

## Lampiran 1. Hasil Uji Normalitas, Anova , dan Post Hoc Minuman sari kacang merah

Suhu refrigerator (*chitosan*)

## Test of Homogeneity of Variances

## TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.528	2	8	.021

## ANOVA

## TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61.752	2	30.876	5495.302	.000
Within Groups	.045	8	.006		
Total	61.797	10			

## TPC

## Duncan

hari ke	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
hari ke 0	3	.0000		
hari ke 1	3		4.4350	
hari ke 2	5		4.5536	4.5536
hari ke 3	6			4.6754
Sig.		1.000	.115	.106

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.871.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

## Suhu Ruang

## Test of Homogeneity of Variances

## TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.950	13	48	.003

## ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	209.086	13	16.084	1995.247	.000
Within Groups	.387	48	.008		
Total	209.473	61			

## TPC

Duncan

jam ke	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
jam ke 0	3	.0000				
jam ke 1	3	.0000				
jam ke 2	3	.0000				
jam ke 3	3	.0000				
jam ke 5	3		4.4457			
jam ke 4	4		4.4580	4.4580		
jam ke 8	5		4.5602	4.5602	4.5602	
jam ke 9	4			4.5913	4.5913	
jam ke 6	5			4.5950	4.5950	
jam ke 7	6				4.6084	
jam ke 10	6				4.6977	4.6977
jam ke 13	6					4.7473
jam ke 12	5					4.7646
jam ke 11	6					4.7726
Sig.		1.000	.091	.050	.055	.285

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.078.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

## Test of Homogeneity of Variances (kontrol refrigerator)

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.528	2	8	.021

## ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61.752	2	30.876	5495.302	.000
Within Groups	.045	8	.006		
Total	61.797	10			

## TPC

## Duncan

hari ke	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
hari ke 0	3	.0000	
2.00	3	.0000	
hari ke 1	5		4.7584
Sig.		1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.462.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(suhu kontrol refrigerator)

## Test of Homogeneity of Variances

## TPC 0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.	4	.	.

## ANOVA

## TPC 0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48.104	4	12.026		
Within Groups	.000	10	.000		
Total	48.104	14			

(kontrol suhu ruang)

## Test of Homogeneity of Variances

## TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.857	7	26	.000

## TPC

## Duncan

jam ke	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
jam ke 0	3	.0000			
jam ke 1	3		4.4470		
jam ke 3	5		4.4672		
jam ke 2	4		4.4810		
jam ke 4	3		4.4847		
jam ke 5	6			4.5943	
jam ke 6	5				4.7026
jam ke 7	5				4.7242
Sig.		1.000	.445	1.000	.629

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.967.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

### ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	57.556	7	8.222	2118.931	.000
Within Groups	.101	26	.004		
Total	57.657	33			

(propionat suhu refrigerator)

### Test of Homogeneity of Variances

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.355	4	17	.034

### ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56.254	4	14.064	1036.867	.000
Within Groups	.231	17	.014		
Total	56.485	21			

### TPC

Duncan

hari ke	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
hari ke 0	3	.0000	
hari ke 1	5		4.5493
hari ke 2	3		4.6337
hari ke 4	6		4.7063
hari ke 3	5		4.7152
Sig.		1.000	.078

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.054.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(propionat suhu ruang)

### Test of Homogeneity of Variances

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.436	5	14	.087

## ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.065	5	10.813	1659.270	.000
Within Groups	.091	14	.007		
Total	54.156	19			

TPC

Duncan

jam ke	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
jam ke 0	3	.0000		
jam ke 15	3		4.3979	
jam ke 6	3			4.6013
jam ke 3	3			4.6233
jam ke 12	4			4.6495
jam ke 9	4			4.6746
Sig.		1.000	1.000	.302

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.273.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(Sorbit-propionat refrigerator)

## Test of Homogeneity of Variances

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.137	3	13	.062

TPC

Duncan

hari ke	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
hari ke 1	3	4.4186		
hari ke 0	3	4.4770	4.4770	
hari ke 2	5		4.5946	4.5946
hari ke 3	6			4.6813
Sig.		.439	.132	.257

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.871.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

## ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.172	3	.057	5.521	.011
Within Groups	.135	13	.010		
Total	.307	16			

(Sorbat-suhu refrigerator)

## Test of Homogeneity of Variances

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.322	6	23	.005

## ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	58.526	6	9.754	490.362	.000
Within Groups	.458	23	.020		
Total	58.983	29			

TPC

Duncan

hari ke	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
hari ke 0	3	.0000	
hari ke 3	4		4.5468
hari ke 1	3		4.5573
hari ke 2	6		4.6352
hari ke 5	6		4.6684
hari ke 6	3		4.7345
hari ke 4	5		4.7363
Sig.		1.000	.108

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.925.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(Sorbat-suhu ruang)

## Test of Homogeneity of Variances

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.783	9	30	.003

## ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	59.266	9	6.585	421.664	.000
Within Groups	.469	30	.016		
Total	59.734	39			

TPC

Duncan

jam ke	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
jam ke 0	3	.0000	
jam ke 18	3		4.4833
jam ke 9	3		4.5130
jam ke 15	4		4.5510
jam ke 12	3		4.5893
jam ke 3	3		4.6300
jam ke 30	6		4.6468
jam ke 21	6		4.6530
jam ke 24	6		4.6697
jam ke 6	3		4.6990
Sig.		1.000	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.636.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(sorbat-propionat suhu ruang)

## Test of Homogeneity of Variances

TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.003	6	17	.002

TPC

Duncan

jam ke	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
jam ke 0	3	.0000			
jam ke 6	3		4.4513		
jam ke 3	3		4.4726		
jam ke 15	3		4.5440	4.5440	
jam ke 12	4			4.5977	4.5977
jam ke 18	5			4.6202	4.6202
jam ke 9	3				4.7037
Sig.		1.000	.137	.217	.091

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.307.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

#### ANOVA

TPC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55.007	6	9.168	1745.293	.000
Within Groups	.089	17	.005		
Total	55.096	23			

(output suhurefri angka hari ke- 1)

#### Test of Homogeneity of Variances

TPC 1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.076	4	14	.052

#### ANOVA

TPC 1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.304	4	.076	6.359	.004
Within Groups	.167	14	.012		
Total	.472	18			

#### TPC\_1

Duncan

pengawet	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
sorbat+propionat	3	4.4186	
chitosan	3	4.4350	
propionat	5	4.5493	
sorbat	3	4.5573	
kontrol	5		4.7589
Sig.		.139	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.571.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.



