

Gula kristal – Bagian 2: Rafinasi (*Refined sugar*)



© BSN 2011

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup	1
2 Acuan normatif	1
3 Istilah dan definisi	1
4 Komposisi	2
5 Klasifikasi	2
6 Syarat mutu	3
7 Pengambilan contoh	4
8 Cara uji	4
9 Syarat lulus uji	4
10 Higiene	4
11 Pengemasan	4
12 Syarat penandaan	4
Lampiran A (normatif) Cara uji gula kristal rafinasi	5
Bibliografi	42

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) *Gula kristal - Bagian 2: Rafinasi (Refined sugar)* ini merupakan revisi SNI 01-3140.2-2006, *Gula kristal - Bagian 2: Rafinasi (Refined sugar)*. Standar ini direvisi dan dirumuskan dengan tujuan sebagai berikut:

- Melindungi konsumen;
- Menjamin perdagangan pangan yang jujur dan bertanggung jawab;
- Mendukung perkembangan dan diversifikasi produk industri gula;
- Menyesuaikan standar dengan perkembangan teknologi terutama dalam metode uji dan persyaratan mutu;
- Menyesuaikan standar dengan peraturan – peraturan baru yang berlaku.

Standar ini dirumuskan dengan memperhatikan hal-hal yang tertera dalam:

1. Undang-Undang Republik Indonesia No. 5 Tahun 1984 tentang Perindustrian.
2. Undang-Undang Republik Indonesia No. 23 Tahun 1992 tentang Kesehatan.
3. Undang-Undang Republik Indonesia No. 7 Tahun 1996 tentang Pangan.
4. Undang-Undang Republik Indonesia No. 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen.
5. Peraturan Pemerintah No. 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan.
6. Peraturan Pemerintah No. 28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu dan Gizi Pangan.
7. Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. HK.00.05.52.4040 Tahun 2006 tentang Kategori Pangan.
8. Keputusan Direktur Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan No.03725/B/SK/VII/89 tentang Batas Maksimum Cemaran Logam Berat dalam Makanan atau revisinya.
9. Keputusan Direktur Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan No. 03726/B/SK/VII/89 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Makanan atau revisinya.

Standar ini dirumuskan oleh Panitia Teknis 67-04, Makanan dan Minuman, Departemen Perindustrian, yang telah dibahas melalui rapat teknis, dan disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 17 Nopember 2009 di Jakarta. Hadir dalam rapat tersebut wakil dari konsumen, produsen, lembaga pengujian, lembaga ilmu pengetahuan dan teknologi, Badan Pengawas Obat dan Makanan, dan instansi terkait lainnya.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 22 Maret 2010 sampai dengan tanggal 22 Juni 2010 dengan hasil akhir RASNI.

Gula Kristal - Bagian 2: Rafinasi (*Refined sugar*)

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan istilah dan definisi, syarat mutu, pengambilan contoh, dan cara uji gula kristal rafinasi.

2 Acuan normatif

SNI 0428, *Petunjuk pengambilan contoh padatan*.

3 Istilah dan definisi

3.1

gula kristal rafinasi

gula sukrosa yang diproduksi melalui tahapan pengolahan gula kristal mentah yang meliputi: afinasi - pelarutan kembali (*remelting*) - klarifikasi – filtrasi - dekolorisasi - kristalisasi - fugalisasi - pengeringan - pengemasan

3.2

gula kristal mentah

gula kristal sukrosa yang dibuat dari tebu melalui proses defikasi, yang tidak boleh langsung dikonsumsi oleh manusia sebelum diproses lebih lanjut

3.3

afinasi

proses pencucian gula kristal mentah yang telah dicampur dengan air atau sirup dalam mixer, kemudian menggunakan mesin sentrifugal untuk menghilangkan lapisan tetes yang ada di permukaan kristal

3.4

pelarutan kembali (*remelting*)

proses pelarutan gula kristal mentah yang telah diafinasi menjadi sirup

3.5

klarifikasi

proses pemurnian sirup dengan cara karbonatasi, fosfatasi atau proses lainnya

3.6

filtrasi

proses penyaringan sirup hasil klarifikasi menggunakan penyaring bertekanan untuk menjernihkan sirup dari endapan atau partikel lainnya

3.7

dekolorisasi

proses pemucatan warna sirup hasil filtrasi dengan penukar ion, karbon aktif atau bahan penyerap warna lainnya

3.8

kristalisasi

proses pengkristalan sukrosa dalam sirup dengan cara penguapan dan pemberian bibit (*seed*) sehingga menghasilkan campuran kristal sukrosa dan larutan induk (*mother liquor*) (masakan)

3.9

fugalisasi

proses pemisahan kristal sukrosa dari campuran kristal sukrosa dan larutan induk dalam masakan menggunakan mesin sentrifugal

3.10

pengeringan dan pendinginan

proses pengeringan kandungan air dalam kristal sukrosa dengan menggunakan pengering gula (*sugar drier*) dilanjutkan dengan pendinginan

3.11

larutan induk (*mother liquor*)

larutan sukrosa yang telah diambil sebagian kristalnya

3.12

sirup

larutan sukrosa dalam air dengan konsentrasi antara 60° Brix sampai dengan 70° Brix

4 Komposisi

4.1 Bahan baku

gula kristal mentah

4.2 Bahan tambahan pangan

bahan tambahan pangan yang diijinkan untuk gula kristal rafinasi sesuai dengan ketentuan yang berlaku

5 Klasifikasi

Produk gula kristal rafinasi diklasifikasikan sebagai berikut:

- a. kasar
- b. sedang
- c. halus

6 Syarat mutu

Syarat mutu gula kristal rafinasi sesuai Tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1 - Syarat mutu gula kristal rafinasi

No	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan	
			I	II
1	Keadaan			
1.1	Bau	-	normal	normal
1.2	Rasa	-	manis	manis
2	Polarisasi (°Z, 20 °C)	°Z*	min. 99,80	min. 99,70
3	Gula reduksi	%	maks. 0,04	maks. 0,04
4	Susut pengeringan (b/b)	%	maks. 0,05	maks. 0,05
5	Warna larutan	IU**	maks. 45	maks. 80
6	Abu konduktifitas (b/b)	%	maks. 0,03	maks. 0,05
7	Sedimen	mg/kg	maks. 7,0	maks. 10,0
8	Ukuran partikel***			
8.1	Kasar (<i>coarse grain</i>)	mm	1,21-2,20	1,21-2,20
8.2	Sedang (<i>medium/fine grain</i>)	mm	0,51-1,20	0,51-1,20
8.3	Halus (<i>castor/extra fine grain</i>)	mm	0,25-0,50	0,25-0,50
9	Belarang dioksida (SO ₂)	mg/kg	maks. 2,0	maks. 5,0
10	Cemaran logam			
10.1	Kadmium (Cd)	mg/kg	maks. 0,2	maks. 0,2
10.2	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,25	maks. 0,25
10.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40,0	maks. 40,0
10.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,03	maks. 0,03
11	Cemaran arsen (As)	mg/kg	maks. 1,0	maks. 1,0
12	Cemaran mikroba			
12.1	Angka lempeng total (35°C, 48 jam)	koloni/10g	maks. 2 x 10 ²	maks. 2,5 x 10 ²
12.2	Bakteri <i>Coliform</i>	APM/g	< 3	< 3
12.3	Kapang	koloni/10g	maks. 10	maks. 10
12.4	Khamir	koloni/10g	maks. 10	maks. 10
CATATAN * °Z = °Zuiker = Sukrosa; ** IU = ICUMSA UNIT *** Nilai CV (<i>Coefficient of Variation</i>) untuk ukuran partikel dicantumkan dalam CoA (<i>Certificate of Analysis</i>) maksimum 45%.				

7 Pengambilan contoh

Cara pengambilan contoh sesuai dengan SNI 0428, Petunjuk pengambilan contoh padatan.

8 Cara uji

Cara uji untuk gula kristal rafinasi seperti di bawah ini:

- a) Persiapan contoh sesuai Lampiran A.1
- b) Cara uji keadaan sesuai Lampiran A.2
- c) Cara uji polarisasi($^{\circ}\text{Z}$, 20 $^{\circ}\text{C}$) sesuai Lampiran A.3
- d) Cara uji gula reduksi sesuai Lampiran A.4
- e) Cara uji susut pengeringan sesuai Lampiran A.5
- f) Cara uji warna larutan sesuai Lampiran A.6
- g) Cara uji abu konduktifitas sesuai Lampiran A.7
- h) Cara uji sedimen sesuai Lampiran A.8
- i) Cara uji ukuran partikel sesuai Lampiran A.9
- j) Cara uji belerang dioksida (SO_2) sesuai Lampiran A.10
- k) Cara uji cemaran logam sesuai Lampiran A.11
 - Cara uji kadmium (Cd) dan timbal (Pb) sesuai Lampiran A.11.1
 - Cara uji timah (Sn) sesuai Lampiran A.11.2
 - Cara uji merkuri (Hg) sesuai Lampiran A.11.3
- l) Cara uji cemaran arsen (As) sesuai Lampiran A.12
- m) Cara uji cemaran mikroba sesuai Lampiran A.13
 - Persiapan dan homogenisasi contoh sesuai Lampiran A.13.1
 - Cara uji angka lempeng total (35 $^{\circ}\text{C}$, 48 jam) sesuai Lampiran A.13.2
 - Cara uji bakteri *Coliform* sesuai Lampiran A.13.3
 - Cara uji kapang dan khamir sesuai Lampiran A.13.4

9 Syarat lulus uji

Produk dinyatakan lulus uji apabila memenuhi syarat mutu sesuai pasal 6.

10 Higiene

Cara memproduksi produk yang higienis termasuk cara penyiapan dan penanganannya sesuai dengan ketentuan yang berlaku tentang Pedoman Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik.

11 Pengemasan

Produk dikemas dalam wadah yang tertutup rapat, dengan berat tidak kurang dari 25 kg, tidak dipengaruhi atau mempengaruhi isi, aman selama penyimpanan dan pengangkutan.

12 Syarat penandaan

Syarat penandaan sesuai dengan ketentuan yang berlaku tentang label dan iklan pangan dengan menambahkan keterangan:

1. ukuran partikel pada kemasan (kasar/sedang/halus); dan
2. hanya untuk konsumsi industri pangan, tidak untuk dijual eceran.

Lampiran A (normatif) Cara uji gula kristal rafinasi

A.1 Persiapan contoh

Persiapan contoh terdiri atas persiapan contoh uji mikrobiologi, uji organoleptik, dan uji kimia. Pengambilan contoh uji mikrobiologi dilakukan pertama, kemudian dilanjutkan dengan pengambilan contoh uji organoleptik dan uji kimia.

A.1.1 Persiapan contoh untuk uji mikrobiologi

Buka kemasan contoh gula kristal rafinasi dan ambil contoh secara aseptik sebanyak 400 g, kemudian tempatkan dalam botol contoh steril.

A.1.2 Persiapan contoh untuk uji organoleptik

Buka kemasan contoh gula kristal rafinasi dan ambil contoh secukupnya kemudian tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan kering.

A.1.3 Persiapan contoh untuk uji kimia

Buka kemasan contoh gula kristal rafinasi dan ambil contoh sebanyak 2 000 g kemudian tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan kering.

A.2 Keadaan

A.2.1 Bau

A.2.1.1 Prinsip

Pengamatan contoh uji dengan indera penciuman yang dilakukan oleh panelis yang mempunyai kompetensi pengujian organoleptik.

A.2.1.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji secukupnya dan letakkan di atas gelas arloji yang bersih dan kering;
- b) cium contoh uji untuk mengetahui baunya; dan
- c) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.1.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika tercium bau khas gula kristal rafinasi, maka hasil dinyatakan “normal”; dan
- b) jika tercium selain bau khas gula kristal rafinasi, maka hasil dinyatakan “tidak normal”.

A.2.2 Rasa

A.2.2.1 Prinsip

Pengamatan contoh uji dengan indera pengecap (lidah) yang dilakukan oleh panelis yang mempunyai kompetensi pengujian organoleptik.

A.2.2.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji secukupnya dan rasakan dengan indera pengecap (lidah); dan
- b) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang tenaga ahli.

A.2.2.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika terasa rasa manis, maka hasil dinyatakan "manis"; dan
- b) jika terasa rasa asing, maka hasil dinyatakan "tidak normal".

A.3 Polarisasi ($^{\circ}\text{Z}$, 20 $^{\circ}\text{C}$)

A.3.1 Prinsip

Putaran optik contoh gula adalah penyajian secara aljabar pengaruh penting kandungan sukrosa oleh komponen atau elemen yang aktif optik.

A.3.2 Peralatan

- a) Polarimeter;
polarimeter dengan skala internasional gula dalam " $^{\circ}\text{Z}$ " dengan ketelitian $\pm 0,01$ $^{\circ}\text{Z}$ atau " $^{\circ}\text{S}$ " dengan ketelitian $\pm 0,01$ $^{\circ}\text{S}$.
- b) tabung polarimeter;
tabung polarimeter 200 mm sesuai dengan ICUMSA kelas A, toleransi yang diijinkan adalah 0,01%. Tabung menggunakan mantel air yang bisa dihubungkan dengan *waterbath* untuk mencapai suhu $(20,0 \pm 0,1)$ $^{\circ}\text{C}$ selama pengukuran. Jika tabung polarimeter tidak bermantel air maka larutan contoh dikondisikan pada suhu ruang yang mendekati suhu 20 $^{\circ}\text{C}$.
- c) neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 1 mg;
- d) penangas air dengan kontrol *thermostat* pada $(20 \pm 0,1)$ $^{\circ}\text{C}$;
- e) kuarsa penguji (*quartz control plate*);
kuarsa penguji yang digunakan dalam $^{\circ}\text{Z}$ pada suhu 20 $^{\circ}\text{C}$.
- f) labu ukur 100 mL;
- g) kaca penutup;
- h) kertas saring; dan
- i) pipet tetes.

A.3.3 Pereaksi

Air suling.

