

Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Mutu Mikrobiologi Makanan
Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI) Bubur Instan dengan Substitusi
Tepung Ikan Gabus dan Tepung Labu Kuning

Artikel Penelitian

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



Disusun oleh:

Chorina Swasti Danarsi

22030111130037

PROGRAM STUDI ILMU GIZI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2016

Effect of Storage Duration on The Microbiological Quality of Instant Complementary Feeding with Snakehead Fish (Channa striata) Flour and Pumpkin (Cucurbita moschata) Flour Substitution

Chorina Swasti Danarsi*, Etika Ratna Noer**

ABSTRACT

Background: Complementary feeding is one way to increase undernutrition children's nutrition status. The main factor of complementary feeding are adequate nutrient and microba-free. Storage duration will affect the number of microorganisms and quality of the complementary feeding.

Objectives: To analyze the effect of storage duration on the microbiological quality of instant complementary feeding with snakehead fish (*Channa striata*) flour and pumpkin (*Cucurbita moschata*) flour substitution.

Methods: This study used randomized single factor experimental design, storage duration of instant complementary feeding to the TPC value and *Salmonella* sp (0 week/not stored, 1 week, 2 weeks, and 4 weeks) and done with 3 repetition. Data were analyzed using Kruskal-Wallis test with 95% degree of confidence.

Result: The range of TPC value in 4 weeks storage duration of instant complementary feeding was 13.16 – 3966.66 cfu/g. There were significant differences of storage duration and microbes total among each treatment group ($p < 0.05$). During 4 weeks storage, the Total Plate Count value was still in a normal range but it was not recommended to store it more than 4 weeks. There was no *Salmonella* sp detected.

Conclusion: Storage duration affected the microbiological quality of instant complementary feeding. There was no *Salmonella* sp detected. Longer storage duration resulting in depreciating the quality of instant complementary feeding. The instant complementary feeding with 4 weeks storage duration had already qualified of Indonesian National Standard.

Keywords : Complementary feeding; storage duration; microbiological quality.

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

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

Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Mutu Mikrobiologi Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI) Bubur Instan dengan Substitusi Tepung Ikan Gabus dan Tepung Labu Kuning

Chorina Swasti Danarsi*, Etika Ratna Noer**

ABSTRAK

Latar Belakang: Pemberian makanan tambahan merupakan salah satu cara untuk menaikkan status gizi balita gizi kurang. Kriteria utama makanan tambahan bagi balita gizi kurang adalah memiliki kandungan gizi yang cukup serta bebas dari cemaran mikroba. Lamanya waktu penyimpanan akan mempengaruhi kualitas MP-ASI bubur instan itu sendiri.

Tujuan: Menganalisis pengaruh lama penyimpanan terhadap mutu mikrobiologi pada MP-ASI bubur instan dengan substitusi tepung labu kuning dan tepung ikan gabus.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap satu faktor yaitu lama penyimpanan (0 minggu/tanpa penyimpanan, 1 minggu, 2 minggu, dan 4 minggu) terhadap nilai *Total Plate Count* dan *Salmonella sp.*, dan dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Data dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dengan derajat kepercayaan 95%.

Hasil: Jumlah total mikroba yang ada pada MP-ASI bubur instan berkisar antara 13.16 – 3966.66 cfu/g selama 4 minggu masa penyimpanan. Terdapat perbedaan lama penyimpanan dan jumlah total mikroba yang bermakna pada setiap variasi perlakuan ($p < 0.05$). Nilai TPC selama 4 minggu penyimpanan masih dalam batas normal, namun tidak dianjurkan untuk menyimpannya selama lebih dari 4 minggu. Tidak ditemukan cemaran *Salmonella sp.*

Kesimpulan: Lama penyimpanan MP-ASI bubur instan berpengaruh terhadap jumlah total mikroba. Tidak ditemukan adanya cemaran *Salmonella, sp.* Semakin lama masa penyimpanan akan semakin mengurangi mutu MP-ASI bubur instan. MP-ASI bubur instan substitusi tepung ikan gabus dan labu kuning dengan lama penyimpanan 4 minggu sudah memenuhi syarat SNI.

Kata kunci : Pemberian makanan tambahan; lama penyimpanan; mutu mikrobiologi.

*Mahasiswa Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

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

HALAMAN PENGESAHAN

Artikel Penelitian dengan judul “Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Mutu Mikrobiologi Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI) Bubur Instan dengan Substitusi Tepung Ikan Gabus dan Tepung Labu Kuning” telah dipertahankan di hadapan penguji dan telah direvisi.

Mahasiswa yang mengajukan:

Nama : Chorina Swasti Danarsi

NIM : 22030111130037

Fakultas : Kedokteran

Program Studi : Ilmu Gizi

Universitas : Universitas Diponegoro

Judul Artikel : Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Mutu Mikrobiologi Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI) Bubur Instan dengan Substitusi Tepung Ikan Gabus dan Tepung Labu Kuning

Semarang, 1 Maret 2016

Pembimbing,

Etika Ratna Noer, S.Gz., M.Si.

