

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Susu

2.1.1 Definisi Susu

Susu adalah cairan berwarna putih yang disekresi oleh kelenjar mammae (ambing) pada binatang mamalia betina untuk bahan makanan dan sumber gizi bagi anaknya. Kebutuhan gizi pada setiap hewan mamalia betina bervariasi sehingga kandungan susu yang dihasilkan juga tidak sama pada hewan mamalia yang berbeda (Utami dkk., 2011).

Susu merupakan sumber energi karena mengandung banyak laktosa dan lemak, disebut juga sumber zat pembangun karena mengandung juga banyak protein dan mineral serta berbagai bahan-bahan pembantu dalam proses metabolisme seperti mineral dan vitamin. Secara kimiawi susu normal mempunyai komposisi air 87,20%, lemak 3,70%, protein 3,50%, laktosa 4,90%, dan mineral 0,07% (Sanam dkk., 2014).

Susu merupakan bahan makanan yang bergizi tinggi karena di dalam susu segar mengandung berbagai zat makanan yang lengkap dan seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, dan vitamin yang sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia. Salah satunya yaitu susu sapi segar, merupakan susu yang dihasilkan oleh sapi betina perah di peternakan. Akan lebih baik jika sebelum mengonsumsinya direbus terlebih dahulu hingga mendidih untuk menghilangkan bakteri yang mungkin terdapat pada susu (Wardana, 2012).

2.1.2 Kandungan Susu

Susu merupakan sumber protein hewani yang mempunyai peranan strategis dalam kehidupan manusia, karena mengandung berbagai komponen gizi yang lengkap serta kompleks. Susu mengandung vitamin yang dapat larut dalam lemak seperti vitamin A, D, E dan K serta vitamin yang larut dalam air yaitu vitamin B dan C. Beberapa vitamin memberikan warna pada susu. Riboflavin memberikan warna susu kuning sedikit kehijauan, sedangkan karoten akan memberikan warna

lemak susu menjadi kekuning-kuningan (Hasanuddin, 2017). Menurut P. A. G (2013) nilai zat gizi yang terdapat dalam susu yaitu:

Tabel 2. 1 Zat Gizi Bahan Makanan Dalam 100g Bahan (P. A. G, 2013)

No	Bahan Makanan	Energi (Kkal)	Protein (g)	Lemak (g)	Karbohidrat (g)
1	Minyak kelapa sawit	884	0	100	0
2	Wortel	36	1	0,6	7,9
3	Beras giling	357	8,4	1,7	77,1
4	Tepung Terigu	333	9,0	1,0	77,2
5	Ikan segar	113	17	4,5	0
6	Susu sapi	61	3,2	3,5	4,3
7	Telur ayam ras	154	12,4	14,4	0,7

Di dalam susu terdapat enzim peroksidase, katalase, fosfatase dan lipase. Peroksidase dan fosfatase dapat dijadikan sebagai indikator kecukupan pasteurisasi susu karena kedua enzim ini akan rusak pada suhu pasteurisasi. Sedangkan lipase dapat menyebabkan kerusakan pada susu (Hasanuddin, 2017). Zat gizi yang terkandung dalam susu yaitu :

- a. Air, kandungan air dalam susu sangat tinggi. Susu mengandung air 87,90 yang berfungsi sebagai bahan pelarut bahan kering didalam susu. Sebagian besar dihasilkan dari air yang diminum oleh binatang yang menghasilkan susu (Saleh, 2004).