A.3.4 Cara kerja

- a) Timbang $(26,000 \pm 0,001)$ g contoh ke dalam labu ukur 100 mL yang kering dan tambahkan air bersuhu 20 $^{\circ}\text{C}$ sebanyak 60 mL;
- b) larutkan dengan cara diaduk perlahan tanpa pemanasan dan tambahkan air suling sampai dibawah tanda garis;
- c) letakkan dalam penangas air bersuhu kira-kira 20 $^{\circ}\text{C}$ sehingga suhu larutan kira-kira 20 $^{\circ}\text{C}$, keringkan bagian atas dari labu dengan kertas saring kemudian tepatkan sampai tanda garis dengan air suling bersuhu 20 $^{\circ}\text{C}$ menggunakan pipet tetes dan tutup untuk menghindari evaporasi;
- d) biarkan selama 30 menit pada suhu ruang untuk mencapai keseimbangan suhu;
- e) buka penutup labu dan timbang labu yang berisi larutan sampai ketelitian $\pm 0,001$ g;

- f) tutup kembali labu ukur dengan penutup yang bersih dan kering kemudian digoyang dengan tangan;
- g) isi tabung polarimeter dengan larutan contoh dan catat suhu ruang (t_q);
- h) letakkan tabung pada sel kompartemen dan catat pembacaan polarisasinya (P_L);
- i) pengukuran polarisasi kuarsa penguji ;
 - letakkan tabung standar kuarsa pada sel kompartemen dan catat pembacaan polarisasinya (Q_t);
 - koreksi nol pada polarimeter;
 - catat pembacaan polarisasi pada peralatan dengan sel kompartemen kosong (P_0);
 - koreksi tabung polarimeter, bersihkan tabung dan catat pembacaan polarisasi terhadap tabung polarimeter dalam keadaan kosong pada suhu ruang (P_R)

A.3.5 Perhitungan

Nilai polarisasi larutan gula terkoreksi pada suhu 20 °C menggunakan *circular polarimeter* adalah:

$$P_{20} (^{\circ}Z, 20^{\circ}C) = (P_L - P_R) \frac{Q_{20} \left\{ 1 + 0,000144 (t_p - 20) \right\}}{(Q_t - P_0)} \left\{ 1 + c (t_r - 20) \right\}$$

Nilai polarisasi larutan gula terkoreksi pada suhu 20 °C menggunakan *quartz wedge instruments* adalah:

$$P_{20} (^{\circ}Z, 20^{\circ}C) = (P_L - P_R) \left(\frac{Q_{20}}{(Q_t - P_0)} \right) \left\{ 1 + c (t_r - 20) + 0,000144 (t_q - 20) \right\}$$

Keterangan:

- P_{20} adalah polarisasi terkoreksi larutan gula pada suhu 20 °C, dinyatakan dalam °Z;
- P_L adalah pembacaan polarimeter terhadap larutan gula pada suhu ruang, dinyatakan dalam °Z;
- P_R adalah pembacaan polarimeter terhadap tabung polarimeter kosong pada suhu ruang, dinyatakan dalam °Z;
- Q_{20} adalah nilai polarisasi (sertifikat) standar kuarsa penguji pada suhu ruang 20 °C, dinyatakan dalam °Z;
- Q_t adalah pembacaan polarimeter terhadap standar kuarsa penguji pada suhu ruang 20 °C, dinyatakan dalam °Z;
- P_0 adalah pembacaan polarimeter terhadap polarimeter kosong (sel kompartemen kosong) pada suhu ruang, dinyatakan dalam °Z;
- t_p adalah suhu kuarsa uji, dinyatakan dalam derajat celsius (°C);
- t_r adalah suhu larutan contoh, dinyatakan dalam derajat celsius (°C); dan
- t_q adalah suhu ruang polarimeter selama pembacaan, dinyatakan dalam derajat celsius (°C); dan
- c adalah faktor tabung polarimeter:
 - $c = 0,000467$ jika tabung polarimeter dibuat dari gelas borosilikat;
 - $c = 0,000462$ jika tabung polarimeter dibuat dari *windows glass*;
 - $c = 0,000455$ jika tabung polarimeter dibuat dari *stainless steel*.

CATATAN Jika polarimeter yang digunakan dalam satuan °S maka pembacaan polarimeter yang dihasilkan harus dikonversi ke dalam satuan °Z dengan cara mengalikan °S dengan faktor 0,99971.

A.3.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 5% dari nilai rata-rata hasil polarisasi. Jika kisaran

lebih besar dari 5%, maka uji harus diulang kembali.

A.4 Gula reduksi

A.4.1 Prinsip

Larutan gula dipanaskan pada penangas air dengan pereaksi *alkaline copper*. Ion *cupric* direduksi dengan adanya gula reduksi menjadi tembaga (I) oksida yang tidak larut. Ion *cupric* kemudian dititrasi dengan larutan etilena diamina tetraasetat (EDTA) menggunakan indikator *murexide*.

A.4.2 Peralatan

- Timbangan *top loading* dengan ketelitian 2 mg;
- penangas air;
- mortar;
- buret mikro;
- pipet ukur;
- labu ukur 1 000 mL;
- gelas piala 150 mL;
- cawan porselen; dan
- tabung reaksi ukuran 150 mm x 20 mm.

A.4.3 Pereaksi

- Pereaksi *alkaline copper*,
larutkan 25 g natrium karbonat dan 25 g kalium natrium tartrat (garam *Rochell*, $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ke dalam 600 mL air suling yang mengandung 40 mL NaOH 1,0 mol/L dalam labu ukur 1 000 mL. Larutan tersebut disebut larutan alkalin tartrat. Larutkan 6,0 g tembaga sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dengan ± 100 mL air suling dalam gelas piala 150 mL kemudian pindahkan secara kuantitatif ke dalam larutan alkalin tartrat, tepatkan hingga 1000 mL.
- larutan EDTA 0,002 5 mol/L;
larutkan 0,390 g EDTA dengan H_2O menjadi 1 000 mL dalam labu ukur 1 000 mL atau pipet 25 mL EDTA 0,01 mol/L yang telah tersedia secara komersil ke dalam labu ukur 100 mL.
- indikator *murexide*;
campur 0,5 g *murexide* (*ammonium purpurate*) dengan 0,15 g *methylene blue* dan 40 g NaCl secara perlahan-lahan sambil digerus pada cawan porselen hingga homogen.
- sukrosa dengan kandungan gula reduksinya maksimal 0,02%; dan
- air suling.

A.4.4 Cara kerja

- Timbang 5,0 g contoh gula dalam tabung reaksi kemudian larutkan dengan 5 mL air suling dengan cara diaduk tanpa pemanasan;
- tambahkan dengan tepat 2 mL larutan *alkaline copper*, aduk dan panaskan pada penangas air yang mendidih selama 5 menit kemudian segera dinginkan pada bak air dingin;
- setelah dingin, pindahkan ke dalam cawan porselen kemudian tambahkan indikator *murexide* sebanyak 0,1 g dengan menggunakan spatula;
- titrasi dengan larutan EDTA sambil diaduk dengan pengaduk gelas;
- perubahan warna dari hijau menjadi abu-abu kemudian menjadi ungu terjadi secara beraangsur-angsur; dan

- f) awal terbentuknya warna ungu yang tetap pada semua larutan merupakan titik akhir titrasi yang tepat, warna ungu akan cepat hilang karena oksidasi.

A.4.5 Perhitungan

Untuk menghitung kandungan gula reduksi dapat dipergunakan Tabel A.1 berikut yang mempunyai hubungan linier hingga gula reduksi 0,02 g/100 g sukrosa atau 0,02% (b/b).

Tabel A.1 - Hubungan volume titrasi EDTA (mL) dengan kadar gula reduksi (%)

Volume titrasi larutan EDTA (mL)	Gula reduksi (%)
3,2 - 3,8	0,050
3,9 - 4,4	0,048
4,5 - 5,0	0,046
5,1- 5,7	0,044
5,8- 6,3	0,042
6,4- 7,0	0,040
7,1- 7,6	0,038
7,7- 8,2	0,036
8,3- 8,9	0,034
9,0- 9,5	0,032
9,6- 10,1	0,030
10,2- 10,8	0,028
10,9- 11,4	0,026
11,5- 12,0	0,024
12,1- 12,6	0,022
12,7- 13,3	0,020
13,4- 14,0	0,018
14,1- 14,6	0,016
14,7- 15,2	0,014
15,3- 15,9	0,012
16,0- 16,5	0,010
16,6- 17,1	0,008
17,2- 17,8	0,006
17,9- 18,4	0,004
18,5- 19,1	0,002

A.5 Susut pengeringan

A.5.1 Prinsip

Susut pengeringan dihitung berdasarkan bobot yang hilang selama pemanasan dalam oven pada suhu $(105 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama 3 jam.

A.5.2 Peralatan

- Oven terkalibrasi dengan ketelitian $1 ^\circ\text{C}$;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- desikator yang berisi desikan; dan
- cawan nikel, platina atau aluminium tertutup.

A.5.3 Cara kerja

- Panaskan cawan beserta tutupnya dalam oven pada suhu $(105 \pm 1) ^\circ\text{C}$ sampai mencapai bobot tetap dan dinginkan dalam desikator selama 20 menit sampai dengan 30 menit, kemudian timbang dengan neraca analitik (cawan dan tutupnya) (W_0);
- masukkan dengan segera 20 g sampai dengan 30 g contoh ke dalam cawan, tutup, dan timbang (W_1);
- panaskan cawan yang berisi contoh tersebut dalam keadaan terbuka dengan meletakkan tutup cawan disamping cawan di dalam oven pada suhu $(105 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama 3 (tiga) jam setelah suhu oven $(105 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Yakinkan tidak ada bahan lain didalam oven selama pemanasan berlangsung;
- tutup cawan ketika masih di dalam oven, pindahkan segera ke dalam desikator dan dinginkan selama 20 menit sampai dengan 30 menit sehingga suhunya sama dengan suhu ruang kemudian timbang (W_2);
- lakukan pekerjaan duplo; dan
- hitung susut pengeringan dalam contoh.

A.5.4 Perhitungan

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \right) \times 100\%$$

Keterangan:

W_0 adalah bobot cawan kosong dan tutupnya, dinyatakan dalam gram (g);

W_1 adalah bobot cawan, tutupnya dan contoh sebelum dikeringkan, dinyatakan dalam gram (g);

W_2 adalah bobot cawan, tutupnya dan contoh setelah dikeringkan, dinyatakan dalam gram (g).

A.5.5 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 10% dari nilai rata-rata hasil susut pengeringan. Jika kisaran lebih besar dari 10%, maka uji harus diulang kembali..

A.6 Warna larutan

A.6.1 Prinsip

Gula kristal rafinasi dilarutkan dalam larutan dapar sehingga memberikan larutan gula dengan pH 7,0. Larutan kemudian disaring dengan filter untuk menghilangkan kekeruhan. Larutan hasil penyaringan diukur absorbansnya pada panjang gelombang 420 nm dan warna larutan tersebut dihitung.

A.6.2 Peralatan

- Spektrofotometer;
- optical cell* (kuvet) dengan panjang minimal 4 cm; kuvet dengan panjang 10 cm atau lebih digunakan untuk gula yang warnanya rendah;
- refraktometer terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 g/100 g;
- oven vakum, *vacuum desicator* atau penangas *ultrasonic*;
- timbangan analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 g;
- membran *filter holder*, dan
- membran filter dengan pori 0,45 μm diameter 50 mm.

A.6.3 Pereaksi

- Larutan *triethanolamine* (TEA) 0,1 mol/L
larutkan 7,460 g *triethanolamine* cair dalam labu ukur 500 mL dan tepatkan sampai tanda garis dengan air suling
- larutan asam klorida, HCl 0,1 mol/L
- pipet dengan hati-hati 8,9 mL asam klorida pekat (1,18 g/mL) ke dalam labu ukur 1 000 mL yang telah berisi 750 mL air suling, campur dengan cara memutar-mutarkan labu ukur kemudian tepatkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif, bisa juga digunakan larutan asam klorida 0,1 mol/L yang telah tersedia secara komersial.
- larutan dapar *triethanolamine*/HCl (TEA/HCl dapar)
pindahkan 500 mL larutan *triethanolamine* 0,1 mol/L ke dalam gelas piala 1 000 mL, atur pH larutan dengan menambah sedikit demi sedikit larutan HCl 0,1 mol/L sampai pH menjadi 7,0. Diperlukan ± 420 mL larutan HCl 0,1 mol/L untuk membuat 920 mL larutan dapar TEA/HCl. Persiapan larutan dapar ini dilakukan satu hari sebelum digunakan dan simpan pada suhu ± 4 °C (larutan ini stabil selama 1 minggu). Apabila akan digunakan, stabilisasikan pada suhu ruang dengan mengukur pH dan tepatkan menjadi pH 7,0.

A.6.4 Cara kerja

A.6.4.1 Persiapan contoh

- Timbang ($50,0 \pm 0,1$) g contoh uji yang telah dihomogenkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL kemudian tambahkan ($50,0 \pm 0,1$) g larutan dapar TEA/HCl dan larutkan dengan cara menggoyangkan pada suhu ruang;
- saring larutan dengan filter membran 0,45 μ m menggunakan pompa vakum; dan
- tampung filtrat dalam Erlenmeyer kering dan bersih.

A.6.4.2 Deaerasi

- Masukkan filtrat hasil penyaringan ke dalam oven vakum (*vacuum desiccator*) pada suhu ruang selama 1 jam atau ke dalam penangas *ultrasonic* selama 3 menit; dan
- ukur *refractometric dry substance* (RDS) larutan menggunakan refraktometer sesuai dengan A.6.4.4

A.6.4.3 Pengukuran warna

- tentukan titik nol absorbans pada panjang gelombang 420 nm dengan menggunakan larutan blanko dari larutan dapar TEA/HCl yang telah mengalami penyaringan dan deaerasi; dan
- masukkan larutan contoh ke dalam kuvet yang sebelumnya telah dibilas dengan larutan contoh dan tentukan absorbansnya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 420 nm (A_S).

