyawa vitamin bereaksi dengan reagen. Teknik ini menggunakan sumber cahaya yang mengandung berbagai warna (polikromatis) dan detektor mata untuk mengukur intensitas warna pada suatu larutan (Bassett *et al.*, 1994).

Metode kolorimetri sering digunakan dalam analisis vitamin karena sifatnya yang sederhana, cepat, dan relatif murah (Bassett *et al.*, 1994). Namun, penting untuk memperhatikan bahwa persiapan sampel yang baik dan reagen yang tepat agar mendapatkan hasil yang akurat. Selain itu, kontrol kualitas yang ketat diperlukan untuk memastikan akurasi pengukuran. Secara umum, cara kerja metode kolorimetri untuk analisis vitamin melibatkan beberapa langkah sebagai berikut (Bassett *et al.*, 1994):

a. Persiapan Sampel

Langkah awal dalam analisis vitamin adalah menyiapkan sampel yang akan dianalisis. Sampel dapat berupa larutan, suspensi, atau ekstrak yang mengandung vitamin yang ingin diukur konsentrasinya.

b. Reaksi Kimia

Setelah sampel disiapkan, dilakukan reaksi kimia antara vitamin yang ada dalam sampel dengan suatu reagen atau senyawa tertentu. Reagen ini akan bereaksi dengan vitamin dalam sampel dan menghasilkan perubahan warna yang dapat diukur.

c. Pengukuran Warna

Setelah reaksi selesai, warna dari larutan yang dihasilkan diukur menggunakan alat kolorimeter atau spektrofotometer. Alat ini mengukur intensitas warna pada panjang gelombang tertentu.

d. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Untuk mengukur konsentrasi vitamin dalam sampel, dilakukan pembuatan kurva kalibrasi. Ini dilakukan dengan mengukur intensitas warna dari larutan standar dengan konsentrasi yang diketahui pada berbagai konsentrasi yang berbeda. Dari data yang diperoleh, kurva kalibrasi dibuat untuk mengaitkan intensitas warna dengan konsentrasi vitamin.

e. Analisis Sampel

Setelah kurva kalibrasi dibuat, konsentrasi vitamin dalam sampel dihitung berdasarkan intensitas warna yang diukur menggunakan alat kolorimeter atau spektrofotometer. Dengan membandingkan intensitas warna sampel dengan kurva kalibrasi, konsentrasi vitamin dalam sampel dapat ditentukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. (2002) *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Gramedia Pustaka Utama.
- Alvarado, Mimenza, A. and Navarro, S. (2016) 'Complex B vitamins: Physiology and Therapeutic Effect on Pain', *American Journal of Pharmacological Sciences*, 4(2), pp. 20-27. Available at: <https://pubs.sciepub.com/ajps/4/2/2/index.html>.
- Ardianingsih, R. (2009) 'Penggunaan High Performance Liquid Chromatography (Hplc) Dalam Proses Analisa Deteksi Ion', *jurnal LAPAN*, 10(4), pp. 101-104.
- Augustia, T. et al. (2019) 'Berbagai Metode Immunoassay Untuk Deteksi Aflatoxin B1 (Afb1)', *Farmaka*, 17(2), pp. 325-332.
- Bassett, J. et al. (1994) *Buku Ajar Vogel : Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: EGC.
- Brody, T. (1999) *Nutritional Biochemistry*, Second Edition. California: Academic Publisher.
- Cahyono, D. (2020) *Ilmu Gizi Olahraga*. Pasuruan: Qiara Media.
- Chiu, N. and Christopoulos, T. (2012) *Advances in Immunoassay Technology*. Croatia: HR.
- Ferland, G. (2012) 'Vitamin K and the nervous system: An overview of its actions', *Advances in Nutrition*, 3(2), pp. 204-212. doi: 10.3945/an.111.001784.
- Fiannisa, R. (2019) 'Vitamin D sebagai Pencegahan Penyakit Degeneratif hingga Keganasan', *MEDULA: Medical Profession Journal of Universitas Lampung*, 9(4), pp. 385-392.
- Galior, K., Grebe, S. and Singh, R. (2018) 'Development of vitamin d toxicity from overcorrection of vitamin D deficiency: A review of case reports', *Nutrients*, 10(8). doi: 10.3390/nu10080953.

- Handono, K. et al. (2018) *Vitamin D dan Autoimunitas*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Hariyatmi (2004) 'Kemampuan Vitamin E Sebagai Antioksidan Terhadap Radikal Bebas Pada Lanjut Usia', *Journal MIPA*, 14(1), pp. 52-60.
- Kartasapoetra and Marsetyo (2003) *Korelasi Gizi Kesehatan dan Produktivitas Kerja*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Lyn, P. (2006) 'Lead toxicity part 2 : the role of free radical damage and the use of antioxidants in the pathology and treatment of lead toxicity', *Alternative Medicine Review*, 11(2), pp. 114-127.
- Muchtadi, D. (2008) *Pengantar Ilmu Gizi*. Bandung: Alfabeta.
- Nair, R. and Maseeh, A. (2012) 'Vitamin D: The sunshine vitamin', *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 3(2), pp. 118-126. doi: 10.4103/0976-500X.95506.
- Paramita and Louisa, M. (2017) 'Berbagai Manfaat Vitamin D', *Cdk*, 44(10), pp. 736-740. Available at: <https://media.neliti.com/media/publications/399703-berbagai-manfaat-vitamin-d-12d38cfd.pdf>.
- Rahayu, E. S. and Pribadi, P. (2012) 'KADAR VITAMIN DAN MINERAL DALAM BUAH SEGAR DAN MANISAN BASAH KARIKA DIENG (*Carica pubescens* Lenne&K.Koch)', *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 4(2), pp. 89-97.
- Rahmi, R. and Puspita (2020) *Gizi Dalam Kesehatan Reproduksi*. Pasuruan: Qiara Media.
- Salam et al. (2020) 'PERUBAHAN KONSUMSI PANGAN DAN ASUPAN VITAMIN A IBU MENYUSUI SESAAT DAN TIGA BULAN SETELAH MELAHIRKAN', *Media Gizi Indonesia*, 15(2), pp. 127-134. doi: <https://doi.org/10.20473/mgi.v15i2.127-134>.

- Sediaoetama, A. (2006) Ilmu Gizi untuk Mahasiswa dan Profesi Jilid II. Jakarta: Dian Rakyat.
- Sediaoetama, A. (2008) Ilmu Gizi 1. Jakarta: Dian Rakyat.
- Sibagariang (2010) Gizi Dalam Kesehatan Reproduksi. Jakarta: SKM.
- Supriyono, Fitrillah, M. and Pratama Putra, A. (2020) 'Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi Journal of Scientific and Applied Chemistry Validation of High-Performance Liquid Chromatography Method for Determination of Vitamin B₁₂ in Powder Milk', Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi, 23(5), pp. 177-182. Available at: <http://ejournalundip.ac.id/index.php/ksa>.
- Vermeer, C. and Knapen, M. H. J. (2016) 'Vitamin K and bone', Diet, Nutrients, and Bone Health, 14(2), pp. 191-200. doi: 10.1201/b11228-15.
- Wijayanti, N. (2017) Fisiologi Manusia dan Metabolisme Zat Gizi. Malang: UB Press.
- Williams and Wilkins (2011) Nursing: Menafsirkan Tanda-Tanda dan Gejala Penyakit. Jakarta: PT Indeks.
- Winarno, F. (2002) Kimia Pangan dan Gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winarsih, H. (2007) Antioksidan alami dan radikal bebas potensi dan aplikasinya dalam kesehatan. Yogyakarta: Kanisius.

BAB

7

MINERAL

Islawati, S.Pd., M.Pd

A. Pendahuluan

Dalam menjaga Kesehatan, sering kali terpaku pada aspek-aspek yang besar dan mencolok, seperti olahraga rutin, diet seimbang, dan pengelolaan stres. Namun, dalam upaya menjaga kesejahteraan kita, terdapat elemen-elemen kecil namun penting yang sering terabaikan, salah satunya adalah mineral dalam makanan. Dalam buku ini, kami akan menjelajahi dunia yang jarang terlihat namun sangat berpengaruh dari mineral-mineral ini dalam makanan kita sehari-hari.

Mineral didalam tubuh meskipun hanya dibutuhkan dalam jumlah kecil, tapi sangat berperan penting terhadap kesehatan dan keoptimalan fungsi tubuh. Dari pembentukan tulang dan gigi hingga pengaturan tekanan darah dan metabolisme energi, mineral merupakan elemen dasar yang tidak dapat diabaikan. Dalam bab-bab berikut, kami akan membahas peran mineral, sumber-sumber alaminya, dampaknya terhadap kesehatan kita jika kekurangan serta cara menganalisis mineral.

B. Definisi Mineral

Zat anorganik yang ditemukan secara alami di bumi dan memiliki dengan struktur kristal yang teratur disebut sebagai mineral. peran penting dalam kesehatan manusia yang dimiliki oleh mineral karena berbagai mineral seperti kalsium,

magnesium, dan kalium diperlukan untuk menjaga fungsi otot, kesehatan tulang, dan keseimbangan cairan dalam tubuh (Risniati et al., 2020). Relevansi mineral dalam konteks kesehatan juga terkait dengan manfaatnya dalam mendukung sistem kekebalan tubuh. Beberapa mineral seperti seng dan selenium dikenal memiliki peran dalam peningkatan daya tahan tubuh dari infeksi serta penyakit (Irma and Miladiarsi, 2023). Pentingnya mineral dalam kesehatan juga terkait dengan kondisi kesehatan spesifik, seperti osteoporosis dan CKD-MBD (*Chronic Kidney Disease–Mineral and Bone Disorder*). Penelitian telah menunjukkan bahwa asupan mineral tertentu, seperti kalsium dan vitamin D, berperan dalam mencegah osteoporosis dan fraktur tulang (Waziri et al., 2019). Sementara itu, pada pasien dengan CKD-MBD, keseimbangan mineral dalam tubuh menjadi krusial karena gangguan pada metabolisme mineral dapat menyebabkan komplikasi serius seperti kalsifikasi vaskular dan penurunan kesehatan tulang (Winter et al., 2022). Dengan demikian, definisi mineral dalam konteks kesehatan sangat relevan karena mineral berperan sangat penting dalam stabilitas kesehatan tubuh manusia, mencegah penyakit tertentu, dan mempengaruhi kondisi kesehatan spesifik.

C. Klasifikasi Mineral

Klasifikasi mineral dalam konteks makanan juga dapat dibagi menjadi makro mineral dan mikro mineral. Namun, perbedaannya tidak hanya terletak pada ukuran butiran atau kristal seperti pada konteks geologi, melainkan pada konsentrasi mineral yang terdapat dalam makanan. Berikut adalah penjelasan lebih lanjut mengenai kedua klasifikasi mineral ini dalam konteks makanan:

1. Makro Mineral pada Makanan:

Makro mineral dalam makanan merujuk pada mineral-mineral yang dibutuhkan dalam jumlah yang signifikan oleh tubuh manusia. Meskipun dibutuhkan dengan jumlah yang besar, tubuh manusia tidak mampu menghasilkan sendiri makro mineral ini, sehingga harus

memperolehnya dari asupan makanan. Berikut adalah beberapa contoh makro mineral yang penting dalam makanan:

- a. Kalsium: Kalsium adalah mineral penting yang mendukung kesehatan gigi dan tulang serta berperan dalam kontraksi otot, transmisi sinyal saraf, dan fungsi kardiovaskular. Asupan yang memadai dari kalsium membantu mengurangi risiko osteoporosis dan pengeroposan tulang pada usia lanjut. Selain itu, kalsium diperlukan dalam proses kontraksi otot; ketika otot menerima sinyal dari saraf untuk berkontraksi, kalsium memasuki sel-sel otot dan memicu proses tersebut. Kekurangan kalsium dapat menyebabkan kelemahan otot dan kejang. Fungsi kalsium juga mencakup transmisi impuls saraf di seluruh tubuh, yang menjaga fungsi sistem saraf yang optimal, termasuk komunikasi antara otak dan bagian tubuh lainnya. Selain itu, kalsium juga diperlukan dalam proses koagulasi darah, di mana tubuh membutuhkan mineral ini untuk membentuk bekuan darah guna mencegah kehilangan darah yang berlebihan saat terjadi luka atau cedera (Kusuma and Putri, 2020).
- b. Magnesium: Tubuh melakukan lebih dari 300 reaksi enzimatik, termasuk metabolisme energi, sintesis protein, dan fungsi saraf dan otot. Selain itu, mineral ini membantu penyerapan kalsium dan pembentukan tulang yang kuat. Magnesium dan vitamin D bekerja sama untuk menjaga kepadatan tulang yang ideal dan mencegah osteoporosis (Kusuma and Putri, 2020). Magnesium juga membantu menjaga tekanan darah normal dan kesehatan jantung dengan melemaskan pembuluh darah, yang mengurangi tekanan darah tinggi dan menurunkan risiko stroke dan penyakit jantung. Mineral ini juga berperan dalam menjaga keseimbangan elektrolit dalam tubuh, termasuk kalium, natrium, dan kalsium, yang penting untuk fungsi seluler yang normal dan menjaga keseimbangan cairan dalam tubuh. Magnesium

membantu meningkatkan sensitivitas insulin dan memperbaiki metabolisme glukosa. Ini dapat membantu mengurangi risiko resistensi insulin, diabetes tipe 2, dan komplikasi terkait diabetes. Magnesium memiliki peran dalam fungsi kognitif dan kesehatan otak. Kekurangan magnesium dapat berhubungan dengan penurunan kognisi dan risiko perkembangan gangguan neurologis seperti Alzheimer. Magnesium dapat memainkan peran dalam menjaga kesehatan mental dengan mengatur produksi neurotransmitter seperti serotonin. Kekurangan magnesium telah dikaitkan dengan peningkatan risiko gangguan mood seperti depresi dan kecemasan (Jelmila, 2022).

- c. Kalium: Kalium berfungsi dengan baik untuk menjaga keseimbangan cairan dalam tubuh, tekanan darah, dan kontraksi otot, dan juga penting untuk fungsi jantung dan sistem saraf, membantu mencegah penyakit jantung dan stroke, dan membantu menjaga keseimbangan elektrolit. Dengan meningkatkan pembuangan kalsium dalam urine, konsumsi kalium yang cukup dapat mengurangi risiko munculnya batu ginjal (Jelmila, 2022).
- d. Natrium: Natrium berperan dalam menjaga keseimbangan cairan, transmisi impuls saraf, dan kontraksi otot. Namun, konsumsi natrium yang berlebihan dapat meningkatkan risiko hipertensi (Zulfachmi et al., 2023).
- e. Fosfor: Fosfor berperan dalam sintesis DNA, metabolisme energi, dan pembentukan tulang dan gigi yang sehat (Kusuma and Putri, 2020).

2. Mikro Mineral pada Makanan:

Mikro mineral pada makanan, juga dikenal sebagai mineral jejak atau trace mineral, adalah mineral yang hanya dibutuhkan tubuh manusia dalam jumlah kecil, tetapi memiliki peran penting dalam berbagai fungsi biologis. Berikut adalah beberapa contoh mikro mineral yang sangat penting bagi kesehatan makanan:

- a. Zink: Zink diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel, fungsi sistem kekebalan tubuh, penyembuhan luka, dan metabolisme karbohidrat (Nurdianto and Wimpy, 2022).
- b. Selenium: Selenium adalah antioksidan yang penting untuk melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan radikal bebas. Ini juga berperan dalam fungsi tiroid dan sistem kekebalan tubuh (Nurdianto and Wimpy, 2022).
- c. Besi: Besi adalah bagian dari protein dalam sel darah merah yang disebut hemoglobin, yang mengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh tubuh. Kekurangan zat besi dapat menyebabkan anemia (Nurdianto and Wimpy, 2022).
- d. Tembaga diperlukan untuk pembentukan hemoglobin, penyerapan zat besi, dan fungsi sistem kekebalan tubuh. Besi juga berperan dalam pembentukan kolagen dan penyerapan vitamin (Nurdianto and Wimpy, 2022)
- e. Mangan: Mangan diperlukan untuk pembentukan tulang dan kerangka, metabolisme karbohidrat, dan pembentukan hormon.
- f. Kromium: Dengan meningkatkan sensitivitas insulin, kromium membantu mengatur gula darah.
- g. Fluor: Fluor membantu mencegah kerusakan gigi dengan memperkuat enamel gigi.
- h. Iodium: Iodium adalah komponen dari hormon tiroid, yang mengatur metabolisme tubuh, pertumbuhan, dan perkembangan. Kekurangan jodium dapat menyebabkan gangguan kesehatan seperti gondok dan hipotiroidisme.
- i. Klorida: Ion klorida membantu tubuh menjaga keseimbangan cairan dan membuat asam lambung, yang diperlukan untuk pencernaan makanan (Zulfachmi et al., 2023)
- j. Molibdenum: Molibdenum diperlukan untuk metabolisme lemak, karbohidrat, dan protein, serta berperan dalam penguraian asam amino dan pembentukan enzim (Zulfachmi et al., 2023)

- k. Sulfur: Sulfur adalah komponen penting dari asam amino, yang berfungsi sebagai blok bangunan protein dalam tubuh. Sulfur juga berpartisipasi dalam pembentukan disulfida, yang membantu menjaga struktur dan kekuatan protein (Zulfachmi et al., 2023)
- l. Nikel: Nickel memiliki fungsi penting dalam banyak enzim dan reaksi biologis tubuh manusia, meskipun hanya diperlukan dalam jumlah kecil.
- m. Vanadium: Vanadium berperan dalam metabolisme glukosa dan produksi energi. Ini juga memiliki efek insulinomimetik, yang berarti dapat meningkatkan respons tubuh terhadap insulin.
- n. Kobalt: Kobalt adalah bagian penting dari vitamin B12 yang diperlukan untuk pembentukan sel darah merah, sintesis DNA, dan kesehatan saraf.

D. Defisiensi Mineral dan Makanan Sumber Mineral

Defisiensi mineral terjadi ketika tubuh kekurangan salah satu atau beberapa mineral yang penting untuk fungsi tubuh yang optimal. Ini bisa terjadi karena berbagai alasan, termasuk asupan makanan yang tidak memadai, penyerapan yang buruk, atau kehilangan mineral yang berlebihan. Berikut adalah beberapa contoh defisiensi mineral yang umum terjadi dan dampaknya pada kesehatan:

1. Zat Besi (Fe)

Defisiensi zat besi adalah masalah umum di negara-negara berkembang dan maju di seluruh dunia (Fitriany and Saputri, 2018). Kondisi ini dapat disebabkan oleh banyak hal, seperti infeksi, perdarahan saluran cerna, asupan zat besi yang kurang, dan kebutuhan zat besi yang meningkat. Untuk menjaga kesehatan sel darah merah dan mencegah anemia, asupan zat besi yang cukup sangat penting. Gejala anemia termasuk kelelahan, sesak napas, dan penurunan konsentrasi karena tubuh tidak memiliki cukup sel darah merah yang sehat untuk membawa oksigen ke jaringan tubuh. Defisiensi zat besi, penyebab umum anemia, dapat menyebabkan

anemia sendiri. Efisiensi zat besi adalah kondisi yang berdampak besar pada kesehatan seseorang, terutama berkaitan dengan anemia. Studi menunjukkan bahwa berbagai kelompok dapat mengalami kekurangan zat besi, termasuk ibu yang baru melahirkan, anak-anak, remaja putri, dan wanita tanpa anemia. Kekurangan zat besi pada ibu hamil juga dikaitkan dengan anemia. Kekurangan zat besi juga dapat menyebabkan trombotosis dan melasma pada wanita (Darmawati et al., 2023).

Daging merah, ikan, unggas, biji-bijian, sayuran berdaun hijau (seperti kale dan bayam), kacang-kacangan, dan sereal yang diperkaya zat besi adalah beberapa contoh makanan yang kaya akan zat besi. Selama kehamilan, kebutuhan zat besi meningkat untuk mendukung pertumbuhan janin dan plasenta serta memastikan pasokan oksigen yang cukup untuk ibu. Akibatnya, konsumsi makanan yang mengandung vitamin C dan sumber zat besi dapat membantu tubuh menyerap zat besi.

2. Kalsium (Ca)

Osteoporosis, salah satu masalah kesehatan yang paling umum, dapat disebabkan oleh kekurangan kalsium, terutama pada orang lanjut usia (Papilaya et al., 2022). Selain itu, kekurangan kalsium juga dapat meningkatkan risiko terkena stunting pada anak-anak (Chairunnisa et al., 2018). Kalsium juga mendukung sistem kekebalan tubuh manusia dan menjaga fisiologi tulang (Syahrial et al., 2022). Kekurangan kalsium dapat menyebabkan banyak masalah kesehatan, seperti penurunan kepadatan tulang, peningkatan risiko patah tulang, dan masalah kesehatan gigi. Oleh karena itu, untuk menjaga kesehatan gigi yang kuat dan mencegah osteoporosis, asupan kalsium yang cukup sangat penting.

Makanan yang kaya akan kalsium termasuk sayuran berdaun hijau, kacang-kacangan, ikan, dan produk susu seperti susu, keju, dan yogurt. Beberapa makanan dan minuman juga mengandung kalsium tambahan, seperti tahu, jus jeruk, dan sereal. Mendapatkan cukup kalsium melalui

makanan dan suplemen adalah penting selama masa pertumbuhan, kehamilan, dan menyusui.

3. Magnesium (Mg)

Kekurangan magnesium dapat berdampak signifikan pada metabolisme energi dan fungsi otot. Kadar magnesium yang tidak mencukupi dapat mengganggu produksi ATP, yang berarti tingkat energi turun dan kinerja otot menjadi lebih buruk. Karena pentingnya magnesium untuk kesehatan dan fungsi otot, kram otot, kelemahan, dan kelelahan adalah gejala umum kekurangan magnesium (Parazzini et al., 2017)

Magnesium ada secara alami dalam biji-bijian dan kacang-kacangan, seperti biji labu, kacang tanah, dan kacang almond, serta biji-bijian utuh: seperti oatmeal, beras merah, dan gandum. Magnesium juga banyak ditemukan dalam sayuran berdaun hijau seperti brokoli, kale, dan bayam. Magnesium ada dalam beberapa makanan laut, seperti salmon, tuna, dan kerang. Makanan olahan yang diperkaya seperti sereal sarapan, susu, dan produk susu juga dapat membantu Anda mendapatkan magnesium. Dengan mengonsumsi berbagai jenis makanan yang berasal dari berbagai kelompok makanan, Anda dapat memastikan bahwa Anda mendapatkan asupan magnesium yang cukup untuk membantu Tubuh Anda bekerja dengan baik.

4. Kalium (K)

Kekurangan kalium dapat menyebabkan masalah kesehatan seperti kelelahan, otot kaku, dan gangguan irama jantung. Oleh karena itu, untuk menjaga keseimbangan kalium dalam tubuh, asupan kalium yang cukup melalui makanan sangat penting.

Makanan yang mengandung banyak kalium termasuk buah-buahan (seperti aprikot, pisang, stroberi, dan jeruk) dan sayuran hijau (seperti bayam, kale, dan kentang). Selain itu, mineral ini juga dapat ditemukan dalam biji-bijian serta kacang-kacangan, seperti biji buncis, kacang lentil, dan kacang merah. Selain itu, ikan (seperti salmon, tuna, dan

trout) dan produk susu (seperti yogurt, susu, dan keju) mengandung banyak kalium. Untuk menjaga kesehatan tubuh secara keseluruhan, berbagai kelompok makanan ini dapat membantu memastikan asupan kalium yang cukup (Christijani and Anggraeni, 2022).

5. Sodium (Na)

Hiponatremia adalah kondisi di mana tubuh kekurangan natrium. Kadar natrium dalam darah turun di bawah tingkat normal, biasanya kurang dari 135 milimol per liter (mmol/L), disebut hipernatremia. Hiponatremia memiliki gejala yang bervariasi dari ringan hingga parah, seperti mual, muntah, kelelahan, kebingungan, kejang, dan bahkan koma. Kondisi medis seperti muntah berlebihan, diare, atau penggunaan diuretik yang berlebihan seringkali menjadi penyebab defisiensi natrium, tetapi kekurangan natrium dalam diet juga dapat menjadi penyebabnya. Perawatan medis segera diperlukan untuk kondisi ini, terutama jika gejalanya parah atau muncul secara tiba-tiba.

Makanan seperti daging, ikan, telur, dan susu adalah contoh makanan alami yang mengandung natrium dalam jumlah kecil yang diperlukan tubuh untuk menjalankan fungsi normalnya. Daging seperti daging sapi dan ayam, misalnya, mengandung sedikit natrium secara alami. Selain itu, ikan laut mengandung natrium, tetapi jumlah yang ada di dalamnya berbeda-beda tergantung pada spesiesnya. Selain itu, natrium dapat diperoleh secara alami dari telur dan produk susu seperti susu, keju, dan yogurt. Namun, perlu diingat bahwa mengonsumsi makanan yang tinggi natrium alami tidak disarankan, terutama bagi orang dengan tekanan darah tinggi.

6. Seng (Zn), Tembaga (Cu), Mangan (Mn), dan Selenium (Se)

Kekurangan seng dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan, penurunan fungsi kekebalan tubuh, dan masalah kesehatan lainnya. Di sisi lain, tembaga (Cu) juga diperlukan sebagai kofaktor enzimatik dan berperan dalam

proses metabolisme, pembentukan kolagen, dan penyerapan zat besi. Kekurangan tembaga dapat menyebabkan anemia dan gangguan pertumbuhan. Mangan (Mn) juga diperlukan dalam berbagai reaksi enzimatik, termasuk metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein. Namun, paparan mangan yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan saraf dan gangguan kesehatan lainnya.

Selenium (Se) adalah mineral penting yang berfungsi sebagai antioksidan dan diperlukan untuk fungsi tiroid yang sehat. Kekurangan selenium dapat menyebabkan gangguan fungsi tiroid dan meningkatkan risiko penyakit jantung, sementara paparan selenium yang berlebihan juga dapat berdampak negatif pada kesehatan.

Kacang-kacangan seperti kacang Brazil, biji bunga matahari, dan biji rami, ikan laut, daging, telur, dan susu adalah makanan alami yang mengandung selenium. Mangan, di sisi lain, dapat ditemukan dalam biji-bijian, kacang-kacangan, buah-buahan (seperti pisang dan alpukat), sayuran hijau berdaun (seperti bayam dan kale), teh dan coklat hitam. Terakhir, unggas, daging, biji-bijian, kacang-kacangan, dan produk susu, seperti keju serta yogurt, mengandung seng. Berbagai jenis makanan ini dapat membantu memastikan asupan seng, tembaga, mangan, dan selenium yang cukup dalam diet Anda setiap hari.

E. Analisis Mineral Pada Bahan Makanan

Seseorang dapat melakukan pemeriksaan mineral dalam dua cara. Pertama, mereka dapat mengidentifikasi mineral absolut dengan memperkirakan kandungan limbah; kedua, mereka dapat mengidentifikasi masing-masing mineral secara terpisah dengan menggunakan spektrofotometri serapan atom (Yenrina, 2015).

1. Analisis Kadar Abu

Untuk analisis kandungan abu (mineral), terdapat dua cara yang dapat digunakan:

a. Metode Kering:

Metode ini digunakan untuk mengukur gravimetri sisa atau abu (total mineral) pada makanan. Bobot ini diperoleh dengan dua kali menimbang hingga perbedaan kurang dari 0,5 mg/g sampel.

Untuk mengukur abu dalam makanan, sisa mineral diukur setelah bahan alami dibakar hingga suhu 550°C. Peralatan yang dibutuhkan meliputi:

- 1) Hot plate.
- 2) Cawan/kuali pengabuan yang terbuat dari nikel, platina, atau silika, beserta penutupnya.
- 3) Penjepit cawan.
- 4) Furnace pengabuan.

Langkah-langkah prosedur kerja adalah sebagai berikut:

- 1) Cawan pengabuan yang telah disiapkan dikeringkan dalam furnace selama lima belas menit, kemudian dinginkan kembali dalam desikator dan kemudian ditimbang (sebagai W₀).
- 2) Tiga hingga lima gram sampel ditimbang dalam cawan yang bobotnya sudah diketahui (sebagai W₁). Terlebih dahulu, sampel cairan harus diuapkan di atas penangas air sampai kering.
- 3) Kemudian sampel dibakar di atas plat panas hingga tidak ada asap.
- 4) Setelah itu, dimasukkan ke dalam oven pengabuan dan dibakar hingga abu menjadi berwarna abu-abu atau beratnya menjadi stabil. dibakar dalam 2 tahap: yang pertama pada suhu 400 °C dan yang kedua pada suhu 550 °C. Sampel kemudian dibiarkan dingin dalam desikator sebelum ditimbang sebagai W₂.

Rumus Penentuan:

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{(W_2 - W_0)}{(W_1 - W_0)} \times 100\%$$

Kandungan mineral pada makanan dapat ditentukan dengan menghancurkan sampel makanan tersebut terlebih dahulu. Secara umum teknik yang dapat dilakukan menggunakan *dry ashing* (pengabuan kering) dan *wet digestion* (pengabuan basah). Dalam memilih metode yang digunakan, hal yang menjadi pertimbangan berdasarkan mineral yang akan dianalisis, sifat zat organik dalam bahan, serta sensitivitas metode yang digunakan.

Dry ashing digunakan umumnya untuk semua analisis mineral kecuali arsenik dan merkuri. Metode ini membutuhkan sedikit presisi dan dapat menghasilkan sedikit kerusakan pada bahan untuk berbagai jenis bahan lebih banyak daripada pengabuan basah. Pengabuan kering biasanya digunakan untuk memeriksa kandungan kalsium (Ca), fosfor (P), dan besi (Fe), namun perlu diingat bahwa kehilangan kalium (K) dapat terjadi jika suhu yang digunakan terlalu tinggi. Oleh karena itu, untuk menganalisis kandungan kalium, harus dihindari penggunaan suhu di atas 480°C. Suhu 450°C tidak disarankan untuk menganalisis kandungan seng (Zn), karena suhu yang terlalu tinggi dapat membuat beberapa mineral menjadi tidak larut (seperti timah putih).

Menurut (Tarigan, 2019), prosedur persiapan sampel untuk analisis mineral dengan pengabuan kering adalah sebagai berikut:

- 1) Timbang sampel dengan akurat dan masukkan ke dalam cawan silika yang beratnya sudah diketahui.
- 2) Panaskan sampel sebanyak mungkin zat organik di atas plat panas atau pemanas dengan api sedang untuk menguapkannya (hingga sampel tidak lagi menghasilkan asap).
- 3) Panaskan cawan di dalam tanur pada suhu 300 °C sampai semua karbon berubah menjadi abu abu. Tingkatkan suhu menjadi 420 °C setelahnya. Pengabuan biasanya dilakukan pada suhu 450 °C, dan

waktu pengabuan biasanya antara 5 dan 7 jam (jika ingin menggunakan suhu yang lebih rendah).

- 4) Tutup cawan dengan gelas arloji dan gunakan pipet untuk perlahan menambahkan 40-50 ml HCl encer (1+1). Cairan tidak akan semprot.
- 5) Panaskan cawan di atas panci air selama tiga puluh menit, kemudian angkat tutupnya dan bilas. Lanjutkan pemanasan selama tiga puluh menit lagi untuk menghilangkan air dari silika. Untuk melarutkan garam-garam, tambahkan sepuluh mililiter HCl (1 + 1) dan air.
- 6) Saring larutan menggunakan kertas saring Whatman No. 44, lalu masukkan filtrat ke dalam labu takar 100 mililiter.
- 7) Bilas sisa residu 1 hingga 2 kali menggunakan HCl (1+1), kemudian cuci sisa kemudian cuci residu yang tersisa dalam kertas saring menggunakan HCl (1+1) kembali.
- 8) Dengan menggunakan aquades, encerkan hingga tanda tera.
- 9) Kembalikan kertas saring ke dalam cawan, bakar, dan abukan dalam tanur selama satu jam pada suhu 450°C, lalu dinginkan dan timbang. Langkah ini memberikan perkiraan tentang jumlah silika yang ada dalam sampel.

b. Metode Basah:

Metode ini bekerja dengan menghancurkan dan mengoksidasi bahan organik menggunakan campuran asam pengoksidasi kuat yang direbus bersama-sama dalam abu Kjeldahl. Asam nitrat pekat, asam sulfat pekat, asam perklorat, atau hidrogen peroksida (H_2O_2) 30% (perhidrol) adalah beberapa reaksi yang biasa digunakan.

Pengabuan basah memiliki banyak manfaat. Pengabuan basah menggunakan asam nitrat untuk menghancurkan zat organik pada suhu rendah untuk

mencegah kehilangan mineral akibat penguapan, dan suhu yang digunakan tidak boleh melebihi titik didih larutan. Setelah itu, seringkali proses dilanjutkan dengan cepat menggunakan asam perklorat atau hidrogen peroksida. Untuk menganalisis mineral seperti arsenik, tembaga, timah hitam, timah putih, dan seng, pengabuan basah biasanya digunakan. Sampel dibuat dengan cara ini: Untuk tujuan ini, gunakan labu Kjeldahl berleher panjang yang memiliki kapasitas 300 mililiter dan dilengkapi dengan sambungan ground glass no. 1324. Untuk mengkondensasi uap ke dalam fume kondensor, sambungkan labu dengan sebuah extension. Untuk memasukkan pereaksi, tambahkan funnel side-tap. Untuk proses pencernaan, gunakan rak baja ringan dengan bagian atasnya dilapisi asbestos dan lubang untuk menempatkan labu. Di samping rak pencernaan, sangga leher labu. Untuk mengarahkan, pastikan extension masuk ke dalam fume kondensor. Pereaksinya:

- 1) Larutan pekat HNO_3 ,
- 2) larutan pekat H_2SO_4 ,
- 3) Asam perklorat,
- 4) Hidrogen peroksida serta uap ke dalamnya.

Tiga jenis pengabuan basah yang berbeda dapat digunakan dalam prosedur kerja ini. Mereka adalah sebagai berikut:

- 1) Pengabuan basah dengan menggunakan campuran HNO_3 dan H_2SO_4 ;
- 2) Pengabuan basah dengan menggunakan campuran HNO_3 , H_2SO_4 , dan HClO_4 ;
- 3) Pengabuan basah dengan menggunakan campuran HNO_3 , H_2SO_4 , dan H_2O_2 .

Jumlah sampel yang digunakan akan berbeda tergantung pada beberapa faktor. Namun, jika Anda hanya ingin menganalisis satu jenis mineral, jumlah sampel yang digunakan harus lebih besar daripada jika

Anda akan menganalisis lebih dari satu jenis mineral. Kandungan mineral dalam bahan, serta sensitivitas prosedur yang akan digunakan, harus juga dipertimbangkan.

2. Analisis Komponen-Komponen Mineral dengan SSA (Spektroskopi Serapan Atom)

Walsh pertama kali menggunakan spektroskopi serapan atom (SSA) pada tahun 1955. Sejak itu, metode ini telah digunakan untuk meneliti dan menganalisis tidak kurang dari 65 unsur. SSA digunakan untuk melakukan analisis kuantitatif unsur logam dalam jumlah garis dan ultragaris. Karena memiliki tingkat kepekaan yang tinggi (batas deteksi kurang dari 1 ppm), mudah dilakukan, dan sedikit gangguan, metode analisis ini sangat cocok untuk analisis kelumit logam. Ini karena metode ini memberikan kadar unsur logam total dalam sampel tanpa tergantung pada bentuk molekul logam dalam sampel.

SSA tidak bersifat mutlak, seperti halnya metode analisis instrumental lainnya. Analisis kuantitatif biasanya menggunakan standar. Kurva standar SSA dibuat dengan menambah konsentrasi sistem yang sudah diketahui dan mengukur absorbansinya. Dalam praktiknya, disarankan untuk menggunakan satu blanko dan setidaknya empat konsentrasi standar terpisah untuk membuat kurva standar linier yang menunjukkan hubungan antara absorbansi (A) dan konsentrasi analit yang akan digunakan untuk analisis. Rekomendasi utama adalah agar absorbansi sampel berada dalam kisaran absorbansi kurva standar: tidak melebihi atau kurang dari absorbansi standar tertinggi, dan tidak kurang dari absorbansi standar terendah. Jika absorbansi sampel di luar kisaran ini, mungkin diperlukan pemekatan atau pengenceran. Karena kurangnya linearitas, ekstrapolasi atau pengukuran absorbansi sampel di luar rentang absorbansi standar tidak direkomendasikan (Tarigan, 2019).

Untuk mengetahui kadar mineral dengan SSA, setelah bahan organik sampel dihancurkan dengan pembakaran basah atau kering, sisa abu larut dalam asam encer. Logam yang telah diatomisasi akan menyerap energi tertentu yang dipancarkan oleh lampu katoda setelah tereksitasi dalam nyala. Jumlah energi yang diserap logam seperti Na, K, dan Ca dapat dihitung dengan mengukur emisi yang terjadi.

Menurut (Yenrina, 2015) menyatakan bahwa perhitungan berikut digunakan untuk menentukan konsentrasi logam dalam sampel dan menghasilkan kurva standar:

Konsentrasi logam (mg/100g) dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Konsentrasi logam (mg/100g)} = \frac{(a-b) \times V \times fp \times 100}{10B}$$

Konsentrasi logam ($\mu\text{g/g}$) dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Konsentrasi logam } (\mu\text{g/g}) = \frac{(a-b) \times V \times fp \times 100}{a}$$

Di mana:

- B = Bobot sampel (dalam gram)
- V = Volume ekstrak (dalam mL)
- a = Konsentrasi larutan sampel ($\mu\text{g/mL}$)
- b = Konsentrasi larutan blanko ($\mu\text{g/mL}$)
- fp = Faktor pengenceran (jika diperlukan)

Untuk metode spektroskopi serapan atom (SSA), sampel biasanya diletakkan dalam larutan air yang berbeda dengan standar, sehingga matriks sampel harus dicampur dengan matriks standar. Jika matriks sampel tidak diketahui atau berbeda dari satu sampel ke sampel lainnya, metode penambahan standar biasanya digunakan. Dengan cara ini, gangguan kimiawi dan spektral dapat dikurangi.

Standar metode penambahan dimulai dengan mengukur absorbansi sampel dengan SSA (S), kemudian menambahkan sejumlah kecil standar (S_x) ke dalam sampel, dan kemudian mengukur absorbansinya dengan $S+S_x$. Prosedur ini diulangi dengan standar dengan berbagai konsentrasi (SX_1 , SX_2 , SX_3 , dll.) dan kemudian mengukur

absorbansinya. Penambahan standar ini pada sampel disebut spiking.

Spektrofotometer serapan atom, yang dilengkapi dengan lampu katoda untuk masing-masing logam (Mg, Ca, Zink, Cu, Na, Cr, K, Mn, Fe, dan Se), digunakan untuk menghitung absorbansi larutan yang mengandung ion. Sebelum digunakan, instrumen harus dipersiapkan sesuai dengan petunjuk yang diberikan dalam manual instruksi. Ini termasuk (i) memasang dan menyala lampu katoda dan mengkondisikan selama 15 menit; (ii) menyala alat pembakar dan mengubah aliran.

DAFTAR PUSTAKA

- Chairunnisa, E., Kusumastuti, A.C., Panunggal, B., 2018. Asupan Vitamin D, Kalsium Dan Fosfor Pada Anak Stunting Dan Tidak Stunting Usia 12-24 Bulan Di Kota Semarang. *J. Nutri. College* 7, 39. <https://doi.org/10.14710/jnc.v7i1.20780>
- Christijani, R., Anggraeni, D., 2022. Hubungan Asupan Natrium Dan Kalium Dengan Kadar Ekskresinya Dalam Urin Pada Orang Dewasa. *kesehatan* 13, 116–122. <https://doi.org/10.38165/jk.v13i2.297>
- Darmawati, D., Kiftia, M., Fitri, A., 2023. Dukungan suami dengan kejadian anemia defisiensi zat besi pada ibu postpartum. *cakradonya dental j.* 12, 104–110. <https://doi.org/10.24815/cdj.v12i2.18441>
- Irma, A., Miladiarsi, 2023. Penyuluhan Manfaat Teh Kombucha sebagai Minuman Probiotik di Desa Moncongloe Bulu, Kecamatan Moncongloe, Kabupaten Maros. *JPMB* 1. <https://doi.org/10.58266/jpmb.v1i3.35>
- Jelmila, S.N., 2022. Peranan Vitamin D terhadap Telomer. *Scientificj* 1, 451–461. <https://doi.org/10.56260/sciena.v1i6.78>
- Kusuma, M.A., Putri, N.A., 2020. Review: Asam Lemak Virgin Coconut Oil (VCO) dan Manfaatnya untuk Kesehatan. *AGRINIKA* 4, 93. <https://doi.org/10.30737/agrinika.v4i1.1128>
- Nurdianto, S., Wimpy, W., 2022. Perbandingan Kadar Kadmium (cd2+) Dalam Darah Antara Pengguna Rokok Elektrik Metode Direct To Lung dan Metode Mouth To Lung Pada Komunitas Vapor Di Kota Bandar Lampung. *JAK* 11, 64. <https://doi.org/10.26630/jak.v11i2.3227>
- Papilaya, P.M., Sinay, H., Karuwal, R., 2022. Penerapan STS di Desa Daya Tarik Musik Kota Ambon Memberdayakan Gandaria Endemik Maluku. *pakem* 2, 24–45. <https://doi.org/10.30598/pakem.2.1.24-45>

- Parazzini, F., Di Martino, M., Pellegrino, P., 2017. Magnesium in the gynecological practice: a literature review. *Magnesium Research* 30, 1–7. <https://doi.org/10.1684/mrh.2017.0419>
- Risniati, Y., Afrilia, A.R., Lestari, T.W., Nurhayati, N., Siswoyo, H., 2020. Pelayanan Kesehatan Tradisional Bekam: Kajian Mekanisme, Keamanan dan Manfaat. *jpppk* 212–225. <https://doi.org/10.22435/jpppk.v3i3.2658>
- Syahrial, S., Resmiati, R., Hanum, F.N., 2022. PERBANDINGAN ASUPAN MINERAL DAN KETERPAPARAN SINAR ULTRAVIOLET PADA WANITA PRE DAN POST MENOPAUSE. *j. kesehatan* 13. <https://doi.org/10.35730/jk.v13i2.699>
- Tarigan, I.L., 2019. Dasar-Dasar Kimia Air Makanan dan Minuman, in: Ebook. MNC Publishing, Malang.
- Waziri, B., Duarte, R., Naicker, S., 2019. Chronic Kidney Disease–Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD): Current Perspectives. *IJNRD Volume* 12, 263–276. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S191156>
- Winter, S.N., Fernandez, M.D.P., Taylor, K.R., Wild, M.A., 2022. Associations between hair trace mineral concentrations and the occurrence of treponeme-associated hoof disease in elk (*Cervus canadensis*). *BMC Vet Res* 18, 446. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03547-3>
- Yenrina, R., 2015. Metode Analisis Bahan Pangan dan Komponen Bioaktif. Andalas University Press.
- Zulfachmi, Z., Syahputra, A.F., Indra Prasetyo, B., Elsa Shafira, A., 2023. Klasifikasi Tingkat Dehidrasi Berdasarkan Warna Urin Menggunakan Metode KNN. *bangkitindonesia* 12, 43–48. <https://doi.org/10.52771/bangkitindonesia.v12i1.228>

BAB

8

KADAR AIR

Artati, S.Si., M.Si

A. Pendahuluan

Menurut SNI01-2891-1992 salah satu persyaratan mutu simplisia adalah kadar air. Penetapan kadar air simplisia sangat penting karena jumlah air yang tinggi dapat menjadi media tumbuhnya bakteri dan jamur yang dapat merusak senyawa yang terkandung di dalam simplisia. Kadar air merupakan jumlah air yang terkandung dalam suatu produk pangan atau bahan. Salah satu parameter penting dalam menentukan kualitas suatu bahan pangan adalah kadar air. Selain itu, kadar air juga menentukan kualitas masa simpan bahan pangan. Kadar air pada pangan sangat mempengaruhi kualitas dan daya simpan pangan. Penentuan kadar air suatu bahan pangan sangatlah penting agar proses pengolahan dan distribusi mendapat penanganan yang tepat.

Air merupakan pelarut yang kuat, melarutkan banyak bahan kimia. Pada tekanan 100 kPa dan temperatur 273,15 K. Air bersifat tidak berwarna, tidak berasa dan tidak berbau pada kondisi standar. Zat yang mudah larut dalam air (misalnya garam) disebut zat "*hidrofilik*" (suka air), dan zat yang tidak mudah bercampur dengan air (misalnya lemak dan minyak), disebut zat "*hidrofobik*". (takut air). (Wulaniriky, 2011)

Menurut Winarno, (1992) air terikat dapat dibagi atas empat tipe.

1. Tipe I yaitu molekul air yang terikat dengan molekul lain melalui ikatan hidrogen yang mempunyai energi tinggi. Air jenis ini tidak dapat membeku selama proses pembekuan, namun sebagian air tersebut dapat dihilangkan dengan pengeringan normal. Jenis air ini terikat kuat dan sering disebut air terikat dalam arti sebenarnya.
2. Tipe II, dimana molekul air membentuk ikatan hidrogen dengan molekul lain, ditemukan di mikrokapiler dan memiliki sifat yang sedikit berbeda dari air minum. Udara lebih sulit dikeluarkan dan pembuangan udara tipe II akan mengakibatkan penurunan AW (*water activity*). Jika air tipe II dihilangkan seluruhnya, kadar air bahan akan berkisar 3-7% dan kestabilan optimum bahan makanan akan tercapai, kecuali pada produk-produk yang dapat mengalami oksidasi akibat adanya kandungan lemak tidak jenuh.
3. Tipe III adalah air yang secara fisik terikat dalam jaringan matriks bahan seperti membran, kapiler, serat, dan lain-lain. Air tipe III ini sering disebut sebagai air bebas. Air jenis ini mudah menguap dan dapat digunakan untuk pertumbuhan mikroba serta sebagai media reaksi kimia. Apabila air jenis ini diuapkan seluruhnya, kandungan air bahan berkisar antara 12-25% dengan AW (*water activity*) kira-kira 0,8% tergantung dari jenis bahan dan suhu.
4. Tipe IV adalah air yang tidak terikat dalam jaringan suatu bahan atau air murni dengan sifat air biasa dan aktivitas penuh.

Kadar air dalam bahan makanan dapat ditentukan dengan berbagai cara antara lain:

1. Metode pengeringan (*Thermogravimetri*)
2. Metode destilasi (*Thermovolumetri*)
3. Metode khemis
4. Metode fisis

1. Metode Pengeringan (*Thermogravimetri*)

Thermogravimetri adalah suatu metode atau jenis pengujian terhadap sampel dalam menentukan kadar air dengan menunjukkan perubahan berat susut (weight loss) dan hubungannya dengan perubahan suhu. Metode ini mengandalkan tingkat ketelitian yang tinggi dalam tiga pengukuran yaitu berat, dan perubahan suhu. (Farivar et al., 2021)

Prinsipnya menguapkan udara pada material dengan cara pemanasan. Kemudian timbang bahan tersebut hingga beratnya konstan yang berarti seluruh udara telah menguap. Cara ini relatif mudah dan murah.

Kelemahan cara ini adalah:

- a. Bahan lain selain air juga ikut menguap dan hilang bersama uap air, alkohol, asam asetat, minyak atsiri dan lain-lain.
- b. Reaksi dapat terjadi selama pemanasan yang menghasilkan air atau zat mudah menguap lainnya. Misalnya gula mengalami dekomposisi atau karamelisasi, lemak mengalami oksidasi dan lain sebagainya.
- c. Bahan yang mengandung bahan yang dapat mengikat air dengan kuat, Sulit mengeluarkan air meskipun sudah dipanaskan.



Gambar 8.1. Alur Pengujian Kadar Air

Pemanasan dengan suhu rendah dan tekanan vakum dapat digunakan untuk menampung penguapan udara dan menghindari reaksi yang menyebabkan terbentuknya air atau reaksi lain akibat pemanasan. cara ini akan diperoleh hasil yang lebih mendekati kandungan air sebenarnya.

Untuk bahan yang memiliki kandungan gula tinggi, pemanasan pada suhu sekitar 100°C dapat menyebabkan terbentuknya kerak pada permukaan bahan.

Suatu bahan yang telah mengalami pengeringan ternyata lebih bersifat higroskopis daripada bahan asalnya. Oleh karena itu selama pendinginan sebelum penimbangan, bahan selalu ditempatkan dalam ruang tertutup yang kering misalnya dalam eksikator atau desikator yang telah diberi zat penyerap air. Air/uap air ini dapat menggunakan kapur aktif, silika gel, aluminium oksida, kalium klorida, kalium hidroksida, kalsium sulfat atau barium oksida.

Silika gel yang digunakan sering diberi warna guna memudahkan bahan tersebut sudah jenuh dengan air atau belum. sudah jenuh akan berwarna merah muda dan bila dipanaskan menjadi kering dan berwarna biru.

- Ada dua macam metode pengeringan yaitu antara lain:
- Metode Oven (AOAC, 1984)

Digunakan untuk seluruh hasil pertanian. Kecuali yang mengandung senyawa volatil dan mengalami kerusakan komposisi pada pemanasan suhu 100 °C pada tekanan 1 atmosfer. Kelebihannya sangat sederhana, cepat, dapat digunakan untuk jumlah sampel yang banyak. Kekurangannya dekomposisi selama pengeringan, penguapan komponen volatil, waktu yang relatif lama. Prinsipnya sampel dikeringkan dengan oven 100-105 °C sampai berat konstan.



Gambar 8.2. Rangkaian Prosedur Kerja Metode Oven AOAC

Prosedur kerjanya yaitu mengeringkan wadah dalam oven 15 menit; dimasukkan dalam desikator, dinginkan, dan timbang; menimbang sampel sekitar 2-5 g; dikeringkan selama 3 jam; didinginkan dalam desikator dan ditimbang; memanaskan lagi dalam oven 30 menit; didinginkan dalam desikator dan ditimbang kemudian perlakuan ini diulang hingga diperoleh berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut 0,2 mg)

Rumus perhitungan:

$$\text{Kadar air (\%bb)} = \frac{a - b}{b} \times 100 \%$$

$$\text{Kadar air (\%bk)} = \frac{a - b}{b} \times 100 \%$$

$$\text{Kadar total padatan (\%)} = \frac{b}{a} \times 100 \%$$

Keterangan :

a = berat awal sampel (gram)

b = berat konstan sampel (gram)

Rumus perhitungan :

$$\text{Kadar air (bb)} = \frac{w_1 - w_2}{w_1 - w_3} \times 100 \%$$

$$\text{Kadar air (bk)} = \frac{w_1 - w_2}{w_2 - w_3} \times 100 \%$$

Keterangan :

w₁ = berat sampel basah + cawan

w₂ = berat sampel basah + cawan (konstan)

w₃ = berat cawan

b. Metode Oven Vakum

Digunakan untuk bahan yang mengandung komponen mudah rusak pada suhu tinggi (bahan yang banyak mengandung gula). Kelebihannya pemanasan pada suhu rendah sehingga mencegah dekomposisi sampel, pemanasan seragam dapat mencegah *case hardening*. Kekurangannya efisiensi pengeringan rendah, tidak dapat menganalisis sampel dalam jumlah banyak. Prinsipnya sampel dikeringkan pada suhu rendah dengan tekanan dibawah 1 atmosfer.



Gambar 8.3. Alat oven vakum

Prinsip: Sampel dikeringkan pada suhu rendah dg tekanan dibawah 1 atmosfer.



Gambar 8.4. Rangkaian Prosedur kerja metode oven vakum

Prosedur kerja:

Wadah dikeringkan dalam oven 105 °C menit; Digunakan untuk bahan yang mengandung komponen-komponen mudah rusak pada suhu tinggi (bahan yang banyak mengandung gula). Didinginkan dalam desikator

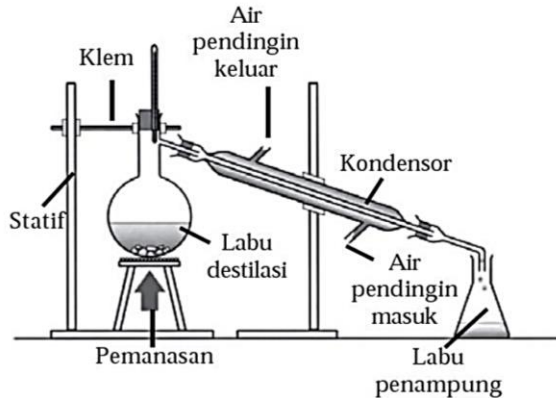
dan ditimbang; menimbang sampel sekitar 2-5 g dalam wadah yang telah diketahui beratnya; dikeringkan dalam oven vakum selama 6 jam, suhu 60-70 °C dengan tekanan sekitar 25 mmHg; melakukan pengeringan sampel hingga diperoleh berat konstan.

