

Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Mikrobiologi
Biskuit Bayi Dengan Substitusi Tepung Labu Kuning (*Cucurbita
Moschata*) dan Tepung Ikan Patin (*Pangasius spp*) Sebagai MP-ASI

Artikel Penelitian

Disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan
studi pada Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro



disusun oleh:

IBNU ZAKI

G2C007037

PROGRAM STUDI ILMU GIZI FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS DIPONEGORO

SEMARANG

2011

HALAMAN PENGESAHAN

Artikel penelitian dengan judul “Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Mikrobiologi Biskuit Bayi dengan Substitusi Tepung Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*) dan Tepung Ikan Patin (*Pangasius spp*) sebagai MP-ASI” telah dipertahankan di hadapan Pembimbing.

Mahasiswa yang mengajukan :

Nama : Ibnu Zaki
NIM : G2C007037
Fakultas : Kedokteran
Program Studi : Ilmu Gizi
Universitas : Diponegoro Semarang
Judul Proposal : Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Mikrobiologi Biskuit Bayi dengan Substitusi Tepung Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*) dan Tepung Ikan Patin (*Pangasius spp*) sebagai MP-ASI.

Semarang, 23 Desember 2011

Pembimbing

Ninik Rustanti, S.TP, M.Si

NIP. 197806252010122002

Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Mikrobiologi Biskuit Bayi Dengan Substitusi Tepung Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*) dan Tepung Ikan Patin (*Pangasius spp*) Sebagai MP-ASI

Ibnu Zaki* Ninik Rustanti**

ABSTRAK

Latar Belakang : Biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin merupakan salah satu inovasi dalam pemenuhan kebutuhan makanan bayi yang tinggi protein dan betakaroten. Di sisi lain, pemberian makanan tambahan pada bayi dapat menjadi peluang masuknya mikroorganisme. Selama penyimpanan, biskuit mengalami penurunan mutu disebabkan oleh peningkatan jumlah mikroorganisme. Total mikroorganisme yang melampaui batas pada biskuit bayi akan berbahaya apabila dikonsumsi.

Tujuan : Mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap kualitas mikrobiologi biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin sebagai MP-ASI

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap satu faktor yaitu lama penyimpanan dengan 4 taraf perlakuan yaitu 0 minggu (tidak disimpan), 1 minggu, 2 minggu dan 4 minggu. Setiap taraf perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan dan diukur secara duplo. Parameter yang diamati adalah *Total Plate Count (TPC)* dan *Most Probably Number (MPN)*. Data dianalisis menggunakan uji *one way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Tukey*.

Hasil : Lama penyimpanan biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin berpengaruh terhadap TPC ($p= 0,002$) dan MPN ($p= 0,01$). Nilai TPC melampaui batas maksimal SNI, sedangkan nilai MPN masih memenuhi syarat SNI. Nilai TPC dan MPN tertinggi biskuit dengan lama penyimpanan 4 minggu.

Kesimpulan : Kualitas biskuit bayi masih belum memenuhi standar SNI dan semakin lama penyimpanan maka semakin menurun kualitas biskuit.

Kata kunci : Biskuit, lama penyimpanan, mikrobiologi

* Mahasiswa Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

** Dosen Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

Effect of Storage Duration on the Microbiological Quality of Baby Biscuit with Pumpkin Flour (*Cucurbita moschata*) and Patin Flour (*Pangasius spp*) Substitution as a Complementary Feeding

Ibnu Zaki* Ninik Rustanti**

ABSTRACT

Background : Baby biscuit with substitution of pumpkin flour and patin flour as the complementary feeding is one of innovation in meeting the needs of baby food high in protein and beta-carotene. On the other hand, complementary feeding in infants could be a chance of microorganisms to entry. Therefore, it is important to know the microbiological quality of baby biscuits. During storage, the biscuit is severely degraded due to increased number of microorganisms. Total microorganisms that exceed the limit on baby biscuits will be dangerous if consumed.

Objective : To know the effect of storage duration on the microbiological quality of baby biscuits with pumpkin flour and patin flour substitution as a complementary feeding.

Methods : This study is a completely randomized design with a factor that is storage time with 4 levels of treatment that is 0 (not stored), 1 week, 2 weeks and 4 weeks. Each level of treatment performed 3 repetitions and measured in duplicate. Parameters observed are *Total Plate Count (TPC)* and *Most Probably Number (MPN)*. Data were analyzed using one-way ANOVA test followed by Tukey test.

Results : Storage duration of baby biscuit with pumpkin flour and patin flour substitution effect on the test results of TPC ($p = 0.002$) and MPN ($p = 0.01$). TPC value exceeds the maximum limit of SNI whereas MPN test results are appropriate with SNI requirements. The highest TPC and MPN found at 4 weeks old store.

Conclusion : Quality of baby biscuit still does not meet SNI standards and the longer the storage the more decreased the quality of biscuits.

Keyword : Biscuits, storage duration, microbiology

* Student of Nutrition Science Study Program, Medical Faculty of Diponegoro University Semarang

** Lecturer of Nutrition Science Study Program, Medical Faculty of Diponegoro University Semarang

PENDAHULUAN

Masa balita merupakan masa yang penting dalam perkembangan manusia, karena pada masa ini terjadi pertumbuhan dan perkembangan yang akan mempengaruhi kualitas sumberdaya manusia dimasa mendatang.¹ Pada tahun pertama, pertumbuhan bayi berlangsung dengan cepat dengan dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya kesehatan, lingkungan, dan makanan. Makanan memegang peranan penting dalam kaitannya pemenuhan kebutuhan gizi untuk pertumbuhan.¹ Seiring pertambahan umur bayi, kebutuhan bayi terhadap zat gizi semakin meningkat sedangkan kandungan zat gizi yang tersedia pada air susu ibu (ASI) tidak dapat memenuhinya. Oleh karena itu, bayi memerlukan makanan tambahan lain atau makanan pendamping lain selain air susu Ibu atau biasa disebut dengan makanan pendamping ASI (MP-ASI). Makanan pendamping ASI (MP-ASI) merupakan makanan selain ASI yang diberikan untuk bayi setelah berumur 6 bulan.²