A.6.4.4 Bahan kering refraktometer

A.6.4.4.1 Prinsip

Indeks bias larutan gula tergantung jumlah zat-zat yang terlarut, meskipun demikian dapat digunakan untuk mengukur kandungan gula. Cara ini hanya valid untuk pengukuran larutan gula murni, karena adanya zat selain gula mempengaruhi indeks bias terhadap sukrosa. Oleh sebab itu pengukuran indeks bias dapat digunakan untuk memperkirakan penentuan kandungan zat kering larutan terutama sukrosa. Jika larutan gula mengandung zat tersuspensi dan atau kristal gula, biasanya perlu dilakukan

SNI 3140.2:2011

pemanasan sesuai dengan A.5.3. Pengukuran dengan refraktometer, gula (*sugar refractometers graduated*) dinyatakan dalam % sukrosa (g/100g). Sebagai alternatif hasil ini dapat diperoleh dari tabel indeks bias untuk larutan sukrosa (Tabel A.2 dan Tabel A.3)

A.6.4.4.2 Peralatan

- Refraktometer, dikalibrasi pada suhu 20 °C dan mempunyai prisma bermantel air;
- sumber sinar lampu tungsten;
- penangas air dan pompa (untuk menstabilkan suhu air pada 20 °C); dan
- termometer 150 mm, rentang suhu 0 °C sampai 50 °C;
- batang plastik diameter ± 3 mm; dan
- gelas piala 50 mL.

A.6.4.4.3 Cara kerja

- Untuk contoh yang tidak mengandung zat tersuspensi diproses seperti pada A.4.4.
- zat tersuspensi merupakan zat larut yang bukan gula dan adanya warna gelap dalam larutan gula cenderung mengurangi ketajaman garis pembatas pada refraktometer;
- jika di dalamnya terdapat suspensi gula kristal, maka panaskan larutan gula sampai suhu 60 °C atau aduk sampai kristal larut. Dalam keadaan ini penguapan air dalam larutan gula harus dapat dicegah dengan menempatkan larutan gula dalam botol tertutup;
- setelah kristal gula larut, dinginkan secepatnya sampai suhu yang diperlukan sebelum pembacaan refraktometer.

A.6.4.4.4 Pembacaan refraktometer

- Pastikan peralatan yang telah dipersiapkan dan diteliti menurut buku panduan alat dan bersihkan permukaan prisma lalu keringkan;
- selanjutnya alirkan air pengontrol 20 °C, melalui mantel prisma pada jangka waktu tertentu supaya terjadi keseimbangan suhu ± 5 menit (prisma dalam keadaan tertutup);
- pindahkan satu tetes air ke prisma refraktometer untuk menentukan titik nol atau digunakan sebagai koreksi;
- kemudian pindahkan sedikit larutan gula ke dalam gelas piala dan atur suhu larutan gula antara 18 °C sampai dengan 28 °C;
- buka prisma dan teteskan larutan gula ke permukaan prisma. Sebarkan larutan gula menggunakan batang plastic hingga menyebar ke permukaan prisma, hati-hati jangan sampai tergores prismanya dan juga jangan sampai terbentuk gelembung, kemudian tutup prisma secepatnya;
- baca refraktometer sesuai dengan petunjuk buku panduan alat;
- gunakan beberapa skala koreksi untuk mendapatkan pembacaan terkoreksi.

CATATAN

Apabila dikerjakan pada suhu selain 20 °C, maka pembacaan Tabel A.2 harus dikoreksi dengan Tabel A.3.

A.6.4.4.5 Perhitungan

Bila refraktometer dikalibrasi dalam indeks bias, baca yang terdekat dengan 0,00005 satuan dan dapatkan °Brix (RDS%) pada Tabel A.2 dan Tabel A.3.

A.6.4.4.6 Ketelitian

Pencapaian pengulangan tidak boleh lebih besar dari 0,2 °Brix (0,2% RDS)

**Tabel A.2 - Skala indeks refraksi internasional ICUMSA untuk larutan sukrosa murni
suhu 20 °C dan 589 nm**

	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
0	1,33299	1,33313	1,33327	1,33342	1,33356	1,33370	1,33385	1,33399	1,33413	1,33428
1	1,33442	1,33456	1,33471	1,33485	1,33500	1,33514	1,33529	1,33543	1,33558	1,33572
2	1,33587	1,33601	1,33616	1,33630	1,33645	1,33659	1,33674	1,33688	1,33703	1,33717
3	1,33732	1,33747	1,33761	1,33776	1,33791	1,33805	1,33820	1,33835	1,33849	1,33864
4	1,33879	1,33893	1,33908	1,33923	1,33938	1,33952	1,33967	1,33982	1,33997	1,34012
5	1,34026	1,34041	1,34056	1,34071	1,34086	1,34101	1,34116	1,34131	1,34146	1,34160
6	1,34175	1,34190	1,34205	1,34220	1,34235	1,34250	1,34265	1,34280	1,34295	1,34310
7	1,34325	1,34341	1,34356	1,34371	1,34386	1,34401	1,34416	1,34431	1,34446	1,34461
8	1,34477	1,34492	1,34507	1,34522	1,34537	1,34553	1,34568	1,34583	1,34598	1,34614
9	1,34629	1,34644	1,34660	1,34675	1,34690	1,34706	1,34721	1,34736	1,34752	1,34767
10	1,34783	1,34798	1,34813	1,34829	1,34844	1,34860	1,34875	1,34891	1,34906	1,34922
11	1,34937	1,34953	1,34968	1,34984	1,34999	1,35015	1,35031	1,35046	1,35062	1,35077
12	1,35093	1,35109	1,35124	1,35140	1,35156	1,35172	1,35187	1,35203	1,35219	1,35234
13	1,35250	1,35266	1,35282	1,35298	1,35313	1,35329	1,35345	1,35361	1,35377	1,35393
14	1,35409	1,35424	1,35440	1,35456	1,35472	1,35488	1,35504	1,35520	1,35536	1,35552
15	1,35568	1,35584	1,35600	1,35616	1,35632	1,35648	1,35664	1,35680	1,35697	1,35713
16	1,35729	1,35745	1,35761	1,35777	1,35793	1,35810	1,35826	1,35842	1,35858	1,35875
17	1,35891	1,35907	1,35923	1,35940	1,35956	1,35972	1,35989	1,36005	1,36021	1,36038
18	1,36054	1,36070	1,36087	1,36103	1,36120	1,36136	1,36153	1,36169	1,36186	1,36202
19	1,36219	1,36235	1,36252	1,36268	1,36285	1,36301	1,36318	1,36334	1,36351	1,36368
20	1,36384	1,36401	1,36418	1,36434	1,36451	1,36468	1,36484	1,36501	1,36518	1,36535
21	1,36551	1,36568	1,36585	1,36602	1,36619	1,36635	1,36652	1,36669	1,36686	1,36703
22	1,36720	1,36737	1,36754	1,36771	1,36788	1,36804	1,36821	1,36838	1,36855	1,36872
23	1,36889	1,36907	1,36924	1,36941	1,36958	1,36975	1,36992	1,37009	1,37026	1,37043
24	1,37060	1,37078	1,37095	1,37112	1,37129	1,37147	1,37164	1,37181	1,37198	1,37216
25	1,37233	1,37250	1,37267	1,37285	1,37302	1,37320	1,37337	1,37354	1,37372	1,37389
26	1,37407	1,37424	1,37441	1,37459	1,37476	1,37494	1,37511	1,37529	1,37546	1,37564

**Tabel A.2 - Skala indeks refraksi internasional ICUMSA untuk larutan sukrosa murni
suhu 20 °C dan 589 nm (lanjutan)**

	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
27	1,37582	1,37599	1,37617	1,37634	1,37652	1,37670	1,37687	1,37705	1,37723	1,37740
28	1,37758	1,37776	1,37793	1,37811	1,37829	1,37847	1,37865	1,37882	1,37900	1,37918
29	1,37936	1,37954	1,37972	1,37989	1,38007	1,38025	1,38043	1,38061	1,38079	1,38097
30	1,38115	1,38133	1,38151	1,38169	1,38187	1,38205	1,38223	1,38241	1,38259	1,38277
31	1,38296	1,38314	1,38332	1,38350	1,38368	1,38386	1,38405	1,38423	1,38441	1,38459
32	1,38478	1,38496	1,38514	1,38532	1,38551	1,38569	1,38588	1,38606	1,38624	1,38643
33	1,38661	1,38679	1,38698	1,38716	1,38735	1,38753	1,38772	1,38790	1,38809	1,38827
34	1,38846	1,38865	1,38883	1,38902	1,38920	1,38939	1,38958	1,38976	1,38995	1,39014
35	1,39032	1,39051	1,39070	1,39088	1,39107	1,39126	1,39145	1,39164	1,39182	1,39201
36	1,39220	1,39239	1,39258	1,39277	1,39296	1,39315	1,39333	1,39352	1,39371	1,39390
37	1,39409	1,39428	1,39447	1,39466	1,39485	1,39505	1,39524	1,39543	1,39562	1,39581
38	1,39600	1,39619	1,39638	1,39658	1,39677	1,39696	1,39715	1,39734	1,39754	1,39773
39	1,39792	1,39812	1,39831	1,39850	1,39870	1,39889	1,39908	1,39928	1,39947	1,39967
40	1,39986	1,40006	1,40025	1,40044	1,40064	1,40084	1,40103	1,40123	1,40142	1,40162
41	1,40181	1,40201	1,40221	1,40240	1,40260	1,40280	1,40299	1,40319	1,40339	1,40358
42	1,40378	1,40398	1,40418	1,40437	1,40457	1,40477	1,40497	1,40517	1,40537	1,40557
43	1,40576	1,40596	1,40616	1,40636	1,40656	1,40676	1,40696	1,40716	1,40736	1,40756
44	1,40776	1,40796	1,40817	1,40837	1,40857	1,40877	1,40897	1,40917	1,40937	1,40958
45	1,40978	1,40998	1,41018	1,41039	1,41059	1,41079	1,41099	1,41120	1,41140	1,41160
46	1,41181	1,41201	1,41222	1,41242	1,41262	1,41283	1,41303	1,41324	1,41344	1,41365
47	1,41385	1,41406	1,41427	1,41447	1,41468	1,41488	1,41509	1,41530	1,41550	1,41571
48	1,41592	1,41612	1,41633	1,41654	1,41675	1,41695	1,41716	1,41737	1,41758	1,41779
49	1,41799	1,41820	1,41841	1,41862	1,41883	1,41904	1,41925	1,41946	1,41967	1,41988
50	1,42009	1,42030	1,42051	1,42072	1,42093	1,42114	1,42135	1,42156	1,42177	1,42199
51	1,42220	1,42241	1,42262	1,42283	1,42305	1,42326	1,42347	1,42368	1,42390	1,42411
52	1,42432	1,42454	1,42475	1,42497	1,42518	1,42539	1,42561	1,42582	1,42604	1,42625
53	1,42647	1,42668	1,42690	1,42711	1,42733	1,42754	1,42776	1,42798	1,42819	1,42841
54	1,42863	1,42884	1,42906	1,42928	1,42949	1,42971	1,42993	1,43015	1,43036	1,43058
55	1,43080	1,43102	1,43124	1,43146	1,43168	1,43190	1,43211	1,43233	1,43255	1,43277
56	1,43299	1,43321	1,43343	1,43365	1,43387	1,43410	1,43432	1,43454	1,43476	1,43498
57	1,43520	1,43542	1,43565	1,43587	1,43609	1,43631	1,43654	1,43676	1,43698	1,43720
58	1,43743	1,43765	1,43787	1,43810	1,43832	1,43855	1,43877	1,43900	1,43922	1,43944
59	1,43967	1,43989	1,44012	1,44035	1,44057	1,44080	1,44102	1,44125	1,44148	1,44170
60	1,44193	1,44216	1,44238	1,44261	1,44284	1,44306	1,44329	1,44352	1,44375	1,44398
61	1,44420	1,44443	1,44466	1,44489	1,44512	1,44535	1,44558	1,44581	1,44604	1,44627
62	1,44650	1,44673	1,44696	1,44719	1,44742	1,44765	1,44788	1,44811	1,44834	1,44858
63	1,44881	1,44904	1,44927	1,44950	1,44974	1,44997	1,45020	1,45043	1,45067	1,45090
64	1,45113	1,45137	1,45160	1,45184	1,45207	1,45230	1,45254	1,45277	1,45301	1,45324
65	1,45348	1,45371	1,45395	1,45419	1,45442	1,45466	1,45489	1,45513	1,45537	1,45560
66	1,45584	1,45608	1,45631	1,45655	1,45679	1,45703	1,45726	1,45750	1,45774	1,45798
67	1,45822	1,45846	1,45870	1,45893	1,45917	1,45941	1,45965	1,45989	1,46013	1,46037
68	1,46061	1,46085	1,46109	1,46134	1,46158	1,46182	1,46206	1,46230	1,46254	1,46278

Tabel A.2 - Skala indeks refraksi internasional ICUMSA untuk larutan sukrosa murni suhu 20 °C dan 589 nm (lanjutan)

	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
69	1,46303	1,46327	1,46351	1,46375	1,46400	1,46424	1,46448	1,46473	1,46497	1,46521
70	1,46546	1,46570	1,46594	1,46619	1,46643	1,46668	1,46692	1,46717	1,46741	1,46766
71	1,46790	1,46815	1,46840	1,46864	1,46889	1,46913	1,46938	1,46963	1,46987	1,47012
72	1,47037	1,47062	1,47086	1,47111	1,47136	1,47161	1,47186	1,47210	1,47235	1,47260
73	1,47285	1,47310	1,47335	1,47360	1,47385	1,47410	1,47435	1,47460	1,47485	1,47510
74	1,47535	1,47560	1,47585	1,47610	1,47635	1,47661	1,47686	1,47711	1,47736	1,47761
75	1,47787	1,47812	1,47837	1,47862	1,47888	1,47913	1,47938	1,47964	1,47989	1,48015
76	1,48040	1,48065	1,48091	1,48116	1,48142	1,48167	1,48193	1,48218	1,48244	1,48270
77	1,48295	1,48321	1,48346	1,48372	1,48398	1,48423	1,48449	1,48475	1,48501	1,48526
78	1,48552	1,48578	1,48604	1,48629	1,48655	1,48681	1,48707	1,48733	1,48759	1,48785
79	1,48811	1,48837	1,48863	1,48889	1,48915	1,48941	1,48967	1,48993	1,49019	1,49045
80	1,49071	1,49097	1,49123	1,49149	1,49175	1,49202	1,49228	1,49254	1,49280	1,49307
81	1,49333	1,49359	1,49386	1,49412	1,49438	1,49465	1,49491	1,49517	1,49544	1,49570
82	1,49597	1,49623	1,49650	1,49676	1,49703	1,49729	1,49756	1,49782	1,49809	1,49835
83	1,49862	1,49889	1,49915	1,49942	1,49969	1,49995	1,50022	1,50049	1,50076	1,50102
84	1,50129	1,50156	1,50183	1,50210	1,50237	1,50263	1,50290	1,50317	1,50344	1,50371
85	1,50398	1,50425	1,50452	1,50479	1,50506	1,50533	1,50560	1,50587	1,50614	1,50641