2. Metoda Destilasi (Thermovolumetri)

Destilasi sederhana adalah teknik pemisahan untuk memisahkan dua atau lebih komponen zat cair yang mempunyai perbedaan titik didih yang besar. Selain perbedaan titik didih, juga perbedaan kevolatilan, yaitu kecenderungan sebuah zat untuk menjadi gas. Destilasi ini dilakukan pada tekanan atmosfer normal. (Hayati et al., 2015)

Prinsip penentuan kadar air dengan destilasi ialah menguapkan air dengan "pembawa" cairan kimia yang mempunyai titik didih lebih tinggi daripada air dan tidak bercampur dengan air serta mempunyai berat jenis lebih rendah daripada air. Zat kimia yang dapat digunakan antara lain: toluen, xylen, benzen, tetrakhlorethilen dan xylol.

Cara penentuannya yaitu memberikan zat kimia sebanyak 75-100 ml pada sampel yang diperkirakan mengandung air sebanyak 2-5 ml, lalu dipanaskan hingga mendidih. Uap air dan zat kimia tersebut diembunkan dan ditampung dalam tabung penampung. Karena berat jenis air lebih besar daripada zat kimia tersebut maka air akan berada di bagian bawah pada tabung penampung. Bila pada tabung penampung dilengkapi skala maka banyaknya air bisa diketahui langsung. Alat yang dipakai sebagai penampung ini antara lain tabung Stark-Dean dan Sterling-Bidwell atau modifikasinya.



Gambar 8.5. Rangkaian alat destilasi

Cara destilasi ini baik untuk menentukan kadar air dalam zat yang kandungan airnya kecil dan sulit ditentukan dengan metode thermogravimetri. Penentuan kadar air jenis ini hanya memerlukan waktu +1 jam.

Perhitungan:

$$\text{Kadar air} = \frac{v}{w} \times 100 \%$$

Keterangan:

V = volume air (ml)

W = berat awal sampel (gram)

Dengan distilasi, oksidasi senyawa lipid dan penguraian senyawa gula dapat dihindari sehingga penentuannya lebih tepat.

Untuk bahan yang mengandung kadar gula dan protein yang tinggi sering ditambahkan bubuk asbes pada bahan tersebut, hal ini untuk mencegah terjadinya superheating yang dapat menyebabkan terjadinya penguraian pada bahan tersebut. memperluas permukaan kontak dengan cairan kimia yang digunakan dan memfasilitasi distilasi, tanah diatom dapat ditambahkan ke bahan yang digiling halus sebelum destilasi.

3. Metode Kimiawi

Ada beberapa cara penentuan kadar air dalam bahan secara kimiawi yaitu antara lain:

- a. Cara titrasi Karl Fischer (1935)

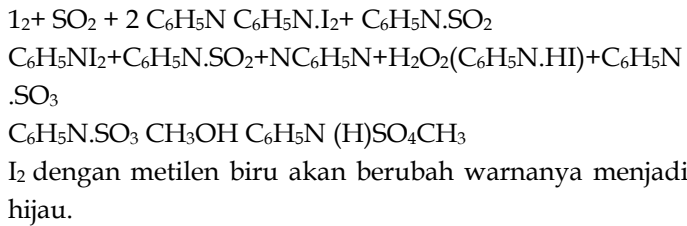


Gambar 8.6. Alat Karl Fischer Titrator

Titration Karl Fischer merupakan metode titration yang sangat umum diterapkan dalam penentuan udara dengan berbagai sampel. memakan waktu, menghemat waktu dan memberikan hasil dengan reproduktibilitas yang baik serta akurasi yang tinggi pada rentang konsentrasi yang sangat luas. Kadar air pada 15 Sampel klindamisin HCl menggunakan metode karl fischer yang sering digunakan untuk menentukan kadar air dengan sampel yang mengandung sedikit air. Prinsip Karl Fischer adalah udara dalam sampel klindamisin HCl dititrasi dengan reagen Karl Fischer yang terdiri dari sulfur dioksida, piridin, yodium, dan metanol anhidrat. (Farida. et al., 2000)

Cara ini adalah menitrasi sampel dengan larutan iodin dalam metanol. Reagen lain yang digunakan dalam titration ini adalah sulfur dioksida dan piridin. Metanol dan piridin digunakan untuk melarutkan iodin dan Sulfur dioksida agar reaksi dengan air menjadi lebih baik. Selain itu piridin dan metanol akan mengikat asam sulfat yang terbentuk sehingga akhir titration dapat lebih jelas dan tepat. Selama masih ada air dalam bahan, iodin akan bereaksi,

tetapi begitu air habis, maka iodine akan bebas. Pada saat timbul warna iodine bebas ini, titrasi dihentikan. Iodine bebas akan memberikan warna kuning coklat. Penggunaan metilen biru untuk memperjelas pewarnaan dan akhir titrasi akan memberikan warna hijau. Tahapan reaksi yang terjadi dapat dituliskan sebagai berikut



Titrasi harus dilakukan dengan kondisi bebas dari pengaruh kelembaban. Untuk keperluan ini dapat dilakukan dalam ruang tertutup.

Metode titrasi Karl Fischer telah berhasil menentukan kadar air dalam alkohol, ester, senyawa lipid, lilin, pati, gula tepung, madu dan bahan makanan kering. Cara ini banyak digunakan karena memberikan harga yang pas dan dilakukan dengan cepat. akurasinya kurang lebih 0,5 mg dan dapat ditingkatkan lebih lanjut dengan sistem elektroda yaitu dapat mencapai 0,2 mg.

b. Cara Kalsium Karbid

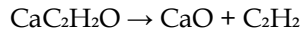
Metode ini didasarkan pada reaksi antara kalsium karbida dan udara menghasilkan gas asetilena. Cara ini sangat cepat dan tidak memerlukan alat yang rumit. Jumlah asetilin yang terbentuk dapat diukur dengan berbagai cara.

- 1) Menimbang bahan dan campuran karbida sebelum dan sesudah reaksi selesai. Berat yang hilang adalah berat asetilin.
- 2) Mengumpulkan Gas asetilin yang terbentuk dalam ruangan tertutup dan ukur volumenya. Dengan volume yang diperoleh maka dapat ditentukan

banyaknya asetilin dan selanjutnya dapat ditentukan kadar air bahan tersebut.

- 3) Mengukur tekanan gas asetilena yang terbentuk jika reaksi dikerjakan dalam ruang tertutup. Dengan mengetahui tekanan dan volume asetilen dapat diketahui banyaknya dan kemudian dapat diketahui kadar air bahan.
- 4) Dengan menangkap gas asetilen dengan larutan tembaga sehingga dihasilkan tembaga asetilin yang dapat ditentukan secara gravimetri atau volumetri atau secara kolorimetri.

Reaksi yang terjadi selama pencampuran dapat dituliskan sebagai berikut.



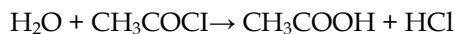
Tiap 1 grol gas asetilin berasal dari 1 grol air. Volume 1 grol gas asetilin dianggap sama dengan gas Ideal yaitu 22,4 liter. Akurasinya tergantung pada pencampuran atau interaksi karbida dengan material.

Cara ini berhasil menentukan kadar air pada tepung terigu, sabun, kulit, biji vanili, mentega dan sari buah.

Penentuan kadar air cara ini dapat dilakukan dalam waktu sangat singkat yaitu sekitar 10 menit.

1. Cara Asetil Klorida

Metode penentuan kadar air ini didasarkan pada reaksi asetil klorida dan air menghasilkan asam yang dapat dititrasi menggunakan basa. Asetil klorida yang digunakan dilarutkan dalam toluena dan bahannya didispersikan dalam piridin. yang terjadi dapat dituliskan berikut:



Cara ini berhasil dengan baik untuk menentukan kadar air dalam minyak, mentega, margarin, rempah-rempah dan bahan-bahan dengan kadar air yang sangat rendah.

2. Metode Fisis

Ada beberapa cara penentuan kadar air cara fisis ini antara lain:

- a. Berdasarkan tetapan dielektrikum
- b. Berdasarkan konduktivitas listrik (daya hantar listrik) atau resistansi
- c. Berdasarkan resonansi nuklir magnetik (NMR = Nuclear Magnetic Resonance).

a. Penentuan Kadar Air Berdasarkan Tetapan Dielektrikum

Air mempunyai tetapan dielektrikum sebesar 80. zat lain mempunyai tetapan yang tertentu pula misal karbohidrat dan protein lebih kecil dari 10, methanol sebesar 33, Etanol sebesar 24. Aseton sebesar 21.4, benzena sebesar 2,3 heksan sebesar 1.9. Konstanta dielektrikum dapat dituliskan rumusnya sebagai berikut:

$$D = \frac{q_1 q_2}{F \cdot r^2}$$

F: daya tarik-menarik antara dua ion yang berlawanan

$q_1 q_2$: muatan ion-ion

r : jarak antara dua ion.

Untuk mengetahui kadar air bahan diperlukan adanya kurva standar yang melukiskan hubungan antara kadar air dan tetapan dielektriknya dari bahan yang diselidiki. mengetahui tetapan dielektrikum bahan sejenis akan dapat dihitung kadar air bahan tersebut.

b. Penentuan kadar Air Berdasarkan Daya Hantar Listrik Atau Resistensi

Air merupakan penghantar listrik yang baik. Bahan yang mempunyai kandungan air yang besar akan mudah menghantarkan listrik atau mempunyai resistansi yang

relatif kecil. Suatu zat dilalui aliran listrik, maka apabila diketahui suatu grafik yang menggambarkan hubungan-hubungan antara kadar air dan resistensinya, maka bila diketahui resistensi bahan sejenis akan dapat dihitung kadar air bahan tersebut.

Contoh: bahan gandum berkadar air 13 persen akan mempunyai resistensi hampir tujuh kali daripada resistensi gandum yang berkadar air 14 persen.

Resistensi meter atau moisture tester merupakan alat yang digunakan untuk mengukur kadar air bahan jenis ini. Perlu diingat juga bahwa konduktivitas bahan dapat berubah karena perubahan suhu. Makin tinggi suhu konduktivitasnya makin besar atau resistensinya makin kecil. Untuk pengukuran yang benar, perlu dilakukan koreksi terhadap data yang diperoleh pada suhu tersebut. Biasanya skala yang tertera pada alat tersebut langsung diubah untuk menunjukkan kandungan udara suatu bahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Farida., Yudhi., Lilis, W., & Purwadi, K. P. (2000). Studi Banding Penentuan Kadar H₂O dalam Serbuk UO₂ Menggunakan Metode MEA (moisture evolution analysis) dan KFT (karl fischer titration). *Prosiding Presentasi Ilmiah Daur Bahan Bakar Nuklir, 1410–1998*.
- Farivar, F., Yap, P. L., Hassan, K., Tung, T. T., Tran, D. N. H., Pollard, A. J., & Losic, D. (2021). Unlocking thermogravimetric analysis (TGA) in the fight against “Fake graphene” materials. *Carbon*, 179, 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2021.04.064>
- Hayati, N., Asmara, & Viridi, A. S. (2015). Rancangan Alat Destilasi dengan Mengaplikasikan Self siphon pada Pemurnian Bioetanol Menggunakan Zeolit. *Prosiding Simposium Nasional Inovasi Dan Pembelajaran Sains*, 8(Snips), 125–127.
- Winarno. (1992). *Kimia Pangan dan Gizi* PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wulaniriky. (2011). *Penetapan Kadar Air Metode Oven Pengering*. Wordpress.

BAB

9

KADAR ABU

Afiska Prima Dewi, S.Gz., M.K.M

A. Pendahuluan

Sebagian besar pangan mengandung bahan organik dan air sekitar 96%, sedangkan sisanya mengandung unsur mineral. Unsur mineral disebut juga dengan zat anorganik atau zat abu. Saat proses pembakaran, zat organik akan terbakar, namun zat anorganik tidak terbakar. Zat anorganik yang tidak terbakar ini disebut sebagai abu. Dapat dikatakan, abu adalah zat anorganik sisa pembakaran pangan. Analisis kadar abu pangan umumnya digunakan untuk menentukan baik tidaknya suatu pengolahan, mengetahui jenis bahan yang digunakan, serta parameter nilai gizi suatu pangan (Amelia, 2014; Andarwulan, 2011).

B. Kadar Abu

Abu merupakan residu atau sisa dari suatu pangan yang berupa bagian anorganik setelah bahan organik dalam pangan didestruksi. Dapat diartikan pula abu adalah zat anorganik dari sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Penentuan kadar abu terkait kandungan mineral suatu bahan pangan. Kadar abu ditentukan dari berat setelah pembakaran dengan syarat titik akhir pembakaran dihentikan sebelum terjadi dekomposisi abu tersebut. Kadar abu merupakan jumlah sisa yang tersisa setelah proses pembakaran atau sampel diberi perlakuan suhu tinggi. Kadar abu adalah total mineral yang tertinggal setelah semua zat organik terbakar. Total mineral ini bisa berasal dari sumber

alami, misalnya tanah atau air, atau hasil tambahan ke sampel selama proses produksi. Umumnya, abu terdiri dari campuran oksida logam seperti silika, aluminium, kalsium, magnesium, dan besi (Hikmah, 2023; Rohman, 2018).

Kadar abu adalah salah satu parameter penting analisis kimia yang sering digunakan pada berbagai bidang, khususnya bidang industri. Kadar abu yang diukur bermanfaat untuk mengetahui kandungan mineral yang ada pada sampel bahan. Kadar abu di pangan menunjukkan kandungan mineral yang terkandung di pangan tersebut, kemurnian, serta kebersihan suatu bahan yang dihasilkan. Penentuan abu total digunakan untuk berbagai tujuan yaitu untuk menentukan baik tidaknya suatu proses pengolahan, untuk mengetahui jenis bahan yang digunakan, dan sebagai parameter nilai gizi bahan makanan (adanya abu tidak larut asam yang cukup tinggi menunjukkan adanya pasir atau kotoran lain). Berdasarkan fungsi tersebut, bisa dikatakan bahwa semakin tinggi kadar abu suatu pangan, maka semakin buruk kualitas suatu pangan. Kandungan abu suatu pangan dan komposisinya bergantung pada jenis pangan dan cara pengabuannya. Persentase kadar abu di beberapa jenis pangan dapat dilihat di tabel 9.1 (Santoso, 2020; Amelia, 2014).

Tabel 9.1. Persentase Kadar Abu Pangan

No	Macam Bahan	% Abu
1	Milk (Susu)	0.5 - 1.0
2	Milk kering tidak berlemak	1.5
3	Buah - buahan segar	0.2 - 0.8
4	Buah - buahan yang dikeringkan	3.5
5	Biji kacang - kacangan	1.5 - 2.5
6	Daging segar	1
7	Daging yang dikeringkan	12
8	Daging ikan segar	1 - 2
9	Gula, Madu	0.5
10	Sayur - sayuran	1

C. Analisis Kadar Abu

Analisis kadar abu, atau disebut juga pengabuan, adalah proses pembakaran bahan organik dan menghasilkan abu. Abu merupakan zat anorganik sisa pembakaran dari suatu bahan organik. Umumnya sisa pembakaran (zat-zat anorganik) terdiri atas oksida dan garam yang mengandung anion (fosfat, klorida, sulfat, halida lain) serta kation (sodium, kalium, kalsium, besi, magnesium, mangan). Kadar abu berperan sebagai parameter kualitas dan membantu identifikasi keaslian suatu pangan yang selanjutnya bisa berguna dalam menentukan nilai gizi pangan. Kadar abu yang tinggi di pangan menunjukkan kemungkinan adanya pemalsuan bahan pangan. Selain itu, hal ini dilakukan untuk menentukan jumlah mineral pada bahan pangan. Hal ini disebabkan penentuan kadar mineral pangan sulit dilakukan sehingga solusi lain yang bisa ditempuh yaitu menentukan sisa hasil pembakaran. Karena itu, analisis kadar abu pangan perlu dilakukan untuk mengetahui kandungan mineral dan nilai gizi suatu pangan (Andarwulan, 2011; Rohman, 2018).

Kadar abu dianalisis dengan cara membakar pangan atau mengabukannya di suhu yang sangat tinggi. Penentuan kadar abu berkaitan erat dengan kandungan mineral dalam pangan, kemurnian, dan kebersihan suatu produk pangan. Pengukuran kadar abu juga bertujuan untuk mengetahui besar kandungan mineral yang terdapat pada bahan pangan. Kadar abu adalah ukuran total mineral yang terdapat dalam pangan. Kadar abu di suhu yang terlalu tinggi menunjukkan bahan pangan telah tercemar berbagai macam zat seperti tanah, pasir, dan lain-lain. Penentuan konstituen mineral pangan bisa dibedakan menjadi dua tahap yaitu penentuan abu (abu total, abu larut, abu tidak larut) dan penentuan individu komponen. (Hikmah, 2023).

Analisis kadar abu suatu pangan bisa dilakukan dengan pengabuan cara kering (langsung) dan pengabuan cara basah (tidak langsung). Prinsip pengabuan kering (langsung) adalah semua zat organik dioksidasi di suhu tinggi antara 500-600°C. Selanjutnya, zat tertinggal sisa proses pembakaran ditimbang. Pengabuan kering dapat digunakan untuk penentuan total abu,

abu larut dan tidak larut air, serta abu larut dan tidak larut asam. Sedangkan prinsip pada metode pengabuan basah (tidak langsung) adalah penambahan beberapa reagen-reagen kimia sebelum dilakukan pengabuan. (Harini, 2019; Amelia, 2014).

D. Persiapan Sampel

Sebelum proses analisis kadar abu dilakukan, persiapan sampel bahan perlu dilakukan. Persiapan sampel bahan ini bisa berupa perlakuan pendahuluan seperti pengecilan ukuran dan penghancuran sampel menggunakan *hammer mill*, *grinder*, atau *blender* serta perlakuan pendahuluan lain. Persiapan sampel ini tergantung jenis bahan yang mau dianalisis. Sebelum dilakukan pengabuan, sampel bahan pangan nabati biasanya dikeringkan dahulu sebelum di-*grinder*. Namun, pangan nabati berkadar air kurang dari 15% bisa langsung diabukan tanpa pengeringan terlebih dahulu. Produk hewani, sirup, gula perlu perlakuan khusus sebelum pengabuan. Hal ini dikarenakan kandungan lemak dan kadar air yang tinggi dapat menimbulkan cipratan atau pengembangan dan kandungan gula tinggi menimbulkan pembentukan buih. Oleh karena itu, air dari daging, gula, dan sirup harus diuapkan dahulu menggunakan lampu inframerah atau *steam bath*. Selain itu, satu/dua tetes minyak zaitun bisa ditambahkan agar pembentukan kerak sampel dapat dihindari. Pembentukan asam atau pembakaran bisa terjadi dipengabuan sampel keju, makanan laut, rempah-rempah. Sampel tersebut sebaiknya dikeringkan dan diekstrak lemaknya sebelum proses pengabuan. Sampel yang telah diekstrak lemaknya dipanaskan sampai esternya terevaporasi (Andarwulan, 2011).

E. Pengabuan Kering

Pengabuan kering (metode langsung) dilakukan dengan cara menimbang sisa mineral hasil pembakaran di suhu tinggi (> 450^o C) selama 2-8 jam melalui penguapan bahan organik. Pengabuan dianggap selesai ketika diperoleh sisa pengabuan berwarna putih abu-abu dengan berat konstan. Kandungan abu dari suatu bahan pangan menunjukkan residu bahan anorganik

yang tersisa setelah bahan organik dalam makanan didestruksi atau dihancurkan. Kadar abu tidak selalu sama persis dengan kandungan mineral yang ada pada bahan makanan yang diuji karena kemungkinan ada sebagian mineral yang hilang selama proses pengabuan berlangsung sehingga terjadi perubahan radikal organik dan terbentuk elemen logam bentuk oksida atau senyawa dengan ion negatif (Rohman, 2018).

Pengabuan kering digunakan untuk penentuan total abu, abu larut, abu tidak larut air dan tidak larut asam. Pengabuan kering membutuhkan waktu proses cukup lama, suhu tinggi, dan sampel dalam jumlah banyak untuk analisis. Penggunaan suhu tinggi akan menyebabkan beberapa mineral menjadi tidak larut. Beberapa hal yang harus diperhatikan pada pengabuan cara kering yaitu penyesuaian penggunaan suhu pengabuan untuk menghindari kehilangan atau kerusakan elemen seperti K, Na, S, Ca, Cl, P. Selain itu, suhu pengabuan kering juga bisa menyebabkan dekomposisi senyawa tertentu seperti K_2CO_3 (terdekomposisi suhu $700^{\circ}C$), $CaCO_3$ (terdekomposisi suhu $600-650^{\circ}C$), dan CO_3 (terdekomposisi suhu $300-400^{\circ}C$). Analisis abu (kering) untuk penentuan mineral mikro jarang dilakukan karena mineral mikro bersifat menguap pada suhu pengabuan. Suhu pengabuan yang aman dari kehilangan sejumlah mineral karena penguapan yaitu $500^{\circ}C$ (Hikmah, 2023; Harini, 2019).

Pengabuan cara kering memiliki beberapa kelebihan dan kelemahan. Kelebihan pengabuan kering yaitu bisa digunakan untuk menganalisis abu larut dan tidak larut air, serta abu tidak larut dalam asam; juga tanpa penggunaan reagen sehingga biaya lebih murah dan tidak beresiko terkait reagen berbahaya. Sedangkan kelemahan dari pengabuan cara kering antara lain yaitu membutuhkan sampel yang relatif banyak; butuh waktu yang relatif lama; perlu suhu tinggi; serta kehilangan air akibat suhu tinggi (Faradilla, 2023, Santoso, 2020).

Pengabuan cara kering dilakukan dengan mendestruksi komponen organik sampel dengan suhu tinggi di tanur (*muffle furnace*) hingga terbentuk abu berwarna putih keabuan. Sampel yang akan dianalisis ditempatkan di cawan pengabuan yang

dipilih berdasarkan sifat bahan serta jenis analisis lanjutan pada abu. Cawan pengabuan bisa berbahan kuarsa, vycor, porselen, besi, nikel, dan platina. Cawan berbahan porselen paling sering digunakan karena beratnya relatif konstan setelah pemanasan berulang serta harganya relatif murah (Amalia, 2014)

Sebelum diabukan, sampel basah dan cairan dikeringkan dahulu. Pengeringan ini digunakan untuk menentukan kadar air sampel. Pengeringan dilakukan di atas api terbuka terutama sampel yang mudah berbuih. Perlakuan ini dilakukan hingga seluruh sampel mengering dan tidak mengasap lagi. Setelah perlakuan ini, sampel kemudian dimasukkan ke dalam tanur (*muffle furnace*) (Andarwulan, 2011).

Prosedur Kerja

Langkah pengabuan kering (abu total) yaitu sebagai berikut:

1. Cawan pengabuan dikeringkan di oven dengan suhu 100-105 °C selama 1 jam kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan timbang cawan kosong (W_0).
2. Sebanyak 5-10 gram sampel ditimbang dalam cawan (W_1).
3. Sampel dikeringkan dalam oven selama 24 jam dengan suhu 105 °C. Pada sampel basah/cairan, sampel dibakar di atas pembakar burner dengan api sedang untuk menguapkan sebanyak mungkin zat organik yang ada (sampai sampel tidak berasap dan berwarna hitam).
4. Sampel dipindahkan ke dalam tanur (*muffle furnace*) dan dipanaskan pada suhu 300°C, kemudian suhu dinaikkan menjadi 550°C dengan waktu sesuai dengan karakteristik bahan (umumnya 5 -7 jam).
5. Sampel didinginkan di desikator selama 15 menit kemudian timbang cawan+abu (W_2).

Perhitungan

Kadar abu sampel bisa dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Abu} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100 \%$$

Keterangan:

W0 = Berat cawan kosong (gram)

W1 = Berat cawan + sampel sebelum pengabuan (gram)

W2 = Berat cawan + sampel setelah pengabuan (gram)

1. Analisis Abu Terlarut dan Abu Tidak Terlarut Air

Analisis abu terlarut air umumnya digunakan untuk indeks kandungan buah di jam atau jelly. Kandungan abu larut air rendah menandakan buah yang ditambahkan lebih banyak. Prinsip analisis abu terlarut air ini yaitu total abu yang diperoleh dilarutkan sejumlah air lalu dilewatkan pada kertas saring bebas abu. Abu yang tertinggal di kertas saring adalah abu yang tidak larut (Santoso, 2020; Kartika, 2014).

Prosedur Kerja

- Abu total dalam cawan (W2) ditimbang lalu ditambah 10 ml air distilat, cawan kemudian ditutup dan dipanaskan sampai hampir mendidih.
- Sampel dilewatkan pada kertas saring bebas abu sambil dibilas dengan air distilat panas beberapa kali.
- Kertas saring dikeringkan dan diabukan kembali.
- Hasil pengabuan ditimbang (W3) dan hasil penimbangan dinyatakan sebagai abu tidak larut air.

Perhitungan

Kadar Abu Tidak Larut Air bisa dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ ATL} = \frac{W3 \times 100 \%}{W1}$$

Kadar Abu Larut Air bisa dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ AL} = \frac{W2 - W3 \times 100 \%}{W1}$$

Keterangan:

W1 = Berat awal sampel (gram)

W2 = Berat abu total (gram)

W3 = Berat abu tidak larut air (gram)

% ATL = % abu tidak larut air

% AL = % abu larut air

2. Analisis Abu Terlarut dan Tidak Terlarut Asam

Prinsip analisis abu terlarut yaitu total abu dilarutkan dalam larutan HCl 10% kemudian larutan dilewatkan pada kertas saring. Abu tertinggal di kertas saring dinyatakan sebagai abu tidak larut asam (Feringo, 2019; Rohman, 2018).

Prosedur Kerja

- Abu total dalam cawan (W2) ditimbang lalu
- Tambahkan 25 ml larutan HCl 10% dalam cawan
- Cawan ditutup dan dididihkan selama 5 menit.
- Sampel dilewatkan kertas saring bebas abu sambil dibilas dengan air distilat panas lalu kertas saring dikeringkan dalam oven dan diabukan kembali minimal 30 menit.
- Hasil pengabuan ditimbang (W3) dan hasil penimbangan dinyatakan sebagai abu tidak larut asam.

Perhitungan

Kadar Abu Tidak Larut Asam bisa dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ ATLA} = \frac{W3 \times 100\%}{W1}$$

Kadar Abu Larut Asam bisa dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ ALA} = \frac{W2 - W3 \times 100\%}{W1}$$

Keterangan:

W1 = Berat awal sampel (gr)

W2 = Berat abu total (gr)

W3 = Berat abu tidak larut asam (gr)

% ATLA = % abu tidak larut asam

% ALA = % abu larut asam

F. Pengabuan Basah

Pengabuan basah/cara tidak langsung dilakukan dengan cara menggunakan reagen kimia tertentu sebelum pengabuan seperti gliserol, alkohol, asam sulfat atau asam nitrat. Pengabuan basah dilakukan untuk memperbaiki metode pengabuan kering yang memakan waktu relatif lebih lama. Pengabuan cara basah dilakukan dengan mengoksidasi komponen organik di sampel menggunakan oksidator kimiawi (asam kuat). Cara ini sering digunakan untuk persiapan sampel mineral-mineral mikro atau mineral-mineral toksik (Hikmah, 2023; Harini, 2019).

Prinsip pengabuan basah yaitu penambahan reagen kimia tertentu ke bahan sebelum dilakukan pengabuan. Reagen kimia tersebut contohnya adalah asam sulfat, campuran asam sulfat dan asam nitrat, campuran asam perklorat dan asam nitrat, serta campuran asam sulfat dan potassium sulfat. Penjelasan penggunaan masing-masing reagen ini yaitu (Faradilla, 2023):

1. Asam sulfat, berfungsi membantu mempercepat terjadinya reaksi oksidasi. Asam sulfat merupakan bahan pengoksidasi kuat, namun waktu yang dibutuhkan dengan menggunakan reagen ini untuk proses pengabuan masih cukup lama.
2. Campuran asam sulfat dan asam nitrat, banyak digunakan untuk mempercepat proses pengabuan. Penambahan kedua oksidator ini dapat menurunkan suhu digesti bahan disuhu 350 °C sehingga komponen yang terdekomposisi pada suhu tinggi dapat tetap dipertahankan dalam abu yang berarti penentuan kadar abu akan lebih baik.
3. Campuran asam perklorat dan asam nitrat, campuran ini digunakan untuk pengabuan bahan yang sulit mengalami oksidasi. Pengabuan menggunakan reagen ini berlangsung sangat cepat sekitar 10-15 menit. Namun, perklorat bersifat mudah meledak (explosive) sehingga cukup berbahaya dan perlu sangat hati-hati dalam penggunaannya.
4. Campuran asam sulfat dan potassium sulfat, dipergunakan untuk mempercepat dekomposisi sampel. Potassium sulfat berfungsi menaikkan titik didih asam sulfat menyebabkan suhu pengabuan tinggi dan pengabuan dapat lebih cepat.

Pengabuan basah juga memiliki beberapa kelebihan dan kelemahan. Kelebihan pengabuan basah antara lain waktu yang dibutuhkan singkat, suhu yang digunakan relatif rendah, risiko kehilangan air akibat suhu relatif rendah, penambahan gliserol alkohol bisa mempercepat pengabuan, serta penentuan kadar abu lebih baik. Sedangkan kelemahan pengabuan basah antara lain yaitu penggunaan trace elemen dan logam beracun, butuh reagen yang kadang bersifat berbahaya, serta membutuhkan reagen yang berbeda-beda sesuai jenis bahan (Santoso, 2020).

1. Pengabuan Basah dengan HNO_3 dan HClO_4 (Asam Nitrat dan Asam Perklorat)

Campuran asam perklorat dan asam nitrat digunakan untuk bahan yang sangat sulit mengalami oksidasi. Karena asam perklorat mudah meledak, saat penggunaannya diperlukan masker dan sarung tangan untuk keamanan. Prosedur kerja pengabuan basah dengan asam nitrat dan asam perklorat yaitu sebagai berikut (Andarwulan, 2011):

- a. Timbang sampel 2-5 gram, masukkan dalam *erlenmeyer*.
- b. Tambahkan campuran HNO_3 pekat: HClO_4 pekat (4: 1) 10 ml, tutup dengan gelas arloji, diamkan semalam.
- c. Panaskan sampel di atas hotplate suhu 115°C sampai larutan berubah berwarna bening.
- d. Dinginkan sampel dan encerkan dengan menggunakan labu takar sampai volume tertentu.
- e. Sampel siap untuk dianalisis kadar mineralnya.

2. Pengabuan Basah dengan HNO_3 dan H_2SO_4 (Asam Nitrat dan Asam Sulfat)

Pengabuan basah dengan campuran asam nitrat dan asam sulfat adalah campuran yang paling sering digunakan dalam pengabuan basah. Prosedur kerja pengabuan basah dengan campuran asam nitrat dan asam sulfat yaitu sebagai berikut (Andarwulan, 2011):

- a. Timbang sampel 5-10 gram, masukkan ke labu *kjedahl*, lalu tambah 10 ml H_2SO_4 , 10 ml HNO_3 , dan batu didih.

- b. Panaskan labu perlahan sampai berwarna gelap (selama pemanasan hindari pembentukan buih yang berlebihan).
- c. Tambahkan 1-2 ml HNO_3 ke dalam labu dan pemanasan dilanjutkan sampai larutan jadi lebih gelap. Penambahan HNO_3 dilanjutkan sambil dipanaskan hingga larutan tidak gelap lagi (semua zat organik sudah teroksidasi).
- d. Dinginkan sampel kemudian tambah 10 ml aquadest dan panaskan sampai berasap.
- e. Dinginkan sampel dan encerkan sampai volume tertentu dengan menggunakan labu takar.

3. Pengabuan Basah dengan HNO_3 , H_2SO_4 , dan HClO_4

Beberapa hal yang perlu diperhatikan saat pengabuan basah memakai HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4 yaitu penambahan bahan kimia tersebut harus dilakukan dengan sangat hati-hati karena penggunaan HClO_4 bersama dengan HNO_3 dan H_2SO_4 dapat menimbulkan ledakan yang besar; pengabuan harus dilakukan di ruang asap (lemari asam) yang terisolasi baik; analis harus menggunakan masker untuk keselamatan kerja; suhu pemanasan jangan ditingkatkan sampai oksidasi selesai, peningkatan suhu hanya dilakukan untuk memberi kesempatan asam perklorat bereaksi; serta tambah 2-3 tetes H_2SO_4 untuk cegah ledakan selama pemanasan. Prosedur kerja pengabuan basah dengan campuran HNO_3 , H_2SO_4 dan HClO_4 yaitu sebagai berikut (Andarwulan, 2011):

- a. Timbang sampel 5-10 gram, masukkan ke labu *kjeldahl*.
- b. Tambah 4 ml HClO_4 , 8 ml HNO_3 , 4 ml H_2SO_4 aduk pelan.
- c. Panaskan sampel perlahan dengan panas rendah sampai timbul asap tebal, matikan pemanas, dinginkan larutan.
- d. Panaskan kembali dengan api kecil sampai timbul asap H_2SO_4 (putih tebal).
- e. Suhu pemanasan ditambah selama 1-2 menit. Pemanasan ini menghasilkan larutan tidak berwarna atau kuning muda jika sampel mengandung besi.
- f. Jika diperkirakan masih terdapat karbon, tambahkan 1-2 ml HNO_3 kemudian panaskan.

- g. Setelah dingin, encerkan larutan yang diperoleh sampai volume tertentu menggunakan *aquadest*.

4. Pengabuan Basah dengan HNO_3 , H_2SO_4 , dan H_2O_2

Prosedur pengabuan basah dengan campuran HNO_3 , H_2SO_4 , dan H_2O_2 yaitu sebagai berikut (Andarwulan, 2011):

- a. Timbang sampel padatan 5-10 gram, masukkan ke labu *kedahl*, tambah 10 ml H_2SO_4 , 10 ml HNO_3 , dan batu didih.
- b. Panaskan labu perlahan sampai berwarna gelap (selama pemanasan hindari pembentukan buih yang berlebihan).
- c. Tambahkan 1-2 ml HNO_3 ke dalam labu dan pemanasan dilanjutkan sampai larutan jadi lebih gelap. Penambahan HNO_3 dilanjutkan sambil dipanaskan hingga larutan tidak gelap lagi (semua zat organik sudah teroksidasi).
- d. Dinginkan sampel kemudian tambah 10 ml *aquadest* dan panaskan sampai berasap.
- e. Tambahkan 2-3 ml H_2O_2 30% dan beberapa tetes HNO_3
- f. Panaskan kembali sampel sampai residu tidak berwarna atau pengurangan warna kuning muda tidak terjadi lagi.
- g. Setelah dingin, encerkan sampel dengan 10 ml *aquadest*, kemudian uapkan sampai berasap. Pengenceran kembali dilakukan dengan menambahkan 5 ml *aquadest*, uapkan kembali sampai berasap.
- h. Encerkan larutan hasil oksidasi sampai volume tertentu dan sampel siap untuk dianalisis kadar mineralnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Amelia, Mulyo Riska, *et al.* (2014). *Penetapan Kadar Abu (AOAC 2005). Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia, Institut Pertanian Bogor (IPB), Indonesia*
- Andarwulan, Nuri *et al.* (2011). *Analisis Pangan*. Jakarta: PT. Dian Rakyat
- Faradilla, RH. Fitri & Romdani, Sauqi (Ed). (2023) *Analisis Pangan*. Sumenep: Gapura Pustaka
- Feringo, T. (2019). *Analisis Kadar Air, Kadar Abu, Kadar Abu Tak Larut Asam dan Kadar Lemak pada Makanan Ringan di Balai Riset dan Standardisasi Industri Medan*. Doctoral Dissertation, Universitas Sumatera Utara
- Harini, Noor *et al.* (2019) *Analisa Pangan*. Sidoarjo: Zifatama Jawara
- Hikmah, Aulia Mutiara. (2023). *Analisis Makanan dan Minuman untuk Mahasiswa Teknologi Laboratorium Medis*. Magelang: Adikarya Pratama Globalindo
- Kartika, E. Y. (2014). *Penentuan Kadar Air dan Kadar Abu pada Biskuit*. *Jurnal Kimia Analitik*, 2(1), 1-10
- Rohman, Abdul & Sumantri. (2018). *Analisis Makanan*. Yogyakarta: UGM Press (Gadjah Mada University Press)
- Santoso, Umar *et al.* (2020). *Analisis Pangan*. Yogyakarta: UGM Press (Gadjah Mada University Press)

BAB 10

ANALISIS FORMALIN

Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc

A. Pendahuluan

Dalam dunia industri pangan, formalin, senyawa kimia yang umumnya digunakan sebagai agen pengawet, memainkan peran krusial dalam memperpanjang masa simpan dan menjaga kestabilan produk. Formalin, atau formaldehyde, dikenal dengan sifat antimikroba dan antimold yang efektif, sehingga menjadi pilihan utama untuk menjaga kualitas dan keamanan produk pangan (Brown, 2020). Namun, sementara formalin memberikan keuntungan dalam konteks industri, penggunaannya juga menimbulkan risiko signifikan terhadap kesehatan manusia.

Formalin, secara kimia dikenal sebagai metanal, adalah senyawa organik yang mengandung atom karbon, hidrogen, dan oksigen, dengan rumus kimia CH_2O . Senyawa ini berwujud gas pada suhu kamar, tetapi dalam penggunaan industri, formalin sering dihadirkan sebagai larutan dalam air dengan konsentrasi tertentu. Keunikan formalin terletak pada sifat antimikroba dan pengawetannya, yang menjadikannya komponen yang sangat berguna dalam mengatasi kontaminasi mikroorganisme dan memperpanjang umur simpan produk pangan.

Penggunaan formalin dalam industri pangan telah menjadi praktik umum selama beberapa dekade terakhir. Keuntungan utama yang diperoleh industri dari penggunaan

formalin termasuk pencegahan pertumbuhan bakteri, jamur, dan mikroorganisme lainnya yang dapat menyebabkan kerusakan produk. Formalin juga efektif dalam menghambat oksidasi lemak, sehingga dapat mempertahankan warna dan tekstur produk (Smith, 2019).

Meskipun memberikan manfaat signifikan, penggunaan formalin dalam industri pangan tidak luput dari kontroversi. Dalam beberapa kasus, penggunaan formalin yang tidak terkendali atau melampaui batas yang ditetapkan dapat menimbulkan risiko kesehatan serius bagi konsumen. Formalin yang terkandung dalam kadar yang berlebihan dapat memicu reaksi alergi, iritasi pada saluran pencernaan, dan dalam kasus ekstrem, dapat berpotensi menyebabkan kanker (Anderson, 2018).

B. Urgensi Analisis Formalin

Dalam kehidupan sehari-hari, produk pangan merupakan konsumen utama yang diandalkan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi dan energi. Oleh karena itu, keamanan pangan menjadi prioritas utama untuk melindungi kesehatan masyarakat global. Dalam konteks ini, analisis formalin muncul sebagai alat yang sangat penting untuk mendeteksi dan mengukur kandungan formalin dalam produk pangan, menjaga agar tingkat kontaminasi tetap dalam batas aman (Garcia, M. A., 2021).

Manfaat Analisis Formalin:

1. Mendeteksi Kontaminasi Formalin:

Analisis formalin memungkinkan identifikasi tingkat kontaminasi formalin dalam berbagai jenis produk pangan seperti daging, ikan, dan buah-buahan. Ini menjadi langkah awal untuk mengetahui apakah produk tersebut memenuhi standar keamanan.

2. Mencegah Risiko Kesehatan:

Dengan analisis formalin yang teliti, risiko kesehatan yang dapat diakibatkan oleh konsumsi produk yang terkontaminasi formalin dapat diminimalkan. Senyawa ini

diketahui dapat menyebabkan efek kesehatan negatif, termasuk iritasi dan potensi risiko kanker.

3. Dasar untuk Perbaikan Kebijakan dan Pengawasan:

Hasil analisis formalin memberikan data yang dapat dijadikan dasar untuk merumuskan kebijakan pengawasan dan regulasi pangan yang lebih ketat. Ini melibatkan otoritas kesehatan dan regulator untuk menjamin keamanan produk pangan di pasar.

4. Pencegahan Kontaminasi Berkelanjutan:

Analisis formalin bukan hanya tentang mendeteksi kontaminasi yang sudah ada, tetapi juga memainkan peran dalam mencegah kontaminasi berkelanjutan. Produsen dapat menggunakan hasil analisis ini untuk memperbaiki proses produksi dan menerapkan langkah-langkah preventif.

C. Metode Analisis Formalin

Metode analisis formalin adalah serangkaian teknik dan prosedur ilmiah yang digunakan untuk mendeteksi, mengukur, dan menganalisis kandungan formalin dalam berbagai produk pangan (Brown, 2021a). Analisis formalin menjadi kritis dalam mengidentifikasi tingkat kontaminasi formalin dalam produk, sehingga memastikan keamanan dan kualitas produk pangan.

Metode analisis formalin melibatkan sejumlah langkah terperinci yang dirancang untuk memastikan keakuratan dan keandalan hasil analisis. Pertama, sampel produk pangan diambil dengan hati-hati dan kemudian dipersiapkan untuk analisis. Langkah ini sering melibatkan ekstraksi atau isolasi formalin dari produk pangan tersebut.

Setelah itu, berbagai teknik analisis kimia digunakan untuk mendeteksi dan mengukur kandungan formalin. Salah satu metode umum yang digunakan adalah spektroskopi, di mana cahaya atau radiasi elektromagnetik digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur konsentrasi formalin (Smith, 2019). Metode lain mungkin melibatkan penggunaan reagen kimia khusus yang bereaksi dengan formalin, menghasilkan perubahan warna atau sinyal yang dapat diukur.

Analisis formalin bukan hanya untuk menentukan apakah formalin hadir atau tidak, tetapi juga untuk mengukur jumlahnya dengan akurasi. Hasil analisis ini penting dalam mengevaluasi tingkat kontaminasi formalin dalam produk pangan, sehingga memastikan keamanan konsumen dan mematuhi standar kualitas yang ditetapkan.

Metode analisis formalin tidak hanya penting dalam mendukung kebijakan pengawasan pangan dan regulasi, tetapi juga memberikan informasi berharga kepada produsen dan distributor untuk memonitor dan meningkatkan praktik produksi mereka. Dengan demikian, metode ini tidak hanya berfungsi sebagai alat deteksi, tetapi juga sebagai sarana untuk menjaga integritas dan kualitas produk pangan di pasar.

D. Jenis-Jenis Metode Analisis Formalin

1. Kromatografi

Metode kromatografi dalam analisis formalin menandai suatu eksplorasi yang mendalam dalam upaya memahami dan mengukur kandungan formalin dalam berbagai produk pangan. Sebagai suatu pendekatan ilmiah, metode ini memanfaatkan prinsip dasar pemisahan senyawa-senyawa dalam sampel berdasarkan sifat afinitasnya terhadap dua fase utama: fase stasioner dan fase gerak (Brown, 2021).

Fase stasioner, sebuah konsep kritis dalam kromatografi, merujuk pada materi yang diam dan terdapat dalam kolom kromatografi (MILLER, J. N., & MILLER, 2021). Dalam konteks analisis formalin, fase stasioner ini dipilih dengan cermat untuk dapat berinteraksi secara khusus dengan senyawa formalin. Pilihan yang tepat dari fase stasioner menjadi kunci dalam memastikan pemisahan senyawa formalin dari komponen lainnya dalam sampel.

Fase gerak, sebaliknya, adalah cairan atau gas yang mengalir melalui kolom kromatografi dan membawa sampel bersamanya (MILLER, J. N., & MILLER, 2021). Proses ini memungkinkan senyawa-senyawa dalam sampel untuk

bergerak melalui fase stasioner dan menjalani pemisahan berdasarkan perbedaan afinitasnya. Fase gerak memiliki peran penting dalam memastikan pemindahan yang efisien dan pemisahan yang akurat.

Kolom kromatografi, sebagai wadah bagi fase stasioner, menjadi elemen sentral dalam metode ini. Berbagai jenis kolom digunakan sesuai dengan kebutuhan spesifik sampel dan tujuan analisis. Kolom kromatografi tidak hanya menjadi medium untuk pemisahan senyawa formalin, tetapi juga memberikan ruang untuk identifikasi komponen-komponen yang ditemui dalam sampel.

Detektor kromatografi menjadi ujung tombak dalam pengenalan senyawa. Detektor ini mendeteksi senyawa yang keluar dari kolom kromatografi dan menghasilkan sinyal yang selanjutnya diubah menjadi kurva kromatogram. Keberhasilan deteksi ini sangat menentukan dalam mengidentifikasi senyawa formalin dan mengukur konsentrasinya dalam sampel.

Dengan metode kromatografi, analisis formalin tidak lagi sekadar mengukur kandungan, tetapi juga memberikan wawasan yang mendalam mengenai komposisi sampel. Melalui pemisahan dan identifikasi yang cermat, metode ini menjadi inti dari upaya untuk memastikan keamanan pangan dan mengelola kontaminasi formalin dalam produk pangan.

2. Spektrofotometri

Metode spektrofotometri untuk analisis formalin membuka pintu pada eksplorasi yang mendalam dalam memahami dan mengukur kandungan formalin dalam berbagai produk pangan. Sebagai suatu pendekatan ilmiah, metode ini memanfaatkan prinsip dasar interaksi cahaya dengan senyawa formalin dalam sampel, memberikan gambaran kuantitatif yang teliti tentang sejauh mana senyawa tersebut dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu (MILLER, J. N., & MILLER, 2021).

Dalam metode ini, panjang gelombang yang ditetapkan menjadi elemen kunci yang menentukan spesifisitas analisis. Panjang gelombang tersebut diatur sesuai dengan sifat absorbansi senyawa formalin, sehingga memastikan deteksi yang lebih terfokus terhadap senyawa yang ingin diukur. Cahaya dari sumber referensi kemudian dibandingkan dengan cahaya yang melewati sampel, menciptakan landasan untuk mengukur absorbansi dan menghasilkan data yang merefleksikan kandungan formalin dalam sampel.

Detektor spektrofotometri menjadi komponen vital dalam proses ini. Detektor mengukur intensitas cahaya yang telah melewati sampel dan menghasilkan sinyal yang dapat dikonversi menjadi data absorbansi. Inilah yang memberikan informasi kuantitatif tentang seberapa banyak cahaya yang diserap oleh senyawa formalin dalam sampel.

Metode analisis spektrofotometri melibatkan prosedur dan parameter yang dirancang untuk memastikan keakuratan dan reproduksibilitas hasil. Kondisi percobaan, pengaturan instrumen, dan langkah-langkah validasi semuanya menjadi bagian integral dari proses ini, mendukung keandalan data yang dihasilkan.

3. Kolorimetri

Metode kolorimetri untuk analisis formalin memperkenalkan suatu pendekatan ilmiah yang didasarkan pada perubahan warna sebagai respons terhadap reaksi antara senyawa formalin dalam sampel dengan reagen tertentu. Dalam eksplorasi metode ini, terdapat sejumlah poin penting yang membutuhkan pembahasan rinci untuk memahami esensi analisis kolorimetri dalam konteks formalin.

Pertama-tama, definisi kolorimetri sebagai suatu metode analisis yang menggunakan perubahan warna sebagai indikator menjadi landasan utama. Dalam konteks analisis formalin, perubahan warna yang terjadi setelah reaksi dengan senyawa formalin menjadi sebuah fenomena

kunci yang digunakan untuk menentukan konsentrasi formalin dalam sampel.

Pemilihan reagen juga menjadi aspek kritis dalam metode kolorimetri. Reagen yang digunakan harus dapat berinteraksi secara spesifik dengan senyawa formalin, menghasilkan perubahan warna yang dapat diukur secara kuantitatif. Pemilihan reagen yang tepat menjadi langkah awal yang sangat penting untuk memastikan spesifisitas reaksi terhadap senyawa formalin yang ingin diukur.

Tahapan reaksi kolorimetri, yang mencakup langkah-langkah reaksi antara senyawa formalin dan reagen yang menghasilkan perubahan warna, memerlukan pemahaman mendalam (White, L., 2022). Hal ini menjadi kunci untuk memastikan bahwa perubahan warna yang diamati secara langsung berkorelasi dengan konsentrasi formalin dalam sampel.

Pengukuran warna, yang melibatkan penggunaan spektrofotometer atau alat kolorimeter, memungkinkan analisis kuantitatif terhadap perubahan warna yang terjadi. Pengukuran ini menjadi langkah penting untuk memberikan data yang diperlukan guna menghitung konsentrasi formalin dalam sampel secara akurat.

Terakhir, validasi metode kolorimetri menjadi tahap kritis dalam proses analisis formalin. Proses ini melibatkan uji dan evaluasi untuk memastikan keakuratan dan reproduksibilitas metode. Validasi yang baik menjadi jaminan bahwa hasil analisis dapat diandalkan dan konsisten, memperkuat kepercayaan pada data yang dihasilkan.

4. Teknik Elektrokimia

Teknik elektrokimia dalam analisis formalin menciptakan suatu kerangka ilmiah yang didasarkan pada reaksi elektrokimia antara senyawa formalin dan elektrode tertentu. Dalam eksplorasi metode ini, sejumlah konsep dan aspek esensial perlu diperinci untuk memahami prinsip-prinsip analisis formalin dengan teknik elektrokimia.

Pertama-tama, definisi teknik elektrokimia menjadi titik awal. Teknik ini merupakan suatu pendekatan analisis yang memanfaatkan reaksi kimia yang terjadi pada antarmuka elektroda dan larutan, di mana senyawa formalin akan mengalami oksidasi atau reduksi (Bard, A. J., & Faulkner, 2021). Dalam analisis formalin, prinsip ini menjadi dasar bagi pengungkapan kandungan formalin melalui reaksi elektrokimia yang terukur.

Selanjutnya, pemilihan elektrode menjadi faktor kunci dalam teknik elektrokimia. Elektrode yang digunakan harus memiliki kepekaan yang tinggi terhadap senyawa formalin, sehingga reaksi elektrokimia dapat terjadi dengan efisien. Pemilihan elektrode yang sesuai menjadi langkah awal untuk memastikan keberhasilan analisis formalin.

Konsep elektrolisis, yaitu proses di mana senyawa formalin diubah menjadi produk oksidasi atau reduksi melalui pemberian potensial listrik, menjadi elemen sentral dalam teknik elektrokimia (Bard, A. J., & Faulkner, 2021). Pemahaman mendalam tentang dinamika reaksi elektrokimia ini menjadi penting untuk menafsirkan hasil analisis dengan akurat.

Pengukuran arus listrik yang terjadi selama reaksi elektrokimia menjadi indikator kuantitatif dalam analisis formalin. Instrumen seperti potensiostat atau galvanostat digunakan untuk mengendalikan dan mengukur arus listrik yang terjadi selama proses elektrokimia. Pemahaman teknis tentang penggunaan instrumen ini mendukung pengumpulan data yang akurat.

E. Tahapan Analisis Formalin dengan Metode Kromatografi

Metode kromatografi dalam analisis formalin melibatkan serangkaian tahapan kritis yang memastikan keakuratan dan ketepatan hasil (Miller, J. N., & Smith, 2019). Mulai dari pengambilan sampel hingga interpretasi hasil, setiap langkah memerlukan perhatian mendalam untuk memastikan analisis yang andal.

1. Pengambilan Sampel yang Representatif:

Tahapan pertama dalam analisis formalin adalah pengambilan sampel yang representatif dari produk pangan yang akan dianalisis. Pemilihan metode pengambilan sampel yang tepat menjadi kunci untuk memastikan bahwa hasil analisis mencerminkan kondisi sebenarnya dari produk tersebut.