(output suhurefri angka hari ke- 2)

**Test of Homogeneity of Variances**

TPC\_2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.458	4	17	.259

**ANOVA**

TPC\_2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.738	4	13.684	978.102	.000
Within Groups	.238	17	.014		
Total	54.976	21			

TPC\_2

Duncan

	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
pengawet			
kontrol	3	.0000	
chitosan	5		4.5536
sorbit+propionat	5		4.5946
sorbit	6		4.6130
propionat	3		4.6337
Sig.		1.000	.388

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.054.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhurefri angka hari ke- 3)

**Test of Homogeneity of Variances**

TPC\_3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.266	4	19	.100

**ANOVA**

TPC\_3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	57.126	4	14.281	1267.548	.000
Within Groups	.214	19	.011		
Total	57.340	23			

TPC\_3  
Duncan

pengawet	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
kontrol	3	.0000		
sorbat	4		4.5468	
chitosan	6		4.6748	4.6748
sorbat+propionat	6		4.6813	4.6813
propionat	5			4.7160
Sig.		1.000	.087	.590

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.478.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhurefri angka hari ke- 4)

Test of Homogeneity of Variances

TPC\_4

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.951	4	15	.004

ANOVA

TPC\_4

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	110.290	4	27.572	2676.289	.000
Within Groups	.155	15	.010		
Total	110.444	19			

TPC\_4

Duncan

pengawet	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol	3	.0000	
chitosan	3	.0000	
sorbat+propionat	3	.0000	
propionat	6		4.7065
sorbat	5		4.7366
Sig.		1.000	.694

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.659.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhu ruang angka jam ke-18)

**Test of Homogeneity of Variances**

TPC\_18

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.088	4	12	.001

**ANOVA**

TPC\_18

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	88.585	4	22.146	5022.233	.000
Within Groups	.053	12	.004		
Total	88.638	16			

TPC\_18

Duncan

pengawet	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
kontrol	3	.0000		
cinamon	3	.0000		
propionat	3	.0000		
sorbat	3		4.4933	
sorbat propionat	5			4.6202
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.261.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhu ruang angka jam ke1)

**Test of Homogeneity of Variances**

TPC\_0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.	4	.	.

**ANOVA**

TPC\_0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	4	.000	.	.
Within Groups	.000	9	.000		
Total	.000	13			

**Test of Homogeneity of Variances**

## TPC 1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
16.000	4	10	.000

## TPC\_1

## Duncan

pengawet	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
cinamon	3	.0000		
sorbat propionat	3		4.3979	
kontrol	3		4.4700	
propionat	3			4.6233
sorbat	3			4.6300
Sig.		1.000	.118	.878

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

## ANOVA

## TPC 1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	49.376	4	12.344	4629.014	.000
Within Groups	.027	10	.003		
Total	49.403	14			

(output suhu ruang angka jam ke3)

## Test of Homogeneity of Variances

## TPC 3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
15.083	4	12	.000

## ANOVA

## TPC 3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	50.618	4	12.654	5225.585	.000
Within Groups	.029	12	.002		
Total	50.647	16			

TPC\_3  
Duncan

pengawet	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
cinamon	3	.0000		
sorbat propionat	3		4.3979	
kontrol	5		4.4672	
propionat	3			4.6233
sorbat	3			4.6300
Sig.		1.000	.097	.866

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.261.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhu ruang angka jam ke4)

Test of Homogeneity of Variances

TPC\_4

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.444	2	7	.157

ANOVA

TPC\_4

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	41.950	2	20.975	9578.480	.000
Within Groups	.015	7	.002		
Total	41.965	9			

TPC\_4

Duncan

pengawet	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
sorbat	3	.0000	
cinamon	4		4.4580
kontrol	3		4.4847
Sig.		1.000	.489

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.273.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhu ruang angka jam ke5)

**Test of Homogeneity of Variances**

TPC\_5

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
78.686	2	9	.000

**ANOVA**

TPC\_5

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	46.615	2	23.307	3438.613	.000
Within Groups	.061	9	.007		
Total	46.676	11			

TPC\_5

**Duncan**

pengawet	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
sorbat	3	.0000	
cinamon	3		4.4613
kontrol	6		4.5943
Sig.		1.000	.058

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.600.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhu ruang angka jam ke6)

**Test of Homogeneity of Variances**

TPC\_6

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.008	4	14	.055

**ANOVA**

TPC\_6

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.113	4	.028	7.452	.002
Within Groups	.053	14	.004		
Total	.166	18			

TPC\_6

**Duncan**

pengawet	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3

sorbat propionat	3	4.4833		
cinamon	5		4.5916	
propionat	3		4.6013	4.6013
sorbat	3			4.6989
kontrol	5			4.7012
Sig.		1.000	.836	.057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.571.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhu ruang angka jam ke7)

#### Test of Homogeneity of Variances

TPC 7

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.806	2	11	.032

#### ANOVA

TPC 7

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51.244	2	25.622	3906.662	.000
Within Groups	.072	11	.007		
Total	51.317	13			

#### TPC\_7

Duncan

pengawet	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
sorbat	3	.0000	
cinamon	6		4.6082
kontrol	5		4.7242
Sig.		1.000	.060

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.286.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhu ruang angka jam ke9)

#### Test of Homogeneity of Variances

TPC 9

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.224	4	12	.128

**ANOVA**  
TPC\_9

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51.966	4	12.992	1531.549	.000
Within Groups	.102	12	.008		
Total	52.068	16			

**TPC\_9**

**Duncan**

pengawet	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol	3	.0000	
sorbat	3		4.5123
sorbat propionat	3		4.5247
cinamon	4		4.5915
propionat	4		4.6738
Sig.		1.000	.057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.333.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhu ruang angka jam ke12)

**Test of Homogeneity of Variances**

**TPC\_12**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.852	4	14	.175

**ANOVA**

**TPC\_12**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55.280	4	13.820	954.117	.000
Within Groups	.203	14	.014		
Total	55.483	18			

**TPC\_12**

**Duncan**

pengawet	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol	3	.0000	
sorbat	3		4.5893
propionat	4		4.6495
sorbat propionat	4		4.6515
cinamon	5		4.7654
Sig.		1.000	.088