Tabel A.3 – Koreksi hubungan antara faksi massa larutan sukrosa dengan indek refraksi pada 589 nm dan apabila suhu pengukuran tidak pada suhu 20 °C

SUHU (°C)	Sukrosa terukur (Fraksi massa)																	
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85
15	-0,29	-0,30	-0,32	-0,33	-0,34	-0,35	-0,36	-0,37	-0,37	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,38	-0,37	-0,37
16	-0,24	-0,25	-0,26	-0,27	-0,28	-0,28	-0,29	-0,30	-0,30	-0,30	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,31	-0,30	-0,30	-0,30
17	-0,18	-0,19	-0,20	-0,20	-0,21	-0,21	-0,22	-0,22	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,23	-0,22
18	-0,12	-0,13	-0,13	-0,14	-0,14	-0,14	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15	-0,15
19	0,06	-0,06	-0,07	-0,07	-0,07	-0,07	-0,07	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,08	-0,07
20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
21	+0,06	+0,07	+0,07	+0,07	+0,07	+0,07	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,08	+0,07
22	+0,13	+0,14	+0,14	+0,14	+0,15	+0,15	+0,15	+0,15	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,16	+0,15	+0,15	+0,15
23	+0,20	+0,21	+0,21	+0,22	+0,22	+0,23	+0,23	+0,23	+0,23	+0,24	+0,24	+0,24	+0,24	+0,24	+0,23	+0,23	+0,23	+0,22
24	+0,27	+0,28	+0,29	+0,29	+0,30	+0,30	+0,31	+0,31	+0,31	+0,32	+0,32	+0,32	+0,32	+0,31	+0,31	+0,31	+0,30	+0,30
25	+0,34	+0,35	+0,36	+0,37	+0,38	+0,38	+0,39	+0,39	+0,40	+0,40	+0,40	+0,40	+0,40	+0,39	+0,39	+0,38	+0,38	+0,37
26	+0,42	+0,43	+0,44	+0,45	+0,46	+0,46	+0,47	+0,47	+0,48	+0,48	+0,48	+0,48	+0,48	+0,47	+0,47	+0,46	+0,46	+0,45
27	+0,50	+0,51	+0,52	+0,53	+0,54	+0,55	+0,55	+0,56	+0,56	+0,56	+0,56	+0,56	+0,56	+0,55	+0,55	+0,54	+0,53	+0,52
28	+0,58	+0,59	+0,60	+0,61	+0,62	+0,63	+0,64	+0,64	+0,64	+0,65	+0,65	+0,64	+0,64	+0,63	+0,63	+0,62	+0,61	+0,60
29	+0,66	+0,67	+0,68	+0,70	+0,71	+0,71	+0,72	+0,73	+0,73	+0,73	+0,73	+0,73	+0,72	+0,72	+0,71	+0,70	+0,69	+0,67
30	+0,74	+0,76	+0,77	+0,78	+0,79	+0,80	+0,81	+0,81	+0,82	+0,82	+0,81	+0,81	+0,80	+0,80	+0,79	+0,78	+0,76	+0,75
31	+0,83	+0,84	+0,85	+0,87	+0,88	+0,89	+0,89	+0,90	+0,90	+0,90	+0,90	+0,89	+0,89	+0,88	+0,87	+0,86	+0,84	+0,82
32	+0,92	+0,93	+0,94	+0,96	+0,97	+0,98	+0,98	+0,99	+0,99	+0,99	+0,99	+0,98	+0,97	+0,96	+0,95	+0,93	+0,92	+0,90
33	+1,01	+1,02	+1,03	+1,05	+1,06	+1,07	+1,07	+1,08	+1,08	+1,08	+1,07	+1,07	+1,06	+1,04	+1,03	+1,01	+1,00	+0,98
34	+1,10	+1,11	+1,13	+1,14	+1,15	+1,16	+1,16	+1,17	+1,17	+1,16	+1,16	+1,15	+1,14	+1,13	+1,11	+1,09	+1,07	+1,05
35	+1,19	+1,21	+1,22	+1,23	+1,24	+1,25	+1,25	+1,26	+1,26	+1,25	+1,25	+1,24	+1,23	+1,21	+1,19	+1,17	+1,15	+1,13
36	+1,29	+1,30	+1,31	+1,33	+1,34	+1,34	+1,35	+1,35	+1,35	+1,34	+1,34	+1,33	+1,31	+1,29	+1,28	+1,25	+1,23	+1,20
37	+1,39	+1,40	+1,41	+1,42	+1,43	+1,44	+1,44	+1,44	+1,44	+1,43	+1,43	+1,41	+1,40	+1,38	+1,36	+1,33	+1,31	+1,28
38	+1,49	+1,50	+1,51	+1,52	+1,53	+1,53	+1,54	+1,54	+1,53	+1,53	+1,53	+1,50	+1,48	+1,46	+1,44	+1,42	+1,39	+1,36
39	+1,59	+1,60	+1,61	+1,62	+1,63	+1,63	+1,63	+1,63	+1,63	+1,62	+1,61	+1,59	+1,57	+1,55	+1,52	+1,50	+1,47	+1,43
40	+1,69	+1,70	+1,71	+1,72	+1,73	+1,73	+1,73	+1,73	+1,72	+1,71	+1,70	+1,68	+1,66	+1,63	+1,61	+1,58	+1,54	+1,51

A.6.5 Perhitungan densitas

Hitung konsentrasi zat padat contoh dalam larutan (c) dari pengukuran RDS; RDS terkoreksi dihitung dengan cara mengalikan RDS dengan faktor 0,989. Gunakan RDS terkoreksi untuk menentukan densitas (ρ) pada larutan uji dari Tabel A.4.

Tabel A.4 - Hubungan antara % RDS dengan densitas

% RDS	Densitas (ρ) (kg/m ³)
47	1213,3
48	1218,7
49	1224,2
50	1229,7
51	1235,2
52	1240,7
53	1246,3

Untuk menghitung konsentrasi larutan (c) menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{zat padat (g/ml)} = \frac{\text{RDS terkoreksi} \times \rho}{10^5}$$

$$\text{warna larutan (IU)} = \frac{1000 \times A_s}{b \times c} \quad \text{atau}$$

$$\text{warna larutan (IU)} = \frac{10^8 \times A_s}{b \times (\text{RDS terkoreksi}) \times \rho}$$

Keterangan:

A_s adalah absorbans contoh;

b adalah tebal kuvet, dinyatakan dalam centimeter (cm);

c adalah konsentrasi zat padat, dinyatakan dalam gram per milliliter (g/mL). dan

ρ adalah densitas, dinyatakan dalam kg per meter kubik (kg/m³)

A.6.6 Ketelitian

Untuk gula dengan warna larutan sampai dengan 50 IU, maka keterulangan tidak berbeda lebih dari 3 IU.

A.7 Abu konduktifitas

A.7.1 Prinsip

Pengukuran konduktivitas spesifik larutan gula pada kadar 28 g/100 g kemudian kadar abu dihitung menggunakan faktor koreksi.

A.7.2 Peralatan

- a) Konduktometer;
- b) timbangan analitik ketelitian 0,1 mg;
- c) pipet; dan
- d) labu ukur 1 000 mL, 500 mL, dan 100 mL.

A.7.3 Pereaksi

- a) Air murni;
air yang telah mengalami dua kali penyulingan, atau air deionisasi dengan konduktivitas kurang dari 2 $\mu\text{S/cm}$.
- b) kalium klorida, KCl 0,01 mol/L;
timbang 745,5 mg KCl yang telah dikeringkan pada suhu 500 °C, larutkan dengan air suling dalam labu ukur 1 000 mL kemudian tepatkan sampai tanda garis. Bisa juga digunakan larutan KCl 0,01 mol/L yang tersedia secara komersial.
- c) kalium klorida, KCl 0,0002 mol/L;
pipet 10 mL larutan KCl 0,01 mg/L ke dalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan ini mempunyai konduktivitas $(26,6 \pm 0,3) \mu\text{S/cm}$ pada suhu 20 °C (setelah dikurangi dengan konduktivitas spesifik air yang digunakan).

A.7.4 Cara kerja

- a) Timbang $(31,3 \pm 0,1)$ g contoh uji ke dalam labu ukur 100 mL dan larutkan dengan air suling kemudian tepatkan sampai tanda garis pada suhu 20 °C;
- b) cara lain adalah larutkan $(28,0 \pm 0,1)$ g contoh uji dalam air suling dan timbang sehingga bobotnya menjadi 100,0 g. Jumlah padatan dalam larutan harus 31,3 g/100 mL atau 28 g/100 g larutan;
- c) aduk dengan baik dan pindahkan larutan ke dalam sel pengukur (*measuring cell*) dan ukur konduktivitas pada suhu $(20 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$ (C_1);
- d) cek pengukuran menggunakan larutan baku (KCl 0,0002 mol/L).

A.7.5 Perhitungan

$$C_{28} = C_1 - 0,35 C_2$$

$$\text{Abu konduktifitas (\%)} = 6 \times 10^{-4} \times C_{28}$$

Keterangan:

- C_{28} adalah konduktivitas terkoreksi pada larutan 28 g/ 100 g;
- C_1 adalah Konduktivitas contoh pada suhu 20 °C, dinyatakan dalam mikrosiemens per cm ($\mu\text{S/cm}$);
- C_2 adalah konduktivitas spesifik air suling pada suhu 20 °C, dinyatakan dalam mikrosiemens per sentimeter ($\mu\text{S/cm}$).

A.7.6 Koreksi suhu

Bila pengukuran dilakukan pada suhu di luar suhu standar (kisaran suhu pengukuran sebaiknya pada $(20 \pm 5) ^\circ\text{C}$, buatlah koreksi suhu pada akhir pengujian:

$$C_{20} = \frac{C_T}{1 + 0,026 (T - 20)} \times 100\%$$

Keterangan:

C_T adalah konduktifitas pada suhu T °C; dan

C_{20} adalah konduktifitas pada suhu 20 °C.

CATATAN Bila konduktivitas larutan standar KCl 0,002 mol/L ditentukan pada suhu (20 ± 5) °C, maka konduktivitas KCl standar ditentukan dengan rumus konduktivitas KCl 0,0002 mol/L pada suhu T °C = $26,6 \{1 + 0,021 (T - 20)\}$

A.7.7 Ketelitian

Keterulangan uji abu konduktifitas dengan metode ini tidak lebih dari 0,00177%.

A.8 Sedimen**A.8.1 Prinsip**

Gula yang diuji dilarutkan dalam air panas dan disaring menggunakan saringan membran porositas 8 μm . Membran dan zat padat tak larut (sedimen) yang tertahan pada membran dicuci, dikeringkan dan ditimbang.

A.8.2 Peralatan

- Peralatan penyaring yang terdiri *filter holder*, dapat dipasang *conical filtration flask* kapasitas 4 L, dapat dihubungkan dengan pompa vakum;
- oven terkalibrasi;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- timbangan kapasitas 5 kg terkalibrasi dengan ketelitian 1 g;
- desikator;
- jug stainless steel* 2 000 mL dilengkapi dengan pengaduk *stainless steel*;
- pinset (*tweezers*);
- cawan petri dari plastik atau aluminium; dan
- membran filter diameter 5 cm, dengan ukuran pori 8,0 μm .

A.8.3 Pereaksi

- Pereaksi kromatografi (*Chromatographic spray reagent*): 1-naphthol/larutan asam fosfat; larutkan 1 g 1-naphthol dalam 100 mL etanol dan tambahkan 10 mL asam ortofosfat (BJ = 1,69 g/mL); dan
- air suling.

A.8.4 Cara kerja**A.8.4.1 Persiapan air**

- Saring 5 000 mL air dengan menggunakan saringan membran 8,0 μm dengan menggunakan terlebih dahulu 500 mL.
- setelah disaring, pompa vakum dimatikan dan bilas labu dengan hasil penyaringan dan air hasil pembilasan dibuang;
- lanjutkan penyaringan 450 mL air yang tersisa; dan
- air ini yang akan digunakan selama proses uji sedimen.

A.8.4.2 Persiapan saringan membran

- Cuci saringan membran dengan cara dicelupkan ke dalam air suling mendidih selama 6 menit dan tiriskan;
- pindahkan ke dalam cawan petri yang bersih dan kering menggunakan pinset;
- keringkan membran dengan tutup petri terbuka ke dalam oven pada suhu 60 °C sampai 65 °C selama 1 jam;
- setelah kering, tutup lagi cawan petri dan dinginkan dalam desikator selama ± 30 menit; dan
- timbang dan catat berat membran kering sampai konstan (M_1).

A.8.4.3 Persiapan larutan gula

- untuk gula yang zat tak larutnya lebih kecil atau sama dengan 20 mg/kg, timbang ($1000 \pm 0,1$) g contoh dalam gelas piala *stainless steel*. (M_0);
- untuk gula yang zat tak larutnya lebih dari 20 mg/kg. Timbang gula ($500 \pm 0,1$) g;
- tambahkan air panas (± 95 °C) hasil penyaringan dengan membran 900 mL dan aduk dengan batang pengaduk, atau *magnetic stirrer* dan panaskan sampai 95 °C kemudian lanjutkan pengadukan hingga semua gula larut; dan
- tambahkan air panas hingga volume menjadi ± 1800 mL.