- b. Protein, susu merupakan sumber protein dengan mutu sangat tinggi. Kadar protein didalam susu rata-rata 3,20% yang terdiri dari: 2,70% kasein, dan 0,50% albumin. Kadar protein didalam susu sebanyak 26,50% dari bahan kering susu. Protein didalam susu akan menentukan kualitas susu yang dihasilkan. Didalam susu juga terdapat globulin dalam jumlah sedikit (Saleh, 2004).
- c. Lemak susu yang juga disebut sebagai butter fat merupakan komponen yang sangat penting dalam susu, bahkan secara komersial lemak susu merupakan komponen yang sangat berharga. Kadar lemak dalam susu berkisar antara 3 sampai 8% namun rata-rata kadar lemak didalam susu adalah $\pm 3,45\%$ (Saleh, 2004).
- d. Karbohidrat utama yang terdapat dalam susu adalah laktosa. Laktosa adalah disakarida yang terdiri dari glukosa dan galaktosa. Enzim laktase bertugas memecah laktosa menjadi gula-gula sederhana yaitu glukosa dan galaktosa. Pada usia bayi tubuh menghasilkan enzim laktase dalam jumlah cukup sehingga susu dapat dicerna dengan baik. Seiring bertambahnya usia, keberadaan enzim laktase semakin menurun sehingga sebagian akan menderita diare bila mengonsumsi susu terlalu berlebih (Khomsan, 2004).
- e. Kalsium adalah nutrisi yang penting bagi tubuh manusia. Susu merupakan sumber kalsium terbaik yang dapat meningkatkan kekuatan tulang (Wirakusumah, 2007).
- f. Fosfor, susu merupakan sumber fosfor yang baik yaitu sekitar 90 mg. Fosfor biasanya bekerja sama dengan kalsium dan vitamin D. Fosfor berguna untuk pembentukan tulang dan gigi (Nainggolan, 2014).
- g. Vitamin. Susu mengandung 100 IU vitamin D (25% kebutuhan vitamin D harian), 400 mg potassium (12% kebutuhan harian), dan 0,4 mg riboflavin (vitamin B2) atau sekitar 23% kebutuhan harian (Wirakusumah, 2007).

2.1.3 Sifat Fisik dan Kimiawi Susu

Sifat fisik dan kimiawi susu meliputi kerapatan, pH, warna, rasa dan bau, serta titik beku. Kerapatan susu bervariasi antara 1,0260 dan 1,0320 pada suhu 20°C, angka ini biasanya disebut sebagai “26” dan “32”. Keragaman ini disebabkan karena perbedaan kandungan lemak dan zat-zat padat bukan lemak. pH susu segar

berada di antara pH 6,6 sampai 6,7 dan bila terjadi cukup banyak pengasaman oleh aktivitas bakteri, angka-angka ini akan menurun secara nyata (Amallia, 2012).

Warna susu yang normal adalah putih sedikit kekuningan. Warna susu dapat bervariasi dari putih kekuningan hingga putih sedikit kebiruan. Warna putih sedikit kebiruan dapat tampak pada susu yang memiliki kadar lemak rendah. Susu memiliki rasa sedikit manis dan bau (aroma) khas. Rasa manis disebabkan adanya gula laktosa didalam susu, meskipun sering dirasakan ada sedikit rasa asin yang disebabkan oleh klorida. Bau khas susu disebabkan oleh beberapa senyawa yang mempunyai aroma spesifik dan sebagian bersifat volatil (Mohamad, 2002).

Titik beku susu adalah $-0,520^{\circ}\text{C}$. Berat jenis air susu adalah 1,027 sampai 1,035 dengan rata-rata 1,031. Kekentalan atau viskositas susu biasanya berkisar 1,5 sampai 2,0 cP, temperatur juga ikut menentukan viskositas susu. Pada suhu 20°C susu segar memiliki viskositas 2,0 cP (Saleh, 2004).

2.1.4 Manfaat Susu

Susu merupakan bahan makanan yang istimewa bagi manusia karena kelezatan dan komposisinya yang ideal selain susu mengandung semua zat yang dibutuhkan oleh tubuh, semua zat makanan yang terkandung didalam susu dapat diserap oleh darah dan dimanfaatkan oleh tubuh. Manfaat susu dapat dirasakan terutama untuk kesehatan tulang (Almatsier, 2009).

Susu mempunyai peranan sangat penting dalam mencegah osteoporosis. Hal ini disebabkan karena susu merupakan sumber kalsium dan fosfor yang sangat penting untuk pembentukan tulang. Selain bermanfaat bagi kesehatan tulang dan gigi, susu juga memiliki manfaat lainnya. Susu diketahui mendatangkan manfaat untuk optimalisasi produk melatonin. Melatonin adalah hormon yang dihasilkan oleh kelenjar pineal pada malam hari. Kehadiran melatonin akan membuat kita merasa mengantuk dan kemudian tubuh bisa beristirahat dengan baik. Susu mengandung banyak asam amino triptofan yang merupakan salah satu bahan dasar melatonin. Sehingga dianjurkan untuk meminum susu sebelum tidur, agar tubuh dapat beristirahat dengan baik. Selain itu, susu juga mempunyai kemampuan mengikat logam-logam yang bertebaran akibat polusi. Dengan demikian, susu

bermanfaat untuk meminimalisasi dampak keracunan logam berat yang secara tidak sengaja masuk kedalam tubuh karena lingkungan yang terpolusi (Khomsan, 2004).

