

**PREDIKSI UMUR SIMPAN *READY-TO-EAT* EMPAL GENTONG
DALAM KEMASAN *RETORT POUCH* HASIL OPTIMASI
PRECOOKING MENGGUNAKAN *ACCELERATED
SHELF LIFE TEST***

SKRIPSI

Oleh

ANJELY PRIMA ROMAIDA SIMAMORA



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

PREDIKSI UMUR SIMPAN *READY-TO-EAT* EMPAL GENTONG DALAM
KEMASAN *RETORT POUCH* HASIL OPTIMASI *PRECOOKING*
MENGUNAKAN *ACCELERATED SHELF LIFE TEST*

Oleh

ANJELY PRIMA ROMAIDA SIMAMORA
NIM : 23020122120039

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anjely Prima Romaida Simamora
N I M : 23020122120039
Program Studi : Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Skripsi yang berjudul: **Prediksi Umur Simpan *Ready-To-Eat* Empal Gentong dalam Kemasan *Retort Pouch* Hasil Optimasi *Precooking* menggunakan *Accelerated Shelf Life Test*** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu: **Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc. dan Nurul Hasniah S.T.P., M.Sc.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukan kecurangan akademik, maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan kebutuhan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Juni 2026



(Anjely Prima Romaida Simamora)

Mengetahui:

Pembimbing Utama



(Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc.)

Pembimbing Anggota



(Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc.)

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul : PREDIKSI UMUR SIMPAN *READY-TO-EAT*
EMPAL GENTONG DALAM KEMASAN
RETORT POUCH HASIL OPTIMASI
PRECOOKING MENGGUNAKAN
ACCELERATED SHELF LIFE TEST

Nama Mahasiswa : ANJELY PRIMA ROMAIDA SIMAMORA

Nomor Induk Mahasiswa : 23020122120039

Program Studi/Departemen : S-1 TEKNOLOGI PANGAN/PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal 30 JUN 2026.....

Pembimbing Utama



Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc.

Pembimbing Anggota



Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc.

Ketua Program Studi



Ahmad N. Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



Swastika Dewi, S.T.P., M. Sc.

Dekan



Prof. Sugilwa, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen



Ahmad N. Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

RINGKASAN

ANJELY PRIMA ROMAIDA SIMAMORA. 23020122120039. 2026. Prediksi Umur Simpan *Ready-To-Eat* Empal Gentong dalam Kemasan *Retort Pouch* Hasil Optimasi *Precooking* menggunakan *Accelerated Shelf Life Test* (Pembimbing: **BHAKTI ETZA SETIANI** dan **NURUL HASNIAH**).

Empal gentong merupakan salah satu pangan tradisional berbahan dasar daging sapi berkuah yang memiliki kadar air tinggi sehingga tergolong *perishable food*. Inovasi pengolahan dan pengemasan yang tepat diperlukan, seperti penggunaan kemasan *retort pouch* yang dikombinasikan dengan sterilisasi untuk menjamin keamanan mikrobiologis. Optimasi proses *precooking* juga berperan penting dalam menentukan karakteristik awal produk serta kestabilannya selama penyimpanan. Metode penentuan umur simpan yang akurat diperlukan dalam upaya menjamin keamanan produk, yaitu pendekatan *Accelerated Shelf Life Test* (ASLT).

Penelitian ini dilaksanakan selama 3 bulan yaitu Desember 2025 – Februari 2026 di Laboratorium Pusat Penelitian Ternak Tropik (PPTT) *Animal Science Learning Center* Fakultas Peternakan dan Laboratorium Ilmu dan Teknologi Daging (ITD), Departemen Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi umur simpan dan mengetahui pengaruh perlakuan terhadap mutu produk daging *ready-to-eat* empal gentong dalam kemasan *retort pouch* dengan metode ASLT model Arrhenius. Produk yang telah dikemas disimpan pada suhu 30°C, 40°C, dan 50°C, kemudian diamati nilai pH, *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS), kadar air, kadar lemak, kadar protein, kadar kolagen, dan *Total Plate Count* (TPC) pada komponen daging.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan suhu penyimpanan, yaitu P1 (30°C), P2 (40°C), dan P3 (50°C), masing-masing dengan tiga ulangan. Pengamatan dilakukan pada lima titik waktu penyimpanan, yaitu hari ke-0, ke-7, ke-14, ke-21, dan ke-28. Parameter yang diuji meliputi pH, TBARS, kadar air, kadar lemak, kadar protein, kadar kolagen, dan TPC. Data dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS menggunakan analisis varians (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan dan dilanjutkan dengan uji lanjut DMRT apabila terdapat perbedaan yang signifikan. Data kemudian dianalisis menggunakan model Arrhenius untuk memprediksi umur simpan produk.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daging empal gentong memiliki estimasi umur simpan selama satu tahun delapan bulan empat belas hari pada suhu 30°C. Perlakuan suhu dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap laju kemunduran mutu produk. Nilai TBARS meningkat menunjukkan terjadinya oksidasi lipid, sedangkan nilai pH mengalami peningkatan yang mengindikasikan perubahan komponen kimia. Hasil analisis kadar air, kadar lemak, kadar protein, dan kadar kolagen menunjukkan adanya perubahan komposisi selama penyimpanan, sementara nilai TPC tetap berada dalam batas aman yang menunjukkan bahwa produk stabil secara mikrobiologis akibat proses sterilisasi.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Prediksi Umur Simpan *Ready-To-Eat* Empal Gentong dalam Kemasan *Retort Pouch* Hasil Optimasi *Precooking* menggunakan *Accelerated Shelf Life Test*” dengan baik dan tepat waktu. Penyusunan skripsi ini bertujuan sebagai salah satu persyaratan akademik serta untuk menambah wawasan dan pengetahuan penulis dalam bidang teknologi pangan, khususnya terkait pengolahan, pengemasan, dan penentuan umur simpan produk pangan.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc., selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc., selaku dosen pembimbing anggota, yang telah membimbing, memberi arahan, perhatian, serta saran yang membangun sehingga penyusunan skripsi ini terlaksana dengan baik dan tepat waktu.
2. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menempuh kegiatan perkuliahan di Program Studi S-1 Teknologi Pangan dan melaksanakan penelitian hingga penyusunan skripsi untuk memperoleh gelar sarjana.
3. Bapak Ahmad Ni'matullah Al-Baari, S.Pt., M.P., Ph.D., selaku Ketua Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro sekaligus Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, yang telah memberikan izin, arahan, serta kesempatan selama penulis menempuh pendidikan hingga penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D., selaku Koordinator laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, serta drh.

Siti Susanti, Ph.D. selaku Koordinator Laboratorium Kimia Gizi Pangan, yang memberikan bantuan dan arahan selama pelaksanaan penelitian.

5. Bapak Dr. Rafli Zulfa Kamil, S.T.P., Ibu Yasmin Aulia Rachma, S.T.P., M.Sc., dan Bapak Hega Bintang Pratama Putra, S.T.P., M.Sc., selaku dosen penguji dan dosen panitia, yang telah memberikan kritik, saran, serta masukan dalam penyempurnaan skripsi ini.
6. Ibu Ulil Afidah, S.Pt., M.Sc., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta kepercayaan kepada penulis, termasuk dalam pemberian proyek penelitian yang menjadi dasar dalam penyusunan skripsi ini.
7. Bapak dan Ibu dosen serta staf karyawan Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, yang telah memberikan ilmu, bantuan, serta pelayanan selama penulis menempuh pendidikan hingga penyusunan skripsi ini.
8. Bapak Dr. Ir. Endy Triyannanto, S.Pt., M.Eng., IPM., ASEAN Eng., yang telah memberikan kepercayaan untuk bergabung pada proyek penelitian dan izin untuk melaksanakan penelitian di Universitas Gadjah Mada.
9. Orang tua tercinta yang selalu penulis banggakan Ibu Ratna Sarmauli Pane dan Bapak Lambok Marganda Simamora (alm.), adik penulis Wynona Tresyana Simamora, Sarah Kristanti Simamora, Viona Larasita Simamora, serta keluarga besar penulis yang telah memberikan kasih sayang, doa yang tiada henti, dukungan, dan pengorbanan yang tidak ternilai sepanjang hidup penulis.
10. Petrus Uli Apriandy Pakpahan selaku kekasih penulis, yang telah menemani, memberikan dukungan, dan kehadiran yang berarti selama masa pendidikan hingga proses penyusunan skripsi ini.
11. Sahabat penulis Katarina Siena Divayani Mahadewi dan Margaret Agustina Sianturi yang telah senantiasa memberikan dukungan, semangat, dan menjadi tempat berbagi selama masa kuliah dan proses penyusunan skripsi ini.
12. Vania Natasha, Prameswari Priyanka Triguna, Farid Ma'ruf, Cornelius Felix Ekaputra, Laura Amelia Putri, Nikolaus Raka Pradana, Rais Andian, yang

telah memberikan dukungan, kebersamaan, dan semangat selama proses penyusunan skripsi ini.

13. Alisha Syifa Calista Fitri, Della Anindya Putri, dan Wamayana Istiqomah, yang telah bekerja sama, memberi bantuan, serta dukungan selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
14. Farah Cahya Ratri, Sheila Calista Amani, Dinda Rafiatusyahna, Atsmar Hidayati Utomo, yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam penyusunan skripsi ini.
15. Teman-teman “GBI Jl. Merdeka” Michelle Irene Febe Simamora, Makesya Larasati, Mestika Iman Hidayanti Waruwu, Yuvinia Lahagu, yang telah memberikan doa dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini.
16. Teman-teman “Persekutuan Mahasiswa Kristen”, yang telah memberikan dukungan selama penyusunan skripsi ini.
17. Teman-teman Teknologi Pangan Angkatan 2022, yang telah kebersamai penulis selama penulis menempuh pendidikan hingga penyusunan skripsi ini.
18. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah memberikan bantuan, dukungan, serta kontribusi baik secara langsung maupun tidak langsung selama proses penyusunan skripsi ini hingga dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki berbagai keterbatasan dan belum mencapai kesempurnaan sehingga penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca sebagai bahan evaluasi dan perbaikan di masa mendatang. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat serta menambah wawasan bagi pembaca dan pihak yang membutuhkan. Akhir kata, penulis memohon maaf apabila dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan maupun kekeliruan yang kurang berkenan.

