



INDONESIAN SCIENTIFIC SOCIETY FOR PROBIOTICS AND PREBIOTICS

**3rd INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON PROBIOTICS AND PREBIOTICS
MICROBIOME-GUTBRAIN AXIS IN HEALTH AND DISEASE
Mechanism, Function and Regulation
Jakarta, September 30 – October 1, 2013**

August 16, 2013

Prof. Dr. Clara M. Kusharto, M.Sc.
Bogor Agricultural University
Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

Dear Prof. Dr. Clara M. Kusharto, M.Sc.

On behalf of the organizer, Indonesian Scientific Society for Probiotics and Prebiotics (ISSPP), we are most pleased to inform you the acceptance of your abstract: **Characteristics of High Protein Catfish (*Clarias gariepinus*) Biscuit with Cream Probiotic *Enterococcus faecium* IS-27526 in Different Types of Packaging and Storage Temperature**, to be presented as **POSTER Presentation**. Please refer to the guidelines for POSTER Presentation in the Symposium website : <http://microbiome-gutbrainaxis.com/abstract.html> for the poster size. Please make the payment of registration fee before August 25, 2013 and refer to the reg fee at the website symposium, and e-mail us the scanned receipt of payment to be included in the program and abstract book. Please keep the original receipt and hand to us at registration desk.

The Symposium will bring together a panel of international and regional experts and scientists working in the area of probiotics and prebiotics and their interaction with physiology and health, and will provide reviews and present the latest research findings.

We are convinced that your participation would contribute to the success of this event. We are looking forward to meeting you at the conference and please do not hesitate to contact us if you need any further assistance.

Sincerely yours,

Dr. Ingrid S Surono, MSc
Chairperson of Organizing Committee

Secretariat: Wisma GKBI 39th Fl. Jl. Jend. Sudirman No. 28, Jakarta 10210
Telephone: (62-21) 5799 8177; Fax: (62-21) 5799 8080
Email: dnurani@microbiome-gutbrainaxis.com
Webpage: <http://microbiome-gutbrainaxis.com>

[Characteristics of High Protein Catfish (*Clarias gariepinus*) Biscuit with Cream Probiotic *Enterococcus faecium* IS-27526 in Different Types of Packaging and Storage Temperature]

Dian Savitri, Clara M Kusharto, Budi Setiawan dan Ingrid Surono

ABSTRACT

The objectives of the study were to develop high protein catfish biscuit cream probiotic *E. faecium* IS-27526 and to do several quality assessments during storage at different temperatures (25-28 °C and 4-6 °C) and types of packaging (polypropilen and metalized plastic), in order to maintain viability of probiotic and quality of biscuit cream. The product were assessed for its water activity, moisture content, free fatty acid, peroxide value, thio barbituric acid value, viability of probiotics, total titratable acidity, total plate count, total mold and yeast, and sensory evaluation by preference test. Temperature, packaging material and storage time showed significant effect ($p < 0.05$) on moisture content, thio barbituric acid value, probiotic viability and total titratable acidity of the product. Sensory characteristics mainly taste, texture and overall acceptability were significantly affected by temperature, packaging material and storage time ($p < 0.05$). The best temperature to maintain product's qualities was cold temperature (4-6 °C). Statistically, packaging material did not contribute significant effect to several qualities of the product. However there was a tendency that product with metalized packaging has better quality in terms of moisture content, texture and overall acceptability. The product high protein catfish biscuit with cream probiotic *E. faecium* IS-27526 could contribute as much as 19.23%, 12.5%, 12.5% and 12.5% protein needed per day for children, teenager, adults and elderly respectively.

Keywords: biscuit, *Clarias gariepinus*, probiotic, *E. faecium* IS-27526, packaging, temperature, storage

PENDAHULUAN

Produk biskuit diperkaya tepung ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dan isolat protein kedelai merupakan sebuah produk pangan yang dikembangkan dengan tujuan sebagai pangan tambahan untuk balita dengan masalah KEP (Kurang Energi Protein). Produk ini dapat memenuhi target protein 20% berdasarkan AKG balita dengan jumlah konsumsi per sajian yaitu 4 keping atau 50 gr biskuit (Mervina 2012). Sebagai PMT, produk biskuit ini terbukti mampu meningkatkan status gizi dan menurunkan angka morbiditas balita status gizi kurang dan gizi buruk secara bermakna (Nugraha 2011).

Pemberian produk biskuit sebagai PMT dibarengi dengan krim pasta mengandung probiotik *Enterococcus faecium* IS-27526 merupakan upaya peningkatan manfaat produk dengan penambahan aspek fungsional probiotik dalam meningkatkan

keutuhan mukosa usus dan imunitas balita. Langkah ini terbukti mampu meningkatkan slgA secara bermakna dan memperbaiki profil mikrobiota fekal balita gizi kurang (Adi 2010).

Produk biskuit lele terbukti memiliki daya terima yang baik dan tinggi protein. Penambahan krim pasta probiotik *E. faecium* IS-27526 memberikan tambahan nilai fungsional yaitu meningkatkan kondisi pencernaan dan imunitas balita. Karena itu produk ini perlu terus dikembangkan dengan peningkatan kualitas kemasan dan kepraktisan krim probiotik (Adi 2010). Konsep 'two-in-one' yaitu krim probiotik disatukan dengan biskuit, merupakan bentuk pengembangan produk biskuit lele tinggi protein dengan krim probiotik.

Pengembangan bentuk produk perlu diikuti dengan uji viabilitas dan uji sensoris selama penyimpanan agar efikasi dan kualitas produk tetap terjaga. Menurut

Heenan (2004), kriteria yang harus diperhatikan dalam sebuah produk probiotik antara lain yaitu (i) kondisi bakteri probiotik selama proses pembuatan produk dan penyimpanan, dan (ii) hasil uji sensori produk selama penyimpanan.

Tujuan penelitian ini adalah menganalisa kualitas fisik dan kimia, kualitas mikrobiologi, dan penerimaan sensoris produk dalam dua jenis bahan pengemas (polipropilen dan *metalized*) dan dua suhu (25-28 °C dan 4-6 °C) selama masa penyimpanan 4 bulan. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai perubahan kualitas fisik dan kimia, mikrobiologi dan sensoris produk selama penyimpanan dan memberikan rekomendasi jenis bahan pengemas dan suhu penyimpanan terbaik untuk produk biskuit lele tinggi protein dengan krim probiotik *E. faecium* IS-27526.

