



BADAN STANDARDISASI NASIONAL

Alamat : Gedung I BPPT Lantai 9 - 14, Jalan M.H. Thamrin No. 8, Jakarta 10340

Telepon : (021) 3927422 Faksimile : (021) 3927527 Hotline : (021) 3917300

Situs <http://www.bsn.go.id> email : bsn@bsn.go.id

Nomor : 2543 /BSN/B2-b2/8/2019
Lampiran : 4 (empat) berkas
Hal : Penyampaian Keputusan
Kepala Badan Standardisasi Nasional

Jakarta, 9 Agustus 2019

Kepada Yth.
Kepala Pusat Standardisasi Industri
Badan Penelitian dan Pengembangan Industri
Kementerian Perindustrian
di Jakarta

Bersama ini kami sampaikan:

1. Keputusan Kepala Badan Standardisasi Nasional Nomor 356/KEP/BSN/8/2019 tentang Penetapan Standar Nasional Indonesia 3742:2019 Bihun instan sebagai revisi dari Standar Nasional Indonesia 01-3742-1995 Bihun instan;
 2. Keputusan Kepala Badan Standardisasi Nasional Nomor 357/KEP/BSN/8/2019 tentang Penetapan Standar Nasional Indonesia 8779:2019 Gula sukrosa cair;
 3. Keputusan Kepala Badan Standardisasi Nasional Nomor 358/KEP/BSN/8/2019 tentang Penetapan Standar Nasional Indonesia 8776:2019 Daging *luncheon*; dan
 4. Keputusan Kepala Badan Standardisasi Nasional Nomor 359/KEP/BSN/8/2019 tentang Penetapan Standar Nasional Indonesia 8775:2019 Daging asap;
- untuk diketahui dan dipergunakan sebagaimana mestinya.

Atas perhatian dan kerja samanya, kami mengucapkan terima kasih.

Kepala Biro Sumber Daya Manusia,
Organisasi, dan Hukum,



Iryana Margahayu

Tembusan:

1. Sekretaris Utama, BSN;
2. Deputi Bidang Pengembangan Standar, BSN;
3. Direktur Sistem Penerapan Standar dan Penilaian Kesesuaian, BSN;
4. Direktur Akreditasi Lembaga Inspeksi dan Lembaga Sertifikasi, BSN;
5. Direktur Pengembangan Standar Agro, Kimia, Kesehatan, dan Halal, BSN;
6. Direktur Pengembangan Standar Mekanika, Energi, Elektronika, Transportasi, dan Teknologi Informasi, BSN;
7. Direktur Pengembangan Standar Infrastruktur, Penilaian Kesesuaian, Personal, dan Ekonomi Kreatif, BSN;
8. Direktur Sistem Penerapan Standar dan Penilaian Kesesuaian, BSN;
9. Kepala Biro Hubungan Masyarakat, Kerja Sama, dan Layanan Informasi, BSN; dan
10. Kepala Pusat Data dan Sistem Informasi, BSN



BADAN STANDARDISASI NASIONAL

KEPUTUSAN KEPALA BADAN STANDARDISASI NASIONAL

NOMOR 359/KEP/BSN/8/2019

TENTANG

PENETAPAN STANDAR NASIONAL INDONESIA

8775:2019 DAGING ASAP

KEPALA BADAN STANDARDISASI NASIONAL,

- Menimbang :
- a. bahwa untuk memenuhi kepentingan perlindungan terhadap konsumen, pelaku usaha, tenaga kerja, masyarakat lainnya, mengembangkan tumbuhnya persaingan yang sehat, keselamatan, keamanan, kesehatan, dan kelestarian fungsi lingkungan hidup, Rancangan Akhir Standar Nasional Indonesia yang disusun oleh Komite Teknis perlu ditetapkan menjadi Standar Nasional Indonesia;
 - b. bahwa Rancangan Akhir Standar Nasional Indonesia sebagaimana dimaksud dalam huruf a, telah dikonsensuskan dan dinyatakan memenuhi persyaratan untuk ditetapkan menjadi Standar Nasional Indonesia;
 - c. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud dalam huruf a dan huruf b, perlu menetapkan Keputusan Kepala Badan Standardisasi Nasional tentang Penetapan Standar Nasional Indonesia 8775:2019 Daging asap;



BADAN STANDARDISASI NASIONAL

- 2 -

- Mengingat :
1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2014 tentang Standardisasi dan Penilaian Kesesuaian (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2014 Nomor 216, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 5584);
 2. Peraturan Pemerintah Nomor 34 Tahun 2018 tentang Sistem Standardisasi dan Penilaian Kesesuaian Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2018 Nomor 110, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 6225);
 3. Peraturan Presiden Nomor 4 Tahun 2018 tentang Badan Standardisasi Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 10);
 4. Peraturan Badan Standardisasi Nasional Nomor 3 Tahun 2018 tentang Pedoman Pengembangan Standar Nasional Indonesia (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2018 Nomor 578);
 5. Peraturan Badan Standardisasi Nasional Nomor 12 Tahun 2018 tentang Perubahan Atas Peraturan Badan Standardisasi Nasional Nomor 1 Tahun 2018 tentang Pedoman Tata Cara Penomoran Standar Nasional Indonesia (Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2018 Nomor 1762);
- Memperhatikan : Surat Kepala Pusat Standardisasi Industri, Badan Penelitian dan Pengembangan Industri, Kementerian Perindustrian; Nomor: 06/BPPI.4/1/2019 tanggal 3 Januari 2019 Perihal Pengiriman RSNI3 KT 67-04;



BADAN STANDARDISASI NASIONAL

- 3 -

MEMUTUSKAN:

- Menetapkan : KEPUTUSAN KEPALA BADAN STANDARDISASI NASIONAL TENTANG PENETAPAN STANDAR NASIONAL INDONESIA 8775:2019 DAGING ASAP.
- KESATU : Menetapkan Standar Nasional Indonesia 8775:2019 Daging asap.
- KEDUA : Keputusan Kepala Badan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Jakarta

pada tanggal 6 Agustus 2019

KEPALA BADAN STANDARDISASI NASIONAL,



BAMBANG PRASETYA



Standar Nasional Indonesia

Daging asap

© BSN 2019

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

BSN

Email: dokinfo@bsn.go.id

www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar isi	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup	1
2 Acuan normatif	1
3 Istilah dan definisi.....	2
4 Bahan	2
5 Syarat mutu.....	3
6 Pengambilan contoh	4
7 Cara uji	4
8 Syarat lulus uji.....	5
9 Higiene.....	5
10 Pengemasan.....	5
11 Penandaan	5
Lampiran A (normatif) Cara uji daging asap.....	6
Bibliografi.....	27
 Tabel 1 – Syarat mutu daging asap	 3
Tabel 2 – Kriteria mikrobiologi untuk daging asap tanpa pemasakan.....	3
Tabel 3 – Kriteria mikrobiologi untuk daging asap dengan pemasakan	4

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) 8775:2019 dengan judul *Daging asap* ini dirumuskan dengan tujuan sebagai berikut:

1. Mengembangkan standar dengan mengikuti perkembangan teknologi;
2. Mengembangkan standar dengan mengikuti peraturan-peraturan yang berlaku;
3. Melindungi produsen
4. Melindungi konsumen;
5. Menjamin perdagangan pangan yang jujur dan bertanggung jawab;
6. Mendukung perkembangan dan diversifikasi daging dan olahan daging.

Standar ini dirumuskan oleh **Komite Teknis 67-04, Makanan dan Minuman**, yang telah dibahas melalui rapat teknis, dan disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 6 Nopember 2018 di Jakarta. Hadir dalam rapat tersebut wakil dari pemerintah, konsumen, pakar, pelaku usaha, dan instansi terkait lainnya.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 18 Februari 2019 sampai dengan tanggal 19 April 2019 dengan hasil akhir RASNI.

Perlu diperhatikan bahwa kemungkinan beberapa unsur dari dokumen standar ini dapat berupa hak paten. Badan Standardisasi Nasional tidak bertanggung jawab untuk pengidentifikasian salah satu atau seluruh paten yang ada.

Daging asap

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan istilah dan definisi, bahan, syarat mutu, pengambilan contoh, dan cara uji untuk daging asap.

Standar ini hanya berlaku untuk daging asap yang dibuat dengan bahan baku daging sapi, kerbau, kambing, domba, babi, kelinci, unggas dan/atau hewan ternak lainnya

2 Acuan normatif

Dokumen berikut merupakan bagian tidak terpisahkan untuk menggunakan dokumen ini. Untuk acuan bertanggung, hanya edisi yang diacu digunakan. Untuk acuan tidak bertanggung, edisi terakhir dari dokumen acuan (termasuk amandemen) digunakan.

SNI 0428, *Petunjuk pengambilan contoh padatan*.

SNI ISO 6579, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Metode horizontal untuk deteksi Salmonella spp.*

SNI ISO 6887-1, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Penyiapan contoh uji, suspense awal dan pengenceran desimal untuk pengujian mikrobiologi – Bagian 1: Aturan umum untuk penyiapan suspensi awal dan pengenceran desimal*.

SNI ISO 6887-2, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Penyiapan contoh uji, suspensi awal dan pengenceran desimal untuk pengujian mikrobiologi – Bagian 2: Aturan khusus untuk penyiapan daging dan produk daging*.

