# ANALISIS MUTU PRODUK COKLAT ANAK-ANAK MERK C

Proposal Praktik Kimia Terpadu Tahun Ajaran 2019/2020

oleh kelompok PKT-31, XIII-4:

Bintang Fajar Mauludin 17.63.08614

Iqmal Riyadi 17.63.08678

Shofwatul Auliya 17.63.08822



**BADAN PENGEMBANGAN SUMBER DAYA MANUSIA INDUSTRI**

**KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN REPUBLIK INDONESIA**

**SEKOLAH MENENGAH KEJURUAN – SMAK BOGOR**

Proposal Praktik Kimia Terpadu Tahun Ajaran 2020/2021

Analisis Mutu Produk Coklat Anak-Anak Merk C

Disetujui dan disahkan oleh:

Disetujui oleh,

Heksi Nur Yuniarsih, S.Si, M.T

NIP. 19820609 200911 2 001

Pembimbing

Disahkan oleh,

Ir. Tin Kartini, M.Si.

NIP. 19590506 196403 2 001

# DAFTAR ISI

[**BAB I**](#_heading=h.50genqjtk0jv) **5**

[**PENDAHULUAN**](#_heading=h.xpvjqknfznit) **5**

[Latar Belakang](#_heading=h.tnsqsuqk8uza) 5

[Rumusan Masalah](#_heading=h.8o5ybrbov1i3) 5

[Tujuan](#_heading=h.645z71v3mlxl) 6

[**BAB II**](#_heading=h.iyhidxtptjk4) **7**

[**TINJAUAN PUSTAKA**](#_heading=h.iyhidxtptjk4) **7**

[Analisis](#_heading=h.s8s01cjcoune) 7

[Mutu](#_heading=h.yzv02yl9rn5n) 7

[Coklat](#_heading=h.793zwrkqkgg2) 7

[**BAB III**](#_heading=h.rz5hikiuulog) **9**

[**METODE ANALISIS**](#_heading=h.p8cbc44rqphd) **9**

[Analisis Fisika](#_heading=h.66tgbyssk3dn) 9

[Analisis Kimia](#_heading=h.20ngit8x4mwj) 10

[Analisis Mikrobiologi](#_heading=h.c7etty3p2ch) 19

[**BAB IV**](#_heading=h.g9a0enaf27aa) **34**

[**PELAKSANAAN**](#_heading=h.yjn5rgnzqk7r) **34**

[Pelaksana](#_heading=h.isg8zg53k0xx) 34

[Tempat Pelaksanaan](#_heading=h.5pweovrfh888) 34

[Tabulasi Waktu Pelaksanaan PKT](#_heading=h.txw265fkvxai) 34

[**BAB V**](#_heading=h.u8mda3g502nt) **36**

[**ALAT DAN BAHAN ANALISIS**](#_heading=h.301pgmmplur5) **36**

[Alat](#_heading=h.k72wcnkyk8f9) 36

[Bahan](#_heading=h.yaim0v5s2zhv) 38

[**DAFTAR PUSTAKA**](#_heading=h.y1t6mnyofm5b) **41**

# BAB I

# PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Coklat adalah makanan yang disukai oleh kebanyakan anak-anak di samping permen dan makanan ekstrudat. Coklat memiliki beberapa manfaat, diantaranya adalah menambah energi untuk anak-anak sehingga mereka menjadi tidak mudah sakit serta dapat melancarkan sistem pencernaan anak-anak. Seringkali orangtua melarang anaknya untuk mengkonsumsi coklat karena coklat akan membuat gigi anak-anak rusak sehingga sering disamakan dengan permen. Anggapan tersebut tidak berlaku untuk semua coklat, coklat yang berkualitas rendahlah yang dapat mengganggu kesehatan gigi dan lainnya karena hanya terdapat jumlah kakao sebesar 20% bahkan kurang dan ditambah dengan susu, gula, dan lemak jenuh yang tinggi. Coklat yang baik untuk anak-anak yaitu coklat yang mengandung 70% kakao.

Produk coklat yang akan kami analisis yaitu suatu produk coklat anak-anak yang banyak dijual di pasaran. Seperti yang kita tahu, produk-produk yang dijual di pasar mayoritas berharga murah. Begitu pula coklat pasaran yang kami temui, harga yang dijual jauh lebih murah dibanding dengan produk coklat yang sudah memiliki merk ternama. Kualitas produk coklat akan mempengaruhi harga dari coklat tersebut, semakin mahal produk coklat akan semakin bagus kualitas coklatnya karena memiliki kadar kakao yang tinggi. Apabila produk tersebut semakin murah, kemungkinan kualitas coklat tersebut kurang baik karena memiliki banyak campuran yang salah satunya adalah lemak jenuh yang tinggi.

### Rumusan Masalah

1. Apa yang dimaksud dengan coklat?
2. Apa saja kandungan yang terdapat dalam coklat dan bagaimana manfaatnya bagi tubuh.
3. Apa bahaya yang diakibatkan apabila mengonsumsi produk coklat yang mengandung lemak jenuh yang tinggi?
4. Bagaimana metode analisis mutu coklat dan apa saja alat dan bahan yang diperlukan?
5. Apakah mutu coklat merk C sudah memenuhi standar yang berlaku dan aman dikonsumsi anak-anak?

### Tujuan

1. Menganalisis mutu coklat merk C apakah sudah memenuhi standar yang berlaku dan layak untuk dikonsumsi sehingga dapat diperjual belikan.
2. Mengetahui alat, bahan, serta metode analisis yang dibutuhkan dalam analisis mutu produk coklat.

# BAB II

# TINJAUAN PUSTAKA

## Analisis

Menurut Komaruddin (2001), secara umum analisis adalah kegiatan berpikir untuk menguraikan suatu keseluruhan menjadi komponen sehingga dapat mengenal tanda-tanda komponen, hubungannya satu sama lain dan fungsi masing-masing dalam satu keseluruhan yang terpadu.

Sementara dalam bidang kimia, analisis menurut KBBI adalah Penyelidikan kimia dengan menguraikan sesuatu untuk mengetahui zat bagiannya dan sebagainya.

## Mutu

Menurut Philip B. Crosby, mutu atau dalam Bahasa Inggris disebut *quality* adalah *conformance to requirement*, yaitu sesuai dengan yang disyaratkan. Suatu produk memiliki mutu apabila sesuai dengan yang standar atau kriteria mutu yang telah ditentukan, standar mutu tersebut meliputi bahan baku, proses produksi, dan produksi jadi.

## Coklat

Coklat adalah olahan makanan atau minuman yang dihasilkan dari biji kakao (*Theobroma cacao*). Coklat merupakan salah satu makanan yang banyak digemari oleh kalangan anak-anak. Selain rasanya yang bersahabat dengan lidah mereka, coklat juga memiliki banyak manfaat, diantaranya adalah coklat mengandung beberapa logam penting seperti magnesium, tembaga, kalium, dan kalsium. Nutrisi ini memiliki peran yang sangat penting bagi kesehatan pembuluh darah. Magnesium memiliki kemampuan untuk melindungi jantung dari denyut jantung yang tidak beraturan. Kandungan zat tembaga pada coklat berguna dalam pemindahan zat besi pada tubuh, metabolisme glukosa, pertumbuhan anak-anak, dan perkembangan otak. Kalium pada coklat juga dapat mengurangi risiko hipertensi. Coklat juga mengandung zat antioksidan dan flavonoid yang sangat berguna untuk mencegah masuknya radikal bebas ke dalam tubuh yang bisa menyebabkan kanker.