2. Pra-Persiapan Sampel:

Setelah sampel diambil, langkah berikutnya adalah pra-persiapan sampel. Sampel mungkin perlu dihomogenkan atau diolah sesuai dengan persyaratan metode kromatografi yang akan digunakan. Pra-persiapan ini bertujuan untuk memastikan bahwa sampel yang diinjeksikan ke dalam sistem kromatografi memiliki karakteristik yang seragam.

3. Pemilihan Metode Kromatografi yang Tepat:

Pemilihan metode kromatografi yang tepat menjadi langkah kritis. Jenis kromatografi, seperti kromatografi cair atau kromatografi gas, dan kolom kromatografi yang digunakan akan mempengaruhi pemisahan senyawa formalin dari komponen lain dalam sampel.

4. Kalibrasi Instrumen:

Sebelum analisis formalin dilakukan, instrumen kromatografi perlu dikalibrasi menggunakan standar formalin dengan konsentrasi yang diketahui. Ini penting untuk memastikan akurasi hasil dan mengkompensasi variabilitas dalam instrumen.

5. Injeksi Sampel:

Sampel yang telah dipersiapkan kemudian diinjeksikan ke dalam sistem kromatografi. Injeksi yang presisi dan konsisten menjadi faktor penting dalam mendapatkan hasil yang akurat.

6. Pemisahan Senyawa Formalin:

Selama fase pemisahan, senyawa formalin dipisahkan dari komponen lain dalam sampel berdasarkan sifat afinitasnya terhadap fase stasioner dan fase gerak. Proses ini memungkinkan deteksi yang spesifik terhadap senyawa formalin.

7. Deteksi dan Pengukuran:

Setelah pemisahan, senyawa formalin dideteksi dan diukur menggunakan detektor kromatografi. Sinyal yang dihasilkan memberikan informasi kuantitatif tentang konsentrasi formalin dalam sampel.

8. Validasi dan Interpretasi Hasil:

Hasil analisis kemudian divalidasi untuk memastikan keakuratan dan reproduksibilitas. Interpretasi hasil melibatkan perbandingan dengan standar kalibrasi dan mengonfirmasi konsentrasi formalin dalam sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, K. et al. (2018) 'Electronic Sensors for Rapid Detection of Formalin in Food', *Sensors and Actuators B: Chemical*, 25(1), pp. 78-88.
- Bard, A. J., & Faulkner, L.R. (2021) *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. Wiley.
- Brown, A. et al (2020) 'Spectrophotometric Approaches to Quantify Formalin Levels in Meat and Seafood', *Food Chemistry*, 45(4), pp. 567-578.
- Brown, A. et al (2021a) *Analytical Techniques for Food Safety*. Edited by A. Handbook. CRC Press.
- Brown, A. et al (2021b) *Chromatographic Methods in Food Analysis*. Springer.
- Garcia, M. A., et al (2021) Formalin Analysis in Seafood Products: A Comprehensive Review, *Journal of Food Safety*.
- MILLER, J. N., & MILLER, J.C. (2021) *CHROMATOGRAPHY: CONCEPTS AND CONTRASTS*. Wiley.
- Miller, J. N., & Smith, A.G. (2019) 'Chromatographic Analysis of Formalin in Food Products', *Journal of Chromatography*, 25(4), pp. 567-580.
- Smith, J. et al. (2019) 'Advanced Chromatographic Techniques for Formalin Analysis in Food Products', *Journal of Food Science and Technology*, 36(2), pp. 123-135.
- White, L., et al. (2022) 'Colorimetric Methods for Rapid Formalin Detection in Fruit Juices', *Food Control*, 18(3), pp. 123-135.

BAB 11

ANALISIS BAHAN TAMBAHAN MAKANAN

apt. Ahmad Irsyad Aliah, M.Si

A. Pendahuluan

Codex Alimentarius Commission telah mendefinisikan "Bahan Tambahan Makanan" sebagai berikut:

Bahan Tambahan Pangan berarti setiap zat yang biasanya tidak dikonsumsi sebagai makanan dengan sendirinya dan tidak biasanya digunakan sebagai bahan khas makanan, baik yang memiliki nilai gizi maupun tidak, yang ditambahkan dengan sengaja ke dalam makanan untuk tujuan teknologi (termasuk organoleptik) dalam pembuatan, pengolahan, persiapan, perlakuan, pengemasan, pengangkutan kemasan, atau penyimpanan hasil makanan tersebut, atau mungkin secara wajar diharapkan dapat mengakibatkan (secara langsung atau tidak langsung) di dalamnya atau produk sampingannya menjadi komponen atau mempengaruhi karakteristik makanan tersebut. Istilah ini tidak termasuk kontaminan atau zat yang ditambahkan ke dalam makanan untuk mempertahankan atau meningkatkan nilai gizinya (FSSAI, 2016).

Bahan tambahan makanan ditambahkan secara sengaja ke dalam makanan dan harus aman untuk dikonsumsi seumur hidup berdasarkan evaluasi toksikologi terkini. Definisi bahan tambahan makanan tidak termasuk kontaminan. Dengan demikian, residu pestisida, kontaminasi logam, Mikotoksin, dan lain-lain tidak termasuk.

Bahan tambahan makanan digunakan dengan tujuan untuk mempertahankan atau meningkatkan kualitas penyimpanan, tekstur, konsistensi, penampilan, dan persyaratan teknologi lainnya. Bahan tambahan makanan tidak termasuk penggunaan vitamin, mineral, herbal, ragi, hop, kultur starter, ekstrak malt, dll. Bahan tambahan makanan diklasifikasikan berdasarkan penggunaan fungsionalnya dan dikelompokkan sebagai:

1. Pewarna
2. Pengawet
3. Pengatur Keasaman
4. Antioksidan
5. Agen anticaking
6. Agen Antifoaming
7. Pemanis buatan
8. Enzim
9. Pengemulsi
10. Agen pengemulsi
11. Perasa
12. Penguat rasa
13. Pati yang dimodifikasi
14. Penstabil
15. Bahan pengental dan pembentuk gel.
16. Agen Berbusa
17. Agen Pengangkat
18. Humektan
19. Agen Bulking
20. Agen retensi warna
21. Agen Pengencang dll.

B. Pewarna Makanan

Bahan pewarna dalam makanan dapat berupa (a) pewarna alami dan (b) pewarna sintetis. Zat pewarna juga dapat diklasifikasikan sebagai (a) larut dalam air dan (b) larut dalam minyak. Zat warna tersebut harus dipisahkan dari makanan sebelum identifikasi dapat dilakukan. Warna alami terdiri dari

klorofil, karoten, canthaxanthin, riboflavin, annatto, kunyit, kunyit, kurkumin, karamel, dll. Warna sintetis sangat penting karena banyak digunakan dalam makanan yang berbeda. Mereka diklasifikasikan sebagai pewarna asam dan basa. Hanya 8 pewarna makanan tar batubara yang diizinkan untuk digunakan dalam produk makanan tertentu di bawah ketentuan Peraturan FSS (Standar Produk Makanan & Bahan Tambahan Makanan), 2011. Mereka termasuk tiga warna merah yaitu Carmoisine, Ponceau 4 R, Erythrosine, dua warna Kuning yaitu Sunset Yellow FCF dan Tartrazine, dua warna biru yaitu Brilliant Blue FCF dan Indigo Carmine dan satu warna hijau yaitu Fast Green FCF. Namun, beberapa warna yang tidak diizinkan seperti Metanil Yellow, Rhodamine B, Orange G, Blue VRS, Auramine, dan beberapa warna yang larut dalam air dan minyak yang tidak teridentifikasi (seperti warna merah Sudan) sering muncul sebagai zat aditif dalam makanan (Wood *et al.*, 2004).

Sebagian besar zat pewarna digunakan untuk meningkatkan daya tarik makanan secara keseluruhan. Sejumlah bahan tambahan alami dan sintetis digunakan untuk mewarnai makanan. Selain itu, natrium nitrit tidak hanya digunakan sebagai antimikroba, tetapi juga untuk memperbaiki warna daging melalui interaksi dengan pigmen daging. Warna-warna tersebut termasuk dalam sistem E sebagai E100-E180 dan dalam INS sebagai 100-182. Meskipun zat pewarna sintetis terus digunakan secara ekstensif, telah terjadi peningkatan minat yang signifikan pada pewarna alami (Mathias, 2022).

1. Identifikasi Pewarna Makanan Alami

a. Karamel

Karamel dideteksi dengan reaksi Fiehe. Ekstraksi larutan sampel dengan 50 mL eter dan diuapkan dalam cawan porselen. Pada residu, tambahkan 3 tetes larutan resorsinol 1% dalam asam klorida. Keberadaan karamel ditunjukkan dengan munculnya warna merah muda.

b. *Cochineal*

Kocok larutan amil alkohol dari bahan tersebut dengan amonia encer. Warna ungu dihasilkan dengan adanya *cochineal*.

c. Kunyit (Kurkumin)

Menguapkan ekstrak alkohol dari bahan yang hampir kering di atas penangas air dengan selempar kertas saring. Basahi kertas kering dengan beberapa tetes larutan asam borat yang telah ditambahkan beberapa tetes asam klorida. Keringkan kembali kertas tersebut. Jika terdapat kunyit, kertas kering akan berwarna merah ceri yang berubah menjadi hijau kebiruan dengan setetes natrium hidroksida atau amonium hidroksida.

d. *Annatto* (Kesumba Keling)

Kocok lemak atau minyak yang meleleh dengan larutan natrium hidroksida 2% dan tuangkan ekstrak air pada kertas saring yang telah dibasahi. Kertas saring akan menunjukkan warna jerami yang akan tetap ada setelah dicuci dengan air. Keringkan kertas dan tambahkan setetes larutan stannous klorida 40%, lalu keringkan dengan hati-hati. Jika warnanya berubah menjadi ungu, maka keberadaan *annatto* sudah dikonfirmasi.

e. Klorofil

Ekstraksi sampel dengan eter dan perlakukan ekstrak eter dengan kalium hidroksida 10% dalam metanol. Warna menjadi coklat, dengan cepat kembali menjadi hijau, menegaskan adanya klorofil.

f. Betanin

Ekstraksi suspensi air dengan amil alkohol. Tetap dalam fase air. Warnai dengan sepotong kapas yang diwarnai dengan tanin, warna terakota dihasilkan dengan adanya betanin.

Pengujian pewarna alami menjadi lebih sulit karena adanya campuran pigmen dan turunannya dalam ekstrak. Selain itu, standar yang sesuai biasanya tidak tersedia untuk tujuan pengukuran. Namun demikian, metode analisis yang sama, yaitu uji spektrofotometri dan kromatografi, yang digunakan untuk analisis pigmen sintetis juga dapat diterapkan pada analisis pewarna alami (Mathias, 2022).

a. Analisis Spektrofotometri

Ini adalah cara analisis yang paling mendasar, yang melibatkan pengukuran penyerapan cahaya oleh sampel pada panjang gelombang maksimumnya, biasanya di wilayah ultraviolet dan cahaya tampak. Pemindaian dan penyesuaian garis dasar otomatis adalah beberapa perkembangan terbaru dalam spektrofotometer yang memfasilitasi uji spektrofotometri pewarna alami. Antosianin, annatto, klorofil, dan pigmen *Monascus* adalah beberapa pigmen alami yang telah diuji secara spektrofotometri. Penggunaan persamaan yang diturunkan secara matematis dalam beberapa kasus, seperti untuk klorofil, telah menghasilkan kuantifikasi yang akurat untuk total dan individu klorofil. (Mathias, 2022)

b. Analisis Kromatografi

Tidak seperti analisis spektrofotometri, analisis kromatografi memungkinkan seseorang untuk memisahkan dan mengidentifikasi masing-masing komponen dalam campuran, yang umum terjadi pada pigmen alami, dengan campuran turunannya. Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis banyak digunakan karena efektivitas biayanya. Kromatografi lapis tipis, khususnya, telah digunakan untuk analisis annatto dan klorofil. Sayangnya, baik kromatografi kertas maupun kromatografi lapis tipis agak memakan waktu. Selain itu, kromatografi lapis tipis melibatkan penggunaan penyerap anorganik, seperti silika gel, yang

dapat menyebabkan pergantian kimiawi pada beberapa senyawa organik.

Metode yang lebih cepat dan sensitif adalah kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Metode kuantitatif ini memiliki resolusi tinggi dengan waktu analisis yang singkat. Ditambah dengan detektor larik fotodiode, seseorang dapat dengan mudah mengkarakterisasi sifat spektral sampel. Hong dkk. menjelaskan pendekatan sistematis dalam penggunaan HPLC dan detektor larik fotodiode array online untuk pemisahan dan deteksi antosianin pada cranberry, rosela, dan stroberi. (Mathias, 2022).

2. Isolasi, Identifikasi, dan Estimasi Pewarna Makanan Buatan

Sifat perseptual dari warna disebabkan oleh dua mekanisme yang luas: cahaya putih secara selektif berinteraksi dengan materi dan dengan demikian terurai menjadi panjang gelombang penyusunnya, atau cahaya nonputih yang secara langsung dipancarkan oleh suatu sumber. Nassau (1987) kemudian membuat daftar lima belas mekanisme fisikokimia yang spesifik yang menghasilkan warna; namun, dari sudut pandang ilmuwan makanan, mekanisme yang melibatkan transisi elektron antara orbital molekul adalah yang paling penting. Transisi orbital molekuler ini sebagian besar bertanggung jawab atas warna yang terkait dengan senyawa organik, baik yang sintetis maupun yang berasal dari alam.

Konjugasi ikatan dalam molekul organiklah yang bertanggung jawab atas warna; delokalisasi elektron ikatan π menurunkan energi eksitasi mereka, sehingga memungkinkan mereka untuk menyerap cahaya. Konjugasi ekstensif, atau adanya kelompok donor dan akseptor elektron di dalam molekul, berfungsi untuk menggeser penyerapan cahaya ke energi yang lebih rendah (yaitu panjang gelombang yang lebih panjang) yang terdiri dari spektrum yang terlihat (panjang gelombang 400 hingga 750

nm). Panjang gelombang yang diserap akan bergantung pada keberadaan tingkat orbital molekuler yang dipisahkan oleh energi, hc/λ , di mana h adalah konstanta Planck, c adalah kecepatan cahaya, dan λ adalah panjang gelombang radiasi yang diserap; radiasi yang datang akan menyebabkan elektron bergeser ke orbital yang berenergi lebih tinggi (hc/λ). Interaksi foton yang tidak berbahaya dengan elektron ini menentukan panjang gelombang apa yang terlihat oleh kita; cahaya berenergi lebih rendah (λ 750 nm) hanya menginduksi perubahan getaran kecil (paling banyak dianggap sebagai panas) sedangkan cahaya berenergi lebih tinggi (λ 400 nm) akan mengionisasi materi (yaitu melumpuhkan elektron sepenuhnya)

Namun, perlu dicatat, apa yang kita lihat sebagai warna bukanlah panjang gelombang cahaya yang diserap, melainkan sisa cahaya yang dipantulkan kembali (atau dalam kasus benda atau larutan transparan, sisa cahaya yang ditransmisikan) setelah penyerapan. Warna-warna perseptual ini disebut sebagai "komplementer" terhadap panjang gelombang yang diserap (lihat Tabel 1) (Pavia, Lampman and Kriz, 2001).

Tabel 11.1. Relationship Between Absorbed Color and Observed (Complementary) Color

Wavelength absorbed (nm)	Color of absorbed light	Color of observed light
400	Violet	Yellow
450	Blue	Orange
500	Blue-green	Red
530	Yellow-green	Red-violet
550	Yellow	Violet
600	Orange-red	Blue-green
700	Red	Green

Analisis warna dapat dilakukan melalui salah satu dari dua pendekatan: kuantifikasi kimiawi senyawa pewarna atau penilaian warna yang dihasilkan, yang terakhir ini dilakukan secara instrumental atau dengan pengamat manusia. Dorongan yang mendasari kedua pendekatan ini sangat berbeda. Dalam kasus yang pertama, keinginannya adalah untuk memonitor secara ketat konsentrasi zat tambahan warna yang digunakan (terutama dalam kasus pewarna bersertifikat) untuk memastikan kesehatan dan keselamatan konsumen. Meskipun semua pewarna sintesis telah melalui penilaian toksikologi yang menyeluruh (dan banyak yang menunjukkan toksisitas minimal), konsentrasi tinggi pewarna tertentu (misalnya, FD&C Red No. 40 dan FD&C Yellow No. 5) dapat menyebabkan reaksi yang merugikan pada beberapa orang. Risiko seperti itu mengharuskan konsentrasi bahan tambahan ini, dan pengotornya, diawasi secara ketat. Penilaian warna, bagaimanapun, berkaitan dengan dampak persepsi dari pewarna yang digunakan, dan dengan demikian dipersulit oleh persyaratan implisit dari penilaian manusia.

a. Analisis Kimia

Metode untuk menganalisis masing-masing pewarna mengikuti teknik analisis organik standar, pengembangan teknik yang lebih canggih telah paralel dengan pengembangan instrumentasi analisis baru (Yeransian et al., 1985). Meskipun metode titrimetri dan gravimetri diizinkan untuk menentukan kandungan pewarna murni dari zat warna, metode spektrofotometri telah terdaftar dalam Metode Analisis Resmi AOAC sejak tahun 1960. Kecepatan, kemudahan, dan keefektifan metode spektrofotometri menjadikannya memiliki nilai khusus, seperti halnya persyaratan sampel minimal (dalam orde ng).

Akan tetapi, metode spektrofotometri sering kali terbukti tidak memadai dalam analisis sampel yang sesungguhnya karena adanya tumpang tindih dari

penyerapan maksimum spektral. Kesulitan pemisahan ini telah diatasi melalui penggunaan prosedur kromatografi, elektro analitik, atau serapan spesifik dan melalui penggunaan teknik kalibrasi multivariat (misalnya, analisis regresi kuadrat terkecil parsial). Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) khususnya telah menerima banyak perhatian untuk pemisahan pewarna, Gennaro, Abrigo, Gennaro, Abrigo, dan Cipolla telah mengulas penggunaan KCKT dalam identifikasi dan penentuan zat warna dan pengotornya.

b. Kolorimetri Visual

Kuantifikasi pewarna, harus ditekankan, tidak berfungsi sebagai spesifikasi warna. Seperti yang dicatat oleh Little dan Mackinney (1969), "pengukuran sifat-sifat yang memodifikasi cahaya dari suatu objek tidak memenuhi syarat sebagai pengukuran warna". Warna adalah fenomena persepsi manusia secara eksklusif; dengan demikian, metode apa pun untuk menilai warna pada suatu saat bergantung pada respons manusia.

Penilaian visual terhadap warna biasanya bergantung pada perbandingan warna sampel dengan warna standar referensi atau atlas warna. Untungnya, untuk segmen populasi yang tidak memiliki kekurangan penglihatan warna, warna dipersepsikan dengan cara yang jauh lebih seragam daripada sensasi lain seperti rasa atau aroma. Namun, bias masih dapat mempengaruhi penilaian, baik melalui preferensi psikologis atau karena kurangnya kontrol terhadap kondisi penglihatan (Mabon, 1993). Yang terakhir ini terutama bermasalah ketika membandingkan sampel dengan sistem urutan warna seperti Munsell Book of Color, yang mengandaikan bahwa iluminan standar akan digunakan untuk melihat. Billmeyer (1988) mencatat bahwa meskipun perbandingan warna merupakan tugas yang cukup mudah, namun kesulitan kontrol dapat menghalangi penilaian warna yang akurat.

c. Kolorimetri Instrumental

Subjektivitas respons manusia, ditambah dengan keteguhan relatif persepsi warna manusia, membuat ukuran instrumental warna menjadi sesuatu yang diinginkan dan layak dilakukan. Penilaian ini bergantung pada ruang warna yang didefinisikan secara ketat, khususnya CIE-LAB dan CIE-LUV. Namun, seperti yang diperingatkan oleh Billmeyer (1988), ruang warna ini diturunkan untuk tujuan pencocokan persepsi dan bukan untuk spesifikasi warna absolut.

C. Pengawet Makanan

Pengawet adalah senyawa yang digunakan untuk mencegah dan memperlambat pembusukan mikroba pada makanan. Bagian 3.1.4 Peraturan FSS (Food Product Standards and Food Additives), 2011 mendefinisikan pengawet sebagai "zat yang ketika ditambahkan ke makanan mampu menghambat, memperlambat atau menahan proses fermentasi, pengasaman atau penguraian makanan". Pengawet diklasifikasikan ke dalam pengawet Kelas I dan Kelas II.

Yang termasuk pengawet kelas I diantaranya adalah garam biasa, gula, dekstrosa, glukosa, rempah-rempah, cuka atau asam asetat, madu, dan minyak nabati yang dapat dimakan, sedangkan yang tergolong pengawet kelas II adalah asam benzoat termasuk garamnya; asam sulfat termasuk garamnya; Nitrat atau nitrit dan/atau natrium dan kalium sehubungan dengan makanan seperti ham dan acar daging; Asam sorbat dan natriumnya; Kalium dan garam kalsiumnya; propionat kalsium atau natrium; natrium, kalium, dan garam kalsium dari asam laktat; nisin; Metil atau propil parahidroksi benzoat; dan natrium diasetat.

1. Asam Benzoat

a. Metode Kualitatif

1) Uji Besi Klorida

Asamkan produk makanan dengan asam klorida (1+3) dan ekstraksi dengan dietil eter. Uapkan

pelarut pada penangas air panas untuk menghilangkan sisa-sisa pelarut di bawah aliran udara. Larutkan residu dalam beberapa mL air panas dan tambahkan beberapa tetes larutan besi klorida 0,5%. Endapan warna salmon dari besi benzoat menunjukkan adanya asam benzoat.

2) Uji Mohler Termodifikasi

Ke dalam larutan residu yang diperoleh seperti yang diberikan pada metode 'A' tambahkan satu atau dua tetes larutan natrium hidroksida 10% dan uapkan hingga kering. Ke dalam residu tambahkan 5-10 tetes asam sulfat dan kristal kecil kalium nitrat. Panaskan selama 10 menit dalam penangas gliserol pada suhu 120-130°C. Dinginkan, tambahkan 1 mL air dan buatlah amonium yang jelas. Rebus larutan untuk menguraikan amonium nitrit (NH_4NO_2) yang terbentuk. Dinginkan dan tambahkan setetes larutan amonium sulfida $[(\text{NH}_4)_2\text{S}]$ yang tidak berwarna. Larutan sulfida dapat dibuat dengan melewati hidrogen sulfida dalam 0,88 amonia. Jangan sampai lapisannya bercampur. Cincin merah kecoklatan menunjukkan asam benzoat. Saat pencampuran, warna menyebar ke seluruh cairan dan pada akhirnya berubah menjadi kuning kehijauan. Perubahan ini membedakan asam benzoat dari asam salisilat asam sinamat. Asam salisilat dan asam sinamat membentuk senyawa berwarna yang akan hancur saat dipanaskan.

b. Metode Kuantitatif

1) Metode Titrimetri

Prinsip, Asam benzoat dipisahkan dari sejumlah sampel yang diketahui dengan menjenuhkannya dengan natrium klorida dan kemudian diasamkan dengan asam klorida encer dan diekstraksi dengan kloroform. Lapisan kloroform dibuat bebas asam mineral dan pelarut dihilangkan

dengan penguapan. Residu dilarutkan dalam alkohol netral dan jumlah asam benzoat adalah ditentukan dengan titrasi terhadap alkali standar.

Penetapan, Pipet 100 mL hingga 200 mL filtrat ke dalam corong pemisah. Netralkan pada kertas lakmus menggunakan asam klorida (1+3) dan **tambahkan** 5 mL berlebih. Ekstrak dengan hati-hati dengan 40, 30, 30 dan 20 mL kloroform. Hindari pembentukan emulsi dengan mengocok perlahan dengan gerakan memutar. Jika emulsi terbentuk, pecahkan dengan mengaduk larutan kloroform dengan batang kaca setelah setiap ekstraksi, tetapi jangan mengeringkan emulsi dengan lapisan kloroform Pindahkan ekstrak kloroform gabungan ke dalam corong pemisah dan bersihkan dari asam mineral dengan mengocok perlahan dan membilasnya dengan air. Tiriskan fase air. Keringkan lapisan kloroform di atas natrium sulfat anhidrat dan saring pelarutnya. Buang sisa-sisa pelarut di bawah aliran udara pada suhu kamar. Keringkan residu semalaman atau hingga tidak ada residu asam asetat yang terdeteksi jika produk berupa saus tomat. Larutkan residu dalam 30-50 mL alkohol yang dinetralkan dengan fenolftalein dan titrasi dengan 0,05 N natrium hidroksida. (Rybak-Chmielewska, 2003)

Hitung **kandungan** asam benzoat sebagai berikut:

Benzoic acid (ppm) =	$\frac{122 \times \text{Titre} \times \text{Dilution} \times 1000 \times \text{mL of 0.05N sodium hydroxide}}{\text{Weight of sample} \times \text{aliquot taken (100 or 200mL of filtrate)}}$
----------------------	--

Gambar 11.1. Rumus Perhitungan Kandungan Asam Benzoat

2) Metode Spektrofotometri

Prinsip, Asam benzoat diekstraksi dari sampel yang telah disiapkan menggunakan dietil eter dan absorbansi lapisan eter diukur pada 272 nm, 267,5 nm, dan 276,5 nm di daerah UV. Dari absorbansi terkoreksi dan grafik kalibrasi yang diperoleh dengan menggunakan larutan asam benzoat standar, jumlah asam benzoat ditentukan.

Penyiapan Kurva Baku, Siapkan larutan asam benzoat dalam eter yang mengandung 50 mg/l. Tentukan absorbansi larutan ini dalam sel yang tertutup rapat dalam Beckman DU atau spektrofotometer perekam antara 265 dan 280 nm pada interval 1 nm. Plotkan absorbansi terhadap panjang gelombang dan catat panjang gelombang minimum sekitar 267,5 nm sebagai titik B. Minimum lainnya sekitar 276,5 nm sebagai titik D dan tertinggi maksimum sekitar 272 nm sebagai titik C.

Siapkan larutan asam benzoat dalam eter yang mengandung 20, 40, 60, 80,100 dan 120 mg/L. Tentukan absorbansi larutan-larutan ini dalam spektrofotometer pada titik B, C, dan D. Untuk setiap konsentrasi, rata-rata absorbansi pada pita D dikurangi dengan absorbansi pada pita C. Plot selisih terhadap konsentrasi untuk mendapatkan kurva standar.(Rybak-Chmielewska, 2003)

Preparasi Sampel, Campur sampel secara menyeluruh. Pindahkan 10 gram atau 10 mL ke dalam pemisah dan encerkan hingga 200 mL dengan larutan natrium klorida jenuh. Buat larutan yang benar-benar asam pada lakmus dengan asam klorida dan aduk rata.

Penentuan, Ekstraksi larutan yang telah disiapkan dengan 70, 50, 40, dan 30 mL dietil eter, kocok dengan baik untuk memastikan ekstraksi yang sempurna (hancurkan emulsi dengan cara didiamkan, diaduk, atau disentrifugasi). Tiriskan dan buang fase

air. Cuci ekstrak eter gabungan dengan 40 dan 30 mL bagian asam klorida (1+1000) dan buang pencucian asam klorida (jika ekstraksi tidak memerlukan pemurnian, lanjutkan ke paragraf berikutnya). Ekstraksi larutan eter dengan 50, 40, 30, dan 20 mL amonium hidroksida 0,1% dan buang eter. Netralkan ekstrak amonium hidroksida gabungan dengan asam klorida dan tambahkan 1 mL berlebih. Ekstrak larutan yang telah diasamkan dengan 70, 50, 40, dan 30 mL eter.

Encerkan ekstrak eter gabungan hingga 200 mL dengan eter dan tentukan absorbansi dalam sel yang ditutup rapat dalam spektrofotometer pada panjang gelombang B, C dan D, encerkan dengan eter jika perlu untuk mendapatkan konsentrasi optimal 20-120 mg/L. Rata-rata absorbansi pada B dan D, kurangi nilai ini dengan absorbansi pada C. Tentukan konsentrasi asam benzoat dari kurva standar yang telah dikoreksi untuk pengenceran.

2. p-Hidroksi Benzoat
 - a. Metode Kualitatif

Tes ini diterapkan pada garam amonium netral dari asam para-hidroksi benzoat. Ekstrak asam 4-hidroksi (para) benzoat dari makanan yang diasamkan dengan eter dan buang pelarutnya. Larutkan residu dalam beberapa tetes larutan amonium hidroksida encer dalam tabung reaksi. Tambahkan beberapa tetes pereaksi Millon (larutkan 3 mL merkuri dalam 27 mL asam nitrat berasap dingin dan encerkan dengan volume air yang sama). Keberadaan asam 4-hidroksi benzoat ditunjukkan dengan warna merah jambu. Banyak zat aromatik dengan gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena memberikan warna merah (misalnya, asam salisilat memberikan warna merah jingga dengan pereaksi Millon). Tes ini tidak dapat dianggap spesifik untuk asam 4-hidroksil benzoat.

Namun, asam salisilat dapat dibedakan dengan warna ungu pekat yang diberikan dengan besi klorida.

b. Metode Kuantitatif

Prinsip, Ester asam 4-hidroksi benzoat yang ada dalam sampel dihidrolisis menggunakan alkali dan diekstraksi dengan dietil eter setelah pengasaman sampel. Setelah ekstraksi ulang dengan natrium hidroksida dari eter, warna dikembangkan dengan pereaksi Denige dan serapan dibaca pada 518 nm

Prosedur, Untuk 2 gram sampel, tambahkan 60 mL air pada suhu 50°C dan sesuaikan pH hingga 7,5 dengan natrium hidroksida (larutan 5%). Panaskan pada suhu 50°C selama 30 menit sambil sesekali diaduk. Tambahkan 2 mL kalium ferrosianida dan aduk rata. Tambahkan 2 mL seng sulfat, campur dan encerkan hingga 100 mL dengan air dan sisihkan selama 30 menit. Saring, ambil 50 mL hasil saringan dan tambahkan 1 mL asam sulfat encer. Ekstrak dengan 3 x 50 mL bagian dietil eter. Cuci ekstrak eter gabungan dengan air (3 x 5 mL/30 detik), tambahkan setetes fenolftalein dan kocok dengan 3 mL larutan natrium hidroksida 0,25M. Cuci dengan 3 mL air dan gabungkan ekstrak alkali, hilangkan sisa-sisa eter pada penangas air panas dan buat hingga volume (10 mL).

Ambil 5 mL larutan dan tambahkan 5 mL reagen Denige. Panaskan dalam penangas air mendidih selama 5 menit. Dinginkan, tambahkan 5 tetes larutan natrium nitrit 2% dan diamkan selama 45 menit. Ukur absorbansi warna merah muda pada 518 nm.

Larutkan 50, 100, 200, 400 dan 600 mg ester dalam 3 mL natrium hidroksida 0,25N, buat hingga 5 mL dengan air dan lakukan metode di atas mulai dari penambahan 5 mL reagen Denige untuk menyiapkan grafik kalibrasi dan menentukan konsentrasi.

D. Antioksidan

Antioksidan ditambahkan ke dalam minyak dan lemak untuk mencegah ketengikan oksidatif. Etil, propil, oktil dan dodesil galat, butil hidroksianisol (BHA), butil hidrokuinon tersier (TBHQ) dan resin guaat, asam askorbat, tokoferol diizinkan berdasarkan FSS, Aturan dan Regulasi, 2011. (FSSAI, 2016)

Mekanisme reaksi oksidatif yang menyebabkan penurunan kualitas makanan olahan adalah mekanisme yang sama dengan yang dijelaskan untuk oksidasi lipid dalam kimia umum. Oksidasi lipid merupakan proses multifaktorial yang terdiri dari beberapa langkah, dan dalam makanan, variabel yang tercakup di dalamnya meliputi kerentanan asam lemak, struktur molekul lipid, keadaan fisik lipid, reaksi inisiasi, katalis penguraian hidropersida (ROOH) (mis. logam), keberadaan lipid teroksidasi, dan jumlah serta selektivitas antioksidan yang ada. Pembaca yang tertarik dengan diskusi rinci tentang kimia oksidasi dapat merujuk pada buku terbaru oleh Frankel (1998) yang memberikan presentasi yang sangat baik tentang berbagai aspek bidang oksidasi lipid. (Mathias, 2022).

1. Metode Kualitatif

a. Propil Galat (PG)

Timbang sekitar 30 gram lemak atau minyak, larutkan dalam sekitar 60 mL petroleum eter dan pindahkan ke pemisah 250 mL. Tambahkan 15 mL air dan kocok perlahan selama 1 menit. Biarkan lapisan-lapisan terpisah dan tiriskan fase air ke dalam pemisah 125 mL, sisakan emulsi dalam fase organik. Ulangi ekstraksi petroleum eter dengan dua bagian tambahan 15 mL air dan simpan fase organik untuk ekstraksi lebih lanjut dengan asetonitril. Tambahkan 15 mL petroleum eter ke dalam ekstrak air dan kocok selama 1 menit. Buang fase air dan evaporasi pelarut hingga kering dalam gelas kimia kecil. Tambahkan 4 mL alkohol 50% ke residu, aduk dan tambahkan 1 mL NH₄OH. Jika larutan berubah menjadi

warna merah muda, berarti ada PG (warna tidak stabil dan memudar setelah beberapa menit)

b. Asam Nordihidroguaiaretat (NDGA)

Ekstrak larutan petroleum eter dengan mengocok selama 2 menit dengan 20 ml asetonitril. Biarkan lapisan-lapisan terpisah dan tiriskan asetonitril ke dalam pemisah 1 L. Ulangi ekstraksi dengan 2 bagian tambahan 30 ml asetonitril dan buang fase petroleum eter. Encerkan ekstrak asetonitril gabungan dengan 400 ml air, tambahkan 2-3 gram natrium klorida dan kocok selama 2 menit dengan 20 ml petroleum eter. Biarkan lapisan terpisah, tiriskan lapisan asetonitril encer ke dalam corong pemisah 1000 ml kedua. Ekstrak lapisan asetonitril encer dengan dua bagian tambahan 20 ml petroleum eter dan simpan larutan asetonitril encer untuk ekstraksi lebih lanjut. Campurkan ekstrak petroleum eter dalam gelas kimia 100 ml dan sisihkan untuk uji BHA dan BHT. Tambahkan 50 ml eter + petroleum eter (1+1) ke dalam asetonitril encer dari (b) dan kocok selama 2 menit. Biarkan lapisan-lapisannya terpisah, buang asetonitril dan evaporasi pelarutnya hingga kering dalam gelas kimia kecil. Tambahkan 4 ml alkohol 50%, aduk lalu tambahkan 1 ml larutan Barium hidroksida 1% dan aduk. Jika ada NDGA, larutan akan berubah menjadi biru dan memudar dengan cepat.

c. Butylated Hydroxyanisole (BHA)

Ambil 1/3 larutan petroleum eter gabungan yang disediakan untuk uji BHA dan BHT dan evaporasi hingga kering, dengan menggunakan panas yang lembut, di bawah aliran udara. Tambahkan 2,5 mL alkohol untuk melarutkan residu dan encerkan dengan 2,5 mL air. Aduk, tambahkan 1 mL reagen Ehrlich diikuti dengan 1 mL natrium hidroksida 1N dan aduk kembali. Jika larutan berubah merah ungu, ada BHA.

d. Butylated hydroxytoluene (BHT)

Masukkan sisa 2/3 gabungan petroleum eter melalui kolom florisil dan elusi dengan 150 mL petroleum eter. Kumpulkan eluat dalam gelas kimia 200 mL dan evaporasi hingga kering. Tambahkan 2,5 mL alkohol dan encerkan hingga 5 mL dengan air dan aduk. Tambahkan 2 mL larutan dianisidin dan aduk. Tambahkan 0,8 mL larutan natrium nitrit 0,3% (Natrium nitrit), aduk dan diamkan selama 5 menit, lalu pindahkan ke pemisah kecil. Tambahkan 0,5 mL kloroform (CHCl_3) & kocok kuat-kuat selama 30 detik dan biarkan lapisan-lapisannya terpisah. Jika lapisan kloroform berubah menjadi merah muda hingga merah. Ada BHT. Konfirmasikan BHT dengan membandingkan kurva spektrofotometri ekstrak kloroform berwarna yang diperoleh dari standar referensi BHT dengan melarutkan sekitar 15 mg dalam 5 mL alkohol berair (1+1) dan 2 mL dianisidin.

2. Metode Kuantitatif

a. Penentuan Propil Galat dengan Metode Spektrofotometri

Prinsip, Minyak atau lemak leleh dilarutkan dalam petroleum eter dan diekstraksi dengan larutan amonium asetat dan air. Ekstrak gabungan diperlakukan dengan ferrous tartrate dan absorbansi larutan berwarna dibaca pada 540 nm. Jumlah PG yang ada di dalam sampel dihitung dari grafik kalibrasi.

Pembuatan Kurva Baku, Tempatkan 7 alikuot larutan standar mulai dari 50 hingga 1000 μg dalam labu Erlenmeyer 50 mL. Tambahkan 2,5 mL NH_4OAc 10% ke dalam setiap labu, encerkan hingga 24 mL dengan air dan pipet 1 mL larutan besi tartrat ke dalam setiap labu. Diamkan larutan selama 3 menit Ukur absorbansi pada 540 nm terhadap larutan yang mengandung 20 mL larutan amonium asetat 1,25%, 4 mL air, dan 1 mL larutan besi tartrat. Plot kurva kalibrasi.

Prosedur, Larutkan 40 gram lemak atau minyak ke dalam reagen petroleum eter dan encerkan hingga 250 mL dengan reagen (mungkin diperlukan pemanasan perlahan untuk mendapatkan larutan yang lengkap). Pipet 100 mL larutan lemak ke dalam pemisah 250 mL. Ekstrak dengan 20 mL larutan amonium asetat 1,67% dengan pengocokan perlahan selama 2,5 menit. Biarkan lapisan-lapisan tersebut terpisah dan tiriskan lapisan berair ke dalam labu ukur 100 mL (beberapa pemendekan menunjukkan kecenderungan yang kuat untuk teremulsi selama ekstraksi air). Untuk mencegah emulsifikasi, tambahkan 2 mL n-oktanol ke dalam larutan lemak sebelum memulai ekstraksi dan gunakan larutan amonium asetat 1,67% dalam alkohol 5% untuk ekstraksi sebagai pengganti larutan air. Prosedur ini hanya digunakan jika metode biasa gagal. Ulangi ekstraksi dua kali dengan 20 mL larutan amonium asetat dan kumpulkan dalam labu ukur.

Terakhir, ekstrak larutan lemak dengan 15 mL air selama 30 detik dan gabungkan lapisan air. Tambahkan 2,5 mL larutan NH_4OAC 10% ke dalam ekstrak gabungan dan encerkan hingga volumenya sama dengan air. **Saring** melalui kertas saring (No. 4) untuk menghilangkan kekeruhan dan mengembangkan warna pada hari yang sama saat ekstrak disiapkan.

Pipet alikuot ekstrak (sekitar 20 mL) ke dalam labu Erlenmeyer 50 mL. Encerkan hingga 20 mL dengan larutan amonium asetat 1,25%. Tambahkan tepat 4 mL air dan pipet 1 mL larutan ferrous tartrate. Aduk rata dan **ukur** absorbansi pada 540 nm terhadap larutan yang mengandung 1,25% larutan NH_4OAC , 4 mL air dan 1 mL larutan besi tartrat. Hitung jumlah propil galat dari kurva kalibrasi.

b. Penentuan Butylated hydroxyanisole (BHA) dengan Metode Spektrofotometri

Prinsip, BHA diekstrak dari minyak atau sampel lemak yang dilelehkan dengan metanol 95%. Ekstrak memberikan warna dengan reagen Gibb yang memiliki penyerapan maksimum pada 610 nm.

Prosedur, Kocok kuat-kuat 10 gram sampel cairan hangat atau lemak yang meleleh dengan 25 mL metanol 95% selama satu menit di dalam tabung sentrifus. Tempatkan dalam penangas air pada suhu 40-50°C dan biarkan terpisah selama sekitar 15 menit Tuang lapisan atas ke dalam labu ukur 50 mL yang telah dikalibrasi, ulangi ekstraksi dengan 20 mL metanol 95%, pindahkan lapisan atas ke dalam labu ukur dan encerkan hingga tanda. Tambahkan satu gram kalsium karbonat, kocok dan saring melalui kertas (Whatman No.1 atau yang setara) dan buang beberapa mL filtrat pertama. Jumlah kalsium karbonat tidak terlalu penting tetapi harus cukup untuk memastikan filtrat yang jernih. Untuk 2 mL ekstrak ini, tambahkan 2 mL metanol 95%, 8 mL larutan boraks, dan 2 mL reagen Gibb. Setelah 15 menit, encerkan hingga 20 mL dengan n-butanol. Siapkan blanko dan standar menggunakan larutan BHA 25 mg/L. Baca absorbansi pada 610 nm dan hitung jumlah BHA yang ada dalam sampel dari absorbansi sampel dan standar.

DAFTAR PUSTAKA

- FSSAI, I. (2016) 'Manual of Methods of Analysis of Foods Water Food Safety and Standards Authority of India', *Pesticide residue*, p. 18.
- Mathias, D. (2022) Flavor Enhancers, Fit and Healthy from 1 to 100 with Nutrition and Exercise. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-662-65961-8_33.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M. and Kriz, G.S. (2001) Ultraviolet Spectroscopy. Third, Brooks/Cole Thomson Learning. Third. Edited by J. Vondeling. Singapore: Thomson Learning. Available at: <https://doi.org/10.1520/stp37187s>.
- Rybak-Chmielewska, H. (2003) 'Honey', Chemical and Functional Properties of Food Saccharides, 1(Volume 1), pp. 73–80. Available at: <https://doi.org/10.7591/cornell/9781501766534.003.0007>.
- Wood, R. et al. (2004) 'Analytical Methods for Food Additives', Analytical Methods for Food Additives, (January 2004), pp. 1–258. Available at: <https://doi.org/10.1533/9781855737723>.

BAB

12

ANALISIS BORAKS

apt Tri Minarsih, S.Si, M.Sc

A. Pendahuluan

Boraks merupakan nama lain dari *Natrium Tetraborat*, mempunyai rumus kimia $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$. Boraks merupakan turunan dari asam borat (H_3BO_3). Boraks mempunyai sifat fisik antara lain: berbentuk kristal bening, tidak berwarna atau padatan, putih; tidak berbau. Cairan bersifat alkali terhadap *fenolftalein*. Larut dalam air; mudah larut dalam air suhu 100°C serta dalam gliserin; tidak larut dalam etanol (Kemenkes RI, 2020)

Natrium Tetraborat adalah turunan dari asam borat sehingga dilarang digunakan pada bahan tambahan pangan Sebuah studi menyebutkan kadar normal boron pada manusia, rata-rata adalah sebagai berikut: kadar dalam darah $241 \mu\text{g B/L}$ dan dalam urin $1130 \mu\text{g B/L}$; dan, kadar yang berbeda dalam jaringan berkisar $0,06$ hingga $1,2 \text{ mg B/kg}$ (Hadrup, Frederiksen and Sharma, 2021). Boraks dapat memberikan efek yang berbahaya terhadap kesehatan, jika terpapar di dalam tubuh dengan konsentrasi yang besar . Efek tersebut antara lain: gangguan pada fungsi hati, sistem kardiovaskular, sistem saraf pusat, sistem saraf tepi, sistem hematologi, sistem saluran kemih (ginjal, ureter, kandung kemih), dan endokrin (Nurlailia, Sulistyorini and Puspikawati, 2021) Tanda-tanda yang pertama muncul pada keracunan boraks dapat terjadi dalam beberapa jam sampai seminggu sesudah menggunakan atau kontak dalam dosis yang menyebabkan keracunan. Menurut WHO dosis

toksik boraks antara 3-6 gram dalam satu hari untuk anak-anak dan bayi, sedangkan untuk dewasa sebesar 15-20 gram per hari dapat mengakibatkan kematian (Hadrup, Frederiksen and Sharma, 2021). Gejala klinis seseorang keracunan boraks biasanya dapat ditandai dengan beberapa hal seperti mengalami sakit perut bagian atas, sakit kepala, muntah dan mencret, muka terlihat pucat dan kadang kulit kebiruan serta sesak nafas, mengalami kegagalan sirkulasi darah dan tidak memiliki nafsu makan. Konsumsi makanan yang terdapat kandungan bahan tambahan pangan boraks dalam kadar yang banyak dan kontinu sangat berbahaya untuk kesehatan tubuh karena bisa mengakibatkan beberapa penyakit antara lain: demam, anuria atau tidak terbentuknya air seni, kegagalan ginjal dan sistem saraf pusat, anemia, sianosis, koma sampai dapat mengakibatkan kematian (Saparinto C et al, 2006)

Di Indonesia penyalahgunaan boraks pada makanan masih banyak dijumpai sampai saat ini. Berliana dkk, tahun 2021, melakukan studi literatur tentang penggunaan *Natrium Tetraborat* serta *formaldehid* di makanan. Hasil dari studi literatur tsb adalah dari 17 artikel yang diteliti, 10 artikel menyatakan bahwa sampel makanan yang dianalisis masih menggunakan Boraks (Berliana *et al.*, 2021). Jenis makanan di Indonesia yang mengandung boraks antara lain pada bakso, kerupuk serta tahu. Penyalahgunaan boraks dan asam borat di dalam makanan, juga banyak terdapat di negara yang lain. Pada produk makanan di Malaysia, asam borat dan turunannya telah digunakan dalam berbagai produk mi dan makanan olahan berbahan dasar makanan laut . Di Cina, asam borat telah ditambahkan pada produk kedelai, produk beras, produk akuatik dan produk makanan kering. Di Amerika, asam borat telah lama digunakan dalam produk kaviar dan aprikot kering (Ermawati *et al.*, 2021)

B. Analisis Kualitatif

Tujuan dilaksanakan pemeriksaan kualitatif adalah untuk menentukan apakah makanan yang diperiksa positif mengandung boraks atau negatif. Metode analisis kualitatif yang dilakukan pada analisis boraks terdiri dari:

1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis merupakan pengujian pendahuluan yang digunakan untuk melakukan *screening* awal pada sampel yang dianalisis, yaitu meliputi bentuk, warna maupun rasa dari sampel. Uji organoleptis adanya *Natrium Tetraborat* di dalam makanan, tergantung dari jenis makanannya. Uji organoleptis terdiri dari bentuk, warna maupun rasa dari sampel yang dianalisis.

2. Reaksi dengan Kertas Lakmus dan Reaksi Nyala

Berdasarkan FI ed VI, metode analisis kualitatif yang digunakan adalah menggunakan reaksi warna dan reaksi nyala, prosedur resminya adalah sebagai berikut:

- a. 1 mL larutan borat dibuat menjadi pH <7 dengan *asam hidroklorida P* sampai bereaksi asam dengan lakmus. Diteteskan ke dalamnya larutan jenuh *iodum LP sebanyak tiga atau empat tetes* serta tiga atau empat tetes larutan *polivinil alkohol P* (1 dalam 50); terjadi warna biru intensif.
- b. Ditambahkan *asam sulfat P* dan *metanol P*, dihomogenkan, setelah itu dibakar: terbentuk nyala api bertepi hijau. (Kemenkes RI, 2020)

3. Reaksi dengan *Curcumin*








Prinsip analisis kualitatif sampel makanan yang mengandung boraks dengan *curcumin* adalah terjadinya reaksi antara boraks dengan *curcumin* membentuk senyawa kompleks *rosocyanine*. *Curcumin* sangat sensitif terhadap perubahan pH karena dapat menyebabkan pembentukan struktur. Perubahan warna kunyit kertas yang berwarna kuning menjadi kemerahan, menjadi alasan digunakannya *curcumin* sebagai bahan indikator alami untuk mendeteksi adanya boraks dalam sampel, sehingga dapat dijadikan metode alternatif analisis kualitatif boraks. *Curcumin* yang

dikenal sebagai bentuk keluarga *curcuminoid* yang paling aktif secara biologis dalam kunyit, dapat membentuk kompleks molekul dengan berbagai macam spesies bermuatan, termasuk boraks, yang cenderung menggunakannya sebagai bahan alami indikator. (Yulianita Pratiwi Indah Lestari and Ramadani, 2022)

Curcumin yang digunakan untuk analisis kualitatif boraks di dalam sampel makanan, tersedia di dalam 2 bentuk, yaitu *test kit* serta kertas tumerik. Penelitian yang dilakukan Nurlaila Arulita dkk, 2021, melakukan analisis kualitatif dengan menggunakan test kit Metode *Test Kit* Boraks adalah metode analisis untuk identifikasi boraks dengan melihat perbedaan warna yang terjadi pada *test strips* sesudah dimasukkan pada sampel makanan dari kuning menjadi merah kecoklatan pada sampel makanan yang terdeteksi dipastikan mengandung boraks. *Test kit* yang digunakan mengandung *curcumin* dan warna coklat kemerahan merupakan hasil reaksi antara asam borat dan *curcumin* (Nurlailia, Sulistyorini and Puspikawati, 2021).

Hasil analisis kualitatif boraks dan *curcumin* dengan *test kit* tersaji pada tabel 12.1

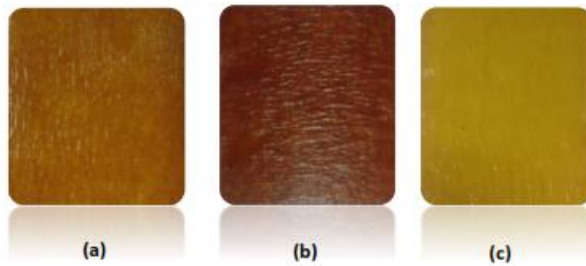
Tabel 12.1. Hasil analisis kualitatif boraks di dalam sampel makanan dengan metode *test kit*

No.	Sampel Uji	Warna <i>Test Strips</i>	Keterangan Hasil Pengujian	Gambar Hasil Uji
1.	Kerupuk 1	Berubah	Positif boraks	
2.	Kerupuk 2	Tidak berubah	Negatif boraks	
3.	Pentol 1	Berubah	Positif boraks	
4.	Pentol 2	Berubah	Positif boraks	
5.	Pentol 3	Berubah	Positif boraks	
6.	Pentol 4	Berubah	Postif boraks	
7.	Pentol 5	Berubah	Positif boraks	

Selain dalam bentuk test kit, analisis kualitatif boraks dengan *curcumin*, juga dapat dilakukan dengan menggunakan kertas tumerik. seperti penelitian yang dilakukan Agnes juwita dkk, 2021, serta Dedy suseno, 2019.

Cara membuat kertas tumerik adalah sebagai berikut: Dipisahkan kunyit dari kulitnya, dibersihkan diparut, diperas sari yang dihasilkan. Kemudian dimasukkan ke dalamnya 10 % alcohol 70% dan dihomogenkan. Disiapkan kertas saring, gunting persegi sebanyak 2 lembar ukuran 8x8 cm dan dimasukkan dalam air kunyit, bolak-balik dengan memakai pinset sampai homogen. Setelah itu dikeringkan dengan diangin-anginkan, kertas tumerik yang sudah kering diperkecil ukurannya menjadi ukuran 1x4 cm diletakkan dalam tempat tertutup dan siap dipakai. (Juwita, Yulianis

and Sanuddin, 2021). Hasil analisis kualitatif boraks dengan kertas tumerik berupa warna merah kecoklatan dan dapat dilihat pada gambar 12.1



Gambar 12.1. Hasil uji analisis kualitatif dengan kertas tumerik (a). Kontrol positif, (b) standar boraks 3000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, (c) kontrol negatif

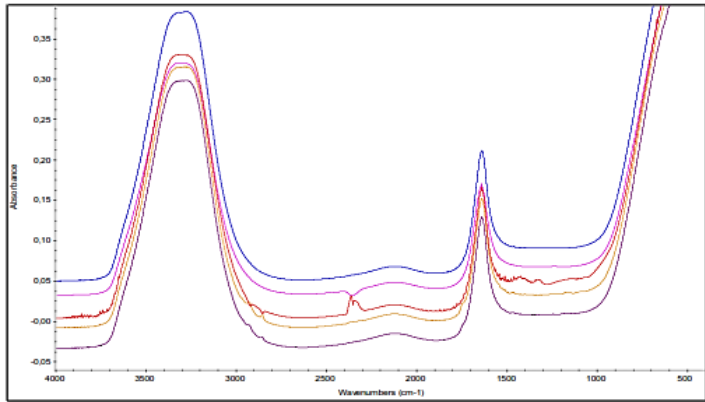
4. Spektrofotometri FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*)

Spektrofotometri FT-IR merupakan metode analisis berdasarkan adanya interaksi sampel dengan Radiasi Elektromagnetik (REM). Radiasi inframerah terdiri dari beberapa rentang frekuensi tetapi tidak bisa diamati oleh mata. Pemeriksaan pada spektrum inframerah dikerjakan pada daerah cahaya inframerah tengah (*mid-infrared*) yaitu pada panjang gelombang 2.5 - 50 μm^{-1} Energi yang diperoleh pada radiasi ini akan menyebabkan vibrasi atau getaran pada molekul. atau bilangan gelombang 4000 - 200 cm^{-1} Pita serapan infra merah berbeda- beda untuk setiap tipe ikatan kimia atau gugus fungsi. Metode ini sangat bermanfaat untuk menentukan jenis senyawa organik dan organometalik (Hardjono, 2018)

Penelitian Dedy Suseno (2019), menggunakan Spektrofotometri FTIR untuk melakukan analisis kualitatif boraks. Prosedur analisis Analisis dilaksanakan pada scan 32 resolusi 4 dan memakai bilangan gelombang 4000 sampai 500 cm^{-1} Hasil spektrum yang diperoleh akan dianalogikan dengan spektrum $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ pada konsentrasi 105

$\mu\text{g/mL}$, $8 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$, $6 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$, $4 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$, dan $2 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$ (Suseno, 2019).