SNI ISO 6888-1, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Metode horizontal untuk enumerasi staphylococci koagulasi – positif (Staphylococcus aureus dan spesies lain) – Bagian 1: Teknik menggunakan media Baird – Parker agar*.

SNI ISO 6888-2, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Metode horizontal untuk enumerasi staphylococci koagulasi – positif (Staphylococcus aureus dan spesies lain) – Bagian 2: Teknik menggunakan media rabbit plasma fibrinogen agar*.

SNI ISO 7218, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan – Persyaratan umum dan pedoman untuk pengujian mikrobiologi*.

SNI ISO 16649-2, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan - Metode horizontal enumerasi – glucuronidase - Escherichia coli positif - Bagian 2: Teknik penghitungan koloni pada suhu 44 °C dan 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-D-glucuronide*.

SNI ISO 7937, *Mikrobiologi bahan pangan dan pakan- Metode horizontal untuk enumerasi Clostridium perfringens – Teknik penghitungan koloni*.

3 Istilah dan definisi

Untuk tujuan penggunaan dokumen ini, istilah dan definisi berikut ini berlaku.

3.1

daging asap

produk yang diperoleh dari daging atau kombinasi dua jenis daging atau lebih dalam bentuk utuh atau potongan, dengan atau tanpa penambahan bahan *curing*, diasap dengan menggunakan sumber asap dan/atau perisa asap, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan, dapat dimasak, dan dapat disimpan dalam suhu dingin

3.2

daging untuk daging asap

daging sapi, kerbau, kambing, domba, babi, kelinci, unggas dan/atau hewan ternak lainnya

3.3

bahan *curing*

garam dan natrium atau kalium nitrit tara pangan

3.4

sumber asap

kayu keras yang bebas dari cat, lem dan bahan pengawet kayu serta tidak berjamur, yang dapat berbentuk batangan kayu atau berbentuk serbuk gergaji atau berbentuk pelet kayu atau berbentuk keping

3.5

perisa asap

jenis perisa yang diperoleh dari kayu keras termasuk serbuk gergaji, tempurung dan atau tanaman berkayu melalui proses pembakaran terkontrol atau destilasi kering atau perlakuan dengan uap yang sangat panas dan selanjutnya dikondensasi serta difraksinasi untuk mendapatkan flavour yang diinginkan

4 Bahan

4.1 Bahan baku

Daging untuk daging asap.

4.2 Bahan pangan lain

Bahan pangan yang sesuai untuk daging asap.

CATATAN 1 Bahan pangan tidak boleh berupa jeroan.

CATATAN 2 Untuk bahan baku daging unggas, dapat termasuk kulit.

4.3 Bahan tambahan pangan

Bahan tambahan pangan yang diizinkan untuk daging asap sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

5 Syarat mutu

Syarat mutu daging asap sesuai Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1 – Syarat mutu daging asap

No	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Warna	-	normal
1.2	Bau	-	normal
1.3	Rasa	-	normal
2	Protein (N x 6,25)	fraksi massa, %	min. 13
3	Lemak	fraksi massa, %	maks. 20 / maks. 50 *)
4	Cemaran logam		
4.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,50
4.2	Kadmium (Cd)	mg/kg	maks. 0,05
4.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40/ maks. 250**)
4.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,03
5	Cemaran arsen (As)	mg/kg	maks. 0,25
6	Cemaran mikroba		
6.1	Daging asap tanpa pemasakan		Lihat Tabel 2
6.2	Daging asap dengan pemasakan		Lihat Tabel 3
CATATAN *) Untuk bahan baku daging babi **) Untuk produk dikemas dalam kaleng			

Tabel 2 – Kriteria mikrobiologi untuk daging asap tanpa pemasakan

No	Jenis cemaran mikroba	n	c	m	M
1	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ¹ koloni/g	10 ² koloni/g
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	2,5 × 10 ² koloni/ g	10 ⁴ koloni/g
3	<i>Salmonella</i>	5	0	negatif/ 25 g	NA
CATATAN: n adalah jumlah sampel yang diambil dan dianalisis c adalah jumlah maksimum sampel yang boleh melampaui batas mikroba untuk menentukan keberterimaan suatu produk pangan m,M adalah batas mikroba NA adalah <i>Not applicable</i>					

Tabel 3 – Kriteria mikrobiologi untuk daging asap dengan pemasakan

No	Jenis cemaran mikroba	n	c	M	M
1	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ¹ koloni/g	10 ² koloni/g
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	10 ² koloni/ g	10 ⁴ koloni/g
3	<i>Salmonella</i>	5	0	negatif/ 25 g	NA
4	<i>Clostridium perfringens</i>	5	1	10 ² koloni/ g	10 ⁴ koloni/g
CATATAN: n adalah jumlah sampel yang diambil dan dianalisis c adalah jumlah maksimum sampel yang boleh melampaui batas mikroba untuk menentukan keberterimaan suatu produk pangan m,M adalah batas mikroba NA adalah <i>Not applicable</i>					

6 Pengambilan contoh

Cara pengambilan contoh sesuai dengan SNI 0428.

7 Cara uji

Cara uji untuk daging asap seperti di bawah ini:

- a) Persiapan contoh sesuai Lampiran A.1;
- b) Cara uji keadaan sesuai Lampiran A.2;
 - Cara uji warna sesuai Lampiran A.2.1
 - Cara uji bau sesuai Lampiran A.2.2
 - Cara uji rasa sesuai Lampiran A.2.3
- c) Cara uji protein sesuai Lampiran A.3;
- d) Cara uji lemak sesuai Lampiran A.4;
- e) Cara uji cemaran logam sesuai Lampiran A.5;
 - Cara uji kadmium (Cd) dan timbal (Pb) sesuai Lampiran A.5.1;
 - Cara uji timah (Sn) sesuai Lampiran A.5.2;
 - Cara uji merkuri (Hg) sesuai Lampiran A.5.3.
- f) Cara uji cemaran arsen (As) sesuai Lampiran A.6;
- g) Cara uji cemaran mikroba sesuai dengan:
 - Penyiapan contoh cara uji cemaran mikroba sesuai dengan SNI ISO 6887-1 dan SNI ISO 6887-2;
 - Cara uji *Escherichia coli* sesuai dengan SNI ISO 16649-2;
 - Cara uji *Staphylococcus aureus* sesuai dengan SNI ISO 6888-1 dan/atau SNI ISO 6888-2;
 - Cara uji *Salmonella* sesuai dengan SNI ISO 6579
 - Cara uji *Clostridium perfringens* sesuai dengan SNI ISO 7937.

8 Syarat lulus uji

Produk dinyatakan lulus uji apabila memenuhi syarat mutu pada Tabel 1.

9 Higiene

Cara memproduksi produk yang higienis termasuk cara penyiapan dan penanganannya sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

10 Pengemasan

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

11 Penandaan

Syarat penandaan sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Lampiran A
(normatif)
Cara uji daging asap

A.1 Persiapan contoh

Pengujian contoh terdiri atas persiapan contoh untuk uji mikrobiologi, uji keadaan dan uji kimia. Untuk uji mikrobiologi diperlukan 5 buah kemasan daging asap. Apabila jumlah contoh hanya 5 kemasan, maka pengambilan contoh untuk uji mikrobiologi dilakukan pertama, kemudian dilanjutkan dengan pengambilan contoh untuk uji keadaan dan uji kimia. Apabila jumlah contoh lebih dari 5 kemasan maka pengambilan contoh untuk uji keadaan dan uji kimia dapat dilakukan bersamaan, tetapi contoh diambil dari kemasan yang tidak digunakan untuk uji mikrobiologi.

A.1.1 Persiapan contoh untuk uji mikrobiologi

Ambil 5 kemasan contoh daging asap, buka dan ambil contoh secara aseptik dari masing-masing kemasan sebanyak 150 g, kemudian tempatkan dalam 5 botol contoh steril.

CATATAN Untuk kemasan yang berisi kurang dari 150 g, ambil jumlah kemasan yang memungkinkan persiapan contoh sebanyak 150 g, dan dianggap satu contoh. Lakukan sebanyak 5 kali persiapan contoh, kemudian tempatkan dalam 5 botol contoh steril.

A.1.2 Persiapan contoh untuk uji keadaan

Buka kemasan contoh daging asap dan ambil contoh secukupnya, kemudian tempatkan dalam botol contoh yang bersih dan kering.

A.1.3 Persiapan contoh untuk uji kimia

Untuk mencegah kehilangan air selama persiapan dan penanganan berikutnya, jangan gunakan contoh uji berukuran kecil. Siapkan contoh uji untuk analisis dengan cara sebagai berikut :

- a) Keluarkan contoh dari kemasan; masukkan dalam pencacah makanan dan segera mulai lakukan semua analisis. Jika terjadi penundaan, dinginkan contoh uji untuk menghambat dekomposisi.
- b) Dinginkan sampel sebelum digunakan. Pembersihan dan pengumpulan sampel dari dinding wadah harus dilakukan dengan baik dan segera, terutama untuk daging dengan kandungan lemak di atas 16 %.

A.2 Keadaan

A.2.1 Warna

A.2.1.1 Prinsip

Pengamatan contoh dengan indera penglihat (mata) yang dilakukan oleh panelis untuk pengujian keadaan.

A.2.1.2 Cara kerja

- a) Ambil contoh uji secukupnya dan letakkan di atas gelas arloji yang bersih dan kering;
- b) lihat warna contoh uji;

- c) lakukan pengerjaan minimal oleh 3 orang panelis atau 1 orang panelis terlatih.