Awal pertama kali coklat masuk ke Indonesia pada abad ke-16, diperkenalkan oleh pelaut Spanyol yang tengah berlabuh di Minahasa sebagai sajian mewah untuk kaum bangsawan. Pada tahun 1778, Belanda memperkenalkan tanaman kakao ke Sumatera dan Batavia dan pada abad ke-19 budidaya kakao meluas hampir ke seluruh pulau jawa dan meningkat drastis budidayanya mengalahkan budidaya kopi. Pada tahun 1984, Menteri Pertanian saat itu, Ir. Suswono, 16 Oktober ditetapkan sebagai Hari Kakao Nasional. Menurut data Badan Pusat Statistik (2007) hasil produksi cokelat di Indonesia yaitu pada bubuk coklat tidak manis mencapai 11.039.647 kg, produk coklat batangan mencapai 3.106.336 kg, produk cokelat butiran 5.648.891kg, produk bubuk coklat manis mencapai 26.011.959 kg, produk cokelat cair 415.320 kg, produk permen cokelat 2.453.306 kg, dan produk olahan cokelat lainnya sebanyak 29.396.527 kg.

# BAB III

# METODE ANALISIS

## Analisis Fisika

* 1. **Uji Bau**

**Dasar :**

Pengamatan contoh uji dengan indera penciuman yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian organoleptik.

**Cara Kerja :**

1. Diambil contoh uji secukupnya dan diletakkan di atas gelas arloji yang bersih dan kering;
2. Contoh uji dicium untuk mengetahui baunya; dan
3. Dilakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis yang terlatih atau 1 orang tenaga ahli.

**Cara Menyatakan Hasil :**

1. Jika tidak tercium bau asing, maka hasil dinyatakan “khas, normal”; dan
2. Jika tercium bau asing, maka hasil dinyatakan “tidak normal”
   1. **Uji Rasa**

**Dasar :**

Pengamatan contoh uji dengan indera pengecap (lidah) yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian organoleptik.

**Cara Kerja :**

1. Diambil contoh uji secukupnya dan dirasakan dengan indera pengecap (lidah); dan
2. Dilakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis yang terlatih atau 1 orang tenaga ahli.

**Cara Menyatakan Hasil :**

1. Jika tidak terasa rasa asing, maka hasil dinyatakan “khas, normal”; dan
2. Jika terasa rasa asing, maka hasil dinyatakan “tidak normal”.

**c. Uji Warna**

**Dasar :**

Pengamatan contoh uji dengan indera penglihatan yang dilakukan oleh panelis yang terlatih atau kompeten untuk pengujian organoleptik.

**Cara Kerja :**

1. DIambil contoh uji secukupnya dan diletakkan di atas gelas arloji yang bersih dan kering;
2. Diamati warna contoh uji; dan
3. Dilakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis yang terlatih atau 1 orang tenaga ahli.

**Cara Menyatakan Hasil :**

1. Jika tidak terlihat warna asing, maka hasil dinyatakan “khas, normal”; dan
2. jika terlihat warna asing, maka hasil dinyatakan “tidak normal”.

## Analisis Kimia

* 1. **Uji Total Lemak**

**Dasar:**

Ekstrak minyak bebas dari contoh dengan menggunakan pelarut organik non polar,sebelumnya dilakukan hidrolisis

**Cara Kerja :**

1. Hidrolisis
2. Ditimbang 9 sampai dengan 10 g contoh dengan ketelitian mendekati 0,0001 g ke dalam gelas piala;
3. Ditambahkan 45 mL air suling mendidih, 55 mL HCl 25% dan beberapa butir batu didih;
4. Kaca arloji dibilas dengan 100 mL air suling dan air pembilas tersebut dimasukkan ke dalam gelas piala;
5. Endapan disaring melalui kertas saring yang bebas lemak, gelas piala dibilas tiga kali dengan air suling, dilakukan pencucian hingga bebas khlor yang dapat ditentukan dengan menambahkan 1 sampai dengan 3 tetes AgNO3 terhadap filtrat, jika tidak terdapat endapan putih (AgCl) maka telah bebas khlor; dan
6. Kertas saring serta isinya dipindahkan ke dalam timbal ekstraksi atau selongsong kertas saring yang bebas lemak dan keringkan selama 6 sampai dengan 18 jam pada suhu 100 sampai dengan 101 °C.

2. Ekstraksi Lemak

1. Labu didih yang berisi beberapa butir batu didih dikeringkan selama satu jam
2. Didinginkan dan ditimbang dengan ketelitian mendekati 0,0001 g, disambungkan dengan alat ekstraksi Soxhlet;
3. Dimasukkan timbal ekstraksi atau selongsong kertas saring ke dalam Soxhlet kemudian dituangkan pelarut heksana kurang dari 2/3 kapasitas labu didih;
4. Diekstrak selama 4 jam dengan kecepatan ekstraksi kira-kira 3 tetes per detik;
5. Setelah ekstraksi selesai, timbal ekstraksi atau selongsong kertas saring dikeluarkan, lalu diuapkan pelarut heksana dengan alat penguapan atau dapat dihilangkan dengan memanaskan labu di atas penangas air; dan
6. Labu didih beserta lemak di dalam oven dikeringkan pada suhu 100 °C; kemudian didinginkan dan ditimbang. Diulangi pengeringan sampai perbedaan penimbangan lemak yang dilakukan berturut-turut kurang dari 0,05%.

**Perhitungan:**

Total Lemak (% b/b, bk) = **x**

Keterangan:

W0 adalah bobot contoh (g)

W1 adalah bobot labu dan lemak setelah pengeringan (g)

W2 adalah bobot labu kosong (g)

Ka adalah kadar air (%)

* 1. **Uji Cemaran Logam**

1. **Uji Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd)**

**Dasar:**

Larutan dijadikan atom bebas dengan bantuan panas dan atomizer. Atom yang dihasilkan akan memberikan serapan terhadap spektrum garis yang dihasilkan sumber cahaya ( *hollow cathode lamp* ) pada panjang gelombang maksimal 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb dengan nilai serapan yang sebanding dengan konsentrasi logam yang dibaca.

**Cara Kerja:**

1. Persiapan Sampel
2. Ditimbang sampel coklat yang telah dihaluskan sebanyak 0,5 gram ( duplo) ke dalam piala gelas 100 mL, ditambahkan batu didih, dan pereaksi campuran asam HNO3 65 %b/b (pa) : HClO4 72%b/b (pa) : H2SO4 98%b/b (pa) dengan perbandingan 1: 1: 5 sebanyak ± 10 mL secara bertahap
3. Didestruksi (*digest*) pada suhu hot plate 250oC sampai jernih dan larutan tersisa ± 5 mL. Diangkat dan didinginkan
4. Didestruksi *(digest*) pereaksi campuran asam HNO3 65 %b/b (pa) : HClO4 72%b/b (pa) : H2SO4 98%b/b (Pa) 1 : 1: 5 sebanyak 10 mL ke dalam piala gelas 100 mL, destruksi dilakukan seperti perlakuan sampel (Blangko koreksi)
5. Dimasukkan larutan sampel dan blanko koreksi ke dalam labu ukur 50 mL, diencerkan dan diimpitkan dengan air suling sampai tanda tera, dan dihomogenkan (contoh)

b) Persiapan Deret Standar

1. Dibuat deret standar logam Cd ( 0 ; 0,2 ; 0,6 ; 1,0 ; 1,4 ; 1,8 ppm ) dan Pb ( 0 ; 1 ; 3 ; 6 ; 9; 12 ppm) mengacu pada Metode standar, tabel *AA Periodik Table of The Element,* atau Manual book alat dari standar induk Logam Cd/Pb 1000 ppm ke dalam labu ukur 50 mL
2. Ditambahkan 5 % HNO3 4 N dari volume labu ke dalam blangko dan deret standar
3. Blangko, deret standar dengan air suling , diimpitkan diencerkan sampai tanda tera, homogenkan

c) Persiapan Larutan Limit Deteksi

1. Dibuat larutan limit deteksi dengan melakukan pengenceran 10 x dari konsentrasi deret standar terendah (hanya 1 larutan)
2. Dibaca serapannya pada AAS min 7 kali pembacaan
3. Dihitung Standar Deviasi pembacaan serapan
4. Dihitung nilai limit deteksi metode dengan rumus MDL = 6 SD/Slope

**Perhitungan**

Keterangan:

* C adalah konsentrasi logam dari kurva kalibrasi, dinyatakan

dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);

* V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
* W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).