2.2 Kualitas Mutu Susu

Penilaian kualitas susu ada dua macam yaitu secara fisik dan kimiawi. Penilaian kualitas susu secara kimiawi diantaranya dapat berdasarkan kadar lemak, bahan kering, berat jenis dan kadar protein (Kanisius, 1995 dalam Mardalena, 2008). Kualitas air susu terutama ditentukan oleh perlakuan-perlakuan pada waktu pemerahan, penanganan setelah pemerahan, cara-cara penyimpanan air susu sejak keluar dari ambung sampai ke tempat prosesi dan juga penanganan sampai ke tempat konsumen (Anjasari, 2010). Sedangkan menurut SNI 01-3114-1998 mengenai standar susu segar, syarat mutu susu segar adalah sebagaimana tercantum pada tabel 2.4 berikut :

Tabel 2. 2 SNI 01-3114-1998 tentang Standar Mutu Susu Segar

No	Karakteristik	Satuan	Syarat
1	Berat jenis (pada suhu 27,5°C) minimum	g/ml	1,0270
2	Kadar lemak minimum	%	3,0
3	Kadar bahan kering tanpa lemak minimum	%	7,8
4	Kadar protein minimum	%	2,8
5	Warna, bau, rasa, kekentalan	-	Tidak ada perubahan
6	Derajat asan	SH	6,0 – 7,0
7	PH	-	6,3 - 6,8
8	Uji alkohol 70% v/v	-	Negatif
9	Cemaran mikroba maksimum :		

	1. <i>total plate count</i>	CFU/ml	1x10 ⁻⁶
	2. <i>staphylococcus Aureus</i>	CFU/ml	1x10 ⁻²
	3. <i>enterobacteriaeaceae</i>	CFU/ml	1x10 ⁻³
10	Jumlah sel somatis maksimum	Sel/ml	4x10 ⁻⁵
11	Residu antibiotika (golongan Uji pemalsuan penisilin, tetrasiklin, aminoglikosida, makrolida)	-	Negatif
12	Uji pemalsuan	-	Negatif
13	Titik beku	C	-0,520 s.d – 0,560
14	Uji Uji pemalsuan eroxidase	-	Positif
15	Cemaran logam berat maksimum :		
	1. Timbal	µg/ml	0.02
	2. Merkuri	µg/ml	0,03
	3. Arsen	µg/ml	0,1

2.3 Pemalsuan Susu

Susu merupakan cairan yang banyak mengandung nutrisi gizi yang baik. Susu memiliki banyak kandungan vitamin dan mineral yang baik untuk tubuh. Oleh karena itu kemurnian susu perlu untuk diperhatikan agar tidak merusak kandungan nutrisi gizi yang ada di dalam susu tersebut. Dalam kondisi lapang banyak sekali ditemukan kecurangan dengan memalsukan maupun menambahkan larutan atau bahan campuran zat lain ke dalam susu. Susu masih merupakan komoditi peternakan yang terbilang mewah. Hal tersebut dapat membuat banyak pihak meraup keuntungan dengan menambahkan bahan campuran ke dalam susu. Pemalsuan pada susu yang sering dijumpai adalah dengan menambahkan susu dengan air. Tujuan penambahan air tersebut yaitu untuk menambah volume dari

susu sehingga dapat dihargai dengan harga yang sedikit lebih mahal. Selain penambahan air peningkatan volume susu juga dapat dilakukan dengan menambahkan air tajin, santan, bahkan soda kue. Pemalsuan susu lainnya juga dilakukan dengan menambahkan larutan formalin ke dalam susu (Utami, 2013).

2.4 Pati

2.4.1 Definisi pati

Pati merupakan salah satu jenis polisakarida yang banyak terdapat pada tanaman, merupakan polimer dari satuan α -D-glukosa (anhidroglukosa) dengan rumus empiris $(C_6H_{10}O_5)_n$. Satuan dasar pati adalah anhidroglukosa, pengikatan satuan glukosa satu sama lain berakibat kehilangan satu molekul air yang semula terikat dalam bentuk gugus hidroksil. Pati disusun oleh dua satuan polimer utama yaitu amilosa dan amilopektin. Molekul amilosa merupakan polimer dari unit-unit glukosa dengan bentuk ikatan α -1,4- glikosidik, berbentuk rantai lurus, tidak bercabang atau mempunyai struktur heliks yang terdiri dari 200-2000 satuan anhidroglukosa sedangkan amilopektin merupakan polimer unit-unit glukosa dengan ikatan α -1,4- glikosidik pada rantai lurus dan ikatan α -1,6-glikosidik pada percabangan, terdiri dari 10.000-100.000 satuan anhidroglukosa (Adebowale and Lewal, 2003).