Semarang, Juni 2026

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR ILUSTRASI	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
18.1. Latar Belakang	1
18.2. Tujuan dan Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Daging Sapi dan Olahannya.....	5
2.2. Empal Gentong	8
2.3. Produk <i>Ready-To-Eat</i>	10
2.4. Proses <i>Precooking</i>	11
2.5. Kemasan <i>Retort Pouch</i>	12
2.6. Sterilisasi Termal pada Produk <i>Retort</i>	15
2.7. <i>Accelerated Shelf Life Test</i>	17
2.8. Parameter Pengujian	23
BAB III MATERI DAN METODE.....	31
3.1. Materi	31
3.2. Metode	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1. Perubahan Mutu Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong dalam Kemasan <i>Retort Pouch</i>	43
4.2. Analisis Kinetika Perubahan Mutu Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong dalam Kemasan <i>Retort Pouch</i>	56

4.3. Prediksi Umur Simpan Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong dalam Kemasan <i>Retort Pouch</i>	59
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	64
5.1. Simpulan.....	64
5.2. Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN.....	75
RIWAYAT HIDUP.....	99

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Syarat Mutu Daging Sapi	6
2. Syarat Mutu Daging Berkuah dalam Kemasan	7
3. Kriteria Mikrobiologi untuk Daging Berkuah dalam Kemasan .	8
4. Nilai Inaktivasi Mikroorganisme pada Sterilisasi.....	16
5. Perbandingan Metode <i>Extended Storage Studies</i> (ESS) dan <i>Accelerated Shelf Life Test</i> (ASLT).....	19
6. Perubahan <i>Total Plate Count</i> Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong selama Penyimpanan Suhu 30°C, 40°C, dan 50°C.....	55
7. Persamaan Regresi Parameter TBARS Orde 0.....	56
8. Persamaan Regresi Parameter TBARS Orde 1	57
9. Persamaan Regresi Parameter TBARS Orde 2.....	57
10. Nilai Kinetika Perubahan Parameter TBARS Selama Penyimpanan	58
11. Nilai Energi Aktivasi Parameter Kemunduran Mutu	60
12. Prediksi Umur Simpan Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong .	60
13. Perbandingan Umur Simpan berdasarkan Model Arrhenius dan Q_{10}	61

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor		Halaman
1.	Produk Empal Gentong.....	9
2.	Struktur Penyusun <i>Retort Pouch</i>	14
3.	Diagram Alir Pembuatan Empal Gentong.....	35
4.	Perubahan pH Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong	43
5.	Perubahan TBARS Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong	45
6.	Perubahan Kadar Air Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong....	47
7.	Perubahan Kadar Lemak Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong	49
8.	Perubahan Kadar Protein Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong	51
9.	Perubahan Kadar Kolagen Daging <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong	53
10.	Pemodelan Arrhenius Parameter TBARS	58

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Produk <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong yang dikemas dalam Kemasan <i>Retort Pouch</i>	75
2.	Proses <i>Precooking</i>	76
3.	Proses <i>Retorting</i> , <i>Sealing</i> , dan Inkubasi	77
4.	Dokumentasi Pengujian pH	78
5.	Dokumentasi Pengujian TBARS	79
6.	Dokumentasi Pengujian Proksimat dan Kadar Kolagen.....	80
7.	Dokumentasi Pengujian TPC.....	81
8.	<i>Output</i> SPSS Analisis ANOVA dan DMRT Parameter pH	82
9.	<i>Output</i> SPSS Analisis ANOVA dan DMRT Parameter TBARS	83
10.	<i>Output</i> SPSS Analisis ANOVA dan DMRT Parameter Kadar Air.....	84
11.	<i>Output</i> SPSS Analisis ANOVA dan DMRT Parameter Kadar Lemak	85
12.	<i>Output</i> SPSS Analisis ANOVA dan DMRT Parameter Kadar Protein.....	86
13.	<i>Output</i> SPSS Analisis ANOVA dan DMRT Parameter Kadar Kolagen.....	87
14.	Grafik Perubahan Mutu TBARS selama Penyimpanan dalam Model Ordo Reaksi Nol, Satu, dan Dua.	88
15.	Perubahan <i>Total Plate Count</i> Produk <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong	89
16.	Uji pH <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong selama Penyimpanan Suhu 30°C, 40°C, dan 50°C.....	90

17. Uji TBARS (<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i>) <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong selama Penyimpanan Suhu 30°C, 40°C, dan 50°C.....	91
18. Uji Kadar Air <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong selama Penyimpanan Suhu 30°C, 40°C, dan 50°C.....	92
19. Uji Kadar Lemak <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong selama Penyimpanan Suhu 30°C, 40°C, dan 50°C.....	93
20. Uji Kadar Protein <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong selama Penyimpanan Suhu 30°C, 40°C, dan 50°C.....	94
21. Uji Kadar Kolagen <i>Ready-To-Eat</i> Empal Gentong selama Penyimpanan Suhu 30°C, 40°C, dan 50°C.....	95
22. Perhitungan Umur Simpan Model Arrhenius	96
23. Perhitungan Umur Simpan Model Q_{10}	98

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Empal gentong merupakan salah satu pangan tradisional khas Cirebon, Indonesia yang terbuat dari daging sapi dan dipadukan dengan kuah bersantan serta berbagai rempah sehingga menghasilkan cita rasa dan aroma yang khas. Daging merupakan komponen utama yang berkontribusi terhadap kandungan protein, lemak, dan kolagen, sedangkan kuah berfungsi sebagai media penghantar cita rasa yang mengandung air, lemak dari santan, serta senyawa bioaktif dari rempah-rempah. Keberadaan kuah menyebabkan empal gentong memiliki kadar air yang tinggi sehingga tergolong pangan mudah rusak (Muchtar *et al.*, 2023). Kondisi ini berpotensi menimbulkan risiko keamanan pangan apabila produk tidak diolah dan disimpan dengan tepat. Menurut *World Health Organization*, kasus penyakit bawaan sekitar 600 juta lebih kasus dilaporkan setiap tahunnya dengan 420.000 kematian yang sebagian besar disebabkan oleh konsumsi makanan yang terkontaminasi baik secara biologis, fisik, dan kimiawi (Kurniaditya *et al.*, 2025). Inovasi dalam bentuk pengembangan empal gentong menjadi produk pangan siap saji (*ready-to-eat/RTE*) dengan umur simpan lebih panjang menjadi penting untuk dilakukan.

Pengembangan empal gentong sebagai produk RTE memerlukan penerapan teknologi pengolahan dan pengemasan yang tepat untuk menjamin mutu dan

keamanan pangan. Kemasan *retort pouch* adalah salah satu teknologi yang banyak digunakan karena merupakan kemasan fleksibel multilapis yang mampu menahan kondisi suhu dan tekanan tinggi selama proses sterilisasi (Azhari *et al.*, 2023). Proses sterilisasi komersial pada kemasan ini bertujuan untuk menginaktivasi mikroorganisme patogen, termasuk bakteri pembentuk spora seperti *Clostridium botulinum* sehingga produk aman untuk disimpan pada suhu ruang dalam jangka waktu tertentu. *Clostridium botulinum* adalah patogen resisten yang dapat bertahan pada makanan rendah asam (Kurniadi *et al.*, 2019). Kombinasi antara proses termal dan kemasan *retort pouch* menjadi pendekatan yang efektif dalam menghasilkan produk RTE yang aman secara mikrobiologis.

Perubahan mutu produk tetap terjadi selama penyimpanan meskipun keamanan mikrobiologis dapat dicapai melalui proses sterilisasi. Mutu suatu produk dianggap dalam keadaan 100% saat diproduksi dan akan menurun sejalan dengan lamanya penyimpanan (Pratiwi *et al.*, 2019). Perubahan mutu produk empal gentong dapat melibatkan berbagai reaksi kimia seperti oksidasi lipid. Oksidasi lipid merupakan salah satu mekanisme utama penurunan mutu pada produk daging karena menghasilkan berbagai senyawa hasil dekomposisi, termasuk malondialdehid (MDA) yang dapat menurunkan mutu sensori dan berpotensi menghasilkan senyawa yang tidak diinginkan bagi kesehatan (Dewi *et al.*, 2025). Oleh karena itu, *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS) dipilih sebagai parameter kritis dalam penelitian ini karena mampu menggambarkan tingkat oksidasi lipid yang berhubungan langsung dengan penurunan mutu produk selama penyimpanan.

Tahapan pengolahan awal seperti *precooking* dapat menentukan karakteristik awal produk. Proses ini dapat menghilangkan udara dalam jaringan daging, memengaruhi struktur protein, distribusi lemak, serta kemampuan bahan dalam mengikat air (Oktavia *et al.*, 2022). Optimasi kondisi *precooking* diperlukan untuk menghasilkan produk dengan kualitas awal yang baik sekaligus memperlambat laju kerusakan selama penyimpanan. *Precooking* dengan waktu dan suhu yang tepat akan membuat daging menjadi padat serta dapat menginaktivasi enzim (Syihabbudin *et al.*, 2024). Berdasarkan penelitian Indriyani (2026), proses *precooking* pada suhu 90°C selama 40 menit menghasilkan perlakuan terbaik secara fisik dan kimia.

Penentuan umur simpan menjadi aspek penting dalam menjamin mutu dan keamanan produk pangan (Asiah *et al.*, 2025). Metode konvensional melalui pengujian penyimpanan nyata (*real-time*) memerlukan waktu yang relatif lama dan kurang efisien, terutama untuk produk dengan umur simpan panjang seperti produk dalam kemasan *retort pouch*. Metode *Accelerated Shelf Life Test* (ASLT) dapat digunakan sebagai pendekatan untuk mempercepat estimasi umur simpan dengan cara menyimpan produk pada kondisi yang dipercepat, yaitu suhu yang lebih tinggi dari kondisi normal sehingga perubahan mutu dapat diamati dalam waktu yang lebih singkat (Nurfiqih *et al.*, 2021). Evaluasi perubahan mutu difokuskan pada bagian daging empal gentong sebagai komponen utama produk. Pemilihan daging sebagai unit analisis didasarkan pada pertimbangan parameter yang diamati terutama TBARS. Kuah memiliki komposisi yang berbeda sehingga mekanisme maupun laju perubahan mutunya dapat berbeda dengan daging.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian mengenai prediksi umur simpan daging *ready-to-eat* empal gentong dalam kemasan *retort pouch* hasil optimasi *precooking* menggunakan metode *Accelerated Shelf Life Testing* (ASLT) perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi umur simpan serta mengetahui pengaruh perlakuan terhadap perubahan mutu pada daging *ready-to-eat* empal gentong yang dikemas dalam *retort pouch* selama penyimpanan.

1.2. Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk memprediksi umur simpan daging *ready-to-eat* empal gentong dalam kemasan *retort pouch* hasil optimasi *precooking* menggunakan metode *Accelerated Shelf Life Testing* (ASLT), serta mengetahui pengaruh perlakuan terhadap mutu daging selama penyimpanan yang meliputi parameter pH, *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS), proksimat (kadar air, kadar lemak, kadar protein), kadar kolagen, dan *Total Plate Count* (TPC). Manfaat penelitian ini adalah memperoleh informasi mengenai umur simpan daging pada produk berkuah dalam kemasan serta mendukung pengembangan produk pangan siap saji berbasis pangan tradisional yang aman, berkualitas, dan memiliki daya simpan yang lebih panjang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daging Sapi dan Olahannya

Daging sapi banyak dikonsumsi dalam berbagai tradisi kuliner karena rasanya yang lezat dan nilai gizi yang tinggi. Daging sapi memiliki kandungan lemak yang lebih rendah, dan kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan daging babi, domba, dan jenis daging lainnya. Daging sapi mengandung 16-22% protein, 1,5-13% lemak, 1% senyawa anorganik, 1,5% senyawa nitrogen non protein, 0,5% karbohidrat, dan 65-80% air setelah pemotongan (Fausiah dan Al Buqhuri, 2019). Komposisi asam amino esensial yang dimiliki daging sapi juga lebih sesuai dengan kebutuhan nutrisi manusia sehingga mendukung daya cerna dan penyerapan yang lebih baik. Selain itu, daging sapi juga mengandung air, lemak, vitamin, mineral, dan senyawa bioaktif yang berkontribusi terhadap cita rasanya. Namun, daging sapi termasuk bahan pangan mudah rusak karena memiliki aktivitas air dan kandungan nutrisi yang tinggi sehingga rentan terhadap pertumbuhan mikroba selama penyimpanan. Kerusakan daging seperti adanya lendir, perubahan tekstur, dan timbulnya bau dan rasa yang tidak disukai akan menurunkan kualitasnya sehingga tidak dapat disimpan dalam waktu yang lama (Tiven dan Simanjorang, 2022).