NIP. 19801130 201012 2 001

PENDAHULUAN

Gizi kurang adalah suatu keadaan dimana tubuh mengalami kekurangan energi dan protein. Penyebab utama gizi kurang adalah kurangnya asupan makanan dari kebutuhan yang seharusnya, baik asupan zat gizi makro maupun mikro. Kekurangan zat gizi bisa berakibat pada gangguan pertumbuhan, gangguan intelektual, penurunan daya tahan tubuh sehingga balita menjadi lebih rentan terhadap infeksi serta peningkatan angka kematian.¹ Oleh sebab itu diperlukan solusi untuk menangani kurangnya asupan makanan pada balita yang mengalami gizi kurang, salah satunya adalah dengan memberikan makanan tambahan. Pemberian makanan tambahan atau PMT bertujuan selain untuk menaikkan status gizi balita gizi kurang, juga untuk meningkatkan imunitas tubuh serta mengenalkan makanan selain ASI pada balita. Salah satu contoh PMT balita gizi kurang adalah MP-ASI berupa bubur instan.

Kriteria utama makanan tambahan bagi balita gizi kurang adalah memiliki kandungan gizi yang cukup serta tidak mengandung mikroorganisme yang bisa menyebabkan penyakit dan memperparah balita gizi kurang.² Berdasarkan SNI 01-7111.4-2005 dan Keputusan Menteri Kesehatan RI tentang Spesifikasi Teknis MP-ASI, dalam 100 g bubur bayi instan harus memenuhi kandungan energi 400-440 kkal, protein sebesar 15-22 g, pemeriksaan cemaran *TPC (Total Plate Count)* dengan batas maksimal sebesar $1,0 \times 10^4$ koloni/g, *Salmonella sp.* dengan batas maksimal negatif/25g, serta memiliki umur simpan selama ± 1 tahun.^{3,4} *Total Plate Count* merupakan metode yang digunakan untuk menentukan jumlah mikrob dalam suatu bahan makanan secara keseluruhan, baik kapang, khamir, maupun bakteri lain yang terdapat dalam bahan makanan, salah satunya adalah *Salmonella sp.* *Salmonella sp.* merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan *foodborne disease* atau penyakit yang disebabkan oleh makanan. Adanya *Salmonella sp.* dalam makanan dianggap membahayakan kesehatan.^{5,6,7}

Kandungan gizi yang terdapat pada bahan baku utama MP-ASI bubur instan bisa digunakan suatu mikroorganisme untuk berkembang biak dan merusak kualitas MP-ASI bubur instan. Bahan yang biasa digunakan dalam pembuatan MP-ASI bubur instan terdiri dari tepung beras, susu skim, gula halus, dan minyak nabati. Pada penelitian ini digunakan substitusi labu kuning serta ikan gabus sebagai bahan baku utama dalam pembuatan MP-ASI bubur instan bagi PMT balita gizi kurang. Labu kuning memiliki kandungan protein, lemak, karbohidrat, vitamin A, B, C, serta magnesium dan fosfor yang tinggi, sedangkan ikan gabus mengandung tinggi albumin, seng, serta berbagai asam amino.^{8,9,10} Tingginya kandungan zat gizi pada labu kuning dan ikan gabus menjadikan kedua bahan makanan tersebut bermanfaat bagi terapi penanganan gizi kurang.

Selain kandungan gizi, faktor penyimpanan bahan makanan juga harus diperhatikan karena akan menentukan keamanan pangan dan mutu mikrobiologinya. Penyimpanan bahan makanan mulai dari berupa bahan mentah hingga menjadi produk MPASI bubur instan perlu diperhatikan. Tempat, suhu, serta kemasan yang digunakan saat proses penyimpanan, pengolahan serta pengemasan MPASI bubur instan harus terjaga kebersihannya agar tidak terdapat cemaran mikrob. Umur simpan MPASI bubur instan juga akan mempengaruhi perkembangbiakan mikrob. Waktu antara bahan makanan diproduksi sampai bahan tersebut masih layak konsumsi disebut umur simpan.^{11,12}

METODE

Penelitian ini termasuk dalam ruang lingkup keilmuan bidang produksi pangan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Teknologi Pangan Universitas Diponegoro dan di Laboratorium Ilmu Gizi dan Teknologi Pangan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang pada bulan September hingga Oktober 2015.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) satu faktor yaitu variasi lama penyimpanan MPASI bubur instan (0 hari, 1 minggu, 2 minggu, dan 4 minggu) terhadap nilai TPC dan *Salmonella sp* dengan pengulangan pada masing-masing perlakuan sebanyak 3 kali dengan analisis secara duplo.