A.8.4.4 Penyaringan larutan gula

- Basahi saringan membran yang telah ditimbang dengan cara mengapungkan pada air suling dalam cawan petri;
- letakkan saringan yang telah dibasahi dalam penyangga saringan dan lewatkan larutan gula panas melalui saringan membran yang bertekanan vakum;
- dengan hati-hati, bilas *jug stainless steel* dengan air suling panas menggunakan pengaduk lalu tuangkan ke dalam penyangga saringan;
- cuci zat tak larut yang tertinggal di membran dalam penyangga saringan dengan air suling panas sebanyak 1 000 mL sampai dengan 1,5 mL;
- untuk gula putih yang sulit disaring, basahi membran pada saringan awal dengan air suling serta kembalikan ke dalam penyangga saringan. Cuci dengan air suling panas sebanyak 1 000 mL.

A.8.4.5 Pencucian akhir saringan membran

Secara hati-hati ambil membran awal dari penyangga saringan dan letakkan membran dan saringan awal pada saringan basah selama 1 jam.

A.8.4.6 Pengeringan dan penimbangan membran

- Setelah pencucian akhir, kembalikan atau membran dan saringan awal ke dalam cawan petri semula. Keringkan cawan petri dengan tutup dibuka ke dalam oven pada suhu (60 °C sampai dengan 65 °C) selama 1 jam;
- tutup kembali cawan petri dan dinginkan dalam desikator selama ± 30 menit. Timbang membran sampai konstan, (M_2);
- untuk gula yang sulit disaring, keringkan membran dan saringan awal pengeringan selama 1 ½ jam;
- efektivitas pencucian sangat-lah penting dalam pengaruhnya terhadap ketelitian;
- pengujian ini dapat diuji dengan menyemprotkan reagen 1-*naphthol*/asam fosfat dan keringkan membran pada suhu 105 °C, membran harus bebas komponen yang menyebabkan warna ungu.

A.8.5 Perhitungan

$$\text{Sedimen (mg/kg)} = \left(\frac{M_2 - M_1}{M_0} \right) \times 10^6$$

Keterangan:

M_0 adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);

M_1 adalah bobot saringan membran, dinyatakan dalam gram (g); dan

M_2 adalah bobot saringan membran + zat tak larut, dinyatakan dalam gram (g).

A.9 Ukuran partikel

A.9.1 Prinsip

Sejumlah contoh diletakkan pada bagian atas dari suatu set ayakan kemudian diayak sehingga akan terjadi pemisahan berdasarkan pada perbedaan ukuran fraksi. Setiap fraksi ditimbang dan ditentukan presentase bobot terhadap contoh.

A.9.2 Peralatan

- Mesin pengayak (*mechanical shaker*);
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 g; dan
- satu set ayakan dengan ukuran 0,71; 0,60; 0,50; 0,425; 0,36; 0,30; 0,25 mm dan ukuran lain yang diperlukan.

A.9.3 Cara kerja

A.9.3.1 Pemilihan ukuran ayakan

- Pilih satu set ayakan yang memberikan
 - sisa gula yang tertinggal pada ayakan paling atas adalah antara 10% dan 20%;
 - sisa gula yang tertinggal pada ayakan paling bawah adalah 10% dan 20%
 - sisa gula yang tertinggal pada ayakan yang tengah (*intermediate*) adalah tidak lebih dari 30%
- ayakan harus bersih dan kering;
- jika diperlukan, cuci ayakan dengan air hangat dan keringkan dalam oven dengan suhu tidak lebih dari 75 °C .

A.9.3.2 Pengayakan

- Timbang bobot setiap ayakan dan baki (*pan base*) yang akan digunakan (W_1);
- susun ayakan pada mesin pengayak dengan ukuran lubang terbesar (ukuran mesh terkecil) ada dibagian atas dan baki di bagian bawah serta tutup ayakan bagian atas;
- timbang 80 g sampai dengan 100 g contoh kemudian masukkan pada ayakan paling atas;
- hidupkan mesin ayakan selama 10 menit;
- timbang bobot setiap ayakan dan baki yang masih mengandung gula setelah pengayakan (W_2); dan
- hitung bobot gula yang tersisa disetiap ayakan, persentase gula yang tersisa, dan persentase kumulatif gula yang tersisa.

A.9.4 Perhitungan

Perhitungan dilakukan dengan menggunakan *Powers Method Graph*.

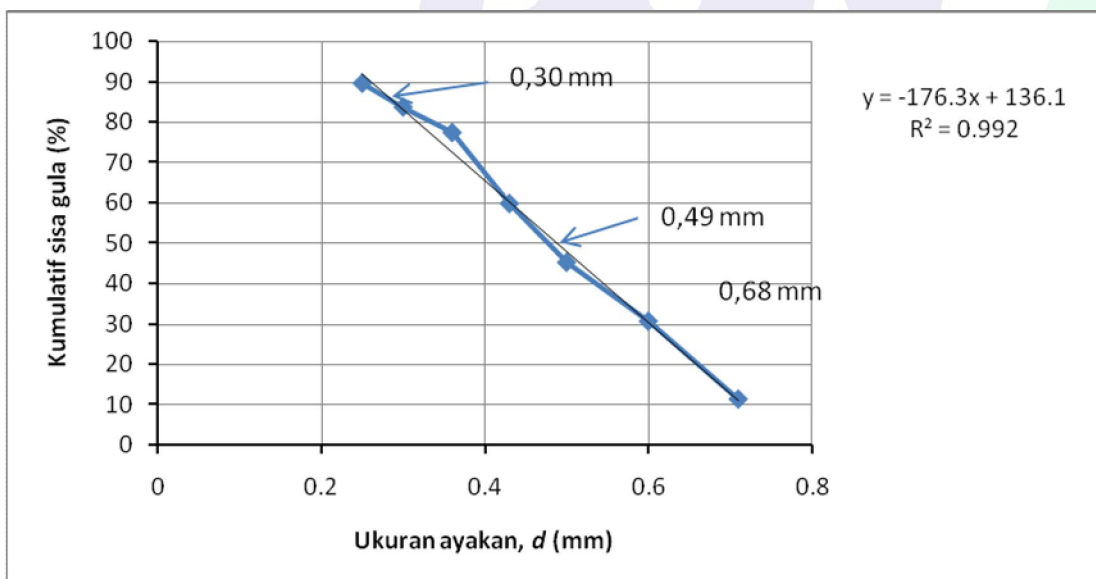
Contoh perhitungan:

Bobot penimbangan gula: 100 g

Data ukuran ayakan dan pengamatan serta perhitungan kumulatif gula yang tersisa ditunjukkan pada Tabel A.5.

Tabel A.5 - Hubungan antara ukuran ayakan (mm) dengan kumulatif gula yang tersisa (%)

No	Ukuran ayakan, d (mm)	W1 (g)	W2 (g)	ΔW (g)	Gula yang tersisa (%)	Kumulatif gula yang tersisa (%)
1	0,71	327,4	338,7	11,3	11,3	11,3
2	0,60	316,4	335,7	19,3	19,3	30,6
3	0,50	318,0	332,6	14,6	14,6	45,2
4	0,43	301,4	316,0	14,6	14,6	59,8
5	0,36	339,3	356,9	17,6	17,6	77,4
6	0,30	286,8	393,1	6,3	6,3	83,7
7	0,25	286,7	292,6	5,9	5,9	89,6
8	Baki	361,8	372,2	10,4	10,4	100



Gambar A.1 - Grafik hubungan ukuran ayakan dan kumulatif gula yang tersisa pada ayakan

Dari grafik diperoleh persamaan garis: $y = -176,3x + 136,1$

Untuk $y = 50$

$$y = -176,3x + 136,1$$

$$50 = -176,3x + 136,1$$

$$x = 0,49$$

Maka ukuran partikel (*mean aperture*), $d_{50} = 0,49$ mm

Untuk $y=16$

$$y = -176,3x + 136,1$$

$$16 = -176,3x + 136,1$$

$$x = 0,68$$

Maka $d_{16} = 0,68 \text{ mm}$

Untuk $y=84$

$$y = -176,3x + 136,1$$

$$84 = -176,3x + 136,1$$

$$x = 0,30$$

Maka $d_{84} = 0,30 \text{ mm}$

Koefisien variasi (Coefficient of Variation), CV adalah

$$CV = \left[\frac{d_{16} - d_{84}}{2} \right] \times \frac{100}{MA}$$

$$CV = \left[\frac{0,68 - 0,30}{2} \right] \times \frac{100}{0,49}$$

CV = 39%.

Maka ukuran partikel gula adalah 0,49 mm dengan CV = 39%.

A.9.5 Ketelitian

Keterulangan uji ukuran partikel tidak lebih dari 0,12 point

A.10 Belerang dioksida (SO₂)

A.10.1 Prinsip

Warna kompleks sulfit/rosanilin diukur secara fotometrik pada panjang gelombang 560 nm setelah bereaksi dengan formaldehid.

A.10.2 Peralatan

- Spektrofotometer atau kolorimeter yang mempunyai panjang gelombang 560 nm;
- timbangan analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg
- buret 10 mL dengan skala 0,05 mL;
- pipet ukur 10 mL;
- pipet volumetrik 25 mL, 10 mL dan 2 mL;
- labu ukur 1 000 mL, 500 mL dan 100 mL; dan
- tabung reaksi.

A.10.3 Pereaksi

- Larutan jenuh rosanilin hidroklorida;
larutkan 1 g rosanilin hidroklorida dalam 100 mL air suling, panaskan pada suhu 50 °C, kemudian dinginkan sambil dikocok. Diamkan selaman 48 jam kemudian disaring.
- larutan rosanilin tak berwarna (*Decolourised rosaniline solution*);

pindahkan 4 mL larutan rosanilin hidroklorida jenuh ke dalam labu ukur 100 mL, tambahkan 6 mL HCl pekat dan tepatkan dengan air suling sampai tanda garis. Warna akan segera hilang tetapi biarkan dulu selama 1 jam sebelum digunakan.

- c) larutan formaldehida 0,2 g/100 mL;
encerkan dengan air suling 5 mL formaldehid pa. $\rho_{20} = 1,070 - 1,080$ menjadi 1000 mL dalam labu ukur 1000 mL.
- d) larutan sukrosa murni;
larutkan 100 g sukrosa bebas sulfit (pa) dengan air suling dalam labu ukur 1000 mL dan tepatkan sampai tanda garis.
- e) larutan natrium hidroksida, NaOH 0,1 mol/L;
- f) larutan yodium 0,05 mol/L;
larutkan 20 g KI bebas yodat (pa) dalam 40 mL air suling dan masukkan ke dalam labu ukur 1000 mL. Tambahkan 12,69 g yodium (pa) dan kocok sampai semua yodium larut kemudian tepatkan dengan air suling sampai tanda garis.
- g) asam klorida pekat, HCl pekat;
- h) larutan asam klorida, HCl 1 mol/L;
- i) indikator yodium - larutan amylum segar;
- j) larutan natrium tiosulfat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,1 mol/L;
larutkan 24,817 g natrium tiosulfat pentahidrat (pa) dengan 200 mL air suling dalam labu ukur 1000 mL dan tepatkan sampai tanda garis.
- k) larutan standar sulfit;
larutkan $\pm 2,5$ g natrium sulfit heptahidrat (pa) dengan larutan sukrosa murni (A.11.2.e) dalam labu ukur 500 mL dan tepatkan sampai tanda garis dengan larutan sukrosa murni
- l) larutan standar sulfit encer.
encerkan 5 mL larutan standar sulfit menjadi 100 mL dengan larutan sukrosa murni. Konsentrasi larutan standar sulfit yang sebenarnya dihitung sesuai dengan A.10.4.1 (penentuan normalitas larutan standar sulfit)

A.10.4 Cara kerja

A.10.4.1 Penentuan normalitas larutan standar sulfit

- a) Masukkan 25 mL larutan yodium 0,05 mol/L ke dalam Erlenmeyer 300 mL, tambahkan 10 mL HCl 1 mol/L, tambahkan kira-kira 100 mL air suling, dan 25 mL larutan standar sulfit;
- b) kelebihan yodium dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0,1 mol/L sampai berubah warna pucat,
- c) setelah berwarna pucat, tambahkan indikator amylum (0,2 g sampai dengan 0,5 g) ke dalam larutan dan lanjutkan titrasi sampai warna biru hilang, catat hasil titrasinya (A); dan
- d) blanko dikerjakan dengan cara yang sama yaitu tanpa larutan standar sulfit dan catat hasil titrasinya (B);

Konsentrasi larutan standar belerang dioksida adalah:

$$c \text{ (ug/mL)} = (25 - t) \times 3,203 \times 2$$

Keterangan:

- c adalah konsentrasi larutan standar belerang dioksida, dinyatakan dalam mikrogram per milliliter ($\mu\text{g/mL}$); dan
- t adalah volume larutan natrium tiosulfit, dinyatakan dalam milliliter (mL)

A.10.4.2 Pembentukan warna

- a) Larutkan 10 g sampai dengan 40 g contoh gula rafinasi (W) dalam labu ukur 100 mL dengan air suling; kemudian tambahkan 4 mL NaOH 0,1 mol/L. Tepatkan sampai tanda garis dengan air suling dan kocok hingga homogen.
lakukan penimbangan contoh sesuai dengan batas kandungan SO₂ seperti dibawah ini;
 - Apabila kandungan SO₂ dalam contoh adalah 0 mg sampai dengan 5 mg SO₂/kg maka penimbangan contoh adalah 40 g.
 - Apabila kandungan SO₂ dalam contoh adalah 5 mg sampai dengan 15 mg SO₂/kg maka penimbangan contoh adalah 20 g.
 - Apabila kandungan SO₂ dalam contoh adalah 15 mg sampai dengan 30 mg SO₂/kg maka penimbangan contoh adalah 10 g.
- b) pindahkan 10 mL larutan a) ke dalam tabung reaksi yang kering dan bersih;
- c) tambahkan 2 mL larutan rosanilin tidak berwarna, 2 mL larutan formaldehida dan biarkan pada suhu ruang selama 30 menit;
- d) ukur absorbans menggunakan kuvet diameter 1 cm pada panjang gelombang 560 nm; dan
- e) gunakan air suling sebagai blanko.