Otot merupakan bagian yang paling dominan dalam daging sapi. Bagian otot sapi terdiri dari beberapa bagian, yaitu daging sapi has dalam (*tenderloin*) dan has luar (*sirloin*) yang letaknya berdekatan. Daging sapi has dalam berasal dari potongan yang diperoleh dari sekitar pinggang dan bahu sapi. Bagian ini dikenal

lezat dan tergolong lunak karena jarang sekali digunakan untuk bergerak serta mengandung sedikit kolagen (Asmara *et al.*, 2017). Daging has luar merupakan potongan daging yang berasal dari bagian punggung belakang sapi. Bagian ini bergerak lebih berat dibandingkan bagian lain sehingga bertekstur lebih keras dan mengandung lebih banyak kolagen (Fahreza *et al.*, 2025). Syarat mutu daging sapi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu Daging Sapi

No	Jenis Uji	Persyaratan Mutu
		<i>Tenderloin, Sirloin, Cube roll</i>
1	Warna daging	Merah terang
2	Warna lemak	Putih
3	Tekstur	Halus
4	<i>Total Plate Count</i> (CFU/g)	Maks. 1×10^6
5	<i>Coliform</i> (CFU/g)	Maks. 1×10^2
6	<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/g)	Maks. 1×10^2
7	<i>Salmonella sp.</i>	Negatif/25 gram
8	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)	Maks. 1×10^1

Badan Standardisasi Nasional, 3932, (2008)

Daging sapi tidak hanya dikonsumsi dalam bentuk segar, tetapi juga banyak diolah menjadi berbagai produk pangan untuk meningkatkan cita rasa, nilai tambah, serta memperpanjang daya simpannya. Pengolahan daging sapi dapat dilakukan melalui berbagai metode, seperti perebusan, pemanggangan, pengasapan, pengeringan, maupun sterilisasi, dengan penambahan bumbu dan bahan lain sesuai karakteristik produk yang dihasilkan. Produk olahan daging sapi telah banyak dikembangkan di Indonesia, baik sebagai pangan tradisional maupun pangan siap saji, seperti rendang, semur, rawon, abon, dendeng, dan berbagai olahan berbasis kuah seperti empal gentong (Sembor dan Tinangon, 2022). Setiap produk memiliki

karakteristik fisik, kimia, dan mikrobiologis yang berbeda, bergantung pada jenis bahan baku, formulasi, serta proses pengolahan yang digunakan. Perbedaan karakteristik tersebut juga akan memengaruhi stabilitas mutu dan umur simpan produk selama penyimpanan. Tingkat kerusakan dalam bahan pangan sangat bervariasi tergantung bahan, suhu yang digunakan, serta lamanya proses waktu pengolahan (Nguju *et al.*, 2018). Syarat mutu daging berkuah dalam kemasan dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Syarat Mutu Daging Berkuah dalam Kemasan

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan	
			Daging berkuah dalam kemasan	Daging berkuah kombinasi dalam kemasan
1	Keadaan			
	Warna	-		Normal
	Bau	-		Normal
	Rasa	-		Normal
2	Bobot tuntas daging	fraksi massa, %	Min. 51	Min. 30
3	Lemak dengan santan	fraksi massa, %	Maks. 20	Maks. 15
	tanpa santan	fraksi massa, %	Maks. 13	Maks. 7
4	Cemaran logam berat			
	Timah (Sn)	mg/kg		Maks. 250,00 ¹⁾
				Maks. 40,00
	Kadmium (Cd)	mg/kg		Maks. 0,05
	Timbal (Pb)	mg/kg		Maks. 0,50
	Merkuri (Hg)	mg/kg		Maks. 0,03
	Arsen (As)	mg/kg		Maks. 0,25

Badan Standardisasi Nasional, 3838, (2021)

Keterangan:

¹⁾: produk yang dikemas dalam kaleng

²⁾: produk yang disterilisasi sesuai ketentuan tentang persyaratan pangan steril komersial

Tabel 3. Kriteria Mikrobiologi untuk Daging Berkuah dalam Kemasan

No	Jenis Cemar Mikroba	n	c	m	M
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ²⁾	5	1	10 ² koloni/g	2×10 ² koloni/g
2	<i>Enterobacteriaceae</i> ²⁾	5	2	10 ¹ koloni/g	1×10 ² koloni/g
3	<i>Total Plate Count</i> ²⁾	5	3	10 ⁴ koloni/g	1×10 ⁶ koloni/g
4	<i>Salmonella</i> ²⁾	5	0	negatif/25 g	NA
5	<i>Listeria monocytogenes</i> ²⁾	5	0	negatif/25 g	NA

Badan Standardisasi Nasional, 3838, (2021)

Keterangan:

- n : jumlah sampel yang harus diambil dari satu *lot/batch* pangan olahan
c : jumlah sampel hasil analisis dari n yang boleh melampaui m namun tidak boleh melebihi M
m : batas minimal mikroba
M : batas maksimal mikroba
NA : *not applicable*

2.2. Empal Gentong

Empal gentong merupakan salah satu produk pangan tradisional yang berasal dari Cirebon, tepatnya di Desa Battembat Kecamatan Tengah Tani, Jawa Barat, Indonesia (Fahdri *et al.*, 2025). Nama empal gentong berasal dari bahan utama yang digunakan yaitu daging empal dengan sedikit lemak dan gentong untuk proses pemasakan yaitu dimasak dalam wadah berbahan tanah liat (gentong) dengan pemanasan tidak langsung menggunakan kayu bakar pohon asam. Gentong adalah wadah yang digunakan untuk memasak dan biasanya sudah dipakai bertahun-tahun sehingga dipercaya dapat memberikan karakteristik rasa dan aroma yang khas karena kerak bumbu sudah mengendap di pori-pori tanah liatnya. Daging empal gentong dikenal tidak berbau amis karena tertutup oleh aroma kunyit (Ratnawulan *et al.*, 2024). Produk ini disajikan dengan kuah yang diolah melalui proses pemasakan dengan bumbu, santan, dan rempah seperti kunyit, cengkeh, serai, dan

kapulaga. Tradisi memasak olahan ini dahulu dilakukan dengan sistem pikul yaitu penjual membawa langsung peralatan masaknya ke lokasi berjualan.



Ilustrasi 1. Produk Empal Gentong

[mailto:https://share.google/odzErWVVXeWp9nlgI\(2025\)](mailto:https://share.google/odzErWVVXeWp9nlgI(2025))

Empal gentong sebagai produk berkuah memiliki kadar air yang relatif tinggi. Kandungan air yang tinggi dapat mendukung terjadinya aktivitas mikrobiologis seperti bakteri, khamir, dan kapang (Reiza, 2025). Sedangkan, komponen lemak dan senyawa lainnya berpotensi menyebabkan perubahan kimia selama penyimpanan. Oksidasi merupakan reaksi antara komponen dan oksigen yang terjadi pada lipid, vitamin, protein, atau pigmen. Oksidasi lipid merupakan penyebab utama kerusakan makanan (Estiasih *et al.*, 2022). Kondisi ini menyebabkan empal gentong rentan mengalami penurunan mutu terutama pada suhu ruang. Kerentanan empal gentong terhadap kerusakan menjadikan produk ini umumnya dikonsumsi langsung setelah proses pemasakan karena memiliki umur

simpan yang relatif singkat. Oleh karena itu, diperlukan penanganan dan pengolahan lanjutan yang tepat untuk meningkatkan kestabilan mutu dan keamanan produk.

2.3. Produk *Ready-To-Eat*

Produk *ready-to-eat* (RTE) merupakan produk pangan yang telah mengalami proses pengolahan melalui mesin dengan teknologi tinggi sehingga siap dikonsumsi tanpa memerlukan proses pemasakan lanjutan. Produk RTE umumnya akan didinginkan, dibekukan, atau disterilisasi untuk menjamin keamanan dan umur simpannya. Produk ini telah diterima secara luas di negara maju dan beberapa negara berkembang karena perubahan gaya hidup masyarakat yang mengutamakan kemudahan, efisiensi waktu, dan kepraktisan dalam penyediaan makanan. Pemasaran produk RTE di Tiongkok diproyeksikan melampaui sekitar 70 miliar USD pada tahun 2025 (Yang *et al.*, 2025). Sementara, di Indonesia penelitian dan pengembangan produk RTE masih berfokus pada aspek kemasan untuk pengawetan makanan yang lebih lama (Jayatri *et al.*, 2025).

Karakteristik produk RTE berbeda dengan makanan segar. Makanan segar memiliki umur simpan yang pendek dan umumnya dikonsumsi dalam keadaan mentah atau dimasak sendiri (Jayatri *et al.*, 2025). Produk RTE memiliki karakteristik utama berupa kemudahan konsumsi, stabilitas mutu selama penyimpanan, serta tingkat keamanan pangan yang terjamin. Produk ini umumnya hanya membutuhkan pemanasan ulang atau bahkan dapat langsung dikonsumsi sehingga menawarkan kepraktisan bagi konsumen. Seiring dengan meningkatnya

permintaan dan globalisasi, perhatian terhadap keamanan dan mutu pangan juga semakin meningkat, terutama pada *perishable food* seperti daging. Produk daging sangat rentan terhadap pertumbuhan mikroba dan oksidasi lipid yang merupakan salah satu penyebab utama penurunan mutu selama proses pengolahan dan penyimpanan (Tahir *et al.*, 2025). Produk RTE berbasis pangan berkuah umumnya memiliki tantangan yang lebih besar dibandingkan produk kering atau semi-kering.

2.4. Proses *Precooking*

Precooking merupakan proses pemasakan awal yang dilakukan sebelum tahap pengolahan lanjutan pada suatu produk pangan. *Precooking* bertujuan untuk menghilangkan udara dalam jaringan daging, mengurangi lemak dan air, menginaktivasi enzim, menurunkan jumlah mikroorganisme, mempersiapkan bahan pangan agar lebih seragam, menstabilkan karakteristik produk, serta membuat produk lebih terkendali pada tahap pengolahan selanjutnya (Oktavia *et al.*, 2022). Proses ini umumnya dilakukan dengan pemberian panas dengan suhu dan waktu tertentu untuk menghasilkan produk setengah matang. Pemberian panas selama *precooking* akan menyebabkan perubahan struktur komponen penyusun produk seperti kolagen sehingga berkontribusi terhadap tercapainya karakteristik produk yang diinginkan (Khasanah *et al.*, 2023).