A.2.1.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika terlihat warna sesuai dengan warna khas daging asap maka hasil dinyatakan "normal";
 b) jika terlihat warna lain selain warna khas daging asap maka hasil dinyatakan "tidak normal".

A.2.2 Bau

A.2.2.1 Prinsip

Pengujian contoh dengan indera penciuman yang dilakukan oleh panelis untuk pengujian keadaan.

A.2.2.2 Cara kerja

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

A.2.2.3 Cara menyatakan hasil

- a) Jika tidak tercium bau asing, maka hasil dinyatakan "normal"; dan
 b) jika tercium bau asing, maka hasil dinyatakan "tidak normal".

A.2.3 Rasa

A.2.3.1 Prinsip

Pengujian contoh dengan indera pengecap (lidah) yang dilakukan oleh panelis untuk pengujian keadaan.

A.2.3.2 Cara kerja

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

A.2.3.3 Cara menyatakan hasil

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

A.3 Kadar protein ($N \times 6,25$)

A.3.1 Kadar Nitrogen

A.3.1.1 Prinsip

Contoh didestruksi dengan asam sulfat konsentrat, menggunakan tembaga (II) sulfat sebagai katalis, untuk mengubah nitrogen organik menjadi ion amonium; alkalisasi dan destilasi amonium bebas menjadi larutan asam borat yang berlebih, titrasi dengan asam klorida untuk menghitung ammonia yang terikat dengan asam borat, dan kalkulasi jumlah nitrogen pada contoh dari jumlah ammonia bebas yang terbentuk sesuai *ISO 937:1978, Meat and Meat Products – Determination of Nitrogen Content (Reference method)*.

A.3.1.2 Pereaksi

Seluruh pereaksi yang digunakan harus kualitas analitik. Air yang digunakan harus air destilasi atau air yang memiliki kemurnian setara.

- a) Tembaga (II) sulfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$);
- b) Kalium sulfat (K_2SO_4) anhidrous;
- c) Asam sulfat, ρ_{20} 1,84 g/L;
- d) Larutan natrium hidroksida, bebas karbonat, mengandung kira-kira 33 g natrium hidroksida (NaOH) per 100 g larutan; larutkan 500 g natrium hidroksida dalam 1.000 mL air.
- e) Larutan asam borat; larutkan 40 g asam borat (H_3BO_3) dalam air dan larutkan hingga 1.000 mL.
- f) Asam hidroklorida, 0,1 N larutan standar volumetrik dengan normalitas hingga 4 desimal;
- g) Larutan indikator; campuran indikator (*methyl red – methylen blue*), disiapkan dengan melarutkan 2 g *methyl red* dengan 1 g *methylen blue* dalam 1.000 mL etanol 95% (fraksi volume). Perubahan warna larutan indikator terjadi pada pH 5,4. Simpan larutan indikator dalam botol gelap dan tempat yang sejuk.
- h) Boiling regulator
 - 1) Untuk destruksi batu didih, *silicone carbide*, atau serpihan porselen yang keras
 - 2) Untuk destilasi *silicone carbide* atau pecahan batu apung yang telah dibakar

A.3.1.3 Peralatan

- a) Pencacah daging mekanis, skala laboratorium, mempunyai plat dengan diameter lubang tidak lebih dari 4 mm;
- b) Kertas tidak tembus atau tahan minyak, berukuran 9 cm x 6 cm;
- c) Buret 50 mL;
- d) Labu Kjeldahl;
- e) Alat destilasi uap;
- f) Alat pemanas; dimana labu Kjeldahl dapat dipanaskan pada posisi sumber panas yang hanya menyentuh bagian dinding labu di bawah batas cairan. Untuk pemanas gas, alat yang sesuai adalah plat asbes yang dilengkapi dengan lubang sirkulasi, sehingga hanya bagian bawah dari labu yang terekspos pada api.
- g) Lemari asam;
- h) Neraca analitik;
- i) Labu Erlenmeyer 500 mL;
- j) Labu ukur 1.000 mL.

A.3.1.4 Cara kerja

A.3.1.4.1 Preparasi contoh uji

- a) Homogenisasi contoh dengan cara melewatkan contoh dua kali pada alat pencacah daging dan aduk;
- b) simpan contoh pada wadah tertutup dan kedap dengan kondisi terisi penuh untuk mencegah terjadinya kerusakan dan perubahan komposisi;
- c) analisis contoh secepat mungkin setelah dilakukan proses homogenisasi, setidaknya dalam 24 jam

A.3.1.4.2 Bagian uji

- a) Tempatkan beberapa batu didih ke dalam labu Kjeldahl, kemudian tambahkan 15 g kalium sulfat anhidrous dan 0,5 g tembaga (II) sulfat;
- b) timbang dengan ketelitian 0,001 g sekitar 2 g (m) (atau 1,5 g bila contoh mengandung lemak tinggi) pada lembaran kertas tahan minyak;
- c) pindahkan kertas tahan minyak dan masukkan contoh uji ke dalam labu Kjeldahl.

A.3.1.4.3 Penetapan

- a) Tambahkan 25 mL H_2SO_4 ke dalam labu Kjeldahl, kocok perlahan. Jika diinginkan, letakkan penutup pada leher labu dan bolak-balikkan;
- b) tempatkan labu pada posisi miring dengan sudut sekitar 40° dari posisi vertikal pada alat pemanas. Pertama-tama panaskan labu secara perlahan sampai pembentukan buih berhenti dan seluruh bahan dalam labu terdapat dalam bentuk cairan;
- c) destruksi contoh dengan mendidihkan labu dengan sesekali memutar labu sampai seluruh cairan menjadi jernih dan berwarna hijau-biru terang;
- d) biarkan cairan mendidih selama 90 menit;
- e) waktu destruksi total tidak boleh lebih dari 2 jam. Hati-hati agar tidak ada uap cairan terkondensasi mengalir dari bagian luar labu. Cegah terlalu banyak keluarnya H_2SO_4 akibat kondisi yang terlalu panas pada saat destruksi, yang akan menyebabkan terjadinya kehilangan nitrogen;
- f) dinginkan hingga suhu sekitar $40^\circ C$ dan secara hati-hati tambahkan 50 mL air. Kocok dan biarkan mendingin;
- g) tuangkan pada labu Erlenmeyer kapasitas 500 mL sebanyak 50 mL larutan asam borat dari labu ukur dan tambahkan 4 tetes larutan indikator, kocok dan tempatkan labu Erlenmeyer di bawah kondensor perangkat destilasi, sehingga ujung (*outlet*) pendingin tercelup ke dalam larutan asam borat;

Perlakukan kandungan/isi labu Kjeldahl sebagai berikut:

- 1) Jika menggunakan destilasi uap
 - pindahkan kandungan labu Kjeldahl pada alat destilasi dan bilas labu dengan 50 mL air. Tambahkan 100 mL larutan natrium hidroksida dengan cara menuangkan secara hati-hati melalui pinggir leher labu sehingga dua lapisan yang terbentuk dalam labu tidak tercampur;
 - segera pasang labu pada alat destilasi;
 - panaskan larutan basa hingga mendidih dengan melewatkan uap panas dan biarkan selama 20 menit. Pada saat awal panaskan larutan secara perlahan untuk meminimalisir terbentuknya buih;
 - kumpulkan destilat setidaknya hingga volume 150 mL.
- 2) Jika menggunakan destilasi biasa
 - secara hati-hati larutkan kandungan labu Kjeldahl dengan 300 mL air dan kocok. Bila perlu campuran dipindahkan ke labu 1 L;
 - setelah 15 menit tambahkan 100 mL larutan natrium hidroksida dengan menggunakan labu ukur, tuangkan secara hati-hati melalui pinggir leher labu sehingga dua lapisan yang terbentuk dalam labu tidak tercampur;
 - segera pasang labu pada alat destilasi;

- destilasikan hingga diperoleh sedikitnya 150 mL cairan, meskipun campuran bergolak secara tak beraturan. Teruskan destilasi sampai terkumpul 250 mL destilat;
 - pastikan destilat didinginkan secara efektif untuk mencegah larutan asam borat menjadi hangat.
- h) turunkan labu Erlenmeyer sesaat sebelum proses destilasi dihentikan, sehingga ujung (*outlet*) pendingin berada di atas batas cairan. Bilas ujung pendingin bagian luar dan dalam dengan air;
 - i) verifikasi destilasi amonia telah berjalan sempurna adalah dengan menggunakan kertas litmus merah yang sudah dibasahi dengan air. Warna kertas tidak boleh berubah oleh cairan dari pendingin. Hentikan pemanasan. Jika ditemukan indikasi destilasi belum sempurna, maka lakukan pengujian ulang;
 - j) titrasi larutan dalam labu Erlenmeyer dengan larutan HCl, catat volume HCl yang terpakai (V_1) dengan ketepatan 0,02 mL;
 - k) lakukan dua kali pengulangan.