Formulasi MPASI bubur instan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

Tabel 1. Formulasi MP-ASI Bubur Instan dengan Substitusi Tepung Ikan Gabus dan Tepung Labu Kuning per 100 gram

Bahan	Jumlah
Tepung beras (g)	27
Tepung labu kuning (g)	8
Susu skim (g)	33
Tepung ikan gabus (g)	13
Minyak nabati (g)	14
Gula halus (g)	5
Total	100

Proses pembuatan MPASI bubur instan diawali dengan persiapan bahan baku yang meliputi pemisahan daging ikan dari tulang, jeroan, sisik, serta kotoran yang lain serta pengupasan labu kuning. Ikan gabus yang sudah dicuci bersih kemudian dilumuri jeruk nipis dan dikukus selama 30 menit pada suhu 85-90°C. Setelah matang, pisahkan daging ikan dengan kulitnya, kemudian cincang daging ikan menjadi ukuran yang lebih kecil lalu keringkan selama 4 jam pada suhu 50°C. Daging ikan gabus yang sudah kering langsung digiling menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh. Setelah menjadi serbuk, tepung ikan gabus disimpan sementara di wadah plastik kedap udara dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin pada suhu 15°C.

Labu kuning yang sudah dibersihkan dan dicuci bersih, diiris tipis dan dikeringkan selama 12 jam pada suhu 50°C. Setelah kering, labu kuning digiling menggunakan alat penggiling dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh. Tepung

labu kuning yang sudah halus disimpan sementara di wadah plastik kedap udara dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin pada suhu 15°C.

Selain mempersiapkan ikan gabus dan labu kuning, bahan baku yang lain juga perlu disiapkan. Setelah siap, semua bahan dicampur menggunakan blender hingga tercampur rata. MPASI yang sudah tercampur tadi dikeringkan kembali untuk mematangkan kembali campuran tepung dan bahan yang lain. Proses pengeringan dilakukan selama 30 menit dengan suhu 50°C. Setelah dikeringkan, MPASI dimasukkan ke dalam plastik klip dan dimasukkan ke dalam wadah plastik kedap udara baru kemudian disimpan di dalam lemari pendingin dengan suhu 15°C.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian utama meliputi variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah lama penyimpanan MP-ASI Bubur Instan, sedangkan variabel terikat adalah jumlah total mikrob serta cemaran *Salmonella*. Jumlah total mikrob dilihat menggunakan uji *Total Plate Count* (TPC) menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA). Cemaran *Salmonella* dilihat menggunakan uji identifikasi *Salmonella* menggunakan *Buffered Pepton Water* (BPW) sebagai media cair non selektif, serta *Tetrinationat Broth* (TB) dan *Bismuth Sulphur Agar* (BSA) sebagai media selektif untuk mengisolasi *Salmonella*.

Data yang sudah terkumpul selanjutnya dianalisis menggunakan program SPSS. Jumlah total mikrob diuji menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan diuji lanjut dengan uji *Mann-Whitney*.

HASIL

Total Plate Count (TPC)

Tabel 2. Hasil Uji Total Plate Count (TPC) MP-ASI Bubur Instan

Lama Penyimpanan	n	Median (minimum-maksimum)	Mean ± SD (cfu/g)	p*
0 minggu	12	13.00 (11.50 – 15.00)	13.16 ± 1.75 ^d	<0.05
1 minggu	12	33.00 (33.00 – 41.50)	35.83 ± 4.90 ^c	
2 minggu	12	83.00 (74.00 – 185.00)	114.00 ± 61.65 ^b	
4 minggu	12	4200.00 (3050.00 – 4650.00)	3966.66 ± 825.12 ^a	

*Uji *Kruskal-Wallis*, uji post-hoc *Mann-Whitney*

Hasil analisis Uji Total Plate Count menunjukkan bahwa ada perbedaan jumlah total mikrob pada lama penyimpanan 0 minggu, 1 minggu, 2 minggu, dan 4 minggu. Hasil Uji TPC berbeda secara signifikan pada setiap kelompok perlakuan ($p < 0.05$). Berdasarkan tabel 2, jumlah mikrob terendah terdapat pada lama penyimpanan 0 minggu sedangkan jumlah mikrob tertinggi terdapat pada lama penyimpanan 4 minggu. Semakin lama masa penyimpanannya, jumlah total mikroba pada MP-ASI bubuk instan juga semakin meningkat.

Identifikasi *Salmonella sp.*

Tabel 3. Hasil Uji Identifikasi *Salmonella* MP-ASI Bubur Instan

Lama Penyimpanan	Hasil Identifikasi <i>Salmonella</i> (-/+)
0 minggu	Negative
1 minggu	Negative
2 minggu	Negative
4 minggu	Negative

Hasil uji identifikasi *Salmonella* menyatakan bahwa pada masa penyimpanan MP-ASI bubuk instan selama 0 minggu, 1 minggu, 2 minggu, dan 4 minggu tidak ada *Salmonella* yang terdeteksi. Hal tersebut sudah sesuai dengan persyaratan SNI 01-7111.4-2005 dan Keputusan Menteri Kesehatan RI tentang Spesifikasi Teknis MP-ASI yang menyatakan bahwa dalam suatu MP-ASI bubuk instan tidak boleh terdapat cemaran *Salmonella sp.*^{3,4}

PEMBAHASAN

Total Plate Count (TPC)

Hasil uji laboratorium pada MP-ASI bubuk instan menunjukkan bahwa jumlah total mikrob meningkat seiring dengan lamanya masa penyimpanan. Perbedaan secara nyata terlihat pada seluruh perlakuan. Jumlah total mikrob tertinggi terdapat pada masa penyimpanan 4 minggu, yaitu 3966.66 cfu/g. Secara keseluruhan,

jumlah total mikrob yang ada pada MP-ASI bubur instan berkisar antara 13.16 – 3966.66 cfu/g selama 4 minggu masa penyimpanan.