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.659.



b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

(output suhu ruang angka jam ke15)

### Test of Homogeneity of Variances

TPC\_15

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.887	4	11	.009

### ANOVA

TPC\_15

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	76.085	4	19.021	2712.607	.000
Within Groups	.077	11	.007		
Total	76.162	15			

TPC\_15

Duncan

pengawet	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol	3	.0000	
cinamon	3	.0000	
propionat	3		4.3979
sorbat propionat	3		4.5440
sorbat	4		4.5510
Sig.		1.000	.050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.158.

b The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

Lampiran 2. Penilaian Rerata Uji Sensoris 1 (*Stabilizer* dan rasio kacang merah : air)

Penilaian (6:1) kontrol	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	3	1	3	189/30 = 6,3
Sangat Tidak Dapat Diterima	1	2	2	
Tidak Dapat diterima Sekali	1	3	3	
Tidak Dapat Diterima	1	4	4	
Cukup Dapat Diterima	4	5	20	
Netral	4	6	24	
Dapat Diterima	4	7	28	
Dapat Diterima Sekali	6	8	48	
Sangat Dapat Diterima	3	9	27	
Sangat Dapat Diterima Sekali	3	10	30	
Total	30		189	

Penilaian (6:1) CMC	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	0	1	0	192/30 = 6,4
Sangat Tidak Dapat Diterima	2	2	4	
Tidak Dapat diterima Sekali	2	3	6	
Tidak Dapat Diterima	4	4	16	
Cukup Dapat Diterima	4	5	20	
Netral	2	6	12	
Dapat Diterima	4	7	28	
Dapat Diterima Sekali	5	8	40	
Sangat Dapat Diterima	4	9	36	
Sangat Dapat Diterima Sekali	3	10	30	
Total	30		192	

Penilaian (6:1) Gelatin	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	1	1	1	218/30 = 7,27
Sangat Tidak Dapat Diterima	2	2	4	
Tidak Dapat diterima Sekali	0	3	0	
Tidak Dapat Diterima	2	4	8	
Cukup Dapat Diterima	1	5	5	
Netral	5	6	30	
Dapat Diterima	2	7	14	
Dapat Diterima Sekali	3	8	24	
Sangat Dapat Diterima	8	9	72	
Sangat Dapat Diterima Sekali	6	10	60	
Total	30		218	

Penilaian (6:1) Xanthan Gum	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	3	1	3	207/30 = 6,9
Sangat Tidak Dapat Diterima	1	2	2	
Tidak Dapat diterima Sekali	1	3	3	
Tidak Dapat Diterima	2	4	8	
Cukup Dapat Diterima	1	5	5	
Netral	3	6	18	
Dapat Diterima	4	7	28	
Dapat Diterima Sekali	2	8	16	
Sangat Dapat Diterima	6	9	54	
Sangat Dapat Diterima Sekali	7	10	70	
<b>Total</b>	<b>30</b>		<b>207</b>	

Penilaian (6:1) karagenan	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	8	1	8	122/30 = 4,07
Sangat Tidak Dapat Diterima	4	2	8	
Tidak Dapat diterima Sekali	2	3	6	
Tidak Dapat Diterima	3	4	12	
Cukup Dapat Diterima	2	5	10	
Netral	4	6	24	
Dapat Diterima	4	7	28	
Dapat Diterima Sekali	2	8	16	
Sangat Dapat Diterima	0	9	0	
Sangat Dapat Diterima Sekali	1	10	10	
<b>Total</b>	<b>30</b>		<b>122</b>	

Penilaian (10:1) kontrol	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	0	1	0	167/30 = 5,57
Sangat Tidak Dapat Diterima	2	2	4	
Tidak Dapat diterima Sekali	3	3	9	
Tidak Dapat Diterima	5	4	20	
Cukup Dapat Diterima	5	5	25	
Netral	7	6	42	
Dapat Diterima	3	7	21	
Dapat Diterima Sekali	1	8	8	
Sangat Dapat Diterima	2	9	18	
Sangat Dapat Diterima Sekali	2	10	20	
<b>Total</b>	<b>30</b>		<b>167</b>	

Penilaian (10:1) CMC	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	4	1	4	127/30 = 4,23
Sangat Tidak Dapat Diterima	4	2	8	
Tidak Dapat diterima Sekali	4	3	12	
Tidak Dapat Diterima	7	4	28	
Cukup Dapat Diterima	2	5	10	
Netral	3	6	18	
Dapat Diterima	3	7	21	
Dapat Diterima Sekali	1	8	8	
Sangat Dapat Diterima	2	9	18	
Sangat Dapat Diterima Sekali	0	10	0	
<b>Total</b>	<b>30</b>		<b>127</b>	

Penilaian (10:1) Gelatin	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	4	1	4	138/30 = 4,6
Sangat Tidak Dapat Diterima	1	2	2	
Tidak Dapat diterima Sekali	8	3	24	
Tidak Dapat Diterima	3	4	12	
Cukup Dapat Diterima	4	5	20	
Netral	1	6	6	
Dapat Diterima	4	7	28	
Dapat Diterima Sekali	4	8	32	
Sangat Dapat Diterima	0	9	0	
Sangat Dapat Diterima Sekali	1	10	10	
<b>Total</b>	<b>30</b>		<b>138</b>	

Penilaian (10:1) XG	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	2	1	2	149/30 = 4,97
Sangat Tidak Dapat Diterima	6	2	12	
Tidak Dapat diterima Sekali	6	3	18	
Tidak Dapat Diterima	1	4	4	
Cukup Dapat Diterima	5	5	25	
Netral	1	6	6	
Dapat Diterima	1	7	7	
Dapat Diterima Sekali	2	8	16	
Sangat Dapat Diterima	1	9	9	
Sangat Dapat Diterima Sekali	5	10	50	
<b>Total</b>	<b>30</b>		<b>149</b>	

Penilaian (10:1) Karagenan	Hasil (orang)	Skor	Jumlah	Rerata Skor
Sangat Tidak Dapat Diterima Sekali	6	1	6	119/30 = 3,97
Sangat Tidak Dapat Diterima	9	2	18	
Tidak Dapat diterima Sekali	3	3	9	
Tidak Dapat Diterima	2	4	8	
Cukup Dapat Diterima	2	5	10	
Netral	0	6	0	
Dapat Diterima	1	7	7	
Dapat Diterima Sekali	3	8	24	
Sangat Dapat Diterima	3	9	27	
Sangat Dapat Diterima Sekali	1	10	10	
Total	30		119	