1. **Uji Timah (Sn)**

**Dasar:**

Contoh didestruksi dengan HNO3 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 N2O-C2H2.

**Cara Kerja:**

1. Ditimbang 10 g sampai dengan 20 g (W) dengan teliti ke dalam Erlenmeyer 250 mL, ditambahkan 30 mL HNO3 pekat dan dibiarkan 15 menit;
2. Dipanaskan perlahan selama 15 menit di dalam lemari asam, hindari terjadinya percikan yang berlebihan;
3. Dilanjutkan pemanasan sehingga sisa volume 3 mL sampai dengan 6 mL atau sampai contoh mulai kering pada bagian bawahnya, hindari terbentuknya arang;
4. Diangkat erlenmeyer dari pemanas listrik, ditambahkan 25 mL HCl pekat, dan dipanaskan selama 15 menit sampai letupan dari uap Cl2 berhenti;
5. Ditingkatkan pemanasan dan didihkan sehingga sisa volume 10 mL sampai dengan 15 mL;
6. Ditambahkan 40 mL air suling, diaduk, dan dituangkan ke dalam labu ukur 100 mL, dibilas erlenmeyer tersebut dengan 10 mL air suling (V);
7. Ditambahkan 1,0 mL KCl, didinginkan pada suhu ruang, ditepatkan dengan air suling sampai tanda garis dan saring;
8. Disiapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
9. Dibuat deret standar (0;5,0;10;15;20;25 ppm) dengan larutan baku kerja Sn 1000 ppm dan dipipet 10 mL HCl pekat dan 1,0 mL larutan KCl ke dalam masing-masing labu ukur dan diencerkan dengan air suling sampai tanda garis
10. Dibaca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimal 235,5 nm dengan nyala oksidasi N2O-C2H2;
11. Dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (μg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
12. Plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
13. DIlakukan pengerjaan duplo;
14. dihitung kandungan Sn dalam contoh;

**Perhitungan**

Keterangan:

* C adalah konsentrasi Sn dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);
* V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
* W adalah bobot contoh, dinyatakan dalan gram (g).

1. **Uji Merkuri (Hg)**

**Dasar:**

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.

**Cara Kerja:**

1. Ditimbang 5 g contoh (W) dengan teliti ke dalam labu destruksi dan ditambahkan 25 mL H2SO4 9 M, 20 mL HNO3 7 M, 1 mL larutan natrium molibdat 2 %, dan 5 butir sampai dengan 6 butir batu didih;
2. Dihubungkan labu destruksi dengan pendingin dan dipanaskan di atas pemanas listrik selama 1 jam. Pemanasan dihentikan dan dibiarkan selama 15 menit;
3. Ditambahkan 20 mL campuran HNO3 : HClO4 (1:1) melalui pendingin;
4. Aliran air dihentikan pada pendingin dan dipanaskan dengan panas tinggi hingga timbul uap putih. Dilanjutkan pemanasan selama 10 menit dan dinginkan;
5. Ditambahkan 10 mL air suling melalui pendingin dengan hati-hati sambil labu digoyang-goyangkan;
6. Dididihkan lagi selama 10 menit;
7. Pemanas listrik dimatikan dan pendingin dicuci dengan 15 mL air suling sebanyak 3 kali kemudian didinginkan sampai suhu ruang;
8. Dipindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 100 mL secara kuantitatif dan diencerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
9. Dipipet 25 mL larutan di atas ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis;
10. Disiapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
11. Dibuat deret standar (0;20,40;60;80;100 ppm) dengan larutan baku kerja Hg 1000 ppb dan diencerkan dengan air suling sampai tanda garis
12. Ditambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja Hg, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
13. Dibaca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;
14. Dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (μg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
15. Plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
16. Dilakukan pengerjaan duplo;
17. Dihitung kandungan Hg dalam contoh.

**Perhitungan**

Keterangan:

* C adalah konsentrasi Hg dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);
* V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
* W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
* fp adalah faktor pengenceran

1. **Uji Arsen (As)**

**Dasar:**

Contoh didestruksi dengan asam menjadi larutan arsen. Larutan As5+ direduksi dengan KI menjadi As3+ dan direaksikan dengan NaBH4 atau SnCl2 sehingga terbentuk AsH3 yang kemudian dibaca dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) pada panjang gelombang maksimal 193,7 nm.

**Cara Kerja:**

1. Ditimbang 5 g sampai dengan 10 g contoh (W) ke dalam labu Kjeldahl 250 mL, ditambahkan 5 mL sampai dengan 10 mL HNO3 pekat dan 4 mL sampai dengan 8 mL H2SO4 pekat dengan hati-hati;
2. Setelah reaksi selesai, dipanaskan dan ditambahkan HNO3 pekat sedikit demi sedikit sehingga contoh berwarna coklat atau kehitaman;
3. Ditambahkan 2 mL HClO4 70 % sedikit demi sedikit dan dipanaskan lagi sehingga larutan menjadi jernih atau berwarna kuning (jika terjadi pengarangan setelah penambahan HClO4, tambahkan lagi sedikit HNO3 pekat);
4. Didinginkan, ditambahkan 15 mL H2O dan 5 mL (NH4)2C2O4 jenuh;
5. Dipanaskan sehingga timbul uap SO3 di leher labu;
6. Didinginkan, dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 mL dan diencerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
7. Dipipet 25 mL larutan diatas dan ditambahkan 2 mL HCl 8 M, 0,1 mL KI 20 % kemudian dikocok dan dibiarkan minimal 2 menit;
8. Disiapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
9. Dibuat deret standar (0;20,40;60;80;100 ppm) dengan larutan baku kerja As 1000 ppb dan diencerkan dengan air suling sampai tanda garis
10. Ditambahkan larutan pereduksi (NaBH4) ke dalam larutan baku kerja As, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
11. Dibaca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 193,7 nm;
12. Dibuat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (μg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
13. Plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
14. Dilakukan pengerjaan duplo;
15. Dihitung kandungan As dalam contoh.

**Perhitungan**

Keterangan:

* C adalah konsentrasi As dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);
* V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
* W adalah bobot contoh, dinyatakan dalan gram (g)
* fp adalah faktor pengenceran

## Analisis Mikrobiologi

* 1. **Uji Angka Lempeng Total (ALT)**

**Dasar :**

Pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah contoh diinkubasikan dalam pembenihan yang sesuai selama 72 jam pada suhu (30±1) °C.