Metode spektrofotometri FT-IR mempunyai sisi positif antara lain adanya data *library* senyawa termasuk boraks, jika berinteraksi dengan air akan berubah menghasilkan NaOH dan asam borat. Pada pemeriksaan boraks dengan alat FT-IR spektrometer maka akan diamati adanya spektrum pada daerah sidik jari yang memperlihatkan adanya ikatan kimia antara Boron (B) dengan senyawa yang lainnya. Hasil analisis dengan metode spektrofotometri FT-IR ini dapat dilihat pada gambar 12.2



Gambar 12.2. Spektrum sampel bakso dan boraks; garis biru (K-), garis merah muda (air), garis merah (boraks $4 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$), garis kuning (B1), garis ungu (K+)

Hasil dari analisis kualitatif boraks dengan metode spektrofotometri FT-IR memperlihatkan bahwa metode Spektrofotometri FT-IR yang digunakan tidak dapat mendeteksi boraks dengan konsentrasi lebih rendah dari $4 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$. Hal ini bisa disimpulkan karena spektrum boraks dengan konsentrasi $2 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ dan spektrum air mempunyai bentuk yang sama. Jika dibandingkan dengan LOD instrumen yang dapat menganalisis kadar boraks terendah $2 \times 10^{-4} \mu\text{g/mL}$ maka waktu mengamati spektrum

sampel bakso B1 maupun sampel bakso kontrol positif, spektrumnya sama dengan spektrum air. Hal ini disebabkan kadar sampel bakso B1 dan sampel bakso kontrol positif dibawah $2 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$ yaitu sebesar $2414.375 \mu\text{g/mL}$ dan $3261.875 \mu\text{g/mL}$.

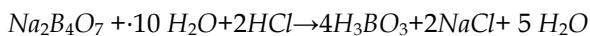
C. Analisis Kuantitatif

Analisis kuantitatif merupakan metode analisis yang dilakukan untuk menetapkan konsentrasi boraks pada sampel makanan. Metode analisis kuantitatif boraks pada sampel makanan terdiri dari:

1. *Acidimetri*

Di dalam Farmakope Indonesia Edisi VI metode analisis yang digunakan untuk menetapkan kadar boraks adalah *acidimetri*. Dengan prosedur sebagai berikut: Timbang saksama lebih kurang 3 g zat, dilarutkan dalam 50 mL air, tambahkan *merah metil LP*, titrasi dengan *asam hidroklorida 1 N LV*. [Catatan Pemanasan di atas tangas uap mungkin diperlukan untuk menambah kelarutan.] Tiap mL asam hidroklorida 0,5 N setara dengan 95,34 mg $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

Prinsip dari metode *acidimetri* adalah, reaksi netralisasi antara boraks yang bersifat basa, dengan asam klorida yang bersifat asam. Reaksi kimia yang terjadi adalah sebagai berikut:



Metode *acidimetri* adalah salah satu metode volumetri/titrimetri. Metode ini masih digunakan secara luas karena merupakan metode yang tahan, murah dan mampu memberikan ketepatan (presisi) yang tinggi. Kekurangan dari metode ini adalah bahwa metode titrimetri adalah kurang spesifik (Ganjar, 2010)

2. *Spektrofotometri UV-Vis*

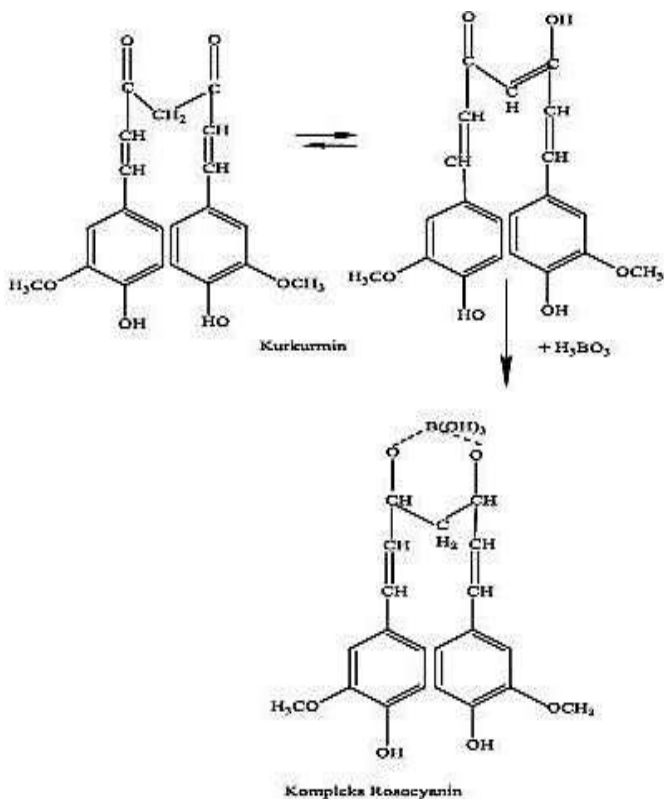
Metode spektrofotometri UV-Vis banyak digunakan untuk melakukan analisis kuantitatif suatu senyawa. Prinsip analisis kuantitatif dengan metode spektrofotometri UV-Vis adalah adanya berkas radiasi yang dikenakan pada larutan

sampel, dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan akan diukur besarnya, dalam bentuk Serapan (A) atau Transmittannya (T) (Ganjar, 2010)

Kelebihan metode spektrofotometri UV-Vis adalah mempunyai sensitivitas dan presisi yang tinggi, panjang gelombang yang luas, bisa digunakan untuk daerah ultraviolet maupun sinar tampak, peralatan yang sederhana dan mudah pengoperasian.

Syarat sampel dapat dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis, *sampel* harus memiliki gugus kromofor. *Natrium Tetraborat* tidak memiliki gugus kromofor, sehingga agar dapat dianalisis dengan metode Spektrofotometri UV-Vis harus direaksikan terlebih dahulu dengan senyawa yang mempunyai gugus kromofor. Juwita dkk dan Dedy suseno, melakukan analisis kuantitatif boraks pada sampel makanan dengan mereaksikan sampel dengan curcumin terlebih dahulu. Sampel direaksikan dengan curcumin, karena curcumin mempunyai gugus kromofor, membentuk senyawa kompleks dengan boraks sehingga dapat dianalisis dengan metode spektrofotometri UV-Vis(Suseno, 2019).

Sebelum direaksikan dengan *curcumin*, boraks direaksikan dengan asam kuat terlebih dahulu. Oleh asam kuat, boraks terurai dari ikatan-ikatannya menjadi asam borat dan diikat oleh *curcumin* membentuk kompleks Reaksi antara asam borat dan *curcumin* menghasilkan kompleks boron tetraedrik (*rosocyanine*). Reaksi kimia yang terjadi dapat dilihat pada gambar 1(Juwita, Yulianis and Sanuddin, 2021)



Gambar 12.3. Reaksi antara asam borat dan *curcumin*

Prosedur analisis boraks dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan Larutan baku boraks dengan rentang konsentrasi 10 - 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Tiap kadar larutan ditambahkan ke dalam cawan porselin, ditambah 2 mL larutan NaOH 10 % lalu dinaikkan suhunya pada penangas air sehingga *sampelnya* menjadi kering. Suhu terus ditingkatkan dilanjutkan menggunakan oven pada suhu 100°C selama 5 menit, diturunkan suhunya , selanjutnya dimasukkan 2 ml pereaksi *curcumin* 0,125% dipanaskan selama 5 menit, didinginkan, selanjutnya dimasukkan 2 mL pereaksi sulfat: asetat (1:1) sambil dihomogenkan menggunakan batang pengaduk. Didiamkan selama 15 menit, ditambahkan etanol selanjutnya disaring menggunakan

kertas saring, ditambahkan dalam labu ukur 10 ml dan ditepatkan dengan etanol sampai tanda batas (Suseno, 2019).

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Dedy suseno (2019) didapatkan panjang gelombang maksimal 428 nm, sedangkan penelitian oleh Agnes juwita dkk (2021) didapatkan panjang gelombang maksimal 415,5 nm. Hal ini dikarenakan senyawa kompleks yang dihasilkan dari reaksi kompleks antara *sampel* yang mengandung boraks dengan pereaksi *curcumin* adalah adalah merah jingga dan merah *cery*. Hasil tersebut sedikit bergeser dari panjang gelombang maksimal yang ada pada kajian teoritis . Berdasarkan kajian teoritis yang ada, panjang gelombang maksimal untuk senyawa kompleks yang berwarna merah dan jingga seharusnya berada pada kisaran 450 nm – 500 nm. Beberapa hal yang menyebabkan ketidaksesuaian ini adalah konsentrasi sampel, pH sampel, suhu, sampel, efek pelarut, efek halangan ruang dan efek konjugasi(Hardjono, 2018).

3. *Liquid chromatography- Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LC-ICP-MS)*

Chien Viet Dinh dkk melakukan analisis kuantitatif kandungan boraks dan polifosfat di dalam sampel makanan menggunakan metode Kromatografi Cair dengan detektor ICP-MS(Dinh Viet *et al.*, 2021).

Sampel dipisahkan menggunakan *Shodex* kolom penukar anion (4.6 mm internal diameter, 100 mm) dengan fase gerak asam nitrat 18 mM (A) dan asam sulfat 18 mM (B), keduanya mengandung 0.05 Mm *EDTA*, dengan laju alir 0.85 mL / menit. Sistem laju alir yang digunakan adalah elusi bertingkat, fase gerak A awal datur 80%, kemudian menurun 20% untuk 5 menit berikutnya Pada metode Kromatografi Cair ini menggunakan fase diam penukar anion, prinsip dari pemisahan dengan menggunakan kolom penukar anion adalah mengandung resin penukar anion, yang biasanya merupakan polimer yang memiliki gugus fungsional yang dapat menangkap dan melepaskan anion-anion dari larutan. Gugus fungsional pada resin penukar anion adalah

ammonium kuartener yang bermuatan negatif. Resin ini dirancang untuk menangkap ion-ion yang bermuatan positif dari larutan. Ketika larutan mengalir melalui kolom penukar anion, ion-ion yang bermuatan positif dalam larutan akan bertukar tempat dengan ion yang bermuatan negatif yang terikat pada resin. Ion-ion yang terikat pada resin akan masuk ke dalam larutan, sedangkan ion-ion yang ada dalam larutan akan terikat pada resin (Ganjar, 2010)

Fase gerak yang digunakan adalah asam nitrat dan asam sulfat, karena prinsip analisis dengan detektor ICP adalah karena sampel yang dianalisis yaitu boraks/ Natrium *Tetraborat* merupakan salah satu jenis logam. Dengan menggunakan fase gerak asam, maka akan stabilitas logam natrium akan terjaga, meningkatkan kelarutan dari sampel, mencegah adanya interferensi serta meningkatkan kepekaan detektor ICP yang digunakan. Sebelum dilakukan analisis di instrument, dilakukan optimasi dari jenis pelarut, pengaruh lama dan suhu ekstraksi. Pelarut yang digunakan pada proses optimasi antara lain: aqua yang sudah tidak mengandung ion, asam sulfat dan asam nitrat, sedangkan sampel ion yang digunakan adalah fosfat, pirofosfat dan tripolifosfat. Suhu optimasi yang digunakan adalah 30, 40, 50, 60, 70 dan 80 °C dengan waktu ekstraksi 15, 20, 25, 30 dan 40 menit. Hasil dari optimasi, diperoleh bahwa kondisi preparasi yang digunakan adalah menggunakan pelarut asam sulfat, dengan suhu 40 selama 30 menit, karena memberikan hasil konsentrasi borat dan polifosfat yang paling tinggi dan stabil.

Hasil analisis dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi ini adalah parameter validasi yang didapatkan memenuhi persyaratan AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) terkait dengan Presisi, akurasi, linearitas dengan batas deteksi dan batas kuantifikasi borat sebesar 2.5 and 7.5 mg/kg, sedangkan pirofosfat dan tripolifosfat sebesar 15 and 45 mg/kg

DAFTAR PUSTAKA

- Berliana, A. *et al.* (2021) 'Penggunaan Bahan Tambahan Makanan Berbahaya Boraks dan Formalin Dalam Makanan Jajanan', *Jurnal Sanitasi Lingkungan*, 1(2), pp. 64–71. doi: 10.36086/salink.v1i2.952.
- Dinh Viet, C. *et al.* (2021) 'Simultaneous determination of borax and polyphosphates content in food by liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry (LC-ICP-MS)', Heavy metals and arsenic concentrations in water, agricultural soil, and rice in Ngan Son district, Bac Kan province, Vietnam, 4(2), pp. 115–126. doi: 10.47866/2615-9252/vjfc.3788.
- Ermawati, F. U. *et al.* (2021) 'The performance of turmeric paper as an indicator of the borax content in Crackers', *Journal of Physics: Conference Series*, 2110(1). doi: 10.1088/1742-6596/2110/1/012014
- Ganjar, R. A. dan G. (2010) *Kimia Farmasi Analisis*. VI. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Hadrup, N., Frederiksen, M. and Sharma, A. K. (2021) 'Toxicity of boric acid, borax and other boron containing compounds: A review', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 121(June 2020), p. 104873. doi: 10.1016/j.yrtph.2021.104873.
- Hardjono, S. (2018) *Dasar - dasar Spektroskopi*. LPTIK Universitas Andalas.
- Juwita, A., Yulianis, Y. and Sanuddin, M. (2021) 'Uji Boraks pada Beberapa Kerupuk Mentah dari Pasar Tradisional Kota Jambi', *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(3), pp. 464–469. doi: 10.25026/jsk.v3i3.449.
- Kemenkes RI (2020) *Farmakope Indonesia edisi VI*, Kementerian Kesehatan RI Republik Indonesia.
- Nurlailia, A., Sulistyorini, L. and Puspikawati, S. I. (2021) 'Analisis Kualitatif Kandungan Boraks pada Makanan di Wilayah Kota

Banyuwangi', *Media Gizi Kesmas*, 10(2), p. 254. doi: 10.20473/mgk.v10i2.2021.254-260.

Saparinto C et al (2006) *Bahan tambahan pangan*. Yogyakarta: Kanisius.

Suseno, D. (2019) 'Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Kandungan Boraks Pada Bakso Menggunakan Kertas Tumerik, FT - IR Spektrometer dan Spektrofotometer Uv -Vis', *Indonesia Journal of Halal*, 2(1), p. 1. doi: 10.14710/halal.v2i1.4968.

Yulianita Pratiwi Indah Lestari, B. and Ramadani, R. (2022) 'Optimization of Solvent and Concentration of Turmeric (*Curcuma longa* Linn.) Extract for Strip-Test as Borax Detection Tool', *International Journal of Social Science (IJSS)*, 1(6), pp. 2798-4079.

BAB 13

ANALISIS RHODAMIN B

Atep Dian Supardan, S.Si., M.Si

A. Pendahuluan

Bahan pangan merupakan salah satu kebutuhan utama manusia yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perairan, peternakan, dan perikanan. Bahan pangan dikonsumsi oleh manusia melalui proses pengolahan atau tanpa diolah sebagai bahan makanan, bahan minuman, bahan tambahan pangan, dan bahan baku pangan. Menurut Undang-Undang Nomor 7 Tahun 1996, kualitas pangan yang dikonsumsi masyarakat harus memenuhi kriteria, antara lain aman, bergizi, bermutu, dan dapat terjangkau oleh daya beli masyarakat. Kriteria aman mencakup bebas dari cemaran biologis, mikrobiologis, kimia, logam berat, dan cemaran lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia. Jajanan merupakan jenis makanan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat terutama oleh anak-anak dan remaja. Oleh karena itu perlu adanya pengaturan keamanan pangan bagi masyarakat agar pangan atau makanan yang beredar aman dikonsumsi. Keamanan pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia, yang dimaksud membahayakan kesehatan seperti pangan yang mengandung

bahan yang dilarang digunakan dalam kegiatan proses produksi pangan seperti bahan tambahan pangan.

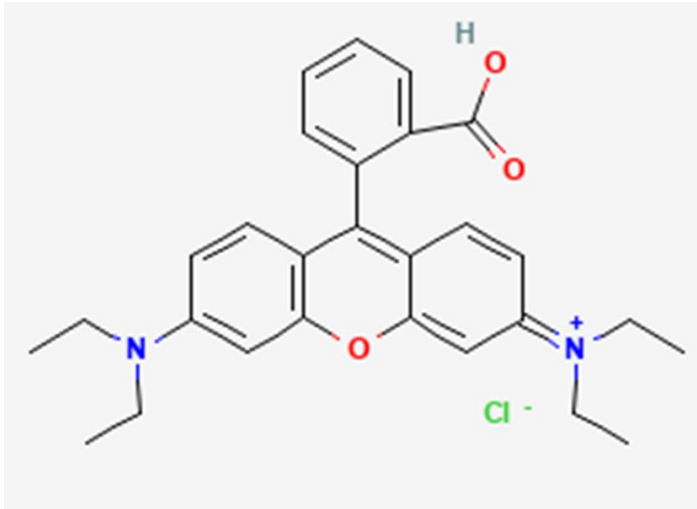
Bahan tambahan pangan merupakan bahan yang ditambahkan ke dalam bahan pangan dengan tujuan memodifikasi sifat atau bentuk pangan. Bahan tambahan pangan yang beredar di masyarakat diatur penggunaannya menurut Peraturan Menteri Kesehatan No. 239/Menkes Per/V/1985 dan Peraturan BPOM No 11 tahun 2009. Peraturan tersebut mengatur menentukan batasan penggunaan bahan tambahan pangan sehingga dalam peredarannya di masyarakat bahan tambahan pangan ada yang diijinkan dan juga ada yang dilarang penggunaannya dengan tujuan melindungi masyarakat. Bahan tambahan pangan tidak dapat dikonsumsi sebagai makanan. Salah satu bahan tambahan pangan yang dilarang penggunaannya adalah pewarna rhodamin B.

Rhodamin B merupakan salah satu pewarna sintetik yang memiliki afinitas kimia terhadap benda yang diwarnainya, sehingga ketika digunakan sebagai bahan tambahan pangan, rhodamin B akan memberikan warna merah yang terang pada bahan pangan seperti makanan, minuman ataupun kain. Hal inilah yang menjadikan bahan pangan yang telah diwarnai rhodamin B tampilannya menjadi lebih menarik. Selain itu penggunaan Rhodamin B juga memberikan keuntungan bagi produsen makanan, minuman, dan kosmetik karena harganya yang terjangkau.

B. Nama dan Rumus Kimia Rhodamin B

Rhodamin B termasuk pewarna kationik yang memiliki nama lain tetraethylrhodamine, C.I. Basic Violet 10, C.I. 749, C.I. 45170, C.I. Food Red 15, FD and C Red No. 19, Food Red 15, Rheonine B, Rhodamine O, Basic Violet 10, Brilliant Pink B, Acid brilliant pink B, Calcozine red bx, cogilor red 321.10, diethyl-m-aminophenolphthalein hydrochloride, edicol supra rose B, geranium lake n, dan symulex magenta f. Rhodamin B merupakan senyawa kimia dengan nama N-[9-(2-Carboxyphenyl)-6-(diethylamino)-3H-xanthen-3 ethyletha-

naminium chloride dengan rumus molekul $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ (Gambar 13.1) dan berat molekul 479.01 g/mol. Rhodamin B memiliki titik lebur sebesar 165°C , titik leleh 270°C , dan titik didih sebesar 310°C , Nomor CAS: 81-88-9 dan Nomor IMIS: 0848.



Gambar 13.1. Struktur kimia Rhodamin B

C. Warna dan Kelarutan Rhodamin B

Rhodamin B adalah zat warna sintetik berbentuk serbuk kristal hijau atau serbuk ungu kemerah-merahan. Rhodamin B berwarna merah keunguan dalam bentuk terlarut pada konsentrasi tinggi dan berwarna merah terang pada konsentrasi rendah. Rhodamin B sangat larut dalam air yang akan menghasilkan warna merah kebiru-biruan. Jika diencerkan akan berfluoresensi kuat. Rhodamin B juga merupakan zat yang larut dalam alkohol, sukar larut dalam eter dan dalam larutan alkali. Rhodamin B dengan asam yang kuat akan membentuk senyawa dengan kompleks antimon berwarna merah muda yang larut di dalam isopropil eter.

D. Aplikasi Rhodamin B

Rhodamin B dibuat dari senyawa meta-dietilaminofenol dan ftalik anhidrida yang termasuk golongan pewarna *xanthene* basa. Kedua bahan baku tersebut biasanya digunakan untuk

penelitian histologi dan kemudian berkembang untuk keperluan yang sifatnya yang dapat berfluoresensi di bawah sinar matahari sebagai pereaksi untuk identifikasi Pb, Bi, Co, Au, Mg, dan Th. Rhodamin B merupakan zat warna dari golongan pewarna kationik yang digunakan sebagai pewarna untuk kertas, wol, sutra, kulit, tekstil, kapas, serat kulit kayu, nilon, serat asetat, tinta, vernis, sabun, dan bulu. Rhodamin B banyak ditambahkan ke dalam bahan pangan, berikut merupakan bahan pangan yang ditambahkan rhodamin B sebagai pewarnanya antara lain mie lidi, kerupuk, cabai merah giling, bolu kukus, gula kapas merah, bumbu tabur, saos bakso tusuk, selai stroberi, kebab, saus mie ayam, kembang goyang, permen, paprika, lipstik, minuman ringan, minyak cabai dan sebagainya. Rhodamin B memiliki harga yang murah dan terjangkau, selain itu warna rhodamin sangat kuat, artinya sedikit saja rhodamin dilarutkan dalam air maka akan memberikan warna merah terang yang sangat kuat. Hal ini sangat disenangi oleh pedagang makanan kerupuk, agar-agar, kembang gula, sirup, saus, dan makanan yang memiliki warna-warna yang mencolok.

E. Efek Rhodamin B Terhadap Kesehatan

Sifat racun yang terdapat dalam Rhodamin B tidak hanya saja disebabkan oleh senyawa organiknya saja tetapi juga oleh senyawa anorganik yang terdapat dalam rhodamin B bahkan jika rhodamin B terkontaminasi oleh senyawa anorganik lain seperti timbal dan arsen, maka akan menjadikan pewarna ini berbahaya jika digunakan dalam makanan dan minuman. Di dalam rhodamin B terdapat ikatan dengan klorin (Cl) yang merupakan senyawa anorganik yang reaktif dan juga berbahaya. Reaksi untuk mengikat ion klorin digunakan Reaksi Friedl-Crafts untuk mensintesis zat warna seperti triarilmetana dan xentana. Reaksi antara ftalat anhidrida dengan resorsinol dengan keberadaan seng klorida menghasilkan fluoresein. Apabila resorsinol diganti dengan N,N-dietilaminofenol, reaksi ini akan menghasilkan rhodamin B. Selain terdapat ikatan rhodamin B dengan Klorin terdapat juga ikatan konjugasi dari

rhodamin B yang menyebabkan Rhodamin B bewarna merah. Ditemukannya bahaya yang sama antara rhodamin B dan klorin membuat adanya kesimpulan bahwa atom klorin yang terdapat pada Rhodamin B dapat menyebabkan efek toksik bila masuk ke dalam tubuh manusia. Atom Cl merupakan atom halogen yang bersifat reaktif, toksik, dan karsinogen. Sehingga apabila klorin tertelan ke dalam tubuh maka klorin akan mengikat senyawa lain supaya menjadi stabil namun kehadirannya dalam tubuh menjadi racun. Senyawa lain yang diikat tersebut tidak lagi berfungsi dengan baik sehingga kinerja tubuh tidak lagi optimal. Rhodamin B sendiri juga memiliki senyawa pengalkilasi (CH₃-CH₃) yang bersifat radikal sehingga dapat berikatan dengan protein, lemak dan DNA dalam tubuh.

Rhodamin B merupakan bahan tambahan pangan yang telah dilarang peredarannya. Penggunaan rhodamin B pada makanan dan minuman dalam waktu lama akan mengakibatkan kanker dan gangguan fungsi hati. Namun demikian, bila terpapar rhodamin B dalam jumlah besar maka dalam waktu singkat akan terjadi gejala akut keracunan rhodamin B. Konsumsi rhodamin B dalam jangka panjang dapat mengakibatkan terakumulasinya rhodamin B dalam tubuh dan menyebabkan gejala pembesaran hati dan ginjal, disfungsi hati, gangguan fisiologis tubuh, atau bahkan dapat menyebabkan kanker hati.

Apabila rhodamin B tersebut masuk melalui makanan dan minuman akan mengakibatkan iritasi pada saluran pencernaan dan mengakibatkan gejala keracunan dengan urin yang berwarna merah atau merah muda. Selain melalui makanan dan minuman, rhodamin B juga dapat mengakibatkan gangguan kesehatan, jika terhirup akan terjadi iritasi pada saluran pernafasan. Mata yang terkena rhodamin B juga akan mengalami iritasi yang ditandai dengan mata kemerahan dan timbunan cairan pada mata. Jika terpapar pada bibir dapat menyebabkan bibir akan pecah-pecah, kering, gatal, bahkan kulit bibir terkelupas. Bahaya yang timbul akibat mengkonsumsi makanan yang mengandung zat pewarna sintetis tidak dapat

secara langsung terjadi namun gangguan akan terasa setelah 10 atau 20 tahun.

Apabila rhodamin B masuk pembuluh darah melalui lesi, abrasi, atau luka akan menyebabkan kerusakan sistemik. Pada efek kronis, tampak sifat-sifat karsinogenik dan genotoksin. Efek genotoksin rhodamin B masih merupakan perdebatan karena penelitian yang mengungkapkan efek tersebut tidak dapat membuktikan kemurnian rhodamin B, sehingga masih bisa dispekulasi bahwa penyebab genotoksin dari Rhodamin B berasal dari ketidakmurnian zat itu, bukan dari keberadaan zat pewarna itu sendiri. Ketidakmurnian disebabkan dari proses produksi rhodamin B yang menggunakan asam sulfat atau asam nitrat yang tercemar oleh logam berat. Rhodamin B mempunyai efek karsinogenik pada hewan dengan rute pemberian zat lewat oral. Sebagai pewarna tekstil, Rhodamin B masih diperbolehkan karena tidak menimbulkan efek karsinogenik pada hewan dengan rute pemberian zat lewat dermal yaitu melalui pencetakan Rhodamin B pada kulit tikus.

Bahaya lain yang ditimbulkan akibat konsumsi rhodamin B adalah keberadaan logam berat yang juga terkandung dalam rhodamin B. Rhodamin B mengandung 13.0 ppm timbal (Pb) dan 1.4 ppm arsen (As). Timbal yang tertelan akan beredar mengikuti aliran darah menuju ginjal dan otak dan pada akhirnya akan tersimpan dalam tulang dan gigi. Timbal yang tertimbun dalam darah dapat melewati syaraf otak dan mengganggu metabolisme sel saraf melalui penghambatan respirasi mitokondria sel saraf. Hambatan ini dapat menyebabkan gangguan pada hipofisis dan hipotalamus sehingga mengganggu sekresi hormon penting pada siklus ovarium yaitu FSH dan LH. Zat warna rhodamin B akan diabsorpsi dari dalam saluran pencernaan makanan dan sebagian lagi akan mengalami metabolisme oleh mikroorganisme dalam usus. Dari saluran pencernaan dibawa langsung ke hati, melalui vena portal untuk ditransportasikan ke ginjal dan diekskresikan bersama urin. Senyawa tersebut dibawa dalam aliran darah sebagai molekul yang tersebar dan larut dalam plasma yang terikat dengan

protein dan serum atau sebagai molekul bebas tanpa mengandung eritrosit dan unsur pembentuk darah lain. Zat warna yang dimetabolisme dan dikonjugasi di hati dalam waktu yang lama akan dapat menyebabkan efek kronis yaitu kanker.

F. Pertolongan Pertama pada Keracunan Rhodamin B

Bila terhirup segera dipindahkan korban dari lokasi kejadian, pasang masker berkatup atau peralatan sejenis untuk melakukan pernafasan buatan. Bila terkena kulit segera lepaskan pakaian perhiasan dan sepatu penderita yang terkontaminasi rhodamin B. Cuci kulit dengan sabun menggunakan air mengalir sampai bersih dari Rhodamin b selama kurang lebih 20 menit. Apabila terkena mata, bilas dengan air mengalir, dan mata dikedip-kedipkan sampai dipastikan sisa Rhodamin b sudah bersih. Bila tertelan dan terjadi muntah, letakkan posisi kepala lebih rendah dari pinggul untuk mencegah terjadinya muntahan masuk ke dalam saluran pernafasan. bila korban tidak sadar, miringkan kepala ke samping atau ke satu sisi, dan segera hubungi dokter.

G. Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Rhodamin B

Analisis paling sederhana dan yang paling mudah dilakukan untuk menganalisis kandungan rhodamin B dalam makanan dan minuman adalah dengan melihat warnanya. Rhodamin memiliki warna yang merah terang, sehingga jika makanan dan minuman yang kita amati memiliki warna merah terang maka dapat diduga bahwa makanan atau minuman tersebut mengandung rhodamin B. tentu saja cara ini masih perlu didukung metode analisis secara kuantitatif untuk mempertegas keberadaan rhodamin B dalam makanan ataupun minuman. Analisis rhodamin secara kuantitatif dapat dilakukan menggunakan Kromatografi Kertas, kromatografi lapis tipis, Spektrofotometri UV-Vis, dan Kromatografi cair kinerja tinggi.

Bagi masyarakat umum menggunakan metode kuantitatif dirasakan sangat sulit, karena pengerjaannya memerlukan laboratorium, instrumen yang mahal dan rumit membutuhkan

serangkaian proses yang cukup panjang. Oleh karena itu diperlukan alat uji yang jauh lebih sederhana dan mudah dilakukan oleh masyarakat di lapangan dalam waktu yang singkat. Pengujian keberadaan rhodamin dalam makanan dan minuman dapat dilakukan menggunakan benang wol dan test kit. Kedua alat uji ini mudah untuk dikerjakan karena dengan menempelkannya ke dalam bahan pangan yang diuji maka akan memberikan perubahan warna yang spesifik yaitu warna merah terang.

H. Analisis Kualitatif Rhodamin B Menggunakan Benang Wol

Analisis secara kualitatif untuk rhodamin B dapat dilakukan dengan uji warna, yaitu dengan cara menambahkan pereaksi berupa HCl pekat, H₂SO₄ pekat, NaOH 10%, atau NH₄OH 10% ke dalam sampel yang diduga mengandung rhodamin B maka akan menghasilkan warna yang signifikan sebagai tanda adanya rhodamin B dalam sampel tersebut. Sebelumnya sampel yang mengandung rhodamin B ditimbang lalu ditambahkan amoniak yaitu NH₄OH 2% yang dilarutkan dalam etanol 70% kemudian dikocok dan didiamkan selama 30 menit. Larutan kemudian disaring, filtrat selanjutnya dituangkan ke dalam cawan kemudian dipanaskan. Residu yang diperoleh ditambahkan larutan asam (5 mL asam asetat 10% dalam 10 mL air). Kemudian dimasukkan benang wol ke dalamnya dan dididihkan selama 10 menit. Selanjutnya benang wol di bilas dengan air dan dimasukkan ke dalam larutan 10 mL amonia 2% dan dididihkan kembali.

Benang wol akan melepaskan pewarna rhodamin B dan masuk ke dalam larutan basa tersebut. Asam asetat glasial akan memberikan suasana asam sehingga rhodamin B dapat dengan mudah terekstrak dari dalam sampel, rhodamin B yang terekstrak akan terserap pada benang wol dan mengubah warna benang wol dari warna putih menjadi merah terang sebagai pertanda bahwa sampel tersebut mengandung rhodamin B. Larutan basa selanjutnya akan digunakan sebagai sampel. Sampel dimasukkan ke dalam 4 buah tabung reaksi yang berbeda

kemudian ditambahkan masing-masing larutan HCl pekat, H₂SO₄ pekat, NaOH 10%, dan NH₄OH 10% maka akan menghasilkan warna sebagai berikut (Tabel 13.1)

Tabel 13.1. Warna positif rhodamin B dengan beberapa pereaksi

No	Pereaksi	Warna Larutan
1	HCl pekat	Merah Orange
2	H ₂ SO ₄ pekat	Merah Keunguan
3	NaOH 10%	Merah Orange
4	NH ₄ OH 10%	Merah Keunguan

Pengujian kualitatif warna terhadap sampel rhodamin B memerlukan pembanding berupa standar rhodamin B sebagai penghasil warna rujukan tanda adanya rhodamin B. Hasil uji dilakukan sebanyak 3 kali ulangan untuk lebih menyakinkan keberadaan rhodamin B dalam sampel. Ekstrak yang mengandung rhodamin B dapat digunakan lebih lanjut sebagai sampel pada analisis menggunakan kromatografi lapis tipis.

I. Analisis Kualitatif Rhodamin B Menggunakan Tes Kit

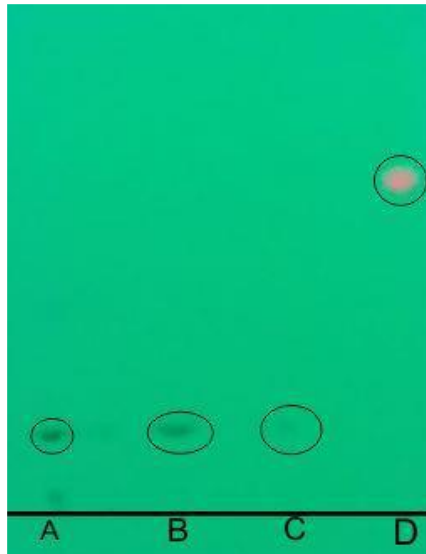
Metode lain untuk analisis rhodamin B dalam sampel adalah menggunakan Test kit. Test Kit digunakan untuk pemeriksaan Rhodamin B dengan cara mencelupkan *test kit* ke dalam sampel yang diduga mengandung rhodamin B dan hasilnya dapat langsung dilihat. Sampel yang positif mengandung rhodamin B akan menghasilkan larutan berwarna ungu. Kekurangan dari *test kit* yaitu perlu dilakukannya dua kali pengujian untuk memastikan adanya kandungan rhodamin B di dalam sampel, sehingga apabila terjadi kasus hasil dari kedua pencelupan berbeda dapat membingungkan. Tes kit mempunyai kelebihan mudah digunakan, penggunaannya sederhana, dan tidak membutuhkan bahan kimia yang rumit. Pada *test kit* membutuhkan 2 buah larutan pereaksi yaitu SbCl₅ dalam HCl 5 N (larutan A) dan toluena (larutan B). Adanya rhodamin B dalam makanan ditandai dengan tidak menghilangnya warna

merah larutan saat penambahan reagen A saat dilakukan pengocokan kuat dan setelah penambahan reagen B menghasilkan warna merah dengan intensitas yang semakin kuat.

J. Analisis Kuantitatif Rhodamin B menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis kuantitatif rhodamin B menggunakan KLT dapat menggunakan sampel yang telah dipreparasi sebelumnya pada analisis kualitatif rhodamin B menggunakan benang wol. Secara sederhana preparasi sampel yang mengandung rhodamin B diekstrak dalam larutan asam kemudian diserap menggunakan benang wol dan dilepaskan kembali dalam larutan basa. Larutan basa yang didapat selanjutnya akan digunakan sebagai sampel pada analisis kromatografi lapis tipis atau metode lainnya seperti spektrofotometer UV-Vis.

Analisis Rhodamin B menggunakan KLT dapat dilakukan dengan menotolkan sampel yang diperoleh pada prosedur sebelumnya pada Plat KLT sebanyak 5 kali atau sampai konsentrasinya cukup untuk dipisahkan. Plat KLT kemudian dimasukkan ke dalam chamber yang berisi eluen terbaik yang telah dijenuhkan. Eluen yang telah disiapkan akan naik membawa rhodamin B terpisah dari titik penotolan sampai akhirnya eluen akan sampai pada garis *finish*. Perhitungan secara kuantitatif dapat dilakukan dengan menghitung nilai *retention factor* (Rf). Rf diperoleh dengan cara membagi jarak *start-spot* dengan jarak *start-finish*. Rhodamin B akan mempunyai nilai Rf tersendiri sehingga jika ada spot yang memiliki nilai Rf yang kurang lebih sama atau mendekati nilai Rf Rhodamin B maka dapat kita simpulkan kalau sampel tersebut mengandung rhodamin B (Gambar 13.2). Penentuan Rf untuk senyawa berwarna tidak perlu pewarna karena akan terlihat secara langsung tapi untuk senyawa yang tidak berwarna dapat dibantu dengan pereaksi pewarna. Dapat juga dibantu dengan bantuan lampu UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm.



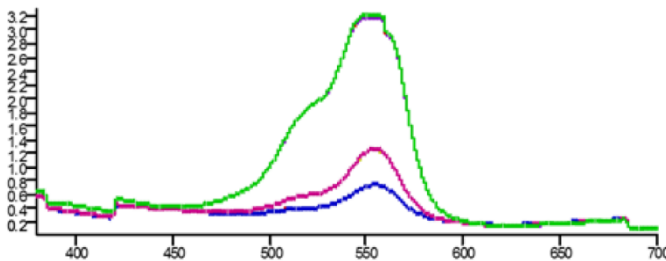
Gambar 13.2. Hasil pemisahan menggunakan KLT (a, b, c = sampel 1, 2 dan 3, D = Rhodamin B)

Pada analisis rhodamin B umumnya menggunakan KLT lebih dipilih karena secara analisis kualitatif lebih unggul jika dibandingkan dengan kromatografi kertas, antara lain lebih sensitif dan lebih cepat proses migrasi sehingga sampel dengan konsentrasi kecilpun masih dapat memberikan hasil pemisahan yang baik. Kromatografi Lapis Tipis menggunakan fase diam berupa plat silika gel GF254 dan fase gerak dengan menggunakan pelarut polar, yaitu n-butanol: etil asetat: ammonia (10:4:5) karena menyesuaikan sifat kepolaran dari rhodamin B sehingga diharapkan fase gerak dapat mengelusi rhodamin B dalam sampel dengan baik. Sampel dikatakan mengandung rhodamin B apabila menghasilkan warna dan nilai Rf yang sama dengan standar rhodamin B, yaitu berwarna fluoresensi kuning dan nilai Rf berada dalam rentang ($\leq 0.2 - 0.5$).

K. Analisis Kuantitatif Rhodamin B Secara Spektrofotometer Ultraviolet dan Sinar Tampak (UV-Vis)

Kandungan Rhodamin B dalam sampel dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan spektrofotometer

UV-Vis. Metode spektrofotometer UV-Vis bekerja sesuai hukum Lambert-Beer yaitu jumlah sinar yang diserap oleh suatu senyawa akan berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa tersebut. Analisis kualitatif dapat dilakukan dengan melakukan *scanning* panjang gelombang untuk memperoleh panjang gelombang maksimum. Sampel yang berwarna maupun tidak berwarna dimasukkan ke dalam kuvet lalu dilakukan *scanning* panjang gelombang dengan kisaran 200-400 nm untuk senyawa yang tidak berwarna dan kisaran 400-800 nm untuk senyawa yang berwarna. Nilai panjang gelombang maksimum diperoleh ketika ada panjang gelombang yang memiliki serapan yang bernilai maksimum atau paling tinggi. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum rhodamin B pada pH netral menggunakan spektrometer UV-Vis adalah 554 nm (Gambar 13.3).

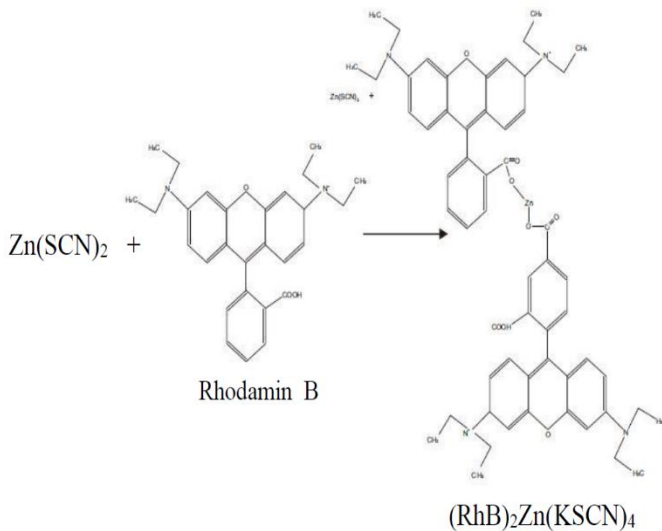


Gambar 13.3. Panjang gelombang maksimum Rhodamin B pada pH 7 dengan konsentrasi 0.2-1.0ppm

Nilai panjang gelombang maksimum dan kurva spektrum serapan dapat digunakan sebagai cara kualitatif untuk menganalisis rhodamin B. Jika ada sampel memiliki panjang gelombang maksimum dengan nilai yang sama yaitu 554nm maka dapat dikatakan kalau sampel tersebut mengandung rhodamin B. Pemastian dilakukan dengan mengukur Rhodamin secara kuantitatif dengan menentukan konsentrasi rhodamin B yang terdapat di dalam sampel.

Pada analisis kuantitatif dibuat sederetan larutan standar rhodamin B kemudian serapan dari masing-masing larutan standar tersebut diukur. Data yang diperoleh berupa serapan

masing-masing konsentrasi standar kemudian digunakan untuk membuat persamaan garis linier dengan serapan pada sumbu Y dan konsentrasi larutan standar pada sumbu X, kedua data tersebut digunakan untuk membuat persamaan garis linier dengan bantuan kalkulator atau komputer dengan aplikasi tertentu sehingga diperoleh persamaan $Y = a + bx$ dengan nilai linieritas harus lebih besar dari 0.99. konsentrasi sampel dihitung dengan cara memasukkan serapan sampel ke dalam persamaan garis yang diperoleh. Maka didapatkan konsentrasi rhodamin B dalam sampel.



Gambar 13.4. Dugaan reaksi $(RhB)_2 Zn(KSCN)_4$

Cara lain yang dapat dilakukan untuk mengukur Rhodamin B menggunakan spektrofotometer UV-Vis adalah dengan mereaksikan rhodamin B dengan senyawa lain sehingga yang diukur secara tidak langsung adalah hasil reaksi rhodamin B dengan senyawa lain. Sebagai contoh hasil reaksi antara rhodamin B dengan tiosianat dan *zinc chloride* membentuk kompleks $(RhB)_2 Zn(KSCN)_4$ yang memiliki nilai panjang gelombang maksimum 560.5 nm. Terbentuknya senyawa kompleks $(RhB)_2 Zn(KSCN)_4$ sendiri ditunjukkan dengan terjadinya perubahan panjang gelombang dan juga perubahan

warna dari warna pink menjadi warna ungu. Persamaan reaksinya dapat dilihat pada Gambar 4. Selbihnya kurang lebih sama, yaitu menggunakan nilai panjang gelombang maksimum tersebut untuk digunakan pada pengukuran deret standar sehingga diperoleh persamaan garis dengan nilai linieritas lebih dari 0.99 sehingga dapat digunakan untuk mengukur konsentrasi Rhodamin B dalam sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrahmansyah, Fitraul A., dan Chrislia, D. (2017). Analisis Zat Pewarna Rhodamin B pada Saus Cabai yang Beredar di Kampus Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang. *Jurnal Biota*, 3(1): 38-42.
- Afriyeni dan Utari. (2016). Identifikasi Zat Warna Rhodamin B pada Lipstik Berwarna Merah yang Beredar di Pasar Raya Padang. *Jurnal Farmasi Higea*, 8(1): 59-64.
- Alesso, M., Bondioli, G., Talío, M. C., Luconi, M. O., Fernández, L. P. (2012). Micelles Mediated Separation Fluorimetric Methodology for Rhodamine B Determination in Condiments, Snacks and Candies. *Food chemistry*, 134(1): 513-517.
- Bakheet, A. A., Zhu, X. S. (2017). Determination Of Rhodamine B Pigment in Food Samples by Ionic Liquid Coated Magnetic Core/Shell Fe₃O₄ Nanoparticles Coupled With Fluorescence Spectrophotometry, *Science*, 5(1): 1-7.
- BPOM RI. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Rodamin B (Rhodamine B). Jakarta: BPOM. 2008 BPOM RI. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor Hk.03.1.23.08.11.07331 Tahun 2011 Tentang Metode Analisis Kosmetika. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2011
- Desnita, E. (2022). Penggunaan Rhodamine B pada Saus Sambal Jajanan. *Scientific Journal*, 1(6), 462-477.
- Febrina, G. R., Wiratmini, N. I., dan Sudatri, N. W. (2013). Pengaruh Pemberian Rhodamin B terhadap Siklus Estrus Mencit (*Mus Musculus L.*) Betina. *Jurnal Biologi Udayana*, 17(1).
- Gao, U, Q., W., Du, J., Zhou, L., & Lian, Y. (2012). Discovery Of Environmental Rhodamine B Contamination In Paprika During The Vegetation Process. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(19): 4773-4778.

- Gresshma, R. L., & Paul, M. R. (2012). Qualitative and Quantitative Detection Of Rhodamine B Extracted From Different Food Items Using Visible Spectrophotometry. *Malaysian J. Forens. Sci*, 3:36-40.
- Hadriyati, A., Lestari, L., & Anggresani, L. (2021). Analisis Rhodamin B dalam Bolu Kukus yang Beredar di Kota Jambi dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1), 16.
- Jusnita, N. (2016). Identifikasi rhodamin B pada sediaan lipstik yang beredar di Pasar Jakarta Utara dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 1(2).
- Khumaeni, E. H., Ubanayo, K., & Karomah, Y. M. (2020). Identifikasi Zat Pewarna Makanan Rhodamin B Pada Jajanan Mie Lidi Di Sekolah Kecamatan Ajibarang Kabupaten Banyumas 2020. *Jurnal Ilmiah JOPHUS: Journal Of Pharmacy UMUS*, 2(01).
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. 36 tahun 2013 tentang Batas Maksimum Penggunaan. Bahan Tambahan Pangan Pengawet. Jakarta: BPOM.
- Peraturan Menteri Kesehatan No. 239/Menkes/Per/V/1985 tentang Zat Warna Tertentu yang Dinyatakan sebagai Bahan Berbahaya. Jakarta: Permenkes. 1985.
- Prasetya, A. W. (2016). Deteksi Kandungan Rhodamin B Pada Saus Serta Cemaran Boraks Dan Bakteri Salmonella Sp. Pada Cilok Keliling Salatiga the Detection of Rhodamine B Content on the Sauce and the Contamination of Borax and Salmonella Sp. in the Cilok in Salatiga. *Jurnal Ilmu Pertanian AGRIC*, 28(1): 69-78.
- Sidabutar, A. D., Nasution, A. N., Nasution, S. W., Nasution, S. L. R., Kurniawan, H. M., dan Girsang, E. (2019). Identifikasi dan Penetapan Kadar Rhodamin B dalam Kerupuk Berwarna Merah yang Beredar di Masyarakat. *Jurnal Farmacia*, 1(1): 24-30.

- Soylak, M., Unsal, Y. E., Yilmaz, E., Tuzen, M. (2011). Determination Of Rhodamine B In Soft Drink, Waste Water And Lipstick Samples After Solid Phase Extraction. *Food and chemical toxicology*, 49(8): 1796-1799.
- Sun, D., & Yang, X. (2017). Rapid Determination Of Toxic Rhodamine B In Food Samples Using Exfoliated Graphene-Modified Electrode. *Food analytical methods*, 10(6): 2046-2052.
- Syamsyuri, (2017). Analisis Kandungan Rhodamin B sebagai Pewarna pada Sediaan Lipstik Impor yang Beredar di Kota Makassar. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 5(1): 40-45.
- Wang, W., Du, Y., Xiao, Z., Li, Y., & Li, B. (2017). Rapid Qualitative Detection of Rhodamine B in Chili Oil by Deep Eutectic Solvent Extraction and a Microplate Reader. *J Chromatogr Sep Tech*, 8(376): 2.
- Widayanti, N. P., & Refi, M. A. F. (2018). Identifikasi rhodamin B dalam saus sambal yang beredar di pasar tradisional dan modern Kota Denpasar. *Jurnal Media Sains*, 2(1).
- Zhang, Z. X., X., Zhou, Q., Bai, B., & Ji, S. (2013). Spectrometric Determination Of Rhodamine B In Chili Powder After Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction. *Bulletin Of The Korean Chemical Society*, 34(11): 3381-3386.

BAB 14

MPN COLIFORM

Argo Ganda Gumilar, S.Tr.A.K

A. Pendahuluan

Air menjadi senyawa penting untuk kehidupan makhluk hidup khususnya manusia, terutama sebagai penunjang fungsi tubuh. Agen penyebab penyakit seperti bakteri dapat menginfeksi manusia melalui air tercemar yang dikonsumsi. Beberapa penyakit yang umum ditularkan melalui konsumsi air adalah disentri basiler, kolera, dan demam tifoid. (Widyaningsih, Supriharyono and Widyorini, 2016) Melihat dampak yang besar terhadap kesehatan, penting melakukan pengujian kualitas air untuk memastikan air aman dikonsumsi. Salah satu persyaratan air minum menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.2 tahun 2023 tentang kesehatan lingkungan adalah bebas dari kontaminasi unsur mikrobiologi. *Coliform* adalah kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator pencemaran air. Angka *Coliform* yang ditemukan dalam sampel air berbanding lurus dengan tingkat pencemaran air, di mana sampel tersebut kemungkinan mengandung organisme patogen. Persyaratan kualitas air minum sesuai Permenkes terhadap jumlah *Coliform* adalah 0/100 mL.

Most Probable Number (MPN) atau biasa disebut Angka Paling Mungkin (APM) merupakan metode analisis mikrobiologi untuk memperkirakan jumlah *Coliform* dalam sampel air atau makanan. MPN dinyatakan sebagai kepadatan bakteri dalam 100 mL sampel. Prinsip dasar MPN adalah

memperkirakan jumlah *Coliform* dalam sampel melalui pengenceran bertingkat menggunakan serangkaian tabung yang berisi media kultur cair yang mengandung laktosa. Hasil positif ditandai dengan adanya gas, kekeruhan, atau perubahan warna media. Jumlah tabung positif dikonversi ke angka kombinasi dan dicocokkan dengan tabel statistik yang tersedia untuk mendapatkan jumlah *Coliform* dalam 100 mL. Hasil memuaskan dari MPN apabila sampel dengan volume besar yang diperiksa menunjukkan produksi asam dan gas di sebagian atau seluruh tabung, dan sampel volume terkecil tidak menunjukkan asam dan gas di salah satu atau sebagian tabung. MPN paling sering digunakan untuk pengujian air minum, memastikan kualitas air aman dikonsumsi dan terbebas dari organisme patogen.

