

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.)

Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) adalah tanaman yang dapat tumbuh liar pada daerah tropis dan subtropis terutama di Indonesia (Boro, 2017). Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) termasuk dalam satu famili dengan tanaman sirsak, yaitu *Annonaceae*. Sirsak gunung mempunyai bentuk buah hampir bulat dan kulit buah berwarna hijau tua dengan duri pendek yang lunak. Daging buah berwarna kuning, beraroma khas dan kualitasnya rendah serta mempunyai banyak biji bernas yang berwarna coklat muda (Indriyani, 2008). Buah sirsak gunung dengan famili *Annonaceae* memiliki senyawa metabolit sekunder acetogenin yang memiliki khasiat yaitu anti tumor, antiparasit, pestisida, antiprotozoa, antelmintik, dan antimikroba (Hanifah, 2015)

Buah sirsak gunung mengandung karotenoid yaitu pigmen yang memberikan warna kuning, jingga hingga merah. Karotenoid berfungsi sebagai antioksidan, antikanker, dan membantu memelihara kesehatan mata. (Maleta *et al.*, 2018). Karotenoid stabil pada pH netral, alkali namun tidak stabil pada kondisi asam, adanya udara atau oksigen, cahaya dan panas. Karotenoid tidak stabil karena mudah teroksidasi oleh adanya oksigen dan peroksida. Selain itu, dapat mengalami isomerisasi bila terkena panas, cahaya dan asam. Kebanyakan karotenoid stabil terhadap basa namun beberapa karotenoid seperti astaksantin dan fukosantin peka terhadap alkali (Wahyuni *et al.*, 2014).

2.1.1 Klasifikasi Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.)

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Magnoliales
Family	: Annonaceae

Genus : *Annona*
Spesies : *Annona montana* Macfad



Gambar 2.1 *Annona montana* Macf (Dokumentasi pribadi)

2.2 Tinjauan Tentang Minuman Probiotik

Minuman probiotik merupakan istilah lain untuk menyebut minuman fermentasi asam laktat. Probiotik (bahasa Yunani, *probiotic* = untuk hidup) adalah minuman kesehatan yang mengandung bakteri asam laktat hidup yang mampu bertahan hidup dalam keasaman lambung sehingga dapat menempati usus dalam kuantitas yang cukup besar (Suseno *et al.*, 2012). Produk yang dikatakan sebagai minuman probiotik harus mengandung bakteri asam laktat dan mampu bertahan pada keasaman asam lambung dengan pH 3 – 4 (Boro, 2017).

Pada pembuatan minuman probiotik, proses fermentasi dibantu dengan bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat merupakan salah satu jenis bakteri yang menguntungkan pada saluran pencernaan karena dapat meningkatkan keseimbangan flora usus (Fidyasari dkk., 2020). Syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestinal dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin (Allen *et al.*, 2010). Syarat lain yang perlu dimiliki oleh bakteri probiotik adalah kemampuannya menghasilkan substansi antimikroba sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik. Berbagai jenis substansi antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri probiotik adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan

diperkirakan juga bakteriosin yaitu protein atau polipeptida yang memiliki sifat anti bakteri (Sunaryanto *et al.*, 2014).

Banyak penelitian yang membuktikan bahwa probiotik akan membentuk koloni sementara yang dapat membantu aktivitas tubuh dengan fungsi yang sama dengan mikroflora alami dalam saluran pencernaan (Rohmah dan Fidyasari, 2018). Komponen-komponen yang dihasilkan selama fermentasi pada minuman probiotik adalah asam asetat, etanol, dan asam glukonat. Sedangkan komponen minor yang dihasilkan adalah asam laktat, asam fenolat, vitamin B, dan Enzim (Juwita dan Fidyasari, 2018)

Minuman probiotik termasuk kedalam makanan fungsional yang mempunyai kandungan komponen aktif dan dapat memberikan efek terhadap kesehatan. Ada tiga fungsi dasar yang harus dipenuhi oleh makanan fungsional, yaitu *sensory* (warna dan penampilan menarik, citarasa enak), *nutritional* (bernilai gizi tinggi), dan *physiological* (memberikan pengaruh fisiologis yang menguntungkan bagi tubuh). Beberapa fungsi fisiologis yang diharapkan adalah pencegahan timbulnya bahaya penyakit, meningkatkan daya tahan tubuh, regulasi kondisi ritme fisik tubuh, memperlambat proses penuaan dan penyehatan kembali dari sakit (*recovery*) (Istika, 2011).