# SNI

Standar Nasional Indonesia

SNI 01-3830-1995

ICS

---



## PENDAHULUAN

Rancangan Standar Nasional Indonesia Susu Kedelai merupakan Standar Industri yang bertujuan untuk melindungi konsumen dari segi kesehatan dan keselamatan disamping itu juga untuk :

- a. melindungi produsen
- b. mendukung perkembangan industri
- c. menjujung Instruksi Menteri Perindustrian No. 04/M/INS/10/1989

Standar ini disusun berdasarkan hasil pembahasan Rapat Teknis pada tanggal 14 Pebruari 1995, Rapat Pra Konsensus pada tanggal 21 Pebruari 1995, dan terakhir dirumuskan pada tanggal 9 Maret 1995, dalam Rapat Konsensus Nasional di Jakarta.

Rapat tersebut dihadiri oleh wakil dari Produsen, Konsumen, Balai dan Instansi terkait.

Sebagai acuan dalam standar ini adalah :

1. Kumpulan Peraturan Perundang-undangan di bidang makanan, edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia 1993-1994
2. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.722/MENKES/PER/IX/88 tentang Bahan Tambahan Makanan
3. SNI 01-2891-1992, *Cara Uji Makanan dan Minuman*
4. SNI 01-2894-1992, *Cara Uji Bahan Pengawet Makanan dan Bahan Tambahan yang Dilarang untuk Makanan*
5. SNI 01-0222-1987, *Bahan Tambahan Makanan*
6. SNI 19-2896-1992, *Cara Uji Cemaran Logam*
7. SNI 19-2897-1992, *Cara Uji Cemaran Mikroba*
8. SNI 19-0428-1989, *Petunjuk Pengambilan Contoh Padtaan*
9. Singapore Standart
10. Data dari produsen
11. Data hasil pengujian contoh.

## DAFTAR ISI

PENDAHULUAN .....	i
DAFTAR ISI .....	ii
1. RUANG LINGKUP .....	1
2. DEFINISI .....	1
3. SYARAT MUTU .....	2
4. CARA PENGAMBILAN CONTOH .....	2
5. CARA UJI .....	3
6. CARA PENGEMASAN .....	4
7. SYARAT PENANDAAN .....	4





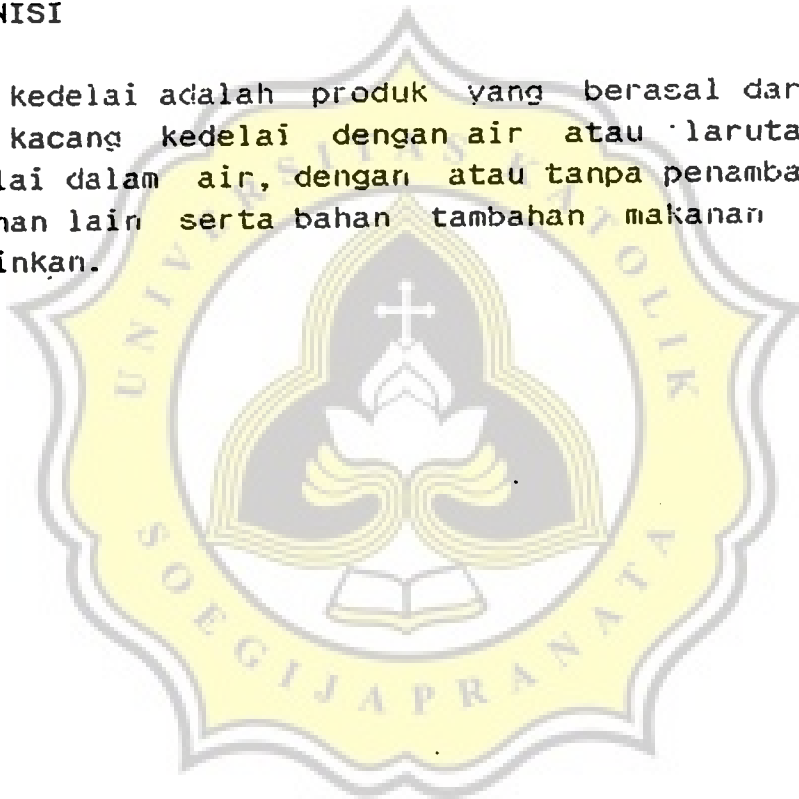
## SUSU KEDELAI

### 1. RUANG LINGKUP

Standar ini meliputi definisi, syarat mutu, cara pengambilan contoh, cara uji, cara pengemasan dan syarat penandaan.

### 2. DEFINISI

Susu kedelai adalah produk yang berasal dari ekstrak biji kacang kedelai dengan air atau larutan tepung kedelai dalam air, dengan atau tanpa penambahan bahan makanan lain serta bahan tambahan makanan lain yang diizinkan.



### 3. SYARAT MUTU

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan	
			Susu (Milk)	Minuman (Drink)
1.	Keadaan :			
1.1	Bau	-	normal	normal
1.2	Rasa	-	normal	normal
1.3	Warna	-	normal	normal
2.	pH	-	6.5 - 7.0	6.5 - 7.0
3.	Protein	% b/b	min. 2.0	min. 1.0
4.	Lenak	% b/b	min. 1.0	min. 0.30
5.	Padatan jumlah	% b/b	min. 11.50	min. 11.5
6.	Bahan Tambahan Makanan	Sesuai dengan SHI 01-0222 - 1987		
6.1	Pemanis buatan			
6.2	Pewarna			
6.3	Pengawet			
7.	Cemaran Logam			
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0.2	maks. 0.2
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	maks. 2	maks. 2
7.3	Seng (Zn)	mg/kg	maks. 5	maks. 5
7.4	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40 (250*)	maks. 40 (250*)
7.5	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,03	maks. 0,03
8.	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	maks. 0.1	maks. 0.1
9.	Cemaran Mikroba			
9.1	Angka lempeng total	koloni/ml	maks. $2 \times 10^2$	maks. $2 \times 10^2$
9.2	Bakteri bentuk koli	APM/ml	maks. 20	maks. 20
9.3	Escherichia coli	APM/ml	< 3	< 3
9.4	Salmonella	-	negatif	negatif
9.5	Staphylococcus aureus	koloni/ml	0	0
9.6	Vibrio sp	-	negatif	negatif
9.7	Kapang	koloni/ml	maks. 50	maks. 50

\*) Kemasan kaleng

#### 4. CARA PENGAMBILAN CONTOH

Cara pengambilan contoh sesuai dengan SNI 19-0429-1989, *Petunjuk Pengambilan Contoh Cairan dan Semi Padatan*.

