

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan uji cemaran mikroba dengan metode ALT menggunakan sampel tepung dan pati Pisang Kepok (*Musa paradisiaca L.*). tepung dan pati Pisang Kepok ini merupakan formulasi dibuat secara sederhana atau tradisional yang diproduksi oleh UMKM Sidod di Desa Sidodadi, Kecamatan Gedangan, Kabupaten Malang. Sebelum diolah, daging pisang yang sudah dicuci, dikeringkan, dan dihaluskan menjadi tepung kemudian digunakan sebagai sampel dalam penelitian. Untuk sampel pati sendiri, memiliki proses yang dimulai dengan perendaman tepung dalam air dan pergantian air beberapa kali untuk memisahkan pati dari komponen lainnya. Pati yang larut dalam air akan mengendap setelah beberapa kali pergantian air. Setelah endapan pati terkumpul, pati tersebut diambil dan dikeringkan untuk mendapatkan pati sebagai sampel penelitian. Selama proses pembuatan, tepung dan pati dilakukan di ruangan tertutup, dijemur di tempat terbuka, sumber air yang digunakan berasal dari sumur dan bahan baku yang digunakan juga sudah dicuci hingga bersih. Meskipun selama proses produksi tersebut dilakukan dengan dijaga kebersihannya, tidak menutup kemungkinan terdapat potensi cemaran mikrobiologi yang mungkin timbul pada produk tepung dan pati Pisang Kepok. Dengan begitu, perlu dilakukan pengujian secara mikrobiologi, untuk mengetahui cemaran selama proses pembuatan tepung dan pati Pisang Kepok dengan metode ALT.

Peneliti mengambil sampel tepung dan pati Pisang Kepok yang diproduksi pada bulan Mei 2024, lalu diuji satu bulan setelah proses produksi. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara homogenisasi, yaitu mencampurkan sampel secara merata untuk memastikan representativitas sampel yang diambil. Prosedur analisis yang dilakukan sudah mencakup serangkaian langkah untuk memastikan keakuratan dan ketepatan dalam penelitian mikrobiologi yang mengacu pada SNI ISO 7218 tahun 2012 Amandemen tahun 2017 tentang persyaratan umum dan pendoman untuk pengujian mikrobiologi bahan pangan dan pakan. Dimulai dengan, sterilisasi alat menggunakan oven pada suhu 170°C selama 1 jam 30 menit efektif membunuh mikroorganisme dan memastikan

kebersihan peralatan untuk digunakan dalam prosedur yang memerlukan kondisi steril. Selanjutnya, pembuatan larutan BPW (*Buffered Peptone Water*) merupakan media yang digunakan untuk mempersiapkan sampel mikrobiologi sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut. Larutan BPW awalnya memiliki pH sekitar 11, yang kemudian diturunkan secara bertahap dengan penambahan HCl 2N (asam) untuk menurunkan pH. Sementara, jika pH terlalu rendah larutan NaOH 1N (alkali) digunakan untuk menaikannya. Setelah itu, pH larutan harus pada kisaran $7,0 \pm 0,2$ untuk menciptakan kondisi yang ideal bagi pertumbuhan mikroorganisme.

Pembuatan media *Plate Count Agar* (PCA) dimulai dengan menimbang serbuk PCA sebanyak 26,25 gram dilarutkan dalam 1500 mL aquades steril, media tersebut digunakan untuk menyiapkan sejumlah 86 cawan petri dengan masing-masing cawan petri tersebut berisi 15 mL media. Larutan tersebut kemudian diaduk menggunakan stirrer untuk memastikan serbuk PCA tercampur secara merata dalam air. Proses ini diikuti dengan pemanasan larutan hingga mencapai suhu yang cukup untuk memastikan homogenitas, yang ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi kuning bening. Setelah itu, media PCA dan Larutan BPW dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk memastikan bahwa semua mikroorganisme pada alat dan media yang digunakan dapat mati dan tidak mengkontaminasi hasil uji penelitian. Setelah proses sterilisasi, didinginkan media hingga suhu berkisar antara $44\text{-}47^{\circ}\text{C}$, agar tidak terjadi kerusakan pada media tersebut. Pendinginan ini juga bertujuan untuk mencegah terbentuknya kondensasi yang dapat mengganggu kualitas media agar. Proses ini dilakukan dengan hati-hati agar media tetap steril dan siap digunakan dalam penelitian mikrobiologi tanpa resiko kontaminasi.