METODE PENELITIAN

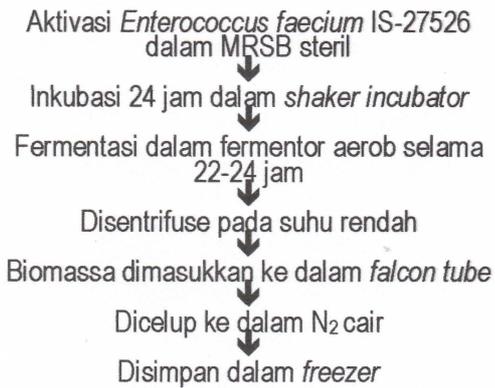
Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah biskuit diperkaya tepung ikan lele dumbo dan isolat protein kedelai hasil formulasi Mervina (2012) yang diproduksi pada skala industri rumah tangga oleh Sa'ad Bakey Depkes RI P.IRT No 206367101478. Bahan pembuatan krim probiotik (gula bubuk, mentega, butter, putih telur, biomassa probiotik *E. faecium* IS 27526), bahan-bahan untuk uji kimia (alkohol 95%, NaOH 0,1 N) dan bahan-bahan untuk uji mikrobiologi (larutan *buffer* fosfat, medium MRSB).

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian antara lain alat-alat untuk proses pembuatan krim (*blender*, timbangan analitik), alat untuk analisis kimia (*hot plate-stirrer*, alat titrasi) dan alat uji mikrobiologi (mikropipet, *laminar flow*).

Prosedur Penelitian

Pembuatan krim probiotik diawali dengan kultivasi biomassa *E. faecium* IS-27526 dalam fermentor. Biomassa akan digunakan sebagai kultur stok yang ditambahkan ke adonan krim. Tahapan produksi biomassa probiotik dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 1 Diagram alir pembuatan biomassa probiotik

Analisis yang dilakukan terhadap biomassa antara lain yaitu uji total bakteri asam laktat (BAL) dan uji kapang khamir. Jumlah BAL dalam biomassa akan menjadi dasar jumlah kultur awal yang ditambahkan ke dalam adonan krim.

Pembuatan krim probiotik menggunakan formula dasar yang dikembangkan Rieuwpassa (2006). Bahan-bahan krim dicampur sampai homogen dengan *hand-mixer* kecepatan dua. Setelah homogen, biomassa probiotik dimasukkan sedikit demi sedikit, dihomogenkan dengan *hand-mixer* selama 15 menit. Krim kemudian diaplikasikan ke biskuit sebanyak 1 gr diantara dua biskuit. Selanjutnya biskuit didiamkan sebentar sampai krim mengering, dan dikemas sesuai dengan perlakuan (polipropilen/PP dan *metalized*/MP) kemudian disimpan dalam suhu kamar (25-28 °C) dan refrigerator (4-6 °C).

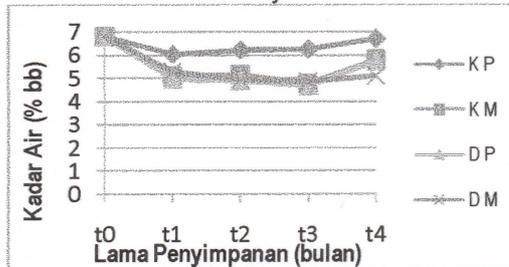
Pengolahan dan Analisis Data

Mutubiskuit krim probiotik *E. faecium* IS-27526 selama penyimpanan, dilihat melalui data uji fisik dan kimia, uji mikrobiologi dan uji sensori.

Uji fisik dan kimia meliputi uji aktivitas air, kadar air, kadar asam lemak bebas, bilangan peroksida, bilangan *thio barbituric acid* dan total asam tertitrasi. Uji mikrobiologi meliputi uji viabilitas probiotik krim (BAM 2001), angka lempeng total (SNI, 2011) dan uji kapang khamir (SNI 2011). Uji sensori

Kadar Air

Kadar air yang tinggi di awal produk (Gambar 2) disebabkan karena komponen krim yang masih basah, adonan krim probiotik yang mengandung gula icing dan putih telur lama kelamaan akan mengeras dan menurun kadar airnya.



Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized

Gambar 2 Nilai kadar air selama penyimpanan 4 bulan

Uji statistik sidik ragam menunjukkan bahwasuhu, jenis kemasan dan lama penyimpanan berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) terhadap kadar air produk selama 4 bulan. Interaksi antar faktor, baik interaksi antara suhu dengan jenis kemasan, suhu dengan lama penyimpanan, jenis kemasan dengan lama penyimpanan, dan interaksi suhu, kemasan dengan lama penyimpanan berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) terhadap kadar air produk.

Variabel kemasan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar air produk karena permeabilitas jenis kemasan PP lebih besar ($0.05 \text{ g/m}^2 \cdot \text{hari}$) dibanding jenis kemasan MP ($0.02 \text{ gr/m}^2 \cdot \text{hari}$). Hasil ini sejalan dengan penelitian Adriani (1997) pada penyimpanan biskuit diperkaya tepung daging ikan cunang. Biskuit merupakan pangan yang mengalami pemanggangan sehingga bersifat higroskopis yaitu mudah menyerap uap air dari lingkungannya. Permeabilitas kemasan yang kurang baik akan memudahkan penetrasi uap air dan gas dari luar ke dalam kemasan sehingga kadar air produk meningkat. Berdasarkan uji lanjut Duncan, kadar air biskuit KP selama penyimpanan adalah yang tertinggi dan

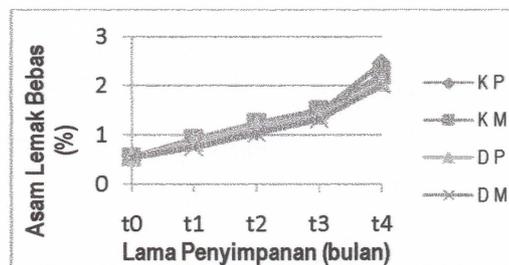
berbeda nyata ($p < 0.05$) dibandingkan biskuit penyimpanan lainnya yaitu KM, DM dan DP.