**Cara Kerja :**

1. Ditimbang 25 g contoh, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang telah berisi 225 mL larutan pengencer hingga diperoleh pengenceran 1:10. Campuran dikocok beberapa kali hingga homogen. Pengenceran dilakukan sampai tingkat pengenceran tertentu sesuai keperluan;
2. Dipipet masing-masing 1 mL dari pengenceran - ke dalam cawan Petri steril secara duplo;
3. Ke dalam setiap cawan Petri dituang sebanyak 12 mL sampai dengan 15 mL media PCA yang telah dicairkan yang bersuhu (45 ± 1) °C dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama;
4. Cawan Petri digoyangkan dengan hati-hati (diputar dan digoyangkan ke depan dan ke belakang serta ke kanan dan ke kiri) hingga contoh tercampur rata dengan pembenihan;
5. Dikerjakan pemeriksaan blanko dengan mencampur air pengencer dengan pembenihan untuk setiap contoh yang diperiksa;
6. Dibiarkan hingga campuran dalam cawan Petri membeku.
7. Cawan Petri dimasukkan dengan posisi terbalik ke dalam lemari pengeram dan diinkubasikan pada suhu 30 °C selama 72 jam;
8. Dicatat pertumbuhan koloni pada setiap cawan Petri yang mengandung (25 - 250) koloni setelah 72 jam;
9. Dihitung angka lempeng total dalam 1 g contoh dengan mengalikan jumlah rata-rata koloni pada cawan Petri dengan faktor pengenceran yang digunakan.

**Perhitungan :**

APM(koloni/gram) = n x F

Keterangan:

n = rata-rata dari dua cawan petri dari satu pengenceran,dinyatakan dalam koloni per gram (koloni/g);

F = faktor pengenceran dari rata-rata koloni yang dipakai.

* 1. **Uji Bakteri Patogen *Salmonella sp.***

**Dasar :**

Contoh yang diuji ditumbuhkan terlebih dahulu pada media pengkayaan dan kemudian ditumbuhkan pada media selektif. Selanjutnya contoh dideteksi dengan menumbuhkannya pada media agar selektif. Koloni-koloni yang diduga Salmonella sp. pada media selektif kemudian diisolasi dan dilanjutkan dengan ditegaskan melalui uji biokimia dan uji serologi untuk meyakinkan ada atau tidaknya bakteri *Salmonella sp.*

**Cara Kerja :**

1. Homogenisasi contoh dan pra-pengkayaan
2. Ditimbang 25 g contoh ke dalam blender yang steril dan ditambahkan 225 mL BPW steril. Kemudian dikocok selama 2 menit;
3. Diinkubasi pada suhu (37±1) °C selama (18±2) jam.

2. Pengkayaan

1. Dipipet 0,1 mL biakan pra-pengkayaan ke dalam 10 mL media RVS dan 1 ml biakan pra-pengkayaan lainnya ke dalam 10 mL MKTTn broth dan vorteks masing-masing campuran tersebut;
2. Media RVS diinkubasikan pada suhu (41,5±1) °C selama (24±3) jam dalam penangas air bersirkulasi dan MKTTn *broth* pada (37±1) °C selama (24±3) jam.

3. Penanaman pada pembenihan pilihan/selektif

1. Contoh yang telah diinkubasi dikocok dan dengan menggunakan jarum Ose diameter 3 mm, digoreskan biakan pengkayaan TT *broth* ke dalam cawan Petri yang berisi media agar XLD, HE, dan BS. Disiapkan agar BS sehari sebelum digunakan dan disimpan di tempat gelap pada suhu ruang sampai siap digores;
2. Cara di atas diulangi dari media pengkayaan RV;
3. Diinkubasi cawan-cawan media agar BS, HE, dan XLD selama (24±2) jam pada suhu 35°C;
4. Diamati kemungkinan adanya koloni *Salmonella* sp., setelah diinkubasi (24±2) jam. Diambil 2 atau lebih koloni *Salmonella* sp. dari masing-masing media agar selektif setelah diinkubasi (24±2) jam. Morfologi koloni memiliki ciri-ciri sebagai berikut:

XLD : koloni berwarna merah jambu (pink) dengan atau tanpa inti hitam. Kebanyakan *Salmonella* sp. membentuk koloni besar, inti hitam mengkilap atau mungkin nampak hampir semuanya hitam.

HE : koloni berwarna hijau kebiruan sampai biru dengan atau tanpa inti hitam. Kebanyakan *Salmonella* sp. membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat atau mungkin nampak hampir semuanya berwarna hitam.

BS : koloni berwarna coklat, abu-abu sampai hitam dan kadang-kadang kilap logam. Jika masa inkubasi bertambah maka warna media disekitar koloni mula-mula coklat kemudian menjadi hitam. Pada beberapa strain koloni berwarna hijau dengan atau tanpa warna gelap disekitar media.

1. Jika tidak ada koloni yang diduga *Salmonella* sp. pada media agar BS setelah diinkubasi (24±2) jam, jangan mengambil koloni yang diduga *Salmonella* sp. pada media agar BS setelah inkubasi (48±2) jam, ambil 2 atau lebih koloni tersebut.

4. Uji penegasan

5. Seleksi koloni untuk uji penegasan

1. Diambil sedikitnya 1 koloni tipikal pada masing-masing cawan yang berisi media XLD, HE, dan BS, lalu diambil sedikitnya 4 koloni pertama yang tidak tipikal;
2. Masing-masing koloni tersebut digoreskan pada cawan yang berisi NA yang akan ditumbuhi oleh koloni yang terisolasi dengan baik, kemudian diinkubasi pada suhu (37±1) °C selama (24±3) jam;
3. Untuk uji penegasan biokimia dan serologi digunakan kultur murni.

6. Uji penegasan biokimia

1. Dengan menggunakan jarum Ose berujung runcing steril, ambil secara hati-hati bagian tengah koloni dan diinokulasikan ke dalam media TSI agar miring dengan cara menggores agar miring dan menusuk agar tegak;
2. Agar miring TSI diinkubasikan pada suhu (37±1) °C selama (24±3) jam. Pada TSI, perubahan yang terjadi pada medium adalah sebagai berikut:

- bagian tegak :

|  |  |
| --- | --- |
| Kuning | Glukosa Positif |
| Merah atau tak berubah warna | Glukosa Negatif |
| Hitam | pembentukan *H2S* |
| Gelembung atau retak | pembentukan gas dari glukosa |

-permukaan agar miring:

|  |  |
| --- | --- |
| Kuning | Laktosa dan/atau sukrosa positif |
| Merah atau tak berubah warna | Laktosa dan sukrosa negatif |

90% kasus tipikal *Salmonella* positif membentuk gelembung gas dan (warna hitam);