2.3 Tinjauan Tentang Fermentasi

Fermentasi berasal dari bahasa Latin *fervere* yang berarti mendidihkan. Seiring perkembangan teknologi, definisi fermentasi meluas, menjadi semua proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk yang disebut metabolit primer dan sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Pada mulanya istilah fermentasi digunakan untuk menunjukkan proses perubahan glukosa menjadi alkohol yang berlangsung secara anaerob. Namun, kemudian istilah fermentasi berkembang lagi menjadi seluruh perombakan senyawa organik yang dilakukan mikroorganisme yang melibatkan enzim yang dihasilkannya. Dengan kata lain, fermentasi adalah perubahan struktur kimia dari bahan-bahan organik dengan memanfaatkan agen-agen biologis terutama enzim sebagai biokatalis (Herawati dan Wibawa, 2011).

Menurut Azizah *et al* (2012) lama fermentasi dipengaruhi oleh faktor – faktor yang secara langsung maupun tidak langsung berpengaruh terhadap proses fermentasi, yakni :

1. Substrat

Substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba fermentasi. Nutrient yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi adalah karbohidrat.

2. Suhu

Suhu fermentasi mempengaruhi lama fermentasi karena pertumbuhan mikroba dipengaruhi suhu lingkungan fermentasi. Mikroba memiliki kriteria pertumbuhan yang berbeda – beda. Masing – masing mikroba mempunyai suhu optimum, minimum, dan maksimumnya untuk pertumbuhan. Suhu akan berpengaruh terhadap ukuran sel, produk metabolik yang dihasilkan, kebutuhan gizi dan reaksi enzimatik.

3. Derajat Keasaman pH

Merupakan salah satu faktor penting yang perlu untuk diperhatikan pada saat proses fermentasi. Oleh karena itu, pada awal pelaksanaan penelitian, substrat yang akan dipakai terlebih dahulu diuji pH-nya. Pada proses fermentasi, pH juga sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba dan hubungan erat dengan suhu, jika suhu naik maka pH optimum juga akan naik.

4. Air

Mikroba tidak akan tumbuh tanpa adanya air. Air bertindak sebagai pelarut dan sebagian besar aktivitas metabolik dalam sel dilakukan dalam lingkungan air. Air merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba kelangsungan proses fermentasi.

2.4 Tinjauan Tentang Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora dan memiliki suhu optimum ± 40 °C. Pada umumnya non motil karena kemampuan biosintesisnya sangat terbatas, bersifat anaerob, katalase negatif dan oksidase positif (Iqbal, 2019). Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang

biasa digunakan sebagai probiotik. bakteri ini bersifat non patogenik, nontoksikogenik, gram positif, anaerobic, tidak menghasilkan spora, bakteri penghasil asam laktat yang diproduksi dari fermentasi karbohidrat (Kholisoh, 2016).

Bakteri Asam Laktat memiliki beberapa sifat khusus, antara lain; mampu tumbuh pada lingkungan ekstrim yaitu kadar pH, suhu dan garam yang tinggi atau rendah, serta mampu memfermentasikan beberapa gula-gula. Bakteri Asam Laktat termasuk dalam kelompok bakteri yang memenuhi standar GRAS (Generally Recognized as Safe), yaitu bakteri baik yang aman bagi manusia (Iqbal, 2019). Bakteri Asam Laktat mampu bertahan hidup dalam keasaman lambung sehingga dapat menempati usus dalam kuantitas yang cukup besar. Produk probiotik dapat menghambat bakteri patogen dan melakukan metabolisme terhadap laktosa sehingga bermanfaat bagi penderita intoleransi laktosa (Rizal *et al.*, 2016). Bakteri asam laktat terdiri dari empat genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* dan *Pediococcus* (Kunaepah, 2008).

Menurut Iqbal (2019) bakteri asam laktat dapat dibedakan menjadi 2 kelompok berdasarkan hasil fermentasinya, yaitu:

1. Bakteri homofermentatif yaitu glukosa yang difermentasi menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk. Contohnya *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan beberapa *Lactobacillus*.
2. Bakteri heterofermentatif yaitu glukosa yang difermentasikan akan menghasilkan asam laktat selain itu juga memproduksi senyawa-senyawa lainnya yaitu etanol, asam asetat dan CO₂. Contohnya *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus*.