A.3.1.4.4 Uji blanko

- a) Selalu gunakan blanko (dengan duplo) pada saat pereaksi baru digunakan;
- b) uji blanko dilakukan dengan mengulangi tahap pada A.3.1.4.2 dan A.3.1.4.3 dengan hanya menggunakan kertas tahan minyak.
- c) volume HCl yang terpakai dalam titrasi blanko dicatat (V_0)

A.3.1.5 Perhitungan

$$\text{Kadar nitrogen (\%)} = \left(0,0014 \times (V_1 - V_0) \times \frac{100}{m} \right) \%$$

Keterangan:

- V_0 adalah volume HCl 0,1 N untuk titrasi blanko, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 V_1 adalah volume HCl 0,1 N untuk titrasi contoh, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 m adalah bobot contoh uji, dinyatakan dalam gram (g)

A.3.1.6 Ketelitian

Perbedaan hasil dari dua ulangan oleh analis yang sama tidak boleh lebih besar dari 0,10 g nitrogen per 100 g contoh. Jika perbedaan lebih besar dari batasan yang ditentukan, maka uji harus diulang kembali.

A.3.2 Kadar protein

A.3.2.1 Prinsip

Kadar protein diperoleh dari hasil kali total nitrogen dengan 6,25.

A.3.2.2 Perhitungan

$$\text{Kadar protein(\%)} = \text{kadar nitrogen(\%)} \times 6,25$$

Keterangan:

- 6,25 adalah faktor protein untuk daging

A.4 Kadar lemak

A.4.1 Prinsip

Contoh dididihkan dengan HCl encer untuk membebaskan fraksi lipid yang terperangkap dan terikat pada jaringan massa contoh, penyaringan massa, pengeringan, dan ekstraksi menggunakan n-heksana atau petroleum eter dari lemak yang tertahan pada kertas saring sesuai ISO 1443:1973, *Meat and Meat Products – Determination of Total Fat Content*.

A.4.2 Pereaksi

Seluruh pereaksi yang digunakan harus kualitas analitik. Air yang digunakan harus air destilasi atau air yang memiliki kemurnian setara.

- Pelarut ekstraksi, n-heksana atau petroleum eter yang disuling pada suhu antara 40° dan 60°C, dan memiliki nilai bromin kurang dari 1. Untuk pelarut, residu pada penguapan sempurna tidak boleh melebihi 0,002 g per 100 mL;
- Larutan Asam Hidroklorida 4 N; encerkan 100 mL asam klorida pekat dengan 200 mL air dan campurkan;
- Kertas lakmus biru;
- Batu didih.

A.4.3 Peralatan

- Pencacah daging mekanis, skala laboratorium, mempunyai plat dengan diameter lubang tidak lebih dari 4 mm;
- Labu Erlenmeyer, berukuran 250 mL;
- Gelas arloji atau cawan petri, berdiameter kurang dari 80 mm;
- Wadah ekstraksi (*thimble*), terbuat dari kertas saring dan telah dihilangkan lemaknya;
- Katun wol;
- Peralatan ekstraksi, kontinu atau semi kontinu, seperti soklet, dengan labu ekstraksi berukuran 150 mL;
- Penangas air, dengan pemanas listrik atau peralatan serupa yang sesuai;
- Oven pengering, dengan pemanas listrik, terkontrol pada suhu $(103 \pm 2)^\circ\text{C}$;
- Desikator, yang mengandung desikan efektif;
- Timbangan analitik;
- Kertas saring, kualitatif, dengan kecepatan saringan sedang.

A.4.4 Cara kerja

A.4.4.1 Preparasi contoh uji

- Seragamkan contoh dengan cara melewatkan contoh dua kali pada alat pencacah daging dan dicampur merata;
- simpan contoh pada wadah tertutup dan kedap dengan kondisi terisi penuh untuk mencegah terjadinya kerusakan dan perubahan komposisi;
- analisis contoh secepat mungkin setelah dilakukan proses homogenisasi, setidaknya dalam 24 jam.

A.4.4.2 Bagian uji

Sesuai dengan kandungan lemak yang diharapkan, timbang 3 g sampai 5 g contoh yang sudah dicincang dengan ketelitian 0,001 g (m_0), dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL.

A.4.4.3 Penetapan

- Keringkan labu ekstraksi yang mengandung batu didih selama 1 jam dalam oven pada suhu $(103 \pm 2)^\circ\text{C}$. Biarkan labu mendingin pada suhu ruang dalam desikator dan timbang dengan ketelitian 0,001 g (m_1)

- b) tambahkan sebanyak 50 mL HCl pada contoh dalam labu Erlenmeyer dan tutup labu Erlenmeyer dengan gelas arloji;
- c) panaskan labu Erlenmeyer di atas kasa kawat asbes dengan menggunakan *gas burner* sampai kandungannya mulai mendidih;
- d) lanjutkan pendidihan dengan api kecil selama 1 jam dan kocok sesekali;
- e) tambahkan 150 mL air panas;
- f) basahi kertas saring yang diletakkan di corong kaca dengan air, dan tuangkan isi labu Erlenmeyer dalam keadaan masih panas melalui saringan ke labu lainnya;
- g) cuci labu Erlenmeyer dan gelas arloji sebanyak tiga kali dengan air panas secara menyeluruh sampai pencucian tidak mempengaruhi warna kertas lakmus;
- h) letakkan kertas saring pada gelas arloji atau cawan petri dan keringkan selama 1 jam dalam oven pada suhu $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$ dan biarkan dingin;
- i) gulung kertas saring dan masukkan ke dalam wadah ekstraksi (*thimble*). Hilangkan bekas-bekas lemak pada gelas arloji atau cawan petri, menggunakan katun wol yang sudah dibasahi dengan pelarut ekstraksi dan pindahkan juga katun wol ke dalam wadah ekstraksi;
- j) tempatkan wadah ekstraksi pada peralatan ekstraksi;
- k) kertas saring harus dipegang dengan menggunakan penjepit yang dapat dibersihkan/dibilas, atau menggunakan jari yang dilapisi oleh kertas;
- l) tuangkan pelarut ke dalam labu ekstraksi yang telah dikeringkan dan pasang pada peralatan ekstraksi;
- m) cuci gelas arloji atau cawan petri dengan sejumlah pelarut dan masukkan pelarut tersebut ke dalam labu ekstraksi. Banyaknya pelarut adalah satu setengah sampai dua kali dari kapasitas tabung ekstraksi;
- n) pasang labu ekstraksi pada peralatan ekstraksi, lalu panaskan labu selama 4 jam pada penangas air atau peralatan sejenis;
- o) setelah proses ekstraksi, ambil labu ekstraksi yang mengandung cairan dari peralatan ekstraksi dan suling pelarut dengan menggunakan penangas air.
- p) uapkan sisa pelarut menggunakan penangas air dan dengan menggunakan aliran udara jika diperlukan;
- q) keringkan labu ekstraksi selama 1 jam pada oven pengering dengan suhu $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$ dan keringkan pada suhu ruang dalam desikator, timbang sampai ketelitian 0,001 g (m_2);
- r) ulangi cara uji sampai hasil dua penimbangan berturut-turut tidak berbeda lebih dari 0,1% dari berat contoh uji;
- s) verifikasi bahwa ekstraksi lemak telah berlangsung sempurna dengan melakukan proses ekstraksi kembali terhadap contoh menggunakan labu ekstraksi kedua dan pelarut baru. Peningkatan massa tidak boleh melebihi 0,1% dari berat contoh uji;
- t) lakukan 2 kali pengulangan.

A.4.4.4 Perhitungan

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \left((m_2 - m_1) \times \frac{100}{m_0} \right) \%$$

Keterangan:

- w_0 adalah bobot contoh uji, dinyatakan dalam gram (g);
 w_1 adalah bobot awal labu ekstraksi dengan batu didih, dinyatakan dalam gram (g);
 w_2 adalah bobot labu ekstraksi dengan batu didih dan kandungan lemak setelah pengeringan, dinyatakan dalam gram (g).

A.4.4.5 Ketelitian

Perbedaan hasil dari dua ulangan oleh analis yang sama tidak boleh lebih besar dari 0,5 g total lemak per 100 g contoh. Jika perbedaan lebih besar dari batasan yang ditentukan, maka uji harus diulang kembali.

A.5 Cemaran logam berat

A.5.1 Kadmium (Cd) dan timbal (Pb)

A.5.1.1 Prinsip

Destruksi contoh dengan cara pengabuan kering pada suhu 450 °C atau dengan cara destruksi bertekanan menggunakan *microwave digester* yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Logam yang terlarut kemudian dibaca menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) dengan panjang gelombang maksimum 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb sesuai dengan BS-EN 13805. *Foodstuffs-Determination of Trace Elements-Pressure digestion. AOAC Official Method 986.15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method. Final Action* dan AOAC Official Method 999.11, *Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in foods: Atomic Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing. Final Action*

A.5.1.2 Peralatan

- SSA beserta kelengkapannya (lampu katoda Cd dan Pb, sebaiknya menggunakan SSA tungku grafit);
- Tanur dengan ketelitian 1 °C;
- seperangkat alat *microwave digester*, dengan *vessel* berkapasitas 70-100 mL
- Neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- Pemanas listrik
- Penangas air;
- Pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret ;
- Labu ukur 1.000 mL, 100 mL, dan 50 mL;
- Gelas ukur kapasitas 10 mL;
- Gelas piala 250 mL;
- Botol polipropilen;
- Cawan porselen/platina/kuarsa 50 mL sampai 100 mL; dan
- Kertas saring tidak berabu dengan spesifikasi *particle retention liquid* 20 µm sampai 25 µm.