Kadar Asam Lemak Bebas

Pengukuran asam lemak bebas (ALB) digunakan untuk menilai kualitas lemak dalam produk. Produk biskuit krim probiotik *E. faecium* IS-27526 memiliki kandungan minyak yang cukup tinggi yaitu 20.35 %, karena itu selama penyimpanan produk dilakukan uji ALB untuk memantau tingkat penurunan kualitas lemak.

Nilai ALB produk selama penyimpanan menunjukkan peningkatan secara perlahan. Persyaratan kadar ALB menurut SNI (2011) pada produk biskuit adalah maksimal 1%, berdasarkan hal tersebut maka kadar ALB produk pada semua penyimpanan pada bulan ke-2 penyimpanan sudah tidak sesuai dengan persyaratan (Gambar 3). Hasil penelitian penyimpanan produk biskuit yang sama (tanpa krim probiotik), menunjukkan hasil sejalan dimana kadar ALB biskuit pada bulan ke-3 tidak memenuhi persyaratan (Rukmi 2011). Produk biskuit krim dalam penelitian ini, batas kadar ALB dicapai lebih cepat yaitu pada bulan ke-2, diduga karena adanya komponen krim yang mengandung lemak dari butter dan margarin.

Faktor jenis kemasan dan lama penyimpanan berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap nilai ALB produk selama penyimpanan 4 bulan. Interaksi yang berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap nilai ALB produk adalah interaksi antara suhu dengan jenis kemasan, dan interaksi antara jenis kemasan dengan lama penyimpanan.



Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized

Gambar 3 Nilai kadar air selama penyimpanan 4 bulan

Keberadaan asam lemak bebas biasanya dijadikan indikator awal terjadinya proses kerusakan lemak dalam sebuah produk karena proses hidrolisis. Adanya air dalam lemak akan mengakibatkan kerusakan lemak karena hidrolisis (Manley 2000).

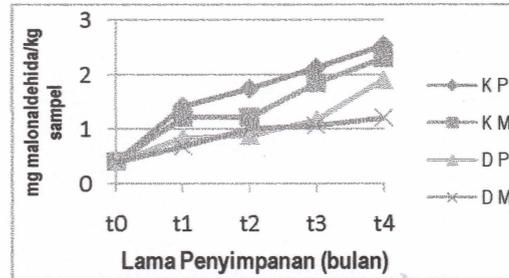
Bilangan Peroksida

Uji bilangan peroksida dilakukan untuk mengukur kadar peroksida dan hidroperoksida yang terbentuk pada tahap awal reaksi oksidasi lemak. Oksidasi lemak merupakan salah satu reaksi kimia yang menyebabkan kerusakan lemak, terutama lemak dengan kandungan asam lemak tidak jenuh yang dipicu oleh adanya oksigen atau cahaya (Kusnandar 2010). Semakin tinggi bilangan peroksida menunjukkan bahwa jumlah peroksida semakin banyak dan dapat diduga bahwa tingkat reaksi oksidasi semakin tinggi.

Pengukuran bilangan peroksida pada sampel produk dalam penelitian ini tidak menunjukkan hasil yang kemungkinan disebabkan karena angka peroksida yang sangat rendah. Angka peroksida yang rendah dapat disebabkan karena laju pembentukan peroksida baru lebih kecil dibandingkan dengan laju degradasinya menjadi senyawa lain (Rahardjo 2004). Tahap ini berlangsung cepat karena radikal peroksida akan mengambil atom oksigen pada asam lemak lainnya sehingga terbentuk radikal bebas baru dan hidroperoksida. Hidroperoksida kemudian akan segera mengalami degradasi membentuk berbagai senyawa volatil, seperti aldehida, keton dan alkohol yang menyebabkan timbulnya bau tengik (Kusnandar, 2010)

Bilangan Thio Barbituric Acid (TBA)

Bilangan TBA menunjukkan oksidasi lemak pada fase lanjut dengan terbentuknya senyawa turunan aldehid, yaitu malonaldehid. Hasil pengukuran yang diperoleh dinyatakan sebagai bilangan TBA yang bernilai setara dengan jumlah malonaldehid pada sampel.



Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized

Gambar 4 Bilangan TBA selama penyimpanan 4 bulan

Analisis statistik sidik ragam menunjukkan bahwa faktor suhu, jenis kemasan dan lama penyimpanan berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) terhadap bilangan TBA produk selama penyimpanan 4 bulan. Interaksi antara suhu dengan lama penyimpanan, suhu dengan jenis kemasan, dan interaksi suhu, jenis kemasan dengan lama penyimpanan berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) terhadap angka TBA produk.

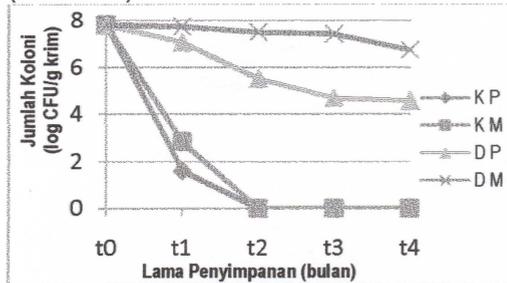
Menurut Park *et al.* (2007) suhu penyimpanan merupakan faktor yang sangat penting dalam proses oksidasi. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Fauziah (2008) pada penyimpanan kreker dengan substitusi tepung daging sapi, dimana bilangan TBA semakin meningkat dengan meningkatnya lama dan suhu penyimpanan.

Jenis kemasan mempengaruhi nilai TBA berkaitan dengan kemampuan kemasan untuk melindungi produk dari cahaya (Kusnandar 2010). Kemasan PP merupakan kemasan plastik transparan yang tembus cahaya, sedangkan jenis kemasan MP tidak tembus cahaya. Dengan terlindunginya produk dari cahaya matahari maka ketengikan oksidatif lemak dapat lebih dihambat. Uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa bilangan TBA produk KP merupakan yang tertinggi dan berbeda nyata dengan produk DM dan DP ($p < 0.05$).

Perubahan Mutu Mikrobiologi Produk Viabilitas Probiotik

Secara keseluruhan, total bakteri probiotik dalam komponene krim pada semua

perlakuan jumlahnya semakin menurun. Pada penyimpanan suhu kamar, total probiotik sudah menurun drastis mulai dari bulan ke-1. Pada penyimpanan suhu dingin viabilitas probiotik juga menurun secara perlahan (Gambar 5).



Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized

Gambar 5 Viabilitas probiotik selama penyimpanan 4 bulan

Hasil uji klinis suplementasi probiotik *E. faecium* IS-27526 pada dosis 10^8 cfu/hari selama 90 hari dapat memberikan manfaat yang signifikan (Surono *et.al* 2011). Karena itu, acuan dosis probiotik khususnya *E. faecium* IS-27526 dalam sebuah produk pangan intervensi adalah 10^8 cfu/hari. Pada bulan ke-1 produk yang disimpan pada suhu kamar sudah menurun viabilitasnya hingga 10^2 - 10^3 cfu/g krim sehingga menunjukkan bahwa stabilitas tidak dapat dipertahankan dan viabilitas probiotik dibawah acuan yang disarankan.

Berdasarkan uji statistik sidik ragam, faktor suhu, jenis kemasan dan lama penyimpanan berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) terhadap viabilitas bakteri probiotik. Interaksi yang berpengaruh nyata ($p < 0.05$) antara lain yaitu, interaksi antara suhu dengan jenis kemasan, suhu dengan lama penyimpanan, jenis kemasan dengan lama penyimpanan, dan interaksi antara suhu, jenis kemasan dan lama penyimpanan.

Pada penyimpanan suhu dingin, viabilitas probiotik lebih dapat dipertahankan yang disebabkan karena metabolisme probiotik pada penyimpanan suhu dingin ($\pm 8^\circ\text{C}$) berkurang drastis (Heller 2001). Menurut Lahtinen *et al.* (2005), bakteri probiotik pada

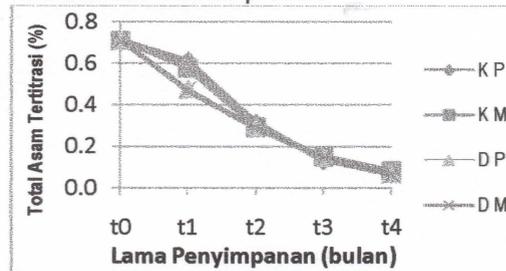
suhu dingin ($\pm 8^\circ\text{C}$) menjadi dorman dan tidak beraktivitas.

Kemasan merupakan salah satu cara untuk mencegah kelembaban lingkungan masuk ke dalam produk (Talwalkar, 2004). Peningkatan kelembaban dan kadar air produk berpengaruh buruk terhadap viabilitas probiotik, diduga karena tekanan osmotik akibat adanya molekul air yg lebih kecil dari bakteri (Mugnier dan Jung, 1985).

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa viabilitas probiotik dalam biskuit yang disimpan di suhu kamar lebih rendah dan berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan viabilitas probiotik biskuit di suhu dingin.

Total Asam Titrasi

Pengukuran total asam tertitrasi (TAT) dilakukan pada komponen krim probiotik untuk mengukur total konsentrasi asam dalam produk yang dapat mempengaruhi cita rasa, warna, kestabilan mikroba dan kualitas produk.



Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized

Gambar 6 Nilai TAT selama penyimpanan 4 bulan

Hasil uji statistik sidik ragam menunjukkan bahwa faktor suhu, jenis kemasan dan lama penyimpanan berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) terhadap total asam dari krim. Interaksi antara suhu dengan lama penyimpanan, serta antara jenis kemasan dengan lama penyimpanan berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) terhadap nilai total asam krim produk.

Nilai TAT komponen krim produk pada semua penyimpanan menunjukkan kecenderungan yang menurun (Gambar 6).Keasaman produk disebabkan oleh adanya kandungan asam organik yang

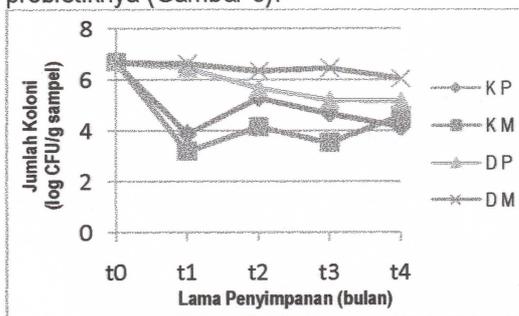
dihasilkan mikroba. Bakteri *E. faecium* IS-27526, merupakan bakteri asam laktat yang menghasilkan asam sebagai hasil proses metabolismenya. Hasil uji TAT yang terus menurun menunjukkan bahwa tidak ada aktivitas dari bakteri probiotik *E. faecium* IS-27526. Hal ini sejalan dengan hasil dari uji viabilitas probiotik (Gambar 5) dimana terlihat jumlah bakteri selama penyimpanan menurun setiap bulannya.

Penurunan total asam pada produk selama penyimpanan dapat terjadi akibat dimanfaatkannya asam untuk pertumbuhan kapang dan khamir. Menurut Buckle *et al.* (2010), khamir dan kapang memiliki kemampuan untuk memecah asam secara alamiah pada bahan.

Angka Lempeng Total

Hasil uji ALT, menunjukkan nilai yang lebih tinggi dari syarat SNI (2011) yaitu 10×10^4 koloni/g. Tingginya hasil uji TPC kemungkinan disebabkan karena adanya kandungan probiotik dalam komponen krim produk.

Hasil uji sidik ragam menunjukkan bahwa faktor suhu dan lama penyimpanan berpengaruh signifikan ($p < 0.05$) terhadap ALT biskuit. Interaksi antara suhu dengan lama penyimpanan, dan antara suhu dengan kemasan berpengaruh nyata pada ALT biskuit. Pada suhu dingin, bakteri probiotik berada pada fase dorman (Lahtinen *et al.* 2005) sehingga hasil ALT biskuit DM dan DP tetap tinggi sesuai dengan viabilitas probiotiknya (Gambar 5).