Menurut Mali et al. (2004), setiap jenis pati berbeda rasio kandungan amilosa dan amilopektin tergantung pada sumber botaninya. Sedangkan karakteristik setiap jenis pati dipengaruhi oleh sumber botani, bentuk dan ukuran granula pati, rasio amilosa dan amilopektin, kandungan-kandungan dari komponen non pati, struktur kristalin dan amorf.

2.4.2 Jenis Pati

1. Pati aren

Pati aren merupakan hasil ekstraksi empulur pohon aren (*Arenga pinnata* Merr) yang sudah tua (berumur 8-16 tahun). Komponen terbesar yang terkandung dalam batang aren adalah pati (60-70%). Pati aren tersusun atas dua fraksi penting yaitu amilosa yang merupakan fraksi linier dan amilopektin yang merupakan fraksi cabang. Kandungan amilopektin pati aren adalah 70% (Ahmad and Williams, 1998

dalam Widjanarko, 2008). Pati aren memiliki karakteristik seperti yang dijelaskan Ahmad and Williams (1998) dalam Widjanarko (2008), yaitu memiliki ukuran granula rata-rata 30 μm , kadar amilosa $27\pm 3\%$ dan suhu gelatinisasi pati 700°C . Pati aren yang merupakan hasil ekstraksi batang pohon aren akan menghasilkan pasta yang keruh tetapi tidak mempunyai flavor yang mencolok.

2. Tapioka

Tapioka mengandung 83% amilopektin yang mengakibatkan pasta yang terbentuk menjadi bening dan kecil kemungkinan untuk terjadi retrogradasi. Menurut BeeMiller and Whistler (1996) dalam Chen (2003), kandungan amilosa tapioka adalah 17%, serta mengandung 0,1% protein dan 0,1% lemak. Dengan perbandingan amilopektin terhadap amilosa yang tinggi (80:20), tapioka akan menghasilkan tingkat viskositas yang tinggi pula (Chen, 2003). Ukuran granula tapioka 4-35 μm , berbentuk oval, kerucut dengan bagian atas terpotong, dan seperti kettle drum. Suhu gelatinisasi pada $62-73^\circ\text{C}$, sedangkan suhu pembentukan pasta pada 63°C . Tapioka membentuk pasta yang jernih, lengket dan membentuk gel dengan lambat (Chen, 2003).

3. Maizena

Di Indonesia, maizena dalam perdagangan disebut tepung maizena. Proses pembuatan pati meliputi perendaman, penggilingan kasar, pemisahan lembaga dan endosperm, pemisahan serat kasar dari pati dan gluten, pemisahan gluten dari pati, dan pengeringan pati (Richana dan Suarni, 2007). Maizena mempunyai ukuran granula yang cukup besar dan tidak homogen yaitu 1-7 μm untuk yang kecil dan 15-20 μm untuk yang besar. Granula besar berbentuk oval polihedral dengan diameter 6-30 μm . Suhu gelatinasi maizena adalah 80°C berbeda dengan tapioka dengan suhu gelatinasinya 74°C (Singh et al., 2005). Maizena mengandung 74- 76% amilopektin dan 24-26% amilosa. Maizena menghasilkan pasta yang keruh dengan viskositas tinggi dan gel yang kaku. Karena maizena berasal dari sereal umumnya pati ini mempunyai flavor yang disebut cereal-like (Estiasih, 2006).

4. Tepung terigu

Tepung terigu adalah tepung atau bubuk halus yang berasal dari bulir/biji gandum yang di haluskan, kemudian biasanya digunakan untuk pembuatan mie, kue dan roti. Tepung terigu mengandung banyak zat pati, yaitu karbohidrat kompleks yang tidak larut dalam air. Tepung terigu juga mengandung protein dalam bentuk gluten, yang berperan dalam menentukan kekenyalan makanan yang terbuat dari bahan terigu (Aptindo, 2012). Menurut buku *Professional Baking 6th edition* Gisslen, Wayne (2013), tepung terigu sebagian besar terdiri dari pati. Tepung terigu memiliki sekitar 68-78% pati. Pati merupakan molekul karbohidrat kompleks yang terdiri dari ikatan gula yang sederhana yang bentuknya berupa buliran - buliran kecil dan buliran ini akan utuh sampai mereka bercampur dengan air, jika tercampur dengan air, maka pati akan menyerap air dan mengembang.