#### 5. CARA UJI

##### 5.1 Keadaan

Cara uji keadaan sesuai dengan SNI 01-2891-1992, *Cara Uji Makanan dan Minuman*, butir 1.2.

##### 5.2 pH

Cara uji pH sesuai dengan SNI 01-2892-1992, *Cara Uji Makanan dan Minuman*, butir 16.

##### 5.3 Protein

Cara uji protein sesuai dengan SNI 01-2891-1992, *Cara Uji Makanan dan Minuman*, butir 7.1.

##### 5.4 Lemak

Cara uji lemak sesuai dengan SNI 01-2891-1992, *Cara Uji Makanan dan Minuman*, butir 8.2.

##### 5.5 Cara Uji Padatan Jumlah

###### 5.5.1 Prinsip

Jumlah padatan dalam produk.

###### 5.5.2 Peralatan

- Eksikator
- Lemari pengering
- Neraca analitis
- Botol timbang
- Piringan penguap.

###### 5.5.3 Cara kerja

- a. Timbang contoh  $\pm 10$  g dengan teliti pada sebuah botol timbang tertutup yang sudah diketahui beratnya
- b. Botol timbang yang berisi contoh diletakkan di atas penangas air hingga kering kemudian masukkan dalam lemari pengering, suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 3 jam
- c. Dinginkan dalam eksikator, dan timbang
- d. Ulangi pekerjaan penguapan, pendinginan dalam eksikator dan penimbangan hingga bobot tetap
- e. Hitung dengan rumus sebagai berikut :

5.5.4 Perhitungan  
Padatan jumlah =

$$\left[ 1 - \frac{W_1}{W_2} \right] \times 100 \%$$

$W_1$  = kehilangan bobot setelah dikeringkan dalam gram .

$W_2$  = bobot contoh sebelum dikeringkan, dalam gram

5.6 Pemanis Buatan

Cara uji pemanis buatan sesuai dengan SNI 01-2893-1992, *Cara Uji Pemanis Buatan dan Revisinya*.

5.7 Pewarna

Cara uji pewarna ~~dan bahan~~ sesuai dengan SNI 01-2895-1992, *Cara Uji Pewarna Tambahan Makanan*, butir 2.1.

5.8 Pengawet

Cara uji pengawet sesuai dengan SNI 01-2894-1992, *Cara Uji Bahan Pengawet Makanan dan Bahan Tambahan yang Dilarang untuk Makanan*.

5.9 Cemar Logam

Cara uji cemaran Arsen sesuai dengan SNI 19-2896-1992, *Cara Uji Cemaran Logam*.

5.10 Cemaran Arsen

Cara uji cemaran Arsen sesuai dengan SNI 19-2896-1992, *Cara Uji Cemaran Logam*, butir 6.

5.11 Cemaran Mikroba

Cara uji cemaran mikroba sesuai dengan SNI 19-2897-1992, *Cara Uji Cemaran Mikroba*.

## 6. CARA PENGEMASAN

Produk dikemas dalam wadah yang tertutup rapat, tidak dipengaruhi atau mempengaruhi isi, aman selama penyimpanan dan pengangkutan.

## 7. SYARAT PENANDAAN

Syarat penandaan sesuai dengan Undang-undang RI No. 23 Tahun 1992 tentang Kesehatan, serta peraturan tentang label dan periklanan yang berlaku.

**SNI**

STANDAR NASIONAL INDONESIA

SNI 19 - 2897 - 1992

UDC

---



## B. CARA PEMERIKSAAN MIKROBA

### I. ANGKA LEMPENG TOTAL

#### 1.1. Metoda *Plate Count* (Angka lempeng)

##### 1.1.1. Prinsip

Pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah contoh diinkubasikan dalam perbenihan yang cocok selama 24–48 jam pada suhu  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ .

##### 1.1.2. Peralatan

- Cawan petri dari gelas/plastik (90–100 mm).
- Pipet ukur (1,5 dan 10 ml)
- Penangas air  $45 \pm 1^\circ\text{C}$
- Lamari pendingin  $36 \pm 1^\circ\text{C}$
- Alat penghitung koloni (*colony counter*)

##### 1.1.3. Perbenihan dan Pengencer

- *Buffered Peptone Water (BPW)*
- *Plate Count Agar (PCA)*

##### 1.1.4. Cara Kerja

- Lakukan persiapan dan homogenisasi contoh sesuai dengan A.6
- Pipet 1 ml dari masing-masing pengenceran (Gambar A) ke dalam cawan petri steril secara simplo dan duplo.
- Ke dalam setiap cawan petri tuangkan sebanyak 12–15 ml media PCA yang telah dicairkan yang bersuhu  $45 \pm 1^\circ\text{C}$  dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama.
- Goyangkan cawan Petri dengan hati-hati (putar dan goyangkan ke depan dan ke belakang serta ke kanan dan ke kiri) hingga contoh tercampur rata dengan perbenihan.
- Kerjakan pemeriksaan blangko dengan mencampur air pengencer dengan perbenihan untuk setiap contoh yang diperiksa.
- Biarkan hingga campuran dalam cawan Petri membeku
- Masukkan semua cawan Petri dengan posisi terbalik ke dalam lemari pendingin (inkubator) dan inkubasikan pada suhu  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  selama 24–48 jam.
- Catat pertumbuhan koloni pada setiap cawan yang mengandung 25–250 koloni setelah 48 jam.
- Hitung angka lempeng total dalam 1 gram atau 1 ml contoh dengan mengalikan jumlah rata-rata koloni pada cawan dengan faktor pengenceran yang digunakan (sesuai).