Biskuit bayi merupakan salah satu MP-ASI yang diperuntukkan bagi bayi berusia 6 - 24 bulan. Dibuat dari bahan dasar tepung terigu atau tepung lain seperti sereal, kacang-kacangan, biji-bijian yang mengandung minyak, dan bahan makanan lain yang sesuai.³ Biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin sebagai MP-ASI merupakan salah satu inovasi yang dilakukan dalam upaya pemenuhan kebutuhan MP-ASI yang mengandung tinggi protein dan betakaroten. Bagi bayi, protein berperan dalam pertumbuhan dan pemeliharaan sel tubuh, sedangkan vitamin A untuk bayi berperan dalam fungsi sistem kekebalan, melindungi sel-sel epitel lapisan kulit, sistem penglihatan, membantu pertumbuhan, serta pembentukan tulang dan gigi.^{2,4} Menurut penelitian sebelumnya diketahui perbandingan yang sesuai antara tepung labu kuning dan tepung ikan patin sebesar 1 : 3 sehingga biskuit bayi tersebut memiliki kandungan protein 13,796% dan betakaroten 5,407 mg/100g.⁵

Pemberian MP-ASI pada bayi diharapkan mempunyai peranan dalam rangka pemenuhan kebutuhan gizi bayi. Akan tetapi, pemberian makanan tambahan (MP-ASI) pada bayi selain dapat memenuhi kebutuhan zat gizi juga

dapat memberi peluang masuknya mikroorganisme merugikan ke dalam tubuh bayi yang dapat mengakibatkan kesakitan pada bayi. Di negara sedang berkembang, periode penyapihan berhubungan dengan peningkatan kejadian diare sebagai akibat konsumsi makanan pendamping ASI (MP-ASI) yang terkontaminasi. Suatu penelitian di Nigeria menemukan adanya kontaminasi mikroorganisme pada makanan pendamping ASI (MP-ASI). Bakteri yang mengkontaminasi makanan tersebut yaitu *Eschericia coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus Sp.*⁶ Penelitian lain di Malawi menunjukkan sebanyak 48% makanan terkontaminasi oleh *Eschericia coli*.⁷ Di Bangladesh menunjukkan 41% MP-ASI mengandung *Eschericia coli Enteropatogenik*.⁸ Penelitian lain di Mesir menunjukkan 43,7% MP-ASI terkontaminasi *Eschericia coli* dan di Zimbabwe sebesar 16%.^{9,10} Selain itu bakteri patogen lain yang ditemukan yaitu *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, dan *Shigella*.¹¹ Pada produk pangan kering seperti biskuit terdapat kapang dalam jumlah besar, terutama dalam bentuk spora yang akan menurunkan mutu biskuit.¹²

Makanan pendamping ASI (MP-ASI) memiliki ketentuan yang harus dipenuhi yaitu mengandung zat gizi yang diperlukan bayi serta tidak terdapat cemaran mikroorganisme patogen berkaitan dengan pencegahan kesakitan pada bayi.¹ Syarat kualitas biskuit bayi di Indonesia telah dibakukan dalam Standar Nasional Indonesia (SNI 01-7111.2-2005), dengan pemeriksaan cemaran mikroorganisme dalam biskuit bayi meliputi uji pemeriksaan *Total Plate Count* (TPC) dengan batas maksimal sebesar $1,0 \times 10^4$ koloni/g dan *Most Probability Number* (MPN) dengan batas maksimal 20/g.³ Penghitungan jumlah mikroorganisme pada makanan merupakan salah satu langkah penting dalam mengidentifikasi resiko makanan terhadap manusia setelah dikonsumsi.¹³ TPC dan MPN merupakan suatu metode yang digunakan untuk menentukan jumlah mikroorganisme di dalam bahan pangan.¹⁴ *Total Plate Count* (TPC) merupakan metoda penentuan jumlah mikroorganisme secara keseluruhan baik kapang, khamir, maupun bakteri dalam suatu bahan. Metode MPN umumnya digunakan untuk menghitung bakteri yang terdapat pada suatu bahan pangan.¹⁴

Produk pangan mempunyai batas waktu tertentu untuk dapat dikonsumsi secara aman. Hal ini dikarenakan bahan pangan mengalami penurunan mutu mikrobiologis ditandai dengan nilai TPC dan MPN melebihi batas maksimal yang disebabkan oleh aktivitas pertumbuhan mikroorganisme meningkat selama penyimpanan. Faktor-faktor yang menyebabkan meningkatnya aktivitas pertumbuhan mikroba antara lain: nutrisi, aktivitas air (A_w), waktu, suhu, nilai pH.¹⁵ Waktu selama penyimpanan biskuit dimanfaatkan mikroorganisme untuk berkembang biak, terutama bila didukung oleh media kaya nutrisi. Adanya nutrisi dalam biskuit dijadikan media pertumbuhan yang baik oleh mikroorganisme sehingga kurva pertumbuhan meningkat. Faktor lain yang dapat berpengaruh yaitu meningkatnya kadar air pada biskuit sebagai akibat permeabilitas pembungkus sehingga uap air dapat masuk ke dalam pembungkus selanjutnya air meresap ke dalam biskuit.¹⁶ Pada proses pemanggangan biskuit, suhu yang dicapai biasanya cukup untuk membunuh mikroorganisme dalam biskuit.¹² Pada penelitian sebelumnya pemanggangan biskuit menggunakan suhu $\pm 150^\circ\text{C}$.^{5,17}

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan biskuit bayi yang disubstitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin terhadap *Total Plate Count* (TPC) dan *Most Probable Number* (MPN).