Uji TPC atau Angka Lempeng Total adalah suatu metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikrob secara keseluruhan yang ada pada suatu sampel. Metode ini menggambarkan distribusi dan kualitas mikrobiologi pada bahan pangan. Nilai TPC pada bahan pangan mengindikasikan banyaknya jumlah mikrob yang meliputi kapang, khamir, dan jamur. Sehingga semakin tinggi nilai TPC, semakin rendah pula kualitas suatu bahan makanan.¹²

Uji ini menggunakan media padat dengan cara tuang, tetes, dan sebar. Hasil akhir yang didapat berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung. Interpretasi hasil uji tersebut berupa angka dalam koloni (cfu) per ml/g atau koloni/100 ml. Menurut persyaratan dari SNI 01-7111.4-2005 dan Keputusan Menteri Kesehatan RI tentang Spesifikasi Teknis MP-ASI, jumlah mikroorganisme yang terkandung dalam MP-ASI bubur instan tidak boleh lebih dari $1,0 \times 10^4$ koloni/g.^{3,4} Hasil uji TPC pada MP-ASI bubur instan menunjukkan bahwa semakin lama masa penyimpanan, jumlah cemaran mikroorganisme pada MP-ASI bubur instan pun akan semakin meningkat.

Mikroorganisme yang terdeteksi oleh uji TPC bisa berupa bakteri, kapang, maupun khamir. Jenis mikroorganisme atau mikrob yang biasa terdapat pada makanan berupa serbuk adalah kapang. Penyebab meningkatnya jumlah mikroorganisme pada MP-ASI bubur instan bisa disebabkan oleh adanya kapang. Kapang adalah suatu mikroorganisme yang termasuk ke dalam golongan fungi. Kapang biasa ditemukan pada makanan kering. Makanan yang mempunyai Aw rendah rentan terkena kontaminasi kapang.⁶ Aw (*activity water*) atau aktivitas air adalah jumlah air bebas yang tersedia dan dapat digunakan untuk pertumbuhan mikrob dalam makanan, dimana setiap mikroorganisme membutuhkan jumlah air yang berbeda untuk pertumbuhannya.

Selain Aw, pH, kandungan zat gizi bahan pangan, suhu penyimpanan dan pengolahan, ketersediaan oksigen pada makanan tersebut juga bisa menjadi penyebab

tumbuhnya mikrob pada makanan. Proses pengemasan yang tidak benar akan menyebabkan masuknya kapang dari udara yang mengandung spora kapang pada saat pengolahan maupun dari plastik pembungkus makanan itu sendiri.¹² Kemasan MP-ASI bubuk instan yang tidak sesuai bisa membuat mikrob berkembang dengan baik karena adanya udara di dalam kemasan tersebut. Adanya peningkatan jumlah mikrob juga bisa berasal dari alat pengolahan sampai bahan baku MP-ASI bubuk instan itu sendiri. Alat-alat yang digunakan untuk mengolah MP-ASI bubuk instan harus bersih dan steril. Orang yang mengolahnya pun harus menjaga kebersihan agar tidak mencemari MPASI bubuk instan yang diolahnya.

Makanan yang tercemar mikrob berisiko lebih cepat basi dan mempengaruhi mutu organoleptiknya. Selain itu makanan yang tercemar mikrob juga bisa menyebabkan masalah kesehatan pada orang yang mengonsumsinya. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh kontaminasi mikrob pada makanan dan sering terjadi pada balita adalah diare dan tifus.^{13,14}

Menurut hasil uji laboratorium, MP-ASI bubuk instan dengan substitusi tepung ikan gabus dan tepung labu kuning tersebut masih tergolong aman karena tidak melewati batas maksimum jumlah mikrob yang telah ditetapkan oleh Kementerian Kesehatan RI. Lama penyimpanan yang aman bagi MP-ASI bubuk instan adalah 1 bulan, karena jika disimpan lebih dari 1 bulan, dikhawatirkan aktivitas mikrob akan semakin meningkat dan jumlah mikrob pun juga akan semakin bertambah banyak.

Identifikasi *Salmonella sp.*

Hasil uji laboratorium pada MP-ASI bubuk instan menunjukkan bahwa tidak ada cemaran *Salmonella sp.* pada lama penyimpanan 0 sampai 4 minggu. Proses pengolahan MP-ASI bubuk instan yang melalui proses 2x pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C menjadi salah satu faktor penyebab tidak adanya cemaran *Salmonella sp.* Pengeringan tahap pertama adalah pengeringan ikan gabus dan labu kuning. Setelah semua bahan dicampur, dilakukan proses pengeringan kedua untuk

mematangkan MP-ASI bubuk instan. Masing-masing pengeringan dilakukan pada suhu 50°C. Batas temperature untuk pertumbuhan *Salmonella sp* adalah <4°C°C dengan suhu optimal 37-45°C. Ketahanan panas *Salmonella sp* juga tergantung pada pH dan Aw makanan. Kandungan laktosa pada susu skim yang terdapat di dalam MP-ASI bubuk instan juga menjadi salah satu faktor penyebab negatifnya cemaran *Salmonella*. Selain itu, faktor kebersihan selama proses pembuatan MPASI bubuk instan yang selalu terjaga juga membuat *Salmonella* tidak bisa berkembang biak.^{6,7,15}