Parameter utama dalam proses *precooking* meliputi suhu dan waktu pemanasan. Kombinasi suhu dan pemanasan tersebut akan menentukan tingkat kematangan produk serta perubahan mutu yang terjadi (Oktavia *et al.*, 2022). *Precooking* dengan suhu dan waktu yang tepat dapat menginaktivasi enzim dan

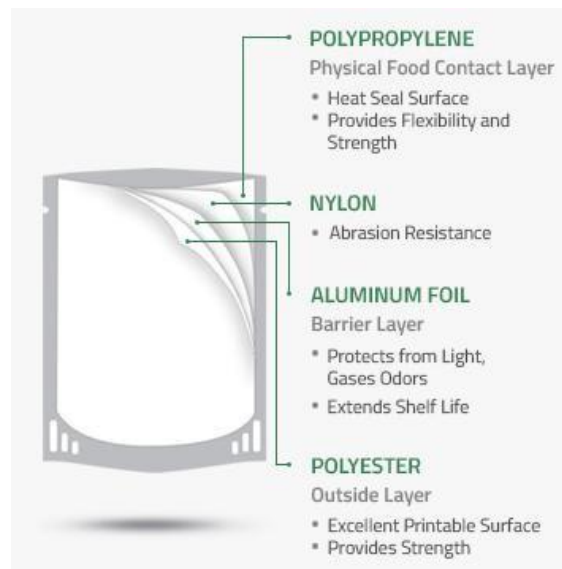
akan membuat produk menjadi kompak (Syihabbudin *et al.*, 2024). Penerapan suhu dan waktu berlebih dapat membuat produk kehilangan kandungan dan merubah sifat fisik menjadi lebih keras begitupun sebaliknya. Oleh karena itu, pengendalian parameter *precooking* menjadi aspek penting dalam menghasilkan produk dengan mutu yang konsisten. *Precooking* berfungsi untuk menurunkan jumlah mikroorganisme awal yang terdapat pada produk sehingga risiko kerusakan produk pada tahap penyimpanan maupun pengolahan lanjutan dapat dikurangi (Khasanah *et al.*, 2023). Namun, *precooking* bukan proses sterilisasi karena tidak dapat menghancurkan bakteri sepenuhnya sehingga masih diperlukan tahapan pengolahan lanjutan untuk menjamin keamanan produk secara menyeluruh.

2.5. Kemasan *Retort Pouch*

Kemasan berfungsi sebagai wadah sekaligus pelindung produk dari pengaruh lingkungan yang dapat menyebabkan penurunan mutu, seperti kerusakan fisik, kimiawi, dan mikrobiologis selama penyimpanan. Kemasan juga berfungsi sebagai media informasi terkait nilai gizi, mutu produk, umur simpan, serta sarana pemasaran (Rasa *et al.*, 2023). *Retort pouch* adalah salah satu jenis kemasan fleksibel berbentuk kantung yang terbuat dari *aluminium foil* dan bahan laminasi polimer. Kantung ini banyak digunakan pada produk pangan siap saji karena ketahanannya terhadap suhu tinggi, ringan, dan harga yang murah. Perkembangan kemasan *retort pouch* dimulai pada pertengahan abad ke-20 untuk kebutuhan pangan militer. Pengembangan teknologi ini meningkat pesat pada dekade 1960 hingga 1970-an. Lembaga antariksa dan institusi militer mulai mengembangkan

kemasan pangan pengganti kaleng logam yang memiliki bobot ringan, daya tahan tinggi, serta mampu menjaga stabilitas produk selama penyimpanan dan distribusi dalam kondisi ekstrem (Jeyapriya *et al.*, 2024). Penggunaan kemasan *retort pouch* mulai meluas ke sektor komersial seiring perkembangan teknologi pada dekade 1980 hingga 1990-an dan masih digunakan hingga saat ini.

Retort pouch terdiri dari beberapa lapisan material dengan fungsi berbeda. Lapisan terdalam merupakan lapisan polipropilena yang bersentuhan langsung dengan pangan dan berfungsi sebagai lapisan penyegel karena memiliki fleksibilitas serta ketahanan terhadap suhu tinggi. Lapisan berikutnya berupa aluminium yang berperan sebagai lapisan penghalang terhadap oksigen, cahaya, uap air, dan aroma (Suhono *et al.*, 2024). Lapisan nylon digunakan pada beberapa jenis *retort pouch* sebagai penguat untuk meningkatkan ketahanan terhadap kerusakan mekanis, sedangkan lapisan terluar biasanya menggunakan *polyester* yang berfungsi memberikan perlindungan fisik serta mendukung tampilan visual kemasan. Produk pangan yang diolah dibawah suhu 125°C dan waktu yang tidak terlalu lama dapat menggunakan nylon *retort pouch* dengan lapisan nylon 15 µm dan *cast polypropylene* 60-100 µm, sedangkan produk yang diolah diatas 125°C dan waktu yang lebih lama dapat menggunakan aluminium *retort pouch* dengan lapisan *polyethylene terephthalate* 12 µm, nylon 15 µm, *aluminium foil* 7-12 µm, dan *cast polypropylene* 70-100 µm (Ikrawan *et al.*, 2025).



Ilustrasi 2. Struktur Penyusun *Retort Pouch*

[https://www.floeterindia.com/about-retort-packaging/\(2019\)](https://www.floeterindia.com/about-retort-packaging/(2019))

Penggunaan kemasan *retort pouch* memiliki berbagai keunggulan dibandingkan kemasan konvensional seperti plastik dan kaleng. *Retort pouch* dilengkapi dengan laminasi multilapis berpenghalang tinggi yang lebih canggih sehingga pangan yang dikemas dalam kemasan ini memiliki warna yang lebih baik dan cita rasa yang lebih baik dibanding produk kaleng (Ikrawan *et al.*, 2025). Menurut penelitian Triyannanto *et al.* (2020), produk satai ayam yang dikemas dalam *retort pouch* tetap awet selama empat pekan lebih lama daripada dikemas dengan kemasan polietilena. *Retort pouch* memiliki bobot yang lebih ringan, efisiensi ruang penyimpanan yang lebih baik, serta waktu pemanasan yang relatif lebih singkat karena ketebalan kemasan yang lebih tipis. Kondisi ini menyebabkan waktu proses berkurang sekitar 30-50% serta dapat membantu mengurangi kerusakan mutu produk akibat paparan panas yang berlebihan selama proses pengolahan (Shah *et al.*, 2017). Kemasan *retort pouch* juga memiliki kemampuan untuk melindungi produk dari kontaminasi mikrobiologis dan reaksi oksidatif.

2.6. Sterilisasi Termal pada Produk *Retort*

Sterilisasi merupakan suatu perlakuan pengolahan yang bertujuan untuk menghancurkan seluruh mikroorganisme beserta sporanya sehingga produk pangan menjadi aman untuk dikonsumsi. Sterilisasi dibedakan menjadi dua jenis, yaitu sterilisasi total (absolut) dan sterilisasi komersial. Sterilisasi total merupakan proses yang bertujuan untuk membunuh seluruh mikroorganisme yang terdapat dalam produk pangan, sedangkan sterilisasi komersial bertujuan untuk mengurangi jumlah mikroorganisme hingga mencapai tingkat yang dapat diterima dan aman bagi konsumen. Sterilisasi yang umum digunakan pada produk pangan yang dikemas secara hermetis dan disimpan pada suhu ruang seperti *retort pouch* adalah sterilisasi komersial (Wahyu dan Ariadi, 2024). Metode sterilisasi yang sudah dikembangkan hingga saat ini adalah metode sterilisasi termal dan non-termal. Metode sterilisasi termal seperti pasteurisasi dan *retort (high temperature sterilization)* banyak digunakan dalam industri pangan karena relatif ekonomis dan efektif. Sterilisasi termal pada produk *retort* dilakukan dengan pemanasan pada suhu tinggi dalam jangka waktu tertentu sehingga mampu menginaktivasi mikroorganisme target yang berpotensi membahayakan kesehatan konsumen (Hasanuddin, 2025).

Proses sterilisasi termal terdiri atas beberapa tahapan. Tahap awal adalah pemanasan produk hingga mencapai suhu sterilisasi, umumnya berada pada kisaran suhu 110–121°C untuk memastikan seluruh bagian produk terutama pada titik *cold spot* mencapai suhu yang ditetapkan. Tahap berikutnya adalah penahanan suhu sterilisasi selama periode waktu tertentu untuk menjamin distribusi panas yang merata di dalam produk. Tahap selanjutnya adalah proses inaktivasi

mikroorganisme yang dinyatakan dalam nilai F_0 , yaitu ukuran efektivitas panas yang dinyatakan sebagai waktu ekuivalen pada suhu $121,1^\circ\text{C}$. Nilai F_0 dihitung berdasarkan perubahan suhu selama pemanasan terhadap waktu dengan mempertimbangkan nilai z , yaitu sensitivitas mikroorganisme terhadap perubahan suhu yang umumnya berkisar pada 10°C (Arsyi *et al.*, 2025). Tahap terakhir adalah pendinginan produk untuk menghentikan proses pemanasan dan mencegah terjadinya *overcooking* atau kerusakan mutu akibat panas berlebih (Prayogo dan Mazda, 2021). Efektivitas proses sterilisasi termal dinyatakan melalui beberapa parameter kinetika, antara lain nilai D , nilai z , nilai L , dan nilai F . Nilai tersebut disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Nilai Inaktivasi Mikroorganisme pada Sterilisasi

Nilai	Deskripsi
Nilai D	Waktu yang dibutuhkan pada suhu tertentu untuk menurunkan populasi mikroorganisme sebesar satu siklus logaritma atau sebesar 90%.
Nilai z	Perubahan suhu yang diperlukan untuk menyebabkan perubahan nilai D sebesar satu siklus logaritma.
Nilai L	Waktu pemanasan ekuivalen pada suhu referensi.
Nilai F	Total nilai L yang dihasilkan selama satu proses sterilisasi.

Rachmawati dan Farm (2024)

Daging dan produk olahannya yang telah rusak dapat mengandung patogen seperti *Salmonella sp.* yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan *Clostridium ferfringens* yang dapat menyebabkan diare, *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan gejala keracunan, dan *Clostridium Botulinum* yang dapat menyebabkan keracunan fatal (Sembor dan Tinangon, 2022). Mikroorganisme target utama dalam proses sterilisasi pangan adalah *C. botulinum*. Mikroorganisme

ini merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang, berspora, bersifat anaerob obligat, membentuk spora tahan panas pada kondisi kurang menguntungkan dan tanpa oksigen, serta mampu tumbuh pada makanan dengan pH di atas 4,6 dan di bawah 10,0 (Kurniadi *et al.*, 2019). *Clostridium botulinum* menghasilkan neurotoksin yang sangat berbahaya dan dapat menyebabkan penyakit botulisme apabila dikonsumsi melalui pangan yang terkontaminasi. Botulisme merupakan penyakit yang bersifat neuromuscular dan dapat berakibat fatal apabila tidak ditangani dengan baik (Mustika, 2019).

Tujuan sterilisasi adalah untuk memastikan bahwa seluruh *cold spot* di dalam produk pangan menerima perlakuan panas yang mampu menurunkan jumlah *Clostridium botulinum* (Muhandri *et al.*, 2024). Proses sterilisasi komersial dirancang agar mampu menurunkan populasi *Clostridium botulinum* hingga tingkat yang sangat rendah melalui konsep penurunan mikroorganisme sebesar 12 siklus logaritma atau dikenal sebagai konsep 12D untuk menjamin keamanan pangan. Apabila diasumsikan nilai D_{121} untuk *C. Botulinum* adalah 0,21 menit, maka waktu proses minimal yang dibutuhkan adalah 2,52 menit. Namun, waktu proses diperpanjang hingga puluhan menit karena faktor distribusi panas dan variasi produk untuk menjamin keamanan produk (Arpi *et al.*, 2025).