METODE

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian bidang Ilmu Gizi dengan konsentrasi pada Mikrobiologi Pangan yang dilaksanakan mulai bulan September hingga Oktober 2011 di Laboratorium Teknologi Pangan Jurusan Gizi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

Pembuatan biskuit bayi menggunakan bahan utama tepung terigu dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin yang mengacu pada penelitian sebelumnya dimana diketahui perbandingan yang terbaik yaitu perbandingan

antara tepung labu kuning dan tepung ikan patin sebesar 1 : 3 dengan bahan pendukung diantaranya margarin, gula halus, kuning telur, dan tepung maizena. Substitusi yang dilakukan dengan mengganti sebagian bahan utama yaitu tepung terigu sebanyak 30%, penggunaan bahan-bahan yang lain tetap sama penggunaannya (margarin, gula halus, kuning telur, tepung maizena).⁵ Pengemasan dan penyimpanan biskuit disesuaikan dengan kebiasaan yang terjadi dirumah tangga. Biskuit dibungkus menggunakan plastik jenis Polypropylene (pp) kemudian biskuit disimpan di atas meja.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap satu faktor yaitu lama penyimpanan biskuit terhadap nilai TPC dan MPN biskuit dengan 4 variasi perlakuan yaitu biskuit 0 hari (tidak disimpan), lama penyimpanan 1 minggu, 2 minggu dan 4 minggu. Pengujian biskuit dilakukan secara duplo dengan tiga kali pengulangan pada setiap perlakuan.

Variabel bebas yang ditentukan dalam penelitian ini adalah lama penyimpanan biskuit sedangkan variabel terikat nilai TPC dan MPN. *Total Plate Count* (TPC) merupakan metoda pendugaan jumlah mikroorganisme secara keseluruhan dalam suatu bahan. Analisis TPC menggunakan media *Plate Count Agar (PCA)* dengan menanam satu gram sampel yang telah diencerkan ke dalam cawan petri, kemudian di inkubasi.¹⁸ Hasil hitung berupa koloni (cfu) per ml/g. Metode MPN umumnya digunakan untuk menghitung jumlah bakteri, Analisis metode *Most Probably Number* (MPN) menggunakan media *Lactose Broth* (LB) pada tabung reaksi dengan tabung durham seri 3-3-3. Menanam satu gram sampel yang telah diencerkan, selanjutnya dipipet ke dalam larutan fisiologis kemudian dipindahkan pada masing – masing tabung berisi tabung durham kemudian di inkubasi. Setelah inkubasi terjadi pertumbuhan bakteri pada tabung yang dinyatakan sebagai tabung positif. Kombinasi tabung positif Selanjutnya dicocokkan dengan tabel MPN.¹⁴

Data dianalisis menggunakan program komputer *SPSS 17 for windows* dan diuji statistik dengan *one way ANOVA* dengan derajat kepercayaan 95% yang dilanjutkan dengan uji *Tukey*.

HASIL

1. *Total Plate Count (TPC)*

Nilai TPC pada biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin pada lama penyimpanan tertentu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis TPC pada Biskuit Bayi

Lama Penyimpanan	Total Plate Count (cfu/g)
0 hari	$5,60 \times 10^7 \pm 0,44 \times 10^{7b}$
1 minggu	$7,73 \times 10^7 \pm 1,32 \times 10^{7b}$
2 minggu	$13,67 \times 10^7 \pm 4,52 \times 10^{7b}$
4 minggu	$193,33 \times 10^7 \pm 90,36 \times 10^{7a}$
p = 0,002*	

Keterangan: Huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan beda nyata.

Hasil analisis *Total Plate Count (TPC)* pada Tabel 1 menunjukkan nilai TPC memiliki kecenderungan hubungan yang positif dengan lama penyimpanan biskuit. Semakin lama biskuit bayi disimpan maka nilai TPC pada biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin semakin meningkat (p= 0,002). Nilai tertinggi dari TPC biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin terjadi pada lama penyimpanan biskuit selama 4 minggu yaitu sebesar $193,33 \times 10^7$ cfu/g. Meskipun demikian, pada lama penyimpanan 0 hari (tidak disimpan) nilai TPC biskuit $5,60 \times 10^7$ cfu/g telah melampaui batas maksimal persyaratan biskuit bayi SNI 01-7111.2-2005 yaitu $1,0 \times 10^4$ cfu/g.

2. *Most Probably Number (MPN)*

Nilai MPN pada biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin dengan berbagai variasi lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 2.

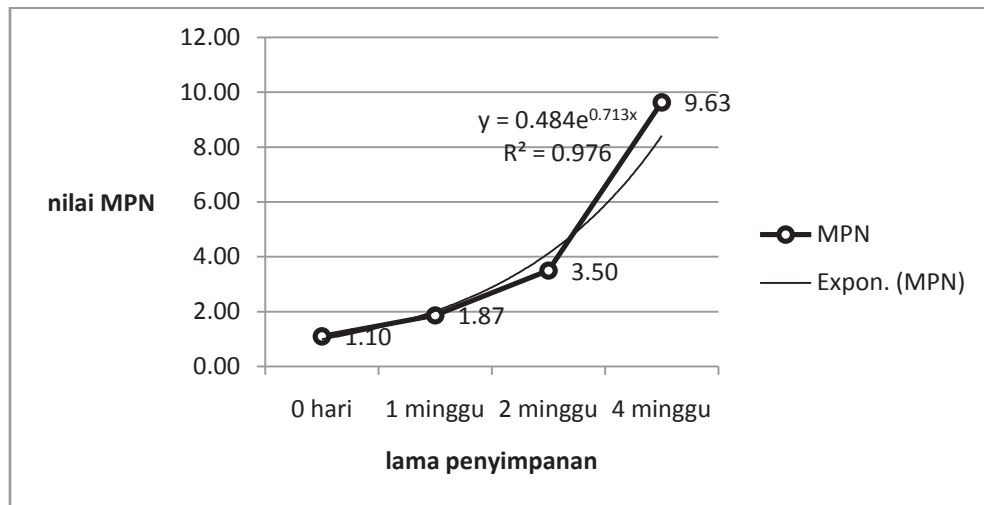
Tabel 2. Hasil Analisis MPN pada Biskuit Bayi

Lama Penyimpanan	Most Probably Number (/g)
0 hari	1,10 ± 0,40 ^b
1 minggu	1,87 ± 0,32 ^b
2 minggu	3,50 ± 1,06 ^{ab}
4 minggu	9,63 ± 4,67 ^a
p = 0,01*	

Keterangan: Huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan beda nyata.