1. Dengan menggunakan jarum Ose berujung runcing steril, diambil secara hati-hati bagian tengah koloni pada C.1.4.4.1.c dan diinokulasikan ke dalam media Urea agar dengan cara menggores agar miring;
2. Diinkubasikan agar miring urea pada suhu (37 ± 1) °C selama (24 ± 3) jam, dan amati setiap interval waktu tertentu. Pada Urea agar, reaksi positif ditunjukkan dengan reaksi pemecahan urea yang menghasilkan amonia akan menunjukkan perubahan warna phenol red menjadi merah mawar hingga merah muda dan kemudian akan Kuning Glukosa positif Merah atau tak berubah warna Glukosa negative Hitam Pembentukan *S* Gelembung atau retak Pembentukan gas dari glukosa Kuning laktosa dan/atau sukrosa positif merah atau tak berubah warna laktosa dan sukrosa negatif 11 semakin pekat . Reaksi akan muncul setelah 2 jam sampai dengan 4 jam;
3. Dengan menggunakan jarum Ose steril, diinokulasikan koloni pada B.3.4.4.1 ke dalam media LDB, kemudian diinkubasi pada (37 ± 1) °C selama (24 ± 3) jam, reaksi positif Salmonella sp. pada LDB ditandai dengan terbentuknya kekeruhan dan warna ungu setelah inkubasi. Warna kuning menunjukkan reaksi negatif;
4. Dengan menggunakan jarum Ose steril, diinokulasikan koloni pada C.3.4.4.1 ke dalam tabung yang berisi 0,25 mL larutan physiological saline steril;
5. Ditambahkan 1 tetes toluene dan tabung dikocok. Tabung ditempatkan pada penangas air bersuhu 37 °C dan didiamkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan sebanyak 1 lembar kertas cakram β-galaktosidase dan kocok;
6. Diinkubasikan tabung pada penangas air 37 °C dan didiamkan selama (24 ± 3) jam, amati tabung pada interval waktu tertentu. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning. Reaksi muncul setelah 20 menit;
7. Dengan menggunakan jarum Ose steril, diinokulasikan koloni pada B.3.4.4.1 ke dalam tabung steril yang berisi 3 mL media VP, kemudian diinkubasi pada suhu (37 ± 1) °C selama (24 ± 3) jam;
8. Setelah diinkubasi, ditambahkan dua tetes larutan creatine, tiga tetes larutan 1-naphthol yang dilarutkan dengan etanol, dan dua tetes larutan KOH 40%, kemudian dikocok setelah penambahan tiap pereaksi tersebut. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah terang setelah 15 menit;
9. Dengan menggunakan jarum Ose steril, diinokulasikan koloni pada C.1.4.4.1 ke dalam tabung steril yang berisi media TB, kemudian diinkubasikan pada suhu (37 ± 1) °C selama (24 ± 3) jam; dan
10. Setelah diinkubasi, ditambahkan 1 mL pereaksi Kovacs. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin yang berwarna merah, sedangkan pembentukan cincin berwarna kuning menunjukkan reaksi negatif.

7. Interpretasi hasil uji biokimia

Interpretasi hasil uji biokimia dapat dilihat pada tabel dibawah:

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Uji  Biokimia | Galur *Salmonella* | | | | | | | | | |
| *S.thypi* | | *S.parathypi*  A | | *S.parathypi*  B | | *S.parathypi*  C | | Galur  Lain | |
| Reaksi | % a | Reaksi | % a | Reaksi | % a | Reaksi | % a | Reaksi | % a |
| TSI asam dari glukosa | + | 100 | + | 100 | + |  | + |  | + | 100 |
| TSI gas dari glukosa | - | 0 | + | 100 | + |  | + |  | + | 92 |
| TSI asam dari laktosa | - | 2 | - | 100 | - |  | - |  | - | 1 |
| TSI asam dari sukrosa | - | 0 | - | 0 | - |  | - |  | - | 1 |
| TSI produksi *S* | + | 97 | - | 10 | + |  | + |  | + | 92 |
| Hidrolisis urea | - | 0 | - | 0 | - |  | - |  | - | 1 |
| Lysine decarboxylation | + | 98 | - | 0 | + |  | + |  | + | 95 |
| Reaksi β-  galactosidase | - | 0 | - | 0 | - |  | - |  | - | 2d |
| Reaksi Voges-  Proskauer | - | 0 | - | 0 | - |  | - |  | - | 0 |
| Produksi indol | - | 0 | - | 0 | - |  | - |  | - | 1 |
| **CATATAN:**  a Persentase mengindikasikan bahwa tidak semua serotipe Salmonella menunjukkan reaksi yang ditunjukkan dengan + atau -. Persentase dapat bervariasi antar serotipe dan dalam serotipe dari food poisoning serotype dari lokasi yang berbeda  b Persentase tidak diketahui dari literatur  c *Salmonella typh*i bersifat anaerogenikan  d Salmonella enterica spp. arizonae memberikan reaksi laktosa positif atau negatif namun selalu menunjukkan reaksi positif pada β-galactosidase. | | | | | | | | | | |

8. Uji penegasan serologi dan *serotyping*

Deteksi keberadaan antigen O-, Vi-, dan H- Salmonella diuji dengan aglutinasi (penggumpalan) dengan sera yang sesuai, dari kultur murni yang diperoleh pada 5.c dan setelah galur auto-aglutinasi dihilangkan.

9. Penghilangan galur auto-aglutinasi

1. Ditempatkan 1 tetes larutan *physiological saline* 0,85% pada gelas objek yang bersih;
2. Disuspensikan sebanyak 1 Ose penuh biakan dari penghilangan galur auto-aglutinasi sampai terbentuk suspensi yang homogen dan keruh;
3. Gelas objek digoyangkan selama 30 sampai dengan 60 detik dan amati gelas objek, bila bakteri mengelompok menjadi unit-unit terpisah maka galur tersebut termasuk auto-aglutinasi, dan tidak dilanjutkan untuk pengujian tahap selanjutnya.

10. Uji antigen O-

1. Dengan menggunakan pensil, dibuat garis empat persegi-panjang berukuran 1 cm x 2 cm di atas kaca atau cawan Petri plastik berukuran 15 mm x 100 mm atau di atas gelas sediaan;
2. Digunakan koloni yang tidak termasuk galur auto-aglutinasi, lalu ditempatkan 1 tetes larutan physiological saline 0,85%;
3. Ditambahkan 1 tetes larutan saline pada bagian pertama dan ditambahkan 1 tetes antiserum O- ke dalam bagian yang lain;
4. Dicampurkan atau dihomogenkan bagian atas menggunakan jarum Ose yang bersih dan steril selama 1 menit; dan
5. Klasifikasi uji antiserum O- menunjukkan hasil sebagai berikut:

Positif : terjadi penggumpalan di dalam pencampuran uji, pada kontrol saline tidak terjadi penggumpalan;

negatif : tidak terjadi penggumpalan di dalam pencampuran uji, dan kontrol saline; dan

non spesifik : terjadi penggumpalan di dalam pencampuran uji dan pada kontrol saline.

11. Uji antiserum Vi-

1. Dengan menggunakan pensil, dibuat garis empat persegi-panjang berukuran 1 cm x 2 cm di atas kaca atau cawan Petri plastik berukuran 15 mm x 100 mm atau di atas gelas sediaan;
2. Digunakan koloni yang tidak termasuk galur auto-aglutinasi, lalu ditempatkan 1 tetes larutan physiological saline 0,85%;
3. Ditambahkan 1 tetes suspensi biakan di atas masing-masing bagian empat-persegi panjang yang telah diberi tanda dengan pensil;
4. Ditambahkan 1 tetes larutan saline pada bagian pertama dan ditambahkan 1 tetes antiserum Vi- ke dalam bagian yang lain;
5. Dicampurkan atau dihomogenkan bagian atas menggunakan jarum Ose yang bersih dan steril selama 1 menit; dan
6. klasifikasi uji antiserum Vi- menunjukkan hasil sebagai berikut:

Positif : terjadi penggumpalan di dalam pencampuran uji, pada kontrol saline tidak terjadi penggumpalan;

negatif : tidak terjadi penggumpalan di dalam pencampuran uji, dan kontrol saline; dan

non spesifik : terjadi penggumpalan di dalam pencampuran uji dan pada kontrol saline.