A.5.1.3 Pereaksi

A.5.1.3.1 Pengabuan kering

- a) Asam nitrat, HNO_3 pekat;
- b) Asam klorida, HCl pekat;
- c) Larutan asam nitrat, HNO_3 0,1 N;
encerkan 7 mL HNO_3 pekat dengan aquabides dalam labu ukur 1.000 mL dan encerkan sampai tanda garis.
- d) Larutan asam klorida, HCl 6 N;
encerkan 500 mL HCl pekat dengan aquabides dalam labu ukur 1.000 mL dan encerkan sampai tanda garis.

A.5.1.3.2 Pengabuan menggunakan *microwave digester*

- a) Larutan asam nitrat, HNO_3 pekat (65 %, Bj 1,4);
- b) Larutan asam nitrat, HNO_3 encer;
encerkan asam nitrat (a) dengan air dalam proporsi (1 + 9) bagian berdasarkan volume.
- c) Hidrogen peroksida, H_2O_2 , (30 %, Bj 1,11).

A.5.1.3.3 Larutan baku

Lakukan pembuatan larutan baku dan larutan baku kerja sesuai dengan cara berikut ini atau lakukan pembuatan sesuai keperluan.

- a) Larutan baku 1.000 $\mu\text{g/mL}$ Cd;
larutkan 1,000 g Cd dengan 7 mL HNO_3 pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1.000 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis atau bisa digunakan larutan baku Cd 1.000 $\mu\text{g/mL}$ siap pakai.
- b) Larutan baku 200 $\mu\text{g/mL}$ Cd;
pipet 10 mL larutan baku 1.000 $\mu\text{g/mL}$ Cd ke dalam labu ukur 50 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$ Cd.
- c) Larutan baku 10 $\mu\text{g/mL}$ Cd;
pipet 20 mL larutan baku 200 $\mu\text{g/mL}$ Cd ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian dikocok. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$ Cd.
- d) Larutan baku kerja Cd.
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL; 0,1 mL; 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; 5 mL dan 10 mL larutan baku 10 $\mu\text{g/mL}$ kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO_3 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 $\mu\text{g/mL}$; 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,025 $\mu\text{g/mL}$; 0,05 $\mu\text{g/mL}$; 0,1 $\mu\text{g/mL}$; 0,5 $\mu\text{g/mL}$ dan 1,0 $\mu\text{g/mL}$ Cd.
- e) Larutan baku 1.000 $\mu\text{g/mL}$ Pb;
larutkan 1,000 g Pb dengan 7 mL HNO_3 pekat dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 1.000 mL kemudian encerkan dengan aquabides sampai tanda garis. atau bisa digunakan larutan baku Pb 1.000 $\mu\text{g/mL}$ siap pakai.
- f) Larutan baku 100 $\mu\text{g/mL}$ Pb;
pipet 10 mL larutan baku Pb 1.000 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ Pb.
- g) Larutan baku 10 $\mu\text{g/mL}$ Pb; dan
pipet 10 mL larutan standar Pb 100 mg/L ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$ Pb.

- h) Larutan baku kerja Pb.
pipet ke dalam labu ukur 100 mL masing-masing sebanyak 0 mL; 0,1 mL; 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; 5 mL dan 10 mL larutan baku 10 µg/mL kemudian tambahkan 5 mL larutan HNO₃ 1 N atau HCl 6 N, dan encerkan dengan aquabides sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0 µg/mL; 0,01 µg/mL; 0,025 µg/mL; 0,05 µg/mL; 0,1 µg/mL; 0,5 µg/mL dan 1,0 µg/mL Pb.

A.5.1.4 Cara kerja

A.5.1.4.1 Pengabuan kering

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

A.5.1.4.2 Pengabuan dengan *microwave digester*

- Timbang 200 mg contoh ke dalam tabung destruksi (atau sesuai rekomendasi alat);
- tambah 3 mL HNO₃. Volume asam yang diperlukan untuk destruksi tergantung pada sifat contoh. Biasanya 3 mL HNO₃ cukup untuk destruksi contoh;
- tambah 0,5 mL sampai 1 mL hidrogen peroksida untuk mencegah *adhesi* contoh ke dinding *vessel*;
- destruksi contoh pada suhu paling rendah 180 °C
- waktu destruksi contoh paling sedikit 20 menit setelah tercapainya suhu;
- untuk semua langkah dari proses destruksi, ikuti ketentuan sesuai rekomendasi alat dan keselamatan dari produsen produsen;
- untuk mengurangi tekanan berlebih, dinginkan *vessel* yang masih tertutup sampai suhu kurang dari 40 °C;
- setelah *vessel* dingin, buka dalam ruang asam, sampai tidak ada asap coklat yang terlihat;

- i) larutan hasil destruksi harus jernih dan volumenya kira-kira sama dengan larutan sebelum destruksi. Penurunan volume dapat disebabkan oleh penutupan vessel yang kurang rapat. Ulangi destruksi untuk kasus seperti ini;

CATATAN : Larutan hasil destruksi berwarna kuning disebabkan oleh zat organik yang tidak terdestruksi secara sempurna. Hal ini bisa terjadi karena contoh yang didestruksi terlalu besar dan / atau suhu destruksi terlalu rendah. Suhu destruksi melebihi 200 ° C biasanya tidak menghasilkan larutan hasil destruksi berwarna kuning. Larutan hasil destruksi berwarna biru adalah hasil dari nitrogen oksida terlarut. Setelah pengenceran dengan air, warna biru menghilang

- j) Secara kuantitatif, pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 50mL, encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- k) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- l) baca absorbans larutan baku kerja dan larutan contoh terhadap blanko menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimum sekitar 228,8 nm untuk Cd dan 283,3 nm untuk Pb;
- m) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam (µg/mL) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- n) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C); dan
- o) hitung kadar logam dalam contoh.

A.5.1.5 Perhitungan

$$\text{Kadar kadmium (Cd) atau timbal (Pb) (mg/kg)} = \frac{a \times V_1 \times 1.000 \times F}{W \times 1.000} = \frac{C}{W} \times V$$

Keterangan:

- a adalah µg/mL dari kurva kalibrasi larutan deret baku;
- C adalah konsentrasi Pb atau Cd dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);
- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL); dan
- V1 adalah volume larutan hasil destruksi sampel (mL)
- W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).
- F adalah faktor pengenceran (=1 jika tanpa pengenceran)

A.5.1.6 Ketelitian

Kisaran *Relative Standard Deviation* (RSD) dari dua kali ulangan maksimum 16 %. Jika RSD lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.5.2 Timah (Sn)

A.5.2.1 Prinsip

Dekstruksi dengan HNO₃ dan HCl kemudian tambahkan KCl untuk mengurangi gangguan Sn dibaca menggunakan SSA pada panjang gelombang maksimum 235,5 nm dengan nyala oksidasi N₂O-C₂H₂ atau destruksi contoh dengan cara destruksi bertekanan menggunakan *microwavedigester* yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Logam yang terlarut dihitung menggunakan alat SSA dengan panjang gelombang maksimal 286,3 atau 235,5 nm sesuai dengan BS-EN 13805. *Foodstuffs-Determination of Trace Elements-Pressure digestion*, BS-EN 15764. *Foodstuff-Determination of Trace Element-Determination of Tin by Flame and Graphite Furnace AAS after pressure digestion* dan AOAC Official Method 985.16, *Tin in Canned Foods, Atomic Absorption Spectrophotometric Method*.

A.5.2.2 Peralatan

- a) SSA beserta kelengkapannya (lampu katoda Sn), dapat menggunakan SSA Nyala ataupun SSA tungku grafit;
- b) Neraca analitik dengan ketelitian 0,1 mg;
- c) Seperangkat alat *microwave digester*, dengan *vessel* berkapasitas 70-100 mL;
- d) Pemanas listrik;
- e) Penangas air;
- f) Labu ukur 1.000 mL, 100 mL dan 50 mL;
- g) Pipet ukur berskala 0,1 mL;
- h) Labu *Erlenmeyer* 250 mL;
- i) Gelas ukur 50 mL; dan
- j) Gelas piala 250 mL.
- k) Pipet ukur berskala 0,05 ml atau mikro buret;
- l) Labu ukur 50 mL, 100 mL, dan 1.000 mL;
- m) Wadah polypropylene; dan
- n) Kertas saring tidak berabu dengan spesifikasi particle retention liquid sebesar 20-25 µgm.

A.5.2.3 Pereaksi**A.5.2.3.1 Pereaksi untuk dekstruksi dengan HNO₃ dan HCl**

- a) Larutan kalium klorida, 10 mg/mL KCl;
larutkan 1,91 g KCl dengan air menjadi 100 mL.
- b) Asam nitrat, HNO₃ pekat;
- c) Asam klorida, HCl pekat.