MPN dilakukan dalam tiga langkah, yaitu uji penduga atau *presumptive test*, uji konfirmasi atau *confirmative test*, dan uji pelengkap atau *complete test*. Uji penduga adalah uji yang digunakan untuk menyaring ada tidaknya *Coliform* pada sebuah sampel. Uji penduga dapat menggunakan salah satu media cair selektif, seperti *Lauryl Tryptose Broth* (LTB), *Lactose Broth* (LB), atau *MacConkey Broth* (MCB) yang dilengkapi dengan tabung Durham terbalik yang berfungsi menangkap gas. Gas merupakan ciri penting dari *Coliform* yang berasal dari proses fermentasi laktosa. Hasil positif pada uji penduga dilanjutkan ke uji konfirmasi. Uji konfirmasi merupakan uji lanjutan yang digunakan untuk menegaskan bahwa hasil positif dari uji penduga benar-benar berasal dari *Coliform*, karena beberapa bakteri lain juga menunjukkan karakteristik serupa. Uji konfirmasi menggunakan media selektif *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB) atau *EC Broth* yang juga dilengkapi dengan tabung Durham terbalik untuk menangkap gas. Hasil positif dari uji konfirmasi dapat langsung digunakan untuk mengetahui jumlah *Coliform* dengan cara mencocokkan jumlah tabung positif dengan tabel statistik yang tersedia atau dilanjutkan dengan uji pelengkap untuk mengetahui spesies *Coliform* menggunakan media cawan *MacConkey Agar* (MCA), *Endo Agar* (EA), atau *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), dan dapat ditambah dengan

beberapa media tabung seperti *Tryptone Water*, *Methyl Red (MR)*, *Voges Proskauer (VP)*, *Sulfide Indole Motile (SIM)*, *Simmon's Citrate*, dan *Urea Agar*. Uji konfirmasi juga dilakukan untuk pemeriksaan *Coliform* termotoleran dengan menginkubasi media pada suhu yang lebih tinggi.

Pengujian kualitas air menggunakan metode MPN memiliki beberapa keunggulan, seperti metode yang relatif sederhana, sensitif dan mampu mendeteksi sampel dengan jumlah bakteri sedikit, selektif atau hanya mendeteksi bakteri tertentu, dan sampel yang digunakan lebih banyak. MPN juga memiliki kekurangan, seperti memerlukan lebih banyak alat gelas, penentuan hasil memakan waktu lama, tidak memberi nilai jumlah bakteri yang sesungguhnya, dan tidak menghasilkan koloni bakteri yang memisah seperti saat melakukan perhitungan jumlah bakteri menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT).

B. Pengertian *Coliform*

Coliform merupakan kelompok bakteri yang umum ditemukan dalam pencernaan hewan berdarah panas termasuk manusia atau umum disebut bakteri enterik. *Coliform* bukan sebuah klasifikasi taksonomi, namun merupakan sebuah istilah untuk menyebut bakteri enterik yang berasal dari keluarga *Enterobacteriaceae*, gram negatif, berbentuk batang, bersifat motil atau non-motil, memfermentasi gula laktosa yang dapat menghasilkan asam dan gas pada suhu $35 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 24-48 jam inkubasi, hidup secara aerob (membutuhkan oksigen) atau anaerob fakultatif (tanpa atau sedikit oksigen), dan tidak membentuk spora. (Halkman and Halkman, 2014) *Coliform* juga ditemukan di air, tanah, dan tumbuhan. (Gundogan, 2014) Melihat sebaran hidup *Coliform* yang tidak spesifik, maka diperkenalkan istilah *Fecal Coliform* yang digunakan sebagai indikator kontaminasi. *Fecal Coliform* didefinisikan sebagai bagian dari total *Coliform* yang dapat memfermentasi laktosa pada suhu inkubasi yang tinggi. (Eijkman, 1904) Hal inilah yang juga mendasari *Fecal Coliform* disebut sebagai *Coliform*

termotoleran. *Fecal Coliform* diidentifikasi pada suhu 45,5°C untuk sampel makanan, sedangkan sampel air menggunakan suhu 44,5°C. *Fecal Coliform* identik dengan *Escherichia coli* karena berkaitan dengan frekuensi penemuannya yang sangat besar di saluran pencernaan.

Sebelumnya, *E. coli* diusulkan sebagai indikator kontaminasi tinja pada makanan dan minuman karena dianggap jumlahnya melimpah di saluran pencernaan hewan berdarah panas dan paling mudah diisolasi dibandingkan bakteri patogen gastrointestinal lainnya. Namun, seiring berjalannya waktu ditemukan beberapa bakteri lain yang juga berasosiasi dengan saluran pencernaan dan memiliki sifat mirip dengan *E. coli*, yaitu dapat memfermentasi laktosa, sehingga diciptakan istilah *Coliform* untuk menyebut kelompok bakteri yang ditemukan di saluran pencernaan tersebut. Berikut persentase jenis bakteri *Coliform* yang diisolasi dari tinja: *E. coli* 100%, *Citrobacter amalonaticus* 70%, *Citrobacter diversus* 70%, *Citrobacter freundii* 70%, *Klebsiella pneumoniae* 49%, *Klebsiella oxytoca* 49%, *Klebsiella aerogenes* 9% (sebelumnya bernama *Enterobacter aerogenes*), dan *Enterobacter cloacae* 9%. Sedangkan, beberapa bakteri yang dikategorikan sebagai *Nonfecal Coliform*, seperti *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter sakazakii*, *Klebsiella trevisanii*, *Serratia marcescens*, *Serratia marinorubra*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia odorifera*, dan *Hafnia alvei*. (Leclerc, Gavini and Oger, 1981)

Adanya *Coliform* dalam suatu sumber air menandakan bahwa air tersebut mengalami kontaminasi tinja dan tidak aman untuk dikonsumsi. Sebagian jenis *Coliform* belum tentu menyebabkan penyakit, namun keberadaannya dalam air digunakan sebagai indikator untuk menunjukkan bahwa organisme patogen lain yang berasal dari tinja mungkin juga ada. Salah satu jenis *Coliform* yang dapat mempengaruhi kesehatan manusia adalah *E. coli* yang dikenal dapat menjadi patogen oportunistik pada tubuh inang yang lemah dan juga memiliki strain patogen penyebab penyakit pencernaan pada manusia (gastroenteritis).

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan anggota bakteri *Coliform* utama yang sering menjadi fokus analisis dan perhatian. Bakteri ini dicirikan sebagai berbentuk batang, Gram negatif, dapat memfermentasikan laktosa, tidak membentuk spora, dan motil. *E. coli* dianggap indikator utama kontaminasi tinja dalam air dan bahan makanan yang terkait erat terhadap risiko penyakit. Sifat patogenik yang dimiliki *E. coli* dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Sifat patogen tersebut adalah *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) merupakan strain patogenik yang biasanya terkait dengan serotipe tunggal O157:H7 yang menyebabkan diare berdarah dan sindrom hemolitik uremik. Strain *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) terkait dengan penyakit gastroenteritis. Strain *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) terkait dengan sindrom mirip Shigellosis. Strain *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) terkait dengan diare perjalanan atau wisatawan. (Percival and Williams, 2014; Mueller and Tainter, 2023) Sumber pencemaran *E. coli* dalam air dapat berasal dari tinja hewan berdarah panas termasuk manusia, terutama di daerah dengan sanitasi yang buruk. Makanan dan minuman dapat menjadi media penularan *E. coli* apabila tidak diolah dengan baik dan benar. Pada uji biokimia, *E. coli* menghasilkan motilitas positif, *Indole* positif, *Citrate* negatif, *Methyl Red* positif, *Voges Proskauer* negatif, *urease* negatif, dan koloni berwarna merah muda agak kering dengan pengendapan garam empedu di sekitar koloni di media *MacConkey Agar*. (Khasanah, Mahasri and Kusdarwati, 2021)

2. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri *Coliform* yang dicirikan sebagai Gram negatif, dapat memfermentasi laktosa, memiliki kapsul, bersifat non-motil, berbentuk batang, bersifat anaerobik fakultatif, dan tidak membentuk spora. Studi epidemiologis mengungkapkan bahwa langkah pertama pada sebagian besar infeksi bakteri ini adalah kolonisasi di saluran pencernaan. (Montgomerie, 1979)

Beberapa faktor virulensi *K. pneumoniae* telah ditemukan, salah satunya adalah kapsul yang menyelubungi sel bakteri ini yang berperan melindungi bakteri dari opsonisasi dan fagositosis. (Simoons-Smit, Verweij-Van Vught and MacLaren, 1986) Kapsul juga menjadi penyebab koloni *K. pneumoniae* berlendir. Pada uji biokimia, *K. pneumoniae* menghasilkan motilitas negatif, *Indole* negatif, *Citrate* positif, *Methyl Red* negatif, *Voges Proskauer* positif, urease positif, dan koloni berwarna merah muda berlendir di media *MacConkey Agar*. (Patel *et al.*, 2017)

3. *Citrobacter freundii*

Citrobacter freundii merupakan bakteri *Coliform* yang dicirikan berbentuk batang, Gram negatif, memfermentasi laktosa, bersifat anaerob fakultatif, dan motil. *C. freundii* dapat ditemukan di berbagai lingkungan seperti air, tanah, dan saluran pencernaan hewan atau manusia. Bakteri ini dianggap sebagai patogen oportunistik yang umum menyebabkan diare dan infeksi saluran kemih. Pada uji biokimia, *C. freundii* menghasilkan motilitas positif, *Indole* negatif, *Citrate* positif, *Methyl Red* positif, *Voges Proskauer* negatif, sulfida (H_2S) positif, urease positif, dan koloni berwarna merah muda kering atau sedikit basah di media *MacConkey Agar*. (Hayder, Abusaiba and Aljanaby, 2019)

4. *Enterobacter cloacae*

Enterobacter cloacae merupakan bakteri *Coliform* yang dicirikan sebagai bakteri berbentuk batang, Gram negatif, bersifat motil, bersifat anaerobik fakultatif, dan tidak membentuk spora. *Enterobacter* sebagai kelompok *Coliform* memiliki dua spesies penting, yaitu *E. cloacae* dan *E. aerogenes*. Saat ini, *E. aerogenes* dimasukkan ke dalam genus *Klebsiella* menjadi *Klebsiella aerogenes*. Perubahan genus ini berdasarkan data filogenetik di mana *E. aerogenes* lebih dekat hubungannya dengan *K. pneumoniae* dibanding dengan spesies *Enterobacter* yang lain. (Chavda *et al.*, 2016; Tindall, Sutton and Garrity, 2017) *E. cloacae* termasuk flora normal

usus manusia, biasanya tidak dianggap patogen, namun juga dilaporkan menyebabkan infeksi nosokomial dan saluran kemih. (Keller *et al.*, 1998) Pada uji biokimia, *E. cloacae* menghasilkan motilitas positif, *Indole* negatif, *Citrate* positif, *Methyl Red* negatif, *Voges Proskauer* positif, urease positif, dan koloni berwarna merah muda di media *MacConkey Agar*. (Al-Jumaily and Al-Wahab, 2012)

Tabel 14.1. Uji biokimia bakteri *Coliform*

Bakteri	Indole	Motile	MR	VP	Citrate	Urease	H ₂ S
<i>E. coli</i>	+	+	+	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-	+	+	+	-
<i>K. aerogenes</i>	-	+	-	+	+	+	-
<i>C. freundii</i>	-	+	+	-	+	+	+
<i>E. cloacae</i>	-	+	-	+	+	-	-

C. Pengertian Penelitian

Pelaksanaan metode MPN membutuhkan media khusus dan peralatan penting untuk mendukung pertumbuhan *Coliform*, seperti berikut:

1. Media Pertumbuhan Bakteri

MPN dalam pengujian sampel menggunakan media cair yang mengandung gula laktosa dan nutrisi tambahan yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri *Coliform*. Untuk menemukan dan mendukung identifikasi *Fecal Coliform* dibutuhkan suhu inkubasi yang lebih tinggi dan media cawan selektif. Beberapa media tersebut dijelaskan pada tabel berikut:

Tabel 14.2. Media yang digunakan untuk MPN

Media	Kegunaan	Suhu Inkubasi	Keterangan
<i>Lactose Broth</i> (LB)	Penduga	35 ± 0,5°C atau 37 ± 0,5°C	Mengetahui produksi gas, terkadang ditambahkan indikator warna <i>Phenol Red</i> .

<i>MacConkey Broth</i> (MCB)	Penduga	35 ± 0,5°C atau 37 ± 0,5°C	Media selektif dan untuk <i>Coliform</i> .
<i>Lauryl Tryptose Broth</i> (LTB)	Penduga	35 ± 0,5°C atau 37 ± 0,5°C	
	Konfirmasi <i>Coliform</i> termotoleran	44 °C	
<i>Brilliant Green Lactose Broth</i> (BGLB)	Konfirmasi <i>Coliform</i>	35 ± 0,5°C atau 37 ± 0,5°C	Media selektif untuk <i>Coliform</i> .
	Konfirmasi <i>Coliform</i> termotoleran	44 °C	
<i>EC Broth</i>	Konfirmasi <i>Coliform</i> termotoleran	35 ± 0,5°C atau 37 ± 0,5°C 44 °C	Media selektif untuk <i>Coliform</i> .
<i>Tryptone Water</i>	Pelengkap untuk <i>E. coli</i> termotoleran	44 °C	Mendeteksi produksi gas dan keberadaan indol setelah pemberian reagen Kovac's. Hasil positif (warna merah di permukaan media) menunjukkan <i>E. coli</i> .
<i>Endo Agar</i> (EA)	Pelengkap	35 ± 0,5°C atau 37 ± 0,5°C	Koloni <i>E. coli</i> berwarna hijau metalik.
<i>Eosin Methylene Blue Agar</i> (EMBA)	Pelengkap	35 ± 0,5°C atau 37 ± 0,5°C	Koloni <i>E. coli</i> berwarna hijau metalik.

Media biokimia tabung seperti SIM, *Simmon's Citrate*, *Methyl Red*, *Voges Proskauer*, dan *Urea Agar* mungkin juga dibutuhkan untuk memperkuat identifikasi jenis-jenis bakteri *Coliform*.

2. Tabung reaksi: Digunakan untuk wadah media. Tabung reaksi yang digunakan memiliki ukuran 20 x 150 mm sehingga dapat menampung 10 mL media dan 10 mL sampel. Selain tabung reaksi besar juga dibutuhkan tabung durham yang digunakan secara terbalik di dalam tabung reaksi yang berisi media pertumbuhan untuk menangkap gas yang dihasilkan selama pengujian.

3. Labu erlenmeyer atau *beaker glass*: Alat gelas tersebut digunakan sebagai wadah penimbangan dan melarutkan media saat dibuat.
4. Botol: Botol digunakan untuk menampung sampel dan media yang lebih besar, misal pada pengujian 50 mL sampel yang ditambah dengan 50 mL media.
5. Rak tabung reaksi: Rak harus memiliki cukup lubang yang disesuaikan dengan jumlah tabung reaksi yang akan digunakan. Rak juga harus memiliki diameter yang sesuai, sehingga dapat menampung tabung reaksi.
6. Autoklaf: Alat untuk sterilisasi media dan peralatan lain yang dibutuhkan menggunakan panas dan tekanan tinggi. Media disterilkan dalam suhu 115°C selama 10 menit.
7. Pipet: Pipet digunakan untuk mengambil sampel. Volume pipet yang dibutuhkan sebesar 10 mL, 1 mL, dan 0,1 mL, atau lebih kecil. Pipet dapat terbuat dari kaca seperti pipet volume atau terbuat dari plastik seperti pipet otomatis.
8. Timbangan: Timbangan digunakan untuk menimbang media bakteri. Timbangan biasanya berjenis otomatis dipersyaratkan memiliki keakuratan sebesar 0,05 gram.
9. Inkubator: Inkubator memberikan suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri. Inkubator harus mampu mempertahankan suhu selama proses inkubasi yang berkisar antara $35-37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ atau $44,5 \pm 0,25^{\circ}\text{C}$. Pemilihan suhu tersebut disesuaikan dengan bakteri *Coliform* target.
10. Api spiritus: Api spiritus digunakan untuk mensterilisasi lingkungan sekitar saat inokulasi sampel ke dalam media dilakukan.

Catatan: Seluruh peralatan wajib steril untuk menghindari kontaminasi dan mengganggu hasil pemeriksaan.

D. Persiapan Media Kultur

Media kultur yang akan digunakan dibuat berdasarkan instruksi yang tertera pada wadah. Secara umum pembuatan media MPN meliputi penimbangan, pelarutan, penuangan ke dalam tabung reaksi, sterilisasi, dan penyimpanan.

1. Penimbangan: Media yang akan ditimbang harus terlebih dahulu dihitung kebutuhannya. Biasanya, media uji penduga dibuat dengan konsentrasi ganda (*double strength*) atau tunggal (*single strength*). Penimbangan dapat dilakukan secara langsung di dalam labu erlenmeyer atau *beaker glass*. Berikut komposisi dan pelarutan media dalam liter.

- a. *Lauryl Tryptose Broth* (LTB): *Tryptose* 20,0 g; *Lactose* 5,0 g; *Dipotassium phosphate* 2,75 g; *Sodium dodecyl sulfate* 0,1 g; *Sodium chloride* 5,0 g; dan pH 6,8 ± 0,2. Media ditimbang 35,6 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest.
- b. *Lactose Broth* (LB): *Peptic digest of animal tissue* 5,0 g; *Lactose* 5,0g; *Beef extract* 3,0 g; dan pH 6,8 ± 0,2. Media ditimbang 13 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest.
- c. *MacConkey Broth* (MCB): *Peptone* 20,0 g; *Lactose* 10,0 g; *Bile salts* 5,0 g; *Neutral red* 0,075 g; *Sodium chloride* 5,0 g; dan pH 6,8 ± 0,2. Media ditimbang 40 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest.

Buatlah media uji penduga dengan konsentrasi yang ditunjukkan oleh **tabel 14.3**, sehingga menambahkan sebanyak 10 mL atau 20 mL sampel ke dalam media tidak akan mengurangi konsentrasinya. Berikut adalah contoh pembuatan media uji penduga untuk LTB:

Tabel 14.3. Pembuatan Media Uji Penduga Ltb Berdasarkan Jumlah Volume Sampel dan Volume Media

Volume Sampel (mL)	Volume Media (mL)	Volume Total (mL)	Gram LTB yang Ditimbang (g/L)
1	10 atau lebih	11 atau lebih	35,6
10	10	20	71,2
10	20	30	53,4
20	10	30	106,8

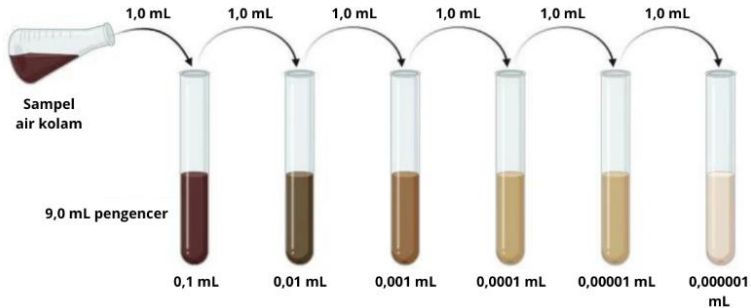
- d. *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB): *Peptone* 20,0 g; *Lactose* 10,0 g; *Brilliant Green* 5,0 g; *Oxgall* 5,0 g; dan pH 7,2 ± 0,2. Ditimbang 40 gram dan dilarutkan dalam 1 liter aquades.
- e. *EC Broth*: *Casein digest (pancreatic)* 20,0 g; *Lactose* 5,0 g; *Bile salts* 1,5 g; *Dipotassium phosphate* 4 g; *Potassium diphosphate*

- 1,5 g; *Sodium chloride* 5,0 g; dan pH $6,8 \pm 0,2$. Media ditimbang 37 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest.
- f. *Tryptone Water*: *Peptone (casein)* 20,0 g dan *Sodium chloride* 5,0 g. Media ditimbang 15 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest.
 - g. *Endo Agar (EA)*: *Peptone* 10,0 g; *Lactose* 10,0 g; *Dipotassium hydrogen phosphate* (K_2HPO_4) 2,5 g; *Sodium sulfite anhydrous* (Na_2SO_3) 3,3 g; *Fuchsine* 0,3 g; *Agar* 12,5 g; dan pH $7,4 \pm 0,2$. Media ditimbang 39 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest.
 - h. *Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)*: *Peptone* 10,0 g; *Sucrose* 5,0 g; *Lactose* 5,0 g; *Methylene Blue* 0,07 g; *Eosin Y* 0,4 g; *Dipotassium hydrogen phosphate* (K_2HPO_4) 2,0 g; *Agar* 13,5 g; dan pH $7,1 \pm 0,2$. Media ditimbang 36 gram, dilarutkan dalam 1 liter aquadest
2. Pelarutan: Media yang telah ditimbang dilarutkan dengan air suling atau aquades sesuai volume yang akan dibuat. Media uji penduga dapat ditambahkan *Phenol Red* yang berfungsi sebagai indikator perubahan warna. *Coliform* memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam yang apabila bereaksi dengan *Phenol Red* akan berubah warna menjadi kuning.
 3. Penuangan ke dalam tabung reaksi: Media cair dari uji penduga dan uji konfirmasi yang telah dilarutkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sesuai volume dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu $115\text{ }^\circ\text{C}$ selama 10 menit untuk media LTB, LB, dan MCB. Sedangkan, untuk media BGLB, *Tryptone Water*, dan *EC Broth* disterilisasi pada suhu $121\text{ }^\circ\text{C}$ selama 15 menit.
 4. Penyimpanan: Media uji penduga dan konfirmasi yang telah disterilisasi dapat disimpan pada suhu ruang sekitar $25\text{ }^\circ\text{C}$ atau di dalam kulkas dengan suhu $2\text{--}8\text{ }^\circ\text{C}$. Media yang disimpan di kulkas apabila akan digunakan harus dihangatkan dalam suhu kamar untuk memastikan seluruh komponen dalam media telah larut kembali.
 5. Pembuatan media cawan, seperti EA dan EMBA: Dilakukan penimbangan sesuai volume yang dibutuhkan, dilarutkan

menggunakan aquades, dilakukan pemanasan dengan penangas hingga suspensi larut, dilakukan sterilisasi dengan suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya dituang secara aseptis ke dalam cawan petri steril, tunggu hingga memadat, dan disimpan dalam kulkas suhu 2-8 °C.

E. Persiapan Sampel

Sampel yang akan diuji dengan MPN dapat berupa sampel cair atau padat. Untuk sampel padat dilakukan penimbangan dengan perbandingan 1:9. Misal, pada sampel dengan berat 1 kg atau kurang, secara aseptis diambil secara acak dan dipotong kecil, kemudian ditimbang sebanyak 25 gram dan dilarutkan dengan 225 mL pelarut, dihomogenkan selama 2 menit (pengenceran 0,1). Sampel tersebut dapat langsung ditambahkan ke masing-masing seri tabung yang berisi media uji penduga dengan volume 10 mL, 1 mL, dan 0,1 mL. Sampel juga dapat diencerkan terlebih dahulu. Misal, untuk sampel yang dilarutkan tersebut (pengenceran 0,1) diambil 1 bagian dan dimasukkan ke dalam wadah steril, kemudian ditambahkan 9 bagian pelarut (pengenceran 0,01). Dari pengenceran 0,01 diambil 1 bagian dan dimasukkan ke dalam wadah steril yang lain, kemudian tambahkan 9 bagian pelarut (pengenceran 0,001). Sehingga didapatkan 3 pengenceran, kemudian dari setiap pengenceran tersebut dipipet sebanyak 1 mL, ditambahkan ke dalam setiap seri tabung yang telah disiapkan. Pelarut untuk pengenceran sampel dapat berupa *Buffered Pepton Water 0,1* atau *Sodium Chloride (NaCl) 0,85%* steril. (SNI 2332, 2006; SNI 2897, 2008; ISO 6887, 2017)



Gambar 14.1. Ilustrasi Prosedur Pengenceran Sampel
 Sumber: www.microbenotes.com

F. Pemilihan Jumlah Seri Tabung dan Prosedur MPN

MPN adalah metode untuk mengetahui jumlah bakteri menggunakan media kultur cair dalam tabung reaksi. MPN menyediakan beberapa pilihan jumlah tabung yang akan digunakan sesuai tabel yang tersedia. Pemilihan jumlah tabung dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jumlah bakteri yang diperkirakan dalam sebuah sampel, presisi yang dibutuhkan, dan persyaratan peraturan yang berlaku. Berikut merupakan referensi *Standard Methods* (APHA AWWA WEF 9221, 2017), SNI (SNI 2332, 2006; SNI 2897, 2008), dan UNEP/WHO (UNEP and WHO, 1996) terkait jenis sampel dan jumlah tabung kultur yang digunakan.

1. Sampel air yang tidak diolah atau tercemar menggunakan seri tabung 5-5-5
 - a. Uji Penduga
 - 1) Disiapkan 15 tabung berukuran 20 x 150 mm yang berisi media laktosa sebagai berikut: 5 tabung pertama berisi 10 mL *double strength* (F1), 5 tabung kedua berisi 10 mL *single strength* (F2), dan 5 tabung ketiga berisi 10 mL *single strength* (F3). Semua tabung dilengkapi tabung durham terbalik.
 - 2) Sebanyak 10 mL sampel air yang akan diuji dimasukkan ke dalam masing-masing tabung F1,

sebanyak 1 mL ke dalam tabung F2, dan sebanyak 0,1 mL ke dalam tabung F3.

- 3) Tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- 4) Tabung positif ditandai dengan kekeruhan, perubahan warna, dan adanya gas dalam tabung Durham. Apabila tidak ada gas, harus dipastikan dengan menggoyang tabung, adanya gelembung gas yang naik dari dasar tabung menandakan uji positif.
- 5) Tabung negatif diinkubasi kembali selama 48 jam. Tidak adanya gas hingga masa akhir inkubasi ini menandakan hasil negatif.

b. Uji Konfirmasi

- 1) Tabung positif dari uji penduga diambil sebanyak 1-3 kali menggunakan ose bulat ke dalam media BGLB. Diambil juga sebanyak 1-3 ose bulat ke dalam media *Tryptone Water*.
- 2) Diinkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam atau 44,5 ± 0,2°C selama 24 ± 2 jam untuk mendeteksi *E. coli*.
- 3) Tabung BGLB positif ditandai dengan kekeruhan dan gas. *Tryptone Water* ditetesi sebanyak 1-2 tetes atau 0,1 mL reagen Kovac's, hasil positif *E. coli* menunjukkan warna merah pada permukaan media.
- 4) Jumlah tabung positif dari uji konfirmasi dicocokkan dengan tabel yang tersedia untuk mengetahui nilai MPN/100 mL.
- 5) Semisal didapatkan kombinasi angka tabung positif 5-3-1, maka setara dengan 110 yang berarti sampel air diperkirakan mengandung 110 *Coliform* dalam 100 mL atau 110/100 mL (lihat tabel 14.4).

Tabel 14.4. Tabel Perkiraan Jumlah *Coliform* Seri Tabung 5-5-5

Tabung Positif			MPN/100 mL	Tabung Positif			MPN/100 mL
5x10 mL	5x1 mL	5x10 mL		5x10 mL	5x1 mL	5x10 mL	
0	0	0	<1,8	4	0	3	25
0	0	1	1,8	4	1	0	17
0	1	0	1,8	4	1	1	21

Tabung Positif			MPN/100 mL	Tabung Positif			MPN/100 mL
5x10 mL	5x1 mL	5x10 mL		5x10 mL	5x1 mL	5x10 mL	
0	1	1	3,6	4	1	2	26
0	2	0	3,7	4	1	3	31
0	2	1	5,5	4	2	0	22
0	3	0	5,6	4	2	1	26
1	0	0	2	4	2	2	32
1	0	1	4	4	2	3	38
1	0	2	6	4	3	0	27
1	1	0	4	4	3	1	33
1	1	1	6,1	4	3	2	39
1	1	2	8,1	4	4	0	34
1	2	0	6,1	4	4	1	40
1	2	1	8,2	4	4	2	47
1	3	0	8,3	4	5	0	41
1	3	1	10	4	5	1	48
1	4	0	11	5	0	0	23
2	0	0	4,5	5	0	1	31
2	0	1	6,8	5	0	2	43
2	0	2	9,1	5	0	3	58
2	1	0	6,8	5	1	0	33
2	1	1	9,2	5	1	1	46
2	1	2	12	5	1	2	63
2	2	0	9,3	5	1	3	84
2	2	1	12	5	2	0	49
2	2	2	14	5	2	1	70
2	3	0	12	5	2	2	94
2	3	1	14	5	2	3	120
2	4	0	15	5	2	4	150
3	0	0	7,8	5	3	0	79
3	0	1	11	5	3	1	110
3	0	2	13	5	3	2	140
3	1	0	11	5	3	3	180
3	1	1	14	5	3	4	210
3	1	2	17	5	4	0	130
3	2	0	14	5	4	1	170
3	2	1	17	5	4	2	220
3	2	2	20	5	4	3	280
3	3	0	17	5	4	4	350
3	3	1	21	5	4	5	430
3	3	2	24	5	5	0	240
3	4	0	21	5	5	1	350
3	4	1	24	5	5	2	540

Tabung Positif			MPN/100 mL	Tabung Positif			MPN/100 mL
5x10 mL	5x1 mL	5x10 mL		5x10 mL	5x1 mL	5x10 mL	
3	5	0	25	5	5	3	920
4	0	0	13	5	5	4	1600
4	0	1	17	5	5	5	>1600
4	0	2	21				

Catatan: Pada sampel air yang sangat tercemar di mana tiga seri tabung menghasilkan positif seluruhnya (5-5-5 = >1600/100 mL), maka hasil tersebut tidak dapat mencerminkan nilai sebenarnya dari jumlah *Coliform*. Apabila diduga pada suatu sampel air mengandung kontaminasi berat, disarankan menambah seri tabung dengan volume sampel 0,01 mL dan 0,001 mL ke dalam dua seri tabung tambahan pada uji penduga. Sehingga, prosedur yang digunakan adalah 5x10 mL, 5x1 mL, 5x0,1 mL, 5x0,01 mL, dan 5x0,001 mL (seri tabung 5-5-5-5-5). Tabel 14.4 hanya menyediakan tiga seri tabung, sehingga untuk menentukan angka MPN dari seri tabung tambahan tersebut harus dibuat 3 kombinasi angka dengan aturan di bawah ini:

- 6) Apabila terdapat dua seri tabung seluruhnya positif (5x10 mL dan 5x1 mL), pilih salah satu yang memiliki volume sampel paling kecil (5x1 mL) diikuti dua seri tabung setelahnya. Contoh: 5-5-2-0-0 menjadi x-5-2-0-x.
- 7) Apabila terdapat satu seri tabung seluruhnya positif (5x1 mL), namun satu seri tabung sebelumnya tidak seluruhnya positif (4x10 mL), dipilih satu seri tabung yang seluruhnya positif diikuti dua seri tabung setelahnya. Contoh: 4-5-2-1-0 menjadi x-5-2-1-x.
- 8) Apabila terdapat satu seri tabung seluruhnya positif (5x10 mL) dan dua seri tabung setelahnya tidak seluruhnya positif (4x1 mL dan 4x0,1 mL), namun pada seri tabung keempat masih menunjukkan adanya tabung positif (1x0,01 mL), maka dipilih seri tabung

keempat tersebut diikuti dua seri tabung sebelumnya.

Contoh: 5-4-4-1-0 menjadi $x-4-4-1-x$.

9) Apabila terdapat satu seri tabung seluruhnya positif (5×10 mL) dan dua seri tabung setelahnya tidak seluruhnya positif (4×1 mL dan $4 \times 0,1$ mL), namun pada seri tabung keempat negatif ($0 \times 0,01$ mL) dan satu seri tabung setelahnya menunjukkan adanya satu tabung positif ($1 \times 0,001$ mL), maka angka dari seri tabung yang masih mengandung satu tabung positif tersebut bergeser ke satu seri tabung negatif sebelumnya. Contoh: 5-4-4-0-1 menjadi $x-4-4-1-x$.

10) Apabila terdapat empat seri tabung seluruhnya positif (5×10 mL, 5×1 mL, $5 \times 0,1$ mL, dan $5 \times 0,01$ mL), namun seri tabung kelima masih didapatkan tabung positif ($2 \times 0,001$ mL), maka seri tabung kelima dipilih diikuti oleh dua seri tabung sebelumnya. Contoh: 5-5-5-5-2 menjadi $x-x-5-5-2$.

11) Apabila terdapat satu seri tabung menunjukkan positif ($1 \times 0,1$ mL), namun dua seri tabung sebelumnya negatif (0×10 mL dan 0×1 mL), maka satu seri tabung yang positif tersebut dipilih diikuti dua seri tabung negatif sebelumnya. Contoh: 0-0-1-0-0 menjadi 0-0-1- $x-x$.

12) Apabila terdapat dua seri tabung positif tidak seluruhnya (4×10 mL dan 4×1 mL), dua seri tabung setelahnya memiliki satu tabung positif ($1 \times 0,1$ mL dan $1 \times 0,01$ mL), maka seri tabung yang memiliki volume sampel paling kecil ditambahkan ke seri tabung sebelumnya. Contoh: 4-4-1-1-0 menjadi 4-4-2- $x-x$.

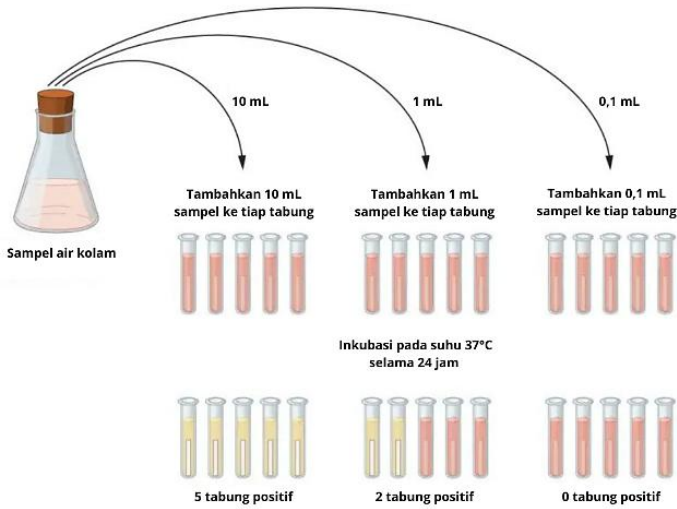
Catatan: Hasil MPN dari seri tabung tambahan ini harus dibagi dengan volume sampel dari angka tengah kombinasi. Contoh: Kombinasi $x-5-2-0-x$ menghasilkan 49 *Coliform* per 100 mL, karena kombinasi diambil dari volume sampel 1, 0,1, dan 0,01 mL, maka hasil dibagi dengan volume sampel dari angka tengah kombinasi, yaitu 0,1 menjadi $49/0,1 = 490/100$ mL atau dikalikan dengan faktor perkalian pada **tabel 14.5**.

Tabel 14.5. Tabel faktor perkalian untuk menentukan jumlah *Coliform* dari penambahan seri tabung.

No. Sampel	Tabung Positif					Kombinasi yang Dipilih	Faktor Perkalian
	5x10 mL	5x1 mL	5x0,1 mL	5x0,01 mL	5x0,001 mL		
1	5	5	2	0	0	x-5-2-0-x	10
2	4	5	2	1	0	x-5-2-1-x	10
3	5	4	4	1	0	x-4-4-1-x	10
4	5	4	4	0	1	x-4-4-1-x	10
5	5	5	5	5	2	x-x-5-5-2	100
6	0	0	1	0	0	0-0-1-x-x	1
7	4	4	1	1	0	4-4-2-x-x	1

c. Uji pelengkap

- 1) Disiapkan media EMBA atau beberapa media tabung, seperti SIM, *Simmon's Citrate*, *Methyl Red*, *Voges Proskauer*, dan *Urea Agar*.
- 2) Lakukan inokulasi dari tabung uji konfirmasi yang positif. Inokulasi dapat dilakukan lebih dari satu cawan/tabung. Inkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam, sebagian diinkubasi pada suhu $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ selama 24 ± 2 jam untuk mendeteksi *E. coli*.
- 3) Hasil positif untuk *E. coli* di media EMBA memiliki ciri koloni berwarna hijau metalik.



Gambar 14.2. Ilustrasi Prosedur MPN Seri Tabung 5-5-5

Sumber: www.microbenotes.com

2. Sampel air yang tidak diolah atau tercemar menggunakan seri tabung 3-3-3

Prosedur yang dilakukan untuk seri tabung 3-3-3 hampir sama dengan seri tabung 5-5-5, di mana 3 tabung pertama diisi dengan media laktosa *double strength*, 3 tabung kedua dan ketiga diisi dengan media laktosa *single strength* sebanyak 10 mL beserta tabung durhamnya. Selanjutnya dimasukkan sampel sebanyak 10 mL, 1 mL, dan 0,1 mL ke dalam setiap tabung tersebut. Tabung positif dapat dilanjutkan ke uji konfirmasi dan pelengkap.

Tabel 14.6. Tabel perkiraan jumlah *Coliform* seri tabung 3-3-3

Tabung Positif			MPN/100 mL	Tabung Positif			MPN/100 mL
3x10 mL	3x1 mL	3x0,1 mL		3x10 mL	3x1 mL	3x0,1 mL	
0	0	1	3	3	0	0	23
0	1	0	3	3	0	1	39
0	0	0	4	3	0	2	64
1	0	1	7	3	1	0	48
1	1	0	7	3	1	1	75
1	1	1	11	3	1	2	120

Tabung Positif			MPN/100 mL	Tabung Positif			MPN/100 mL
3x10 mL	3x1 mL	3x0,1 mL		3x10 mL	3x1 mL	3x0,1 mL	
1	2	0	11	3	2	0	93
2	0	0	9	3	2	1	150
2	0	1	14	3	2	2	210
2	1	0	15	3	3	0	240
2	1	1	20	3	3	1	460
2	2	0	21	3	3	2	1100
2	2	1	28	3	3	3	>1100

3. Sampel air olahan menggunakan seri tabung 1x50 mL dan 5x10 mL

a. Uji Penduga

- 1) Disiapkan 1 botol berukuran 100 mL dan 5 tabung berukuran 20 x 150 mm berisi media laktosa sebagai berikut: 1 botol berisi media *single strength* sebanyak 50 mL (F1), dan 5 tabung berukuran 20 x 150 mm berisi media *double strength* sebanyak 10 mL (F2). Semua media dilengkapi dengan tabung durham terbaik.
- 2) Dimasukkan sebanyak 50 mL sampel air yang akan diuji ke dalam tabung F1, kemudian sebanyak 10 mL ke dalam masing-masing tabung F2.
- 3) Tabung diinkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam.
- 4) Hasil positif ditandai dengan kekeruhan, perubahan warna, dan adanya gas dalam tabung durham. Apabila tidak ada gas, harus dipastikan dengan menggoyang tabung, adanya gelembung gas yang naik dari dasar tabung menandakan uji positif.
- 5) Tabung negatif diinkubasi kembali selama 48 jam. Tidak adanya gas hingga masa akhir inkubasi ini menandakan hasil negatif. Apabila belum tampak tabung positif, inkubasi dilanjutkan hingga 48 jam.

b. Uji Konfirmasi

- 1) Tabung uji penduga yang positif diambil menggunakan ose bulat sebanyak 1-3 kali ke dalam media BGLB. Diambil kembali sebanyak 1-3 kali ke dalam media *Tryptone Water*. Diinkubasi pada suhu

37°C selama 24 jam atau $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ selama 24 ± 2 jam untuk mendeteksi *E. coli*.

- 2) Tabung positif ditandai dengan kekeruhan dan gas. *Tryptone Water* ditetesi sebanyak 1-2 tetes atau 0,1 mL reagen Kovac's, hasil positif *E. coli* menunjukkan warna merah pada permukaan media.
- 3) Jumlah tabung positif dari uji konfirmasi dicocokkan dengan tabel yang tersedia untuk mengetahui nilai MPN/100 mL (lihat tabel 14.7).

Tabel 14.7. Tabel Perkiraan Jumlah *Coliform* Seri Tabung 1 x 50 mL dan 5x10 mL

Tabung Positif		MPN/100 mL
1x50 mL	5x10 mL	
0	0	<1
0	1	1
0	2	2
0	3	4
0	4	5
0	5	7
1	0	2
1	1	3
1	2	6
1	3	9
1	4	16
1	5	>18

c. Uji pelengkap

- 1) Disiapkan media EMBA atau beberapa media tabung, seperti SIM, *Simmon's Citrate*, *Methyl Red*, *Voges Proskauer*, dan *Urea Agar*.
- 2) Lakukan inokulasi dari tabung uji konfirmasi yang positif. Inokulasi dapat dilakukan lebih dari satu cawan/tabung. Inkubasi dalam suhu 37°C selama 24 jam, sebagian diinkubasi pada suhu $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$ selama 24 ± 2 jam untuk mendeteksi *E. coli*.

3) Hasil positif di media EMBA untuk *E. coli* memiliki ciri koloni berwarna hijau metalik.

4. Sampel air olahan menggunakan seri tabung 10x10 mL
Prosedur yang dilakukan untuk seri tabung 10x10 mL hampir sama dengan seri tabung 1 x 50 mL dan 5x10 mL. 10 tabung diisi dengan media laktosa *double strength* dengan tabung durhamnya. Selanjutnya, dimasukkan sampel sebanyak 10 mL ke dalam 10 tabung tersebut. Tabung positif dapat dilanjutkan ke uji konfirmasi dan pelengkap.

Tabel 14.8. Tabel perkiraan jumlah *Coliform* seri tabung 10x10 mL

Tabung Positif 10x10 mL	MPN/100 mL
0	<1,1
1	1,1
2	2,2
3	3,6
4	5,1
5	6,9
6	9,2
7	12
8	16
9	23
10	>23

5. Sampel olahan menggunakan seri tabung 5 x 20 mL
Prosedur yang dilakukan untuk seri tabung 5 x 20 mL hampir sama dengan seri tabung 1 x 50 mL dan 5 x 10 mL. 5 tabung diisi dengan media laktosa *double strength* dengan tabung durhamnya. Selanjutnya, dimasukkan sampel sebanyak 20 mL ke dalam 5 tabung tersebut. Tabung positif dapat dilanjutkan ke uji konfirmasi dan pelengkap.

Tabel 14.9. Tabel Perkiraan Jumlah *Coliform* Seri Tabung 5 x 20 mL

Tabung Positif	MPN/100 mL
5x20 mL	
0	<1,1
1	1,1
2	2,6
3	4,6
4	8,0
5	>8,0

G. Kesalahan Umum dalam MPN

Terdapat dua kesalahan yang umum terjadi saat melakukan uji kualitas air menggunakan metode MPN, yaitu kombinasi angka pada tabung positif tidak sesuai dengan tabel statistik yang disediakan dan hasil positif atau negatif palsu.

1. Kombinasi Angka Tabung Positif tidak Sesuai dengan Tabel

Menurut prinsip pengenceran MPN, semakin kecil volume sampel yang diambil maka semakin kecil pula kemungkinan tabung menghasilkan positif, misalnya kombinasi angka 5-4-1. hal ini disebabkan karena semakin sedikit sampel yang diambil maka semakin sedikit pula atau tidak ada sama sekali bakteri yang terambil. namun, terkadang ditemukan hasil yang tidak sesuai dengan logika peluang, misalnya 4-5-1 dengan angka MPN 48. tidak kesesuaian ini dapat disebabkan karena sampel yang tidak dihomogenisasi secara sempurna atau memang banyak sel yang tidak sengaja terambil. apabila ditemukan ketidaksesuaian ini disarankan untuk mengulangi uji dengan lebih berhati-hati karena adanya kemungkinan kontaminasi atau kesalahan lainnya.

2. Hasil Positif atau Negatif Palsu

MPN merupakan metode yang hasil positifnya dinilai dengan melihat kekeruhan, perubahan warna, dan adanya gas. Selama proses analisis berlangsung, beberapa kesalahan dapat terjadi yang menyebabkan hasil yang tidak sesuai.

Hasil positif palsu dapat disebabkan, antara lain: **(a)** Bakteri *non-Coliform* tumbuh dan menghasilkan gas dalam media uji, seperti *Bacillus spp.* dan *Aeromonas spp.* Biasanya kedua bakteri tersebut memiliki ciri pertumbuhan yang menghasilkan *pellicle* atau biofilm yang lengket dan mengambang pada permukaan media. Saat melakukan uji konfirmasi, diusahakan *pellicle* atau biofilm ini tidak terambil oleh ose. **(b)** Memasukkan tabung durham pada saat pembuatan media tidak dilakukan dengan hati-hati sehingga terdapat gelembung udara yang dapat menyebabkan positif palsu. Disarankan untuk menggoyang tabung yang telah diinkubasi untuk melihat ada tidaknya gelembung udara di sekitar tabung durham yang naik ke atas. **(c)** Perubahan warna media dari merah ke kuning segera setelah memasukkan sampel padahal belum dilakukan inkubasi biasanya disebabkan oleh sampel air yang memiliki pH asam. Terkadang, *Phenol Red* ditambahkan ke dalam media untuk membantu melihat produksi asam oleh *Coliform* karena proses fermentasi laktosa setelah diinkubasi selama 24/48 jam. Perubahan warna media segera setelah sampel dimasukkan ke dalam media sering kali mengecoh petugas baru yang belum terbiasa dengan ciri pertumbuhan bakteri, sehingga diperlukan catatan bahwa uji positif harus menunggu waktu inkubasi 24/48 jam, keruh, dan menghasilkan gas. Hasil negatif palsu yang terjadi saat uji MPN, antara lain: **(a)** Terdapat kandungan klorin dalam sampel yang dapat mematikan *Coliform*. **(b)** Tabung durham tertutup oleh substrat sampel, sehingga gas tidak dapat masuk ke dalam tabung durham. **(c)** Pada pengujian sampel susu yang terlalu pekat dapat menyebabkan pengamatan hasil terganggu.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Jumaily, E. and Al-Wahab, N. Z. (2012) 'Nutritional Requirement of *Enterobacter cloacae* for Biodegradation of Hydrocarbons', *Journal of Biol-Science and Biotechnology*, 1(1), pp. 65–70.
- APHA AWWA WEF 9221 (2017) *Standard Methods*. 23rd edn. Edited by R. B. Baird, A. D. Eaton, and E. W. Rice. Washington, DC: American Public Health Association. doi: <https://doi.org/10.2105/SMWW.2882.004>.
- Chavda, K. D. et al. (2016) 'Comprehensive Genome Analysis of Carbapenemase-Producing *Enterobacter* spp.: New Insights into Phylogeny, Population Structure, and Resistance Mechanisms', *mBio*, 7(6), pp. e02093-16. doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.02093-16>.
- Eijkman, C. (1904) 'Die garungsprobe bei 460 als hilfsmittel bei der trinkwasseruntersuchung', *Zentr Bakteriol Parasitenk Abt I Orig*, 37, p. 742.
- Gundogan, N. (2014) 'Klebsiella', in Batt, C. A. and Tortorello, M. Lou (eds) *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd edn. Academic Press, pp. 383–388.
- Halkman, H. B. D. and Halkman, A. K. (2014) 'Indicator Organisms', in Batt, C. A. and Tortorello, M. Lou (eds) *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd edn. Academic Press, pp. 358–363.
- Hayder, T., Abusaiba, H. and Aljanaby, A. (2019) *Molecular Investigation of Antibiotic Resistance genes among Citrobacter freundii Isolated from Urinary Tract I Infection*. University of Kufa. doi: [10.13140/RG.2.2.22038.09282](https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22038.09282).
- ISO 6887 (2017) *Microbiology of the Food Chain-Preparation of Test Samples, Initial Suspension and Decimal Dilution for Microbiological Examination*. 6887-1:2017.
- Keller, R. et al. (1998) 'Occurrence of Virulence-Associated Properties in *Enterobacter cloacae*', *Infect Immun*, 66(2), pp. 645–649. doi: <https://doi.org/10.1128/iai.66.2.645-649-1998>.

- Khasanah, U., Mahasri, G. and Kusdarwati, R. (2021) 'Examination of Escherichia coli Bacteria in Blood Cockle Satay (*Anadara granosa*) Sold at Surabaya Traditional Market, Indonesia', *World's Veterinary Journal*, 11(1), pp. 79–84. doi: 10.54203/scil.2021.wvj11.
- Leclerc, H., Gavini, F. and Oger, C. (1981) 'Les indicateurs bactériens dans le contrôle bactériologique de l'eau: exigences et limites', *J. Fr. Hydrol*, 12, pp. 213–228.
- Montgomerie, J. Z. (1979) 'Epidemiology of Klebsiella and Hospital-Associated Infections', *Reviews of Infectious Diseases*, 1(5), p. 736. doi: 10.1093/clinids/1.5.736.
- Mueller, M. and Tainter, C. R. (2023) *Escherichia coli Infection*, StatPearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/> (Accessed: 21 January 2023).
- Patel, S. S. et al. (2017) 'Isolation and Identification of Klebsiella pneumoniae from Sheep-Case Report', *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), pp. 331–334. doi: 10.20546/ijcmas.2017.605.037.
- Percival, S. L. and Williams, D. W. (2014) 'Escherichia coli', in Percival, S. L. et al. (eds) *Microbiology of Waterborne Disease*. 2nd edn. Academic Press, pp. 89–117. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00006-8>.
- Simoons-Smit, A. M., Verweij-Van Vught, A. M. J. J. and MacLaren, D. M. (1986) 'The Role of K Antigens as Virulence Factors in Klebsiella', *Journal of Medical Microbiology*, 21(2), pp. 133–137. doi: 10.1099/00222615-21-2-133.
- SNI 2332 (2006) Cara Uji Mikrobiologi - Bagian I: Penentuan Coliform dan Escherichia coli pada Produk Perikanan. 01-2332.1–2015.
- SNI 2897 (2008) Metode Pengujian Cemaran Mikroba Daging, Telur, dan Susu, serta Hasil Olahannya. 2897:2008.

- Tindall, B. J., Sutton, G. and Garrity, G. M. (2017) 'Enterobacter aerogenes Hormaeche and Edwards 1960 (Approved Lists 1980) and Klebsiella mobilis Bascomb et al. 1971 (Approved Lists 1980) Share The Same Nomenclatural Type (ATCC 13048) On The Approved Lists and Are Homotypic Synonyms, With Consequences For', *Int J Syst Evol Microbiol*, 67(2), pp. 502-504. doi: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001572>.
- UNEP and WHO (1996) 'Microbiological Analysis', in Bartram, J. and Ballance, R. (eds) *Water Quality Monitoring-A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes*. United Nations and Environment Programme and the World Health Organization.
- Widyaningsih, W., Supriharyono, S. and Widyorini, N. (2016) 'Analisis Total Bakteri Coliform di Perairan Muara Kali Wiso Jepara', *Management of Aquatic Resources Journal*, 5(3), pp. 157-164. doi: 10.14710/marj.v5i3.14403.

BAB 15

MPN COLI TINJA

Dr. Ariyanto Nugroho, SKM, M.Sc

A. Latar Belakang

Problematika dalam penyelenggaraan makanan adalah terjadinya perubahan kualitas makanan karena terjadi Cemar Mikroba adalah cemaran dalam Pangan Olahan yang berasal dari mikroba yang dapat merugikan dan membahayakan kesehatan manusia. (Peraturan Badan POM, 2019). Kualitas makanan dan minuman secara bakteriologis dapat dilihat dari keberadaan mikroorganisme indikator, pada penyelenggaraan makanan disebut dengan kriteria Mikrobiologi, yaitu ukuran manajemen risiko yang menunjukkan keberterimaan suatu pangan atau kinerja proses atau sistem keamanan pangan yang merupakan hasil dari pengambilan sampel dan pengujian mikroba, toksin atau metabolitnya atau penanda yang berhubungan dengan patogenisitas atau sifat lainnya pada titik tertentu dalam suatu rantai pangan. (Peraturan Badan POM, 2019). Parameter bakteriologis yang digunakan dalam berbagai peraturan terkait penyelenggaraan makanan dan minuman adalah Coliform. Coliform adalah bakteri gram negatif berbentuk batang bersifat anaerob atau fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan dapat memfermentasi laktosa untuk menghasilkan asam dan gas pada suhu 35°C-37°C (Knechtges, 2011). Golongan bakteri Coliform adalah *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella* (Batt & Tortorello, 2014). Bakteri Coliform adalah golongan bakteri intestinal yaitu

hidup di dalam saluran pencernaan manusia (Treyens, 2009). Penggolongan bakteri Coliform dan sifat-sifatnya, dibagi menjadi dua yaitu Coliform fekal diantaranya bakteri *Escherichia coli* berasal dari tinja manusia. Coliform non fekal diantaranya *Aerobacter* dan *Klebsiella* yang bukan berasal dari tinja manusia, melainkan berasal dari hewan/tanaman yang sudah mati (Suriaman & Juwita, 2008).