##### 1.1.4.1. Cara menghitung dan menyatakan hasil.

- Pilih cawan Petri (simplo dan duplo) dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25–250 setiap cawan. Hitung semua koloni dalam cawan Petri dengan menggunakan alat penghitung koloni (*colony*

- counter). Hitung rata-rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per mililiter atau gram.
- Jika salah satu dari dua cawan Petri terdapat jumlah koloni lebih kecil dari 25 atau lebih besar dari 250, hitung rata-rata jumlah koloni, kalikan dengan faktor pengenceran dan nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri permililiter atau gram.
  - Jika hasil dari dua pengenceran jumlahnya berturut-turut terletak antara 25-250 koloni, hitung jumlah koloni dari masing-masing pengenceran seperti yang disebut pada butir a dan b di atas, dan hitung rata-rata jumlah koloni dari kedua pengenceran tersebut. Jika jumlah yang tertinggi lebih besar dari dua kali jumlah yang terkecil, nyatakan jumlah yang lebih kecil sebagai jumlah bakteri per mililiter atau gram.
  - Jika rata-rata jumlah koloni masing-masing cawan Petri tidak terletak antara 25 dan 250 koloni, hitung jumlah koloni seperti pada butir a dan b di atas, dan nyatakan sebagai jumlah bakteri perkiraan per mililiter atau gram.
  - Jika jumlah koloni dari semua pengenceran lebih dari 250 koloni, maka setiap dua cawan petri dengan pengenceran tertinggi dibagi ke dalam 2, 4 atau 3 sektor. Hitung jumlah koloni dalam satu bagian atau lebih. Untuk mendapatkan jumlah koloni dalam satu cawan petri, hitung rata-rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pembagi dan pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri perkiraan per mililiter atau gram.
  - Jika dalam 1/8 bagian cawan petri terdapat lebih dari 200 koloni, maka jumlah koloni yang didapat =  $8 \times 200$  (1600). Kalikan dengan faktor pengenceran dan nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri perkiraan per mililiter atau gram lebih besar dari jumlah yang didapat (lebih besar dari  $1600 \times$  faktor pengenceran).
  - Jika tidak ada koloni yang tumbuh dalam cawan petri, nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari satu dikalikan dengan pengenceran yang terendah ( $< 10$ ).
  - Menghitung koloni perambat (*Spreader*).

Ada 3 macam perambatan pada koloni, yaitu :

- (1) merupakan rantai yang tidak terpisah-pisah.
- (2) perambatan yang terjadi diantara dasar cawan petri dan perbenihan.
- (3) perambatan yang terjadi pada pinggir atau permukaan perbenihan.

Kalau terjadi hanya 1 (satu) perambatan (seperti rantai) maka koloni dianggap 1 (satu). Tetapi bila 1 atau lebih rantai terbentuk dan yang berasal dari sumber yang terpisah-pisah, maka tiap sumber dihitung sebagai 1 (satu) koloni.

Bila (2) dan (3) terjadi maka sebaiknya pemeriksaan diulangi karena koloni dalam keadaan semacam ini agak sukar dihitung.

#### 1.1.4.2. Cara menghitung dan membulatkan angka.

Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya 2 angka penting yang digunakan, yaitu angka yang pertama dan kedua (di-

mulai dari kiri), sedangkan angka yang ketiga diganti dengan 0 apabila kurang dari 5 dan apabila 5 atau lebih dijadikan 1 yang ditambahkan pada angka yang kedua.

Contoh : 523.000 dilaporkan sebagai 520.000 ( $5,2 \times 10^5$ ) 83.600 dilaporkan sebagai 84.000 ( $8,4 \times 10^4$ ).

## 1.2. Metode penyaringan (Membrane Filter).

Untuk contoh yang kandungan bakterinya rendah (seperti minuman ringan dan air minum dalam kemasan atau air yang telah diproses).

### 1.2.1. Prinsip

Pertumbuhan bakteri mesofil aerob pada penyaring membran setelah diinkubasikan pada suhu  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  selama 48 jam dalam perbenihan yang cocok.

### 1.2.2. Peralatan

- Pipet ukur 10 ml atau gelas ukur 100 ml.
- Cawan petri  $\phi$  50 – 60 mm.
- Penyaring membran 0,45 mm.
- Pinset.
- Unit alat penyaringan (filtration unit)
- Lemari pendingin  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ .

### 1.2.3. Perbenihan

*Plate count Agar (PCA)*.

### 1.2.4. Cara Kerja

- Pasang peralatan penyaring membran yang terdiri dari corong, membran penyaring dan penampung yang telah disterilkan lebih dahulu, dan hubungkan dengan vakum sistem.
- Masukkan 100 ml cuplikan (contoh) atau sejumlah yang diperlukan ke dalam corong dari alat penyaring dengan menggunakan pipet atau gelas ukur steril.
- Pergunakan vakum untuk menyaring cuplikan melalui membran dan saring cuplikan seluruhnya.
- Bilas seluruh permukaan dalam corong penyaring dengan air pengencer atau air suling steril yang jumlahnya sama dengan jumlah cuplikan yang disaring dan saring cairan pembilas.
- Sesudah pembilasan selesai, hentikan vakum.
- Buka kembali peralatan penyaring dan dengan pinset yang steril angkat membran penyaring dari alat penyaring.
- Letakkan membran penyaring di atas perbenihan *Plate Count Agar* dalam cawan petri (usahakan jangan ada gelembung udara di bawah membran).
- Inkubasikan cawan dengan posisi terbalik pada  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  selama 48 jam.
- Hitung jumlah koloni yang terbentuk pada membran yang menyatakan jumlah angka lempeng (angka lempeng, total) dalam 100 ml contoh.



## 2. BAKTERI COLIFORM

### 2.1. Metoda APM (Angka Paling Mungkin) menggunakan 3 tabung.

#### 2.1.1. Prinsip

Pertumbuhan bakteri coliform yang ditandai dengan terbentuknya gas dalam tabung Durham, setelah contoh diinkubasikan dalam perbenihan yang cocok pada suhu  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  selama 24- 28 jam dan selanjutnya dirujuk kepada tabel APM.

#### 2.1.2. Peralatan

- Tabung reaksi (18 x 180 mm)
- Tabung Durham (10 x 75 mm)
- Pipet ukur 1 ml
- Inkubator (lemari pengeram)  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ .

#### 2.1.3. Perbenihan dan larutan pengencer

- Brilliant Green Lactose Bile Broth 2%* (BGLB)
- Buffered Peptone Water*
- Lauryl Sulphate Tryptone/Tryptose broth* (LST) atau Lactose Broth.