Tabel 2 Hasil analisis mikrobiologi selektif dibandingkan dengan standar SNI (2011)

Analisis mikrobiologi selektif	KP			KM			DP			DM			SNI (2011)
	t0	t2	t4										
<i>Coliform</i> (APM/g)	-	9	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	maks. 20

Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized

Gambar 7 Angka lempeng total selama penyimpanan 4 bulan

Selain uji ALT, dilakukan juga uji mikrobiologi dengan teknik perhitungan selektif yaitu untuk uji terhadap bakteri *coliform*, *E. coli*, *Salmonella sp.* dan *Staphylococcus sp.* Analisis mikrobiologi selektif dilakukan pada awal penelitian (t-0), bulan ke-2 (t2) dan bulan ke-4 (t4). Menurut Buckle *et al.* (2010), dalam penilaian kerusakan bahan pangan oleh aspek mikrobiologi seringkali diperlukan untuk menghitung suatu jenis mikroorganisme pembusuk tertentu atau jenis patogen.

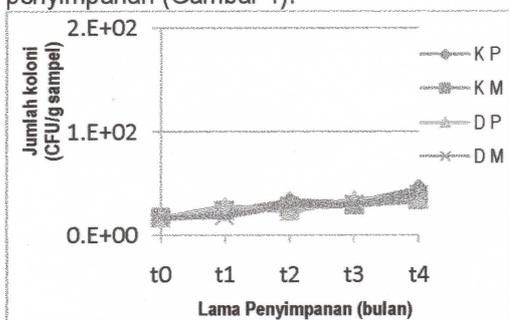
Hasil uji mikrobiologi secara selektif menunjukkan bahwa produk pada semua metode penyimpanan tetap memenuhi syarat mutu mikroba jenis *coliform*, *E. coli*, *Salmonella sp.* dan *Staphylococcus aureus* hingga bulan ke-4 (Tabel 2). Mikroba *coliform* terdeteksi pada bulan ke-4 dalam produk penyimpanan KM, dan terdeteksi pada bulan ke-2 dalam produk KP. Uji *coliform* menunjukkan tingkat sanitasi penanganan suatu produk pangan, adanya bakteri dapat diartikan sebagai adanya cemaran yang mungkin berasal dari air kotor. Hasil uji yang tidak konsisten mengindikasikan kemungkinan tingkat sanitasi yang kurang baik pada saat pembuatan biskuit maupun krim probiotik.

<i>Escherichia Coli</i> (APM/g)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< 3
<i>Salmonella sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	negatif/25 g
<i>Staphylococcus aureus</i> (koloni/g)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	maks. 1x10 ²

Kapang dan khamir

Hasil uji kapang dan khamir menunjukkan kecenderungan meningkat secara perlahan baik pada penyimpanan suhu dingin maupun suhu kamar. Jumlah kapang dan khamir dalam produk selama penyimpanan sesuai dengan syarat mutu kapang dan khamir menurut SNI (2011) produk biskuit yaitu maksimal 2x10² koloni/g.

Faktor lama penyimpanan yang berpengaruh signifikan (p<0.05) terhadap total kapang dan khamir dalam produk. Menurut Buckle *et al.* (2010), khamir dan kapang dapat tumbuh pada nilai aktivitas air lebih rendah daripada bakteri, maka bahan-bahan pangan yang kering cenderung untuk mengalami kerusakan akibat kapang dan khamir. Pertumbuhan kapang khamir pada produk ini tetap terjaga karena nilai Aw yang sangat rendah, hal ini didukung dengan hasil uji Aw biskuit yang tetap rendah selama penyimpanan (Gambar 1).



Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized

Gambar 8 Total kapang dan khamir selama penyimpanan 4 bulan

Perubahan mutu sensoris

Penilaian mutu sensoris dilakukan dengan menggunakan indera manusia. Uji sensori menghasilkan respon yang cepat dalam mendeteksi *off flavor* dari suatu produk (Baigrie (2003).

Warna

Lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap warna produk (p<0.05). Perubahan warna biskuit dipengaruhi reaksi oksidasi lemak pada produk di semua suhu simpan dan jenis kemasan. Oksidasi lemak dapat terjadi selama penyimpanan dan pengolahan produk, dan menyebabkan makanan berwarna coklat atau gelap (Ketaren 2008). Pada proses pengolahan, pemanggangan biskuit akan menghasilkan warna coklat akibat reaksi Maillard (Manley 2000). Tingkat kesukaan terhadap warna produk cenderung stabil setiap bulan dan tidak berbeda antar perlakuan suhu dan jenis kemasan (Gambar 9, a)

Rasa

Perlakuan suhu, jenis kemasan dan lama penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap tingkat kesukaan rasa produk (p<0.05), demikian juga interaksi antara waktu dengan suhu. Produk pada penyimpanan suhu dingin memiliki rata-rata nilai kesukaan rasa yang lebih stabil dibanding produk pada suhu kamar (Gambar 9, b). Suhu merupakan faktor yang sangat penting dalam proses oksidasi, pada suhu kamar produk lebih cepat mengalami oksidasi sehingga kemudian dapat berpengaruh terhadap rasa (Park *et al.* 2007).

Pengaruh jenis kemasan terhadap penurunan kesukaan terhadap rasa produk, diduga karena perbedaan permeabilitas kemasan sehingga mempengaruhi kontak uap air dan oksigen dari luar ke dalam kemasan yang menyebabkan kerusakan lemak dan pada akhirnya mempengaruhi rasa biskuit. Berdasarkan uji lanjut Duncan, tingkat kesukaan panelis terhadap rasa produk DP dan DM lebih tinggi dan berbeda nyata dengan produk KP (p<0.05).

Aroma

Suhu dan lama penyimpanan serta interaksi antar suhu dan lama penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap nilai

kesukaan warna produk yang diberikan oleh panelis ($p < 0.05$). Aroma yang kurang enak diduga disebabkan oleh kerusakan lemak akibat reaksi oksidasi selama penyimpanan. Lemak yang terkandung dalam biskuit antara lain berasal dari margarin, *butter*, tepung susu dan tepung ikan yang digunakan. Penurunan aroma pada produk di suhu kamar disebabkan karena oksidasi lemak dapat dipicu oleh cahaya dan adanya panas (Kusnandar 2010). Produk dalam suhu kamar lebih terpapar pada cahaya dan suhu yang lebih tinggi dibanding produk dalam lemari es.