Pada penelitian ini digunakan pengenceran bertingkat. Teknik ini, untuk menentukan konsentrasi mikroorganisme dalam sampel dengan cara mengencerkan sampel secara bertahap. Prosedur ini dilakukan dengan menambahkan sejumlah larutan pengencer BPW ke dalam sampel dan kemudian kocoknya menggunakan vortex selama 10 detik untuk memastikan homogenitas. Setiap tahap pengenceran bertujuan untuk menghasilkan konsentrasi mikroorganisme yang cukup rendah, sehingga koloni yang terbentuk

pada media pertumbuhan dapat dihitung secara akurat. Dalam penelitian pendahuluan, pengenceran dilakukan pada rentang 10^{-1} hingga 10^{-6} , namun hasil pertumbuhan mikroba yang tinggi menyebabkan jumlah koloni yang terbentuk terlalu banyak sehingga tidak dapat dihitung dengan akurat. Sedangkan dalam penelitian ini, inokulasi dilakukan pada tingkat pengenceran antara 10^{-5} hingga 10^{-11} , di mana pada konsentrasi tersebut jumlah koloni yang terbentuk cukup memungkinkan untuk dihitung secara tepat dengan hasil pertumbuhan koloni yang tidak terlalu tinggi serta tanpa terjadi tumpang tindih antar koloni.

Proses inokulasi dilakukan aseptis di *laminar air flow* untuk menghindari kontaminasi silang. Setelah inokulasi, cawan petri yang berisi media dan sampel kemudian diinkubasi pada waktu beserta suhu yang sesuai yaitu pada waktu inkubasi selama 72 ± 3 jam pada suhu $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dipilih untuk memungkinkan proliferasi mikroorganisme dalam sampel yang dianalisis. Waktu inkubasi ini cukup untuk memastikan perkembangan koloni mikroba yang awalnya tersebar atau dalam ukuran kecil dapat berkembang menjadi bentuk yang terhitung dengan jelas. Inkubasi yang terlalu singkat dapat mengakibatkan koloni yang belum terbentuk sepenuhnya, sementara inkubasi yang terlalu lama berisiko menyebabkan interaksi antar koloni yang mengarah pada tumpang tindih atau lisis, sehingga mempengaruhi akurasi estimasi jumlah koloni.

Produk tepung dan pati Pisang Kepok belum memiliki peraturan mutu yang spesifik mengenai batas cemaran mikroba, terutama terkait dengan ALT. Berdasarkan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) No. 13 Tahun 2019 mengenai batas cemaran mikroba pada pangan olahan, terdapat pedoman yang mengatur batas cemaran mikroba pada produk pangan olahan dalam kategori sereal dan produk turunannya, seperti biji sereal, akar, umbi, kacang-kacangan, dan empulur (dalam batang tanaman). Pada peraturan tersebut, tercantum bahwa produk yang termasuk dalam kategori pangan memiliki batas cemaran mikroba dengan menggunakan metode ALT maksimal 1×10^6 CFU/g. Meskipun tepung dan pati pisang kepok tidak secara eksplisit disebutkan dalam peraturan ini, kategori bahan pangan yang serupa menjadi acuan yang relevan dalam pengujian cemaran mikroba pada produk tersebut. Sebagai bahan pangan yang dihasilkan dari proses pengolahan pisang kepok, tepung dan pati pisang kepok dapat berpotensi terkontaminasi mikroba selama

proses pengolahan, penyimpanan, atau distribusi. Oleh karena itu, penting untuk mengetahui batas cemaran mikroba yang diperbolehkan dalam produk tersebut agar dapat memastikan kualitas dan keamanan produk yang dikonsumsi oleh masyarakat. Batas ini diambil sebagai pedoman dalam pengujian mikroba karena penting untuk menghindari potensi resiko kesehatan yang dapat timbul akibat konsumsi produk yang terkontaminasi mikroba dalam jumlah tinggi.