B. Coliform dan Coli Tinja

Total coliform dan *E. coli* adalah indikator yang biasa digunakan untuk mengukur pencemaran pada makanan dan minuman. Bakteri indikator harus memenuhi syarat-syarat berikut, yang diuraikan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (World Health Organization, 2006): 1. selalu ada di feses manusia atau hewan berdarah panas lainnya 2. mudah dideteksi dengan metode sederhana 3. tidak boleh berkembang di air alami. Walaupun penghitungan coliform secara keseluruhan tidak selalu bermanfaat untuk mengevaluasi risiko kesehatan karena beberapa coliform dapat tumbuh dan bertahan di dalam air dan seringkali muncul tanpa kontaminasi feses, itu mungkin berguna sebagai ukuran efektivitas tindakan pencegahan masalah Kesehatan yang berkaitan dengan cemaran bakteriologis (World Health Organization, 2006)

WHO telah menetapkan *E. coli* yang merupakan salah satu jenis koli tinja, digunakan sebagai indikator yang paling tepat untuk keamanan air, tetapi penghitungan koli tinja adalah ukuran yang dapat diterima. Koli tinja adalah bagian dari kelompok koliform yang mampu memfermentasi laktose pada suhu antara 44 dan 45 derajat Celcius. Sebagian besar organisme dalam koli tinja adalah *E. coli*, yang jarang ditemukan jika tidak ada kontaminasi feses, dan demikian merupakan indikator yang sedikit lebih dapat diandalkan untuk keamanan air. Jadi, untuk memverifikasinya, sejumlah organisme harus diperiksa, seperti *bakteriophage*, *Clostridium perfringen*, dan *Enterococci* usus (World Health Organization, 2006)

C. *Escherechia coli*

Bagi mereka yang bekerja dalam bidang mikrobiologi, nama bakteri *Escherichia coli*, juga dikenal sebagai *Bacterium colicommune*, diambil dari nama penemuannya, Theodor Escherich. Pada tahun 1907, Massini memberi nama *E. coli* sebagai *Bacterium coli mutabile*. *E. coli* adalah bagian dari mikroflora yang biasanya ada di saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. Keberadaannya di dalam air menunjukkan bahwa air terkontaminasi oleh feces, yang mungkin juga mengandung mikroorganisme patogen lainnya. Jika jumlah bakteri ini meningkat dalam saluran pencernaan atau jika ada di luar usus, *E. coli* menjadi patogen. *E. coli* menghasilkan enterotoksin, yang menyebabkan diare. (Brooks et al., 2004).

Meskipun *E. coli* merupakan mikroorganisme indikator yang digunakan dalam analisis air untuk menguji kontaminasi tinja, *E. coli* tidak selalu ditularkan melalui air, melainkan melalui aktivitas tangan ke mulut atau infeksi pasif melalui makanan dan minuman. (Meliawati, 2009). *E. coli* dapat menyebar melalui kontak langsung (bersentuhan, berjabat tangan, dll.) dan kemudian melalui mulut. Namun, *E. coli* juga dapat menyebar di lingkungan kita secara pasif melalui makanan atau minuman. Uji analisis air menggunakan mikroorganisme *E. coli* untuk mengukur tingkat pencemaran air tinja. *Escherichia coli* memainkan peran penting dalam kehidupan kita. *E. coli* tidak hanya ada di dalam tubuh (usus besar), tetapi juga menghasilkan colicin yang melindungi saluran pencernaan dari patogen. *E. coli* menjadi patogen ketika berpindah dari habitat normalnya ke bagian inang lainnya. Misalnya, jika *E. coli* menyerang saluran genitovesikal di usus, dapat menyebabkan sistitis, yaitu peradangan pada lapisan organ inang.

D. Morfologi *Escherichia Coli*

Escherichia Coli saat ini dianggap sebagai satu genus yang mengandung ratusan antigen. Tipe ini dicirikan oleh berbagai kombinasi antigen O (antigen lipopolisakarida somatik dinding sel), K (antigen polisakarida kapsuler), dan H (antigen protein flagellar). Antigen K diklasifikasikan menjadi antigen L, A, atau B berdasarkan sifat fisik yang berbeda. Batang E Bakteri koliform tertentu dapat menyebabkan gastroenteritis sedang hingga berat pada manusia dan hewan.

Secara morfologi *Escherichia coli* mempunyai ciri-ciri umum sebagai berikut (Meliawati, 2009): a) Bentuknya cenderung bulat dan memanjang, b) Batang biasanya berukuran 0,5 x 1-3. c) Mereka membentuk garis pendek berpasangan, d) motil atau non motil, e) menggunakan periflagella, f) biasanya tidak membentuk kapsul, g) tidak membentuk spora, h) bersifat Gram negatif, i) dapat bersifat aerobik atau anaerobik.

Sedangkan sifat khusus *E. coli* adalah: a) *Escherichia coli* merupakan parasit yang hidup pada saluran cerna manusia dan hewan berdarah panas, b) Pada manusia dapat menyebabkan enteritis, peritonitis, dan sistitis, c) Hasil tes metil merah positif. Keluarga ini memfermentasi laktosa dan glukosa untuk menghasilkan asam dan gas, d) Menghasilkan asam dalam jumlah besar dari glukosa, tetapi tidak menghasilkan asetilmetilkarbinol, e) CO₂ dan H₂ diproduksi dalam jumlah yang kira-kira sama dalam glukosa, f) Secara umum, asam urat tidak dapat digunakan sebagai satu-satunya sumber nitrogen, g) Terdeteksi dalam tinja, h) Asam sitrat dan garam asam sitrat tidak dapat digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon.

Untuk kehidupannya *E. coli* mempunyai flagel yang merupakan organ motil bagi bakteri yang bergerak, namun tidak semua bakteri memiliki flagela. Mikroskop elektron menunjukkan bahwa flagela adalah benang protoplasma yang muncul pada titik tepat di bawah membran sel. Basis ini disebut rhizoblas.

Komposisi kimia flagela terdiri dari protein yang disebut flagellin, yaitu sejenis miosin. Ukuran flagel bervariasi antar

spesies, dan panjang flagel biasanya sedikit lebih panjang dari sel, tetapi diameternya 0,02 hingga 0,1 μ . Beberapa flagela berada distal dan lainnya lateral. Posisi flagel *E. coli* adalah lateral, atau peritrichous, dengan flagel memanjang dari ujung ke samping. Kecepatan pergerakan rata-rata *E. coli* adalah sekitar 25 unit per detik atau 10 cm per jam. Flagela digunakan untuk penggerak, mengikat, dan kawin.

Kebanyakan bakteri memiliki lapisan lendir yang menutupi seluruh dinding selnya. Lendir ini melindungi sel dari kekeringan, Lapisan mukosa terdiri dari karbohidrat dan, pada spesies tertentu, unsur N atau P. Dinding sel bakteri sangat tipis, namun memiliki fungsi seperti memberi bentuk tertentu pada sel, melindunginya, dan mengatur masuk dan keluarnya bahan kimia. Dinding sel juga berperan dalam pembelahan sel. Komposisi kimiawi dinding sel bervariasi antar spesies, tetapi pada beberapa spesies terbuat dari selulosa atau hemiselulosa. Pada spesies lain, dinding sel mengandung nitrogen dan kitin. Beberapa protein juga ada di dinding sel.

Sel mempunyai membran sitoplasma semi-selektif permeabel yang terletak tepat di bawah dinding sel, Karena sifat ini, membran sitoplasma memiliki sifat penting dalam pertukaran zat antar dinding sel. Jika membran sitoplasma ini rusak maka bakteri akan mati dalam waktu singkat yang akan berdampak besar pada kelangsungan hidup bakteri tersebut.

Selain itu, sel juga mempunyai inti. Para ahli mempunyai empat pendapat berbeda mengenai hal ini. Artinya, separuh ahli berpendapat bahwa bakteri tidak memiliki nukleus atau apapun yang menyerupai nukleus. Pendapat kedua menyatakan bahwa seluruh isi sel adalah nukleus, hampir tidak ada protoplasma yang merupakan lapisan tipis yang mengelilinginya.

Pendapat ketiga ialah bahwa tersebar di dalam protoplasma terdapat butir-butir kromatin yang dianggap sebagai inti, sedang pendapat keempat bahwa bakteri mempunyai satu atau lebih inti. Kromatin adalah bahan inti berupa ADN dan protein yang menyerap zat warna yang bersifat basa. Akhirnya orang berpendapat meskipun bakteri

mempunyai nukleus tetapi tidak dapat segera terlihat melainkan harus dengan perlakuan tertentu atau ditumbuhkan di dalam medium yang tidak mengandung nitrogen. Sekarang telah diketahui dengan pasti bahwa bakteri mempunyai inti di dalam selnya yang terdiri atas ADN (asam-deoksiribonukleat) dan ARN (asam-ribonukleat). Apabila bakteri tidak mempunyai inti tentu bakteri itu tidak mungkin bisa mengumpulkan sifat-sifat baka dalam inti. Di antara membran dan nukleus terdapat sitoplasma yaitu merupakan bahan yang mengisi volume sel yang membatasi dinding sel dan membran dan di dalamnya terdapat granula, spora, vakuola dan tanda-tanda internal lainnya.

Untuk perkembangbiakan. pada umumnya bakteri hanya mengenal satu macam pembiakan yaitu dengan cara seksual atau vegetatif. Pembiasaan ini berlangsung cepat, apabila faktor-faktor luar menguntungkan bagi dirinya. Pembiasaan dengan pembelahan diri atau divisio dapat dibagi atas 3 fase yaitu: a) Dimana sitoplasma terbelah oleh sekat yang tumbuh tegak lurus pada arah memanjang. b) Sekat tersebut diikuti oleh suatu dinding melintang. Dinding melintang ini tidak selalu merupakan penyekat yang sempurna. Ditengah-tengahnya sering ketinggalan suatu lubang kecil, yang mana protoplasma dari kedua sel baru masih dapat berhubungan. c) Pada fase terakhir ialah terpisahnya kedua sel tersebut. d)

Apabila faktor-faktor luar menguntungkan, maka setelah terjadi pembelahan, sel-sel baru tersebut akan membesar sampai masing- masing menjadi sebesar sel induknya. Pendapat ketiga menyatakan bahwa terdapat partikel-partikel kromatin yang tersebar di seluruh protoplasma yang dianggap sebagai nukleus, sedangkan pendapat keempat menyatakan bahwa bakteri mempunyai satu atau lebih inti, yang menyatakan ada. Kromatin merupakan bahan inti berupa ADN, yaitu protein yang menyerap pigmen basa. Terakhir, ada pendapat bahwa bakteri mempunyai nukleus, namun tidak langsung terlihat dan harus dirawat dalam kondisi tertentu atau ditumbuhkan dalam media bebas nitrogen. Sekarang diketahui secara pasti bahwa di

dalam sel bakteri terdapat inti yang terdiri dari ADN (asam deoksiribonukleat) dan ARN (asam ribonukleat). Tentu saja, jika bakteri tidak memiliki nukleus, mustahil bagi mereka untuk mengumpulkan keabadian di dalam nukleusnya. Di antara membran dan inti sel terdapat sitoplasma, suatu bahan yang mengisi volume sel yang berdekatan dengan dinding sel dan membran dan di dalamnya terdapat butiran, spora, vakuola, dan fitur internal lainnya.

Untuk reproduksi bakteri umumnya hanya mengetahui satu cara reproduksi: reproduksi seksual atau vegetatif. Reproduksi ini terjadi dengan cepat jika faktor eksternal menguntungkannya. Reproduksi dengan pembelahan atau pembelahan dapat dibagi menjadi tiga tahap: a) Bila sitoplasma terpotong oleh septa yang tumbuh vertikal dengan arah memanjang, b) Dinding samping berbatasan dengan partisi. Dinding samping ini belum tentu terisolasi sempurna. Seringkali terdapat lubang kecil di tengahnya, yang memungkinkan protoplasma kedua sel baru tersebut tetap berkomunikasi, c) Langkah terakhir adalah memisahkan kedua sel, d) Jika faktor luar menguntungkan, setelah pembelahan sel-sel baru akan mengembang hingga masing-masing sebesar sel induk.

E. Masalah Kesehatan yang Disebabkan *E. coli*

Salah satu contoh yang bermasalah akibat bakteri *E. coli* pada sanitasi makanan adalah ketersediaan air minum yang aman dan sehat bagi manusia. pasokan air minum yang bersih dan aman sangat berpengaruh terhadap kesehatan yang baik bagi manusia, yaitu bebas dari bahan kimia beracun dan mikroorganisme patogen. Oleh karena itu, kunci untuk menentukan air minum tersebut aman atau tidak adalah mendeteksi kontaminasi tinja. Kadar tinja yang tinggi dapat dikatakan bahwa air tersebut mengandung patogen. Coliform dan *Escherichia coli* sering dijadikan indikator kontaminasi tinja pada air minum. Air yang terkontaminasi *Escherichia coli* dan *Coliform* dapat menyebabkan bahaya bagi kesehatan dan banyak menyebabkan masalah serius, seperti diare, enteritis dan dalam

beberapa kasus dapat menyebabkan kematian. (Daud et al., 2017).

Ada beberapa faktor yang menyebabkan kontaminasi air minum salah satunya adalah sumber air yang digunakan. Sebagai contoh penyediaan air minum yang ada di masyarakat saat ini adalah Air Minum Isi Ulang (AMIU), pada AMIU salah satu sumber air yang digunakan, yaitu mata air, umumnya sumber mata air adalah sumber terbaik untuk air minum karena lokasinya yang jauh dari pemukiman dan aktivitas peternakan. Namun, tidak dapat dipungkiri juga sumber dari mata air dapat tercemar walaupun letaknya di lokasi yang sudah cukup baik.

Banyak faktor-faktor lain yang akhirnya membuat sumber mata air tercemar, misalnya penyebab kontaminasi pada saat pengangkutan air dipindahkan ke tangki penyimpanan, sumber air baku disimpan lebih dari 3 hari dapat mempengaruhi kualitas air minum yang menyebabkan tumbuhnya bakteri. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Puspita Ratri et al., 2018), dari 3 depot air isi ulang yang berasal dari sumber mata air terkandung bakteri Coliform pada sampel D4, D8, dan D9. Sampel D4 mengandung bakteri Coliform dalam jumlah banyak, D8 sebanyak 111 CFU/100ml, dan D9 sebanyak 107 CFU/100 ml. Penelitian (Khoeriyah & Anies, 2015), sebanyak 5 depot air isi ulang mengandung bakteri Coliform, yang menggunakan sumber air baku berasal dari mata air. Penyebabnya adalah sumber mata air terletak di kawasan terbuka yang memungkinkan terjadi kontaminasi. Selain itu juga karena kurangnya perhatian akan kebersihan alat yang digunakan untuk memproduksi air minum.

F. Pemeriksaan Bakteriologis

Parameter bakteriologis air pada dasarnya terdiri dari beberapa jenis bakteri (tipe patogen) yang termasuk dalam mikroorganisme penyebab penyakit saluran cerna. Mahluk ini mempunyai mekanisme untuk menopang kehidupan, karena ia dapat hidup dan menjalani siklus hidupnya secara berantai di berbagai medium, hewan, dan manusia (Slamet, 2022). Penyakit

yang ditularkan melalui air diklasifikasikan menjadi empat kelompok, salah satunya adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri yang ada di dalam air. Setelah meminum air ini, seseorang merasakan sakit perut dan mual (Azwar A, 1979). Pada air bersih atau air minum, kontaminasi dapat terjadi dari bahan-bahan organik seperti bakteri patogen (berumur panjang di air) maupun bakteri non-patogen. Kelompok bakteri yang dapat menyebabkan penyakit lambung yang berhubungan dengan air minum antara lain *Salmonella enterica*, *Trichophyton rubrum*, *Leptospira*, *Escherichia coli* (strain patogen), dan *Pseudomonas*. Bakteri dalam usus manusia, termasuk 90 *E. coli* (strain non-patogen) (Jawetz et al., 2005)

Pemeriksaan bakteriologis air minum memerlukan organisme indikator sebagaimana analisis air mengacu pada kehadiran mikroorganisme dalam air minum membuktikan air tersebut tercemar bahan tinja dari manusia/hewan berdarah panas atau hasil pembusukan materi organik. Hal ini berpeluang bagi mikroorganisme patogen, secara berkala terdapat dalam saluran pencernaan, untuk masuk dalam air minum. Organisme indikator memenuhi syarat, antara lain: 1). Terdapat dalam air tercemar dan tidak ada dalam air tidak tercemar, 2). Terdapat dalam air bila ada mikroorganisme patogen, 3). Jumlahnya berkorelasi dengan kadar polusi, 4). Mempunyai kemampuan bertahan hidup lebih besar daripada patogen, 5). Mempunyai sifat yang seragam dan mantap, 6). Tidak berbahaya bagi manusia dan hewan, 7). Jumlahnya lebih banyak daripada organisme patogen (hal ini menyebabkan lebih mudah terdeteksi), dan 8). Mudah dideteksi dengan teknik-teknik laboratorium yang sederhana. Beberapa bakteri atau kelompoknya dievaluasi sebagai organisme indikator, di antaranya, *E. coli* dan coliform lainnya, memenuhi hampir semua syarat indikator ideal. Bakteri tersebut dianggap indikator pencemaran bakteriologis air minum.

Pemeriksaan bakteriologis air bersih penting dilakukan sebagai sebuah tindakan kewaspadaan dini dan analisis faktor risiko air bersih sebagai sumber penularan penyakit dan

masalah kesehatan. Jika itu dilakukan dengan analisa bakteriologis maka mesti dilakukan dengan analisa laboratorium. Analisis bakteriologis dilakukan berdasarkan organisme indikator. Pengujian memakai organisme indikator merupakan uji yang lazim dan rutin dilakukan. Organisme ini adalah bakteri yang menunjukkan adanya kontaminasi air oleh tinja manusia atau hewan berdarah panas. Analisis dilakukan dengan mengambil contoh air sebanyak tiga kali, masing-masing 100 ml dan ditempatkan dalam botol erlenmeyer steril. Guna mendapat hasil yang mendekati keadaan alami, diperlukan pengenceran sampai 10⁻¹⁰. Deteksi bakteri dalam air, memakai metode terdiri dari *standard plate count* (SPC), metode dengan tabung fermentasi (*most probable number*, MPN), dan penyaringan dengan membran. Metode MPN dan penyaringan dengan membran lebih cocok untuk tes coliform total dan tes *E. coli* (Alaerts. & Santika, 1984). Lebih khusus, metode penyaringan dengan membran, lebih tepat pada media air yang secara visual tampak agak keruh/keruh sehingga memerlukan penyaringan dahulu (biasanya untuk air bersih atau kotor), sedangkan air minum telah tampak jernih karena telah mengalami filtrasi pada proses pengolahannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alaerts., G., & Santika, S. S. (1984). Metode Penelitian Air. Penerbit Usaha Nasional.
- Azwar A. (1979). Pengantar Ilmu Kesehatan Masyarakat. Mutiara. Jakarta.
- Batt, C. A., & Tortorello, M.-L. (2014). Encyclopedia Food Microbiology II. USA: Elsevier.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., Morse, S. A., & Ornston, N. L. (2004). Jawetz, Melnick & Adelberg's Mikrobiologi Kedokteran. EGC.
- Daud, M. K., Nafees, M., Ali, S., Rizwan, M., Bajwa, R. A., Shakoor, M. B., Arshad, M. U., Chatha, S. A. S., Deebe, F., Murad, W., Malook, I., & Zhu, S. J. (2017). Drinking Water Quality Status and Contamination in Pakistan. In BioMed Research International (Vol. 2017). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2017/7908183>
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (2005). Mikrobiologi kedokteran medical microbiology Jawetz, Melnick Adelberg's; penerjemah, Eddy Mudihardi, RF Maulany ; editor, Irawaty Setiawan. Jakarta Salemba Medika.
- Khoeriyah, A., & Anies. (2015). Aspek Kualitas Bakteriologis Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) di Kabupaten Bandung Barat. Majalah Kedokteran Bandung, 47(3), 137-144. <https://doi.org/10.15395/mkb.v47n3.594>
- Knechtges, P. L. (2011). Food Safety Theory and Practice. East Carolina University, Jones & Bartlett. Available from : Google book .
- Meliawati, R. (2009). Escherichia coli Dalam Kehidupan Manusia. Bio Trends, Vol 4/No II .
- Peraturan Badan POM. (2019). BADAN PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN REPUBLIK INDONESIA.

- Puspita Ratri, L., Wulandari, W., Studi Kesehatan Masyarakat, P., & Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta Jl Yani Tromol Pos I Pabelan Kartasura Surakarta, F. A. (2018). The 8 th University Research Colloquium. In Universitas Muhammadiyah Purwokerto (Vol. 66).
- Slamet, J. S. (2022). Kesehatan Lingkungan. Penerbit Gajah Mada. University Press Yogyakarta.
- Suriaman, E., & Juwita. (2008). Jurnal penelitian mikrobiologi pangan “uji kualitas air”. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang. [Http://Www.Scribd.Com](http://www.scribd.com).
- Treyens, C. (2009). Bacteria and Private Wells. Available from: Google [[Www.Nesc.Wvu.Edu](http://www.nesc.wvu.edu)], 19-22.
- World Health Organization. (2006). Guidelines for drinking-water quality: first addendum to third edition.

BAB 16 | ANGKA LEMPENG TOTAL (ALT)

Bambang Supriyanta, S.Si., M.Sc

A. Pendahuluan

Memperkirakan jumlah sel bakteri dalam sampel, yang dikenal sebagai jumlah bakteri, sering dilakukan oleh Ahli Teknologi Laboratorium (ATLM). Jumlah bakteri dalam sampel klinis berfungsi sebagai indikasi tingkat infeksi, sedangkan jumlah bakteri pada air minum, makanan, obat-obatan, dan bahkan kosmetik merupakan indikator untuk mendeteksi kontaminasi.

Ada dua pendekatan utama yang digunakan untuk mengukur jumlah sel bakteri. Metode langsung melibatkan penghitungan sel bakteri, sedangkan metode tidak langsung bergantung pada pengukuran keberadaan atau aktivitas sel bakteri tanpa benar-benar menghitung sel bakteri secara individu. Baik metode langsung maupun tidak langsung memiliki keunggulan dan kekurangan (*Mikrobiologi OpenStax*, 2018)(Green, 2019).

B. Metode Menghitung Bakteri

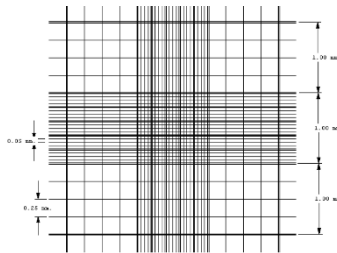
Beberapa Metode Untuk Menghitung Bakteri Antara Lain:

1. Hitung Mikroskopis Langsung

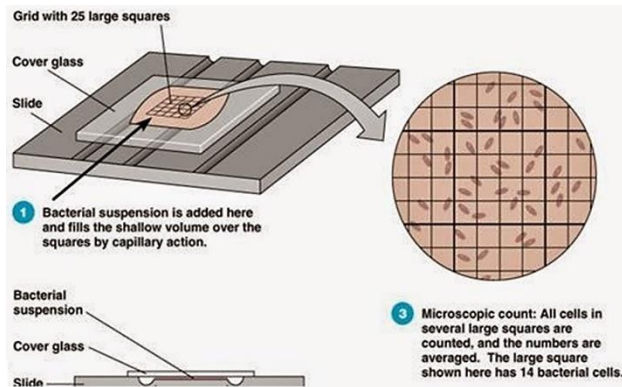
Hitung Mikroskopis Langsung memerlukan bilik hitung dan mikroskop, digunakan untuk menghitung jumlah bakteri secara langsung di bawah mikroskop. Bilik hitung

yang digunakan pada Hitung Sel Langsung yaitu bilik hitung Petroff-Hauser, seperti yang terlihat pada Gambar 16.1.

Secara garis besar menghitung bakteri dengan Hitung Mikroskopis Langsung sebagai berikut: Satu tetes tetes kultur bakteri dengan menggunakan pipet Pasteur diteteskan pada bilik hitung Petroff-Hauser, ditutup dengan gelas penutup, dihitung sel bakteri pada 10 bidang. Jumlah bakteri permililiter sampel dihitung dengan rumus: jumlah sel bakteri yang dihitung $\times 2,0 \times 10^7 \times$ faktor pengenceran/jumlah kotak kecil yang dihitung (10), seperti yang terlihat pada Gambar 16.2.



Gambar 16.1. Bilik Hitung Petroff-Hauser (Acharya, 2024)



Gambar 16.2. Bilik Hitung Petroff-Hauser yang Diisi Suspende Bakteri

Keunggulan metode Hitung Sel Langsung antara lain:

- Instruksi kerja mudah, langsung dapat dikerjakan
- Dapat mengamati morfologi bakteri sambil menghitung bakteri

- c. Suspensi bakteri yang pekat dapat dihitung, setelah dilakukan pengenceran

Kekurangan metode Hitung Sel Langsung antara lain:

- a. Tidak dapat membedakan sel hidup dan sel mati
- b. Tidak dapat mengamati sel bakteri yang kecil
- c. Tidak dapat digunakan pada suspensi bakteri dengan kepadatan (konsentrasi) yang rendah ($< 10^7$ bakteri per ml)

Penghitungan mikroskopis langsung juga dilakukan dengan menggunakan pewarna fluoresen. Pewarna ini populer di laboratorium karena kemampuannya untuk menodai semua spesies bakteri dalam sampel tertentu, spesies tertentu, atau komponen sel tertentu. Beberapa contoh pewarna fluoresen adalah cyanoditolyt tetrazolium klorida (CTC), auramine, acridine orange, dan rhodamine. Pewarna fluoresen yang paling umum digunakan untuk menodai bakteri adalah acridine orange. Dalam metode ini, volume sampel yang diketahui diwarnai dengan acridine orange dan kemudian disaring melalui filter $0,22 \mu\text{m}$. Filter ini menjebak bakteri yang kemudian diperiksa di bawah mikroskop fluoresen. Dengan menghitung bakteri pada area yang ditentukan pada filter, konsentrasi bakteri dalam sampel asli dapat ditentukan (Willey, 2009).

2. Turbidimetri

Turbidimetri mengukur berkurangnya sinar yang ditransmisikan karena efek hamburan partikel tersuspensi. Metode Turbidimetri memerlukan spektrofotometer untuk mengukur hamburan partikel tersuspensi dalam sampel [3]

Hamburan partikel tersuspensi atau kekeruhan dapat disebabkan oleh endapan kimiawi, bakteri atau mikroorganisme lainnya. Metode turbidimetri adalah metode yang cepat dan efisien untuk mengukur dan memperkirakan jumlah bakteri dalam sampel tertentu.

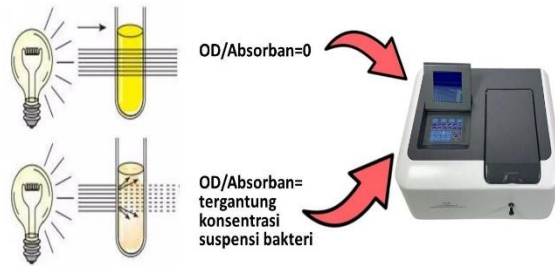
Meskipun Turbidimetri lebih cepat daripada pemeriksaan *Total Plate Count* (TPC) atau Angka Lempeng Total (ALT), namun diperlukan standar konsentrasi bakteri

untuk perhitungan konsentrasi bakteri yang diperiksa, sehingga mengharuskan Ahli Teknologi Laboratorium medis (ATLM) atau analis laboratorium mengerjakan metode yang lain. Prosedur yang diikuti meliputi:[5]

- a. Kekeruhan berbagai konsentrasi spesies bakteri tertentu dalam media kultur ditentukan.
- b. Dengan menggunakan Angka Lempeng Total (ALT), jumlah mikroorganisme yang dapat hidup per mililiter sampel diperkirakan.

Secara garis besar prinsip metode Turbidimetri sebagai berikut:

Absorbansi pada Spektrofotometer di posisikan 0, yang dilakukan dengan menggunakan sampel medium yang tidak diinokulasi bakteri (blangko). Sampel yang berisi suspensi bakteri (sampel) dan suspensi bakteri yang telah diketahui konsentrasinya (standar) dibaca. Ketika sinar melewati sampel suspensi koloid bakteri di dalam kuvet, suspensi bakteri menghamburkan sinar, sehingga mengurangi sinar yang diteruskan. Sinar yang dihamburkan oleh suspensi bakteri dapat diperkirakan jumlah bakteri dalam sampel, karena sinar yang dihamburkan oleh suspensi koloid bakteri berbanding lurus dengan jumlah bakteri[5]. Konsentrasi suspensi bakteri sampel dihitung dengan absorbansi suspensi bakteri (sampel) dibagi absorbansi suspensi bakteri yang telah diketahui konsentrasinya (standar) dikalikan konsentrasi suspensi bakteri (Acharya, 2024).



Gambar 16.3. Pengukuran Kekeruhan Menggunakan Spektrofotometer.

Panjang gelombang yang digunakan ditentukan berdasarkan warna larutan. Misalnya, jika warnanya putih, digunakan 420 nm, 540 nm jika warnanya kuning[1] , dan 600-625 nm jika larutannya berada dalam kisaran warna kuning hingga coklat.

Keunggulan metode turbidimetri

- a. Lebih cepat daripada metode ALT
- b. Dapat dilakukan tanpa merusak sampel.

Keterbatasan metode turbidimetri

- a. Metode turbidimetri untuk pengukuran dengan jumlah sel bakteri yang banyak, sekitar 100 juta sel per mililiter.
- b. Jika massa bakteri meningkat lebih dari biasanya dalam sampel, suspensi bakteri menutupi sinar yang melewati kuvet, sehingga menghasilkan perhitungan yang tidak akurat.

3. *Total Plate Count (TPC) atau Angka Lempeng Total (ALT)*

Metode ALT dapat dilakukan dengan metode cawan gores (*streak plate*) atau cawan tuang (*pour plate*). Sangat penting untuk memastikan bahwa media PCA pada cawan petri, tidak penuh sesak dengan koloni bakteri, karena dalam kondisi seperti itu, beberapa sel bakteri mungkin tidak membentuk koloni atau menyatu satu sama lain sehingga menghasilkan hasil yang salah. Secara statistik, menghitung koloni bakteri yang paling valid hanya pada cawan petri yang berisi 25 hingga 250 koloni, untuk itu harus dilakukan

pengenceran sampel yang bertujuan untuk mengurangi jumlah bakteri sehingga dapat dihitung dengan mudah. Setelah pengenceran serial, diinokulasikan pada media kultur yang sesuai, diinkubasikan, kemudian semua koloni mikroorganisme yang tumbuh dihitung (Alfiyanti & Putri, 2020)(Acharya, 2024)

Hasil pemeriksaan ALT dinyatakan sebagai unit pembentuk koloni per mililiter atau *Colony Forming Unit*(CFU/mL) dan tidak sel per mililiter karena lebih dari satu sel mungkin tumbuh di tempat yang sama sehingga menghasilkan koloni tunggal. Selain itu, sampel bakteri yang tumbuh dalam kelompok atau rantai sulit untuk dipisahkan supaya setiap sel bakteri tunggal menghasilkan koloni yang tunggal juga. Jumlah bakteri biasanya dinyatakan sebagai unit pembentuk koloni per gram (*Colony Forming Units/g* atau CFU/g) untuk sampel padat atau per mililiter (*Colony Forming Units* atau CFU/ml) (Prescott, 2014)

Keterbatasan metode ALT antara lain:

- a. Metode ALT memerlukan waktu di mana setiap tahap, termasuk pengenceran, pelapisan, inkubasi, dan persiapan media, membutuhkan waktu yang tetap.[3]
- b. Hanya sel yang hidup yang mengembangkan koloni; oleh karena itu, metode ini hanya dapat menghitungnya.
- c. Gumpalan atau rantai sel dapat berkembang menjadi satu koloni, yang menyebabkan hasil yang salah.
- d. Koloni hanya dapat muncul dari organisme yang dapat tumbuh dalam kondisi yang disediakan. Hal ini dapat menyebabkan kesalahan perhitungan apabila bakteri tersebut memerlukan suatu kondisi yang khusus.

Beberapa hal yang harus disiapkan untuk pemeriksaan ALT antara lain:

- a. Media *Plate Count Agar* (PCA)

Media PCA adalah media bakteri yang digunakan untuk menghitung jumlah total bakteri aerobik yang ada dalam sampel. Media PCA, juga dikenal sebagai Tryptone Glucose Ragi Agar atau Casein-Peptone Dextrose Yeast

Agar. Media PCA terdiri dari berbagai komponen yang berkontribusi terhadap pertumbuhan bakteri antara lain:

1) Enzimatik kasein

Kasein berfungsi sebagai sumber asam amino, nitrogen, karbon, vitamin, dan mineral, menyediakan nutrisi penting yang dibutuhkan untuk metabolisme dan reproduksi bakteri.

2) Ekstrak ragi

Ekstrak ragi adalah bahan utama lain yang memasok vitamin B kompleks, yang merupakan kofaktor penting bagi banyak reaksi enzimatik yang terlibat dalam pertumbuhan bakteri.

3) Glukosa

Glukosa merupakan karbohidrat yang dapat difermentasi dalam PCA, bertindak sebagai sumber energi untuk metabolisme bakteri. Bakteri dapat memanfaatkan glukosa melalui fermentasi, menghasilkan energi dan produk sampingan metabolisme. Ketersediaan glukosa memastikan bakteri memiliki nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan reproduksi.

4) Agar

Agar yang merupakan zat pematid yang berasal dari rumput laut. Agar membentuk matriks seperti gel ketika didinginkan, memberikan permukaan yang padat bagi koloni bakteri untuk berkembang. Ini membantu dalam isolasi dan pencacahan koloni individu, memfasilitasi visualisasi kuantifikasi populasi bakteri (Atlas, 2010).

b. Kontrol Kualitas Media PCA

Kontrol kualitas penting dalam mikrobiologi untuk memastikan konsistensi dan keandalan prosedur dan hasil laboratorium. Beberapa aspek kontrol kualitas yang berkaitan dengan media PCA antara lain:

1) Penampilan

Media PCA sebelum digunakan harus terlihat sebagai bubuk yang tidak menggumpal, homogen dan berwarna kuning.

2) Pembentukan Gel

Media PCA harus dapat membentuk gel yang kuat setara dengan gel Agar 1.5%. Karakteristik ini memastikan bahwa media memadat secara memadai untuk mendukung pertumbuhan bakteri dan pembentukan koloni.

3) Warna dan Kejernihan

Media PCA harus dapat membentuk gel bening berwarna kuning muda hingga sedikit opalescent dan jernih.

4) pH

Media PCA mempunyai kisaran pH 6.80-7.20 pada suhu 25°C. Kisaran pH ini memastikan kondisi optimal untuk pertumbuhan bakteri dan aktivitas metabolisme.

5) Konsentrasi

Media PCA yang berupa media semi solid mempunyai konsentrasi 2.35% b/v.

6) Kinerja media terhadap pertumbuhan bakteri

Kinerja media PCA terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan dengan mencobakan strain bakteri tertentu diinokulasi ke media PCA dan dievaluasi pertumbuhan dan pemulihannya. Respon kultur ditentukan setelah inkubasi media PCA yang diinokulasi pada suhu 35-37°C selama 18-48 jam.

Kinerja media PCA yang baik terhadap pertumbuhan bakteri menunjukkan pertumbuhan dan pemulihan yang diharapkan dari berbagai strain bakteri, seperti *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei*, *Staphylococcus aureus subsp. aureus*, dan *Streptococcus pyogenes*.

c. Keterbatasan Media PCA

Media PCA adalah media yang banyak digunakan untuk penghitungan bakteri, meskipun banyak digunakan, tetapi memiliki keterbatasan antara lain:

1) Identifikasi Terbatas

Media PCA terutama digunakan untuk mengukur populasi bakteri berdasarkan jumlah koloni. Namun, hal ini tidak memberikan identifikasi spesifik terhadap spesies bakteri individu. Untuk identifikasi dan karakterisasi isolat bakteri secara lengkap, dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan metode biokimia, morfologi makroskopis, morfologi mikroskopis, pewarnaan bakteri, imunologi, biologi molekuler.

2) Sifat Non-Selektif

Media PCA adalah media non-selektif, artinya mendukung pertumbuhan berbagai bakteri aerob, tetapi tidak cocok untuk pertumbuhan organisme tertentu yang memiliki persyaratan nutrisi khusus atau nutrisi yang kompleks. Beberapa bakteri dengan kebutuhan nutrisi yang kompleks atau tingkat pertumbuhan yang lambat mungkin tidak berkembang dengan baik di PCA.

3) Bias Terhadap Bakteri Anaerob

Media PCA dirancang khusus untuk mendukung pertumbuhan bakteri aerob, yang dapat menyebabkan terlalu rendahnya populasi bakteri anaerob yang ada dalam sampel. Bakteri anaerob memerlukan kondisi dan media kultur anaerob tertentu untuk pertumbuhannya.

4) Karakteristik Diferensiasi yang Terbatas

Media PCA tidak mengandung indikator atau komponen spesifik yang memungkinkan diferensiasi spesies bakteri berdasarkan karakteristik biokimia atau fisiologis tertentu. Ini terutama menyediakan lingkungan pertumbuhan yang mendukung,

memungkinkan koloni bakteri terbentuk tanpa memberikan penanda visual atau biokimia yang berbeda untuk diferensiasi spesies.

5) Kurangnya Selektivitas

Media PCA tidak mengandung inhibitor atau agen selektif yang dapat menekan pertumbuhan bakteri tertentu atau mendukung pertumbuhan jenis bakteri tertentu. Hal ini dapat membatasi kegunaannya untuk aplikasi tertentu yang berfokus pada kelompok bakteri tertentu atau penghambatan kontaminan bakteri yang tidak diinginkan.

d. Pembuatan media PCA

Peralatan yang digunakan harus steril, supaya dihasilkan jumlah bakteri yang akurat.

Instruksi kerja pembuatan media PCA;

- 1) Ditimbang serbuk PCA sebanyak 17,5 g, dimasukkan dalam labu Erlenmeyer, dilarutkan dengan 1000 ml aquades, dipanaskan sampai serbuk PCA larut semua.
- 2) pH optimum untuk media PCA adalah $7.0 \pm 0,2$, sehingga harus dilakukan penentuan pH, dan penyesuaian pH dengan menambahkan NaOH 1 N atau HCl 1 N.
- 3) Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, dengan memberikan ruang yang cukup di antara wadah untuk memungkinkan sirkulasi uap yang baik.
- 4) Dituangkan 15 ml media PCA ke dalam setiap cawan petri. Dibiarkan penutup sedikit terbuka sampai media PCA mengeras. Tutup cawan, balikkan, dan simpan dalam keadaan tertutup pada suhu kamar selama 3-5 hari sebelum digunakan.

e. Instruksi Kerja Pemeriksaan ALT

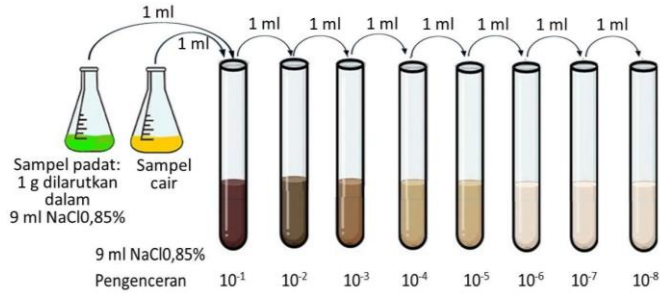
Prinsip dari pemeriksaan ALT adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media PCA, sehingga mikroorganisme berkembang

biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop.

Tahap awal pemeriksaan ALT yaitu melakukan pengenceran sampel menggunakan larutan NaCl 0,85% sebelum melanjutkan ke metode Cawan Sebar atau Cawan Tuang. Tujuan dari proses pengenceran serial adalah untuk mendapatkan koloni bakteri pada media PCA dengan CFU dalam kisaran 25-250. Pengenceran sampel dilakukan dalam kelipatan 10 untuk menyederhanakan penghitungan. Jumlah pengenceran serial dipilih sesuai dengan perkiraan awal kepadatan kultur.

Tahapan pengenceran dilakukan sebagai berikut:

- 1) Apabila sampel berupa padatan, maka ditimbang 1 g, dimasukkan dalam tabung yang berisi 9 ml NaCl 0,85%.
- 2) Disiapkan 8 tabung reaksi, masing-masing diisi 9 ml NaCl 0,85%, diberi nomor 1 sampai dengan 8
- 3) Diambil 1 ml sampel, baik berupa sampel padat yang telah dilarutkan maupun sampel cair, dimasukkan tabung nomer 1, dicampur (pengenceran 10^1)
- 4) Dari tabung nomer 1, dipipet 1 ml dimasukkan tabung nomor 2, dicampur (pengenceran 10^2)
- 5) Dari tabung nomor 2, dipipet 1 ml dimasukkan tabung nomor 3, dicampur (pengenceran 10^3)
- 6) Dilakukan pengenceran sampai tabung nomor 9 (pengenceran 10^9), seperti yang terlihat pada Gambar 16.4.

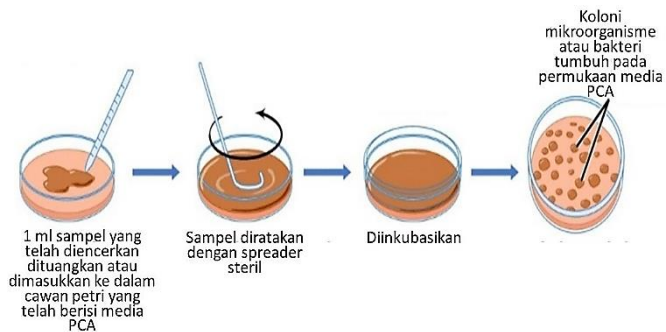


Gambar 16.4. Pengenceran Serial Sampel Padat dan Sampel Cair untuk Pemeriksaan ALT

Setelah tahapan pengenceran sampel, dilanjutkan dengan inokulasi pada media PCA, dengan metode Cawan Sebar atau Cawan Tuang (Boczek et al., 2014)(Astuti et al, 2022).

Instruksi Kerja ALT Metode Cawan Gores

- 1) Setelah dilakukan pengenceran serial, maka dari setiap tabung pengenceran dari nomor 1 (pengenceran 10^{-1}) sampai dengan nomor 8 (pengenceran 10^{-8}), diambil 1 ml, diinokulasikan pada media PCA dengan digoreskan dengan bantuan spreader, dilakukan duplo atau triplo, seperti yang terlihat pada Gambar 16.5.

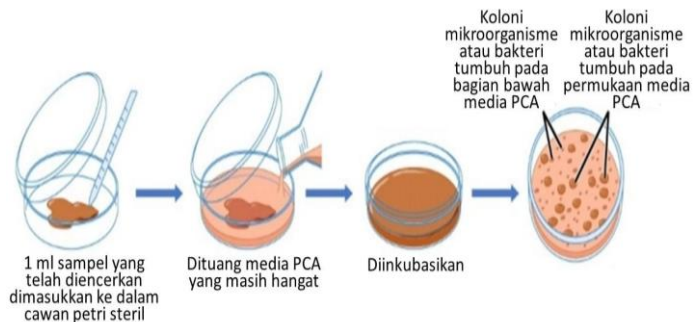


Gambar 16.5. Inokulasi Sampel dari Pengenceran Serial pada Media PCA Metode Cawan Gores (Madigan et al., 2010)

- 2) Setelah media PCA memadat, cawan petri dibalik, supaya uap air yang mengembun tidak jatuh pada media PCA yang telah diinokulasi bakteri.
- 3) Diinkubasikan selama 24 – 48 jam \pm 2 jam pada suhu 22 \pm 1°C untuk bakteri golongan psikrofilik, 35°C untuk bakteri golongan mesofilik atau 45°C untuk bakteri golongan termofilik.

Instruksi Kerja ALT Metode Cawan Tuang

- 1) Setelah dilakukan pengenceran serial, maka dari setiap tabung pengenceran dari nomor 1 (pengenceran 10^{-1}) sampai dengan nomor 8 (pengenceran 10^{-8}), diambil 1 ml, dimasukkan pada cawan petri steril, ditambahkan media PCA yang masih cair (suhu 45-50°C) sebanyak 15 ml, cawan petri digoyang melingkar dengan hati-hati supaya sampel bakteri bercampur merata dengan media PCA, dilakukan duplo atau triplo, seperti yang terlihat pada Gambar 16.6.



Gambar 16.6. Inokulasi Sampel dari Pengenceran Serial pada Media PCA Metode Cawan Tuang (Madigan et al., 2010)

- 2) Setelah media PCA memadat, cawan petri dibalik, supaya uap air yang mengembun tidak jatuh pada media PCA yang telah diinokulasi bakteri.
- 3) Diinkubasikan selama 24 – 48 jam \pm 2 jam pada suhu 22 \pm 1°C untuk bakteri golongan psikrofilik, 35°C untuk

bakteri golongan mesofilik atau 45°C untuk bakteri golongan termofilik.

Dilakukan kontrol sterilitas pada media PCA, dengan satu media PCA yang tidak diinokulasi sampel bakteri dan diinkubasikan bersama-sama dengan media PCA yang diinokulasikan sampel bakteri. Cawan petri dan peralatan yang digunakan harus steril.

f. Keunggulan dan Keterbatasan Metode Cawan Sebar pada Pemeriksaan ALT

Keunggulan Metode Cawan Sebar pada Pemeriksaan ALT antara lain:

- 1) Tidak ada efek membunuh organisme yang peka terhadap panas, karena media PCA sudah tidak panas.
- 2) Semua koloni berada di permukaan sehingga dapat dengan mudah dibedakan dari partikel makanan, kotoran, atau residu.
- 3) Media diferensial nonselektif atau selektif apapun dapat digunakan, karena tembus cahaya media tidak penting untuk pengenalan koloni karena semua koloni berada di permukaan (Boczek et al., 2014).

g. Keunggulan dan Keterbatasan Metode Cawan Tuang pada Pemeriksaan ALT

Keunggulan Metode Cawan Tuang pada Pemeriksaan ALT antara lain:

- 1) Dapat digunakan untuk menghitung bakteri aerobik dan anaerobik fakultatif.
- 2) Mudah dilakukan dan tidak memerlukan spreader atau bahan tambahan untuk inokulasi.
- 3) Tidak memerlukan media agar yang telah dipadatkan sebelumnya.
- 4) Tidak memiliki risiko mencungkil media PCA selama inokulasi seperti halnya pada streaking dan spreading.
- 5) Mikroorganisme yang berukuran sangat kecil dapat dideteksi.

- 6) Bersamaan dengan isolasi mikroorganisme, koloni yang diisolasi dapat diperoleh. Jumlah CFU / mL juga dapat dihitung.
- 7) Ini dapat menggunakan semua jenis spesimen seperti sampel klinis atau lingkungan, cair atau padat (dapat dilarutkan).
- 8) Sangat cocok untuk mengisolasi mikroorganisme fakultatif dan anaerob. Bakteri aerob juga dapat diisolasi dengan metode ini (Talaro & Talaro, 2004) (Tankeshwar, 2023).

Keterbatasan Metode Cawan Tuang pada Pemeriksaan ALT antara lain:

- 1) Persiapan untuk metode Cawan Tuang memakan waktu lebih lama dibandingkan dengan Cawan Sebar.
- 2) Mikroorganisme yang peka terhadap panas dapat terpengaruh, bahkan mati oleh media PCA yang dituangkan pada suhu 40-45°C.
- 3) Koloni yang tertanam jauh lebih kecil daripada koloni yang berada di permukaan. Oleh karena itu, kita harus berhati-hati dalam menghitungnya agar tidak ada yang terlewatkan.
- 4) Berkurangnya laju pertumbuhan aerob obligat di kedalaman media PCA, karena suplai oksigen ke sel mikroba di bagian bawah media yang dipadatkan akan berkurang, sehingga pertumbuhannya lambat (Parija, 2023).

h. Perhitungan ALT

Setelah cawan petri diinkubasikan dan telah ditumbuhi koloni bakteri atau mikroorganisme, dilakukan penghitungan koloni bakteri atau mikroorganisme, baik pada metode Cawan Sebar maupun pada Cawan Tuang dengan beberapa ketentuan sebagai berikut:

- 1) Jumlah koloni pada tiap cawan petri adalah 25-250 koloni

- 2) Tidak ada koloni yang luasnya melebihi setengah luas cawan petri
- 3) Jika pada semua pengenceran didapatkan 250 maka yang dihitung pada pengenceran tertinggi.
- 4) Perbandingan jumlah bakteri dari seri pengenceran yang berturut-turut. Apabila jumlah koloni bakteri ≤ 2 maka hasil dilakukan rata-rata. Apabila perbandingan >2 maka yang digunakan adalah jumlah koloni bakteri pada pengenceran sebelumnya.
- 5) Hasil di rata-rata apabila dengan ulangan telah memenuhi syarat (Retnaningrum dkk, 2017)

Beberapa contoh:

- 1) Cawan petri yang telah ditumbuhi koloni bakteri yang diinokulasikan dari tabung pengenceran dan dilakukan duplo, sebagai berikut

Pengenceran 10^{-2}	Cawan petri I: Jumlah koloni: 450, TBUD
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 350, TBUD
Pengenceran 10^{-3}	Cawan petri I: Jumlah koloni: 150, Memenuhi syarat penghitungan koloni
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 350, TBUD
Pengenceran 10^{-4}	Cawan petri I: Jumlah koloni: 20, TSUD
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 35, Memenuhi syarat penghitungan koloni
Pengenceran 10^{-5}	Cawan petri I: Jumlah koloni: 10, TSUD
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 5, TSUD

Catatan:

TBUD=Terlalu Banyak Untuk Dihitung, tidak memenuhi syarat penghitungan koloni

TSUD=Terlalu Sedikit Untuk Dihitung, tidak memenuhi syarat penghitungan koloni

Jumlah koloni adalah rerata jumlah koloni kedua cawan yang memenuhi syarat dikalikan dengan faktor pengencerannya:

$$\frac{(150 \times 1/10^{-3}) + (35 \times 1/10^{-4})}{2} = \frac{(150 \times 10^3) + (35 \times 10^4)}{2}$$
$$= \frac{150.000 + 350.000}{2} = 250.000$$

Maka jumlah koloni dalam 1 ml adalah 250.000 CFU/ml.

- 2) Cawan petri yang telah ditumbuhi koloni bakteri yang diinokulasikan dari tabung pengenceran dan dilakukan duplo, sebagai berikut

Pengenceran 10 ⁻²	Cawan petri I: Jumlah koloni: 550, TBUD
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 360, TBUD
Pengenceran 10 ⁻³	Cawan petri I: Jumlah koloni: 200, Memenuhi syarat penghitungan koloni
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 240, Memenuhi syarat penghitungan koloni
Pengenceran 10 ⁻⁴	Cawan petri I: Jumlah koloni: 15, TSUD
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 25, Memenuhi syarat penghitungan koloni
Pengenceran 10 ⁻⁵	Cawan petri I: Jumlah koloni: 10, TSUD

	Cawan petri II: Jumlah koloni: 5, TSUD
--	--

Catatan:

TBUD=Terlalu Banyak Untuk Dihitung, tidak memenuhi syarat penghitungan koloni

TSUD=Terlalu Sedikit Untuk Dihitung, tidak memenuhi syarat penghitungan koloni

Jumlah koloni adalah rerata jumlah koloni kedua cawan yang memenuhi syarat dikalikan dengan faktor pengencerannya:

$$\frac{(200 \times 1/10^{-3}) + (240 \times 1/10^{-3})}{2} = \frac{(200 \times 10^3) + (240 \times 10^3)}{2}$$

$$= \frac{200.000 + 240.000}{2} = 220.000$$

Maka jumlah koloni dalam 1 ml adalah 220.000 CFU/ml.