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa nilai MPN meningkat seiring lamanya penyimpanan biskuit. Penyimpanan biskuit selama 4 minggu memiliki nilai MPN tertinggi sebesar 9,63 per gram. Dari analisis statistik diketahui bahwa lama penyimpanan biskuit bayi yang disubstitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin berpengaruh terhadap nilai MPN ($p=0.01$).

Gambar 1 menunjukkan kecenderungan nilai MPN pada biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin yang meningkat setiap minggunya. Nilai tersebut masih memenuhi standar SNI 01-7111.2-2005 yang menyatakan batas maksimal nilai MPN sebesar 20 per gram. Pada Gambar 1 juga dapat diketahui bahwa kurva hubungan lama penyimpanan dengan nilai MPN pada biskuit mempunyai bentuk kurva eksponensial dengan persamaan $Y = 0,4843e^{0,7138x}$ dengan $R^2 = 0,9761$. Pada kurva ini nilai MPN mempunyai kecenderungan meningkat secara eksponensial setiap minggunya.



Gambar 1. Grafik hubungan antara lama penyimpanan biskuit bayi dengan nilai *Most Probably Number (MPN)*

PEMBAHASAN

A. *Total Plate Count (TPC)*

Total Plate Count (TPC) merupakan suatu metoda pendugaan jumlah koloni mikroorganisme secara keseluruhan dalam suatu bahan pangan maupun hasil olahannya.¹⁹ Koloni yang tumbuh menunjukkan jumlah seluruh mikroorganisme yang ada di dalam bahan pangan seperti bakteri, kapang, dan khamir.¹⁴ Metoda ini dapat menggambarkan kualitas mikrobiologi pada bahan pangan, apabila nilai TPC tinggi maka kualitas mikrobiologi pangan dianggap rendah karena tingginya nilai TPC pada pangan mengindikasikan jumlah mikroorganisme yang banyak, sehingga dapat membahayakan konsumen.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan nilai TPC biskuit bayi yang disubstitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin tertinggi terdapat pada lama penyimpanan 4 minggu sebesar $193,33 \times 10^7$ cfu/g. Bila dibandingkan dengan syarat maksimal nilai TPC SNI 01-7111.2-2005 nilai TPC biskuit telah melampaui batas maksimal pada lama penyimpanan 0 hari (tidak disimpan) dengan nilai TPC $5,60 \times 10^7$ cfu/g. Batas maksimal persyaratan biskuit bayi SNI 01-7111.2-2005 yaitu $1,0 \times 10^4$ cfu/gram.³ Tingginya TPC biskuit disebabkan masih terdapatnya

mikroorganisme pada biskuit. Penelitian sebelumnya melaporkan nilai TPC pada biskuit tempe - bekatul pada lama penyimpanan 0 hari sebesar $1,4 \times 10^4$ cfu/g.²⁰

Kerusakan mikrobiologis pada produk pangan kering, seperti biskuit umumnya disebabkan oleh kapang.¹² Selama pemanggangan sejumlah mikroorganisme pada biskuit berkurang jumlahnya, namun spora mikroorganisme masih hidup.¹² Tingginya nilai TPC pada biskuit dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya biskuit mengandung kaya akan nutrisi yang merupakan media tumbuh dan berkembang yang baik bagi mikroorganisme.²¹ Selain itu, adanya kontaminasi dari kapang melalui udara yang berspora kapang yang masuk pada waktu pendinginan biskuit, sebelum pembungkusan, maupun melalui plastik pembungkus biskuit.¹² Suatu penelitian melaporkan terdapat mikroorganisme jenis kapang pada kacang hijau yang disimpan pada plastik sebanyak $8,11 \times 10^5$ cfu/gram.²² Penelitian lain juga menyatakan susu kedelai yang disimpan menggunakan plastik memiliki total bakteri yang lebih banyak dibanding susu kedelai yang disimpan menggunakan botol.²³

Pengolah makanan memegang peranan penting dalam keamanan makanan, karena berpotensi untuk menularkan penyakit melalui makanan atau minuman yang diolah dan disajikan kepada orang yang mengkonsumsi, atau dikenal dengan sebutan kontaminasi silang. Kontaminasi silang merupakan kontaminasi yang terjadi karena adanya kontak langsung atau tidak langsung antara satu benda dengan benda lain. Oleh karena itu kebersihan perorangan (*personal hygiene*) penting bagi pengolah makanan dalam rangka pencegahan penyakit.²⁴

Pada lama penyimpanan yang berbeda terdapat pengaruh yang nyata terhadap nilai TPC ($p=0,002$). Semakin lama biskuit disimpan maka pertumbuhan mikroorganisme akan semakin meningkat. Selama penyimpanan aktivitas air meningkat oleh karena adanya uap air yang masuk melalui plastik sehingga kapang semakin mudah tumbuh dan berkembang dalam kadar air yang cukup.¹⁶

B. *Most Probably Number (MPN)*

Nilai MPN biskuit bayi yang disubstitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin sampai dengan lama penyimpanan 4 minggu masih memenuhi syarat SNI 01-7111.2-2005 yang menyatakan batas MPN maksimum pada biskuit sebesar 20 per gram dengan nilai MPN biskuit tertinggi pada lama penyimpanan 4 minggu sebesar 9,63 per gram dan terjadi kenaikan secara eksponensial antara nilai MPN dengan lama penyimpanan biskuit.