12. Uji antigen H-

1. Media NA diinokulasikan semi solid dengan koloni murni yang bukan merupakan galur auto-aglutinasi;
2. Diinkubasikan media pada suhu (37 ± 1) °C selama (24 ± 3) jam;
3. Dengan menggunakan pensil, dibuat garis empat persegi-panjang berukuran 1 cm x 2 cm di atas kaca atau cawan Petri plastik berukuran 15 mm x 100 mm atau di atas gelas sediaan;
4. Diemulsikan biakan pada NA semi solid setelah inkubasi dengan 2 mL 0,85% saline menggunakan jarum Ose;
5. Ditambahkan 1 tetes suspensi biakan tersebut di atas masing-masing bagian empat-persegi panjang yang telah diberi tanda dengan pensil;
6. Ditambahkan 1 tetes larutan saline pada bagian pertama dan ditambahkan 1 tetes antiserum H- ke dalam bagian yang lain;
7. Dicampurkan atau dihomogenkan bagian atas menggunakan jarum Ose yang bersih dan steril selama 1 menit; dan
8. klasifikasi uji antiserum H- menunjukkan hasil sebagai berikut:

Positif : terjadi penggumpalan di dalam pencampuran uji, pada kontrol saline tidak terjadi penggumpalan;

negatif : tidak terjadi penggumpalan di dalam pencampuran uji, dan kontrol saline; dan

non spesifik : terjadi penggumpalan di dalam pencampuran uji dan pada kontrol salin.

13. Interpretasi hasil uji penegasan

Interpretasi hasil uji serologi yang merupakan uji penegasan dapat dilihat pada tabel dibawah:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Reaksi biokimia | Auto-aglutinasi | Reaksi serologi | Interpretasi |
| Tipikal | Tidak | Antigen O-, Vi-, atau H-  positif | Galur  dipertimbangkan  sebagai *Salmonella* |
| Tipikal | Tidak | Semua reaksi negatif | Kemungkinan adalah *Salmonella* |
| Tipikal | Ya | Tidak diuji |
| Tidak Tipikal | Tidak/Ya | Antigen O-, Vi-, atau H-  positif |
| Tidak Tipikal | Tidak/Ya | Semua reaksi negatif | Bukan *Salmonella* |

* 1. **Uji Bakteri Patogen *E. coli***

**Dasar:**

1. Tiga tabung media pengayaan selektif cair dengan konsentrasi ganda diinokulasi dengan sejumlah tertentu suspensi awal;
2. Tiga tabung media pengayaan selektif cair dengan konsentrasi tunggal diinokulasi dengan sejumlah tertentu suspensi awal . Selanjutnya pada kondisi yang sama, tiga tabung lain yang berisi media dengan konsentrasi tunggal diinokulasi dengan sejumlah tertentu pengenceran desimal dari suspensi awal .
3. Semua tabung berisi media konsentrasi ganda dan tunggal diinkubasikan pada suhu 37 °C dengan waktu sampai dengan 48 jam. Pembentukan gas dalam tabung diperiksa setelah 24 jam dan 48 jam.
4. Setiap tabung media konsentrasi ganda yang memperlihatkan peningkatan kekeruhan, berkabut atau peningkatan pengeluaran gas, serta setiap tabung media konsentrasi tunggal yang memberikan peningkatan pengeluaran gas, disub-biakkan pada tabung berisi media selektif cair (EC broth).
5. Semua tabung yang diperoleh pada 4.2.4 diinkubasikan pada suhu 44 °C sampai dengan 48 jam. Produksi gas dalam semua tabung diperiksa setelah 24 jam dan 48 jam.
6. Setiap tabung media yang diperoleh pada 4.2.5 yang memberikan peningkatan pengeluaran gas disub-biakkan pada tabung yang berisi peptone water bebas indol.
7. Semua tabung yang diperoleh pada 4.2.6 diinkubasikan pada suhu 44 °C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan terhadap produksi indol dalam tabung, sebagai hasil degradasi tryptophan yang terkandung dalam pepton
8. Nilai Angka Paling Mungkin Escherichia coli terduga ditentukan dengan tabel APM (lihat Lampiran A), menurut jumlah semua tabung media konsentrasi ganda dan tunggal dari sub-biakan yang menghasilkan gas dalam EC broth dan indol dalam peptone water pada suhu 44 °C.

**Cara Kerja:**

1. Porsi uji, suspensi awal, dan pengenceran

Disiapkan sejumlah pengenceran secukupnya untuk memastikan bahwa semua tabung pengenceran terakhir akan menghasilkan nilai negatif.

1. Inokulasi dan inkubasi media pengayaan selektif (*Lauryl Sulfate Broth*)
2. Tiga seri tabung disiapkan untuk setiap pengenceran. Untuk kekerangan hidup atau produk tertentu lainnya, dan/atau ketika ketelitian hasil yang lebih tinggi diperlukan, perlu digunakan lima seri tabung
3. Diambil tiga tabung media pengayaan selektif dengan konsentrasi ganda. Dipipet 10 mL suspensi awal ke dalam setiap tabung menggunakan pipet steril. Porsi uji ini setara dengan 1 g contoh per tabung.
4. Lalu ambil tiga tabung media pengayaan selektif dengan konsentrasi tunggal. Dipipet 1 mL suspensi awal ke dalam setiap tabung menggunakan pipet steril. Porsi uji ini setara dengan 0,1 g contoh per tabung.
5. Untuk setiap pengenceran lebih lanjut (setara dengan 0,01 g, 0,001 g, dan seterusnya contoh per tabung), dikerjakan seperti dalam 2.c. Gunakan pipet steril yang baru untuk setiap pengenceran. Hati-hati dalam mencampur inokulum dan media.
6. Diinkubasikan semua tabung media pengayaan selektif konsentrasi ganda yang diinokulasi sesuai 2.b dan tabung media pengayaan selektif konsentrasi tunggal yang diinokulasi sesuai 2.c dan 2.d dalam inkubator yang diatur pada suhu 37 °C selama 24 jam ± 2 jam. Jika pada tahap ini, tidak ada pembentukan gas dan kekeruhan, diinkubasi kembali sampai dengan 48 jam ± 2 jam. baru untuk setiap pengenceran. Hati-hati dalam mencampur inokulum dan media.

Untuk beberapa produk susu (misalnya kasein), tabung Durham dapat tetap terletak di bagian bawah tabung media pengayaan selektif. Jika setelah 48 jam periode inkubasi, kekeruhan teramati tetapi tidak ada pembentukan gas, Inokulasikan EC broth dengan lauryl sulfate broth ini dan dilanjutkan dengan metode seperti diuraikan sesuai cara kerja no.3.

3. Pembuatan sub-biakan dan inkubasi media selektif (*EC Broth*)

1. Untuk setiap tabung media konsentrasi ganda yang diinkubasikan sesuai 2.e dan menunjukkan kekeruhan, berkabut atau penampakan gas, serta untuk setiap tabung media konsentrasi tunggal diinkubasi sesuai 2.e yang menunjukkan penampakan gas, dibuatkan sub-biakan ke dalam tabung berisi EC broth menggunakan jarum-Ose.
2. Diinkubasikan tabung-tabung yang diinokulasi seperti pada 3.a dalam penangas air atau inkubator yang diatur pada suhu 44 °C selama 24 jam ± 2 jam. Jika pada tahap ini tidak ada penampakan gas dalam EC broth, total waktu inkubasi diperpanjang sampai dengan 48 jam ± 2 jam.

4. Inokulasi dan inkubasi *peptone water*

Untuk setiap tabung yang diinkubasi sesuai 3.b dan menunjukkan penampakan gas, diinokulasi menggunakan jarum-Ose pada tabung peptone water yang telah dipanaskan sampai suhu 44 °C. Inkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 44 °C.