Salmonella erat kaitannya dengan kebersihan, baik kebersihan lingkungan maupun diri sendiri. Habitat *Salmonella* adalah saluran pencernaan pada hewan seperti pada burung, reptil, hewan ternak, bahkan manusia. Mikroorganisme tersebut diekskresi dalam feses, kemudian akan berpindah ke hewan lain seperti serangga. *Salmonella* juga bisa ditemukan pada air, khususnya air yang sudah tercemar oleh berbagai polusi. Ketika air dan makanan yang terkontaminasi *Salmonella* termakan oleh hewan dan manusia, *Salmonella* akan ikut berpindah dan berkembang di dalam media yang baru. Oleh karena itu, *Salmonella* merupakan salah satu bakteri yang menyebabkan *foodborne disease* atau penyakit yang disebabkan oleh makanan yang kurang bersih.^{6,15}

Adanya *Salmonella sp.* dalam makanan dianggap membahayakan kesehatan. Kurang bersihnya lingkungan tempat tinggal juga menjadi salah satu faktor pemicu perkembangbiakan *Salmonella sp.* Lingkungan yang kurang bersih membuat makanan yang dikonsumsi pun kurang terjaga kebersihannya sehingga balita menjadi rentan terinfeksi oleh kuman dan bakteri patogen seperti *Salmonella sp.* Penyakit yang disebabkan oleh adanya kontaminasi *Salmonella* antara lain yaitu tifus, diare, dan *enterocolitis*.^{5,6,7,15}

Uji identifikasi *Salmonella* merupakan suatu metode kualitatif yang berguna untuk melihat cemaran *Salmonella* di dalam makanan. Pada uji ini dilakukan tahap pengkayaan sel mikrob dengan menggunakan media cair agar bakteri bisa tumbuh pada media pengkaya dan ditambahkan inhibitor untuk mencegah tumbuhnya bakteri

lain. Tahap pengkayaan ini berfungsi untuk menguatkan bakteri yang melemah yang disebabkan oleh proses pengolahan makanan.

Kewaspadaan dan ketelitian dalam proses pengolahan MPASI bubur instan harus diperhatikan meskipun uji laboratorium menunjukkan hasil negatif. Tidak hanya alat yang digunakan dalam mengolah makanan saja, bahan baku yang digunakan dalam pembuatan MP-ASI bubur instan khususnya ikan gabus juga harus diperhatikan kesegaran dan kebersihannya. Bahan baku yang buruk dapat menyebabkan meningkatnya aktivitas pertumbuhan mikrob dan kontaminasi bakteri patogen.

SIMPULAN

Terdapat peningkatan jumlah mikrob pada masa penyimpanan MPASI bubur instan selama 0-4 minggu. Semakin lama masa penyimpanan, semakin banyak jumlah mikrob yang terdapat pada MP-ASI bubur instan. Tidak ditemukan adanya cemaran *Salmonella* pada MP-ASI bubur instan dengan substitusi tepung ikan gabus dan tepung labu kuning.

Tidak adanya cemaran *Salmonella* disebabkan oleh proses pengolahan yang menggunakan 2x pengeringan, penggunaan susu skim, serta pH dan Aw MP-ASI yang masih termasuk ke dalam batas aman dari kontaminasi *Salmonella*. Kebersihan yang terjaga selama proses pembuatan MPASI bubur instan juga menghambat perkembangbiakan *Salmonella*. Masa penyimpanan yang dianjurkan untuk MP-ASI bubur instan dengan substitusi tepung ikan gabus dan tepung labu kuning adalah 1 bulan.

SARAN

Perlu diperhatikan lagi proses pembuatan, penyimpanan bahan, jenis kemasan serta petunjuk tentang saran penyimpanan yang baik dan benar pada MP-ASI bubur instan dengan substitusi tepung ikan gabus dan tepung labu kuning agar sesuai

dengan persyaratan yang ada serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang cemaran bakteri patogen lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan penyertaan-Nya kepada penulis selama proses menyelesaikan karya tulis ini. Terima kasih juga ditujukan kepada pembimbing dan penguji skripsi atas bimbingan dan saran yang telah diberikan untuk menyelesaikan karya tulis ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sugiharto E & Ayustaningwarno F. Kandungan Zat Gizi dan Tingkat Kesukaan Roti Manis Substitusi Tepung Spirulina Sebagai Alternatif Makanan Tambahan Anak Gizi Kurang. *Journal of Nutrition College*. 2014;3(4):911-917.
2. Suhardjo. Pemberian Makanan Pada Bayi dan Anak. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. 1992.
3. Badan Standarisasi Nasional. Standar Nasional Indonesia: Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan. Jakarta: BSN. 2009.
4. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 224/Menkes/SK/II/2007 Tentang Spesifikasi Teknis Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI). Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. 2007.
5. Badan POM RI. Info POM: Pengujian Mikrobiologi Pangan. Jakarta: Badan POM RI. 2008.
6. Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. *Modern Food Microbiology Seventh Edition*. USA:Springer. 2005.
7. Pratiwi LE & Noer ER. Analisis Mutu Mikrobiologi dan Uji Viskositas Formula Enteral Berbasis Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) dan Telur Bebek. *Journal of Nutrition College*. 2014;3(4): 951-957.
8. Sudarto, Yudo. *Budidaya Waluh*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. 1993.