Kandungan air biskuit setelah proses pemanggangan rendah sehingga sebagian bakteri mati. Oleh karena itu, pada lama penyimpanan 0 hari (tidak disimpan) nilai MPN biskuit rendah. Seiring lama penyimpanan biskuit terjadi peningkatan jumlah bakteri pada biskuit. Keadaan biskuit kaya akan nutrisi menjadi salah satu faktor yang berpengaruh karena merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Semua bakteri yang tumbuh pada makanan membutuhkan zat organik untuk pertumbuhannya. Dalam metabolismenya bakteri ini menggunakan protein, karbohidrat, dan lemak sebagai sumber energi untuk pertumbuhannya. Bakteri menggunakan komponen organik yang mengandung nitrogen sebagai sumber nitrogennya.¹⁴ Penggunaan nutrisi yang terdapat pada biskuit oleh mikroorganisme semakin lama dapat menurunkan kualitas zat gizi biskuit.¹² Telah dilaporkan penelitian sebelumnya bahwa terjadi penurunan protein pada kacang hijau selama penyimpanan yang diakibatkan oleh aktivitas bakteri.²² Terdapatnya nutrisi dalam biskuit maka akan terjadi pertumbuhan bakteri secara maksimal dan kurva pertumbuhannya meningkat. Faktor lain yang mempengaruhi yaitu peningkatan aktivitas air oleh karena adanya uap masuk melalui permeabilitas plastik sehingga bakteri semakin mudah tumbuh dan berkembang.¹⁶

Media yang digunakan pada pengujian MPN ini digunakan media *Lactose Broth* (LB), dimana hanya bakteri yang dapat memfermentasi laktosa saja yang dapat tumbuh. Adanya bakteri yang memfermentasi

laktosa pada pengujian ditandai dengan adanya gas pada tabung durham.¹⁴ Umumnya metode ini digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri Koliform. Koliform merupakan suatu grup bakteri yang terkandung dalam jumlah banyak pada kotoran manusia dan hewan, sehingga bakteri ini sering dipakai sebagai indikator dari kualitas makanan, air, dan juga bakteri ini dipakai sebagai indikator dari kontaminasi kotoran.¹⁴ Bakteri ini dapat mengakibatkan gangguan pencernaan.²⁵ Salah satu anggota kelompok Koliform adalah *Eschericia coli Enteropatogenik*, bakteri ini dilaporkan menjadi penyebab terjadinya diare pada negara sedang berkembang. Sebanyak 7-8 kali setahun anak-anak di negara sedang berkembang terserang diare, 3 diantaranya disebabkan oleh *Eschericia coli Enteropatogenik*.^{26,27} Bakteri ini dilaporkan penyebab 25% kasus diare pada bayi kaitannya dalam pemberian makanan pendamping ASI pada bayi.²⁸

Periode pemberian makanan pendamping ASI (MP-ASI) merupakan suatu periode waktu yang penting dalam perkembangan bayi, dimana bayi mulai dikenalkan makanan yang lebih padat. Namun pada waktu yang bersamaan imunitas bayi juga dalam perkembangan oleh karena itu pemberian makanan pendamping ASI (MP-ASI) harus diperhatikan keamanannya dalam upaya pencegahan masuknya bakteri patogen yang menyebabkan penyakit.²⁸

Hasil analisis statistik menyatakan lama penyimpanan dari biskuit bayi yang disubstitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin mempengaruhi nilai MPN ($p= 0,01$). Pada Gambar 1 menunjukkan kurva hubungan lama penyimpanan terhadap jumlah bakteri pada biskuit bayi yang mempunyai kecenderungan meningkat secara eksponensial dengan persamaan $Y = 0,4843e^{0,7138x}$ dan $R^2 = 0,9761$. Dari persamaan tersebut dapat ditentukan umur simpan biskuit bayi berdasarkan nilai MPN maksimal yang dipersyaratkan SNI 01-7111.2-2005 sebesar 20 per gram yaitu 5 minggu. Namun demikian, umur simpan ini tidak dapat dipergunakan karena biskuit yang dihasilkan masih mengandung kapang

dan khamir. Dengan demikian diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengurangi kapang dan khamir pada biskuit bayi setelah proses pemanggangan.¹²

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. *Total Plate Count (TPC)* biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin melebihi dari nilai TPC yang dipersyaratkan oleh SNI 01-7111.2-200, tetapi untuk nilai *Most Probability Number (MPN)* masih memenuhi persyaratan.
2. Semakin lama penyimpanan biskuit bayi dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan patin maka nilai *Total Plate Count (TPC)* dan *Most Probability Number (MPN)* semakin meningkat.

B. Saran

1. Diperlukan penyimpanan biskuit menggunakan pembungkus yang memiliki permeabilitas rendah agar uap air tidak masuk.
2. Diperlukan penelitian lanjutan mengenai metoda untuk mengurangi jumlah mikroorganisme pada biskuit agar memenuhi syarat mutu mikrobiologis sesuai Standar Nasional Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soetjiningsih. Tumbuh Kembang Anak. Jakarta. Buku Kedokteran EGC. 1995
2. Zakaria, FR. Produksi MP ASI Lokal Sebagai Terobosan Untuk Menanggulangi Masalah Kekurangan Gizi. Seminar Nasional Teknologi Pangan. IPB. Bogor. 1999
3. Detail SNI MP-ASI Biskuit. [serial online]. 2005. [dikutip pada 12 Februari2011]. Available from URL:www.websisni.bsn.go.id/index.php%3F/sni_main/sni/detail_sni/