A.10.4.3 Kurva standar

- a) Pipet larutan standar sulfat encer 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL dan 6 mL (*n*), masukkan masing-masing ke dalam labu ukur 100 mL (labu ukur harus bebas sulfat);
- b) tambahkan masing-masing 4 mL NaOH 0,1 mol/L dan tepatkan sampai tanda garis dengan larutan sukrosa dan kocok hingga homogen;
- c) pipet masing-masing 10 mL larutan diatas dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang bersih dan kering;
- d) tambahkan 2 mL larutan rosanilin tidak berwarna dan 2 mL larutan formaldehida kemudian biarkan selama 30 menit pada suhu ruang;
- e) ukur masing-masing absorbans-nya pada panjang gelombang 560 nm.
- f) gunakan air suling sebagai blanko; dan
- g) buat kurva hubungan antara absorbans dengan konsentrasi sulfat.

Konsentrasi belerang dioksida pada setiap tabung reaksi adalah:

$$\text{Belerang dioksida (SO}_2\text{)} (\mu\text{g}) = \frac{c \times n}{10}$$

Keterangan:

- n* adalah jumlah larutan standar sulfat encer yang ditambahkan ke dalam setiap labu ukur 100 ml, dinyatakan dalam milliliter; dan
c adalah konsentrasi larutan standar sulfat encer yang diperoleh pada penentuan normalitas standar sulfat, dinyatakan dalam mikrogram SO₂.

A.10.5 Perhitungan

Kandungan belerang dioksida di dalam contoh adalah:

$$\text{Belerang dioksida (SO}_2\text{)} (\text{mg/kg}) = \frac{(\mu\text{g SO}_2 \text{ dari kurva}) \times 10}{W}$$

Keterangan:

W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.10.6 Ketelitian

Untuk gula rafinasi yang kandungan sulfitnya antara 4,20 mg/kg sampai dengan 27,63 mg/kg, "*repeatability*" antara 0,72 mg/kg sampai dengan 5,6 mg/kg. Untuk gula rafinasi yang sama *reproducibility* antara 1,56 mg/kg sampai dengan 24,19 mg/kg dengan rata-rata *reproducibility* 11,09 mg/kg.

A.11 Cemar logam

A.11.1 Kadmium (Cd) dan timbal (Pb)

A.11.1.1 Prinsip

Destruksi contoh dengan cara pengabuan kering pada suhu 450 °C yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Logam yang terlarut dihitung menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang maksimal 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb.

A.11.1.2 Peralatan

- Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) beserta kelengkapannya (lampu katoda Cd dan Pb) terkalibrasi (sebaiknya menggunakan SSA tungku grafit);
- tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- pemanas listrik;
- penangas air;
- pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret terkalibrasi;
- labu ukur 1 000 mL, 100 mL, dan 50 mL terkalibrasi;
- gelas ukur 10 mL;
- gelas piala 250 mL;
- botol polipropilen;
- cawan porselen/platina/kuarsa 50 mL sampai dengan 100 mL; dan
- kertas saring tidak berabu dengan spesifikasi *particle retention liquid* 20 µm sampai dengan 25 µm.

A.11.1.3 Pereaksi

- asam nitrat, HNO₃ pekat;
- asam klorida, HCl pekat;
- larutan asam nitrat, HNO₃ 0,1 N;
encerkan 7 mL HNO₃ pekat dengan air suling dalam labu ukur 1 000 mL sampai tanda garis.
- larutan asam klorida, HCl 6 N;
encerkan 500 mL HCl pekat dengan air suling dalam labu ukur 1 000 mL sampai tanda garis.
- larutan baku 1 000 µg/mL Cd;
larutkan 1,000 g Cd dengan 7 mL HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Cd 1 000 µg/mL siap pakai.
- larutan baku 200 µg/mL Cd;
pipet 10 mL larutan baku 1 000 µg/mL Cd ke dalam labu ukur 50 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 200 µg/mL Cd.

- g) larutan baku 20 µg/mL Cd;
pipet 10 mL larutan baku 200 µg/mL Cd ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 20 µg/mL Cd.
- h) larutan baku kerja Cd;
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL, 0,5 mL, 1 mL; 2 mL; 4 mL; 7 mL dan 9 mL larutan baku 20 µg/mL kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,2 µg/mL; 0,4 µg/mL; 0,8 µg/mL; 1,4 µg/mL dan 1,8 µg/mL Cd.
- i) larutan baku 1 000 µg/mL Pb;
larutkan 1,000 g Pb dengan 7 mL HNO₃ pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Alternatif lain, bisa digunakan larutan baku Pb 1 000 µg/mL siap pakai.
- j) larutan baku 50 µg/mL Pb; dan
pipet 5,0 mL larutan baku 1 000 µg/mL Pb ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi Pb 50 µg/mL.
- k) larutan baku kerja Pb;
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL, 0,2 mL; 0,5 mL; 1 mL; 2 mL; 3 mL dan 4 mL larutan baku 50 µg/mL kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,25 µg/mL; 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL; 1,5 µg/mL dan 2,0 µg/mL Pb.

A.11.1.4 Cara kerja

- a) Timbang 10 g sampai dengan 20 g contoh (m) dengan teliti dalam cawan porselen/platina/ kuarsa;
- b) tempatkan cawan berisi contoh uji di atas pemanas listrik dan panaskan secara bertahap sampai contoh uji tidak berasap lagi;
- c) lanjutkan pengabuan dalam tanur (450 ± 5) °C sampai abu berwarna putih, bebas dari karbon;
- d) apabila abu belum bebas dari karbon yang ditandai dengan warna keabu-abuan, basahkan dengan beberapa tetes air dan tambahkan tetes demi tetes HNO₃ pekat kira-kira 0,5 mL sampai dengan 3 mL;
- e) keringkan cawan di atas pemanas listrik dan masukkan kembali ke dalam tanur pada suhu (450 ± 5) °C kemudian lanjutkan pemanasan sampai abu menjadi putih. Penambahan HNO₃ pekat dapat diulangi apabila abu masih berwarna keabu-abuan;
- f) larutkan abu berwarna putih dalam 5 mL HCl 6 N, sambil dipanaskan di atas pemanas listrik atau penangas air sampai kering, kemudian larutkan dengan HNO₃ 0,1 N dan masukkan ke dalam labu ukur 50 mL kemudian tepatkan hingga tanda garis dengan air suling (V), jika perlu, saring larutan menggunakan kertas saring ke dalam botol polipropilen;
- g) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- h) baca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal sekitar 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb;
- i) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- j) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C); dan
- k) hitung kandungan logam dalam contoh.

A.11.1.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan logam (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V$$

Keterangan:

C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);

V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL); dan

M adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.11.1.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16% dari nilai rata-rata hasil kandungan logam. Jika kisaran lebih besar dari 16%, maka uji harus diulang kembali.

A.11.2 Timah (Sn)

A.11.2.1 Prinsip

Contoh didestruksi dengan HNO_3 dan HCl kemudian tambahkan KCl untuk mengurangi gangguan. Sn dibaca menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang maksimal 235,5 nm dengan nyala oksidasi $\text{N}_2\text{O}-\text{C}_2\text{H}_2$.

A.11.2.2 Peralatan

- Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) beserta kelengkapannya (lampu katoda Sn) terkalibrasi;
- tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- pemanas listrik;
- penangas air;
- labu ukur 1 000 ml, 100 ml, dan 50 ml terkalibrasi;
- pipet ukur 10 ml dan 5 mL berskala 0,1 mL, terkalibrasi;
- Erlenmeyer 250 mL;
- gelas ukur 50 mL; dan
- gelas piala 250 mL.

A.11.2.3 Pereaksi

- Larutan kalium klorida, 10 mg/mL K;
larutkan 1,91 g KCl dengan air menjadi 100 mL.
- asam nitrat pekat, HNO_3 pekat;
- asam klorida pekat, HCl pekat;
- larutan baku 1 000 µg/mL Sn; dan
larutkan 1,000 mg Sn dengan 200 mL HCl pekat dalam labu ukur 1 000 mL, tambahkan 200 mL air suling, dinginkan pada suhu ruang dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- larutan baku kerja Sn.
pipet 10 mL HCl pekat dan 1,0 mL larutan KCl ke dalam masing-masing labu ukur 100 mL. Tambahkan masing-masing 0 mL; 0,5 mL; 1,0 mL; 1,5 mL; 2,0 mL dan 2,5 mL larutan baku 1 000 µg/mL Sn dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 5 µg/mL; 10 µg/mL; 15 µg/mL; 20 µg/mL dan 25 µg/mL Sn.

A.11.2.4 Cara kerja

- Timbang 10 g sampai dengan 20 g (m) dengan teliti ke dalam Erlenmeyer 250 mL, tambahkan 30 mL HNO₃ pekat dan biarkan 15 menit;
- panaskan perlahan selama 15 menit di dalam lemari asam, hindari terjadinya percikan yang berlebihan;
- lanjutkan pemanasan sehingga sisa volume 3 mL sampai dengan 6 mL atau sampai contoh mulai kering pada bagian bawahnya, hindari terbentuknya arang;
- angkat Erlenmeyer dari pemanas listrik, tambahkan 25 mL HCl pekat, dan panaskan selama 15 menit sampai letupan dari uap Cl₂ berhenti;
- tingkatkan pemanasan dan didihkan sehingga sisa volume 10 mL sampai dengan 15 mL;
- tambahkan 40 mL air suling, aduk, dan tuangkan ke dalam labu ukur 100 mL, bilas Erlenmeyer tersebut dengan 10 mL air suling (V);
- tambahkan 1,0 mL KCl, dinginkan pada suhu ruang, tepatkan dengan air suling sampai tanda garis dan saring;
- siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- baca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal 235,5 nm dengan nyala oksidasi N₂O-C₂H₂;
- buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- lakukan pengerjaan duplo; dan
- hitung kandungan Sn dalam contoh.

A.11.2.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan timah (Sn) (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V$$

Keterangan:

C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL)

V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);

m adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

A.11.2.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16% dari nilai rata-rata hasil kandungan timah (Sn). Jika kisaran lebih besar dari 16%, maka uji harus diulang kembali.

A.11.3 Merkuri (Hg)

A.11.3.1 Prinsip

Reaksi antara senyawa merkuri dengan NaBH₄ atau SnCl₂ dalam keadaan asam akan membentuk gas atomik Hg. Jumlah Hg yang terbentuk sebanding dengan absorbans Hg yang dibaca menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) tanpa nyala pada panjang gelombang maksimal 253,7 nm.

A.11.3.2 Peralatan

- Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) yang dilengkapi lampu katoda Hg dan generator uap hidrida (HVG);
- microwave digester*;

SNI 3140.2:2011

- c) neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- d) pemanas listrik;
- e) pendingin terbuat dari borosilikat, diameter 12 mm sampai dengan 18 mm, tinggi 400 mm diisi dengan cincin *Raschig* setinggi 100 mm, dan dilapisi dengan batu didih berdiameter 4 mm di atas cincin setinggi 20 mm;
- f) tabung destruksi;
- g) labu destruksi 250 mL berdasar bulat;
- h) labu ukur 1000 mL, 500 mL, 100 mL dan 50 mL terkalibrasi;
- i) gelas ukur 25 mL;
- j) pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret terkalibrasi; dan
- k) gelas piala 500 mL

A.11.3.3 Pereaksi

- a) Larutan asam sulfat, H_2SO_4 9 M;
- b) larutan asam nitrat, HNO_3 7 M;
- c) campuran HNO_3 : HClO_4 (1:1);
- d) hidrogen peroksida, H_2O_2 pekat;
- e) larutan natrium molibdat, $\text{NaMoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2%;
- f) larutan pereduksi;
campurkan 50 mL H_2SO_4 dengan 300 mL air suling dalam gelas piala 500 mL dan dinginkan sampai suhu ruang kemudian tambahkan 15 g NaCl, 15 g hidroksilamin sulfat, dan 25 g SnCl_2 . Pindahkan kedalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- g) larutan natrium borohidrida, NaBH_4 ;
larutkan 3 g serbuk NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling dalam labu ukur 500 mL.
- h) larutan pengencer;
masukkan 300 mL sampai dengan 500 mL air suling kedalam labu ukur 1 000 mL dan tambahkan 58 mL HNO_3 kemudian tambahkan 67 mL H_2SO_4 . Encerkan dengan air suling sampai tanda garis dan kocok.
- i) larutan baku 1000 $\mu\text{g/mL}$ Hg;
larutkan 0,1354 g HgCl_2 dengan kira-kira 25 mL air suling dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- j) larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ Hg;
pipet 1 mL larutan baku 1 000 $\mu\text{g/mL}$ Hg ke dalam labu ukur 1 000 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$.
- k) larutan baku kerja Hg; dan
pipet masing-masing 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; dan 2 mL larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,0025 $\mu\text{g/mL}$; 0,005 $\mu\text{g/mL}$; 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$ Hg.
- l) batu didih.

A.11.3.4 Cara kerja

A.11.3.4.1 Pengabuan basah

- a) Timbang 5 g contoh (m) dengan teliti ke dalam labu destruksi dan tambahkan 25 mL H_2SO_4 9 M, 20 mL HNO_3 7 M, 1 mL larutan natrium molibdat 2%, dan 5 butir sampai dengan 6 butir batu didih;
- b) hubungkan labu destruksi dengan pendingin dan panaskan di atas pemanas listrik selama 1 jam. Hentikan pemanasan dan biarkan selama 15 menit;
- c) tambahkan 20 mL campuran HNO_3 : HClO_4 (1:1) melalui pendingin;

- d) hentikan aliran air pada pendingin dan panaskan dengan panas tinggi hingga timbul uap putih. Lanjutkan pemanasan selama 10 menit dan dinginkan;
- e) tambahkan 10 mL air suling melalui pendingin dengan hati-hati sambil labu digoyang-goyangkan;
- f) didihkan lagi selama 10 menit;
- g) matikan pemanas dan cuci pendingin dengan 15 mL air suling sebanyak 3 kali kemudian dinginkan sampai suhu ruang;
- h) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 100 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- i) pipet 25 mL larutan di atas ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis;
- j) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- k) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja Hg, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
- l) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;
- m) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- n) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- o) lakukan pengerjaan duplo; dan
- p) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.11.3.4.2 Destruksi menggunakan *microwave digester* atau destruksi sistem tertutup

- a) Timbang 1 g contoh (m) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 mL HNO_3 , 1 mL H_2O_2 kemudian tutup rapat;
- b) masukkan ke dalam *microwave digester* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;
- c) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 50 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- d) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- e) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
- f) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;
- g) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- h) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- i) lakukan pengerjaan duplo; dan
- j) hitung kandungan Hg dalam contoh.