2.5 Metode Analisis Pati

2.5.1 Titrasi Iodometri (Luff Schoorl)

Ada dua tipe titrasi dengan menggunakan iodium, yaitu titrasi langsung dan titrasi tidak langsung. Reaksi reversibel $2I \rightleftharpoons I_2 + 2e$ dapat digunakan dalam analisis dengan zat pereduksi seperti tiosulfat dan arsenit dengan menggunakan larutan baku iodium. Metode titrasi langsung ini dikenal sebagai metode iodimetri. Reaksi reversibel yang sama dapat digunakan secara tidak langsung dalam analisis dengan zat pengoksidasi seperti garam besi dan tembaga, setra klorin. Metode titrasi tidak langsung ini dikenal sebagai iodometri. Dalam metode iodometri, sampel dari zat pengoksidasi dikurangi dengan kelebihan kalium iodida dan ekuivalen dengan jumlah iodium yang dihasilkan. Iodium kemudian dititrasi dengan larutan standar natrium tiosulfat (Jenkins, Knevel, dan Digangi 1967).

Metode iodometri memasukan beberapa prosedur yang paling cermat dalam analisis titimetri, karena adanya iodium dalam larutan dideteksi dengan menggunakan larutan indikator kanji. Pada beberapa prosedur, warna dari iodium itu sendiri dapat digunakan dalam pengamatan titik akhir titrasi. Iodium yang terkandung dalam pelarut memberi warna yang jelas. Warna larutan iodium cukup tua sehingga iodium dapat bertindak sebagai indikatornya sendiri titik iodium juga memberikan suatu warna ungu atau lembayung pada pelarut seperti karbon tetraklorida atau kloroform, dan kadang-kadang ini digunakan dalam mendeteksi

titik akhir titrasi. Tetapi lebih lazim digunakan suatu larutan (dispersi koloid) kanji, karena warna biru tua kompleks dari iodium berperan sebagai uji kepekaan terhadap iodium. Kepekaan itu lebih besar dalam larutan sedikit asam daripada dalam larutan netral dan lebih besar dengan adanya ion iodida (Day dan Underwood, 1999).

Interaksi antara iodium dengan dispersi koloid kanji menghasilkan warna biru yang intensif dan warna ini dapat berubah secara reversibel. Warna ini dapat hilang ketika jumlah iodium telah berkurang oleh reaksi dengan natrium tiosulfat atau zat pereduksi lainnya. Sensitivitas dari indikator baik pada larutan sedikit asam dan menurun secara berarti pada temperatur 25°C larutan elektrolit kuat, alkohol dan pelarut organik lainnya. Warna yang reversible akan berkurang saat konsentrasi iodium tinggi titik karena alasan ini, indikator tidak boleh ditambahkan pada akhir dari prosedur iodimetri atau pada prosedur iodometri setelah jumlah iodium sebagian besar telah berkurang, yang terlihat dengan perubahan warna dari larutan coklat menjadi kekuningan (Jenkins et al, 1967).

Salah satu metode yang bisa digunakan untuk menentukan kadar pati pada buah sukun adalah metode Luff Schoorl, disamping metode enzimatik dan metode kromatografi. Metode ini digunakan untuk menentukan kadar karbohidrat sedang dan merupakan metode terbaik karena memiliki kesalahan sebesar 10% untuk mengukur kadar karbohidrat, serta lebih praktis dan murah biayanya. Prinsip metode ini adalah iodometri, dimana proses iodometri adalah proses titrasi terhadap iodium (I₂) bebas dalam larutan (Underwood, 2014). Metode ini digunakan untuk menentukan kadar karbohidrat sedang dan merupakan metode terbaik karena memiliki kesalahan sebesar 10% untuk mengukur kadar karbohidrat, serta lebih praktis dan murah biayanya. Prinsip metode ini adalah iodometri, dimana proses iodometri adalah proses titrasi terhadap iodium (I₂) bebas dalam larutan (Underwood, 2014).