4. Suarni. Potensi kandungan senyawa betakaroten beberapa senyawa komoditi sebagai sumber vitamin A. Prosiding Seminar Nasional Pengembangan Inovasi Pertanian Lahan Marginal. Bogor. h.563-7
5. Nurhidayati. Kontribusi MP-ASI Biskuit Bayi Dengan Substitusi Tepung Labu Kuning dan Tepung Ikan Patin Terhadap Kecukupan Protein dan Vitamin A. [skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang. 2011
6. Ifediora A.C., Nkere C.K., Iroegbu C.U. Weaning Food Preparations Consumed In Umuahia, Nigeria : Evaluation of The Bacteriological Quality. *Journal of Food Technology*. 2006. 4 (2):101-105
7. Taulo S., Wetlesen A., Abrahamsen R., Kululanga G., Mkakosya R., Grymason A. Microbiological hazard identification and exposure assessment of food prepared and served in rural households of Lungwena, Malawi. *International Journal of Food Microbiology*. 2008.
8. Black, RE,. Brown, KH,. Becker, S,. Alim, ARMA,. Merson, MH. Contamination of weaning foods and transmission of enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea in children in rural Bangladesh. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1982;76:259-64.
9. Afifi, ZE,. Nasser, SS,. Shalaby, S,. Atlam, SA. Contamination of weaning foods: organisms, channels and sequelae. *J Trop Pediatr*. 1998.44:335-7.
10. Simango, C,. Dindiwe, J,. Rukure, G. Bacterial contamination of food and household stored drinking water in a farmworker community in Zimbabwe. *Cent Afr J Med*. 1992. 38:143-9.
11. Ikeh, EI,. Okwudili, PE,. Odumodu, CU. Microorganisms associated with locally available infant weaning foods in Jos and Environs, Nigeria. *Nig J Paediatr*. 2001. 28:7.
12. Fardiaz,S. Laksmi BS. Mikrobiologi Pangan II. Bogor: laboratorium mikrobiologi pangan IPB. 1989.
13. Borowsky, L.M., Schmidt, V., Cardoso, M. Estimation Of Most Probable Number Of *Salmonella* In Minced Pork Samples. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2007. 38:544-546

14. Fardiaz, S. Mikrobiologi Pangan I. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama. 1993
15. Suardana IW. Swacita IBN. Higiene Makanan. Denpasar: Udayana University Press. 2009
16. Winiati P.R., Arpah M. Pengetahuan Kemasan Plastik (Produk industri dan jasa boga). Bogor. IPB. 2004
17. Gracia C.C.L, Sugiyono, Haryanto B. Kajian Formulasi Biskuit Jagung Dalam Rangka Substitusi Tepung Terigu. J.Tekno dan Industri Pangan. 2009. 22(1)
18. Forsythe S.J., Hayes P.R. Food Hygiene, Microbiology and HACCP Third Edition. Gaithersburg. Aspen Publishers, Inc. 1998.
19. Badan Pengawasan Obat dan Makanan. Mutu Pangan. Direktorat Surveilans dan Penyuluhan Keamanan Pangan Deputi III – BPOM, Jakarta. 2003.
20. Dwi S. Setyaningrum R. Pramudya K. Uji Fisik, Organoleptik, dan Kandungan Gizi Biskuit Tempe-Bekatul dengan Fortifikasi Fe dan Zn untuk Anak Kurang Gizi. Jurnal Penelitian Sains & Teknologi. 2009. Vol. 10, No. 1.
21. Fardiaz, S. Analisis Mikrobiologi Pangan. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada. 1993.
22. Meylina GP. Pengaruh Tempat dan Lama Penyimpanan Terhadap Total Kapang dan Kadar Protein Biji Kacang Hijau. [skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang. 2008.
23. Esteria P. Perubahan Mutu Susu Kedelai Selama Pengolahan dan Penyimpanan. [skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang. 2008.
24. Adam, S., Hygiene Perseorangan. Jakarta : Bhratara. 1992
25. Antara, S., I.B.W. Gunam. Dunia Mikroba (Bahaya Mikrobiologis pada Makanan). Denpasar : Pusat Kajian Keamanan Pangan Universitas Udayana. 2002.
26. Estrada-Garcia, T.; Lopez-Saucedo, C.; Thompson-Bonilla, R.; Abonce, M.; Lopez-Hernandez, D.; Santos, J.I.; Rosado, J.L.; DuPont, H.L.; Long,

- K.Z. Association of Diarrheagenic *Escherichia coli* Pathotypes with Infection and Diarrhea among Mexican Children and Association of Atypical Enteropathogenic *E. coli* with Acute Diarrhea. *J Clin Microbiol.* 2009. 47(1), 93–98
27. Harris, A.M.; Chowdhury, F.; Begum, Y.A.; Khan, A.I.; Faruque, A.S.; Svennerholm, A.M.; Harris, J.B.; Ryan, E.T.; Cravioto, A.; Calderwood, S.B.; Qadri, F. Shifting prevalence of major diarrheal pathogens in patients seeking hospital care during floods in 1998, 2004, and 2007 in Dhaka, Bangladesh. *Am J Trop Med Hyg.* 2008. 79(5), 708-714
28. Motarjemi Y et al. Contaminated weaning food: a major risk factor for diarrhoea and associated malnutrition. *Bulletin of the World Health Organization*, 1993, 71(1):79—92.