Penilaian sensoris terhadap aroma biskuit sejalan dengan hasil uji TBA produk (Gambar 4). Angka TBA pada biskuit penyimpanan KP dan KM menunjukkan angka yang lebih tinggi dibanding penyimpanan DP dan DM. Tingginya angka TBA menunjukkan reaksi oksidasi yang kemudian membentuk radikal bebas dan menjadi hidroperoksida. Hidroperoksida inilah yang berkontribusi pada pembentukan aroma yang menyimpang (*off flavor*) (Kusnandar 2010). Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan, biskuit pada penyimpanan DP dan DM memiliki rata-rata nilai kesukaan terhadap aroma lebih tinggi dan berbeda nyata dibanding biskuit KP ($p < 0.05$) (Gambar 9, c).

Tekstur

Suhu, jenis kemasan dan lama penyimpanan berpengaruh nyata terhadap nilai kesukaan tekstur produk ($p < 0.05$). Interaksi antara suhu dengan jenis kemasan dan antara suhu, jenis kemasan dan lama penyimpanan juga memberikan pengaruh signifikan pada nilai kesukaan tekstur produk ($p < 0.05$). Hasil sejalan dengan penelitian Rukmi (2011) terhadap biskuit lele, yang

menunjukkan bahwa tekstur biskuit yang disimpan dalam stoples lebih disukai panelis dibanding biskuit tanpa stoples.

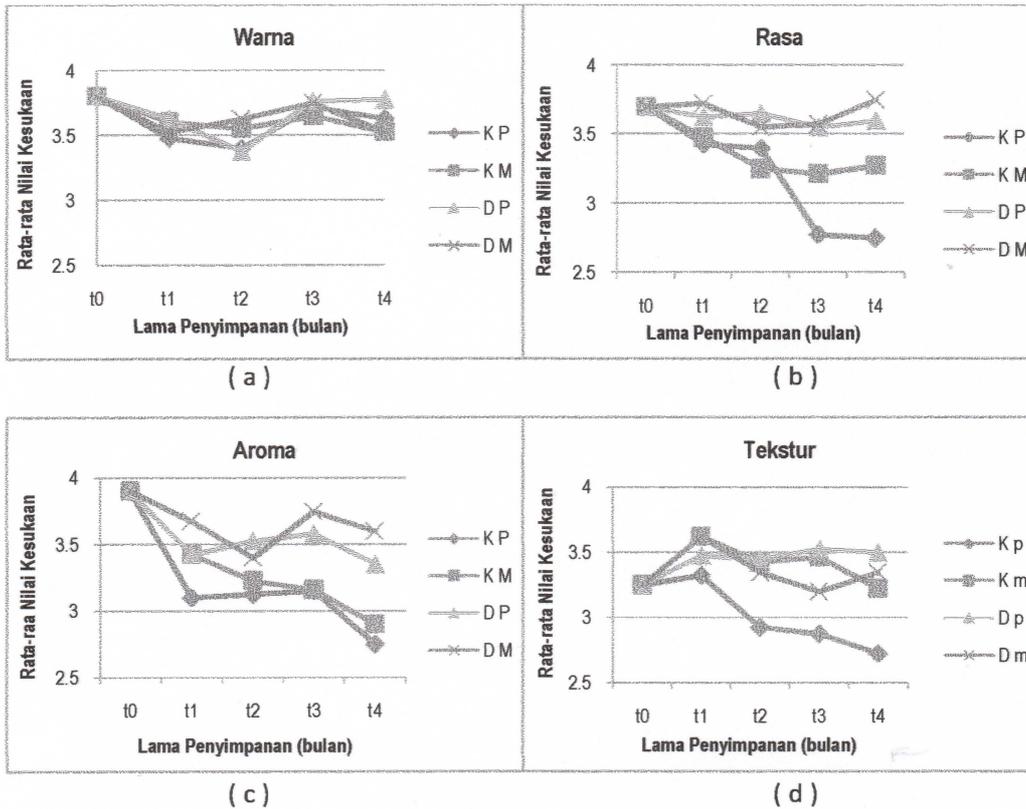
Kelembaban yang tinggi pada makanan kering akan menyebabkan turunnya kerenyahan sehingga kurang mudah untuk dipatahkan. Rata-rata nilai kesukaan panelis terhadap tekstur biskuit yang terendah terjadi pada produk KP (Gambar 9, d). Sejalan dengan hasil uji kadar air pada produk (Gambar 2), dimana kadar air produk KP selama 4 bulan tetap tinggi sehingga menyebabkan kerenyahan biskuit kurang baik. Kemasan MP lebih dapat menghambat penurunan mutu tekstur daripada kemasan PP karena penetrasi uap air ke produk lebih terhambat. Penyimpanan dalam lemari es juga lebih dapat menjaga tekstur biskuit karena kelembaban lemari es lebih rendah dibandingkan di ruangan.

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa rata-rata nilai kesukaan panelis terhadap tekstur biskuit KP lebih rendah dan berbeda nyata dibanding biskuit pada penyimpanan KM, DP dan DM ($p < 0.05$).

Keseluruhan

Suhu, jenis kemasan dan lama penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap nilai kesukaan keseluruhan biskuit ($p < 0.05$). Interaksi yang berpengaruh nyata terhadap nilai kesukaan keseluruhan biskuit adalah interaksi antara suhu dengan waktu ($p < 0.05$).

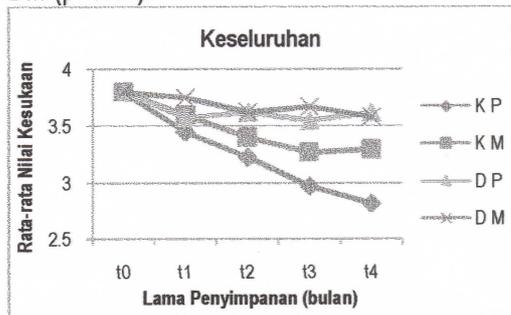
Rata-rata nilai kesukaan panelis terhadap keseluruhan biskuit KP selama penyimpanan lebih rendah dibandingkan dengan biskuit lainnya (Gambar 10).



Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized

Gambar 9 Skor tingkat kesukaan panelis terhadap mutu produk: (a) Warna, (b) Rasa, (c) Aroma, (d) Tekstur selama penyimpanan 4 bulan

Uji lanjut Duncan menunjukkan rata-rata nilai kesukaan terhadap keseluruhan biskuit KP merupakan yang paling rendah dan berbeda nyata dengan biskuit DP dan DM ($p < 0.05$).



Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized

Gambar 10 Skor tingkat kesukaan panelis terhadap keseluruhan mutu produk selama penyimpanan 4 bulan

Penentuan Suhu Simpan dan Jenis Kemasan Terbaik untuk Produk

Perbedaan suhu dan jenis kemasan memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0.05$) terhadap sebagian besar indikator kualitas produk yang diujikan. Untuk menentukan suhu dan jenis kemasan yang paling baik untuk produk biskuit krim probiotik *E. faecium* IS-27526 maka kombinasi dari suhu simpan (kamar dan dingin) dengan jenis kemasan (MP dan PP) diuji pengaruhnya terhadap indikator utama dari kualitas fisik dan kimia, kualitas mikrobiologi dan kualitas sensoris. Indikator kualitas fisik dan kimia yang digunakan adalah kadar air dan ALB, indikator kualitas mikrobiologi yang digunakan adalah viabilitas probiotik, sedangkan indikator kualitas sensoris yang digunakan adalah tekstur, rasa, aroma dan keseluruhan.

Tabel 3 Pengaruh perbedaan suhu penyimpanan dan jenis kemasan terhadap berbagai kualitas produk

Suhu – kemasan	Kadar Air	ALB	Viabilitas Probiotik	Rasa	Tekstur	Keseluruhan
KP	6,411 _b	1,28 _a	1,88 _a	3,21 _a	3,02 _b	3,17 _b
KM	5,561 _a	1,29 _a	2,13 _a	3,38 _a	3,39 _a	3,40 _a
DP	5,419 _a	1,37 _a	5,93 _b	3,62 _b	3,44 _a	3,54 _a
DM	5,439 _a	1,13 _a	7,44 _b	3,65 _b	3,35 _a	3,53 _a

Keterangan: KP=Suhu kamar-kemasan polipropilen, KM=Suhu kamar-kemasan metalized, DP=Suhu dingin-kemasan polipropilen, DM=Suhu dingin-kemasan metalized. Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%.

Pada kualitas fisik dan kimia, produk yang disimpan di suhu kamar dengan kemasan plastik (KP) menunjukkan kadar air paling tinggi dan berbeda nyata ($p < 0.05$) dibandingkan produk pada suhu simpan dan jenis kemasan lainnya, sedangkan pada indikator ALB kombinasi suhu dan jenis kemasan tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($p > 0.05$) selama penyimpanan.

Pada kualitas mikrobiologi, produk yang disimpan di suhu dingin baik DP) maupun DM memiliki viabilitas yang lebih baik dan berbeda nyata ($p < 0.05$) dibandingkan produk di suhu kamar. Pada uji sensoris, penerimaan panelis terhadap rasa biskuit lebih baik dan berbeda nyata ($p < 0.05$) pada biskuit yang disimpan di suhu dingin dibanding biskuit pada suhu kamar. Untuk penerimaan tekstur dan keseluruhan, biskuit pada penyimpanan KP mendapatkan nilai terendah dan berbeda nyata ($p < 0.05$) dibanding produk pada penyimpanan lainnya.

Berdasarkan hasil tersebut maka dapat dikatakan bahwa penyimpanan terbaik untuk produk biskuit biskuit lele krim probiotik *E. faecium* IS-27526 adalah pada suhu dingin

dengan jenis kemasan MP maupun PP. Jenis kemasan MP mampu mempertahankan viabilitas probiotik selama 4 bulan, sedangkan viabilitas pada jenis kemasan PP sudah mulai menurun di bulan ke-2 (Gambar 5).

Analisis Kontribusi Zat Gizi Biskuit Lele Krim Probiotik *E. faecium* IS-27526

Angka Kecukupan Gizi (AKG) merupakan taraf konsumsi zat-zat gizi esensial yang berdasarkan pengetahuan ilmiah dinilai cukup untuk memenuhi kebutuhan hampir semua orang sehat (Almatsier 2001). Produk biskuit lele yang digunakan dalam penelitian ini ditujukan untuk meningkatkan kontribusi protein terhadap pemenuhan AKG balita dan terbukti dapat dikatakan sebagai makanan tambahan untuk balita yang tinggi protein (Mervina 2012). Penambahan komponen probiotik *E. faecium* IS-27526 pada biskuit telah terbukti secara klinis bermanfaat dalam perbaikan status gizi dan imunitas balita dan terbukti aman untuk balita (2-5 tahun), sehingga memungkinkan untuk dikonsumsi oleh kelompok usia lain (Adi. 2010).

Tabel 3 Angka Kecukupan zat gizi per takaran penyajian (50 g)

Zat gizi	Jumlah per takaran saji	AKG (%) pada kelompok usia			
		Anak-anak	Remaja	Dewasa	Lansia
Energi	231.45 kkal	14.93	9.64	9.08	9.08
Protein	7.5 g	19.23	12.5	12.50	12.5
Karbohidrat	27.45 g	10.9	7.04	6.62	6.62

Biskuit lele dengan komponen probiotik *E. faecium* IS-27526 tetap memberikan kontribusi yang cukup terhadap pemenuhan zat gizi, terutama protein dan

energi. Kriteria FAO/WHO (1994) untuk makanan tambahan yaitu mengandung 400 kkal energi dan 15 g protein per 100 g dapat dipenuhi oleh produk biskuit

lele krim probiotik *E. faecium* IS-27526, sehingga produk ini tetap dapat dikatakan makanan tambahan tinggi protein baik untuk balita maupun kelompok usia lainnya.

KESIMPULAN

Suhu penyimpanan produk berpengaruh signifikan terhadap kadar air, TBA, aktivitas air, viabilitas probiotik, TAT dan ALT. Jenis kemasan berpengaruh signifikan terhadap kadar air, TBA, ALB, viabilitas probiotik dan TAT. Lama penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap kadar air, TBA, aktivitas air, ALB, viabilitas probiotik, TAT, ALT dan total kapang khamir. Kualitas sensoris produk terutama atribut rasa, tekstur dan keseluruhan dipengaruhi signifikan oleh suhu, kemasan dan lama penyimpanan.

Suhu simpan terbaik untuk menjaga kualitas produk biskuit lele krim probiotik *E. faecium* IS-27526 adalah suhu dingin. Berdasarkan uji statistik, jenis kemasan tidak menunjukkan pengaruh signifikan terhadap kualitas produk, tetapi terdapat kecenderungan produk dengan kemasan *metalized plastic* memiliki kualitas yang lebih baik dibanding produk dengan kemasan plastik polipropilen.