2.7. Accelerated Shelf Life Test

Keterangan umur simpan atau tanggal kedaluwarsa merupakan informasi yang sangat penting dan wajib dicantumkan pada label kemasan pangan. Umur simpan produk pangan menunjukkan selang waktu produk masih berada dalam

kondisi aman untuk dikonsumsi serta mampu mempertahankan karakteristik fisik, kimia, sensori, dan mikrobiologi sesuai dengan mutu yang diharapkan. Kewajiban pencantuman tanggal kedaluwarsa pada label pangan telah diatur dalam Undang-undang Pangan no. 7 tahun 1996 serta Peraturan Pemerintah No. 69 tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan sehingga menjadi bagian jaminan mutu dan keamanan produk bagi konsumen (Hidayah *et al.*, 2022). Penentuan umur simpan produk pangan bertujuan untuk memberikan kepastian batas akhir mutu produk selama penyimpanan dengan mengikuti petunjuk yang ditetapkan oleh produsen. Penandaan tanggal kedaluwarsa juga menjadi acuan bagi pelaku usaha pangan serta pengawas resmi dalam menilai status dan kelayakan produk. Penetapan umur simpan yang akurat sangat penting bagi industri pangan, tidak hanya untuk memenuhi regulasi, tetapi juga untuk mendukung upaya pengurangan limbah pangan akibat produk yang dibuang sebelum atau sesudah melewati masa simpannya (Asiah *et al.*, 2025).

Prediksi umur simpan produk pangan dapat dilakukan melalui dua metode, yaitu *Extended Storage Studies* (ESS) dan *Accelerated Shelf Life Test* (ASLT). Metode *Extended Storage Studies* merupakan metode yang dilakukan dengan cara menyimpan produk pada kondisi penyimpanan normal dan mengamati penurunan mutu secara berkala hingga produk mencapai kerusakan maksimal (Sitanggang *et al.*, 2020). Metode ini mampu menggambarkan kondisi penyimpanan aktual, namun membutuhkan waktu yang sangat lama sehingga kurang efisien untuk diterapkan pada pengembangan produk atau pengambilan keputusan industri. Prinsip metode *Accelerated Shelf Life Test* adalah menciptakan kondisi yang mempercepat

penurunan mutu hingga batas keterimaan, yaitu menyimpan produk pada suhu atau kelembaban yang lebih tinggi dibandingkan kondisi penyimpanan normal (Eva *et al.*, 2023).

Tabel 5. Perbandingan Metode *Extended Storage Studies* (ESS) dan *Accelerated Shelf Life Test* (ASLT)

Aspek	<i>Extended Storage Studies</i> (ESS)	<i>Accelerated Shelf Life Test</i> (ASLT)
Prinsip metode	Penyimpanan produk pada kondisi normal yang menyerupai kondisi distribusi dan penyimpanan sebenarnya.	Penyimpanan produk pada kondisi dipercepat untuk mempercepat terjadinya penurunan mutu.
Kondisi Penyimpanan	Suhu dan kelembaban normal sesuai kondisi pasar.	Suhu atau kelembaban lebih tinggi dari kondisi normal.
Lama Pengujian	Relatif lama karena menunggu produk rusak secara alami.	Relatif singkat karena laju kerusakan dipercepat.
Tujuan	Menentukan umur simpan aktual berdasarkan kondisi nyata.	Memprediksi umur simpan pada kondisi normal melalui pemodelan matematis.
Pendekatan analisis	Observasi langsung terhadap perubahan mutu selama penyimpanan.	Pemodelan kinetika perubahan mutu dan ekstrapolasi ke kondisi normal.
Parameter yang diamati	Fisik, kimia, sensori, dan mikrobiologi.	Parameter kemunduran mutu yang sensitif.
Kebutuhan sumber daya	Waktu, ruang, dan biaya yang besar.	Lebih efisien dari segi waktu, ruang, dan biaya.
Tingkat akurasi	Tinggi karena merepresentasikan kondisi nyata.	Tinggi apabila asumsi model dan kondisi akselerasi terpenuhi.
Kesesuaian	Kurang praktis untuk pengembangan produk.	Sangat sesuai untuk kebutuhan industri pangan.
Keterbatasan	Tidak efisien untuk produk dengan umur simpan panjang.	Bergantung pada kesesuaian model dan kestabilan jalur reaksi.

Mustakim *et al.* (2025)

Metode ASLT dapat dilakukan menggunakan dua pendekatan utama, yaitu pendekatan semi empiris menggunakan Arrhenius dan pendekatan kadar air kritis. Pendekatan Arrhenius mensimulasikan kerusakan produk yang dipicu oleh reaksi kimia akibat pengaruh suhu penyimpanan, sedangkan pendekatan kadar air kritis digunakan untuk mensimulasikan kerusakan produk yang dipengaruhi oleh penyerapan air dari lingkungan (Hasibuan *et al.*, 2019). Data perubahan mutu selama penyimpanan kemudian diolah dalam bentuk model matematika, kemudian umur simpan produk ditentukan melalui proses ekstrapolasi model tersebut pada kondisi penyimpanan normal (Yuwono *et al.*, 2022). Model Arrhenius memiliki beberapa asumsi dasar, yaitu perubahan faktor mutu hanya ditentukan oleh satu jenis pereaksi, tidak terdapat faktor lain yang memengaruhi perubahan mutu, proses perubahan mutu tidak merupakan akibat dari reaksi sebelumnya, serta suhu penyimpanan dianggap tetap selama pengujian. Hubungan antara suhu dan laju kerusakan mutu produk dapat digambarkan secara matematis untuk memprediksi umur simpan dengan terpenuhinya asumsi tersebut.

Metode ASLT dengan pendekatan Arrhenius merupakan metode yang paling banyak digunakan oleh industri pangan karena mampu menghasilkan estimasi umur simpan secara cepat dengan tingkat ketelitian yang tinggi. Pendekatan ini umumnya digunakan untuk produk pangan mudah rusak yang sensitif terhadap reaksi kimia seperti oksidasi termasuk produk pangan siap saji yang telah mengalami proses pengolahan termal (Asiah *et al.*, 2025). Suhu merupakan faktor percepatan yang paling umum digunakan dalam ASLT, namun penerapan model Arrhenius mensyaratkan bahwa produk pangan mampu bertahan terhadap peningkatan suhu

tanpa mengalami perubahan jalur reaksi kerusakan. Penggunaan suhu penyimpanan yang terlalu tinggi di atas 60°C dapat memicu oksidasi yang menghasilkan tengik dan tidak mewakili kondisi penyimpanan normal sehingga dapat menghasilkan prediksi umur simpan yang kurang representatif (Li *et al.*, 2023). Apabila peningkatan suhu menyebabkan perubahan fase pada komponen produk, khususnya pada fraksi lemak, maka perilaku kinetika yang mengikuti model Arrhenius tidak lagi dapat dipenuhi (Calligaris *et al.*, 2022).

Model Arrhenius menjelaskan pengaruh suhu terhadap laju reaksi kimia dan energi aktivasi (Calligaris *et al.*, 2022). Model ini berlandaskan teori aktivasi dalam kinetika reaksi yang menyatakan bahwa secara struktural molekul memiliki bagian gugus yang bersifat labil. Gugus labil tersebut dapat bereaksi apabila molekul memperoleh energi yang cukup, misalnya melalui peningkatan suhu. Peningkatan suhu akan menaikkan energi kinetik molekul sehingga memungkinkan molekul melampaui energi minimum yang dibutuhkan untuk memulai reaksi yang dikenal sebagai energi aktivasi (Ruhaeni *et al.*, 2025). Hubungan antara konstanta laju reaksi dan suhu ini dinyatakan melalui persamaan Arrhenius sebagai berikut:

$$k = k_0 e^{\frac{E_a}{RT}} = k_0 e^{-\frac{E_a}{R} \left[\frac{1}{T} \right]} \dots \dots \dots (1)$$

atau dalam bentuk logaritmik:

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{R} \left[\frac{1}{T} \right] \dots \dots \dots (2)$$

Keterangan:

- k = konstanta laju reaksi
- k₀ = faktor frekuensi reaksi
- E_a = energi aktivasi
- R = konstanta gas (8,314 J/g-mole K)
- T = suhu (dalam K)

Persamaan (2) menunjukkan bahwa hubungan antara $\ln k$ dan kebalikan suhu mutlak $\frac{1}{T}$ bersifat linier dan memenuhi model persamaan garis lurus $y = b - ax$. Pada grafik Arrhenius, sumbu x dinyatakan sebagai $\frac{1}{T}$, sumbu y sebagai $\ln k$, dan kemiringan garis lurus setara dengan $-\frac{E_a}{R}$ (Syahrul *et al.*, 2020). Bentuk linier ini memudahkan penentuan energi aktivasi dan konstanta laju reaksi melalui analisis regresi. Dalam penerapan konsep kinetika reaksi untuk pendugaan umur simpan, dikenal istilah orde reaksi. Reaksi kimia didefinisikan sebagai proses perubahan zat pereaksi menjadi produk seiring bertambahnya waktu. Selama reaksi berlangsung, jumlah pereaksi akan semakin berkurang dan jumlah produk akan meningkat (Amdayani *et al.*, 2026). Laju reaksi kimia dapat dinyatakan sebagai laju berkurangnya pereaksi atau laju terbentuknya produk. Besarnya laju reaksi ini dipengaruhi oleh orde reaksi, yaitu bilangan yang menunjukkan pengaruh konsentrasi pereaksi terhadap laju reaksi.

Dalam kondisi lingkungan yang konstan, laju reaksi penurunan mutu produk pangan dapat digambarkan dengan persamaan kinetika berikut:

$$R = -\frac{dQ}{dt} = kQ^n \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

R = laju reaksi penurunan mutu

Q = kriteria mutu tertentu

t = waktu

k = konstanta laju reaksi

n = orde reaksi

Nilai orde reaksi (n) dapat bervariasi, seperti orde nol, orde satu, orde dua, dan seterusnya tergantung pada mekanisme reaksi yang mendasari perubahan mutu

produk. Laju reaksi berlangsung secara konstan pada reaksi orde nol dan tidak bergantung pada konsentrasi pereaksi atau tingkat mutu awal (Calligaris *et al.*, 2022). Model ini umumnya digunakan pada sistem saat faktor pembatas reaksi tidak berubah selama proses berlangsung. Reaksi orde satu merupakan reaksi di mana laju reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi pereaksi. Pada model ini hanya terdapat satu reaktan yang berperan dalam reaksi sehingga dikenal sebagai reaksi monomolekuler (Li *et al.*, 2023). Model orde satu banyak digunakan untuk menggambarkan perubahan mutu produk pangan yang bergantung langsung pada konsentrasi komponen tertentu. Perubahan mutu produk tidak dapat dijelaskan dengan baik menggunakan model orde nol maupun orde satu dalam beberapa kondisi. Model reaksi orde dua dapat digunakan pada kasus tersebut. Model orde dua menunjukkan bahwa laju reaksi berbanding lurus dengan kuadrat konsentrasi pereaksi yang berarti terdapat dua reaktan yang bereaksi secara simultan. Reaksi ini dikenal sebagai reaksi bimolekuler dan umumnya diterapkan pada sistem dengan mekanisme reaksi yang lebih kompleks.