Berdasarkan suhu optimum dan suhu maksimum bakteri asam laktat secara umum dibagi menjadi tiga kelompok yaitu

1. Bakteri mesofilik yaitu bakteri yang memiliki suhu optimum pertumbuhan sebesar 25 °C dan suhu maksimum 37-40 °C. Contoh bakteri mesofilik adalah strain Lactococci dan *Leuconostoc*.
2. Bakteri termofilik yaitu bakteri yang memiliki suhu optimum pertumbuhan sebesar 37-45 °C dan suhu maksimum 45-52 °C. Contoh bakteri mesofilik

adalah *Streptococcus thermophilus* dan homofermentatif *Lactobacillus* (Iqbal, 2019).

2.4.1 *Lactobacillus Casei*

Lactobacillus casei berbentuk batang pendek dalam koloni tunggal maupun berantai dengan ukuran panjang 1,5 - 5,0 mm dan lebar 0,6 - 0,7 mm. Bakteri ini bersifat gram positif, katalase negatif, tidak membentuk endospora maupun kapsul, tidak mempunyai flagela dan tumbuh dengan baik pada kondisi anaerob fakultatif. Berdasarkan suhu pertumbuhannya, bakteri ini termasuk bakteri mesofil yang dapat hidup pada suhu 15 - 41°C dan pada pH 3,5 atau lebih, sedangkan kondisi optimum pertumbuhannya adalah pada suhu 37°C dan pH 6,8 (Suseno *et al.*, 2012). Menurut Holt *et al.* dalam Candraningtyas (2019), taksonomi *Lactobacillus casei* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Division : Firmicutes
Class : Bacilli
Ordo : Lactobacillales
Famili : Lactobacillaceae
Genus : *Lactobacillus*
Species : *Lactobacillus casei*



Gambar 2.4 *Lactobacillus casei* (Anonim, 2020)

Lactobacillus casei pada produk minuman fermentasi laktat termasuk jenis bakteri asam laktat homofermentatif, yaitu bakteri yang memfermentasi glukosa menjadi asam laktat dalam jumlah yang besar (90%). Selain asam laktat yang dihasilkan *Lactobacillus casei* juga mampu memproduksi senyawa-senyawa inhibitor

(asam laktat, asam asetat), H₂O₂, serta bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen dalam usus. *Lactobacillus casei* memiliki peran dalam probiotik manusia, kultur starter asam dalam fermentasi dan kultur khas dalam perkembangan rasa dalam varietas keju (Boro, 2017)

Lactobacillus casei merupakan salah satu genus bakteri asam laktat yang paling banyak dijumpai dalam saluran gastrointestinal, baik pada manusia maupun hewan. Pada usus halus, jumlahnya dapat mencapai 10⁶-10⁷ sel g⁻¹. Sedangkan pada usus besar jumlahnya berkisar antara 10¹⁰-10¹¹ sel g⁻¹. Syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestine dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin. Syarat lain yang perlu dimiliki oleh bakteri probiotik adalah kemampuannya menghasilkan substansi antimikroba sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik. Berbagai jenis substansi antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri probiotik adalah asam organik, *hydrogen peroxide*, diasetil dan diperkirakan juga bakteriosin yaitu protein atau polipeptida yang memiliki sifat anti bakteri (Sunaryanto dan Marwoto, 2013). Beberapa penelitian membuktikan bahwa penggunaan bakteri *Lactobacillus casei* dalam minuman probiotik dapat meningkatkan antioksidan. Penelitian minuman probiotik air kelapa yang dilakukan oleh Ziska *et al.* (2017), nilai IC₅₀ dari hasil pengujian menggunakan metode DPPH sebesar 73,76 ppm yang termasuk kedalam kategori kuat. Jika dibandingkan dengan air kelapa non-fermentasi yang menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 76,43 ppm, kemampuan antioksidan fermentasi air kelapa lebih besar daripada air kelapa non-fermentasi. Hal ini disimpulkan bahwa proses fermentasi menggunakan bakteri asam laktat dapat meningkatkan aktivitas antioksidan minuman probiotik. Peningkatan penghambatan radikal bebas berbanding lurus dengan kadar asam laktat yang terbentuk dari hasil fermentasi oleh BAL.