Tabel 4. 1 Tabel data pengamatan jumlah koloni

Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni					
		Replikasi 1		Replikasi 2		Replikasi 3	
		A	B	A	B	A	B
Tepung Pisang Kepok	10 ⁻⁵	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
	10 ⁻⁶	65	48	92	68	100	120
	10 ⁻⁷	38	31	22	68	60	104
	10 ⁻⁸	18	0	17	5	11	0
	10 ⁻⁹	14	5	3	4	8	4
	10 ⁻¹⁰	20	22	28	55	29	31
	10 ⁻¹¹	17	37	57	58	125	89
Pati Pisang Kepok	10 ⁻⁵	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD
	10 ⁻⁶	184	160	67	93	83	58
	10 ⁻⁷	23	6	14	21	19	17
	10 ⁻⁸	26	20	12	13	18	15
	10 ⁻⁹	25	21	19	13	30	39
	10 ⁻¹⁰	24	31	25	35	38	39
	10 ⁻¹¹	35	28	9	7	TBUD	TBUD
Blanko (Media + Larutan BPW)		63	63	5	5	13	13
Blanko (Media)		0	0	0	0	0	0

Dari Tabel 4.1 dapat dilihat hasil pengujian yang dilakukan pada rentang pengenceran 10⁻⁶ dan 10⁻⁷ sampel tepung dan pati Pisang Kepok, bahwa semakin tinggi tingkat pengenceran semakin sedikit jumlah koloni yang tumbuh pada setiap cawan petri. Hal ini sesuai dengan prinsip dasar pengujian mikrobiologi yang menunjukkan bahwa jumlah mikroorganisme dalam sampel akan semakin berkurang seiring dengan peningkatan pengenceran. Sesuai dengan SNI ISO 7218 tahun 2012 Amandemen tahun 2017 tentang persyaratan umum dan pedoman untuk pengujian mikrobiologi bahan pangan dan pakan, penghitungan koloni dilakukan dengan memperhatikan distribusi koloni pada

cawan petri, di mana koloni yang tersebar merata dihitung sebagai satu unit, dan koloni yang saling bertautan dianggap sebagai satu koloni tunggal. Sementara itu, pada pengenceran lainnya, hasil pengembangan mikroorganisme tidak sesuai dengan peraturan yang ditetapkan, kemungkinan besar disebabkan oleh homogenisasi sampel yang kurang merata, yang mengakibatkan pertumbuhan mikroorganisme yang tidak optimal atau tidak terkontrol dengan baik. Pengenceran yang dipilih untuk perhitungan ALT adalah tingkat pengenceran harus menghasilkan jumlah koloni dalam rentang 10 hingga 300 koloni serta harus tingkat pengenceran yang berurutan. Pada pengenceran 10^{-6} dan 10^{-7} memiliki hasil penghitungan koloni yang menunjukkan jumlah koloni memenuhi kriteria tersebut.