- 3) Cawan petri yang telah ditumbuhi koloni bakteri yang diinokulasikan dari tabung pengenceran dan dilakukan duplo, sebagai berikut

Pengenceran 10 ⁻²	Cawan petri I: Jumlah koloni: 550, TBUD
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 360, TBUD
Pengenceran 10 ⁻³	Cawan petri I: Jumlah koloni: 215, Memenuhi syarat penghitungan koloni
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 225, Memenuhi syarat penghitungan koloni
Pengenceran 10 ⁻⁴	Cawan petri I: Jumlah koloni: 55, Memenuhi syarat penghitungan koloni
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 45, Memenuhi syarat penghitungan koloni

Pengenceran 10 ⁻⁵	Cawan petri I: Jumlah koloni: 10, TSUD
	Cawan petri II: Jumlah koloni: 5, TSUD

Catatan:

TBUD=Terlalu Banyak Untuk Dihitung, tidak memenuhi syarat penghitungan koloni

TSUD=Terlalu Sedikit Untuk Dihitung, tidak memenuhi syarat penghitungan koloni

Jumlah koloni rerata adalah jumlah koloni kedua cawan yang memenuhi syarat. Terdapat dua pengenceran (10⁻³ dan 10⁻⁴) dengan jumlah koloni yang memenuhi syarat, maka dicari rerata jumlah koloni pada tiap pengenceran, kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya:

Rerata jumlah koloni pada pengenceran 10⁻³:

$$\frac{215+225}{2} \times 1/10^{-3} = 220 \times 10^3$$

Rerata jumlah koloni pada pengenceran 10⁻⁴:

$$\frac{55+45}{2} \times 1/10^{-4} = 50 \times 10^4$$

Maka jumlah koloni dalam 1 ml adalah:

$$\frac{220 \times 10^3 + 50 \times 10^4}{2} = 360.000 \text{ CFU/ml.}$$

DAFTAR PUSTAKA

- Acharya, T. (2024). *Isolation and Enumeration of Bacteria*. <https://microbeonline.com/techniques-of-isolation-and-enumeration-of-bacteria/>
- Acharya Tankeshwar. (n.d.). Pour Plate Method: Procedure, Uses, (Dis) Advantages. <https://microbeonline.com/pour-plate-method-principle-procedure-uses-dis-advantages/>
- Alfiyanti, E., & Putri, D. H. (2020). Precision Enumeration of the Number of Bacterial Cells With the Spread Plate Method Using Dilution. *Serambi Biologi*, 5(1), 7–10.
- Atlas, R. M. (2010). *Handbook of Microbiological Media*. In *Handbook of Microbiological Media*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/EBK1439804063>
- Boczek, L. A., Rice, E. W., & Johnson, C. H. (2014). Total Viable Counts: Spread Plate Technique. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition (Second Edi, Vol. 3, Issue 2005)*. Elsevier.
- <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00331-1>
- Green, E. G. L. H. (2019). *Practical handbook of microbiology*. In *Practical handbook of microbiology (2nd ed., Vol. 2)*. Taylor & Francis Group.
- Kathleen Park Talaro, & Talaro, A. (2004). *Perspectives on Microbiology Emphasis of Foundations in Microbiology*. www.mcgraw-hill.com
- Madigan, M. T. B. B. of M., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2010). *Brock Biology of Microorganism (13th ed., Vol. 44, Issue 8)*. Pearson Education, Inc. <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>
- Mikrobiologi OpenStax. (2018). <https://openstax.org/books/microbiology/pages/1-introduction>

- Parija, S. C. (2023). Textbook of Microbiology and Immunology. In Textbook of Microbiology and Immunology. Springer Nature Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-19-3315-8>
- Prescott, H. (2014). Laboratory Exercises in Microbiology. In The McGraw-Hill Companies, (Vol. 58, Issue 12). <https://doi.org/10.1128/AAC.03728-14>
- Retnaningrum, E., Sari, D., & Siregar, A. R. (2017). Bahan Ajar Mikrobiologi.
- Retno Tri Astuti, Hefti Salis Yufidasari, Angga Wira Perdana, Ivan Permana Putra, Qurrota Aýun, M. K. (2022). Mikrobiologi Konsep Dasar dan Teknik Laboratorium (U. Press (Ed.); 1st ed.).
- Talaro, KP & Talaro, A. (2004). Perspectives on Microbiology Emphasis of Foundations in Microbiology. www.mcgraw-hill.com
- Willey, J. M. L. M. S. J. W. (2009). Prescott's Principles of MICROBIOLOGY. In McGraw-Hill Higher Education (Vol. 44, Issue 8). Mc Graw-Hill Higher Education. <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>

BAB 17

BAHAN TAMBAHAN MAKANAN

Dwi Ayu Lestari, S.Gz., M.Gizi

A. Pendahuluan

Bahan tambahan pangan (BTP) atau bahan tambahan makanan (BTM) seperti pengawet biasa digunakan masyarakat. Sebagian besar bahan tambahan makanan dalam wujud murni tersedia di pasaran dengan harga terjangkau membuat penggunaan bahan tambahan makanan meningkat yang artinya meningkatkan penggunaan bahan tambahan makanan ini di masyarakat. Masyarakat saat ini bukan hanya melihat dari segi makanan dengan rasa yang enak, namun masyarakat sudah tergiring untuk mengetahui apa saja komposisi yang terkandung pada makanan tersebut (Presiana, 2020).

Penggunaan bahan tambahan makanan (BTM) pada pengolahan produk makanan harus amati bersama. Pengaruh penggunaan BTM tersebut bisa berdampak baik maupun buruk bagi banyak orang. Ketidaksesuaian pemakaian BTM bisa berdampak buruk bagi generasi muda karena akan menjadi penerus bangsa. Pada bidang pangan kita perlu membuat makanan yang lebih baik untuk masa mendatang, seperti makanan bermutu, aman dimakan, memiliki nilai gizi dan bisa bersaing di industri pangan global. Prosedur keamanan pangan dan pembangunan gizi nasional, termasuk bahan tambahan makanan (Wisnu Cahyadi, 2023).

Pada Peraturan Kementerian Kesehatan RI No 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambah Pangan dijelaskan bahan tambahan makanan merupakan bahan yang ditambahkan pada makanan dapat mengubah bentuk atau sifat makanan seperti bahan penyedap rasa, pewarna, antigumpal, pemucat, pengawet, dan pengental.

Bahan tambahan ini pula memiliki arti bahan yang dipakai pada saat pengolahan guna meningkatkan mutu pangan. Bahan tambahan makanan dikelompokkan menjadi bahan tambahan makanan sengaja dan bahan tambahan makanan tidak sengaja. BTM sengaja merupakan BTM yang digunakan dengan sengaja untuk tujuan tertentu, contohnya citarasa, menambah konsistensi, nilai gizi, mengatur asam dan basa, menegaskan tekstur, bentuk dan lainnya. sebaliknya BTM yang tidak sengaja ialah BTM berada di dalam makanan dengan dosis sedikit dampak dari proses pengolahan. Jika diamati dari asalnya, BTM bisa bermula dari bahan alami, misal lesitin bisa juga campuran bahan kimia dengan sifat sama seperti bahan alami serupa baik dari struktur kimianya atau sifat penguraiannya contoh asam askorbat (BPOM, 2019).

Prinsip penggunaan BTM, ialah:

1. Bahan tambahan makanan semata-mata dipakai pada produk makanan jika benar dibutuhkan dari segi teknologi.
2. Gunakan bahan tambahan makanan yang memiliki izin untuk edar (MD/ML) dan penggunaannya tidak lebih dari batas maksimal.
3. Bahan tambahan makanan tidak dipakai untuk menyembunyikan pemakaian bahan yang tidak sesuai prosedur kerja, berlawanan dengan Cara Produksi Pangan yang Baik (CPPB) atau *Good Manufacturing Practice* (GMP) dan kerusakan pangan.
4. Lihat takaran penggunaan dan dipakai sesuai label sediaan bahan tambahan makanan.
5. Asupan Harian yang Dapat Diterima (ADI) merupakan total maksimum bahan tambahan pangan dalam mg/kg Berat

Badan bisa dimakan setiap saat tanpa menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan.

Penggunaan bahan tambahan makanan yang lebih dari batas maksimal dapat merugikan kesehatan dan berdampak buruk bagi pertumbuhan generasi akan datang, sebab itu penjual makanan harus tahu ciri-ciri dan keamanan pemakaian bahan tambahan makanan serta paham aturan yang dibuat oleh pemerintah dalam pemakaian bahan tambahan makanan (Nurdin and Utomo, 2018).

Penggunaan bahan tambahan makan di dalam makanan adalah:

1. Membuat makanan lebih tahan lama dengan mencegah pertumbuhan mikroba perusak makanan atau meminimalisir terjadinya reaksi kimia yang bisa membuat mutu pangan menurun.
2. Menjadikan pangan lebih baik, garing dan enak dimakan.
3. Memberikan aroma dan warna yang lebih menarik sehingga menggugah selera makan.
4. Meningkatkan kualitas.
5. Menghemat biaya.

B. Penggolongan Bahan Tambahan Makanan

Berdasarkan sumber perolehan atau substansial bahan tambahan makanan yang dipakai untuk makanan dipisah menjadi dua kelompok, yaitu bahan tambahan makanan alami dan bahan tambahan makanan sintetis (buatan). Bahan tambahan makanan yang alami berasal dari tumbuhan, rempah-rempah, mineral, hewan yang dapat menambah cita rasa dan aroma pada makanan (Fermanto and Sholahuddin, 2020).

Menurut *World Health Organisation* (WHO) dan *Food Agricultural Organisation* (FAO) bahan tambahan makanan dibedakan menjadi tiga kategori, yaitu:

1. Penguat rasa makanan adalah zat yang dipakai untuk berbagai macam produk makanan seperti cemilan, kue, sereal dan minuman kaleng atau minuman ringan untuk meningkatkan aroma dan rasa pada makanan. Perasa alami

dapat berasal dari tumbuhan atau tanaman herbal seperti kacang, sayuran, buah-buahan dan rempah-rempahan yang memiliki rasa alami.

2. Enzim yaitu zat bahan tambahan pangan yang didapat dari ekstraksi produk hewani dan nabati atau mikroorganisme seperti bakteri. Penggunaannya adalah dapat meningkatkan adonan. Fermentasi anggur, membuat jus buah dan membuat keju untuk menggantikan bahan tambahan pangan yang berbahan kimia.
3. Bahan tambahan makanan lainnya ialah bahan pengawet, bahan pewarna dan bahan pemanis. bahan pengawet digunakan untuk memperlambat pembusukan yang disebabkan oleh jamur, udara, bakteri biasanya digunakan untuk ikan dan susu murni (FAO/WHO, 2017).

Menurut Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Nomor 11 Tahun 2019 pasal 3 terdapat 27 golongan Bahan Tambahan Makanan yaitu:

1. Antibuih (*Antifoaming Agent*)

Antibuih merupakan bahan tambahan makanan yang digunakan guna meminimalisir atau mencegah terbentuknya buih. Contoh: Kalsium alginat.

2. Antikempal (*Anticaking Agent*)

Antikepal ialah bahan tambahan makanan yang digunakan untuk menghindari pengempalan produk makanan. Contoh: Kalsium karbonat.

3. Antioksidan (*Antioxidant*)

Antioksidan yaitu bahan tambahan makanan yang dapat digunakan untuk menahan kerusakan makanan yang disebabkan oksidasi.

4. Pengkarbonasi (*Carbonating Agent*)

Pengkarbonasi merupakan BTM dengan bentuk karbonasi yang dicampurkan ke dalam makanan sehingga makanan tersebut berkarbonasi. Contoh: Karbon dioksida.

5. Garam Pengemulsi (*Emulsifying Salt*)

Garam Pengemulsi Bahan Pengkarbonasi ialah bahan tambahan makanan yang digunakan untuk mendispersikan protein pada keju guna pemisahan lemak dapat dicegah. Contoh: Natrium dihidrogen sitrat.

6. Gas untuk Kemasan (*Packaging Gas*)

Gas ini merupakan bahan tambahan makanan dicampurkan kedalam makanan untuk mempertahankan mutu dan meminimalisir kerusakan produk pangan. Contoh: Karbon dioksida, Nitrogen.

7. Humektan (*Humectant*)

Humektan adalah bahan tambahan makanan yang digunakan guna mensabilkan kelembaban makanan. Contoh: Natrium laktat.

8. Pelapis (*Glazing Agent*)

Pelapis merupakan bahan tambahan makanan yang digunakan untuk membentuk lapisan pada bagian luar makanan bersifat melindungi dan memberikan efek mengkilap. Contoh: lilin pada kulit buah (Beeswax).

9. Pemanis (*Sweetener*)

Pemanis adalah salah satu bahan tambahan yang sering dipakai pada produk pangan. Tujuan penambahan bahan ini ialah guna memperbaiki rasa manis pada produk makanan, pemanis dibagi dua kategori yaitu pemanis buatan dan pemanis alami.

a) Pemanis Buatan

Pemanis buatan yaitu bahan tambahan makanan yang dapat memberikan rasa manis pada makanan diolah dengan cara sintesis di laboratorium. Pemanis buatan ini dibuat secara kimia dan tidak ada di alam, berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan No. 11 tahun 2019 menetapkan batas maksimal penggunaan bahan tambahan pangan pemanis. Pemanis ini pada umumnya digunakan dalam makanan seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, sorbitol, isomalt dan manitol.

Pemanis ini tingkat kemanisannya lebih manis dari gula asli, fungsi pemanis ini ialah sebagai pengganti gula fruktosa dan sukrosa, menciptakan produk makanan dengan jumlah kalori yang terkontrol. Berguna dalam program penurunan berat badan dan pemeliharaan, mengurangi kerusakan pada gigi dan digunakan untuk penderita diabetes sebagai pengganti penggunaan gula murni.

Jenis pemanis buatan di Indonesia yang memiliki izin ialah Aspartam (*Aspartame*), Sakarin (*Saccharine*), Sukralosa (*Sucralose*), Siklambat (*Cyclamates*), Neotam (*Neotame*) dan Asesulfam-K (*Acesulfame potassium*) (BPOM, 2019).

Pemanis alami dan pemanis buatan memiliki kelebihan dan kekurangan misalnya pemanis alami harganya lebih mahal dibandingkan dengan pemanis buatan. Pemanis buatan pemakaiannya harus diperhatikan karena dapat menyebabkan efek negatif bagi kesehatan (Adawiah, Mellyana and Lince, 2020).

b) Pemanis Alami

Pemanis alami adalah bahan pemberi rasa manis yang berasal dari bahan nabati atau hewani. Pemanis alami diperoleh dalam bahan alam maupun dibuat dengan cara fermentasi. Pemanis alami dibuat melalui ekstrak tanaman dan buah atau dengan enzim. Pemanis alami umumnya dicampurkan pada makanan seperti gula pasir, gula merah, gula aren, gula kelapa, madu, daun stevia dan lain-lain.

10. Pembawa (*Carrier*)

Pembawa merupakan BTM dipakai dalam proses penanganan, pengaplikasian bahan tambahan makanan lain pada makanan dengan cara mengencerkan secara fisik tidak mengkonversikan fungsinya serta tidak memiliki dampak teknologi pada makanan. Contoh: Trietil sitrat.

11. Pembentuk Gel (*Gelling Agent*)

Pembentuk Gel adalah bahan yang ditambahkan dalam makanan guna membuat gel pada produk makanan tersebut. Contoh: Asam alginat.

12. Pembuih (*Foaming Agent*)

Pembuih yaitu bahan tambahan makanan yang digunakan dalam membentuk homogenitas dispersi fase gas pada makanan yang bentuk cair atau padat. Contoh: Gom xanthan.

13. Pengatur Keasaman (*Acidity Regulator*)

Pengatur Keasaman yakni bahan yang ditambahkan dalam makanan untuk memberi rasa asam atau menjaga derajat asam pada makanan. Contoh: Asam asetat.

14. Pengawet (*Preservative*)

Bahan pengawet biasanya dicampurkan dalam makanan yang memiliki sifat mudah rusak sebagai pengawet. Bahan ini bisa menghambat proses kerusakan yang disebabkan oleh mikroba, kapang dan khamir. Namun terkadang produsen menggunakan pada makanan tidak mudah rusak bertujuan untuk memanjangkan masa penyimpanan atau menyesuaikan bentuk makanan (Nurdin and Utomo, 2018).

Bahan tambahan makanan pengawet dikategorikan menjadi dua jenis:

a. Pengawet Alami

Jenis pengawet alami digunakan untuk menjaga makanan agar tetap segar, contohnya:

1) Garam Dapur

Garam dapur dipakai oleh para nelayan sebagai bahan pengawet ikan. Proses ini ikan dilumuri garam lalu dijemur di bawah sinar matahari sehingga daging ikan tidak membusuk walaupun di simpan dalam waktu yang lama. Namun pastikan ikan kering dengan baik agar tidak ditumbuhi bakteri yang dapat menyebabkan pembusukan.

2) Kunyit

Kita ketahui bahwa kunyit memiliki sifat antibakteri sehingga bisa mencegah perkembangan mikroorganisme yang dapat merusak membran sel bakteri. Manfaat lain kunyit ialah menambah cita rasa dan penampilan karena mengandung senyawa kurkumin dalam pigmen warnanya.

3) Bawang Putih

Bawang putih sangat populer karena berbagai manfaat dalam tubuh salah satunya adalah sebagai pengawet. Bawang putih memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri seperti *Shigella sonnei*, *Escherichia Coli*, *Aerobacter aerogenes* dan *Staphylococcus aureus* yang mampu meminimalkan jumlah bakteri aerob, coliform dan mikroba lain maka dari itu bahan makanan yang diberikan bawang putih lebih awet. Bawang putih mempunyai kemampuan untuk menghambat atau menghentikan pertumbuhan bakteri dan khamir, kandungan *allicin* pada bawang putih yang dapat membunuh bakteri dengan cepat. Penggunaan bawang putih pada makanan sangat mudah yaitu dengan melumuri bawang putih ke ikan atau daging lalu simpan dalam *freezer*. Proses ini dapat membuat ikan dan daging bisa bertahan lama.

4) Gula Pasir

Gula pasir pada umumnya digunakan untuk mengawetkan buah yaitu dengan cara dibuat manisan. Pengawetan ini ada dua cara yaitu manisan buah kering dan manisan buah basah. Manisan buah kering diolah melalui cara buah dikeringkan lalu campurkan gula pasir dan Manisan buah basah dibuat dengan mencampurkan buah dan air gula.

5) Cuka

Cairan cuka mengandung asam asetat yang tinggi dan dibuat dari fermentasi gula dan air. Selain menjaga makanan agar tetap segar cairan cuka juga

dapat membantu mematikan bakteri yang menyebabkan makanan cepat rusak.

b. Pengawet Buatan

Pengawetan buatan berfungsi untuk mencegah pertumbuhan mikroba dan memperpanjang umur simpan pada makanan. Terkait dengan fungsinya tersebut bahan ini sering disebut juga sebagai senyawa antimikroba. Penggunaan pengawet buatan harus sesuai dengan Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) Nomor 11 Tahun 2019 dengan melihat batas maksimum penggunaan bahan tersebut. Menurut komposisinya bahan pengawet buatan dibagi menjadi jenis yaitu pengawet organik (asam sorbat, asam propionat, asam benzoat dan asam asetat) dan pengawet anorganik (sulfit, nitrat dan nitrit).

Penggunaan pengawet makanan diatas telah memiliki izin. Meskipun demikian produsen masih banyak yang menggunakan pengawet yang tidak memiliki izin dari pemerintah.

15. Pengembang (*Raising Agent*)

Pengembang adalah bahan ini ditambahkan dalam makanan digunakan untuk melepas gas agar volume adonan bisa meningkat. Contoh: Diamonium hidrogen fosfat.

16. Pengemulsi (*Emulsifier*)

Pengemulsi yakni bahan tambahan makanan yang digunakan guna membentuk campuran yang homogen dari dua atau lebih fase yang tidak dapat bercampur seperti minyak dan air. Contoh: Lesitin.

17. Pengental (*Thickener*)

Pengental merupakan bahan tambahan makanan yang digunakan untuk menambah kekentalan pada makanan. Contoh: Gelatin, Karagen.

18. Pengeras (*Firming Agent*)

Bahan ini ditambahkan ke makanan untuk menjaga struktur makanan. Contoh: Trikalsium sitrat.

19. Penguat Rasa (*Flavour Enhancer*)

Bahan tambahan makanan berupa penguat rasa atau penambah cita rasa dicampurkan kedalam makanan untuk meningkatkan rasa makanan. Penambah cita rasa sering disebut juga penyedap rasa. Penyedap rasa berasal dari bahan alami dan buatan. Bahan alami termasuk garam, gula, bawang bombay, bawang putih, lada pandan, daun salam, kaldu ayam/sapi, teri dan lainnya. Penyedap rasa digunakan untuk menekan rasa yang tidak diinginkan dan menambah rasa makanan lebih sedap (Perdani *et al.*, 2022).

Bahan tambahan makanan ini pada umumnya digunakan oleh masyarakat berupa monosodium glutamat (MSG) atau vetsin. MSG adalah garam natrium asam glutamat yang terkandung di protein hewani dan nabati secara alami. Pada daging, susu kacang-kacangan dan ikan terdapat kurang lebih 20 persen kandungan asam glutamat. MSG adalah penyedap rasa sintetis yang diolah dari fermentasi bakteri tetes tebu. Bakteri menghasilkan asam glutamat lalu diproses menjadi monosodium glutamat biasanya digunakan untuk meningkatkan rasa protein. Oleh karena itu tidak mengejutkan bahwa makanan yang mengandung asam glutamat terasa lebih gurih dan lezat meskipun tidak dilengkapi oleh bahan lain. MSG jika dimakan secara berlebihan pada jangka panjang akan menyebabkan masalah kesehatan.

20. Peningkat Volume (*Bulking Agent*)

Peningkat Volume adalah bahan tambahan makanan yang digunakan untuk menambah volume pada makanan. Contoh: Natrium alginat.

21. Penstabil (*Stabilizer*)

Penstabil adalah bahan tambahan makanan yang digunakan agar sistem pencampuran yang homogen lebih stabil pada pangan. Contoh: Asam fumarat.

22. Peretensi Warna (*Colour Retention Agent*)

Peretensi Warna yaitu BTM digunakan agar warna pada pangan lebih tahan dan kuat tidak membuat warna baru. Contoh: Magnesium karbonat.

23. Perisa (*Flavouring*)

Perisa ialah bahan tambahan makanan diperuntukan sebagai pemberi rasa (*flavor*) pada makanan kecuali rasa asam, asin dan manis. Contoh: rempah-rempah.

24. Perlakuan Tepung (*Flour Treatment Agent*)

Bahan ini ditambahkan dalam makanan agar kualitas adonan atau pengolahan lebih baik. Contoh: L-Amonium laktat.

25. Pewarna (*Colour*)

Tujuan penambahan bahan tambahan pewarna makanan, yaitu:

- a. Menstabilkan warna
- b. Menyeragamkan warna makanan
- c. Mengatasi perubahan warna selama penyimpanan
- d. Memberikan kesan menarik pada konsumen
- e. Menutupi perubahan warna selama proses pengolahan

Penggunaan bahan tambahan warna pada makanan yang aman telah diatur dalam Peraturan Kementerian Kesehatan RI No. 033 Tahun 2012 tentang pewarna yang diizinkan dan dilarang digunakan dalam makanan serta batasan penggunaannya (Kemenkes, 2012).

Bahan tambahan makanan pewarna memiliki 2 jenis, yaitu:

- a. Pewarna Alami

Pewarna alami merupakan pewarna berasal dari bahan alamiah seperti tumbuh-tumbuhan dan hewan.

Contoh pewarna alami dari tumbuhan adalah daun suji, bunga telang, daun pandan, buah naga, kunyit, cbei, kluwak dan kakao. Daun pandan selain memberikan warna pada makanan juga membuat makanan menjadi lebih beraroma. Bahan-bahan tersebut sebenarnya memberikan banyak manfaat lain selain memberikan warna, misalnya kunyit selain memberikan warna kuning pada ikan namun juga dapat menghilangkan bau amis, cabai selain memberikan warna merah pada makanan tetapi juga memberikan rasa pedas dan kluwak memberikan warna coklat pekat atau hitam namun juga memberikan rasa gurih sebagai pengganti santan atau kemiri.

Menurut Peraturan Kementerian Kesehatan RI No. 033 Tahun 2012 pewarna alami yang memiliki izin edar adalah:

- 1) Kurkumin: pewarna alami berwarna kuning-oranye dicampurkan kedalam makanan sebagai pewarna pada susu kental dan sejenisnya (20 mg/kg), tahu segar secukupnya.
- 2) Karamel: pewarna alami berwarna coklat biasa dicampurkan kedalam makanan sebagai pewarna minuman susu dan yogurt beraroma (150 mg/kg), krim minuman secukupnya.
- 3) Beta-karoten, yaitu pewarna alami berwarna merah-oranye dicampurkan kedalam makanan sebagai pewarna mentega (600 mg/kg), makanan ringan dari kentang, umbi dan lainnya (400 mg/kg), krim minuman (1g/kg), krim rendah lemak melalui sterilisasi (secukupnya).

b. Pewarna Sintetis (Buatan)

Pewarna sintetis merupakan pewarna yang diperbolehkan untuk makanan dibuat dari bahan kimia dan memiliki banyak keuntungan dibandingkan dengan pewarna alami, termasuk harga lebih rendah, kemudahan penggunaan, warna lebih kuat, banyak pilihan warna dan

warna tidak pudar saat pemanasan. Pemakaian pewarna buatan dalam makanan harus sesuai dengan peraturan. Pewarna makanan sintetis yang diizinkan adalah pewarna yang telah melalui uji kelayakan dan diperbolehkan digunakan pada produk makanan. Pewarna buatan yang diizinkan untuk digunakan dikategorikan kedalam *Food Grade*. Namun masih ada orang yang menggunakan pewarna buatan yang tidak sesuai dengan tujuannya, seperti pewarna sintetis yang tidak sesuai peruntukannya yaitu menggunakan pewarna tekstil untuk makanan hal tersebut berdampak buruk bagi kesehatan konsumen. Pewarna tekstil mengandung logam berat yaitu timbal, arsen dan raksa, bahan tersebut merupakan toksik untuk tubuh konsumen (Diyah *et al.*, 2021).

Bahan pewarna yang tidak diizinkan oleh pemerintah masih banyak beredar untuk dicampurkan ke makanan yaitu pewarna Rhodamin-B dan Kuning Metanil, biasanya pewarna tersebut dipakai untuk pewarna saus, kue, jajanan pasar dan lainnya. Sedangkan pewarna buatan yang diizinkan menurut BPOM (2019) adalah:

- 1) Kuning kuinolin (*Quinoline Yellow*) CI. No. 47005, INS 102. Memberikan warna kuning kehijauan pada es dan minuman.
- 2) Hijau FCF (*Fast green FCF*) CI. No. 42053, INS. 143. Memberikan warna hijau pada minuman, puding, es krim dan produk susu.
- 3) Coklat HT (*Brown HT*) CI. No. 20285, INS 155. Memberikan warna coklat pada makanan atau minuman.
- 4) Karmoisin (*Carmoisine*) CI. No. 14720, INS 122. Memberikan warna merah pada permen lunak, jeli, selai, kue, susu dan saos.

- 5) Tartrazin (Tartrazin) CI Np. 19140, INS 102. Memberikan warna kuning pada sereal, es krim, permen, dan minuman.

26. Propelan (*propellant*)

Propelan ialah bahan tambahan makanan berwujud gas yang digunakan guna mendorong makanan keluar dari kemasan. Contoh: Dinitrogen monoksida.

27. Sekuestran (*sequestrant*)

Sekuestran adalah bahan tambahan pangan untuk mengikat stabilitas dan kualitas pangan. Contoh isopropyl sitrat. Penggunaan bahan tambahan makanan dalam sehari-hari terdapat pada kaldu, kentang kaleng, udang dan ikan beku dan lainnya.

C. Pengaruh Penggunaan Bahan Tambahan Makanan

Penggunaan bahan tambahan makanan berdasarkan ketentuan bisa meningkatkan kualitas produk makanan, namun jika penggunaannya tidak sesuai dengan peraturan maka akan berdampak negatif. Masih ada produsen yang memakai bahan tambahan makanan yang tidak diizinkan mungkin dikarenakan ketidaktahuan ataupun kesengajaan karena harganya lebih terjangkau dan lebih mudah didapat. Banyak pedagang besar ataupun kecil sengaja menambahkan bahan tambahan makanan berbahaya agar produk makanan lebih awet dan menarik pembeli.

Dampak yang biasanya terjadi dalam penggunaan bahan tambahan makanan tidak sesuai peraturan dalam jangka waktu panjang adalah masalah kesehatan misalnya penyakit kanker dan kerusakan ginjal. Beberapa pengaruh negatif penggunaan bahan tambahan makanan yang tidak memiliki izin digunakan di Indonesia adalah:

1. Boraks

Boraks yaitu senyawa berbentuk kristal putih yang tidak berbau dan stabil pada tekanan serta suhu normal. Boraks ini bahan pengawet yang tidak diizinkan oleh pemerintah untuk ditambahkan dalam makanan. Boraks

biasanya digunakan untuk pengawet kayu dan kosmetik karena memiliki sifat antiseptik dan pembunuh kuman.

Boraks disalahgunakan dalam produk makanan seperti penambahan pada mie basah sosis, kerupuk gendar, bakso, pisang molen, lempur dan lain-lain sebagai bahan pengawet. Boraks jika tertelan akan membahayakan usus, ginjal dan otak. Bila dikonsumsi sering dalam jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan ginjal, hati dan sistem saraf pusat karena mengiritasi dan racun sel-sel tubuh.

2. Rhodamin B

Rhodamin B merupakan senyawa klorin (Cl) berbahaya dan reaktif. Rhodamin B juga mengandung senyawa alkilasi yang bersifat radikal. Jika tertelan, maka dapat berdampak pada protein, lemak, dan DNA dalam tubuh. Rhodamin B disalahgunakan untuk bahan tambahan makanan sebagai pewarna, Menurut BPOM bahaya akibat konsumsi pewarna Rhodamin B dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan efek akut pada dosis maksimum 500 mg/kg BB. Mengonsumsi bahan bahaya ini dapat menumpuk di dalam tubuh dan menimbulkan gejala kerusakan hati, ginjal gangguan fisiologis tubuh bahkan menyebabkan kanker hati (Anggun Febriana Puspitasari *et al.*, 2023).

3. Formalin

Formalin merupakan nama dari campuran formaldehid, metanol dan air dengan kadar 40 persen Formalin sering disalahgunakan dalam produk pangan sebagai bahan pengawet, produk makanan yang biasanya ditambahkan formalin adalah mie basah, tahu, ikan asin. Formalin bersifat karsinogenik yang artinya dapat menyebabkan kanker jika dikonsumsi selain itu zat berbahaya ini bila dicampurkan kedalam makanan akan menyebabkan keracunan, gejala keracunan formalin seperti sakit kepala, rasa panas pada tenggorokan, suhu badan menurun, kram perut, diare bahkan dapat menyebabkan kematian.

4. Kuning Metanil

Menurut BPOM (2019) Bahan pewarna buatan (sintetis) ini tidak diizinkan untuk digunakan pada produk makanan karena zat pewarna ini bahan berbahaya. Kuning metanil bisa menyebabkan muntah, diare, demam hingga kanker kandung kemih. Produk makanan yang mengandung zat pewarna berbahaya ini seperti tahu, manisan buah, pisang goreng, mie dan lain-lain. Perbedaan produk makanan menggunakan kuning metanil ini adalah warna kuning yang lebih cerah atau mencolok dibandingkan dengan pewarna yang aman digunakan (Hidayah, 2021).

5. Kalium Bromat (Potasium Bromat)

Kalium bromat ditambahkan dalam adonan guna memperbaiki tepung untuk membuat kue menjadi lebih keras. Kalium bromat dipakai para pembuat roti untuk memudahkan proses pemanggangan roti di dalam pemanggang roti dan proses akhir produk memberikan tekstur yang lebih baik. Jika zat ini dicampurkan dalam jumlah sedikit saat dibakar zat tersebut akan hilang. Sedangkan jika digunakan dalam jumlah banyak, maka dalam roti banyak mengandung kalium bromat. Kalium bromat tidak izin edar di beberapa negara karena dianggap karsinogenik. (Yulianti *et al.*, 2022).

6. Dulsin

Dulsin merupakan salah satu bahan tambahan makanan tidak diizinkan digunakan pada makanan yang bisa digunakan untuk memberikan rasa manis pada makanan karena memiliki daya manis yang tinggi yaitu 250x daya manis sukrosa. Namun hasil penelitian menunjukkan bahwa dulsin memiliki sifat karsinogenik dan menyebabkan terjadinya kanker, sehingga penggunaannya pada pangan dilarang (Perdani *et al.*, 2022).

7. Dietilpiro Karbonat (DEPC)

Dietilpiro karbonat (DEPC) termasuk pada bahan kimia sintesis yang bersifat karsinogenik. Bahan kimia sintesis tidak ditemukan dalam produk alami dan bahan ini digunakan sebagai pencegah peragian pada produk minuman yang mengandung alkohol ataupun tidak mengandung alkohol. Selain itu DEPC digunakan juga untuk susu dan produknya, jus buah agar minuman ini tahan lama. Jika sering dikonsumsi dalam jangka panjang akan terakumulasi dalam tubuh dan bisa memicu penyakit kanker (Yulianti *et al.*, 2022).

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah, D. R., Mellyana, O. T. and Lince (2020) Profil Sensori Sediaan Pemanis dengan Metode Rate-All-That-Apply (RATA), Bogor: Jurnal Mutu Pangan.
- Anggun Febriana Puspitasari, S. et al. (2023) Gambaran Pengetahuan, Sikap Pedagang Jajanan Dan Penggunaan Rhodamin B Pada Makanan Jajanan Di Sekolah Dasar Negeri Kecamatan Laweyan, Surakarta, PREPOTIF: Jurnal Kesehatan Masyarakat, 7(3), pp. 16446-1647. doi: 10.31004/PREPOTIF.V7I3.20468.
- BPOM (2019) Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan.
- Diyah, Y. et al. (2021) Pemberian Edukasi Tentang Bahaya Pewarna Sintetis (Rhodamin B) Serta Deteksi Rhodamin B Pada Sampel Makanan Ringan Di Kawasan SDN Nglampir Tulungagung, Aptekmas Jurnal Pengabdian pada Masyarakat, 4(2). doi: 10.36257/APTS.V4I2.3352.
- [FAO/WHO] Food and Agriculture Organization of the United Nations World Health Organization. (2017). Food Additive Functional Classes. Diakses di <http://www.fao.org/gsaonline/reference/techfuncs.html>
- Fermanto and Sholahuddin, M. A. (2020) Studi Ilmiah Halal Food Additive Yang Aman Dikonsumsi Dan Baik Bagi Kesehatan', Journal of Halal Product and Research (JHPR). Available at: <https://e-journal.unair.ac.id/JHPR>.
- Hidayah, A. N. (2021) Gambaran Tingkat Pengetahuan Pedagang Dan Keberadaan Zat Pewarna Rodamin-B Dan Metanil Yellow Pada Jajanan Pasar di Lingkungan Pasar Tradisional Pleret. Available at: <http://poltekkesjogja.ac.id> (Accessed: 22 January 2024).
- Kemenkes (2012) Peraturan Kementerian Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI

- Nurdin and Utomo, B. (2018) Tinjauan Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Pada Makanan Jajanan Anak Sekolah, *Jurnal Riset Kesehatan*. Available at: <https://ejournal.poltekkes-smg.ac.id/ojs/index.php/jrk/article/view/3478/941>.
- Perdani, C. G. et al. (2022) Prinsip-Prinsip Bahan Tambahan Pangan Yang Memenuhi Syarat Halal: Alternatif Penyedap Rasa Untuk Industri Makanan Halal, *Halal Research Journal*, 2(2), pp. 96–111. doi: 10.12962/J22759970.V2I2.419.
- Presiana, D. (2020) Keamanan Pangan dan Bahan Tambahan Pangan (BTP). Available at: http://yin.thp.unmul.ac.id/thp/wp-content/uploads/2020/08/Materi-Dr.-Deksa-Presiana-Apt.-M.Kes_.pdf.
- Wisnu Cahyadi (2023) Analisis & Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Available at: Cahyadi, I. W. (2023). Analisis & aspek kesehatan bahan tambahan pangan. Jakarta: Bumi Aksara.
- Yulianti, R. et al. (2022) Keamanan Dan Ketahanan Pangan. Padang: PT Global Eksekutif Teknologi.

BAB 18

KERUSAKAN MAKANAN DAN MINUMAN

Subur Wibowo, S.SiT., M.Biomed

A. Pendahuluan

Makanan dan minuman sebagai bagian integral dari kehidupan sehari-hari manusia tidak hanya menyediakan energi dan nutrisi, tetapi juga memainkan peran kunci dalam menjaga kesehatan dan kesejahteraan manusia. Meskipun pangan yang aman dan bermutu tinggi menjadi kebutuhan mendasar, namun realitasnya, banyak faktor yang dapat mengakibatkan kerusakan pada makanan dan minuman dari proses produksi hingga konsumsi. (Almatsier, 2010)

Fenomena kerusakan pada pangan adalah tantangan yang kompleks dan melibatkan berbagai aspek mulai dari pengaruh lingkungan, faktor produksi, hingga praktik konsumsi. Dalam artikel ini, kami akan menyelidiki secara mendalam tentang berbagai dimensi kerusakan makanan dan minuman, mencakup akar penyebab, jenis kerusakan yang mungkin terjadi, dan dampaknya terhadap kesehatan manusia. Kerusakan makanan dapat terjadi dalam berbagai bentuk, mulai dari oksidasi dan peroksidasi, kontaminasi bakteri dan mikroba, hingga perubahan sifat fisik dan kimia akibat pengaruh suhu dan penyimpanan yang tidak tepat. Setiap tahap dalam rantai produksi dan distribusi pangan memiliki risiko potensial untuk menyebabkan kerusakan ini, yang pada gilirannya dapat membahayakan kesehatan konsumen. (Fennema, 1996; Afandi, 2009)

Upaya untuk memahami dan mengatasi tantangan kerusakan makanan dan minuman, diperlukan pemahaman yang komprehensif tentang faktor-faktor penyebab dan dampaknya. Oleh karena itu, pembahasan ini akan menyajikan analisis rinci tentang setiap aspek kerusakan yang mungkin terjadi pada makanan dan minuman, memberikan wawasan tentang bagaimana kondisi ini dapat terjadi dan memberikan pandangan tentang upaya pencegahan yang dapat diimplementasikan pada berbagai tingkat rantai pangan.

Dampak mengkonsumsi makanan dan minuman yang telah rusak tidak hanya sekedar memahami kerusakan sebagai masalah estetika, tetapi dampak kesehatan dari konsumsi makanan dan minuman yang mengalami kerusakan menimbulkan keracunan, gangguan pencernaan, dan risiko penyakit kronis. Dengan pemahaman yang lebih mendalam tentang kerusakan makanan dan minuman, diharapkan bahwa masyarakat akan mampu mengambil tindakan preventif, mendukung praktik produksi yang berkelanjutan, dan memastikan bahwa pangan yang dikonsumsi tetap memberikan kontribusi positif terhadap kesehatan dan kesejahteraan manusia.

B. Makanan Sehat

Makanan sehat adalah pilar utama untuk mencapai dan mempertahankan gaya hidup yang seimbang dan kesehatan yang optimal. Konsep makanan sehat tidak hanya mencakup aspek kuantitas, tetapi juga kualitas nutrisi yang terkandung di dalamnya. Makanan sehat didefinisikan oleh keberagaman nutrisi yang mencakup karbohidrat kompleks, protein berkualitas, lemak sehat, serta vitamin dan mineral esensial. Karbohidrat kompleks yang terdapat dalam sumber makanan seperti gandum utuh, sayuran, dan buah-buahan memberikan energi yang stabil dan bertahap, menjaga kadar gula darah tetap seimbang. Protein berkualitas, baik dari sumber hewani maupun nabati, memainkan peran penting dalam pembentukan dan perbaikan jaringan tubuh. Lemak sehat terutama yang berasal

dari asam lemak tak jenuh ganda, seperti omega-3, ditemukan dalam ikan, kacang-kacangan, dan minyak zaitun, mendukung kesehatan jantung dan fungsi otak. Pentingnya vitamin dan mineral tidak boleh diabaikan, karena keduanya mendukung sistem kekebalan tubuh, pertumbuhan sel, dan fungsi organ secara keseluruhan. (Afandi, 2009)

Makanan sehat juga mencakup konsumsi yang tepat dan seimbang, serta pemenuhan kebutuhan hidrasi dengan minum air yang cukup. Selain itu, proses pengolahan makanan sebaiknya minimal agar nutrisi utama tetap terjaga. Kesadaran akan makanan sehat tidak hanya menciptakan fondasi bagi tubuh yang sehat, tetapi juga berkontribusi pada kesejahteraan mental dan emosional, memastikan bahwa kebutuhan nutrisi terpenuhi secara holistik untuk mencapai kualitas hidup yang optimal.



Gambar 18.1. Makanan 4 Sehat 5 Sempurna (https://kumparan.com/berita-update/1vI0pBwfcu6?utm_source=Desktop&utm_medium=copy-to-clipboard&shareID=JVG2jNOIrsxk)

Nutrisi yang baik dan aman merupakan hal yang sangat penting untuk kesehatan masyarakat. Beberapa kegiatan edukasi kepada masyarakat telah dilakukan untuk meningkatkan pemahaman dan praktik terkait aspek sehat,

aman, dan halal dari makanan. Selain itu, pelatihan dan tontonan di sosial media tentang pengolahan makanan murah, sehat, layak, dan aman telah diedukasikan kepada penjual makanan jajanan untuk meningkatkan pengetahuan, sikap, dan ketersediaan makanan yang sesuai dan terjangkau. (Rosyidah *et al.*, 2018) Kegiatan pemberdayaan kesehatan melalui pelatihan pengolahan jajanan sehat, bergizi, dan aman berbasis pangan lokal juga dilakukan untuk meningkatkan kesadaran masyarakat terhadap keamanan pangan. Upaya lain termasuk identifikasi bahan berbahaya dalam makanan dan memberikan konseling serta bimbingan tentang bahan alternatif yang aman untuk Kesehatan. (Miranti *et al.*, 2021)

C. Kerusakan Makanan dan Minuman

Makanan rusak adalah fenomena yang menimbulkan kekhawatiran serius dalam konteks kesehatan dan keamanan pangan. Kerusakan makanan dapat terjadi pada berbagai tahap, mulai dari produksi, distribusi, hingga penyimpanan dan konsumsi. Faktor-faktor seperti kontaminasi bakteri, jamur, dan mikroba patogen, bersama dengan pengaruh suhu yang tidak tepat, dapat menyebabkan perubahan fisik, kimia, dan sensorik pada makanan. Hasilnya, makanan yang seharusnya memberikan nutrisi dan keamanan malah dapat menjadi media bagi penyakit dan infeksi. Proses oksidasi lemak, yang sering kali terjadi pada makanan yang terpapar udara, juga dapat menghasilkan senyawa berbahaya yang merugikan kesehatan. Selain itu, adanya bahan kimia pengawet yang berlebihan dalam makanan atau penggunaan bahan-bahan yang telah melewati batas kadaluarsa dapat mengakibatkan dampak yang merugikan pada tubuh manusia.

Kesadaran akan masalah makanan rusak menjadi krusial dalam upaya untuk meningkatkan praktik produksi yang aman, pemilihan makanan yang cerdas, dan kepatuhan terhadap standar keamanan pangan. Dengan memahami risiko dan konsekuensi dari makanan rusak, masyarakat dapat lebih proaktif dalam menjaga kualitas makanan yang mereka

konsumsi dan mendukung upaya untuk menciptakan rantai pangan yang lebih aman dan terpercaya.

Penyebab kerusakan makanan dan minuman melibatkan faktor-faktor kompleks yang dapat mempengaruhi kualitas produk dari proses produksi hingga konsumsi. Oksidasi lemak, kontaminasi mikroba, dan pengaruh suhu yang tidak terkontrol merupakan beberapa penyebab utama yang dapat menyebabkan perubahan fisik, kimia, dan sensorik pada makanan. Oksidasi lemak, misalnya, dapat menghasilkan senyawa oksigen reaktif yang mempengaruhi rasa dan aroma makanan.(Siró *et al.*, 2008) Kontaminasi mikroba, terutama oleh bakteri dan jamur, dapat merusak makanan dan meningkatkan risiko keracunan makanan (Adams & Moss, 2008). Faktor suhu yang tidak terkontrol dapat mempercepat pertumbuhan mikroba dan mempercepat perubahan kualitas makanan (Steinkraus, 2002; Adams and Moss, 2008; Siró *et al.*, 2008)

Pengelolaan yang tidak tepat seperti waktu penyimpanan yang berlebihan dan kondisi penyimpanan yang tidak sesuai juga dapat mempercepat kerusakan makanan. Penelitian oleh Van Boekel (2008) menekankan pentingnya pemahaman mendalam tentang interaksi berbagai faktor ini untuk mencegah kerusakan makanan dan minuman.(Van Boekel, 2008)

Upaya mencegah kerusakan makanan dan minuman, diperlukan pendekatan holistik yang mencakup praktik produksi yang baik, pemantauan suhu dan kelembaban, serta penanganan yang cermat selama distribusi dan penyimpanan. Kesadaran terhadap faktor-faktor ini bersama dengan implementasi praktik-praktik pencegahan yang disarankan oleh literatur ilmiah dapat membantu meminimalkan kerusakan pada makanan dan minuman serta memastikan keamanan dan kualitas produk yang dikonsumsi oleh masyarakat.

1. Oksidasi dan Peroksidasi

Makanan dan Minuman yang terpapar udara dapat mengalami oksidasi, yang dapat menyebabkan perubahan rasa, warna, dan aroma. Proses peroksidasi lemak dalam makanan dan minuman juga dapat menghasilkan senyawa berbahaya bagi Kesehatan.

Kerusakan makanan dan minuman akibat oksidasi dan peroksidasi merupakan fenomena kompleks yang melibatkan reaksi kimia yang dapat mempengaruhi kualitas sensorik dan nutrisi produk. Oksidasi lemak, sebagai salah satu bentuk reaksi ini, dapat terjadi ketika makanan atau minuman terpapar oleh oksigen dalam udara. Reaksi ini dapat menghasilkan senyawa radikal bebas dan peroksida lemak, yang dapat merusak struktur lemak esensial dalam produk pangan. Dalam literatur, Siró *et al.*, (2008) menyebutkan bahwa oksidasi lemak dapat memicu perubahan pada rasa, aroma, dan warna makanan, sehingga menurunkan daya tarik sensorik produk.(Siró *et al.*, 2008)

Proses peroksidasi lemak juga dapat menjadi penyebab utama kerusakan makanan dan minuman. Senyawa peroksida yang dihasilkan dapat merusak sel-sel pada tingkat molekuler dan mengakibatkan degradasi nutrisi penting. Menurut Shahidi and Zhong (2010), peroksidasi lemak dapat memicu terbentuknya senyawa oksidan yang dapat merusak asam lemak esensial, protein, dan vitamin dalam makanan, yang pada gilirannya dapat mempengaruhi nilai nutrisi dan keamanan pangan.(Shahidi and Zhong, 2015)

Untuk mencegah kerusakan akibat oksidasi dan peroksidasi, praktik produksi yang baik melibatkan penggunaan antioksidan alami atau buatan manusia untuk melindungi makanan dan minuman dari kerusakan tersebut. Pemahaman mendalam tentang mekanisme oksidasi dan peroksidasi, serta penerapan strategi pencegahan yang sesuai, dapat membantu industri pangan untuk menjaga kualitas dan keamanan produk mereka.

2. Kontaminasi Bakteri dan Mikroba

Makanan dan minuman yang terkontaminasi bakteri atau mikroba dapat menyebabkan keracunan makanan. Beberapa mikroorganisme dapat menghasilkan toksin yang dapat merusak organ tubuh. Kontaminasi bakteri dan mikroba adalah faktor utama yang dapat menyebabkan kerusakan makanan dan minuman, membawa risiko serius terhadap kesehatan manusia. Proses produksi, penanganan, dan penyimpanan makanan yang tidak tepat dapat menjadi pemicu utama kontaminasi mikroba, yang dapat mengakibatkan perubahan kualitas dan bahkan menimbulkan ancaman terhadap keselamatan pangan. Penelitian yang mendalam tentang aspek ini telah memberikan wawasan yang berharga.

Menurut Adams and Moss (2008), mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan virus dapat tumbuh dan berkembang dalam makanan dengan cepat jika kondisi penyimpanan atau pengolahan tidak memenuhi standar keamanan. Kontaminasi mikroba ini dapat menyebabkan kerusakan mikrobiologis pada makanan dan dapat berujung pada gejala keracunan makanan jika konsumsi produk yang terkontaminasi terjadi. (Adams and Moss, 2008)

Stuart and Wilcock (2004) juga menekankan pentingnya kebersihan selama proses produksi dan pengolahan untuk mencegah kontaminasi mikroba. Mereka menggarisbawahi bahwa sanitasi yang buruk atau tidak memadai dapat menciptakan lingkungan yang mendukung pertumbuhan bakteri dan mikroba lainnya dalam fasilitas pangan. Dalam upaya untuk melawan kontaminasi mikroba, penggunaan metode pengawetan dan pengolahan panas menjadi penting. Gould dan Russell (2007) menyatakan bahwa pemanasan makanan dapat membunuh atau mengurangi jumlah mikroorganisme patogen, memberikan lapisan perlindungan tambahan terhadap kontaminasi. (Stuart and Wilcock, 2004; Gould and Russell, 2007)

Tabel 18.1. Jenis Mikroorganisme Penyebab Kerusakan Makanan

No.	Nama Mikroorganisme	Jenis	Sumber Kontaminasi	Kerusakan yang Ditimbulkan
1	<i>Salmonella spp.</i>	Bakteri	Hewan, Telur, Daging Mentah	Infeksi saluran pencernaan, keracunan makanan
2	<i>Escherichia coli (E. coli)</i>	Bakteri	Tinja manusia, daging mentah	Diare, keracunan makanan
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bakteri	Manusia (hidung, kulit)	Muntah, diare, keracunan makanan
4	<i>Clostridium botulinum</i>	Bakteri	Tanah, kaleng yang tertutup	Keracunan makanan parah, kelumpuhan otot
5	<i>Listeria monocytogenes</i>	Bakteri	Tanah, air, daging olahan	Meningitis, gangguan pada kehamilan
6	<i>Vibrio cholerae</i>	Bakteri	Air, makanan laut	Kolera (diare berat)
7	<i>Campylobacter jejuni</i>	Bakteri	Tinja hewan, daging ayam	Diare, kolitis
8	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Kapang /Ragam khamir	Udara, tanah	Kerusakan produk fermentasi, perubahan rasa
9	<i>Aspergillus flavus</i>	Kapang /Ragam khamir	Tanah, udara, Bijian	Aflatoksin (karsinogenik), Kerusakan
10	Norovirus	Virus	Manusia (tinja, muntah)	Gastroenteritis, diare

Pemahaman yang lebih mendalam tentang perilaku mikroba dalam konteks pangan, industri pangan dapat mengembangkan strategi yang lebih efektif untuk mencegah dan mengatasi kontaminasi. Kesadaran akan praktik kebersihan yang baik, penerapan standar sanitasi, dan

inovasi dalam teknologi pengawetan menjadi kunci dalam menjaga integritas makanan dan memastikan produk yang dikonsumsi oleh masyarakat aman dan bermutu.

3. Pengaruh Suhu

Penyimpanan makanan pada suhu yang tidak tepat dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri yang merugikan. Makanan yang terlalu panas atau terlalu dingin dapat mengakibatkan perubahan struktur dan tekstur.