Biskuit lele krim probiotik *E. faecium* IS-27526 merupakan produk tinggi protein yang mampu memberikan kontribusi protein untuk anak-anak, remaja, dewasa dan lansia masing-masing sejumlah 19.23%, 12.5%, 12.5% dan 12.5% AKG dan tetap dapat dikatakan makanan tambahan tinggi protein baik untuk balita maupun kelompok usia lainnya.

SARAN

Uji mikrobiologi produk biskuit lele krim probiotik *E. faecium* IS-27526 pada penyimpanan suhu kamar sebaiknya dilakukan dengan interval yang lebih dekat yaitu 1-2 kali per minggu karena viabilitas probiotik yang sangat cepat menurun pada suhu kamar. Lama waktu penyimpanan untuk produk biskuit lele krim probiotik *E. faecium* IS-27526 baik pada suhu kamar maupun suhu dingin sebaiknya dibatasi sampai 2 bulan. Untuk menjaga batas kadar ALB dan menjaga mutu aroma produk.

Biskuit lele krim probiotik *E. faecium* IS-27526 merupakan produk pangan dengan nilai gizi dan cita rasa yang baik. Dengan komponen fungsional probiotik. Pada penggunaan sebagai intervensi ke masyarakat. Penanganan produk selama penyimpanan. Distribusi hingga sampai ke sasaran perlu diperhatikan dengan hati-hati untuk tetap menjaga kualitasnya terutama dari segi komponen probiotik.

Biskuit lele krim probiotik *E. faecium* IS-27526 yang disimpan pada suhu kamar masih dapat terjaga viabilitas probiotiknya dalam perkiraan rentang waktu 1-

2 minggu. Setelah waktu tersebut, viabilitas probiotik sudah menurun akan tetapi komponen biskuit tetap bermanfaat sebagai makanan tambahan tinggi protein dan penerimaan biskuit tetap terjaga sampai 2 bulan masa penyimpanan.

Studi aplikasi probiotik *E. faecium* IS-27526 pada produk pangan lain seperti sari buah, jus atau produk panganan ringan akan memberikan masukan untuk pengembangan produk selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi AC. 2010. Efikasi pemberian makanan tambahan (PMT) biskuit diperkaya dengan tepung protein ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) isolat protein kedelai dan probiotik *Enterococcus faecium* IS-27526 yang dimikroenkapsulasi pada balita (2-5 tahun) berat badan rendah. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Adriani. 1997. Pengayaan biskuit dengan tepung ikan. [Skripsi]. Departemen Gizi Masyarakat dan Sumber Daya Keluarga, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Almatsier S. 2003. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Baigrie B. 2003. Taints and Off Flavours in Food. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- BAM, 2001**
- Buckle KA, Edwards RA, Fleet GH & Woottn M. 2010. Ilmu Pangan. (Purnomo H, Adiono, penerjemah). Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- FAO/WHO [Food and Agriculture Organization/World Health Organization]. 1994. Guidelines on formulated supplementary food for older infants and young children. FAO/WHO, Rome.
- Fauziah. 2008. Sifat kimia kreker yang diberi perlakuan substitusi tepung daging sapi dan perubahan bilangan TBA kreker selama penyimpanan. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Heenan CN, Adams MC, Hosken RW & Fleet GH. 2004. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in nonfermented frozen vegetarian dessert. *Lebensm.-Wiss.u.-Technology*, 37,461-466.
- Heller KJ. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods : product characteristics and starter organism. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72,374S-9S.
- Ketaren. S. 2008. Minyak dan Lemak Pangan. UI Press, Jakarta.

- Kusnandar F. 2006. Pendugaan Umur Simpan Produk Pangan dengan Metode Accelerated Shelf-life Testing (ASLT). Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Lahtinen SJ, Gueimonde M, Uwehand AC, Reinikainen JP & Salminen SJ. 2005. Probiotic bacteria may become dormant during storage. *Applied and Environmental Microbiology*. Mar 2005, 1662-1663.
- Manley D. 2000. *Technology of Biscuit, Cracker and Cookies*. Third Edition. CRC Press, Washington.
- Mervina, Kusharto CM & Marliyati SA. 2012. Formulasi biskuit dengan substitusi tepung ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dan isolat protein kedelai (*Glycine max*) sebagai makanan potensial untuk anak balita gizi kurang. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 23(1), 9-16.
- Mugnier J & Jung G. 1985. Survival of bacteria and fungi in relation to water activity and the solvent properties of water in biopolymer gels. In Lee YK, Salminen S (Eds.), *Handbook of Probiotics and Prebiotics* (p.64-65). Second Edition. 2009. Wiley, New Jersey.
- Park SY, Yoo SS, Uh JH, Eun JB, Lee HC, Kim JY & Chin KB. 2007. Evaluation of lipid oxidation and oxidative products as affected by pork meat cut, packaging method and storage time during frozen storage (-10° C). *Journal of Food Science*. 72(2), 114-119
- Rahardjo S. 2004. Kerusakan oksidatif pada makanan. Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Rieuwpassa F. 2006. Biskuit konsentrat protein ikan dan probiotik sebagai makanan tambahan untuk meningkatkan antibodi IgA dan status gizi anak balita. [Disertasi]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Rukmi A. 2010. Pengaruh penyimpanan terhadap mutu biskuit yang diperkaya dengan tepung ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dan isolat protein kedelai (*Glycine max*). [Skripsi]. Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia, Institut Pertanian Bogor.
- SNI [Standar Nasional Indonesia]. 1992. Mutu dan Cara Uji Biskuit SNI 01-2973. Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- _____. 2011. Standar Nasional Indonesia 2973:2011 Biskuit. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Surono IS, Koestomo FP, Novitasari N, Zakaria FR, Yulianasari & Koesnandar. 2011. Novel Probiotic *Enterococcus faecium* IS-27526 Supplementation Increased Total Salivary sIgA Level And Bodyweight of Pre-School Children: A Pilot Study. *Anaerobe*. 17(2011), 496-500.
- Talwalkar A, Miller CW, Kailasapathy K & Nguyen MH. 2004. Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*. 39, 605-611.
- Winarno FG. 1997. *Kimia pangan dan gizi*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.