Lampiran 1. Hasil Pengujian Laboratorium *Total Plate Count* (*TPC*) dan *Most Probably Number* (*MPN*)

1. Jenis Pengujian : *Total Plate Count* (*TPC*)

No	Perlakuan	Ulangan (koloni/gram)			Rata – rata	SD
		Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III		
1	0 hari (tdk disimpan)	$5,3 \times 10^7$	$6,1 \times 10^7$	$5,4 \times 10^7$	$5,60 \times 10^7$	$\pm 0,44 \times 10^7$
2	1 minggu	$8,9 \times 10^7$	$8,0 \times 10^7$	$6,3 \times 10^7$	$7,73 \times 10^7$	$\pm 1,32 \times 10^7$
3	2 minggu	$18,4 \times 10^7$	$13,2 \times 10^7$	$9,4 \times 10^7$	$13,67 \times 10^7$	$\pm 4,52 \times 10^7$
4	4 minggu	246×10^7	245×10^7	89×10^7	$193,33 \times 10^7$	$\pm 90,36 \times 10^7$

2. Jenis Pengujian : *Most Probably Number* (*MPN*)

No	Perlakuan	Ulangan (/gram)			Rata – rata	SD
		Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III		
1	0 hari (tdk disimpan)	0,7	1,1	1,5	1,10	$\pm 0,40$
2	1 minggu	2,0	1,5	2,1	1,87	$\pm 0,32$
3	2 minggu	3,9	2,3	4,3	3,50	$\pm 1,06$
4	4 minggu	7,5	6,4	15,0	9,63	$\pm 4,67$

Lampiran 2. Hasil Analisis Statistik TPC dan MPN

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
TPC	0 hari	3	5.600	.4359	.2517
	1 minggu	3	7.733	1.3204	.7623
	2 minggu	3	13.667	4.5181	2.6085
	4 minggu	3	193.333	90.3567	52.1675
	Total	12	55.083	91.9142	26.5333
MPN	0 hari	3	1.100	.4000	.2309
	1 minggu	3	1.867	.3215	.1856
	2 minggu	3	3.500	1.0583	.6110
	4 minggu	3	9.633	4.6801	2.7021
	Total	12	4.025	4.0609	1.1723

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TPC	Between Groups	76557.077	3	25519.026	12.469	.002
	Within Groups	16373.360	8	2046.670		
	Total	92930.437	11			
MPN	Between Groups	134.829	3	44.943	7.720	.010
	Within Groups	46.573	8	5.822		
	Total	181.402	11			

Homogeneous Subsets

TPC

Tukey HSD^a

lama penyimpanan	Subset for alpha = 0.05		
	N	1	2
0 hari	3	5.600	
1 minggu	3	7.733	
2 minggu	3	13.667	
4 minggu	3		193.333
Sig.		.996	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

MPN

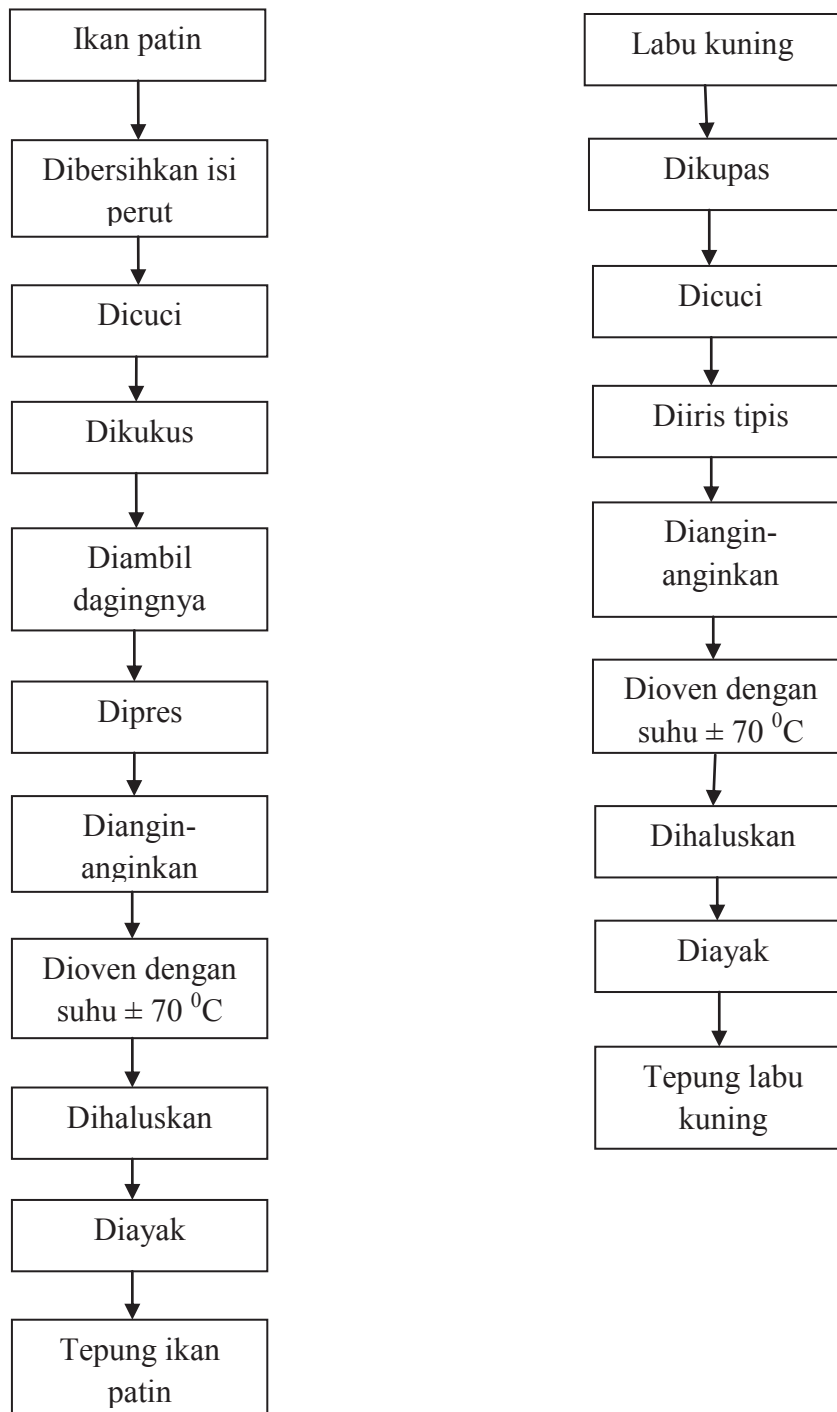
Tukey HSD^a

lama penyimpanan	Subset for alpha = 0.05		
	N	1	2
0 hari	3	1.100	
1 minggu	3	1.867	
2 minggu	3	3.500	3.500
4 minggu	3		9.633
Sig.		.633	.057