Suhu memainkan peran kritis dalam menjaga keselamatan dan kualitas pangan. Fluktuasi suhu yang tidak terkontrol dapat menyebabkan kerusakan pada tingkat mikrobiologis, kimia, dan fisik, yang dapat mengancam keamanan pangan dan mengubah sifat sensorisnya. Pertumbuhan mikroorganisme patogen dan spoilage sering kali dipicu oleh suhu yang tidak sesuai selama penyimpanan dan pengolahan makanan. Bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *Escherichia coli* (*E. coli*) memiliki laju pertumbuhan yang meningkat pada suhu tertentu, menyebabkan risiko kontaminasi yang signifikan. (Doyle and Buchanan, 2013)

Pada tingkat kimia, suhu juga dapat memicu reaksi yang mempengaruhi karakteristik sensoris makanan. Misalnya, suhu tinggi selama proses memasak dapat menyebabkan terbentuknya senyawa akrilamida pada makanan yang dapat berkontribusi pada risiko kesehatan tertentu. (Goff and Hartel, 2013) Sebaliknya, suhu yang rendah dapat memperlambat reaksi enzimatik dan menyebabkan perubahan warna, aroma, dan tekstur makanan. (Potter and Hotchkiss, 1998)

Penanganan yang tepat terhadap suhu dapat melibatkan penerapan rantai dingin, penggunaan metode pengolahan termal yang tepat, dan teknologi pengemasan yang sesuai. (Sun, 2014) Kesadaran akan dampak suhu pada makanan adalah kunci dalam menjaga kualitas dan keselamatan pangan dari proses produksi hingga konsumsi.

4. Kontaminasi Kimia

Minuman yang terkontaminasi zat-zat kimia berbahaya seperti logam berat atau bahan kimia pengawet dapat membahayakan kesehatan konsumen. Kontaminasi kimia dapat menjadi ancaman serius terhadap keamanan dan kualitas makanan dan minuman. Bahan kimia berbahaya yang dapat terdapat dalam makanan dapat berasal dari berbagai sumber, termasuk lingkungan, proses produksi, dan bahan kemasan. Salah satu contoh umum adalah akrilamida, senyawa kimia yang terbentuk saat makanan yang mengandung karbohidrat diproses pada suhu tinggi, seperti dalam proses pemanggangan atau penggorengan. (Tareke *et al.*, 2002) Akrilamida telah dikaitkan dengan risiko kesehatan tertentu dan dapat ditemukan dalam makanan yang sering dikonsumsi sehari-hari, seperti kentang goreng dan roti panggang.

Selain itu, zat aditif makanan juga dapat menjadi sumber kontaminasi kimia. Beberapa zat aditif yang digunakan untuk meningkatkan warna, rasa, atau umur simpan makanan dapat menimbulkan risiko jika digunakan secara berlebihan atau tidak sesuai dengan pedoman keamanan pangan. Senyawa-senyawa seperti pewarna sintetis dan pengawet tertentu, jika melebihi batas yang ditetapkan, dapat menyebabkan keracunan dan masalah kesehatan jangka panjang.

Upaya pengelolaan risiko dan pengawasan mutu makanan sangat penting untuk mengurangi risiko kontaminasi kimia. Pemerintah dan lembaga pengawasan pangan harus secara ketat mengawasi penggunaan bahan kimia dalam industri makanan dan minuman serta mengatur batas maksimal yang aman. Perusahaan makanan juga memiliki tanggung jawab untuk memastikan penggunaan bahan kimia sesuai dengan pedoman dan mengadopsi praktik-produksi yang aman. (Codex Alimentarius Commission, 2011)

Dalam menyikapi kontaminasi kimia, pendekatan holistik yang mencakup pengembangan metode analisis yang sensitif, pendidikan masyarakat, dan kerjasama antara pemerintah, industri, dan konsumen diperlukan untuk menjaga kualitas dan keamanan makanan dan minuman.

5. Pengaruh Fisik

Kerusakan makanan dan minuman akibat pengaruh fisik dapat merujuk pada sejumlah perubahan yang terjadi pada produk pangan sebagai akibat dari tekanan mekanis, deformasi, atau manipulasi fisik lainnya. Faktor-faktor ini dapat mempengaruhi integritas struktural, tekstur, dan keutuhan produk, yang pada gilirannya dapat berdampak pada kualitas sensorik dan daya simpan makanan. Menurut Roos dan Karel (1991), suhu dan tekanan dalam proses pemanasan dan pendinginan dapat menyebabkan perubahan fase pada makanan, yang dapat mengakibatkan perubahan struktur dan tekstur produk. Ini dapat menjadi penyebab utama kerusakan pada makanan beku atau makanan yang diolah panas. (Roos and Karel, 1991)

D. Pemantauan Kualitas Makanan dan Minuman

Pencegahan dan penyimpanan makanan dan minuman yang baik adalah aspek penting dalam memastikan keamanan dan kualitas produk pangan. Menjaga integritas makanan dari produksi hingga konsumsi melibatkan serangkaian praktik terbaik yang dapat meminimalkan risiko kontaminasi dan kerusakan. Penerapan pedoman keamanan pangan dan kebersihan merupakan langkah kunci dalam mencegah penyakit yang disebabkan oleh makanan dan memastikan bahwa konsumen mendapatkan produk yang aman. Pada tingkat produksi, sanitasi fasilitas dan peralatan merupakan faktor utama dalam mencegah kontaminasi. Pembersihan yang rutin dan penggunaan desinfektan yang sesuai dapat membunuh mikroorganisme yang dapat merusak makanan. Sumber kontaminasi seperti serangga dan hewan juga harus

dikendalikan agar tidak mencemari produk pangan. (Codex Alimentarius Commission, 2003)

Pemantauan kualitas ini dimulai sejak tahap produksi hingga saat distribusi dan konsumsi, mencakup serangkaian langkah yang dirancang untuk mengidentifikasi, mengukur, dan mengelola faktor-faktor yang dapat mempengaruhi integritas produk pangan. Pada tingkat produksi, pemantauan kualitas melibatkan penggunaan teknologi canggih untuk mendeteksi dan mengukur karakteristik kritis seperti tekstur, rasa, dan aroma. Analisis mikrobiologis dan kimia juga diterapkan untuk memastikan bahwa produk bebas dari kontaminan mikroba dan bahan berbahaya. Pada tingkat konsumen, pendekatan pemantauan melibatkan penggunaan label informasi nutrisi, tanggal kadaluarsa, dan petunjuk penyimpanan yang jelas. Konsumen yang berpendidikan tentang karakteristik kualitas makanan dan minuman dapat membuat pilihan yang informasional dan memastikan bahwa produk yang mereka beli sesuai dengan preferensi dan kebutuhan mereka. (Janssen, Mathijssen and Snels, 2019)

E. Kesimpulan

Kerusakan makanan dan minuman bukan hanya mengurangi kualitas sensoriknya, tetapi juga dapat membahayakan kesehatan manusia. Penting untuk meningkatkan kesadaran akan praktek penyimpanan dan pengolahan yang aman serta memperhatikan kualitas produk yang dikonsumsi agar dapat menjaga kesehatan tubuh dan mencegah berbagai dampak negatif yang dapat timbul akibat kerusakan makanan dan minuman.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M. R. and Moss, M. O. (2008) *Food Microbiology*. The Royal Society of Chemistry.
- Afandi, B. (2009) Pengaruh CO₂ (Karbondioksida) Murni Terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme pada Produk Minuman Fanta di PT. Coca-Cola Bottling Indonesia Unit Medan. Universitas Sumatera Utara.
- Almatsier, S. (2010) *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Van Boekel, M. A. J. S. (2008) 'Kinetic Modeling of Food Quality: A Critical Review', *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7(1), pp. 144–158. doi: 10.1111/j.1541-4337.2007.00036.x.
- Codex Alimentarius Commission (2003) *General Principles of Food Hygiene*. Available at: http://www.fao.org/input/download/standards/11094/CXG_002e.pdf.
- Codex Alimentarius Commission (2011) *General Standard for Food Additives (GSFA)*, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and World Health Organization (WHO).
- Doyle, M. P. and Buchanan, R. L. (eds) (2013) *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ASM Press.
- Fennema, O. R. (1996) *Food Chemistry*. 3rd edn. New York: Marcel Dekker Inc.
- Goff, H. D. and Hartel, R. W. (2013) *Ice Cream*. Springer Science & Business Media.
- Gould, G. W. and Russell, N. J. (2007) *Food Preservatives*. 2nd edn. Springer.
- Janssen, M., Mathijssen, E. and Snels, J. (2019) 'The Impact of Consumer Expertise on Cognitive and Affective Responses to Food Labeling', *Food Quality and Preference*, 73, pp. 158– 168.

- Miranti, M. G. et al. (2021) 'Pemberdayaan Kesehatan Melalui Pelatihan Pengolahan Jajanan Sehat, Bergizi, dan Aman Berbasis Pangan Lokal', *Jurnal ABDI*, 6(2), pp. 80–85.
- Potter, N. N. and Hotchkiss, J. H. (1998) *Food Science*. Springer.
- Roos, Y. H. and Karel, M. (1991) *Phase Transitions in Foods*. Academic Press.
- Rosyidah, A. et al. (2018) 'Identifikasi Boraks, Formalin Serta Pewarna Beracun dan Berbahaya Menuju Produk Makanan Sehat dan Higienis', *IPTEK Journal of Proceedings Series*. doi: <https://doi.org/10.12962/J23546026.Y2018I5.4443>.
- Shahidi, F. and Zhong, Y. (2015) 'Measurement of Antioxidant Activity', *Journal of Functional Foods*, 18, pp. 757–781. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>.
- Siró, I. et al. (2008) 'Functional Food. Product Development, Marketing And Consumer Acceptance-A Review', *Appetite*, 51(3), pp. 456–467. doi: 10.1016/j.appet.2008.05.060.
- Steinkraus, K. H. (2002) *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. CRC Press.
- Stuart, J. and Wilcock, A. (2004) 'Industrial Perspective of Food Safety', in Lelieveld, H. H. J., Walstra, P., and Voragen, A. G. J. (eds) *Food Biotechnology*. Marcel Dekker Inc, pp. 305–316.
- Sun, D. W. (ed.) (2014) *Handbook of Frozen Food Processing and Packaging*. CRC Press.
- Tareke, E. et al. (2002) 'Analysis of Acrylamide, A Carcinogen Formed in Heated Foodstuffs', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), pp. 4998–5006. doi: 10.1021/jf020302f.

BAB 19 | KEAMANAN PANGAN

Tuty Hertati Purba, SKM., M.Kes

A. Pendahuluan

Keamanan pangan (*food safety*) adalah salah satu upaya yang dilakukan untuk menjaga pangan agar tidak tercemar dan membahayakan kesehatan manusia. Pada Umumnya pencemaran yang sering terjadi dilingkungan adalah cemaran biologis, kimia dan benda lain yang membuat pangan rusak dan tidak berguna untuk kesehatan tubuh manusia. (Peraturan Pemerintah, 2019). Keamanan pangan masih menjadi permasalahan utama seluruh dunia karena berdampak negatif terhadap kesehatan dan perekonomian dunia. Isu terkait keamanan pangan semakin berkembang di masyarakat dikarenakan adanya kasus terkait keracunan makanan dan semakin tingginya kesadaran masyarakat terkait makanan sehat dan aman serta halal. Berdasarkan data badan standarisasi pengawasan obat dan makanan sampai triwulan II tahun 2023 terdapat 129 kasus terhadap komoditi pangan (Badan POM,

2023) . Dengan adanya peningkatan kasus keamanan pangan maka diharapkan upaya pemerintah, industri dan masyarakat dalam menerapkan standar keamanan pangan agar terhindar dari kontaminasi pangan.

1. Pangan

Pangan adalah segala bahan yang berasal dari hasil usaha tani, perkebunan, perikanan, budidaya ternak, baik yang diolah maupun bahan alam yang dapat dimakan yang

berguna baik bagi kesehatan, termasuk bahan tambahan pangan, bahan mentah, dan bahan yang ikut serta dalam proses pembuatan makanan. (Peraturan pemerintah, 2012)

B. Keamanan Pangan

Keamanan pangan adalah kebutuhan masyarakat, karena melalui makanan yang terjamin, mereka dapat menjaga kesehatan dan terhindar dari risiko penyakit serta gangguan kesehatan lainnya. dasar utama dari keamanan pangan adalah kebersihan sanitasi makanan, pemenuhan gizi yang seimbang, dan aspek keselamatan pangan (Sartika, 2020).

Pangan memiliki peran penting dalam menjaga kesehatan, karena selain memenuhi kebutuhan dasar, pangan juga dapat menjadi sumber penularan penyakit jika tidak dikelola dengan higienis. Prinsip utama dalam penyediaan makanan di berbagai institusi adalah menyediakan makanan yang bersih dan sehat. Kurangnya konsistensi dalam penyiapan makanan dapat menimbulkan dampak buruk seperti penyakit bawaan makanan yang disebabkan dari terkontaminasinya mikroorganisme, tumbuhan maupun hewan dan juga dapat menimbulkan hal buruk seperti kontaminasi bahan kimia serta mengakibatkan reaksi alergi (Sartika, 2020).

Pangan dipandang terlindungi jika memenuhi pedoman *food safety* yang mencegah potensi bahaya pada makanan akibat terkontaminasi oleh cemaran biologi, kimia dan fisik, sehingga dapat membahayakan kesejahteraan manusia. Penanganan pangan dapat dimulai dari *personal hygiene* dan sanitasi pangan yang merupakan upaya untuk mencegah pertumbuhan dan penyebaran mikroorganisme patogen pada pangan, peralatan dan pertumbuhan yang dapat membahayakan kesehatan. (Al, 2022).

C. Cemarannya Pangan

Kementerian Kesehatan RI (2004) menyatakan bahwa kontaminasi atau pencemaran adalah suatu zat asing yang tidak diinginkan yang terdapat pada pangan. Pencemaran makanan dapat dibagi menjadi 4 (empat) kelompok, yaitu:

1. Cemarannya Fisik

Cemarannya fisik adalah jenis cemarnya yang disebabkan oleh lingkungan sekitar seperti: masuknya rambut ke dalam makanan, adanya serangga, pasir, debu, kerikil, beling, kayu, logam, plastik dan lain sebagainya.

2. Cemarannya Biologi

Cemarannya biologi adalah cemarnya yang disebabkan oleh mikroorganisme yang tidak dapat dilihat secara langsung atau harus menggunakan alat bantu seperti kaca mikroskop. Cemarnya ini biasanya disebabkan oleh virus, bakteri, jamur dan cendawan.

3. Cemarannya Kimia

Cemarannya kimia mengacu pada suatu cemarnya yang disebabkan oleh adanya unsur bahan kimia dalam makanan yang tidak memenuhi standarisasi. Contohnya Seperti penggunaan pemutih dan pewangi terhadap bahan pangan beras, penggunaan bahan pengawet yang berlebihan, penggunaan boraks pada pembuatan bakso dan lain sebagainya.

4. Cemarannya Radioaktif

Cemarannya ini biasanya jarang terjadi di Indonesia. Cemarnya ini disebabkan oleh radioaktif, sinar Alfa, sinar gamma dan radiasi.

Berdasarkan kejadian pencemaran, pencemaran terdiri dari 2 (dua) cara, yakni:

1. Pencemaran langsung, yaitu pencemaran tertentu yang terjadi baik disengaja maupun tidak disengaja, atau karena kecerobohan, misalnya rambut atau kuku pada makanan.

2. Pencemaran silang, yaitu pencemaran khusus yang terjadi secara tersirat karena tidak adanya informasi dalam penanganan pangan. Contoh menggunakan pisau yang sama dalam menangani makanan mentah dan makanan matang di waktu bersamaan tanpa mencuci terlebih dahulu. (Indraswati, 2016).

D. Dampak Cemarannya Pangan

Foodborne illness sakit dikarenakan kurangnya keamanan pangan atau penyakit bawaan makanan karena adanya kontaminasi pada makanan baik secara langsung ataupun tidak langsung. Dampak yang ditimbulkan berbeda-beda tergantung jenis bahan cemarannya. Pada umumnya bahaya biologis bersifat akut sedangkan bahaya kimia bersifat kronik. Dampak biologis yang terjadi di masyarakat dikarenakan cemaran patogen mengakibatkan kejadian luar biasa (KLB).

1. Penyakit Infeksi

Penyakit infeksi adalah kondisi yang disebabkan adanya bakteri pathogen masuk ke dalam tubuh. Bahan makanan yang sudah tercemar bakteri dapat menyebabkan penyakit infeksi terhadap orang yang mengkonsumsinya. Jenis penyakit yang terjadi tergantung jenis bakteri pathogen yang dapat menyebabkan kontaminasi makanan, serta periode inkubasi dan gejala sesuai dengan pathogentitasnya. Salah satu jenis penyakit infeksi adalah: Tifus, dan diare, dengan gejala mual dan muntah.

2. Keracunan Makanan

Keracunan makanan terjadi karena adanya kontaminasi dari toksin atau bahan kimia. Gejalanya seperti pusing, mual, muntah, diare dan kejang perut yang dapat muncul segera setelah mengonsumsi makanan yang sudah terkontaminasi.

3. Infeksi Parasit

Infeksi ini terjadi karena adanya parasit pada makanan, jenis parasit yang sering terjadi adalah serangga: lalat (Indraswati, 2016).

E. Peranan Makanan Sebagai Perantara Penularan Penyakit

Dalam konteks penyakit/keracunan, makanan memiliki peran yang bervariasi:

1. Sebagai Agen Penyakit:

Dalam konteks penyakit/keracunan, makanan dapat bertindak sebagai agen penyakit, penyebab adalah munculnya suatu penyakit. misalnya adalah jamur, ikan, dan beberapa tumbuhan lain yang secara alami mengandung zat racun.

2. Sebagai Pembawa (Vehicle):

Makanan juga dapat bertindak sebagai pembawa (vehicle) penyakit, di mana bahan kimia, parasit, beberapa mikroorganisme patogen, atau bahan radioaktif ikut terkonsumsi bersama makanan. Makanan tersebut terkontaminasi oleh zat-zat berbahaya, meskipun pada awalnya tidak mengandung zat tersebut. Hal ini dapat disebabkan oleh kontaminasi dari luar atau dari bahan makanan itu sendiri.

3. Sebagai Media:

Makanan juga dapat menjadi lingkungan yang mendukung pertumbuhan dan perkembangbiakan penyebab penyakit. Makanan dengan kadar protein tinggi cenderung tidak stabil dan mudah membusuk, sehingga menjadi media yang baik bagi pertumbuhan kuman. Bakteri akan menyukai makanan jika kondisi kelembabannya sesuai dan suhunya tepat untuk pertumbuhan bakteri. Mikroorganisme yang menyebabkan keracunan makanan dapat berkembangbiak pada lingkungan yang lembap dan di suhu yang sesuai. Bahkan, pencemaran sekecil apapun dapat menyebabkan masalah serius jika dibiarkan dalam makanan pada suhu dan waktu yang cukup (Indraswati, 2016).

F. Kunci Keamanan Pangan

Keamanan pangan perlu dijaga bersama, baik pengolah dan penjual makanan ada 5 kunci lima keamanan pangan bagi penjual dan pengolah makanan siap saji.

1. Membeli Bahan Baku dengan Aman

Bahan baku adalah bahan dasar yang akan diolah dan diproduksi untuk jadi makanan dan minuman. Membeli bahan baku sebaiknya dalam keadaan baik, segar dan aman. Bahan baku makanan perlu diperhatikan dari mana asal usulnya, bahan baku sebaiknya berasal dari tempat yang resmi dan diawasi. Prinsip penyimpanan bahan baku dilakukan dengan *FIFO (First in First Out)* dan *FEFO (First Expired First Out)* dimana bahan baku yang disimpan pertama kali dan yang akan mendekati masa kadaluarsa maka digunakan lebih dahulu. Penyimpanan bahan baku perlu diperhatikan sesuai jenis pangan agar terhindar dari kontaminasi.

NO	JENIS PANGAN	LAMA DAN SUHU PENYIMPANAN PANGAN		
		< 3 Hari	< Hari 7	> 7 Hari
1	Daging, Ikan dan Olahannya	0 s/d -5 °C	-5 s/d -10 °C	< -10°C
2	Telur, susu dan olahannya	5 s/d 7 °C	0 s/d -5 °C	< -5°C
3	Sayur, Buah dan pangan olahannya	10°C	10°C	10°C
4	Tepung dan biji-bijian	-	-	28 s/d 30°C atau suhu ruang

2. Mengolah dengan Aman

Tempat pengolahan pangan atau dapur harus sehat dan bersih sesuai syarat higiene sanitasi, sebelum diolah sebaiknya bahan dipilih untuk memisahkan/membuang bagian bahan pangan yang rusak (disortir). Semua bahan wajib dicuci dengan air bersih yang mengalir. Peralatan pengolahan dibersihkan setiap peralatan akan digunakan dan setelah digunakan dan keadaan peralatan tidak cacat, tidak retak dan mudah dibersihkan. Olah makanan dalam jumlah porsi sesuai kebutuhan supaya tidak ada makanan yang terbuang. Menjamah pangan matang sebaiknya menggunakan penjepit atau sendok. Suhu dasar pengolahannya adalah 90°C sehingga bakteri berbahaya dan mikroorganisme patogen tidak dapat bertahan dan mengolah makanan sebaiknya tidak terlalu lama agar zat gizi tidak hilang. Pangan yang sudah dilelehkan harus segera diolah dan sebaiknya hindari pembekuan kembali untuk pangan yang sudah dilelehkan karena kemungkinan bakteri masih ada.

3. Menyajikan dengan Aman

Makanan biasanya ada yang dipajang dan ada yang disajikan, Makanan yang dipajang sebaiknya bersih serta dibersihkan secara berkala, kering dan cukup cahaya. Mudah dibersihkan, terhindar dari hama, mudah dilihat konsumen. Sebelum dipajang sebaiknya periksa makanan tidak boleh rusak, busuk atau basi (berbau busuk, berlendir, berubah warna dan berjamur), ditutup dengan baik tapi berventilasi agar mengeluarkan uap air. Tidak tercampur dengan pangan mentah.

Dalam memajang makanan dilakukan fifo dan fefo dan membuat peringatan untuk konsumen mengenai hal yang diperhatikan pada saat memilih makanan dan membuat nama bahan makanan. Makanan yang disajikan sebaiknya ditempatkan pada tempat khusus (ada penghangat makanan) dan peralatan makan diletakan di samping wadah

makanan, keran dispenser seperti untuk sirup, sari buah (jus), dan air minum harus selalu dibersihkan. Setiap jenis makanan dibuat dalam wadah yang tertutup dan terpisah untuk menghindari cemaran silang. Makanan yang dimasak sebaiknya tidak dikemas dalam kemasan sekali pakai, namun jika harus menggunakan kemasan sebaiknya gunakan yang aman dan benar.

4. Menjual dengan Aman

Menjual makanan yang aman perlu memperhatikan kondisi penjual makanan menggunakan penutup kepala, masker dan menggunakan celemek serta sarung tangan. Penjual makanan sehat, bersih, rapi, sebelum dan sesudah mengambil makanan selalu mencuci tangan. Mengemas makanan yang dibungkus memperhatikan wadah yang digunakan, contoh seperti dua dilengkapi pelapis *food grade*.

5. Menjaga Kebersihan

Untuk menjaga keamanan pangan maka tempat pengolahan (bangunan) dan peralatan harus bersih, menyediakan tempat cuci tangan dilokasi penjualan. Tersedia air bersih yang memenuhi persyaratan air bersih dan tersedia cukup untuk semua kegiatan usaha. Bahan pangan mentah yang langsung dikonsumsi dicuci dengan air matang atau dicelup air mendidih (80 - 100 oC) selama 1 - 5 detik. Tersedia tempat sampah tertutup dan diletakkan ditempat yang mudah dijangkau supaya sampah tidak berserakan di sekitar area tempat usaha (Deputi Bidang Pengawasan Pangan Olahan, 2020).

Hal yang dapat dilakukan untuk menjaga pangan dari cemaran biologis, cemaran kimia dan cemaran fisik di lingkungan keluarga ada 5 kunci keamanan pangan, yaitu:

1. Menjaga Kebersihan

Upaya yang dilakukan agar terhindar dari keracunan makanan salah satunya adalah dengan menjaga kebersihan individu dan makanan. Semua lapisan masyarakat diharapkan dapat menerapkan kegiatan hygiene dan

sanitasi. Hygiene merupakan kegiatan membersihkan diri sendiri seperti mandi, sikat gigi, cuci tangan pakai sabun, menggunakan masker dan lain sebagainya sedangkan sanitasi merupakan upaya yang dilakukan untuk menjaga lingkungan sekitar, seperti mencuci peralatan makan dan menyimpan di tempat yang bersih dan terhindar dari kontaminasi, membersihkan lingkungan sekitar agar terhindar dari serangga dan binatang pengerat.(Dra. Mauizzati Purba, Apt., M.Kes., 2020)



2. Pisahkan Pangan Mentah dan pangan Matang



Pemisahan bahan makanan matang dan mentah dilakukan untuk menghindari kontaminasi silang. Kontaminasi silang adalah perpindahan mikroorganisme yang dimulai dari satu makanan ke makanan berikutnya. Cara mencegah terjadinya kontaminasi silang adalah menggunakan alat makan yang tertutup, menggunakan alat pemotong makanan ataupun alas pemotong/talenan yang berbeda untuk setiap pangan, menggunakan tas belanja yang terpisah saat belanja bahan makanan, menyusun bahan makanan matang di atas bahan makan mentah, dan selalu

membersihkan peralatan makanan sesudah kontak langsung dengan pangan mentah (Dra. Mauizzati Purba, Apt., M.Kes., 2020).

3. Masaklah dengan Benar



Memasak makanan dengan suhu >70 derajat Celcius dapat mematikan patogen yang terdapat di dalam makanan mentah. Memasak dengan suhu yang sesuai dapat mematikan bakteri patogen. Mengonsumsi makanan mentah tidak dianjurkan karena masih terdapat nya bakteri di dalam bahan pangan mentah yang bisa menyebabkan penyakit infeksi (Dra. Mauizzati Purba, Apt., M.Kes., 2020).

4. Jagalah Pangan pada Suhu Aman



Menyimpan bahan makanan dengan suhu yang sesuai, seperti bahan makanan kering sebaiknya disimpan pada suhu 19-20 derajat Celcius dan bahan makanan basah disimpan pada suhu 0-10 derajat Celcius. Penyimpanan bahan makanan lebih disarankan menggunakan wadah yang

tertutup agar mencegah terjadinya kontaminasi silang (Dra. Mauizzati Purba, Apt., M.Kes., 2020)

5. Penggunaan Air dan Bahan Baku yang Aman



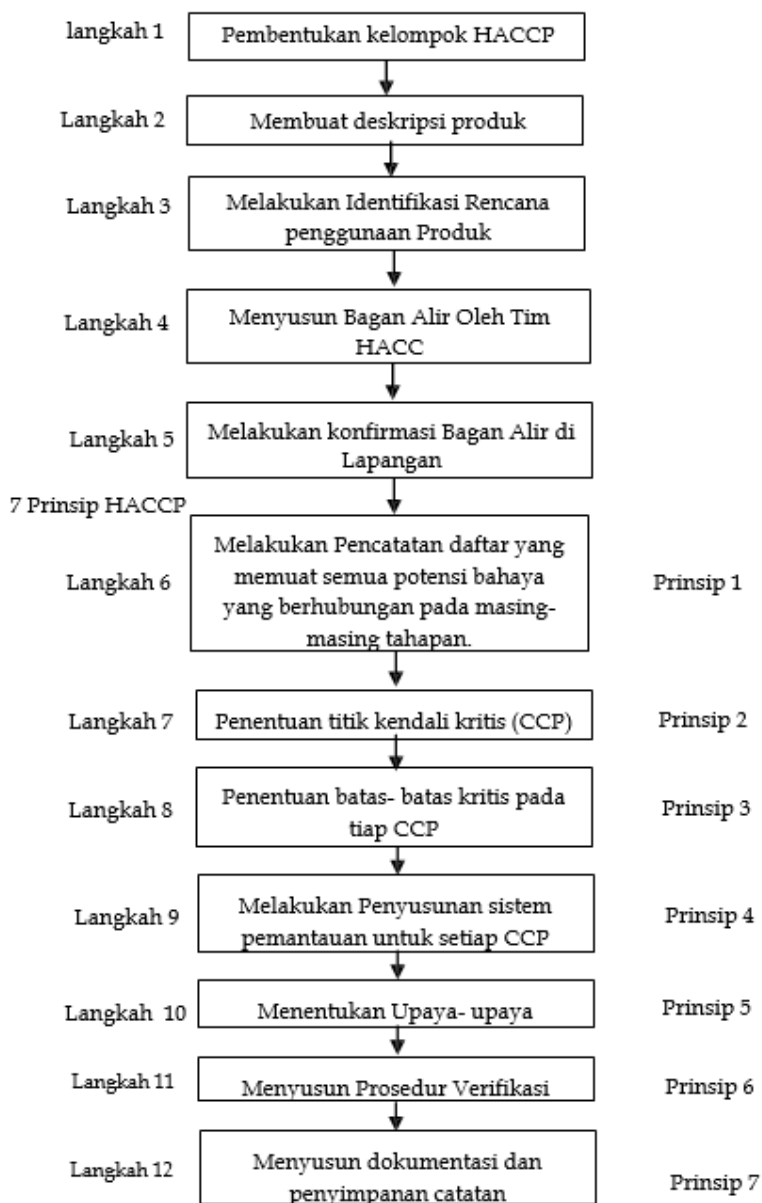
Penggunaan air juga harus diperhatikan, dikarenakan air merupakan salah satu komponen yang rentan terkena kontaminasi sehingga perlu adanya penyaringan dan pengecekan air apakah air tersebut layak konsumsi atau tidak supaya orang yang mengkonsumsinya juga dapat terhindar dari Cemar bakteri, kimia maupun fisik. Pemilihan bahan makanan juga dapat menentukan makanan terhindar dari kontaminasi, bahan yang baru saja didapat dari pasar harus langsung dibersihkan dan disimpan agar menurunkan angka kejadian kontaminasi (Dra. Mauizzati Purba, Apt., M.Kes., 2020).

G. Pengendalian Keamanan Pangan

Menjaga kualitas dan mutu pangan agar terhindar dari pencemaran yang terjadi karena siklus penanganan bahan pangan yang tidak memperhatikan kebersihan, maka perlu dilakukan pengendalian keamanan pangan. Pencemaran yang terjadi selama proses pembuatan pangan disebut pencemaran silang yang disebabkan oleh iklim (air, tanah, udara), alat-alat yang digunakan dan individu yang mengolah pangan, serta permukaan kerja yang bersentuhan dengan makanan dapat mengakibatkan pangan tercemar. Untuk menjaga kualitas pangan mulai dari hasil produksi hingga ke meja makan maka dilakukan pengendalian keamanan pangan. (BSN, 2013)

1. HACCP singkatan dari *Hazard Analysis Critical Control Point*, merupakan kerangka kerja yang digunakan untuk mengurutkan risiko dan memutuskan kerangka pengendalian yang menekankan pada penanggulangan. Sasaran dasar HACCP adalah upaya untuk mencegah risiko yang mungkin terjadi pada lokasi utama produksi pangan dengan mengendalikan fokus-fokus tersebut. Dengan melakukan HACCP diharapkan makanan yang dihasilkan akan terbebas dari risiko pencemaran mikrobiologi, zat kimia, dan fisik sehingga makanan tersebut layak dikonsumsi oleh konsumen. Tujuan HACCP adalah untuk mengurangi kemungkinan pencemaran oleh mikroorganisme patogen dan mengurangi kemampuan mikroba untuk tumbuh dan berkembang. Adapun prinsip dari HACCP adalah:
 - a. Lakukan analisis bahaya (*Hazard Analysis*) dan menetapkan resiko dan cara pencegahan.
 - b. Pada proses produksi tentukan dan identifikasi titik kendali kritisnya (CCP).
 - c. Titik kendali kritis yang sudah teridentifikasi ditetapkan batas kritisnya.
 - d. Menyusun langkah-langkah pemantauan dan persyaratan untuk melakukan monitor CCP
 - e. Jika ada terjadi penyimpangan (deviasi) pada batas kritisnya, segera ditentukan dan ditetapkan tindakan koreksi yang harus dilakukan.
 - f. Melaksanakan pencatatan secara reguler (secara efektif) dan menyimpan datanya (Record keeping)
 - g. Menetapkan prosedur untuk menguji kebenaran (BSN, 2013).

Dalam penerapan 7 prinsip ini ada 12 langkah yang dilakukan terlihat pada alir berikut (RI, 2018):



2. Konsep ISO 22000:2009

ISO 22000 adalah standar yang dibuat oleh International Organization for Standardization yang terkait erat dengan sanitasi/keamanan pangan. Secara umum, ISO 22000 merupakan bagian dari ISO 9000. ISO 22000 adalah standar yang memuat prasyarat kerangka acuan penanganan makanan. Standar ini menggarisbawahi kontrol dalam kerangka dan siklus pembuatan makanan dan minuman yang sesuai dengan pedoman yang telah disepakati, mulai dari bahan pangan hingga produsen yang menangani dan mengemas, hingga transportasi dan penjualan produk. Standar utama ISO 22000 adalah:

- a. Komunikasi Interaktif, dengan adanya komunikasi yang efektif bahaya sanitasi akan dengan mudah dibedakan dan dikendalikan.
- b. Sistem manajemen, dengan administrasi yang kuat, pelaksanaannya akan dilakukan dengan mengikuti rancangan administrasi sehingga semua kegiatan terorganisir
- c. Prerequisite Program (Program Persyaratan Dasar)
- d. Standar HACCP, sistem manajemen keamanan pangan ISO 22000:2005 mengintegrasikan prinsip-prinsip HACCP (Jateng, 2021).

3. Good Manufacturing Practices (GMP)

Dengan memberikan cakupan yang melingkupi sistem proses prosedur, dan dokumentasi produk, *Good Manufacturing Practices* (GMP) digunakan untuk mengendalikan kualitas produk. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa barang yang diproduksi memenuhi pedoman yang baik dan dapat diandalkan, sesuai untuk rencana penggunaan dan memenuhi persyaratan persetujuan periklanan atau penentuan barang.

GMP adalah hal utama yang penting sebelum industri makanan mendapatkan perjanjian kerangka kerja HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*). Agar kerangka

HACCP dapat berjalan dengan baik dan benar, maka pada awalnya perlu memenuhi program *Pre-essential* (kebutuhan mendasar), tugas GMP dalam menjaga sanitasi sesuai dengan persyaratan pelaksanaan HACCP. Secara umum, perbedaan antara GMP dan SSOP (*Standard Sanitation Operating Procedure*) adalah: GMP berpusat pada penyelesaian tugas fungsional di lingkungan produksi, sedangkan SSOP adalah strategi yang digunakan oleh industri untuk membantu pencapaian tujuan umum atau target yang diharapkan. Dengan dilakukannya GMP akan membantu menjaga mutu dan kualitas tinggi dari produk pangan (Susiwi, 2009).

DAFTAR PUSTAKA

- Al, R. et (2022) *Keamanan dan Ketahanan Pangan*. Tersedia pada: www.globaleksekuatifteknologi.co.id.
- Badan POM (2023) "Kinerja BPOM dalam Angka Triwulan II Tahun 2023."
- BSN (2013) "SNI 01-4852-1998. Sistem Analisa Bahaya dan Pengendalian Titik Kritis (HACCP) serta Pedoman Penerapannya," Sni 01-4852-1998, hal. 1.
- Deputi Bidang Pengawasan Pangan Olahan, B.R. (2020) "5 Kunci Keamanan Pangan Untuk Pengolah dan Penjual Pangan Siap Saji (PSS)," hal. 1-44.
- Dra. Mauizzati Purba, Apt., M.Kes., D. (2020) 5 Kunci Mengolah Pangan Dengan Aman. Jakarta: Direktorat Surveilans dan Penyuluhan Keamanan Pangan, BPOM, 2017.
- Indraswati, D. (2016) Kontaminasi Makanan (Food Contamination) oleh Jamur, Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES).
- Jateng, D.P. (2021) "Penerapan HACCP & ISO 22000 Dalam Keamanan Pangan," hal. 1-5.
- Peraturan pemerintah (2012) "Undang-undang RI Nomor 18 Tahun 2012 tentang pangan," hal. 32.
- Peraturan Pemerintah (2019) "Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 86 Tahun 2019 Tentang Keamanan Pangan," Peraturan Pemerintah Tentang Keamanan Pangan, 2019(86), hal. 1-102.
- RI, K.K. (2018) Pengawasan Mutu Pangan.
- Sartika, R.S. (2020) "Keamanan pangan Penyelenggaraan Makanan bagi Pekerja," *Jurnal Gizi Kerja dan Produktivitas*, 1(1), hal. 29-35.
- Susiwi, S. (2009) "Cara Pengolahan Pangan Yang Baik," (Ki 531). Al, R. et (2022) *Keamanan dan Ketahanan Pangan*. Tersedia pada: www.globaleksekuatifteknologi.co.id.

- Badan POM (2023) "Kinerja BPOM dalam Angka Triwulan II Tahun 2023.
- BSN (2013) "SNI 01-4852-1998. Sistem Analisa Bahaya dan Pengendalian Titik Kritis (HACCP) serta Pedoman Penerapannya," Sni 01-4852-1998, hal. 1.
- Deputi Bidang Pengawasan Pangan Olahan, B.R. (2020) "5 Kunci Keamanan Pangan Untuk Pengolah dan Penjual Pangan Siap Saji (PSS)," hal. 1-44.
- Dra. Mauizzati Purba, Apt., M.Kes., D. (2020) 5 Kunci Mengolah Pangan Dengan Aman. Jakarta: Direktorat Surveilans dan Penyuluhan Keamanan Pangan, BPOM, 2017.
- Indraswati, D. (2016) Kontaminasi Makanan (Food Contamination) oleh Jamur, Forum Ilmiah Kesehatan (FORIKES).
- Jateng, D.P. (2021) "Penerapan HACCP & ISO 22000 Dalam Keamanan Pangan," hal. 1-5.
- Peraturan pemerintah (2012) "Undang-undang RI Nomor 18 Tahun 2012 tentang pangan," hal. 32.
- Peraturan Pemerintah (2019) "Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 86 Tahun 2019 Tentang Keamanan Pangan," Peraturan Pemerintah Tentang Keamanan Pangan, 2019(86), hal. 1-102.
- RI, K.K. (2018) Pengawasan Mutu Pangan.
- Sartika, R.S. (2020) "Keamanan pangan Penyelenggaraan Makanan bagi Pekerja," Jurnal Gizi Kerja dan Produktivitas, 1(1), hal. 29-35.

TENTANG PENULIS



Dr. apt. Rida Evalina Tarigan, S.Farm., M.Si. lahir di Medan, pada 16 Desember 1980. Lulusan S1 Farmasi, Profesi Apoteker, S2 Farmasi dan S3 Doktor Ilmu Farmasi, pada Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia. Aktif bertugas sebagai Dosen pada Program Studi S1 Farmasi, Institut Kesehatan Helvetia, Sumatera Utara, Medan, Indonesia, serta menduduki jabatan sebagai Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Institut Kesehatan Helvetia dari November 2021 sampai sekarang.



apt. Emelda, M.Farm. lahir di Nagara, Kalimantan Selatan pada 22 Februari 1991. Ia tercatat sebagai lulusan S1 Farmasi (Tahun 2013), S2 Farmasi (tahun 2015) dan Profesi Apoteker (Tahun 2014) di Universitas Ahmad Dahlan. Wanita yang kerap disapa Emel ini adalah anak dari pasangan Bapak H.Muhammad Rafiq, M.pd. (ayah) dan ibu Siti Aminah (ibu). Saat ini bertugas sebagai Dosen tetap pada Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan Program Studi S1 Farmasi Universitas Alma Ata (UAA) Yogyakarta. Mata Kuliah yang

sering diampu adalah pada bidang Biologi Farmasi seperti Farmakognosi, Mikrobiologi dan Fitokimia. Aktif menulis Artikel di Jurnal nasional terakreditasi dan juga berpartisipasi dalam jurnal Internasional terindeks scopus.



Ayu Puspitasari, ST, M.Si lahir di Madiun, pada 25 Maret 1980. Pendidikan Sarjana ditempuhnya pada Jurusan Teknik Kimia ITS dan lulus di Tahun 2002. Gelar M.Si diperoleh dari Jurusan Kimia (Bidang Ilmu Biokimia) ITB pada 2012. Istri dari Ulul Azmi ini dalam kesehariannya senang berolahraga dan membaca. Sejak tahun 2005 – saat ini, Ayu Puspitasari selalu aktif dalam kegiatan Tri Dharma Perguruan Tinggi dan bekerja sebagai dosen di Poltekkes Kemenkes Surabaya sejak 2005. Mata kuliah yang diampunya adalah Kimia Pangan, Biokimia, Biologi Molekul, Toksikologi Klinik, dan Herbal.



Nuradi, S.Si., M.Kes. lahir di Bilokka Sidrap, pada Tanggal 1 Oktober 1967. Lulusan Universitas Airlangga (UNAIR) Tahun 2003. Laki-laki yang kerap disapa Adi ini adalah anak dari pasangan Ahmad Dahlan (ayah) dan IMattauwape (ibu). Dosen Poltekkes Kemenkes

Makassar pada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis.



Christ Kartika Rahayuningsih, ST, M.Si lahir di Surabaya, pada 12 Juni 1982. Ia tercatat sebagai lulusan Institusi Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) dan Universitas Airlangga Surabaya. Wanita yang kerap disapa Ika ini adalah anak dari pasangan Margono (ayah) dan Wieke Sriwulan (ibu). Juga istri dari Anung Raharjo (Suami), dan memiliki 2 anak, yaitu Safira Nuranirasya Vianika (Anak ke-1), dan Nafiza Martadinata Vianika (Anak ke-2). **Christ Kartika Rahayuningsih** adalah Dosen di Jurusan TLM Poltekkes Kemenkes Surabaya dan bukanlah orang baru didunia ilmu Kimia Air, Makanan dan Minuman, serta Instrumen Laboratorium Kesehatan. Ia sering membimbing mahasiswa-mahasiswa Prodi TLM dalam kompetisi Program Kreativitas Mahasiswa di bidang penelitian Kimia Kesehatan, dan mahasiswa sering mendapatkan peringkat yang membanggakan kampus TLM Poltekkes Kemenkes Surabaya



Muhammad Izzul Widad Fahmi, S.ST., M.Gz. lahir di Jember, pada 27 Februari 1996. Ia tercatat sebagai lulusan D4 Gizi Klinik Politeknik Negeri Jember lulus tahun 2018 dan S2 Ilmu Gizi dengan keminatan *Human Nutrition* di Universitas Sebelas Maret, lulus tahun 2023.



Islawati, S.Pd., M.Pd. lahir di Karassing, pada 29 November 1989. Saya adalah alumni dari Universitas Negeri Makassar dalam program studi pendidikan kimia. Selama berkarir sebagai dosen, penulis telah mengampu mata kuliah kimia dasar, kimia analitik, toksikologi klinik, analisis makanan dan minuman. Selain mengajar, penulis terlibat dalam penelitian dan pengabdian kepada masyarakat.



Artati, S.Si., M.Si lahir di Ujung Pandang, pada 03 Januari 1979. Ia tercatat sebagai lulusan S1 Universitas Negeri Makassar jurusan Kimia, kemudian melanjutkan pendidikan Magister di Universitas Hasanuddin Jurusan Kimia. Penulis merupakan anak keempat dari lima bersaudara, dari pasangan Andi Abbas, BA. dan Syamsiah. Kesibukan saat ini yaitu sebagai tenaga pengajar atau dosen di Poltekkes Kemenkes Makassar.



Afiska Prima Dewi, S.Gz., M.K.M lahir di Sragen pada 16 November 1988. Ia menempuh pendidikan sarjana di Universitas Diponegoro pada Program Studi Ilmu Gizi dan lulus tahun 2013. Ia kemudian melanjutkan pendidikan ke jenjang magister di Universitas Mitra Indonesia pada Program Studi Magister Kesehatan Masyarakat dan lulus tahun 2018. Setelah lulus, ia kemudian berprofesi sebagai dosen di Universitas Aisyah Pringsewu pada Program Studi Gizi pada kurun waktu September 2018 – Juli 2023. Pada Agustus 2023, ia memutuskan untuk pindah institusi dan bekerja sebagai dosen di STIKes Adila pada Program Studi Gizi.



Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc., lahir di Tulungagung pada 10 Februari 1991. Meraih gelar Sarjana di Fakultas MIPA Universitas Negeri Malang (UM) tahun 2013 dan gelar Magister di Fakultas MIPA Universitas Gadjah Mada (UGM) tahun 2016, khususnya dalam bidang Kimia Organik (bahan alam dan sintesis). Sejak 2016, menjadi dosen Farmasi di PTS Kediri, dan sejak 2019, bergabung dengan STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung. Dalam perannya sebagai dosen, aktif menjalankan Tri Dharma Perguruan Tinggi, termasuk penelitian yang masih berlangsung hingga sekarang. Penulis juga telah mempublikasikan berbagai artikel jurnal, terutama di bidang kimia farmasi bahan alam, seperti penelitian tentang tanaman majapahit (*Crescentia cujete*) sebagai antikanker.



apt. Ahmad Irsyad Aliah, M.Si lahir di Ujung Pandang tanggal 27 September 2023. Penulis adalah dosen tetap pada Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Megarezky. Penulis menyelesaikan Pendidikan di SDN Komp. IKIP di Kota Makassar (1999), MTsN Model Makassar (2002), dan SMAN 5 Makassar (2005). Kemudian penulis melanjutkan pendidikan S1 pada Jurusan Farmasi pada Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin di Makassar sampai memperoleh gelar sarjana farmasi (S.Farm.) tahun 2010 setelah itu melanjutkan pendidikan profesi apoteker di Universitas Hasanuddin dan memperoleh gelar Apoteker tahun 2012, lalu kemudian penulis melanjutkan pendidikan program magister pada Sekolah Farmasi dengan konsentrasi Farmakokimia di Institut Teknologi Bandung hingga memperoleh gelar Magister Sains (M.Si.) tahun 2017. Penulis menekuni bidang kimia farmasi dan juga bidang menulis.



apt Tri Minarsih, S.Si, M.Sc, lahir di Kota Pekalongan, pada tanggal 8 September 1975. Wanita yang kerap disapa Tri ini menyelesaikan studi S1 di Universitas Surabaya, dan studi profesi dan S2 di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Ia adalah anak dari pasangan alm Satriyo dan alm Siti Aminah.

Tri Minarsih merupakan dosen dengan bidang keahlian analisis Farmasi, telah melakukan penelitian di bidang analisis.



Atep Dian Supardan, S.Si., M.Si. merupakan anak ke lima dari tujuh bersaudara yang dilahirkan pada tanggal 3 Januari 1981, di Pangalengan Kabupaten Bandung Jawa Barat. Penulis menyelesaikan pendidikan sarjana (2004) dan master Kimianya pada 2013 di jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor. Penulis bekerja sebagai dosen di program studi Analisis Kimia Sekolah Vokasi Institut Pertanian Bogor dan saat ini mengampu beberapa mata kuliah antara lain Spektroskopi, Kromatografi, elektroanalitik, identifikasi spektrum senyawa organik, pengoperasian dan pemeliharaan alat, kimia koloid

dan permukaan, dan etika profesi analisis kimia. Penulis juga terlibat aktif sebagai konselor bagi mahasiswa di Sekolah Vokasi IPB dan tergabung dalam Asosiasi Profesional konselor Indonesia, yang secara aktif menggunakan grafologi dan hipnoterapi untuk membantu mahasiswa yang memerlukan bantuan.



Argo Ganda Gumilar, S.Tr.A.K lahir di Sukoharjo, 20 Agustus 1994. merupakan staf pengajar atau instruktur laboratorium mikrobiologi di Akademi Analisis Kesehatan (AAK) Pekalongan sejak tahun 2017. Ia menyelesaikan pendidikan Diploma III analisis kesehatan di AAK Pekalongan pada tahun 2015 dan pendidikan Diploma IV analisis kesehatan di Universitas Muhammadiyah Semarang (UNIMUS) pada tahun 2017. Ia memiliki minat belajar dan menulis di bidang biologi sejak di bangku Sekolah Menengah Pertama (SMP) dan mendalami cabang ilmu biologi, seperti bakteriologi, parasitologi, taksonomi, dan filogenetika saat mulai bekerja di AAK Pekalongan. Berasal dari minat tersebut, menghantarkan ia menghasilkan banyak tulisan mulai dari modul praktikum hingga ensiklopedia

yang berkaitan dengan bakteriologi dan parasitologi. Saat ini, ia juga sedang menyelesaikan beberapa buku di bidang parasitologi dan bakteriologi.

E-mail:

argogandagumilar@gmail.com



Dr. Ariyanto Nugroho, SKM., M.Kes., saya adalah akademisi dalam bidang Kesehatan masyarakat dengan konsentrasi utama pada bidang Kesehatan lingkungan, Kesehatan kerja dan Kesehatan masyarakat. Selain menjadi pendidik saya juga terlibat dalam beberapa riset yang berkaitan dengan keilmuan saya baik tingkat lokal, nasional maupun internasional.



Bambang Supriyanta, S.Si., M.Sc lahir di Yogyakarta, pada 10 April 1962, dengan pendidikan terakhir S2 Ilmu Kedokteran Tropis (Konsentrasi Imunologi dan Biologi Molekuler), Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan (FK-KMK) Universitas Gadjah Mada, merupakan putra dari pasangan Soemardi (ayah) dan Sri Sumiyatun (Ibu), aktif mengajar di Poltekkes Kemenkes Yogyakarta sejak tahun 1984 sampai sekarang. Beberapa penelitian telah

dilakukan dengan mendapatkan skema pendanaan antara lain Penelitian Pemula, Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi



Dwi Ayu Lestari, S.Gz., M.Gizi lahir di Jakarta, pada 10 Desember 1989. menyelesaikan Pendidikan Sarjana Ilmu Gizi di Fakultas Ilmu Kesehatan UHAMKA Jakarta, Pendidikan Magister pada Program Studi Gizi Pascasarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta Tahun 2014. Saat ini penulis merupakan Dosen pada Program Studi Gizi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Pertamedika Jakarta. Penulis aktif mempublikasi karya ilmiahnya di Jurnal Nasional dan menulis buku cerita anak seputar gizi seimbang.



Subur Wibowo, S.SiT., M.Biomed. lahir di Pekalongan, pada 1 Mei 1976. Beliau tercatat sebagai lulusan Universitas Muhammadiyah Semarang prodi D-IV Analisis Kesehatan dan S2 Ilmu Biomedik di Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Laki-laki yang kerap disapa Subur ini adalah anak dari pasangan A. Chaeri (Ayah) dan Nur Amanah (Ibu). Saat ini, beliau tercatat sebagai ASN di RSUD Kraton Kab. Pekalongan dan aktif

mengajar di Akademi Analisis Kesehatan (AAK) Pekalongan serta menjadi pengurus di organisasi profesi baik DPC PATELKI Kota Pekalongan maupun DPW PATELKI Jawa Tengah. Di DPC PATELKI Kota Pekalongan, beliau menjabat sebagai ketua DPC, sedangkan di DPW PATELKI Jawa Tengah sebagai ketua bidang pendidikan.



Tuty Hertati Purba, SKM, M.Kes, Lahir 17 Juni 1986 di Desa Lumban Purba, Kecamatan Doloksanggul, Kabupaten Humbang Hasundutan, Sumatera Utara, Indonesia. Penulis merupakan anak ke enam dari sepuluh bersaudara pasangan Jainar Purba dan St. Rimpu Silaban., S.Pd. Menyelesaikan Studi D3 Keperawatan dari Akper Teladan Bahagia Medan (2008), S1 Fakultas Kesehatan Masyarakat (FKM) Universitas Sumatera Utara (USU) -Medan (2012) dan S2 FKM USU-Medan (2015) peminatan Gizi Kesehatan Masyarakat. Tahun 2008, 2012 sd 2018 mengajar di Akper Kesehatan Baru Doloksanggul. Saat ini adalah Dosen tetap dengan tugas tambahan sebagai Unit Pelaksana Jaminan Mutu Program Studi S1 Gizi Fakultas Kesehatan

Masyarakat Institut Kesehatan Helvetia Medan. Mengampu Mata Kuliah Penilaian Status Gizi, Tumbuh Kembang Anak, Perkembangan Gizi Terkini, Manajemen Program Gizi dan Gizi Geriatri. Selain mengajar penulis aktif melakukan publikasi jurnal dan menjadi Narasumber dalam beberapa workshop/seminar terkait gizi. Buku ini adalah yang pertama, penulis berharap dapat bermanfaat. Penulis dapat dihubungi di email: tutyhertatipurba@gmail.com dengan nomor telepon 085276660107.