#### 2.1.4. Cara Kerja

##### 2.1.4.1. Uji Sangkaan

- Lakukan homogenisasi contoh seperti pada A.6.
- Pipet 1 ml pengenceran contoh  $10^{-1}$  ke dalam masing-masing 3 tabung yang berisi 5 ml *Lauryl Sulphate Tryptose broth* atau Lactose broth yang di dalamnya terdapat tabung Durham terbalik.
- Lakukan juga dengan cara yang sama terhadap pengenceran  $10^{-2}$  (1:100) pada 3 tabung kedua dan  $10^{-3}$  (1:1000) pada 3 tabung ketiga (tiap pengenceran pergunakan pipet yang baru dan steril).
- Simpan semua tabung dalam lemari pengeram (incubator) pada suhu  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  selama 24 dan 48 jam.
- Setelah 24 jam kemudian catat jumlah tabung yang membentuk gas pada masing-masing pengenceran dan simpan lagi tabung yang tidak membentuk gas dalam inkubator pada suhu  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  selama 24 jam, kemudian catat jumlah tabung yang membentuk gas.

##### 2.1.4.2. Uji Penegasan (confirmed test)

- Pindahkan sebanyak 1 sengkeli dari tiap tabung yang membentuk gas pada media LST ke dalam tabung yang berisi 10 ml *Brilliant Green Lactose Bile broth 2%* (BGLB 2%).
- Masukkan semua tabung ke dalam lemari pengeram (incubator) pada suhu  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  selama 24-48 jam.  
Adanya gas pada tabung BGLB memperkuat adanya bakteri coliform dalam contoh.
- Catat jumlah tabung yang positif gas pada uji penegasan.
- Angka Paling Mungkin dari Coliform dituliskan pada Tabel 2

Tabel II  
Daftar APM coliform (Menggunakan 3 Tabung)

Kombinasi/Jumlah tabung yang positif			APM per gram/ atau ml
1 : 10	1 : 100	1 : 1000	
0	0	0	< 3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	6
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210
3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1 100
3	3	3	> 2 400

2.2. Metoda APM (Angka Paling Mungkin) menggunakan 5 tabung : Untuk contoh air, air minum dalam kemasan dan susu.

2.2.1. Prinsip

Sama seperti pada butir 2.1.1.

2.2.2. Peralatan

Sama seperti pada butir 2.1.2., dengan tambahan pipet ukur 10 ml

2.2.3. Perbenihan

- *Lauryl Sulphate Tryptose (LST) broth* atau *Lactose broth (single dan double strength)*
- *Brilliant Green Lactose Bile broth 2%*

2.2.4 Cara kerja

- Pipet masing-masing 10 ml cuplikan ke dalam 5 tabung yang berisi 10 ml *Lactose broth* atau *Lauryl Sulphate Tryptose broth double strength*, yang di dalamnya terdapat tabung Durham terbalik.
- Pipet masing-masing 1 ml dan 0,1 ml cuplikan ke dalam 5 tabung yang kedua dan ketiga yang berisi 5 ml perbenihan yang sama tetapi yang single strength.
- Selanjutnya kerjakan seperti pada butir 2.1.4.1 dimulai dari butir d dan 2.1.4.2 dimulai dari butir a sampai dengan c.
- Hitung APM coliform per 100 ml contoh dengan menggunakan Tabel. III

Tabel III  
Daftar APM coliform menggunakan 5 tabung

Kombinasi/ jumlah tabung yang positif	APM/ 100 ml	Kombinasi/ jumlah yang positif	APM/ 100 ml
0-0-0	< 2	4-2-0	22
0-0-1	2	4-2-1	26
0-1-0	2	4-3-0	27
0-2-0	4	4-3-1	32
		4-4-0	34
1-0-0	2	5-0-0	23
1-0-1	4	5-0-1	30
1-1-0	4	5-0-2	40
1-1-1	6	5-1-0	30
1-2-0	6	5-1-1	50
		5-1-2	60
2-0-0	4	5-2-0	50
2-0-1	7	5-2-1	70
2-1-0	7	5-2-2	90
2-1-1	9	5-3-0	80
2-2-0	9	5-3-1	110
2-3-0	12	5-3-2	140
3-0-0	8	5-3-3	170
3-0-1	11	5-4-0	130
3-1-0	11	5-4-1	170
3-1-1	14	5-4-2	220
3-2-0	14	5-4-3	280
3-2-1	17	5-4-4	350
4-0-0	13	5-5-0	240
4-0-1	17	5-5-1	300
4-1-0	17	5-5-2	300
4-1-1	21	5-5-3	300
4-1-2	26	5-5-4	1500
		5-5-5	1500

Catatan : Bila contoh dipipet kedalam tabung sebanyak 1 ml, 0,1 ml dan 0,01 ml, maka APM coliform per 100 ml dihitung dengan rumus :

$$\text{APM} / 100 \text{ ml} = \frac{\text{APM dalam daftar} \times 10}{\text{jumlah ml terbesar dipipet}}$$

Contoh : Kombinasi/jumlah tabung yang positif adalah 5-2-1 dan jumlah terbesar dipipet 1 ml APM dalam daftar (5-2-1) = 70

$$\text{Maka APM coliform}/100 \text{ ml} = \frac{70 \times 10}{1} = 700$$

### 2.3. Metoda "Plate count" (Angka lempeng)

#### 2.3.1. Prinsip

Pertumbuhan bakteri coliform setelah contoh diinkubasikan dalam perbenihan yang cocok selama 24-48 jam pada suhu  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ .

#### 2.3.2. Peralatan

- Cawan petri (90-100 mm)
- Pipet ukur 1 ml
- Inkubator  $36 \pm 1^\circ\text{C}$
- Panangas air  $45 \pm 1^\circ\text{C}$ .

#### 2.3.3. Perbenihan

*Violet Red Bile Agar*.

#### 2.3.4. Cara kerja

- Lakukan persiapan dan homogenisasi contoh seperti pada A.6.
- Pipet 1 ml dari masing-masing pengenceran dan masukkan ke dalam cawan petri steril.
- Tuangkan *Violet Red Bile Agar* (VRBA) yang telah dicairkan pada suhu  $45 \pm 1^\circ\text{C}$  sebanyak 10-15 ml.
- Goyangkan cawan petri dengan hati-hati hingga isinya bercampur rata (homogen) dan biarkan campuran membeku (5-10 menit).
- Inkubasikan cawan petri dengan posisi terbalik pada suhu  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  selama 24 jam.
- Hitung koloni yang berwarna merah gelap yang berukuran diameter 0,5 mm atau lebih yang dinyatakan sebagai bakteri coliform yang terbentuk dalam cawan.
- Hasil dinyatakan sebagai berikut :  
Jumlah bakteri coliform per gram/mililiter contoh dihitung dengan mengalikan jumlah koloni coliform dalam cawan dengan faktor pengenceran yang digunakan.