2.5.2 Penentuan Titik Beku

Setiap larutan memiliki titik beku yang berbeda-beda. Titik beku suatu larutan akan berubah jika tekanan uapnya juga berubah. Hal ini disebabkan oleh masuknya zat terlarut yang mempengaruhi perubahan titik beku. Jadi, jika suatu zat terlarut ditambahkan ke dalam larutan, titik beku larutan tersebut akan berubah. Besarnya

perbedaan antara titik beku zat pelarut dengan titik beku larutan disebut penurunan titik beku (ΔT_f) (Parning, 2007).

Titik beku dan titik didih suatu larutan bergantung pada kesetimbangan pelarut dalam larutan dengan pelarut padatan, selain itu juga bergantung pada kesetimbangan pelarut dengan pelarut murni (air). Pada saat terjadi kesetimbangan, maka dapat tercapai titik beku atau titik didihnya (Wahyuni, 2013).

Prinsip metode ini adalah kenaikan atau penurunan titik beku susu adalah selisih antara titik beku air dengan standar titik beku susu. Kenaikan titik beku menyatakan adanya indikasi penambahan air, sedangkan penurunan titik beku menyatakan adanya indikasi penambahan susu bubuk atau tepung (SNI 01-2782-1998, 1992).

2.5.3 Metode Iodin

Kondensasi iodin dengan karbohidrat pada uji iodin, monosakarida dapat menghasilkan warna yang khas. Hal ini disebabkan karena dalam larutan pati, terdapat unit-unit glukosa yang membentuk rantai heliks karena adanya ikatan dengan konfigurasi pada tiap unit glukosanya. Bentuk ini menyebabkan pati dapat membentuk kompleks dengan molekul iodium yang dapat masuk ke dalam spiralnya, sehingga menyebabkan warna biru tua pada kompleks tersebut (Fessenden, 1986).

Fraksi terlarut disebut amilosa ($\pm 20\%$) dengan struktur molekul linier, sebaliknya fraksi yang tidak larut disebut amilopektin ($\pm 80\%$) dengan struktur bercabang. Dengan penambahan iodium, fraksi amilosa akan memberikan warna biru yang dibentuk oleh amilosa dan iodium dari struktur amilosa sehingga warna biru menjadi hilang (Hermanto, 2011).

Dalam suasana asam dengan pemanasan, pati akan terhidrolisis menjadi senyawa karbohidrat yang telah sederhana. Hidrolisis pati dengan asam klorida akan menghasilkan molekul glukosa sedangkan hidrolisis pati oleh enzim akan menghasilkan maltosa yang selanjutnya akan menghasilkan glukosa. Pengujian laju hidrolisis dapat dilakukan dengan penambahan iodium. Tahap pada saat larutan

hasil hidrolisis sudah tidak menimbulkan warna biru dengan iodium disebut titik akromatik (Hemanto, 2011).

2.5.4 Analisis Kolorimetri secara Pencitraan Digital

Kolorimetri merupakan suatu teknik analisis kuantitatif untuk sampel berwarna, yang digunakan untuk menentukan konsentrasi suatu zat berdasarkan intensitas cahaya warna larutan. Pengembangan teknik analisis kolorimetri dengan menggunakan alat yang sederhana dan relatif mudah penggunaannya telah dilakukan oleh beberapa peneliti diantaranya telah melakukan penelitian dengan menggunakan alat scanner dan teknik pencitraan digital dari sampel larutan pewarna makanan. Kurva standar yang dihasilkan merupakan hasil pengolahan data dengan teknik pencitraan digital. Di mana hasil pencitraan digital diperoleh 1 (satu) buah kurva standar untuk salah satu komponen warna RGB. Intensitas cahaya warna yang dihasilkan oleh setiap larutan berwarna setara dengan konsentrasinya. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini adalah kurva standar untuk komponen warna RGB, yaitu komponen warna Red (R), Green (G), dan Blue (B) untuk setiap sampel yang diukur, tidak hanya salah satu warna yang digunakan sebagai kurva standarnya seperti yang dilakukan oleh peneliti sebelumnya (Rusmawan dkk, 2011). Teknik ini menggunakan software *Image J* 1.48 untuk menghasilkan intensitas pada masing-masing warna komplementer, merah, hijau, biru kemudian diolah dalam penentuan absorbansi dengan menggunakan persamaan Lambert-Beer (Rismiarti, 2018).