A.5.2.3.2 Untuk dekstruksi dengan *microwave digester*

- a) Larutan asam nitrat, HNO₃ pekat (65 %, Bj 1,4);
- b) Larutan asam nitrat, HNO₃ encer;
encerkan asam nitrat (a) dengan air dalam proporsi (1 + 9) bagian berdasarkan volume.
- c) larutan asam klorida, HCl pekat (37 %, Bj 1,19);
- d) Hidrogen peroksida, H₂O₂, (30 %, Bj 1,11);
- e) Larutan modifier untuk GTA;
 - larutan Ammonium dihydrogen phosphate 10 %;
larutkan 10,0 gram ammonium dihydrogen phosphate (NH₄H₂PO₄) dalam 100 mL air
 - larutan Magnesium Nitrate (mengandung konsentrasi Mg 10 g/L);
larutkan 10,5 gram magnesium nitrate hexahydrate (Mg(NO₃)₂·6H₂O) dalam 100 mL air (atau bisa menggunakan larutan siap pakai);
 - pipet 2,5 mL larutan ammonium dihydrogen phosphate dan 0,25 mL larutan magnesium nitrate ke dalam labu takar 50 mL, tambahkan 1 mL asam nitrat pekat dan encerkan dengan air hingga tanda lalu kocok.

A.5.2.3.3 Larutan baku

Lakukan pembuatan larutan baku dan larutan baku kerja sesuai dengan cara berikut ini atau lakukan pembuatan sesuai keperluan.

- a) Larutan baku 1.000 µg/mL Sn siap pakai;
- b) Larutan baku Sn 50 µg/mL
isi labu takar 50 mL dengan 10ml - 20 mL air, tambahkan 2,5 mL HCL pekat, kocok, biarkan hingga suhu ruang, tambahkan 2,5 mL larutan baku Sn 1.000 µg/mL, lalu encerkan hingga tepat tanda kocok, larutan ini stabil sedikitnya selama 1 minggu;
- c) Larutan baku Sn 1,0 µg/mL;

isi labu takar 50 mL dengan 10-20 mL air, tambahkan 2,5 mL HCL pekat, kocok, biarkan hingga suhu ruang, tambahkan 1,0 mL larutan baku Sn 50 µg/mL, lalu encerkan hingga tepat tanda kocok,

- d) Larutan baku kerja Sn untuk SSA nyala;
encerkan larutan standar 1.000 µg/mL sehingga didapatkan deret standar sesuai kadar analit dan rentang kerja alat, tambahkan 5 ml larutan HNO₃ 1 mL HCl, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok.
- e) Larutan baku kerja Sn untuk SSA tungku grafit;
encerkan larutan standar 1 µg/mL sehingga didapatkan deret standar sesuai kadar analit dan rentang kerja alat, tambahkan 5 ml larutan HNO₃ 1 mL HCl, dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok.

A.5.2.4 Cara kerja

A.5.2.4.1 Dekstruksi dengan HNO₃ dan HCl

- a) Timbang contoh 10 g sampai 20 g (W) dengan teliti ke dalam labu *Erlenmeyer* 250 mL, keringkan dalam oven pada suhu 120 °C ;
- b) larutkan dengan 30 mL HNO₃ dan panaskan perlahan selama 15 menit di dalam lemari asam, hindari terjadinya percikan yang berlebihan.

CATATAN: Jangan menambahkan HNO₃ ke dalam contoh yang sudah menjadi abu kecuali ada waktu untuk menyelesaikan tahap desktruksi ini dalam waktu yang sama

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

A.5.2.4.2 Pengabuan dengan *microwave digester*

- a) Timbang 0,2 g sampai 0,5 g contoh ke dalam tabung destruksi (atau sesuai rekomendasi alat), tambah 5 mL HNO₃ dan 1 mL HCl, tutup rapat dan masukkan ke dalam alat microwave. Kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;
- b) tambah 0,5 mL sampai 1 mL hidrogen peroksida untuk mencegah *adhesi* contoh ke dinding vessel;
- c) destruksi contoh pada suhu paling rendah 180 ° C;
waktu destruksi contoh paling sedikit 20 menit setelah tercapainya suhu.
- d) untuk semua langkah dari proses destruksi, ikuti ketentuan sesuai rekomendasi alat dan keselamatan dari produsen produsen;

- e) untuk mengurangi tekanan berlebih, dinginkan vessel/ yang masih tertutup sampai suhu kurang dari 40 ° C;
- f) setelah vessel/ dingin, buka dalam ruang asam, sampai tidak ada asap coklat yang terlihat;
- g) buat kurva kalibrasi dengan sumbu Y sebagai absorben dan sumbu X sebagai konsentrasi dalam ppm dari pembacaan deret larutan baku kerja. Hitung kandungan Sn Larutan hasil destruksi harus jernih dan volumenya kira-kira sama dengan larutan sebelum destruksi. Penurunan volume dapat disebabkan oleh penutupan vessel/ yang kurang rapat. Ulangi destruksi untuk kasus seperti ini;

CATATAN:Larutan hasil destruksi berwarna kuning disebabkan oleh zat organik yang tidak terdestruksi secara sempurna. Hal ini bisa terjadi karena contoh yang didestruksi terlalu besar dan/atau suhu destruksi terlalu rendah. Suhu destruksi melebihi 200 ° C biasanya tidak menghasilkan larutan hasil destruksi berwarna kuning. Larutan hasil destruksi berwarna biru adalah hasil dari nitrogen oksida terlarut. Setelah pengenceran dengan air, warna biru menghilang.

- h) secara kuantitatif, pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 50mL, encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- i) kerjakan blanko dengan pemakaian pereaksi seperti yang digunakan pada contoh;
- j) siapkan deret baku dengan konsentrasi sesuai rentang kerja alat;
- k) baca absorben larutan deret baku, larutan contoh dan larutan blanko dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom tanpa nyala pada panjang gelombang 286,3 atau 235,5 nm;
- l) buat kurva kalibrasi dengan sumbu Y sebagai absorben dan sumbu X sebagai konsentrasi dalam ppm dari pembacaan deret larutan baku kerja. Hitung kandungan Sn dalam contoh.

A.5.2.5 Perhitungan

$$\text{Kadar Sn, (mg/kg)} = \frac{a \times V_1 \times 1.000 \times F}{W \times 1.000} = \frac{C}{W} \times V$$

Keterangan

- a adalah µg/mL dari kurva kalibrasi larutan deret baku Sn;
- C adalah konsentrasi Sn dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter (µg/mL);
- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
- V1 adalah volume larutan hasil destruksi sampel (mL);
- w adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g);
- F adalah faktor pengenceran (=1 jika tanpa pengenceran).

A.5.2.6 Ketelitian

Kisaran RSD dari dua kali ulangan maksimum 16 %. Jika RSD lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.5.3 Merkuri (Hg)

A.5.3.1 Prinsip

Reaksi antara senyawa merkuri dengan NaBH₄ atau SnCl₂ dalam keadaan asam akan membentuk gas atomik Hg atau dengan cara destruksi bertekanan menggunakan *microwave* yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Jumlah Hg yang terbentuk sebanding dengan absorbans Hg yang dibaca menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang maksimum 253,7 nm sesuai dengan BS-EN 13805. *Foodstuffs-Determination of*

Trace Elements-Pressure digestion and AOAC Official Method 971.21, Mercury in Foods, Flameless Atomic Absorption Spectrophotometric Method. Final action

A.5.3.2 Peralatan

- a) SSA yang dilengkapi lampu katoda Hg dan generator uap hidrida (HVG);
- b) Seperangkat alat *microwave digester*, dengan vessel berkapasitas 70-100 mL;
- c) Neraca analitik ketelitian 0,1 mg;
- d) Pemanas listrik;
- e) Pendingin terbuat dari borosilikat, diameter 12 mm sampai 18 mm, tinggi 400 mm diisi dengan cincin *Raschig* setinggi 100 mm, dan dilapisi dengan batu didih berdiameter 4 mm di atas cincin setinggi 20 mm;
- f) Tabung destruksi;
- g) Labu destruksi 250 mL berdasar bulat;
- h) Labu ukur 1.000 mL, 500 mL, dan 100 mL;
- i) Gelas ukur 25 mL;
- j) Pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret;
- k) Gelas piala 500 mL;
- l) Batu didih.

A.5.3.3 Pereaksi

A.5.3.3.1 Pengabuan basah

- a) Larutan asam sulfat, H_2SO_4 9 M;
- b) Larutan asam nitrat, HNO_3 7 M;
- c) Campuran HNO_3 : HClO_4 (1:1);
- d) Hidrogen peroksida, H_2O_2 pekat;
- e) Larutan natrium molibdat, $\text{NaMoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2%;
- f) Larutan pereduksi;
campurkan 50 mL H_2SO_4 dengan 300 mL aquabides dalam gelas piala 500 mL dan dinginkan sampai suhu ruang kemudian tambahkan 15 g NaCl, 15 g hidroksilamin sulfat, dan 25 g SnCl_2 . Pindahkan ke dalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- g) Larutan natrium borohidrida, NaBH_4 ;
larutkan 3 g serbuk NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling dalam labu ukur 500 mL.
- h) Larutan pengencer;
masukkan 300 mL sampai 500 mL air suling kedalam labu ukur 1.000 mL dan tambahkan 58 mL HNO_3 kemudian 67 mL tambahkan H_2SO_4 . Encerkan dengan air suling sampai tanda garis dan kocok.
- i) Batu didih.

A.5.3.3.2 Pengabuan dengan *microwave digester*

- a) Larutan asam nitrat, HNO_3 pekat (65 %, Bj 1,4)
- b) Larutan asam nitrat, HNO_3 encer,
encerkan asam nitrat (a) dengan air dalam proporsi (1 + 9) bagian berdasarkan volume
- c) Hidrogen peroksida, H_2O_2 (30 %, Bj 1,11).