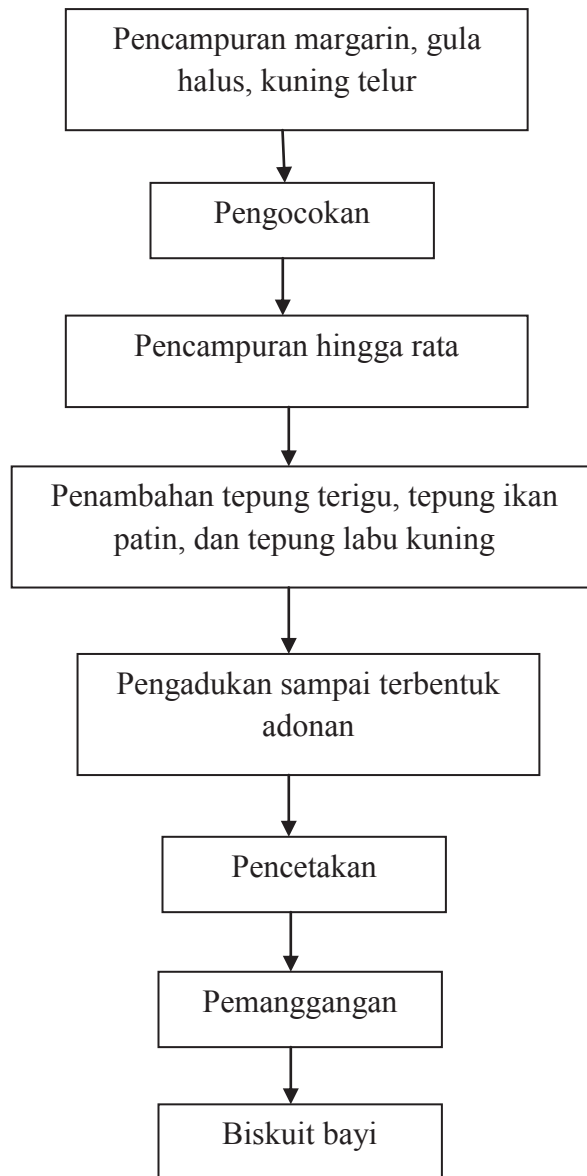
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 3. Proses Pembuatan Tepung Ikan Patin dan Tepung Labu Kuning



Lampiran 4. Proses Pembuatan Biskuit Bayi dengan Substitusi Tepung Labu Kuning dan Tepung Ikan Patin



Lampiran 5. prosedur pengujian *Total Plate Count (TPC)*

A. Prosedur

1. Satu gram sample dimasukkan dalam wadah steril
2. Satu ml suspensi pengenceran 10^{-1} tersebut dipindahkan dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml BPW untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2}
3. Di buat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan seterusnya dengan cara yang sama seperti pada butir dua
4. Selanjutnya sebanyak satu ml suspensi dari setiap pengenceran di masukan ke dalam cawan petri secara duplo
5. Di tambahkan 10 ml sampai dengan 15 ml PCA yang sudah didinginkan hingga temperatur $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pada masing – masing cawan yang sudah berisi suspensi. Agar larutan contoh dan media PCA tercampur seluruhnya, cawan diputar ke depan dan ke belakang atau membentuk angka delapan dan didiamkan sampai menjadi padat.
6. Inkubasi pada temperatur 34°C sampai dengan 37°C selama 24 jam sampai dengan 28 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik.

B. Penghitungan jumlah koloni

Dihitung jumlah koloni pada setiap seri pengenceran kecuali cawan petri yang berisi koloni menyebar. Pilih cawan yang mempunyai jumlah koloni 25 sampai dengan 250.

C. Interpretasi Hasil

1. Cawan dengan jumlah koloni kurang dari 25
Bila cawan duplo dari pengenceran terendah menghasilkan koloni kurang dari 25, dihitung jumlah yang ada pada cawan dari setiap pengenceran. Rerata jumlah koloni percawan dan kalikan dengan faktor pengencerannya untuk menentukan nilai TPC.
2. Cawan dengan jumlah koloni lebih dari 250
Bila jumlah koloni per cawan lebih dari 250, dihitung koloni- koloni pada cawan untuk memberikan gambaran penyebaran koloni secara representatif.

Lampiran 6. prosedur pengujian *Most Probable Number (MPN)*

A. Uji Penduga

1. Satu gram contoh padat dan semi padat ditimbang atau ukur contoh cair sebanyak satu ml secara aseptik kemudian dimasukkan dalam wadah steril
2. Satu ml larutan pengencer 10^{-1} tersebut dipindahkan dengan pipet steril ke dalam larutan BPW 0,1% untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} dengan cara yang sama seperti diatas dibuat pengenceran 10^{-3}
3. Pipet masing - masing satu ml dari setiap pengenceran ke dalam tiga seri tabung LB yang berisi tabung durham
4. Inkubasi pada temperatur 35°C selama 24 jam sampai dengan 48 jam
5. Diperhatikan adanya gas yg terbentuk didalam tabung durham. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas

B. Interpretasi Hasil

Banyaknya koliform yang terdapat dalam contoh uji diinterpretasikan dengan mencocokkan kombinasi jumlah tabung yang memperhatikan hasil positif, berdasarkan tabel nilai MPN. Kombinasi yang diambil, dimulai dari pengenceran tertinggi yang masih menghasilkan semua tabung positif, sedangkan pada pengenceran berikutnya terdapat tabung yang negatif. Kombinasi yang diambil terdiri dari tiga pengenceran. Nilai MPN contoh dihitung sebagai berikut.

MPN contoh = nilai MPN tabel x faktor pengenceran yang ditengah