2.5.4.1 Waktu Respon

Waktu respon dari suatu piranti analisis seperti sensor kimia, dapat dinyatakan sebagai waktu antara pertama kali sensor direaksikan dengan analit dan waktu pertama kali respon sensor menghasilkan sinyal yang stabil (steady-state). Waktu pakai sensor dapat dinyatakan sebagai waktu yang dibutuhkan untuk memberikan reaksi yang sama dan stabil terhadap suatu analit pada konsentrasi tertentu hingga waktu respon tersebut mengalami penurunan drastis (biasanya lebih dari 15% dari respon sensor awal) (Kuswandi, 2010).

2.5.4.2 Linieritas

Linieritas adalah kemampuan suatu metode analisis yang memberikan respon secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Linearitas biasanya dinyatakan dalam istilah variansi sekitar arah garis regresi yang dihitung berdasarkan persamaan matematik data yang diperoleh dari hasil uji analit dalam sampel dengan berbagai konsentrasi analit. Perlakuan matematik dalam pengujian linearitas adalah melalui persamaan garis lurus dengan metode kuadrat terkecil antara hasil analisis terhadap konsentrasi analit (Harmita, 2004).

Dalam praktek, digunakan satu seri larutan yang berbeda konsentrasinya antara 50 – 150% kadar analit dalam sampel. Di dalam pustaka, sering ditemukan rentang konsentrasi yang digunakan antara 0 – 200%. Jumlah sampel yang dianalisis sekurang-kurangnya delapan buah sampel blanko. Sebagai parameter adanya hubungan linier digunakan koefisiensi korelasi r pada analisis regresi linier $Y = a + bx$ dan juga nilai V_{x0} . Hubungan Linier yang ideal dicapai jika nilai $r = +1$ atau -1 bergantung pada arah garis (Harmita, 2004) dan nilai $V_{x0} < 5\%$ (Ermer & Miller, 2005).

2.5.4.3 Batas Kuantitasi dan Batas Deteksi

Batas deteksi (LOD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon yang signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Pada analisis yang tidak menggunakan instrumen batas tersebut ditentukan dengan mendeteksi analit dalam sampel pada pengenceran bertingkat. Pada analisis instrumen, batas deteksi dapat dihitung dengan mengukur respon blanko beberapa kali lalu dihitung simpangan baku respon blanko. Batas kuantitasi (LOQ) merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria presisi dan akurasi (Harmita, 2004). Perhitungan batas deteksi dan kuantitasi dapat dilihat pada persamaan 2.1 di bawah ini:

$$Q = \frac{kssb}{S_1}$$

Dimana, Q = LOD (batas deteksi) atau LOQ (batas kuantitasi)

K = untuk LOD dan 10 untuk LOQ

Sb = simpangan baku respon analitik dari blanko

S1 = arah garis linier dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (b pada persamaan garis $y = a + bx$)

2.5.4.4 Selektivitas

Selektivitas adalah kemampuan untuk mengukur analit yang dituju secara tepat dan spesifik dengan adanya komponen-komponen lain dalam matriks sampel seperti ketidakmurnian, produk degradasi dan komponen matriks (Gandjar & Rohman, 2007). Selektivitas seringkali dapat dinyatakan sebagai derajat penyimpangan (degree of bias) metode yang dilakukan terhadap sampel yang mengandung bahan yang ditambahkan berupa cemaran, hasil urai, senyawa sejenis, senyawa asing lainnya dan dibandingkan terhadap hasil analisis sampel yang tidak mengandung bahan lain yang ditambahkan (Hermita, 2004). Selektivitas metode analisis dikategorikan baik apabila persen interferensi $< \pm 5\%$. Rumusnya ditentukan di bawah ini:

$$\% \text{ Interferensi} = \frac{(\text{Mean RGB Sp} - \text{Mean RGB Ss})}{\text{Mean RGB Fs}} \times 100\%$$

Keterangan:

Sp = Susu dengan pengganggu

Ss = Standar Susu

2.5.4.5 Presisi

Presisi pada sensor kimia dapat dinyatakan sebagai kedekatan respon sensor terhadap respon lainnya untuk analit yang sama. Presisi sering pula dinyatakan dalam ukuran reproduibilitas dari suatu set pengukuran sensor terhadap analit. Sehingga biasanya dinyatakan dalam bentuk standar deviasi (s), baik standar deviasi relatif (RSD) maupun koefisien variasi (KV) (Kuswandi, 2010)