A.5.3.3.3 Larutan baku

Lakukan pembuatan larutan baku dan larutan baku kerja sesuai dengan cara berikut ini atau lakukan pembuatan sesuai keperluan.

- a) Larutan baku 1.000 $\mu\text{g/mL}$ Hg;

larutkan 0,1354 g HgCl_2 dengan kira-kira 25 mL air suling dalam gelas piala 250 mL dan masukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian encerkan dengan air suling sampai tanda garis.

- b) Larutan baku 10 $\mu\text{g/mL}$ Hg; pipet 10 mL larutan baku 1.000 $\mu\text{g/mL}$ Hg ke dalam labu ukur 1.000 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$.
- c) Larutan baku 0,1 $\mu\text{g/mL}$ Hg; pipet 1 mL larutan baku 10 $\mu\text{g/mL}$ Hg ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 0,1 $\mu\text{g/mL}$.
- d) Larutan baku kerja Hg; dan pipet masing-masing 0,1 mL; 0,25 mL; 0,5 mL; 1,0 mL; 2,0 mL dan 5,0 mL larutan baku 0,1 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,0001 $\mu\text{g/mL}$; 0,00025 $\mu\text{g/mL}$; 0,0005 $\mu\text{g/mL}$; 0,001 $\mu\text{g/mL}$; 0,002 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,005 $\mu\text{g/mL}$ Hg.

A.5.3.4 Cara kerja

A.5.3.4.1 Pengabuan basah

- a) Timbang 5 g contoh (W) dengan teliti ke dalam labu destruksi dan tambahkan 25 mL H_2SO_4 9 M, 20 mL HNO_3 7 M, 1 mL larutan natrium molibdat 2 %, dan 5 butir sampai 6 butir batu didih;
- b) hubungkan labu destruksi dengan pendingin dan panaskan di atas pemanas listrik selama 1 jam. Hentikan pemanasan dan biarkan selama 15 menit;
- c) tambahkan 20 mL campuran HNO_3 : HClO_4 (1:1) melalui pendingin;
- d) hentikan aliran air pada pendingin dan panaskan dengan panas tinggi hingga timbul uap putih. Lanjutkan pemanasan selama 10 menit dan dinginkan;
- e) tambahkan 10 mL air suling melalui pendingin dengan hati-hati sambil labu digoyang-goyangkan;
- f) didihkan lagi selama 10 menit;
- g) matikan pemanas listrik dan cuci pendingin dengan 15 mL air suling sebanyak 3 kali kemudian dinginkan sampai suhu ruang;
- h) pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 100 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- i) pipet 25 mL larutan di atas ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan larutan pengencer sampai tanda garis (fp);
- j) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- k) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja Hg, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat "HVG";
- l) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;
- m) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- n) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- o) lakukan pengerjaan duplo; dan
- p) hitung kadar Hg dalam contoh.

A.5.3.4.2 Destruksi menggunakan *microwave digester* atau destruksi sistem tertutup

- a) Timbang 200 mg contoh ke dalam tabung destruksi (atau sesuai rekomendasi alat), tambah 5 mL HNO_3 dan 1 mL HCl , tutup rapat dan masukkan ke dalam alat *microwave*. Kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat.
- b) tambah 0,5 mL sampai 1 mL hidrogen peroksida untuk mencegah adhesi contoh ke dinding *vesse/*;
- c) destruksi contoh pada suhu paling rendah 180 °C; waktu destruksi contoh paling sedikit 20 menit setelah tercapainya suhu;
- d) untuk semua langkah dari proses destruksi, ikuti ketentuan sesuai rekomendasi alat dan keselamatan dari produsen produsen;
- e) untuk mengurangi tekanan berlebih, dinginkan *vesse/* yang masih tertutup sampai suhu kurang dari 40 °C;
- f) setelah *vesse/* dingin, buka dalam ruang asam, sampai tidak ada asap coklat yang terlihat;
- g) larutan hasil destruksi harus jernih dan volumenya kira-kira sama dengan larutan sebelum destruksi. Penurunan volume dapat disebabkan oleh penutupan *vessel* yang kurang rapat. Ulangi destruksi untuk kasus seperti ini;

CATATAN: Larutan hasil destruksi berwarna kuning disebabkan oleh zat organik yang tidak terdestruksi secara sempurna. Hal ini bisa terjadi karena contoh yang didestruksi terlalu besar dan/atau suhu destruksi terlalu rendah. Suhu destruksi melebihi 200 °C biasanya tidak menghasilkan larutan hasil destruksi berwarna kuning. Larutan hasil destruksi berwarna biru adalah hasil dari nitrogen oksida terlarut. Setelah pengenceran dengan air, warna biru menghilang.

- h) secara kuantitatif, pindahkan larutan destruksi contoh ke dalam labu ukur 50mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- i) siapkan larutan blanko dengan penambahan pereaksi dan perlakuan yang sama seperti contoh;
- j) tambahkan larutan pereduksi ke dalam larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko pada alat HVG;
- k) baca absorbans larutan baku kerja, larutan contoh, dan larutan blanko menggunakan SSA tanpa nyala pada panjang gelombang 253,7 nm;
- l) buat kurva kalibrasi antara konsentrasi logam ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- m) plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- n) lakukan pengerjaan duplo; dan
- o) hitung kadar Hg dalam contoh.

A.5.3.5 Perhitungan

$$\text{Kadar merkuri (Hg), (mg/kg)} = \frac{a \times V_1 \times 1.000 \times F}{W \times 1.000} = \frac{C}{W} \times V \times fp$$

Keterangan:

- a adalah $\mu\text{g/mL}$ dari kurva kalibrasi larutan deret baku;
 C adalah konsentrasi Hg dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/mL}$);
 V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL);
 V1 adalah volume larutan hasil destruksi sampel (mL);
 W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g); dan
 F atau fp adalah faktor pengenceran (=1 jika tanpa pengenceran).

A.5.3.6 Ketelitian

Kisaran RSD dari dua kali ulangan maksimum 16 %. Jika RSD lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

A.6 Cemaran arsen (As)

A.6.1 Prinsip

Contoh didestruksi dengan asam menjadi larutan arsen. Larutan As^{5+} direduksi dengan KI menjadi As^{3+} dan direaksikan dengan NaBH_4 atau SnCl_2 sehingga terbentuk AsH_3 atau dengan cara destruksi bertekanan menggunakan *microwave* yang dilanjutkan dengan pelarutan dalam larutan asam. Logam yang terlarut kemudian dibaca dengan SSA pada panjang gelombang maksimum 193,7 nm. sesuai dengan BS-EN 13805. *Foodstuffs-Determination of Trace Elements-Pressure digestion. AOAC Official Method 986.15, Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method. Final Action.*

A.6.2 Peralatan

- SSA yang dilengkapi dengan lampu katoda As dan generator uap hidrida (HVG);
- Tanur;
- Microwave digester*;
- Neraca analitik;
- Pemanas listrik;
- Bunsen burner*;
- Labu *Kjeldahl* 250 mL;
- Labu terbuat dari borosilikat berdasar bulat 50 mL.
- Labu ukur 1.000 mL, 500 mL, 100 mL, dan 50 mL;
- Gelas ukur 25 mL;
- Pipet volumetrik 25 mL;
- Pipet ukur berskala 0,05 mL atau mikro buret;
- Cawan porselen kapasitas 50 mL; dan
- Gelas piala 200 mL.

A.6.3 Pereaksi

A.6.3.1 Pengabuan basah

- Asam nitrat, HNO_3 pekat;
- Asam sulfat, H_2SO_4 pekat;
- Asam perklorat, HClO_4 pekat;
- Ammonium oksalat, $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ jenuh;
- Hidrogen peroksida, H_2O_2 pekat;
- Larutan natrium borohidrida, NaBH_4 ;
larutkan 3 g NaBH_4 dan 3 g NaOH dengan air suling sampai tanda garis ke dalam labu ukur 500 mL.
- Larutan asam klorida, HCl 8 M;
larutkan 66 mL HCl pekat kedalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- Larutan timah (II) klorida, $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10 %;
timbang 50 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ke dalam gelas piala 200 mL dan tambahkan 100 mL HCl pekat. Panaskan hingga larutan jernih dan dinginkan kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 500 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- Larutan kalium iodida, KI 20 %;
timbang 20 g KI ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (larutan harus dibuat langsung sebelum digunakan).

- j) Larutan $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 75 mg/mL;
larutkan 3,75 g MgO dengan 30 mL H_2O secara hati-hati, tambahkan 10 mL HNO_3 , dinginkan dan encerkan hingga 50 mL dengan air suling.
- k) Larutan baku 1.000 $\mu\text{g/mL}$ As;
larutkan 1,3203 g As_2O_3 kering dengan sedikit NaOH 20% dan netralkan dengan HCl atau HNO_3 1:1 (1 bagian asam : 1 bagian air). Masukkan ke dalam labu ukur 1 L dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- l) Larutan baku 100 $\mu\text{g/mL}$ As;
pipet 10 mL larutan baku As 1.000 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ As.
- m) Larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As; dan
pipet 1 mL larutan standar arsen 100 mg/L ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ As.
- n) Larutan baku kerja As;
pipet masing-masing 0,5 mL; 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL; 4,0 mL dan 5,0 mL larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,005 $\mu\text{g/mL}$; 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$; 0,03 $\mu\text{g/mL}$; 0,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,05 $\mu\text{g/mL}$ As.