2.8. Parameter Pengujian

2.8.1. pH

Konsep pH pertama kali diperkenalkan oleh Soren Peder Sorensen pada tahun 1909 sebagai parameter kimia yang menunjukkan tingkat keasaman atau kebasaan suatu produk. Nilai pH dinyatakan dalam logaritma negatif dari konsentrasi ion hidrogen ($-\log [H^+]$) yang memungkinkan konsentrasi ion H^+ dikonversi menjadi skala sederhana antara 0 hingga 14 dan digunakan untuk menggambarkan kondisi

lingkungan produk pangan (Susilo *et al.*, 2019). Produk pangan yang diproses melalui sterilisasi komersial dan dikemas secara hermetis umumnya memiliki nilai pH yang berada pada kisaran netral hingga sedikit asam. Mikroorganisme target dalam proses sterilisasi komersial pada produk pangan asam rendah adalah *Clostridium botulinum* yang mampu tumbuh dan menghasilkan toksin pada kondisi pH diatas 4,6. Perubahan pH selama penyimpanan dapat mengindikasikan terjadinya reaksi biokimia maupun aktivitas mikroorganisme. Perubahan nilai pH pada produk berbasis daging dikaitkan dengan degradasi protein oleh enzim proteolitik dan mikroorganisme yang menghasilkan senyawa-senyawa volatil seperti amonia dan senyawa basa lainnya (Sembor dan Tinangon, 2022). Fluktuasi pH juga memengaruhi kestabilan lemak dan protein.

2.8.2.Kadar Air

Air merupakan senyawa esensial yang terlibat dalam berbagai reaksi kimia pada bahan pangan. Air dalam pangan dinyatakan dalam bentuk kadar air dan aktivitas air (a_w). Kadar air menyatakan jumlah absolut air dalam pangan (Kusnandar, 2019). Kadar air dapat menentukan daya awet dari suatu produk pangan karena mempengaruhi sifat fisik dan kimia. Kadar air yang tinggi dalam produk pangan dapat mempercepat terjadinya kemunduran mutu selama penyimpanan sehingga digunakan sebagai salah satu indikator pengukuran kualitas produk pangan. Kemunduran mutu dapat disebabkan oleh reaksi oksidasi lemak yang menghasilkan pelepasan molekul air walaupun dalam jumlah kecil. Hal ini terjadi saat senyawa hidroperoksida yang terbentuk saat reaksi oksidasi lemak

mengalami reaksi lanjutan secara bimolekuler (Nurlela, 2020). Reaksi kimia tersebut dapat memengaruhi distribusi dan interaksi dengan komponen pangan yang dikemas dalam *retort pouch*, meskipun pengaruhnya tidak sebesar proses fisik seperti penguapan.

2.8.3. Kadar Lemak

Lemak merupakan makronutrien esensial yang berfungsi sebagai sumber energi dan pembawa senyawa *flavor* dalam produk pangan. Lemak adalah salah satu jenis lipid sederhana yang dibentuk oleh asam lemak dan gliserol (Kusnandar, 2019). Kadar lemak pada produk pangan dapat mengalami perubahan yang disebabkan oleh proses hidrolisis dan degradasi senyawa lipid selama penyimpanan. Reaksi tersebut terjadi ketika trigliserida terurai menjadi asam lemak bebas dan gliserol sehingga mempengaruhi jumlah lemak terukur dalam produk pangan. Lemak yang terhidrolisis dapat menyebabkan ketengikan, mempercepat oksidasi lipid, serta memengaruhi umur simpan (Yuwono *et al.*, 2023). Faktor lain yang dapat menyebabkan perubahan kadar lemak adalah ketidakstabilan matriks pangan sehingga lemak yang sebelumnya terikat dalam jaringan bahan menjadi lebih mudah terlepas atau terpisah.

2.8.4. Kadar Protein

Protein merupakan komponen utama penyusun jaringan pangan yang berfungsi membentuk struktur, tekstur, serta karakteristik fisik produk. Protein dalam daging sapi umumnya terdiri dari protein *myofibril*, sarkoplasma, dan protein

jaringan ikat. Protein memiliki kemampuan membentuk gel, mengikat air, dan dapat berinteraksi dengan komponen lain seperti lipid. Namun, protein dapat mengalami oksidasi dan denaturasi. Denaturasi protein dapat terjadi akibat suhu tinggi, garam, tekanan, dan pH ekstrem (Nguju *et al.*, 2018). Oksidasi protein selama penyimpanan disebabkan oleh berbagai faktor seperti keberadaan *reactive oxygen species* (ROS), produk oksidasi lipid, serta kation logam (Günel-Köroğlu *et al.*, 2025). Oksidasi protein menyebabkan hilangnya kelarutan asam amino, pembentukan turunan asam amino, penurunan daya cerna protein, bahkan terbentuknya senyawa kimia berbahaya sehingga secara signifikan memengaruhi kualitas dan umur simpan (Li *et al.*, 2026). Oksidasi dan denaturasi protein selama penyimpanan menyebabkan degradasi dan penurunan kualitas protein.

2.8.5. Kadar Kolagen

Kolagen adalah protein struktural utama yang terdapat pada jaringan ikat hewan dan dapat ditemukan pada tulang rawan, tulang, tendon, dan jaringan lainnya sesuai spesiesnya. Kolagen biasanya terdapat sekitar 30% dari total protein. Kolagen memiliki struktur heliks rangkap tiga (*triple helix*) dengan motif utama *L-glycine* (GLY), *L-proline* (PRO), dan *L-4-hydroxyproline* (HYP). Jenis kolagen dalam jaringan hewan mamalia hingga saat ini telah teridentifikasi sebanyak 29 jenis dan yang paling sering digunakan adalah tipe I (Alves *et al.*, 2023). Kolagen dapat memperpanjang umur simpan dengan bertindak sebagai penghalang oksigen, meningkatkan rendemen pemasakan, penahan air, dan memodifikasi tekstur. Namun, kolagen merupakan protein yang sensitif terhadap panas. Struktur *triple*

helix akan pecah menjadi rantai tunggal dan akan bertransisi secara *irreversible* menjadi gelatin atau peptida yang lebih kecil pada suhu tinggi (Nofita *et al.*, 2023). Proses *precooking* dan sterilisasi pada produk *retort* dapat mengubah struktur kolagen menjadi gelatin sehingga memengaruhi tekstur dan kemampuan daging mengikat air. Oleh karena itu, kolagen perlu dianalisis untuk melihat perubahan struktur jaringan daging selama pengolahan dan penyimpanan. Suhu yang semakin tinggi dan waktu penyimpanan yang semakin lama akan menyebabkan penurunan kadar kolagen.

2.8.6. TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*)

Metode TBARS pertama kali dikenalkan pada tahun 1944 dalam studi mengenai produk oksidasi pada jaringan hewan. Senyawa yang bereaksi dengan asam tiobarbiturat (TBA) serta penyebab terbentuknya warna merah muda belum diketahui secara jelas pada tahap awal pengembangannya. Penelitian selanjutnya menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki struktur yang tersusun atas tiga atom karbon dengan gugus aldehida atau keton yang merupakan hasil pemecahan komponen lemak (Laila *et al.*, 2021). Senyawa tersebut ditetapkan sebagai malondialdehida (MDA), yaitu senyawa utama yang membentuk warna merah muda dengan TBA yang menunjukkan serapan maksimum pada panjang gelombang 528 nm. Malondialdehida (MDA) merupakan produk utama dari peroksidasi lipid dan biasanya digunakan sebagai biomarker peroksidasi lemak untuk menilai stres oksidatif yang bersifat karsinogen yang telah lama digunakan sebagai parameter dalam pemantauan oksidasi pada produk daging (Apriantini *et*

al., 2021). Struktur kimia MDA terdiri dari tiga atom karbon, dua gugus aldehida, dan satu gugus metilen.

Reaksi antara asam tiobarbiturat (TBA) dan MDA diketahui tidak bersifat spesifik. Senyawa karbonil lain hasil peroksidasi lipid juga dapat bereaksi dengan TBA dan membentuk kompleks merah muda sehingga berpotensi menyebabkan hasil pengukuran lebih tinggi dibanding kondisi aktual, maka TBARS adalah gambaran keseluruhan kelompok senyawa yang dapat bereaksi dengan TBA (Laila *et al.*, 2021). Senyawa-senyawa tersebut umumnya memiliki rumus $\text{HO}-(\text{CR}=\text{CH})_x\text{-CHO}$, dengan nilai $x=0,1$, atau 2 dan R sebagai gugus substituen. Keberadaan senyawa lain seperti protein dan peptida larut air, aldehida, nitrat dan nitrit, gula, antioksidan polifenol, asam amino, asam lemak, *metal chelators*, dan bahan tambahan pangan juga dapat membentuk kompleks berwarna kuning atau jingga sehingga menjadi sumber interferensi dalam analisis TBARS (Wu *et al.*, 2024). Kompleks ini memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 440-460 nm. Tumpang tindih serapan pigmen tersebut dengan pigmen merah muda dapat meningkatkan nilai absorbansi terukur sehingga meningkatkan risiko overestimasi nilai TBARS.

Kelemahan metode TBARS dapat diatasi dengan beberapa cara agar hasil analisis menjadi lebih akurat dan spesifik. Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah pemisahan MDA menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), penambahan sulfanilamida pada produk yang mengandung nitrit, dan pemurnian ekstrak sampel dengan *solid-phase catridges* (C18) sebelum reaksi TBA-MDA dilakukan (Laila *et al.*, 2021). Selain itu, beberapa senyawa

aldehida hasil oksidasi lipid dapat bereaksi dengan gugus amino bebas pada protein membentuk senyawa berfluoresensi yang dikenal dengan basa Schiff sehingga dapat dianalisis dengan menggunakan metode spektroskopi. Pendekatan lain dilakukan secara matematis, yaitu membedakan nilai serapan pigmen merah muda dan pigmen kuning, atau dengan analisis turunan ketiga pada panjang gelombang 528 nm untuk meningkatkan ketelitian pengukuran (Yusuf, 2026).

Metode yang paling umum digunakan dalam penentuan indeks TBARS adalah metode distilasi dan metode ekstraksi asam cair (Laila *et al.*, 2021). Reaktivitas TBA terhadap MDA diketahui tidak dipengaruhi oleh pH maupun jenis asam yang digunakan, namun reaksi antara TBA dan lipid teroksidasi dalam matriks daging berlangsung optimal pada pH 3-4 dan dipengaruhi oleh jenis asam yang digunakan selama proses pemanasan. MDA sudah bereaksi dengan TBA pada suhu ruang membentuk pigmen merah muda, namun diperlukan pemanasan suhu tinggi untuk memperoleh warna maksimal dari lipid teroksidasi. Suhu pemanasan yang digunakan berkisar antara 80-120°C selama 10 menit hingga lebih dari 60 menit. Nilai TBARS dinyatakan sebagai mg MDA per kg sampel dan digunakan sebagai indikator tingkat ketengikan oksidatif (Timung *et al.*, 2021).