Kriteria presisi diberikan jika metode memberikan nilai RSD 2% atau kurang. Akan tetapi kriteria ini sangat fleksibel tergantung pada konsentrasi analit yang diperiksa, jumlah sampel, dan kondisi laboratorium. Dari penelitian dijumpai bahwa RSD meningkat dengan menurunnya kadar analit yang dianalisis (Harmita, 2004). Penentuan parameter presisi ditunjukkan pada Persamaan 2.3 dan 2.4 berikut ini:

$$SD = \sqrt{(\sum([x - \bar{x}]^2)/(n - i))}$$

$$CV = SD/\bar{x} \times 100\%$$

Keterangan:

SD = standar deviasi

\bar{x} = sinyal rata-rata sampel

CV = koefisien variasi

Rentang RSD yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit dapat dilihat pada Tabel 2.2 di bawah ini: (Huber, 2007).

Tabel 2. 3 Konsentrasi analit vs presisi (Huber 2007)

Analit pada sampel (%)	RSD (%)
100	1,3
>10	2,8
>1	2,7
>0,1	3,7
0,01	5,3
0,001	7,3
0,0001 (1 ppm)	11
0,00001 (100 ppb)	15
0,000001 (10 ppb)	21
0,0000001 (1ppb)	30

2.5.4.6 Akurasi

Akurasi merupakan ketelitian metode analisis atau kedekatan antara nilai terukur dengan nilai yang diterima baik nilai konvensional, nilai sebenarnya atau nilai rujukan. Akurasi diukur sebagai banyaknya analit yang diperoleh kembali (recovery) pada suatu pengukuran dengan melakukan spiking pada suatu sampel (Gandjar & Rohman, 2007). Akurasi dapat ditentukan dengan dua metode, yaitu (Harmita, 2004):

- a. Metode simulasi (spike-placebo recovery), yaitu pengukuran sejumlah analit bahan murni yang ditambahkan kedalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi (plasebo) dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang sebenarnya. Penentuan persen perolehan kembali dapat ditentukan dengan menggunakan tiga macam konsentrasi antara 80%-120% kali dari kadar analit yang diperkirakan.
- b. Metode penambahan standar atau pembandingan (*standard addition method*), yaitu menambahkan sejumlah tertentu analit dalam sampel yang telah dianalisis untuk selanjutnya dianalisis kembali. Penambahan analit ditentukan dengan menggunakan tiga macam konsentrasi antara 30%-60% kali dari kadar analit yang diperkirakan (Indrayanto & Yuwono, 2002). Perhitungan % recovery dapat ditentukan dengan persamaan 2.3 berikut ini:

$$\% Recovery = \frac{\text{Konsentrasi hasil percobaan}}{\text{Konsentrasi teoritis}} \times 100\%$$

Tabel 2. 4 % Recovery pada konsentrasi yang berbeda

Analit pada sampel (%)	% recovery
100	98-102
>10	98-102
>1	97-103
>0,1	95-105
0,01	90-107

0,001	90-107
0,0001 (1 ppm)	80-110
0,00001 (100 ppb)	80-110
0,000001 (10 ppb)	60-115
0,0000001 (1ppb)	40-120

2.5.4.7 Image J

Program Image J digunakan untuk penentuan nilai RGB dengan didasarkan pada hasil perhitungan nilai yang mewakili dari tiga warna primer red, green dan blue. Pemilihan red, green dan blue karena merupakan warna cahaya yang dapat menghasilkan spektrum. Selain itu, ketiga warna tersebut dapat bergabung secara bersamaan membentuk banyak warna. Cahaya putih diperoleh ketika intensitas tertinggi dari setiap warna digabungkan secara bersama sedangkan cahaya hitam akan terbentuk ketika setiap warna digabungkan secara bersama pada intensitas yang sama dengan nol (Ferreira dan Rasband, 2010). Menurut hasil penelitian Robot, dkk (2018), pengukuran dalam bentuk citra digital menggunakan perangkat lunak ImageJ sangat efektif untuk diterapkan. Pada penelitian ini, sebelum semua data citra diukur secara otomatis menggunakan perangkat ImageJ, sebelumnya dilakukan uji beberapa daun untuk diukur secara manual. Hasil pengukuran secara manual kemudian dibandingkan dengan pengukuran secara otomatis menggunakan ImageJ. Data yang dihasilkan dari pengukuran secara otomatis menunjukkan hasil yang sama dengan pengukuran manual.