A.11.3.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan merkuri (Hg) (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V \times fp$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/mL}$);
- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (ml);
- m adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
- fp adalah faktor pengenceran.

A.11.3.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16% dari nilai rata-rata hasil kandungan merkuri (Hg). Jika kisaran lebih besar dari 16%, maka uji harus diulang kembali.

A.12 Cemarkan arsen (As)**A.12.1 Prinsip**

Contoh didestruksi dengan asam menjadi larutan arsen. Larutan As^{5+} direduksi dengan KI menjadi As^{3+} dan direaksikan dengan NaBH_4 atau SnCl_2 sehingga terbentuk AsH_3 yang kemudian dibaca dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang maksimal 193,7 nm.

A.12.2 Peralatan

- Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) yang dilengkapi dengan lampu katoda As dan generator uap hidrida (HVG) terkalibrasi;
- tanur terkalibrasi dengan ketelitian 1 °C;
- microwave digester*;
- neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 mg;
- pemanas listrik;
- burner* atau *bunsen*;
- labu *Kjeldahl* 250 mL;
- labu berbahan borosilikat berdasar bulat 50 mL;
- labu ukur 50 mL, 100 mL, 500 mL, dan 1 000 mL terkalibrasi;
- gelas ukur 25 mL;
- pipet volumetrik 25 mL terkalibrasi;
- pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret terkalibrasi;
- cawan porselen 50 mL; dan
- gelas piala 200 mL.

A.12.3 Pereaksi

- Asam nitrat, HNO_3 pekat;
- asam sulfat, H_2SO_4 pekat;
- asam perklorat, HClO_4 pekat;
- ammonium oksalat; $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ jenuh
- hidrogen peroksida, H_2O_2 pekat;
- larutan natrium borohidrida, NaBH_4 4%;
larutkan 3 g NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling sampai tanda garis kedalam labu ukur 500 mL.
- larutan asam klorida, HCl 8 M;
larutkan 66 mL HCl pekat kedalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- larutan timah (II) klorida, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10%;
timbang 50 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ke dalam gelas piala 200 mL dan tambahkan 100 mL HCl 37%. Panaskan hingga larutan jernih dan dinginkan kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- larutan kalium iodida, KI 20%;
timbang 20 g KI ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (larutan harus dibuat langsung sebelum digunakan).
- larutan $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 75 mg/mL;
Larutkan 3,75 g MgO dengan 30 mL H_2O secara hati-hati, tambahkan 10 mL HNO_3 , dinginkan dan encerkan hingga 50 mL dengan air suling;

- k) larutan baku 1 000 $\mu\text{g/mL}$ As;
larutkan 1,3203 g As_2O_3 kering dengan sedikit NaOH 20% dan netralkan dengan HCl atau HNO_3 1:1 (1 bagian asam : 1 bagian air). Masukkan ke dalam labu ukur 1 000 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- l) larutan baku 100 $\mu\text{g/mL}$ As;
pipet 10 mL larutan baku As 1 000 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ As.
- m) larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As; dan
pipet 1 mL larutan baku As 100 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ As.
- n) larutan baku kerja As.
pipet masing-masing 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL; 4,0 mL dan 5,0 mL larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$; 0,03 $\mu\text{g/mL}$; 0,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,05 $\mu\text{g/mL}$ As.

A.12.4 Cara kerja

A.12.4.1 Pengabuan basah

- a) Timbang 5 g sampai dengan 10 g contoh (m) kedalam labu Kjeldahl 250 mL, tambahkan 5 mL sampai dengan 10 mL HNO_3 pekat dan 4 mL sampai dengan 8 mL H_2SO_4 pekat dengan hati-hati;
- b) setelah reaksi selesai, panaskan dan tambahkan HNO_3 pekat sedikit demi sedikit sehingga contoh berwarna coklat atau kehitaman;
- c) tambahkan 2 mL HClO_4 70% sedikit demi sedikit dan panaskan lagi sehingga larutan menjadi jernih atau berwarna kuning (jika terjadi pengarangran setelah penambahan HClO_4 , tambahkan lagi sedikit HNO_3 pekat),
- d) dinginkan, tambahkan 15 mL H_2O dan 5 mL $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ jenuh;
- e) panaskan sehingga timbul uap SO_3 di leher labu;
- f) dinginkan, pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- g) pipet 25 mL larutan diatas dan tambahkan 2 mL HCl 8 M, 0,1 mL KI 20% kemudian kocok dan biarkan minimal 2 menit;
- h) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- i) tambahkan larutan pereduksi (NaBH_4) ke dalam larutan baku kerja As, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
- j) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang maksimal 193,7 nm;
- k) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- l) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- m) lakukan pengerjaan duplo; dan
- n) hitung kandungan As dalam contoh.

A.12.4.2 Destruksi menggunakan *microwave digester* atau destruksi sistem tertutup

- a) Timbang 1 g contoh (m) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 mL HNO_3 , 1 mL H_2O_2 kemudian tutup rapat;
- b) masukkan ke dalam *microwave digester* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;
- c) setelah dingin, pindahkan larutan destruksi ke dalam labu ukur 25 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);

- d) pipet 10 mL larutan destruksi ke dalam labu borosilikat berdasar bulat 50 mL, tambahkan 1 mL larutan $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, Uapkan di atas pemanas listrik hingga kering dan arangkan. Abukan dalam tanur dengan suhu $450\text{ }^\circ\text{C}$ (± 1 jam);
- e) dinginkan, larutkan dengan 2,0 mL HCl 8 M, 0,1 mL KI 20% dan biarkan minimal 2 menit. Tuangkan larutan tersebut ke dalam tabung contoh pada alat;
- f) siapkan NaBH_4 dan HCl dalam tempat yang sesuai dengan yang ditentukan oleh alat;
- g) tuangkan larutan baku kerja As 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$; 0,03 $\mu\text{g/mL}$; 0,04 $\mu\text{g/mL}$; 0,05 $\mu\text{g/mL}$ serta blanko ke dalam 6 tabung contoh lainnya. Nyalakan *burner* atau *bunsen* serta tombol pengatur aliran pereaksi dan aliran contoh;
- h) baca nilai absorbans tertinggi larutan baku kerja As dan contoh dengan blanko sebagai koreksi;
- i) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi As ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- j) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- k) lakukan pengerjaan duplo; dan
- l) hitung kandungan As dalam contoh.

A.12.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan cemaran arsen (As) (mg/kg)} = \frac{C}{m} \times V \times fp$$

Keterangan:

- C adalah konsentrasi cemaran As dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/mL}$);
 V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 m adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
 fp adalah faktor pengenceran.

A.12.6 Ketelitian

Kisaran hasil dua kali ulangan maksimal 16% dari nilai rata-rata hasil kandungan arsen (As). Jika kisaran lebih besar dari 16%, maka uji harus diulang kembali.

A.13 Cemaran mikroba

A.13.1 Persiapan dan homogenisasi contoh untuk uji angka lempeng total dan bakteri *Coliform*

A.13.1.1 Prinsip

Pembebasan sel-sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel makanan dan untuk menggiatkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin viabilitasnya berkurang karena kondisi yang kurang menguntungkan dalam makanan. Persiapan dan homogenisasi contoh bertujuan agar bakteri terdistribusi dengan baik di dalam contoh makanan yang ditetapkan.

A.13.1.2 Peralatan

- a) Alat homogenisasi yang sesuai (blender) dengan kecepatan putaran 10 000 rpm sampai dengan 12 000 rpm;
- b) otoklaf;
- c) pemanas listrik;
- d) neraca kapasitas 2000 g terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 g;
- e) labu ukur 1 000 mL, 500 mL, 100 mL dan 50 mL terkalibrasi.
- f) gelas piala steril;
- g) Erlenmeyer steril;

- h) botol pengencer steril;
- i) pipet volumetrik steril 10,0 mL dan 1,0 mL terkalibrasi dilengkapi dengan *bulb* dan *pipettor*, terkalibrasi;
- j) tabung reaksi; dan
- k) sendok, gunting, dan spatula steril.

A.13.1.3 Larutan pengencer

Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water (BPB);

- KH_2PO_4 34 g
- air suling 500 mL

Atur pH dengan NaOH sehingga mencapai pH 7,2, tepatkan volume sampai 1 000 mL dengan air suling. Sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit, simpan pada refrigerator. Untuk membuat larutan pengencer, 1,25 mL larutan stok diencerkan dengan air suling sampai volume 1 000 mL. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam botol pengencer sebanyak 450 mL dan tabung reaksi sebanyak 9 mL kemudian disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit.

A.13.1.4 Homogenisasi contoh

- a) Timbang 50 g contoh secara aseptik ke dalam botol pengencer yang telah berisi 450 mL larutan pengencer sehingga diperoleh pengenceran 1:10; dan
- b) kocok campuran beberapa kali sehingga homogen.

A.13.2 Angka lempeng total (35 °C, 48 jam)

A.13.2.1 Prinsip

Pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah contoh diinkubasikan dalam pembenihan yang sesuai selama 48 jam pada suhu (35 ± 1) °C.

A.13.2.2 Peralatan

- a) Inkubator (35 ± 1) °C terkalibrasi;
- b) oven/alat sterilisasi kering terkalibrasi;
- c) otoklaf;
- d) penangas air bersirkulasi (45 ± 1) °C;
- e) alat penghitung koloni;
- f) *tally register*;
- g) botol pengencer 160 mL terbuat dari gelas borosilikat, dengan sumbat karet atau tutup ulir plastik;
- h) pipet ukur 1 mL steril dengan skala 0,1 mL dilengkapi *bulb* dan *pipettor*; dan
- i) cawan petri gelas/plastik steril (berukuran minimal 15 mm x 90 mm).

A.13.2.3 Pembenihan dan pengencer

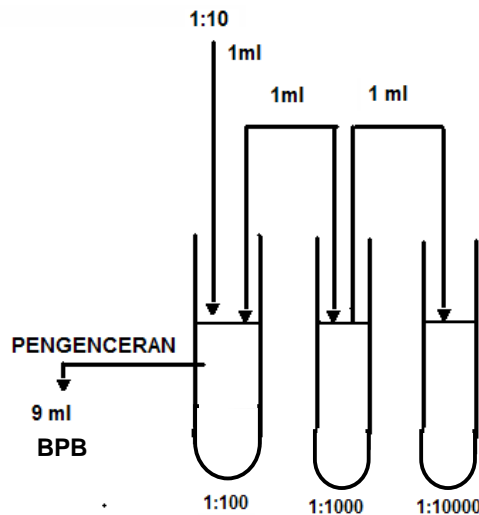
Plate count agar (PCA)

- *tryptone* 5 g
- *yeast extract* 2,5 g
- glukosa 1 g
- agar 15 g
- air suling 1 000 mL

Larutkan bahan-bahan diatas menjadi 1 000 mL dengan air suling dan atur pH menjadi 7,0. Masukkan ke dalam botol pengencer. Sterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

A.13.2.4 Cara kerja

- a) Buat tingkat pengenceran sesuai kebutuhan seperti diperlihatkan pada Gambar A.2 dengan menggunakan larutan pengencer *Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water* (BPB);



Gambar A.2 - Tingkat pengenceran menggunakan larutan pengencer *Butterfield's Phosphate-Buffered Dilution Water* (BPB)

- b) pipet masing-masing 1 mL dari tingkat pengenceran (F) 10^{-1} sampai dengan 10^{-4} ke dalam cawan petri steril secara duplo;
 c) tuangkan 12 mL sampai dengan 15 mL media PCA yang masih cair dengan suhu $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ke dalam masing-masing cawan petri;
 d) goyangkan cawan petri dengan hati-hati (putar dan goyang ke depan, ke belakang, ke kanan dan ke kiri) sehingga contoh dan pembedahan tercampur merata dan memadat;
 e) kerjakan pemeriksaan blanko dengan mencampur air pengencer untuk setiap contoh yang diperiksa;
 f) biarkan sampai campuran dalam cawan petri memadat;
 g) masukkan semua cawan petri dengan posisi terbalik ke dalam inkubator pada suhu $35 ^\circ\text{C}$ selama (48 ± 2) jam; dan
 h) catat pertumbuhan koloni (n) pada setiap cawan petri yang mengandung 25 koloni sampai dengan 250 koloni setelah 48 jam.

A.13.2.5 Perhitungan

Angka lempeng total (koloni/g) = $n \times F$

Keterangan:

- n adalah rata – rata koloni dari dua cawan petri dari satu pengenceran, dinyatakan dalam koloni per gram (koloni/g);
 F adalah faktor pengenceran dari rata-rata koloni yang dipakai

A.13.2.6 Pernyataan hasil

A.13.2.6.1 Cara menghitung

- Pilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni setiap cawan petri. Hitung semua koloni dalam cawan petri menggunakan alat penghitung koloni. Hitung rata-rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram;
- jika salah satu dari dua cawan petri terdapat jumlah koloni lebih kecil dari 25 koloni atau lebih besar dari 250 koloni, hitung jumlah koloni yang terletak antara 25 sampai dengan 250 koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram;

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}
120	25
105	20

$$ALT = \frac{120 + 105 + 25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 1) \times 10^{-2}]} = 124,9375$$

- jika hasil dari dua pengenceran jumlahnya berturut-turut terletak antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni, hitung jumlah koloni dari masing-masing pengenceran koloni per g dengan rumus :

$$ALT = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d]}$$

Keterangan:

C adalah jumlah koloni dari tiap-tiap petri;

n_1 adalah jumlah petri dari pengenceran pertama yang dihitung;

n_2 adalah jumlah petri dari pengenceran kedua; dan

d adalah pengenceran pertama yang dihitung;

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}
131	30
143	25

$$ALT = \frac{131 + 143 + 30 + 25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 2) \times 10^{-2}]} = 164,3357$$

- jika jumlah koloni dari masing-masing petri lebih dari 25 koloni nyatakan sebagai jumlah bakteri perkiraan;
jika jumlah koloni per cm^2 kurang dari 100 koloni, maka nyatakan hasilnya sebagai jumlah perkiraan : jumlah bakteri dikalikan faktor pengenceran.