2.5 Tinjauan Tentang Permen Probiotik

Permen probiotik adalah produk yang mengandung mikroorganisme hidup yang dikonsumsi oleh manusia untuk menghasilkan efek menyehatkan dan berperan penting dalam mempertahankan kesehatan. Menurut Widyaningsih (2011) permen

probiotik mampu mencegah prevalensi terhadap penyakit saluran pencernaan. Dengan adanya permen probiotik diharapkan masyarakat dapat mengkonsumsinya dimanapun dan kapanpun. Permen juga sudah menjadi fun food yang disukai oleh semua kalangan. Selain itu di era masa kini hal yang instan menjadi sesuatu yang lazim dan masyarakat lebih memilih sesuatu yang instan tetapi memiliki manfaat yang sama. Menurut (Koswara, 2009) keistimewaan atau kegunaan dari produk permen adalah mempunyai cita rasa yang tinggi, mengandung gula yang tinggi, produk-produk permen cepat dicerna serta memberikan sumber atau penyediaan gula darah dan energi yang cepat sehingga dapat diterima oleh semua kalangan.

Permen atau kembang gula adalah salah satu jenis makanan selingan berbentuk padat, dibuat dari gula atau campuran gula dengan pemanis lain, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan (BTP) yang diijinkan (SNI 3547.2, 2008). Terdapat jenis-jenis permen yang telah dibagi menjadi dua golongan yaitu permen berkrystal (*crystalline candies*) dan permen non kristal atau permen bening (*non crystalline candies*) (Koswara, 2009).

Menurut SNI 3547 tahun 2008, permen lunak jelly adalah permen bertekstur lunak, yang diproses dengan penambahan komponen hidrokoloid seperti agar, gum, pektin, pati, gelatin, dan lain-lain untuk modifikasi tekstur sehingga menghasilkan produk yang kenyal, harus dicetak dan diproses *aging* terlebih dahulu sebelum dikemas. Permen berkrystal atau *crystalline candies* dicirikan dengan konsistensi yang lunak dan halus serta bertekstur seperti krim (*creamy texture*) dengan kadar air sekitar 8-13% pada produk akhir (Koswara, 2009).

Untuk mendapatkan hasil mutu yang baik, tentunya harus mengetahui terlebih dahulu jenis-jenis permen yang utama yang dapat dilihat pada tabel 2.5

Sifat tekstur	Contoh
Permen berkrystal :	
Kristal besar	Rock candy
Kristal kecil	fondant, fudge
Permen non kristal :	

(amorphous, bening)	
hard candies	sour ball, butterscotch
Brittles	peanut brittles
Chewy candies	caramel, taffy
Gummy candies	marshmallow, jellies, gum drops

Tabel 2.5 menunjukkan jenis-jenis permen yang utama

Tahap	Suhu (°C)	Produk
	campuran gula dan air	
Thread	110 – 113	Syrup
Soft ball	113 – 116	Fondant, Fudge, Penuche
Firm ball	119 – 121	Caramels
Hard ball	121 – 129	Divinity, Marshmallows, Popcorn Ball

Tabel 2.5 tahap- tahap perubahan bentuk gula (sukrosa) selama pemasakan (Koswara, 2009).

Menurut (Koswara, 2009) Parameter mutu yang penting dalam permen adalah tekstur yang merupakan jumlah beberapa sifat fisik termasuk densitas, kekerasan, plastisitas atau elastisitas dan konsistensi. Menurut SNI 3547.1:2008, syarat mutu kembang gula keras adalah merupakan kriteria uji yang memiliki beberapa persyaratan yang dapat dilihat pada tabel 2.5

No	Kriteria uji	satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bau	-	Normal
1.2	Rasa	-	Normal (sesuai label)
2	Kadar air	% fraksi massa	Maks. 3,5
3	Kadar abu	% fraksi massa	Maks. 2.0
4	Gula reduksi (dihitung sebagai gula inversi)	% fraksi massa	Maks. 24
5	Sakarosa	% fraksi massa	Min. 35
6	Cemaran logam		
6.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks.2,0
6.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks.2,0
6.3	Timah (Sn)	mg/kg	Maks.40
6.4	Raksa (Hg)	mg/kg	Maks.0,03
7	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	Maks.1,0
8	Cemaran Mikroba		
8.1	Angka lempeng total	Koloni/g	Maks. 5×10^2
8.2	Bakteri <i>coliform</i>	APM/g	Maks.20
8.3	<i>E.coli</i>	APM/g	<3
8.4	<i>Staphylococcus aureus</i>		Maks. 1×10^2
8.5	<i>Salmonella</i>	-	Negative/2,5g
8.6	Kapang/khamir	Koloni/g	Maks. 1×10^2