5. Pengujian untuk produksi indol

1. Ditambahkan 0,5 mL pereaksi indol ke tabung peptone water yang telah diinkubasi;
2. Lalu dikocok merata dan periksa setelah 1 menit. Warna merah dalam fase alkohol mengindikasikan adanya indol.
3. **Uji Perhitungan Jumlah Kapang Khamir**

**Dasar:**

Perhitungan jumlah kapang khamir cara tuang ini dilakukan dengan pengenceran contoh sampai dengan 3 dan blanko kemudian dari masing-masing pengenceran dipipet sebanyak 1 ml lalu diinkubasi pada suhu 28 °C selama 3-5 hari. Hitung jumlah koloni dengan colony counter.

**Cara Kerja:**

1. Dipipet 9 ml BPW ke masing-masing tabung : blanko, ,,;
2. Disiapkan botol contoh yang sudah disanitasi dengan menggunakan alkohol 70%;
3. Dipipet 1 ml BPW dari tabung blanko ke dalam petri;
4. Dipipet 1ml contoh kedalam tabung pengenceran , lalu dihomogenkan: 3x pembilasan pipet serologi, kemudian dimasukkan ke dalam petri steril 10-1 simplo dan duplo;
5. Dipipet 1ml contoh dari tabung pengenceran ke dalam tabung pengenceran , lalu dihomogenkan, kemudian dimasukkan ke dalam petri steril simplo dan duplo;
6. Dipipet 1ml contoh dari tabung pengenceran ke dalam tabung pengenceran , lalu dihomogenkan, kemudian dimasukkan ke dalam petri steril simplo dan duplo;
7. Dipipet 1 ml larutan contoh ke dalam petri steril;
8. Dituangkan media PDA bersuhu 40-45 °C sebanyak sepertiga dari cawan petri, homogenkan dan tunggu beku;
9. Diinkubasi pada suhu 28 °C selama 3-5 hari;
10. Dihitung dengan *colony counter*; dan
11. Dihitung jumlah koloni kapang khamir pada tabel data pengamatan.

**Perhitungan:**

PJKK(koloni/gram) = n x F

Keterangan:

n = rata-rata dari dua cawan petri dari satu pengenceran,dinyatakan dalam koloni per gram (koloni/g); dan

F = faktor pengenceran dari rata-rata koloni yang dipakai

# BAB IV

# PELAKSANAAN

## Pelaksana

Praktik Kimia Terpadu (PKT) dengan judul Pembuatan dan Analisis dilakukan oleh kelompok PKT-31 yang terdiri atas:

Ketua : Bintang Fajar Mauludin

Anggota : 1. Iqmal Riyadi

2. Shofwatul Auliya

## Tempat Pelaksanaan

Pelaksanaan Praktik. Kimia Terpadu (PKT) ini dilaksanakan di Sekolah Menengah Kejuruan - SMAK Bogor, Jalan Bina Marga I, Ciheuleut, Bogor Timur, Bogor 16143, dengan menggunakan beberapa laboratorium sebagai berikut:

1. Laboratorium Praktik Kimia Terpadu 1 dan 2
2. Laboratorium Analisis Instrumen 2
3. Laboratorium Mikrobiologi

## Tabulasi Waktu Pelaksanaan PKT

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **No.** | **Kegiatan** | **Bulan di Tahun 2020** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| **Juli** | | | | **Agustus** | | | | **September** | | | | **Oktober** | | | | **November** | | | | **Desember** |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |  |
| 1. | Penentuan kelompok, rubrik, dan pembimbing |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 2. | Diskusi Penentuan judul pengujian dan metode standar |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3. | Penyusunan proposal PKT-2 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 4. | Pengumpulan proposal PKT-2 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 5. | Pelaksanaan analisis PKT-2 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 6. | Penyusunan makalah analisis dan *powerpoint* untuk kegiatan seminar \* |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 7. | Pengumpulan makalah analisis dan *powerpoint* ke panitia penyelenggara \* |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 8. | Persiapan seminar PKT \* |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 8. | Seminar PKT\* |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 9. | Pengumpulan laporan PKT \* |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  | **Catatan:** \*Dalam perkiraan | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

# 

# BAB V

# ALAT DAN BAHAN ANALISIS

## Alat

Peralatan yang dibutuhkan untuk analisis parameter uji cokelat antara lain:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Parameter | Alat | Ukuran | Jumlah |
| 1 | Bau | Wadah coklat  Sendok  Tisu | -  -  - | 5  5  5 |
| 2 | Rasa | Wadah coklat  Sendok  Tisu | -  -  - | 5  5  5 |
| 3 | Warna | Wadah coklat  Sendok  Tisu | -  -  - | 5  5  5 |
| 4 | Total Lemak | Neraca analitik  Kaca arloji  Labu semprot kaca  Labu semprot plastik  Gelas ukur  Batu didih  Piala Gelas  Pipet tetes  Pengaduk  Corong  Labu didih  Soxhlet  Kondensor  Penangas listrik  Oven  Desikator | -  -  250 ml  500 ml  50 ml  100 ml  -  400 ml  800 ml  -  -  -  250 ml  -  -  -  -  - | 1  1  1  1  1  1  -  2  1  1  1  1  1  1  1  1  1  1 |
| 5 | Logam Pb dan Cd | Neraca analitik  Piala gelas  Gelas ukur  Labu semprot plastik  Penangas listrik  Pengaduk  Labu ukur  Pipet takar  Pipet tetes  AAS | -  100 ml  400 ml  800 ml  25 ml  500 ml  -  -  50 ml  10 ml  -  - | 1  4  3  1  1  1  1  1  11  1  1  1 |
| 6 | Logam Sn | Neraca analitik  Erlenmeyer  Gelas ukur  Penangas listrik  Batu didih  Piala gelas  Labu semprot plastik  Labu ukur  Pipet tetes  Pipet takar  AAS | -  250 ml  50 ml  -  -  100 ml  400 ml  800 ml  500 ml  100 ml  -  10 ml  - | 1  1  1  1  -  4  1  1  1  11  1  1  1 |
| 7 | Logam Hg | Neraca analitik  Labu destruksi  Gelas ukur  Penangas listrik  Batu didih  Kondensor  Piala gelas  Labu semprot plastik  Labu ukur  Pipet tetes  Pipet takar  Pipet volumetrik  AAS | -  250 ml  25 ml  50 ml  -  -  -  100 ml  400 ml  800 ml  500 ml  100 ml  -  10 ml  25 ml  - | 1  1  1  1  1  -  1  4  1  1  1  11  2  1  1  1 |
| 8 | Logam As | Neraca analitik  Labu kjeldahl  Gelas ukur  Penangas listrik  Piala gelas  Labu semprot plastik  Labu ukur  Pipet tetes  Pipet takar  AAS sistem hidrida | -  250 ml  10 ml  25 ml  -  100 ml  400 ml  800 ml  500 ml  50 ml  -  10 ml  - | 1  1  1  1  1  4  1  1  1  11  1  1  1 |
| 9 | Angka Lempeng Total | Neraca analitik  Erlenmeyer  Pipet serologi  Cawan petri  Penangas air  Inkubator  Oven sterilisasi  *Colony counter* | -  400 ml  1 ml  -  -  -  -  - | 1  4  1  12  1  1  1  1 |
| 10 | *Salmonella* sp. | Neraca analitik  Blender steril  Erlenmeyer  Pipet serologi  Pipet tetes  Tabung reaksi  Ose  Cawan petri  Penangas air  Pensil  Inkubator  Oven sterilisasi | -  -  400 ml  1 ml  0,1 ml  -  -  -  -  -  -  -  - | 1  1  4  1  1  3  2  1  10  1  1  1  1 |
| 11 | *Escherichia coli* | Neraca analitik  Tabung ulir berdurham  Erlenmeyer  Pipet serologi  Ose  Tabung reaksi  Penangas air  Inkubator  Oven sterilisasi | -  -  400 ml  1 ml  10 ml  -  -  -  -  - | 1  10  4  1  2  1  2  1  1  1 |
| 12 | Kapang dan Khamir | Neraca analitik  Erlenmeyer  Pipet serologi  Cawan petri  Penangas air  Inkubator  Oven sterilisasi  *Colony counter* | -  400 ml  1 ml  -  -  -  -  - | 1  4  1  12  1  1  1  1 |