A.6.3.2 Pengabuan menggunakan *microwave digester*

- a) Larutan asam nitrat, HNO_3 pekat (65 %, Bj 1,4)
- b) Larutan asam nitrat, HNO_3 encer,
encerkan asam nitrat (a) dengan air dalam proporsi (1 + 9) bagian berdasarkan volume
- c) Hidrogen peroksida, H_2O_2 , (30 %, Bj 1,11).

A.6.3.3 Larutan baku

Lakukan pembuatan larutan baku dan larutan baku kerja sesuai dengan cara berikut ini atau lakukan pembuatan sesuai keperluan.

- a) Larutan baku 1 000 $\mu\text{g/mL}$ As;
larutkan 1,320 g As_2O_3 kering dengan sedikit NaOH 20% dan netralkan dengan HCl atau HNO_3 1:1 (1 bagian asam : 1 bagian air). Masukkan ke dalam labu ukur 1 L dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis.
- b) Larutan baku 100 $\mu\text{g/mL}$ As;
pipet 10 mL larutan baku As 1 000 $\mu\text{g/mL}$ ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku kedua ini memiliki konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ As.
- c) Larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As; dan
pipet 1 mL larutan standar arsen 100 mg/L ke dalam labu ukur 100 mL dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis. Larutan baku ketiga ini memiliki konsentrasi 1 $\mu\text{g/mL}$ As.
- d) Larutan baku kerja As;
pipet masing-masing 0,5; 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL; 4,0 mL dan 5,0 mL larutan baku 1 $\mu\text{g/mL}$ As ke dalam labu ukur 100 mL terpisah dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis kemudian kocok. Larutan baku kerja ini memiliki konsentrasi 0,005 $\mu\text{g/mL}$; 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$; 0,03 $\mu\text{g/mL}$; 0,04 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,05 $\mu\text{g/mL}$ As.

A.6.4 Cara kerja

A.6.4.1 Pengabuan basah

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

A.6.4.2 Destruksi menggunakan *microwavedigester* atau destruksi sistem tertutup

- Timbang 1 g contoh (W) ke dalam tabung destruksi dan tambahkan 5 mL HNO_3 , 1 mL H_2O_2 kemudian tutup rapat;
- masukkan ke dalam *microwave digester* dan kerjakan sesuai dengan petunjuk pemakaian alat;
- setelah dingin, pindahkan larutan destruksi ke dalam labu ukur 25 mL secara kuantitatif dan encerkan dengan air suling sampai tanda garis (V);
- pipet 10 mL (fp) larutan destruksi ke dalam labu borosilikat berdasar bulat 50 mL, tambahkan 1 mL larutan $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, uapkan di atas pemanas listrik hingga kering dan arangkan. Abukan dalam tanur dengan suhu 450°C (± 1 jam);
- dinginkan, larutkan dengan 2,0 mL HCl 8 M, 0,1 mL KI 20% dan biarkan minimum 2 menit. Tuangkan larutan tersebut ke dalam tabung contoh pada alat;
- siapkan NaBH_4 dan HCl dalam tempat yang sesuai dengan yang ditentukan oleh alat;
- tuangkan larutan baku kerja As 0,01 $\mu\text{g/mL}$; 0,02 $\mu\text{g/mL}$; 0,03 $\mu\text{g/mL}$; 0,04 $\mu\text{g/mL}$; 0,05 $\mu\text{g/mL}$ serta blanko ke dalam 6 tabung contoh lainnya. Nyalakan *burner* atau *bunsen* serta tombol pengatur aliran pereaksi dan aliran contoh;
- baca nilai absorbans tertinggi larutan baku kerja As dan contoh dengan blanko sebagai koreksi;
- buat kurva kalibrasi antara konsentrasi As ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu X dan absorbans sebagai sumbu Y;
- plot hasil pembacaan larutan contoh terhadap kurva kalibrasi (C);
- lakukan pengerjaan duplo; dan
- hitung kandungan As dalam contoh.

A.6.5 Perhitungan

$$\text{Kandungan arsen (As), (mg/kg)} = \frac{a \times V_1 \times 1.000 \times F}{W \times 1.000} = \frac{C}{W} \times V \times fp$$

Keterangan:

- a adalah $\mu\text{g/mL}$ dari kurva kalibrasi larutan deret baku;
- C adalah konsentrasi Hg dari kurva kalibrasi, dinyatakan dalam mikrogram per mililiter ($\mu\text{g/mL}$);
- V adalah volume larutan akhir, dinyatakan dalam mililiter (mL); dan
- V1 adalah volume larutan hasil destruksi sampel (mL)
- W adalah bobot contoh, dinyatakan dalam gram (g).
- F atau fp adalah faktor pengenceran (=1 jika tanpa pengenceran)

A.6.6 Ketelitian

Kisaran RSD dari dua kali ulangan maksimum 16 %. Jika RSD lebih besar dari 16 %, maka uji harus diulang kembali.

Bibliografi

- [1] AOAC Official Method 971.21, *Mercury in Foods, Flameless Atomic Absorption Spectrophotometric Method.*
- [2] AOAC Official Method 985.16, *Tin in Canned Foods, Atomic Absorption Spectrophotometric Method.*
- [3] AOAC Official Method 986.15, *Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Human and Pet Foods, Multielement Method.*
- [4] AOAC Official Method 999.11, *Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in foods: Absorption Spectrophotometry after Dry Ashing.*
- [5] *BS EN 13805:2014. Foodstuffs. Determination of Trace Elements. Pressure digestion*
- [6] *BS EN 15764;2009. Foodstuffs. Determination of Trace Element. Determination of Tin by Flame and Graphite Furnace AAS after pressure digestion.*
- [7] *ISO 937:1978, Meat and Meat Products – Determination of Nitrogen Content (Reference method).*
- [8] *ISO 1443:1973, Meat and Meat Products – Determination of Total Fat Content.*
- [9] Undang-Undang Nomor 8 Tahun 1999 tentang Perlindungan Konsumen;
- [10] Undang-Undang Nomor 36 Tahun 2009 tentang Kesehatan;
- [11] Undang-Undang Nomor 18 Tahun 2012 tentang Pangan;
- [12] Undang-Undang Nomor 3 Tahun 2014 tentang Perindustrian;
- [13] Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2014 tentang Standardisasi dan Penilaian Kesesuaian;
- [14] Peraturan Pemerintah Nomor 69 Tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan;
- [15] Peraturan Pemerintah Nomor 102 Tahun 2000 tentang Standardisasi Nasional;
- [16] Peraturan Pemerintah Nomor 28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu, dan Gizi Pangan;
- [17] Peraturan Menteri Pertanian No. 23/Permentan/PK.210/5/2018 tentang Perubahan atas Peraturan Menteri Pertanian No. 34/Permentan/PK.210/7/2016 tentang Pemasukan Karkas, Daging, Jeroan dan/atau Olahannya dalam Wilayah Republik Indonesia;
- [18] Peraturan Menteri Perindustrian Nomor 24/M-IND/PER/2/2010 tentang Pencantuman Logo Tara Pangan dan Kode Daur Ulang pada Kemasan Pangan dari Plastik;
- [19] Peraturan Menteri Perindustrian Nomor 75/M-IND/7/2010 tentang Pedoman Cara Produksi Pangan Olahan yang Baik (*Good Manufacturing Practices*);

- [20] Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 033 Tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan;
- [21] Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 4 sampai 25 Tahun 2013, Nomor 36 sampai 38 Tahun 2013, Nomor 4 Tahun 2014 dan Nomor 22 tahun 2016 tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan;
- [22] Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 16 Tahun 2016 tentang Kriteria Mikrobiologi dalam Pangan Olahan.
- [23] Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 21 Tahun 2016 tentang Kategori Pangan;
- [24] Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 24 Tahun 2016 tentang Persyaratan Pangan Steril Komersial.
- [25] Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 5 Tahun 2018 tentang Batas Cemaran Logam Berat dalam Pangan Olahan.

Informasi pendukung terkait perumus standar

[1] Komtek/SubKomtek perumus SNI

Komite Teknis 67-04, Makanan dan Minuman

[2] Susunan keanggotaan Komtek perumus SNI

Ketua	: Enny Ratnaningtyas	Dit. IMHLP - Kemenperin
Sekretaris	: Miranti Rahayu	BPPI - Kemenperin
Anggota	: Jef Rinaldi	Dit. IMHLP - Kemenperin
	Andriani Z	Dit. IMHLP - Kemenperin
	Ericha Fatma Yuniati	Dit. IMHLP - Kemenperin
	A. Basrah Enie	Pusat Layanan Informasi Industri Pangan
	Djoko Setyono	Konsumen
	Deksa Presiana	BPOM
	Jenny Elisabeth	Wilmar Group
	Roch Ratri Wandasari	GAPMMI
	Cahyo Konstitusianto	PT. Indofood CBP Sukses Makmur
	Haniwar	Asosiasi Pengolahan Daging Indonesia
	Ning Ima Arie Wardayanie	BBIA - Kemenperin
	Dianawati	Dit. SPK - Kemendag
	Anna Maria	AP5I

[3] Konseptor rancangan SNI

Fitri Hasanah

Balai Besar Industri Agro

[4] Sekretariat pengelola Komtek perumus SNI

Pusat Standardisasi Industri - Badan Penelitian dan Pengembangan Industri
Kementerian Perindustrian