2.8.7. TPC (*Total Plate Count*)

Total Plate Count (TPC) merupakan metode untuk menghitung jumlah total mikroorganisme dan telah dijadikan sebagai salah satu standar mikrobiologis karena mampu memberikan gambaran jumlah mikroorganisme hidup yang mampu berkembang pada kondisi aerob dan suhu mesofilik. Prinsip metode TPC adalah

menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar dan membiarkan mikroorganisme membentuk koloni sehingga dapat dihitung langsung tanpa mikroskop (Wati, 2018). Parameter ini juga berperan untuk memverifikasi keberhasilan proses termal dan integritas sistem pengemasan pada produk sterilisasi. Proses sterilisasi komersial mampu mematikan seluruh sel vegetatif mikroorganisme dan mereduksi spora bakteri hingga tingkat yang sangat rendah. Peningkatan nilai TPC pada produk selama penyimpanan dapat mengindikasikan adanya kegagalan sistem, seperti terjadinya kerusakan segel atau kontaminasi pascaproses (Arifin *et al.*, 2024). Metode TPC yang umum digunakan adalah metode tuang (*pour plate*) dan metode sebar (*spread plate*) dengan media *plate count agar* (PCA). Media PCA akan berubah menjadi padat setelah didinginkan dan umumnya media ini terdiri dari *casein enzymic hydrolysate*, *yeast extract*, *dextrose*, dan *agar*. Media PCA dibuat dengan melarutkan 22,5 g PCA dalam 1 L *aqua destillata*, kemudian dipanaskan dan disterilisasi dengan autoklaf.

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2025 – Februari 2026. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian Ternak Tropik (PPTT) *Animal Science Learning Center* Fakultas Peternakan dan Laboratorium Ilmu dan Teknologi Daging (ITD), Departemen Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Materi yang digunakan dan metode penelitian yang dikerjakan, diuraikan sebagai berikut.

3.1. Materi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging sapi has dalam yang dari Meatshop Oricow Perumnas Condong Catur, kuah empal gentong UMKM Nyai Ida Yogyakarta dengan komposisi kunyit, kemiri, ketumbar, jahe, lengkuas, serai, merica, garam, penyedap rasa sapi, kapulaga, kayu manis, cengkeh, bunga lawang, air, minyak goreng, santan nabati, serta bahan kimia pengujian yaitu larutan *buffer*, akuades, asam trikloroasetat (TCA), asam tiobarbiturat (TBA), asam asetat glasial, *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *plate count agar* (PCA), dan NaCl fisiologis 0,85%.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, inkubator, *laminar air flow cabinet*, autoklaf, *colony counter*, mikropipet, *vortex mixer*, *waterbath*, spektrofotometer UV-Vis, *centrifuge*, *food scanner*, dan pH meter digital.

3.2. Metode

Metode penelitian ini terdiri dari rancangan percobaan, pembuatan empal gentong, pengujian parameter, analisis data, dan perhitungan prediksi umur simpan yang diperoleh berdasarkan hasil pengujian. Metode penelitian tersebut diuraikan sebagai berikut.

3.2.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan suhu, 5 perlakuan waktu, dan 3 ulangan sehingga diperoleh 45 unit percobaan. Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan suhu penyimpanan dalam pengujian *Accelerated Shelf Life Test* (ASLT). Perbedaan suhu penyimpanan yang diberikan yaitu 30°C (P1), 40°C (P2), dan 50°C (P3). Selanjutnya, dilakukan pengujian parameter kemunduran mutu pada 5 titik penyimpanan yaitu hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21, dan hari ke-28.

Model linier yang diterapkan dalam rancangan penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan:

- Y_{ijk} : nilai pengamatan pada perlakuan suhu ke-i (P1, P2, P3) dan lama penyimpanan ke-j pada ulangan ke-k
- μ : nilai rata-rata umum hasil pengamatan
- α_i : pengaruh perlakuan suhu ke-i (P1, P2, P3)
- β_j : pengaruh lama penyimpanan ke-j (hari ke-0, 7, 14, 21, 28)
- $(\alpha\beta)_{ij}$: pengaruh interaksi antara suhu ke-i dan lama penyimpanan ke-j
- ε_{ijk} : pengaruh galat pada perlakuan suhu ke-i, lama penyimpanan ke-j dan ulangan ke-k

Hipotesis empiris dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H_0 : Perlakuan suhu dan lama penyimpanan tidak berpengaruh nyata terhadap parameter mutu (pH, TBARS, proksimat, dan kadar kolagen).
- H_1 : Perlakuan suhu dan lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap parameter mutu (pH, TBARS, proksimat, dan kadar kolagen).

Hipotesis empiris dapat dijabarkan dalam hipotesis statistik sebagai berikut:

Pengaruh suhu:

- H_0 : $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$
- H_1 : sekurang-kurangnya terdapat satu perbedaan akibat perlakuan suhu.

Pengaruh lama penyimpanan:

- H_0 : $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$
- H_1 : sekurang-kurangnya terdapat satu perbedaan akibat lama penyimpanan.

Pengaruh interaksi suhu dan lama penyimpanan:

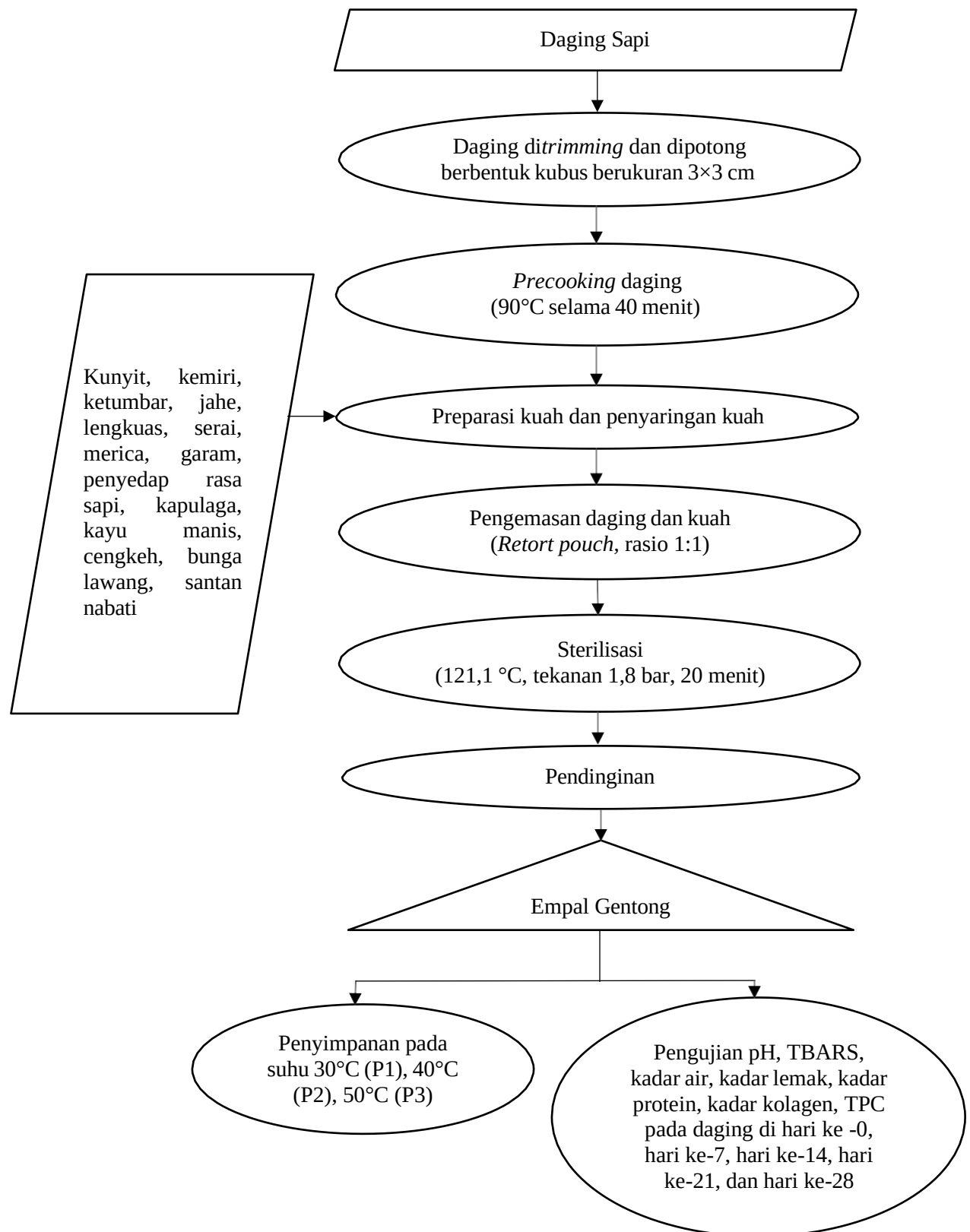
- H_0 : tidak terdapat pengaruh interaksi suhu dan lama penyimpanan terhadap parameter mutu.
- H_1 : terdapat pengaruh interaksi suhu dan lama penyimpanan terhadap parameter mutu.

Kriteria pengambilan keputusan adalah jika dalam analisis varians (ANOVA) diperoleh nilai signifikansi $\leq 0,05$ maka H_0 ditolak (terdapat pengaruh nyata), sedangkan jika nilai signifikansi $> 0,05$ maka H_0 diterima (tidak terdapat pengaruh nyata). Apabila terdapat pengaruh yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

3.2.2. Pembuatan Empal Gentong

Pembuatan daging empal gentong mengacu pada cara pemasakan UMKM Nyai Ida. Daging sapi has dalam (*tenderloin*) dibersihkan dengan proses *trimming* untuk menghilangkan lemak dan jaringan ikat berlebih. Daging kemudian dipotong berbentuk kubus berukuran 3×3 cm, dimasukkan ke dalam plastik *polyethylene* tahan panas, kemudian diberikan perlakuan *precooking* dengan cara direbus dalam *waterbath* pada suhu 90°C selama 40 menit. Kuah empal gentong dalam penelitian ini didapat dari UMKM Nyai Ida. Komposisi kuah empal gentong yang digunakan yaitu kunyit, kemiri, ketumbar, jahe, lengkuas, serai, merica, garam, penyedap rasa sapi, kapulaga, kayu manis, cengkeh, bunga lawang, dan santan nabati.

Pengemasan dilakukan dengan memasukkan 75 gram potongan daging dan 75 gram kuah ke dalam kemasan *retort pouch* berbahan multilayer dengan ukuran 13×20 cm. Udara dalam kemasan *retort pouch* diminimalkan dan disegel menggunakan mesin *continuous band sealer*. Produk disterilisasi menggunakan mesin *retort* pada suhu 121,1°C dengan tekanan 1,8 bar selama 20 menit. Produk segera didinginkan dalam air hingga mencapai suhu ruang setelah proses *retort*, dikeringkan, dan diberi kode perlakuan. Produk empal gentong selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C, 40°C, dan 50°C selama 28 hari. Pengamatan parameter pada daging dilakukan pada 5 titik penyimpanan, yaitu hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21, dan hari ke-28. Diagram proses pembuatan empal gentong dapat dilihat pada Ilustrasi 3.



Ilustrasi 3. Diagram Alir Pembuatan Empal Gentong

3.2.3. Pengujian pH

Pengujian pH terhadap empal gentong dilakukan menggunakan pH meter mengikuti panduan dari AOAC (1990). pH meter dikalibrasi dengan menggunakan larutan *buffer* pH 4 dan *buffer* pH 7 di suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Sampel daging dihaluskan dengan *chopper*, kemudian ditimbang sebanyak 5 g dan dicampurkan dengan 50 mL akuades. Larutan diaduk sampai homogen kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sampel. Setiap sampel diukur sebanyak tiga kali, kemudian nilai pH dibaca setelah angka yang tertera pada display pH meter stabil.