Contoh :

10^{-2}	10^{-3}	Jumlah bakteri perkiraan
~	640	$1000 \times 640 = 640.000 (6.4 \times 10^5)$

jika jumlah koloni per cm^2 lebih dari 100 koloni, maka nyatakan hasilnya:

area x faktor pengenceran x 100 contoh rata-rata jumlah koloni 110 per cm^2

contoh :

10^{-2}	10^{-3}	area (cm^2)	jumlah bakteri perkiraan
~	7150	65	$> 65 \times 10^3 \times 100 = > 6500.000 (6.5 \times 10^6)$
~	6490	59	$> 59 \times 10^3 \times 100 = > 5900.000 (5.9 \times 10^6)$

- e) jika jumlah koloni dari masing-masing koloni yang tumbuh pada cawan petri kurang dari 25, maka nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari 25 koloni dikalikan pengenceran yang terendah; dan
- f) menghitung koloni yang merambat;
Perambatan pada koloni ada 3 macam, yaitu :
 - perambatan berupa rantai yang tidak terpisah;
 - perambatan yang terjadi diantara dasar cawan petri dan pembenihan; dan
 - perambatan yang terjadi pada pinggir atau permukaan pembenihan.
 Jika terjadi hanya satu perambatan (seperti rantai) maka koloni dianggap satu. Jika terbentuk lebih dari satu perambatan dan berasal dari sumber yang terpisah-pisah, maka tiap sumber dihitung sebagai satu koloni.

A.13.2.6.2 Cara membulatkan angka

Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya 2 angka penting yang digunakan, yaitu angka pertama dan kedua (dimulai dari kiri),

- a) Jika angka ketiga lebih besar dari 5, maka bulatkan ke atas;
contohnya : 528 dilaporkan sebagai 530 penulisannya $5,3 \times 10^2$
- b) jika angka ketiga kurang dari 5, maka bulatkan kebawah; dan
contohnya : 523 dilaporkan sebagai 520 penulisannya $5,2 \times 10^2$
- c) jika angka ketiga sama dengan 5, maka bulatkan sebagai berikut
 - bulatkan ke atas jika angka kedua merupakan angka ganjil; dan
contohnya : 575 dilaporkan sebagai 580 penulisannya $5,8 \times 10^2$
 - bulatkan ke bawah jika angka kedua merupakan angka genap
contohnya : 565 dilaporkan sebagai 560 penulisannya $5,6 \times 10^2$

A.13.3 Bakteri *Coliform*

A.13.3.1 Prinsip

Pertumbuhan bakteri *Coliform* ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung *Durham*, yang selanjutnya dirujuk pada Tabel APM (Angka Paling Mungkin).

A.13.3.2 Peralatan

- a) Inkubator (35 ± 1) °C terkalibrasi;
- b) penangas air tertutup dengan sistem sirkulasi, ($45,5 \pm 0,2$) °C;
- c) rak untuk tabung reaksi;
- d) pipet ukur 10 mL dan 1 mL dengan skala 0,1 mL steril dilengkapi *bulb* dan *pipettor*;
- e) botol pengencer terbuat dari gelas borosilikat dengan tutup ulir plastik;
- f) tabung reaksi dan tabung *Durham*; dan
- g) jarum Ose dengan diameter dalam kira-kira 3 mm.

A.13.3.3 Pembenihan pengencer dan pereaksi

- a) *Lauryl sulfate tryptose* (LST) *broth* / *lauryl tryptose* (LT) *broth*; dan
- b) *brilliant green lactose bile* (BGLB) *broth* 2%.

A.13.3.4 Cara kerja

A.13.3.4.1 APM - Uji pendugaan untuk bakteri *Coliform*

- a) Lakukan persiapan dan homogenisasi contoh sesuai dengan A.13.1;

- b) inokulasikan masing-masing 1 mL larutan dari setiap tingkat pengenceran (larutan 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3}) ke dalam tiga tabung *lauryl sulfate tryptose* (LST) *broth* yang didalamnya terdapat tabung *Durham* terbalik. Pegang pipet sedemikian sehingga ujung bawah pipet menempel pada tabung. Biarkan isi pipet mengalir 2 detik sampai dengan 3 detik. Pipet jangan ditiup untuk mengeluarkan isinya;
- c) masukkan tabung-tabung tersebut ke dalam inkubator pada suhu 35°C selama (48 ± 2) jam;
- d) amati tabung-tabung tersebut pada pada jam ke- (24 ± 2) . Jika ada tabung yang telah mengandung gas, maka tabung tersebut dinyatakan positif;
- e) tabung-tabung yang belum mengandung gas dinyatakan negatif, lanjutkan inkubasi selama 24 jam;
- f) catat adanya pembentukan gas dalam jumlah berapapun setelah inkubasi (48 ± 2) jam, dan nyatakan tabung tersebut positif; dan
- g) lakukan uji penegasan terhadap semua tabung yang positif dalam uji pendugaan.

A.13.3.4.2 APM - Uji penegasan untuk bakteri *Coliform*

- a) Kocok tabung LST *broth* yang positif secara hati-hati dengan cara memutar-mutar tabung;
- b) pindahkan satu Ose dari setiap tabung LST *broth* yang positif ke dalam tabung BGLB *broth* 2% yang berlainan;
- c) masukkan tabung-tabung BGLB *broth* 2% ke dalam inkubator pada suhu 35°C selama (48 ± 2) jam;
- d) catat semua tabung BGLB *broth* yang positif menghasilkan gas dan tentukan APM sesuai dengan Tabel A.6 berdasarkan jumlah tabung BGLB *broth* yang memperlihatkan pembentukan gas dalam jumlah berapapun, selama (48 ± 2) jam pada 35°C ; dan
- e) laporkan bakteri *Coliform* sebagai APM per gram.

Tabel A.6 - APM/ g contoh bila menggunakan 3 tabung untuk setiap tingkat pengenceran 0,1 g/mL; 0,01 g/mL; dan 0,001 g/mL contoh

Tabung yang positif			APM	Tabung yang positif			APM
0,1	0,01	0,001		0,1	0,01	0,001	
0	0	0	<3	2	2	0	21
0	0	1	3	2	2	1	28
0	1	0	3	2	2	2	35
0	1	1	6	2	3	0	29
0	2	0	6	2	3	1	36
0	3	0	9	3	0	0	23
1	0	0	4	3	0	1	39
1	0	1	7	3	0	2	64
1	0	2	11	3	1	0	43
1	1	0	7	3	1	1	75
1	1	1	11	3	1	2	120
1	2	0	11	3	1	3	160
1	2	1	15	3	2	0	93
1	3	0	16	3	2	1	150
2	0	0	10	3	2	2	216

Tabel A.6 - APM/ g contoh bila menggunakan 3 tabung untuk setiap tingkat pengenceran 0,1 g/mL; 0,01 g/mL; dan 0,001 g/mL contoh (lanjutan)

Tabung yang positif			APM	Tabung yang positif			APM
0,1	0,01	0,001		0,1	0,01	0,001	
2	0	1	14	3	2	3	290
2	0	2	20	3	3	0	240
2	1	0	15	3	3	1	460
2	1	1	20	3	3	2	1100
2	1	2	27	3	3	3	>1100

A.13.4 Kapang dan khamir

A.13.4.1 Prinsip

Pertumbuhan kapang dan khamir dalam media yang sesuai setelah diinkubasi pada suhu $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ selama 5 hari.

A.13.4.2 Peralatan

- Inkubator $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ terkalibrasi;
- otoklaf;
- penangas air $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- pH meter;
- alat penghitung koloni;
- tally register*;
- pipet ukur 10 mL dan 1 mL, steril; dan
- cawan petri terbuat dari gelas atau plastik, berukuran minimal 15 mm x 90 mm, steril;
- bent glass rod*.

A.13.4.3 Pembenihan, pengencer dan Pereaksi

- Agar *Dichloran rose bengal chloramphenicol* (DRBC);
- Agar *Dichloran 18% glycerol* (DG 18);
- Larutan pepton 0,1 %; dan
 - Pepton 1 g
 - Air suling 1 000 mL
 Larutkan pepton dalam air suling, kemudian sterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu $121 ^\circ\text{C}$ selama 15 menit, dan atur pH sehingga mencapai pH akhir $(7,0 \pm 0,2)$.
- Larutan antibiotik.
Antibiotik ditambahkan dalam media kapang dan khamir untuk mencegah pertumbuhan bakteri. *Chloramphenicol* adalah salah satu pilihan antibiotik, karena stabil selama proses dalam otoklaf. Konsentrasi antibiotik yang dianjurkan adalah 100 mg/L media. Jika terlihat pertumbuhan bakteri yang berlebihan, siapkan media dengan penambahan *chloramphenicol* 50 mg/L sebelum otoklaf dan *chlortetracycline* 50 mg/L steril saat media mulai dikondisikan, tepat sebelum menuang media dalam cawan.

A.13.4.4 Persiapan dan homogenisasi contoh

- Timbang 50 g contoh secara aseptik ke dalam botol pengencer yang telah berisi 450 mL larutan pepton 0,1 % steril sehingga diperoleh pengenceran 1:10; dan

- b) Kocok campuran beberapa kali sehingga homogen.

A.13.4.5 Cara kerja

- a) Buat tingkat pengenceran dari 10^{-2} sampai dengan 10^{-6} , dengan menggunakan larutan pepton 0,1 %;
- b) persiapan media dalam cawan dapat dilakukan dengan salah satu metode di bawah ini, yaitu:
 - metode sebar (media DRBC atau DG 18),
penggunaan media DG 18 lebih sesuai untuk contoh uji yang mempunyai a_w kurang dari 0,95. pipet 0,1 mL masing-masing pengenceran secara aseptik ke dalam media dan sebar merata dengan menggunakan *bent glass rod*.
 - metode tuang (media DG 18) :
 - Pipet 1,0 mL masing-masing pengenceran ke dalam cawan petri dan sesegera mungkin tuangkan 20 mL sampai dengan 25 mL media;
 - campurkan dengan menggoyang cawan secara perlahan searah jarum jam, kemudian berlawanan arah jarum jam selama 1 menit sampai dengan 2 menit; dan
 - biarkan hingga campuran dalam cawan petri memadat.
- c) masukkan semua cawan petri dengan posisi tidak terbalik ke dalam inkubator pada ruang gelap bersuhu 25 °C selama 5 hari. Jangan menumpuk cawan lebih dari 3 tumpukan. Biarkan cawan dan jangan merubah posisinya;
- d) hitung koloni pada cawan setelah 5 hari inkubasi. Jika setelah 5 hari tidak ada yang tumbuh, tambahkan waktu inkubasi selama 48 jam. Jangan menghitung koloni dalam cawan sampai batas waktu inkubasi berakhir, karena merubah posisi cawan dapat mengakibatkan pertumbuhan sekunder dari spora; dan
- e) nyatakan hasil perhitungan sebagai koloni per gram contoh.

A.13.4.6 Pernyataan hasil

A.13.4.6.1 Cara menghitung

Hitung kapang dan khamir sesuai dengan A.13.2.6.2. untuk cawan yang berisi 10 koloni sampai dengan 150 koloni.

A.13.4.6.2 Cara membulatkan angka

Cara membulatkan angka pada hasil perhitungan kapang dan khamir sesuai dengan A.13.2.6.2.

Bibliografi

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 920.175, Sugar and Syrups, Preparation of Test Sample*, 18th Edition, Chapter 31.1.01.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 986.15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method*, 18th Edition, Chapter 9.1.01.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 999.11, Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods: Atomic Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing*, 18th Edition, Chapter 9.1.09.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 971.21, Mercury in Foods, Flameless Atomic Absorption Spectrophotometric Method*, 18th Edition, Chapter 9.2.22.

Association of Official Analytical Chemistry. 2005. *AOAC Official Method 985.61, Tin in Canned Foods, Atomic Absorption Spectrophotometric Method*, 18th Edition, Chapter 9.2.35.

Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Kategori Pangan. 2006. Kategori Pangan 05.0.

Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2001. *Aerobic Plate Count*. Chapter 3.

Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2002. *Enumeration of Echerichia coli and The Coliform Bacteria*. Chapter 4.

Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2003. *Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate*. Chapter 1.

Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 2001. *Yeast, Molds, and Mycotoxins*. Chapter 18.

ICUMSA Method GS2/3-1. 2005. *The Braunschweig Method for the Polarization of White Sugar by Polarimetry - Official*

ICUMSA Method GS2/3-5. 2001. *The Determination of Reducing Sugar by the Knight and Allen EDTA Method - Official*.

ICUMSA Method GS2/1/3-15. 2005. *The Determination of Sugar Moisture by Loss on Drying - Official*.

ICUMSA Method GS2/3-9. 2005. *The Determination of Sugar Solution Colour at pH 7,0*.

ICUMSA Method GS2/3-17. 2005. *The Determination of Conductivity Ash in Refined Sugar Products - Official*

ICUMSA Method GS2/3-19. 2002. *The Determination of Insoluble Matter in White Sugar by Membrane Filtration - Official*

ICUMSA Method GS2/1/7-35. 2005. *The Determination of Sulphite by Rosaniline Colometric Method in White Sugar - Official; in VVHP* Raw Sugar - Tentative; and in Cane Sugar Juices and Syrups - Accepted*

ICUMSA Method GS2-37. 1994. *The Determination of the Particle Size Distribution of White Sugar by Sieving - Accepted*