Catatan : Metoda ini digunakan untuk contoh yang kandungan coliformnya tinggi

### 3. ESCHERICHIA COLI

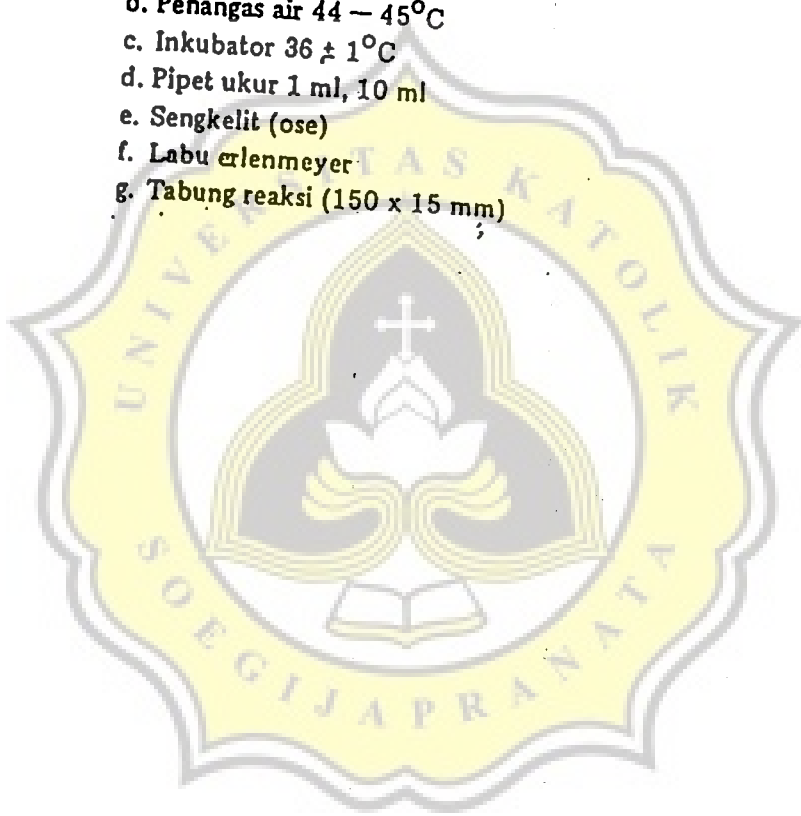
#### 3.1. Metoda APM (Angka Paling Mungkin)

##### 3.1.1. Prinsip

Pertumbuhan *E. coli* yang ditandai oleh terbentuknya gas di dalam tabung Durham setelah diinkubasikan dalam perbenihan yang cocok pada suhu  $44^{\circ}\text{C}$  selama 24–48 jam, yang diikuti dengan uji biokimia dan selanjutnya dirujuk pada label APM.

##### 3.1.2. Peralatan

- a. Alat homogenisasi (blender)
- b. Penangas air  $44 - 45^{\circ}\text{C}$
- c. Inkubator  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$
- d. Pipet ukur 1 ml, 10 ml
- e. Sengkelit (ose)
- f. Labu erlenmeyer
- g. Tabung reaksi (150 x 15 mm)



- h. Tabung Durham (75 x 10 mm)
- i. Cawan petri.
- j. Mikroskop
- k. Gelas sediaan.

### 3.1.3. Perbenihan dan pereaksi

- a. *Escherichia Coli Broth (EC Broth)*
- b. *Brilliant Green Lactose Bile (BGLB) Broth 2%*
- c. *Mac Conkey Broth*
- d. *Eosin Methylene Blue (EMB) Agar*
- e. *Violet Red-Bile Agar (VRBA)*
- f. *Methyl Red-Voges Proskauer (MR-VP) Medium*
- g. *Trypton Broth*
- h. *Simmons Citrate Agar atau Koser Citrat*
- i. *Nutrient Agar (Agar-agar)*
- j. *Pereaksi Kovacs*
- k. *Larutan Methyl Red*
- l. *Pereaksi Voges Proskauer*
- m. *Pereaksi untuk pewarna Gram*
- n. *Pereaksi Indole*
- o. *Larutan alfa-naftol*
- p. *Larutan kalium hidroksida 40%*
- q. *Koser's Citrat medium.*

### 3.1.4. Cara Kerja

- a. Masukkan 1 sengkeli (1 loopful) biakan yang positif gas pada LST Broth dari pengujian angka paling mungkin bakteri coliform ke dalam tabung berisi E.C. Broth yang di dalamnya terdapat tabung Durham terbalik.
- b. Inkubasikan dalam penangas air pada suhu 44--45°C selama 24-48 jam.
- c. Catat tabung yang di dalamnya terbentuk gas. (*E. coli* dianggap positif, jika di dalam tabung terbentuk gas).
- d. Lanjutkan penetapan *E. coli* dengan menginokubasikan biakan yang membentuk gas ke perbenihan EMB atau VRBA dalam cawan petri.
- e. Inkubasikan pada suhu 35° selama 18-24 jam.
- f. Pilih koloni berwarna merah gelap (VRBA) yang berdiameter 0,5 mm atau lebih, atau koloni berwarna kilap logam (EMB) dan inokulasikan pada *Nutrient Agar* miring dalam tabung, inkubasikan pada suhu 35°C selama 18-24 jam, dan pada waktu yang sama lakukan pewarnaan Gram sebagai berikut:  
Buat sediaan di atas kaca alas. Keringkan di udara dan fiksasikan dengan panas. Warnai sediaan dengan larutan *crystal violet ammonium oxalate* selama 1 menit. Cuci dengan air dan tiriskan. Bubuhkan larutan *Lugol (Gram's iodine)* selama 1 menit. Cuci dengan air kran dan tiriskan. Cuci (hilangkan warna) dengan alkohol 95% selama 30 detik. Cuci dengan air kran, tiriskan dan bubuhkan *Hucker's counterstain* (larutan safranin) se-

Handwritten signature and a small arrow pointing towards the top right corner.