3.2.4. Pengujian *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS)

Analisis nilai *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS) dilakukan dengan metode yang dimodifikasi dari metode Min dan Boff (2002). Larutan ekstraksi dibuat terlebih dahulu dengan mencampurkan TCA 7,5% (b/v), EDTA 0,1% (b/v), BHT 0,1% (b/v) yang telah dilarutkan dengan metanol. Larutan kemudian ditambahkan akuades dan dihomogenkan dengan *hot plate* pada kecepatan 800 rpm di suhu 30°C selama 30 menit. Selanjutnya, larutan TBA 46 mM (0,046 mol/L) dibuat dalam asam asetat glasial 100% dan disentrifugasi pada kecepatan 1000 rpm di suhu 60°C selama 30 menit. Sebanyak 7 gram sampel daging yang sudah dihaluskan ditimbang dan dicampurkan dengan 30 mL larutan ekstraksi. Campuran kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit. Setelah proses sentrifugasi, supernatan yang terbentuk diambil sebanyak 2,5 mL dan dicampurkan dengan 2,5 mL larutan TBA. Campuran tersebut kemudian dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 95°C selama 40 menit. Setelah

proses pemanasan, campuran selanjutnya dituang dengan mikropipet sebanyak 500µL dalam sumur (*well*) *microplate* dengan masing-masing 5 kali setiap ulangan. Larutan blanko dibuat dengan mencampurkan larutan ekstraksi tanpa sampel dan larutan TBA dengan komposisi yang sama dengan perlakuan sampel. Selanjutnya, campuran dan larutan blanko dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 528 nm untuk mengukur absorbansi. Hasil analisis TBARS dinyatakan sebagai milligram malondialdehid per kilogram sampel (mg MDA kg⁻¹ sampel). Angka TBARS dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Angka TBA} = \frac{3 \times \text{Abs} \times 7,8}{m}$$

Keterangan:

Angka TBA	= Kadar <i>thiobarbituric acid reactive substances</i> (mg MDA/kg)
3	= Bilangan iod (derajat ketidakjenuhan)
Abs	= Absorbansi larutan
7,8	= Bilangan TBA
m	= massa sampel (g)

3.2.5. Pengujian Kadar Air, Kadar Lemak, Kadar Protein, dan Kadar Kolagen

Pengujian proksimat yang dilakukan meliputi penentuan kadar air, kadar lemak, kadar protein, serta kadar kolagen. Pengujian dilakukan dengan metode *Near Infrared Reflectance Spectroscopy* (NIRS) mengikuti panduan dari AOAC (2007). Sampel daging sebanyak 30 gram dihaluskan dengan *chopper*, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri khusus yang sudah disediakan untuk analisis menggunakan alat *food scanner* (*FoodScan*TM *Meat Analyser*; FOSS, Padova, Italy) dengan teknologi *Near Infrared Reflectance Spectroscopy* (NIRS). Cawan petri diisi sampel hingga permukaannya rata dan seluruh dasar cawan tertutup tanpa

rongga udara kemudian diletakkan pada ruang pengukuran (*sample chamber*). Sampel dianalisis sebanyak dua kali (duplo) untuk setiap ulangan. Metode ini didasarkan pada spektroskopi transmisi NIR pada panjang gelombang 850-1050 nm. Radiasi inframerah dekat akan berinteraksi dengan gugus O-H (air), C-H (lemak), dan N-H (protein), dan spektrum yang diperoleh diolah menggunakan model kalibrasi ANN (*Artificial Neural Network*) untuk memprediksi kadar komponen sampel secara serentak. Hasil analisis akan muncul pada layar dalam waktu kurang dari satu menit dalam bentuk persentase (% b/b) dengan dua angka di belakang koma berdasarkan kurva kalibrasi internal yang telah terstandarisasi.

3.2.6. Pengujian *Total Plate Count* (TPC)

Pengujian *Total Plate Count* (TPC) terhadap empal gentong dilakukan mengacu pada SNI 2897:2008 tentang metode pengujian cemaran mikroba dalam daging, telur dan susu, serta hasil olahannya. Sampel daging ditimbang secara aseptik dengan timbangan sebanyak 25 g, kemudian dimasukkan ke dalam kantong steril yang sudah ditambahkan dengan 225 mL larutan NaCl fisiologis 0,85% sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Campuran dihomogenkan menggunakan vortex hingga homogen.

Pengenceran bertingkat kemudian dilakukan dengan memindahkan 1 mL suspensi ke dalam 9 mL NaCl 0,85% menggunakan mikropipet untuk memperoleh pengenceran 10^{-2} dan dilanjutkan hingga tingkat pengenceran 10^{-4} . Suspensi pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} kemudian diinokulasikan ke dalam cawan petri sebanyak 1 mL secara duplo. Media *plate count agar* (PCA) didinginkan hingga suhu $45 \pm$

1°C, kemudian ditambahkan sebanyak 15-20 mL ke masing-masing cawan. Cawan diputar ke depan dan ke belakang atau membentuk angka delapan agar media dan suspensi tercampur seluruhnya. Media didinginkan hingga memadat, lalu cawan diinkubasi dalam posisi terbalik selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Perhitungan *Total Plate Count* (TPC) dilakukan berdasarkan pedoman standar perhitungan koloni dengan metode pengenceran bertingkat. Prinsip perhitungan adalah dengan memilih cawan dengan jumlah koloni yang berada dalam rentang 25 sampai 250 koloni. Jumlah koloni dari cawan yang memenuhi kriteria dihitung dan dirata-ratakan pada setiap tingkat pengenceran, kemudian dikalikan dengan faktor pengenceran untuk memperoleh nilai TPC per mL atau per gram sampel. Apabila hanya satu tingkat pengenceran yang memenuhi kriteria, maka perhitungan dilakukan berdasarkan rata-rata dua cawan pengenceran tersebut. Namun, apabila terdapat dua tingkat pengenceran yang memenuhi kriteria, maka jumlah koloni masing-masing tingkat pengenceran dihitung dan dirata-ratakan. Cawan petri dengan jumlah koloni yang berada diluar rentang tetap dicatat, tetapi hasilnya diberi tanda khusus. Koloni yang tumbuh menyebar (*spreader*) dan menutupi sebagian besar permukaan media tidak digunakan dalam perhitungan. Sebaliknya, koloni tetap dihitung sebagai satu koloni apabila masih dapat dibedakan sebagai koloni tunggal. Apabila cawan tidak menunjukkan pertumbuhan koloni, maka nilai TPC dinyatakan sebagai kurang dari satu kali pengenceran terendah yang digunakan. Hasil akhir dilaporkan dalam bentuk angka berpangkat dan dibulatkan menjadi dua angka signifikan sesuai dengan aturan pembulatan. Perhitungan *Total Plate Count* (TPC) untuk jumlah koloni 25-250 sebagai berikut.

$$N = \frac{\sum c}{[(1x n_1) + (0,1x n_2)]x(d)}$$

Keterangan:

- N = jumlah koloni (CFU/g)
 ΣC = jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung
 n1 = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
 n2 = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
 d = pengenceran pertama yang digunakan

3.2.7. Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter mutu yang diamati. Data hasil pengujian pH, TBARS, proksimat, dan kadar kolagen dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) untuk menguji pengaruh perlakuan suhu, lama penyimpanan, serta interaksinya. Apabila hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan secara lebih rinci.

3.2.8. Perhitungan Prediksi Umur Simpan

Perhitungan prediksi umur simpan dilakukan dengan *Google Spreadsheet* yang terdiri dari uji *outlier* dan pendugaan umur simpan. Data yang tidak termasuk *outlier* akan dilanjutkan untuk pendugaan umur simpan. Proses pendugaan umur simpan dilakukan mengikuti panduan Hariyadi (2019) dengan model Arrhenius. Orde reaksi (n) yang berlaku pada masing-masing parameter kemunduran mutu ditentukan dengan membuat plot antara parameter mutu (Q) dengan waktu (t),

kemudian dianalisis kecenderungan linieritasnya untuk menentukan model reaksi yang paling tepat. Rumus yang berlaku untuk orde reaksi adalah sebagai berikut:

$$\text{untuk } n=0, \text{ maka persamaannya } Q = Q_0 + kt \dots\dots\dots (4)$$

$$\text{untuk } n=1, \text{ maka persamaannya } \ln Q = \ln Q_0 + kt \dots\dots\dots (5)$$

$$\text{untuk } n=2, \text{ maka persamaannya } \frac{1}{Q} = \frac{1}{Q_0} + kt \dots\dots\dots (6)$$

Keterangan:

Q	= parameter mutu
Q ₀	= parameter mutu pada kondisi awal
n	= orde reaksi
t	= waktu penyimpanan
k	= konstanta laju reaksi
k ₀	= faktor frekuensi reaksi
E _a	= energi aktivasi
R	= konstanta gas (8,314 J/g-mole K)
T	= suhu (Kelvin)

Berdasarkan hasil plot hubungan antara parameter mutu dan waktu penyimpanan, diperoleh persamaan regresi linear berbentuk $y = ax + b$. Nilai kemiringan (a) pada persamaan tersebut menunjukkan konstanta laju reaksi. Orde reaksi ditentukan berdasarkan model yang memiliki nilai rerata koefisien determinasi (R^2) paling tinggi. Analisis dilanjutkan dengan membuat pemodelan Arrhenius. Pemodelan Arrhenius dilakukan berdasarkan persamaan (2) dengan membuat plot antara nilai $\ln k$ dan $1/T$ pada *Google Spreadsheet*. Berdasarkan persamaan regresi linear yang diperoleh, nilai energi aktivasi (E_a) dihitung dari kemiringan garis regresi. Tahap terakhir adalah melakukan pendugaan umur simpan dengan persamaan (4), (5), atau (6) sesuai dengan orde reaksi yang telah ditetapkan sebelumnya.

Perhitungan dengan metode Q_{10} juga dilakukan dalam penelitian ini sebagai pendekatan pembandingan. Metode Q_{10} merupakan metode empiris yang digunakan untuk menggambarkan pengaruh kenaikan suhu terhadap laju reaksi kerusakan produk pangan dengan asumsi bahwa setiap kenaikan suhu sebesar 10°C akan meningkatkan laju reaksi sebanyak kelipatan tertentu. Meskipun lebih sederhana dan praktis dalam penerapannya, metode Q_{10} tidak mempertimbangkan energi aktivasi reaksi serta mengasumsikan bahwa perubahan laju reaksi akibat kenaikan suhu berlangsung secara konstan. Oleh karena itu, model Arrhenius tetap digunakan sebagai metode utama karena mampu menggambarkan hubungan antara suhu dan laju reaksi kerusakan berdasarkan pendekatan kinetika reaksi. Metode Q_{10} dalam penelitian ini digunakan untuk memberikan estimasi umur simpan dengan pendekatan yang lebih sederhana serta sebagai pembandingan terhadap hasil prediksi umur simpan yang diperoleh dari model Arrhenius. Dengan demikian, hasil prediksi yang diperoleh dapat dievaluasi secara komparatif menggunakan dua pendekatan yang berbeda. Rumus perhitungan Q_{10} mengacu pada Kumalasari *et al.* (2018) yang disajikan pada persamaan (7), sedangkan rumus penentuan umur simpan disajikan pada persamaan (8).

$$Q_{10} = \frac{k_{T+10^{\circ}}}{k_T} \dots\dots\dots (7)$$

$$t_{r1} = Q_{10}^{\Delta T/10} \times t_{r2} \dots\dots\dots (8)$$

Keterangan:

Q_{10} = faktor percepatan penurunan mutu
 T = suhu absolut (K)
 k = konstanta laju reaksi
 t = umur simpan