Tabel 4. 2 Tabel data hasil perhitungan ALT

Sampel Uji	Nilai ALT (CFU/g)			Rata-rata
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
Tepung Pisang Kepok	$8,3 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,7 \times 10^8$	$8,8 \times 10^7$
Pati Pisang Kepok	$1,8 \times 10^8$	$8,9 \times 10^8$	$8,4 \times 10^8$	$6,4 \times 10^8$

Berdasarkan Tabel 4.2 menunjukkan nilai perhitungan ALT hasil pengujian terhadap produk sampel tepung dan pati Pisang Kepok dengan setiap sampel diuji dalam tiga replikasi untuk memastikan keakuratan hasil dengan nilai rata-rata ALT yang melebihi batas maksimum yang telah dipersyaratkan, yaitu 1×10^6 CFU/g. Nilai ALT produk pati lebih tinggi dibandingkan Tepung Pisang Kepok yaitu kemungkinan mengindikasikan terdapat cemaran pada proses pembuatan lanjutan dari produk tepung ke pati, dengan nilai rata-rata ALT pada sampel tepung hasil penelitian sebesar $8,8 \times 10^7$ CFU/g dan pada sampel pati sebesar $6,4 \times 10^8$ CFU/g.

Pada produk pati, memiliki Nilai ALT tinggi karena memiliki kerentanannya lebih tinggi terhadap kontaminasi mikroba dibandingkan tepung, yang disebabkan oleh beberapa faktor dalam proses pengolahan. Kualitas air yang digunakan dalam proses pengolahan pati memiliki dampak signifikan terhadap kontaminasi mikroba pada produk akhir. Air yang terkontaminasi

mikroorganisme patogen dalam produk pati selama proses perendaman atau pencucian bahan baku. Mikroba ini dapat berkembang biak dalam kondisi lingkungan yang mendukung, seperti suhu yang tidak terkontrol dan kelembaban yang tinggi. Selain itu, mikroorganisme juga dapat tumbuh pada partikel organik yang terdapat dalam air, yang akan menempel pada bahan baku selama perendaman, meningkatkan potensi kontaminasi pada pati yang dihasilkan. Oleh karena itu, air yang digunakan dalam proses pengolahan pati harus memenuhi standar kualitas air yang ketat, bebas dari kontaminan mikroba.

Penyimpanan dan distribusi pati dapat berkontribusi terhadap kontaminasi mikroba. Pada kedua produk tepung dan pati Pisang Kepok menggunakan kemasan plastik, meskipun digunakan secara luas karena kepraktisannya tidak sepenuhnya kedap udara dan dapat memberikan kesempatan bagi mikroorganisme untuk berkembang biak, terutama jika kemasan tidak rapat atau terekspos kelembapan. Mikroorganisme seperti jamur atau bakteri patogen dapat tumbuh pada permukaan kedua produk tersebut jika terjadi kondensasi di dalam kemasan yang menciptakan kondisi lembap yang berpotensi menyebabkan kerusakan pada produk dan mempengaruhi kualitas organoleptik Tepung dan Pati Pisang Kepok, seperti rasa, tekstur, dan aroma. Apabila dibiarkan dapat menyebabkan peningkatan nilai ALT yang mencerminkan tingkat kerusakan mikrobiologis pada produk tersebut, dan mengindikasikan ketidaklayakan produk untuk konsumsi sesuai dengan persyaratan kualitas yang telah ditetapkan oleh BPOM.

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, nilai ALT pada sampel pati Pisang Kepok lebih tinggi dibandingkan tepung Pisang Kepok, dengan menggunakan metode tuang cawan petri.

5.2. Saran

Produk tepung dan pati Pisang Kepok memiliki potensi besar sebagai produk olahan yang dapat mendukung perekonomian masyarakat serta mendorong inovasi dalam industri olahan pangan. Disarankan agar UMKM ini meningkatkan kebersihan dan sanitasi selama proses produksi, serta melakukan pengujian mikrobiologi rutin untuk memastikan kualitas produk. Perbaikan prosedur pengolahan dan penyimpanan juga perlu dilakukan untuk mengurangi kontaminasi mikroba terutama pada produk pati. Selain itu, penelitian lebih lanjut tentang kualitas air yang digunakan dalam produksi disarankan untuk memastikan tidak ada cemaran mikroba yang mempengaruhi kualitas produk.