## Bahan

Bahan yang dibutuhkan untuk analisis parameter uji cokelat antara lain:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No | Parameter | Bahan | Jumlah |
| 1 | Bau | Sampel | 80 g |
| 2 | Rasa | Sampel | 80 g |
| 3 | Warna | Sampel | 80 g |
| 4 | Total Lemak | Sampel  Air suling  HCl 25%  Kertas Saring bebas lemak  AgNO3 0,1 N  Hexane | 10 g  300 ml  60 ml  1 lbr  0,5 ml  160 ml |
|
|
|
|
|
| 5 | Logam Pb dan Cd | Sampel  Campuran asam  Air suling  Standar induk Pb 1000 ppm  Standar Induk Cd 1000 ppm  HNO3 4N | 1 g  50 ml  1500 ml  5 ml  5 ml  40 ml |
|
|
|
|
|
| 6 | Logam Sn | Sampel  HNO3(p)  HCl(p)  Air suling  KCl 10 mg/ml  Kertas saring  Standar induk Sn 1000 ppm | 20 g  30 ml  85 ml  600 ml  10 ml  1 lbr  10 ml |
| 7 | Logam Hg | Sampel  H2SO4 9M  HNO3 7M  Lar. Natrium molibdat 2%  Camp. HNO3:HClO4(1:1)  Air suling  Larutan NaBH4 4%  Standar induk Hg 1000 ppb | 5 g  30 ml  20 ml  1 ml  20 ml  450 ml  100 ml  30 ml |
| 8 | Logam As | Sampel  HNO3(p)  H2SO4(p)  HClO4 70%  Air suling  Lar. ammonium oksalat jenuh  HCl 8M  KI 20%  Larutan NaBH4 4%  Standar induk As 1000 ppb | 10 g  20 ml  10 ml  2 ml  150 ml  5 ml  6 ml  0,5 ml  100 ml  30 ml |
| 9 | Angka Lempeng Total | Sampel  Buffered Peptone Water  Media PCA | 25 g  250 ml  170 ml |
| 10 | *Salmonella* sp. | Sampel  Buffered Peptone Water  Media RVS  MKTTn Broth  Biakan pra-pengkayaan  Media XLD  Media HE  Media BS  Media NA  Media TSI  Media Urea agar  Media LDB  Lar. Physiological saline steril 0,85%  toluene  Kertas cakram B-galaktoside  Media VP  Larutan Creatine  Lar. 1-naphthol dalam ethanol  KOH 40%  Media TB  Pereaksi kovacs  Larutan saline  Larutan antiserum O-  Larutan antiserum H-  Larutan antiserum Vi- | 25 g  230 ml  10 ml  10 ml  1,5 ml  2,5 ml  0,1 ml  1 lbr  3 ml  0,1 ml  0,2 ml  0,1 ml  0,2 ml  0,1 ml  0,1 ml  0,1 ml |
| 11 | *Escherichia coli* | Lauryl Sulfate Broth  EC Broth  Buffered Peptone Water  Pereaksi Indole |  |
| 12 | Kapang dan Khamir | Buffered Peptone Water  Alkohol 70%  Media PDA | 40 ml  120 ml |

# DAFTAR PUSTAKA

Badan Standardisasi Nasional.2014.*SNI No. 7934-2014 Tentang Coklat dan*

*Produk-Produk Coklat*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.

Badan Standardisasi Nasional.2012.*SNI ISO No. 7251-2012 Tentang*

*Mikrobiologi Bahan Pangan dan Pakan - Metode Horizontal untuk*

*Deteksi dan Enumerasi Escherichia coli - APM*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.

Badan Standardisasi Nasional.1992.*SNI No. 01-2897-1992 Tentang Metode*

*Pengujian Cemaran Mikroba*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.

Zonareferensi.com.(2020, 23 Februari).*Pengertian Analisis Menurut Para*

*Ahli*.Diakses pada 2 Agustus 2020. dari [https://www.zonareferensi.com](https://www.zonareferensi.com/pengertian-analisis-menurut-para-ahli-dan-secara-umum/)

[/pengertian-analisis-menurut-para-ahli-dan-secara-umum/](https://www.zonareferensi.com/pengertian-analisis-menurut-para-ahli-dan-secara-umum/)

Wikipedia.com.(2020, 7 April).*Coklat*.Diakses pada 2 Agustus 2020. dari

<https://id.wikipedia.org/wiki/Cokelat>

Prasko17.blogspot.com.(2012, 14 Agustus).*Pengertian Mutu Menurut Para Ahli dan*

*Pakar*.Diakses pada 2 Agustus 2020. dari [http://prasko17.blogspot.com/](http://prasko17.blogspot.com/2012/08/pengertian-mutu-menurut-para-ahli-dan.html)

[2012/08/pengertian-mutu-menurut-para-ahli-dan.html](http://prasko17.blogspot.com/2012/08/pengertian-mutu-menurut-para-ahli-dan.html)

Rotinyaindonesia.com.(2017, 15 Agustus).*5 Manfaat Coklat yang Baik bagi*

*Kesehatan Anak-Anak.*Diakses pada 2 Agustus 2020. dari [https://www.](https://www.rotinyaindonesia.com/artikel/5-manfaat-cokelat-yang-baik-bagi-kesehatan-anak-anak)

[rotinyaindonesia.com/artikel/5-manfaat-cokelat-yang-baik-bagi-kesehatan-an](https://www.rotinyaindonesia.com/artikel/5-manfaat-cokelat-yang-baik-bagi-kesehatan-anak-anak)

[ak-anak](https://www.rotinyaindonesia.com/artikel/5-manfaat-cokelat-yang-baik-bagi-kesehatan-anak-anak)

Kumparan.com.(2018, 8 Agustus).*Infografik:Sejarah Panjang Popularitas Coklat di*

*Indonesia.*Diakses pada 2 Agustus 2020. dari [https://kumparan.com/kumpa](https://kumparan.com/kumparanfood/infografik-sejarah-panjang-popularitas-cokelat-di-indonesia-1533719612512953016)

[ranfood/infografik-sejarah-panjang-popularitas-cokelat-di-indonesia-1533719](https://kumparan.com/kumparanfood/infografik-sejarah-panjang-popularitas-cokelat-di-indonesia-1533719612512953016)

[612512953016](https://kumparan.com/kumparanfood/infografik-sejarah-panjang-popularitas-cokelat-di-indonesia-1533719612512953016)

Rahmawati, Fauziah.2016.*FORTIFIKASI TEPUNG DAUN KELOR (Moringa oleifera)*

*DENGAN SUSU BUBUK DAN KONSENTRASI KAYU MANIS (Cinnamomum*

*burmani) TERHADAP KARAKTERISTIK DARK CHOCOLATE .*Bandung

;Universitas Pasundan Repository