Tabel 2.5 Syarat mutu kembang gula keras SNI 3547.1:2008

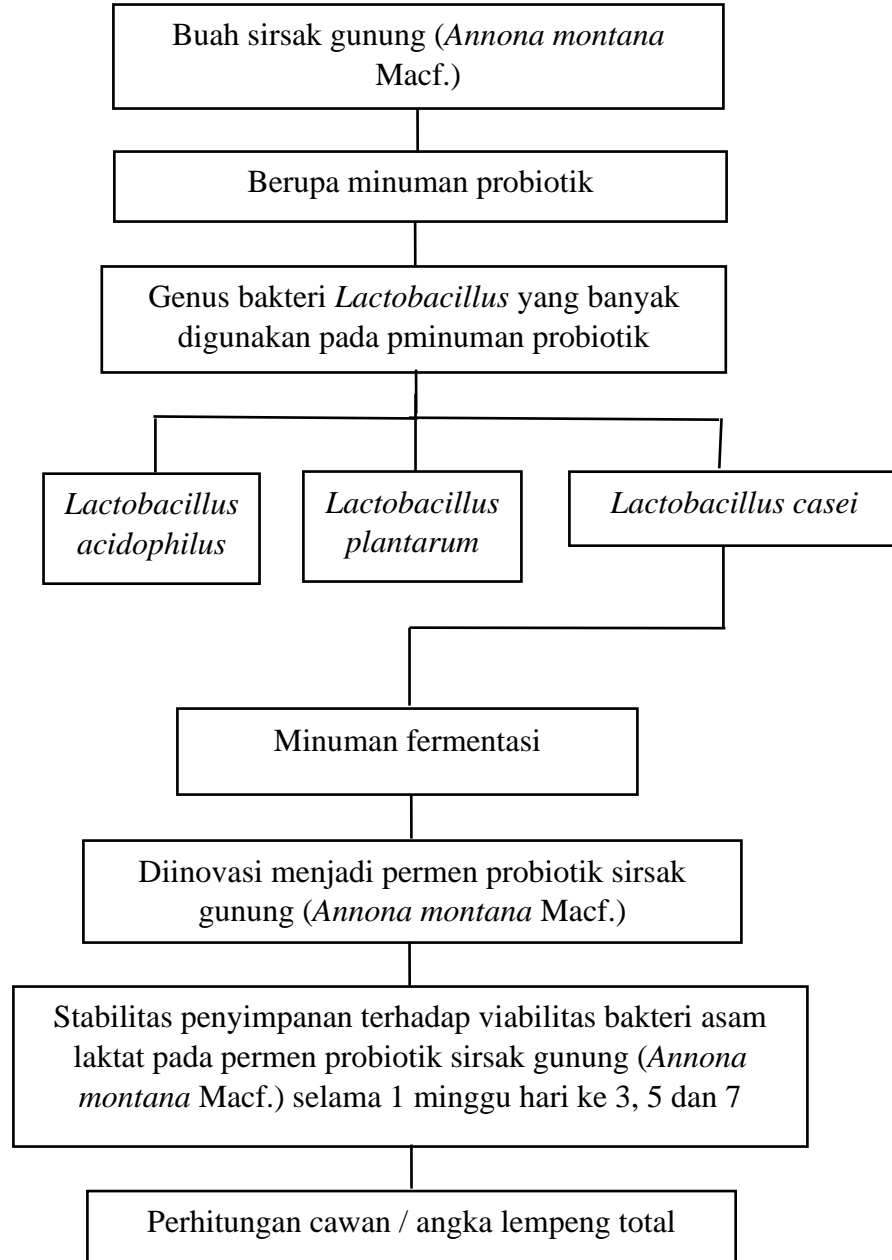
2.6 Tinjauan Tentang Viabilitas

Viabilitas dan aktivitas fungsional dari probiotik merupakan suatu hal yang penting pada suatu produk suplemen probiotik. Salah satu aktivitas fungsional pangan probiotik ini adalah kemampuan kultur bakteri yang ada didalamnya dalam

menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang bersifat patogen bagi tubuh. Bakteri patogen dapat menyebabkan bahaya karena memiliki kemampuan menginfeksi dan menimbulkan penyakit serta merusak kualitas bahan pangan (Purwijatiningsih, 2014). Viabilitas bakteri asam laktat mempunyai sifat terpenting yaitu mampu bertahan hidup saat melalui mulut, lambung, usus kecil dan usus besar. Selain itu, bakteri asam laktat juga mampu bertahan hidup pada tingkat keasaman asam lambung yang dapat mencapai pH sampai di bawah 3 dan asam empedu yang bersifat bakterisidal (Suseno *et al.*, 2012). Viabilitas bakteri asam laktat dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan khususnya suhu, pengemasan yang tepat sehingga produk tetap berada pada higroskopis sehingga menghambat laju transmisi uap air dan reaksi oksidasi pada produk dapat diminimalisasi (Pangestu *et al.*, 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Dewi dan Anggraini (2012) menunjukkan hasil ketahanan bakteri asam laktat terhadap empedu mampu bertahan pada kadar empedu 5% selama 4 hari inkubasi. Hal ini karena bakteri asam laktat mempunyai enzim *bile salt hydrolase* yang dapat menghidrolisis garam empedu sehingga tidak bersifat racun terhadap bakteri asam laktat. Menurut Purwijatiningsih (2014) Syarat produk dikatakan probiotik adalah bahwa produk tersebut mengandung bakteri probiotik yang masih hidup. Jumlah bakteri yang masih hidup sampai di saluran pencernaan lebih dari 10^6 cfu/g atau 10^6 cfu/mL (Rizal *et al.*, 2016).

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.7 Bagan Kerangka Konsep

2.8 Kerangka Teori

Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) adalah tanaman yang dapat tumbuh liar pada daerah tropis dan subtropik terutama di Indonesia. Tanaman ini juga memiliki kandungan dan manfaat tetapi belum banyak diketahui oleh masyarakat di Indonesia. buah sirsak gunung dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk kesehatan salah satunya memanfaatkan buah sirsak gunung menjadi minuman probiotik.

Minuman probiotik adalah minuman yang mengandung agen probiotik melalui proses fermentasi dengan menggunakan bakteri genus *Lactobacillus* yang mampu menghasilkan asam laktat. Mikroorganisme yang dilibatkan untuk menghasilkan suatu produk adalah bakteri genus *Lactobacillus*. *Lactobacillus* merupakan produk probiotik yang umum digunakan pada minuman probiotik diantaranya *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Lactobacillus casei*. Salah satu bakteri yang akan digunakan pada penelitian ini adalah *Lactobacillus casei*, karena *Lactobacillus casei* memiliki kemampuan bertahan dari kondisi asam lambung, dapat mengontrol organisme yang dapat menimbulkan efek toksik dalam saluran pencernaan manusia, dan juga dapat membunuh bakteri patogen dalam usus karena mampu memproduksi asam laktat beserta bakteriosin.

Hal tersebut akan dikembangkan menjadi permen probiotik yang memiliki kemampuan bakteri asam laktat dalam menanggulangi penyakit infeksi yang disebabkan oleh produk metabolit yang dihasilkannya. Dengan dikembangkannya menjadi permen probiotik, masyarakat Indonesia lebih efisien dan lebih mudah saat mengkonsumsi permen probiotik serta dapat dikonsumsi di berbagai kalangan. Setelah dikembangkan menjadi permen probiotik, dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan kultur bakteri yang bersifat patogen bagi tubuh dengan pengujian viabilitas bakteri asam laktat. Viabilitas bakteri asam laktat mempunyai sifat terpenting yaitu mampu bertahan hidup saat melalui mulut, lambung, usus kecil, dan usus besar. Ketahanan bakteri asam laktat terhadap empedu mampu bertahan pada kadar empedu 5% selama 4 hari inkubasi. Hal ini karena bakteri asam laktat mempunyai enzim *bile salt hydrolase* yang dapat menghidrolisis garam empedu sehingga tidak bersifat racun terhadap bakteri asam laktat. Selain itu juga harus mampu bertahan hidup pada tingkat

keasaman asam lambung yang dapat mencapai pH sampai dibawah 3. Syarat produk dikatakan probiotik adalah bahwa produk tersebut mengandung bakteri probiotik yang masih hidup. Jumlah bakteri yang masih hidup sampai di saluran pencernaan lebih dari 10^6 cfu/g atau 10^6 cfu/mL. Untuk mengetahui jumlah bakteri asam laktat yang bermanfaat bagi tubuh, maka dilakukan perhitungan bakteri asam laktat selama penyimpanan 1 minggu yaitu pada hari ke 3, 5 dan 7 dengan menggunakan perhitungan cawan atau angka lempeng total (ALT).