9. Mustafa A, Widodo M, Kristianto Y. Albumin and Zinc Content of Snakehead Fish (*Channa striata*) Extract and Its Role in Health. International Journal of Science and Technology. 2012;1(2):1-8.
10. Gam L, Leow C, Baie S. Amino Acid Composition of Snakehead Fish (*Channa striata*) of Various Sizes Obtained at Different Times of The Year. Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2005;3(2):19-30.
11. Sarbini D, Rahmawaty S, Kurnia P. Uji Fisik, Organoleptik, dan Kandungan Zat Gizi Biskuit Tempe-Bekatul dengan Fortifikasi Fe dan Zn untuk Anak Kurang Gizi. Jurnal Penelitian Sains & Teknologi. 2009;10(1):18-26.
12. Zaki, Ibnu. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Mikrobiologi Biskuit Bayi dengan Substitusi Tepung Labu Kuning (*Cucurbita moschata*) dan Tepung Ikan Patin (*Pangasius spp*) sebagai MP-ASI. (Skripsi). Semarang: Universitas Diponegoro. 2011.
13. Steinhäuserova I & Borilova G. New Trends Towards More Effective Food Safety Control. Procedia Food Science. 2015;5: 274-277.
14. Gram L, Ravn L, Rasch M, Bruhn JB, Christensen AB, & Givskov M. Food Spoilage – Interactions Between Food Spoilage Bacteria. International Journal of Food Microbiology. 2002;78: 79-97.
15. Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers Second Edition. Washington:ASM Press. 2001.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Pengujian TPC (*Total Plate Count*)

A. Prosedur

1. Satu gram sampel 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. Buat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan seterusnya dengan cara yang sama seperti pada poin dua.
4. Selanjutnya sebanyak satu ml suspensi dari setiap pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri secara duplo.
5. Tambahkan 10 ml sampai dengan 15 ml PCA yang sudah didinginkan hingga temperature 45°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 temperature 34°C sampai dengan 37°C selama 24 jam sampai dengan 28 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik.

B. Penghitungan Jumlah Koloni

Hitung 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 per cawan 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 2. Prosedur Pengujian Identifikasi *Salmonella sp.*

A. Tahap Pra Pengkayaan

Metode ini didasarkan pada analisa 25 g atau 225 ml sampel dengan perbandingan 1:9 untuk sampel dan media pengkayaan (*lactose broth/LB*). Sampel yang akan diuji dimasukkan dalam wadah atau plastic stomacher steril dan ditambahkan 225 ml larutan LB. homogenkan sampel selama 2 menit untuk dianalisa. Secara aseptis, pindahkan larutan sampel dalam wadah steril yang sesuai. Inkubasi 24 jam \pm 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Lanjutkan pengujian sesuai prosedur.

B. Tahap Pengkayaan

Kencangkan tutup wadah dan kocok perlahan sampel yang diinkubasi. Pindahkan 1 ml larutan sampel ke dalam masing-masing 10 ml SCB dan 10 ml TTB (*Tetrathionate Broth*). Inkubasi selama 24 jam \pm 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (inkubator).

C. Tahap Isolasi

Kocok tabung dengan vortex dan dengan menggunakan jarum loop 3 mm gores TTB yang diinkubasi ke dalam media HE (*Hectoen Enteri*), XLD, dan BSA (*Bismuth Sulphite Agar*). Siapkan BSA sehari sebelum digunakan dan simpan di tempat gelap pada suhu ruang. Gores ke dalam media yang sama dari RV *Broth* atau SCB. Inkubasi cawan BSA, HE, dan XLD selama 24 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Amati kemungkinan adanya koloni *Salmonella*.

D. Pengamatan Morfologi *Salmonella*

Ambil 2 atau lebih koloni *Salmonella* dari masing-masing media Agar selektif setelah 24 jam \pm 2 jam inkubasi. Koloni-koloni *Salmonella* yang khas adalah sebagai berikut:

1. Pada HE Agar, koloni hijau kebiruan sampai biru dengan atau tanpa inti hitam. umumnya kultur *Salmonella* membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat atau hampir seluruh koloni terlihat berwarna hitam.
2. Pada XLD Agar, koloni merah jambu dengan atau tanpa inti hitam. umumnya kultur *Salmonella* membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat atau hampir seluruh koloni terlihat berwarna hitam.
3. Pada BSA, koloni coklat, abu-abu, atau hitam, kadang-kadang metalik. Biasanya media di sekitar koloni pada awalnya berwarna coklat, kemudian berubah menjadi hitam (*halo effect*) dengan makin lamanya waktu inkubasi.
4. Ambil secara hati-hati bagian tengah koloni dengan menggunakan jarum inokulasi steril dan goreskan ke permukaan media TSI Agar dengan cara menggores Agar miring dan menusuk Agar tegak. Tanpa mengambil koloni baru, gunakan jarum yang sama untuk menggores media LIA dengan cara menusuk Agar tegak lebih dahulu, setelah itu goreskan pada Agar miring.
5. Inkubasi TSI dan LIA selama 24 jam \pm 2 jam pada suhu 35°C \pm 1°C dengan membiarkan tutup sedikit kendur untuk mencegah terbentuknya H₂S yang berlebihan. Pada TSI, kultur *Salmonella* yang khas memberikan reaksi alkalin (merah) dan asam (kuning) pada tusukan Agar tegak, dengan atau tanpa H₂S (warna kehitaman pada Agar). Pada LIA, kultur *Salmonella* yang khas memberikan reaksi alkalin (ungu) pada keseluruhan tabung. Reaksi yang benar-benar kuning pada tusukan dinyatakan sebagai kultur negatif. Jangan hanya melihat diskolorisasi pada tusukan untuk menyatakan kultur negatif. Umumnya kultur *Salmonella* membentuk H₂S pada LIA. Beberapa kultur non *Salmonella* membentuk reaksi merah bata pada Agar miring LIA.

E. Identifikasi *Salmonella*

1. Uji Urease

Pindahkan 1 ose penuh dari TSI Agar miring ke dalam *Urea Broth*. Inkubasikan selama 24 jam \pm 2 jam pada suhu 35°C \pm 1°C.

2. Uji Biokimia

a. *Purple Broth base* dengan 0,5% *Dulcitol*

Pindahkan 1 ose dari TSI ke dalam media *Dulcitol Broth*. Kendorkan tutupnya dan inkubasi selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu 35°C \pm 1°C, tetapi amati setelah 24 jam. Pada umumnya *Salmonella* memberikan hasil positif, ditandai dengan pembentukan gas dalam tabung durham dan pH asam (kuning) pada media. Reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gas pada tabung durham dan warna ungu (*bromocresol purple* sebagai indikator) pada seluruh media.

b. *Tryptone Broth*

Pindahkan 1 ose dari TSI ke dalam media *Tryptone Broth*. Inkubasi selama 24 jam \pm 2 jam pada suhu 35°C \pm 1°C dan selanjutnya ikuti prosedur di bawah ini:

♣ *Potassium Cyanida (KCN) Broth*

Pindahkan 1 ose dari TB 24 jam ke dalam media KCN Broth. Tutup tabung rapat-rapat dan lapiasi dengan kertas paraffin. Inkubasikan selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu 35°C \pm 1°C, tetapi amati setelah 24 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan (ditandai dengan adanya kekeruhan). Umumnya *Salmonella* tidak tumbuh pada media ini yang ditandai dengan tidak terjadinya kekeruhan.

♣ *Malonate Broth*

Pindahkan 1 ose dari TB 24 jam ke dalam media *Malonate Broth*. Inkubasikan selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu 35°C \pm 1°C, tetapi amati setelah 24 jam. Terkadang tabung *Malonate Broth* yang tidak diinokulasi berubah menjadi biru. Oleh karena itu, gunakan *Malonate Broth* sebagai kontrol. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna menjadi biru. Umumnya *Salmonella* memberikan reaksi negatif (hijau atau tidak ada perubahan warna) pada *Broth* ini.

♣ Uji Indol

Pindahkan 5 ml TB 24 jam ke dalam tabung kosong dan tambahkan 0,2 ml-0,3 ml *Reagent Kovacs*. Amati segera setelah penambahan reagen. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan media. Umumnya *Salmonella* memberikan reaksi negatif (tidak terbentuk cincin merah pada permukaan media).

3. Uji Serologi Polyvalent Somatic

Ambil 1 ose kultur dari TSI yang telah diinkubasikan selama 24 jam-48 jam dan letakkan di atas gelas preparat. Kemudian tetesi dengan larutan *saline* 0,85% steril dan emulsikan. Letakkan 1 tetes *Salmonella Polyvalent Somatic Antiserum* di samping suspensi koloni. Campurkan koloni *Antiserum* sedikit demi sedikit dengan suspensi koloni sampai tercampur sempurna. Lakukan kontrol dengan menggunakan larutan *saline* dan *Antiserum*. Miringkan campuran tersebut ke kiri dan ke kanan, amati segera pada latar belakang yang gelap. Amati hasil uji sebagai berikut:

- a. Positif, apabila terjadi penggumpalan pada larutan kultur dan tidak terjadi penggumpalan pada larutan kontrol.
- b. Negatif, apabila tidak terjadi penggumpalan baik pada larutan kultur maupun larutan kontrol.

4. Uji Biokimia Tambahan

Lakukan uji biokimia tambahan jika pada biakan tidak dapat diklasifikasikan sebagai *Salmonella sp.*

a. *Purple Lactose Broth*

Pindahkan 1 ose dari TSI Agar miring yang telah diinkubasi selama 24 jam-48 jam ke dalam *phenol red lactose* atau *purple lactose broth*. Inkubasikan selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, tetapi amati setelah 24 jam. Positif, apabila terjadi pembentukan asam (kuning) dan gas pada tabung durham. Apabila hanya terjadi pembentukan asam, maka dapat dinyatakan positif. Umumnya *Salmonella* memberikan hasil negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gas pada tabung durham dan

warna merah (*phenol red* sebagai indikator) atau ungu (*bromcresol purple* sebagai indikator) pada seluruh media.

b. *Purple Sucrose Broth*

Pindahkan 1 ose dari TSI Agar miring yang telah diinkubasi selama 24 jam-48 jam ke dalam *phenol red sucrose* atau *purple sucrose broth*. Inkubasikan selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, tetapi amati setelah 24 jam. Positif, apabila terjadi pembentukan asam (kuning) dan gas pada tabung durham. Apabila hanya terjadi pembentukan asam, maka dapat dinyatakan positif. Umumnya *Salmonella* memberikan hasil negatif, ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gas pada tabung durham dan warna merah (*phenol red* sebagai indikator) dan ungu (*bromcresol purple* sebagai indikator) pada seluruh media.

c. Medium *MR-VP*

Pindahkan 1 ose dari TSI Agar miring yang telah diinkubasi selama 24 jam-48 jam ke dalam media *MR-VP* dan inkubasikan selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

♣ Lakukan Uji *VP*

Pindahkan 1 ml *MR-VP Broth* yang telah diinkubasi selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ke dalam tabung reaksi steril dan inkubasikan kembali *MR-VP Broth* selama 48 jam \pm 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ untuk pengujian *Methyl Red*. Tambahkan 0,6 ml *Alpha Alphanaphthol* dan kocok. Tambahkan 0,2 ml larutan 40% KOH dan kocok kembali. Untuk mempercepat reaksi tambahkan sedikit *Kristal Kreatin*, dan amati hasilnya setelah 4 jam. Perubahan warna menjadi merah muda eosin sampai merah muda delima pada media menunjukkan reaksi positif. Umumnya *Salmonella* memberikan reaksi *VP* negatif.

♣ Lakukan Uji *MR*

Tambahkan 5-6 tetes indikator *Methyl Red* ke dalam media *MR-VP* yang telah diinkubasi selama 96 jam. Amati hasilnya dengan segera. Umumnya *Salmonella* memberikan reaksi positif, ditandai dengan terjadinya difusi warna merah pada media. Terjadinya warna kuning menunjukkan reaksi negatif.

d. *Simmon Citrat Agar*

Pindahkan 1 ose dari TSI Agar miring ke dalam media *Simmon Citrat Agar* miring dengan cara menggores agar miring dan menusuk agar tegak, inkubasikan selama 96 jam \pm 2 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Positif, jika terjadi pertumbuhan yang biasanya diikuti dengan perubahan warna dari hijau menjadi biru. Umumnya *Salmonella* memberikan hasil *citrate* positif. Negatif, jika tidak ada atau sedikit sekali pertumbuhan dan tidak terjadi perubahan warna.

Lampiran 3. Hasil Analisis Jumlah Total Bakteri/TPC

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Hasil TPC	0 minggu (tanpa penyimpanan)	,204	3	.	,993	3	,843
	1 minggu	,385	3	.	,750	3	,000
	2 minggu	,359	3	.	,810	3	,140
	4 minggu	,278	3	.	,940	3	,527

a. Lilliefors Significance Correction

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Hasil TPC	0 minggu (tanpa penyimpanan)	3	2,00
	1 minggu	3	5,00
	2 minggu	3	8,00
	4 minggu	3	11,00
	Total	12	

Test Statistics^{a,b}

	Hasil TPC
Chi-Square	10,421
df	3
Asymp. Sig.	,015

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Perlakuan

Mann-Whitney Test lama penyimpanan 0 minggu – 1 minggu

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil TPC	0 minggu (tanpa penyimpanan)	3	2,00	6,00
	1 minggu	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Hasil TPC
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test lama penyimpanan 0 minggu – 2 minggu

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil TPC	0 minggu (tanpa penyimpanan)	3	2,00	6,00
	2 minggu	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Hasil TPC
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test lama penyimpanan 0 minggu – 4 minggu

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil TPC	0 minggu (tanpa penyimpanan)	3	2,00	6,00
	4 minggu	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Hasil TPC
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test lama penyimpanan 1 minggu – 2 minggu

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil TPC	1 minggu	3	2,00	6,00
	2 minggu	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Hasil TPC
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test lama penyimpanan 1 minggu – 4 minggu

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil TPC	1 minggu	3	2,00	6,00
	4 minggu	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Hasil TPC
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney Test lama penyimpanan 2 minggu – 4 minggu

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Hasil TPC	2 minggu	3	2,00	6,00
	4 minggu	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	Hasil TPC
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: Perlakuan

b. Not corrected for ties.