

**LAPORAN AKHIR
HIBAH KOMPETITIF PENELITIAN
SESUAI PRIORITAS NASIONAL BATCH I**



**EFIKASI PEMBERIAN MAKANAN TAMBAHAN (PMT) BISKUIT FUNGSIONAL
BERBASIS SINBIOTIK DENGAN PREBIOTIK ASAL PANGAN LOKAL DAN
PROBIOTIK PADA BALITA GIZI KURANG**

**PROF. DR. CLARA M. KUSHARTO, MSC
DR. INGRID S SURONO, MSC
IR. ANNIS CATUR ADI, MSI**

Dibiayai oleh

**Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Kompetitif Penelitian Sesuai
Prioritas Nasional Nomor : 160/SP2H/PP/DP2M/V/2009, Tanggal 30 Mei 2009**

**Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Institut Pertanian Bogor
November 2009**

BAB I PENDAHULUAN

Latar belakang

Masalah gizi di Indonesia sampai saat ini, masih terdapat empat masalah gizi utama yaitu Kurang Energi Protein (KEP), Gangguan Akibat Kurang Iodium (GAKI), Kurang Vitamin A (KVA) dan Kekurangan zat besi (Anemia). Keempat masalah gizi tersebut semakin serius dan diperparah dengan adanya berbagai bencana (kekeringan, banjir, longsor, dll) di berbagai daerah yang telah berdampak pada penurunan produksi dan ketersediaan pangan di tingkat rumah tangga. Keadaan tersebut terutama di rasakan oleh masyarakat miskin yang berdampak pada gangguan pemenuhan kebutuhan dasar (pangan), yang akan mempengaruhi keadaan gizi dan kesehatan anggota keluarga yang tergolong rawan (*Vulnerable group*), diantaranya adalah balita

Masalah gizi kurang pada balita bukanlah hal yang baru, namun masalah ini tetap aktual, yang dicerminkan dengan masih banyaknya propinsi yang mempunyai prevalensi Gizi buruk dan gizi kurang diatas prevalensi nasional (18,4%), terutama di daerah-daerah yang merupakan kantong kemiskinan. Laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2007 menunjukkan di Indonesia telah terjadi perbaikan gizi yang melampaui target pembangunan jangka menengah (20%), namun masih terdapat 19 Propinsi dengan prevalensi gizi buruk dan gizi kurang yang masih cukup tinggi, bahkan sebanyak 25 provinsi mempunyai prevalensi Balita Kurus diatas prevalensi nasional (7,4%) salah satu diantaranya adalah provinsi Jawa Timur, Banten, dan Nusa Tenggara Barat. Demikian juga prevalensi balita pendek dan sangat pendek (TB/U) dan balita kurus dan sangat kurus (BB/TB). Disisi lain, kejadian sakit akibat berbagai jenis penyakit infeksi masih tinggi, antara lain ISPA (25,50%), Pnemonia (2,13%), TB paru (0,99%) dan diare (9,0%). Bahkan penyebab kematian bayi tertinggi karena diare (31,4%) dan pnemonia (23,8%), demikian pada balita, tertinggi juga karena diare (31,4%) dan pnemonia (15,5%).

Kenyataan adanya KEP dan kejadian penyakit infeksi pada balita tersebut diatas, merupakan masalah yang serius dan mendesak untuk segera dicari penyebab dan upaya penanggulangannya mengingat dampaknya yang serius utamanya pada mutu sumber daya manusia Indonesia. Secara umum gizi kurang pada balita dapat menciptakan generasi yang secara fisik maupun mental lemah. Generasi yang demikian akan menjadi beban masyarakat dan pemerintah. Sebagaimana yang dikaji dan diperkenalkan oleh UNICEF (1998) terdapat berbagai penyebab timbulnya masalah gizi pada balita, yang dapat digolongkan: *pertama*, sebagai penyebab langsung yaitu

makanan anak dan penyakit infeksi, dan *kedua*, penyebab tidak langsung yaitu pola pengasuhan anak, pelayanan kesehatan, kesehatan lingkungan dan ketahanan pangan keluarga. Analisis Atmarita et al (2006) terhadap data status gizi SUSENAS (1989-2005) juga membuktikan determinan utama gizi kurang pada anak balita adalah faktor ekonomi, pendidikan ibu, makanan dan infeksi. Guna mempercepat penanganan masalah KEP balita, selain diversifikasi pangan perlu dilandasi inovasi pengembangan formulasi makanan tambahan fungsional yang standar gizi dan mampu meningkatkan imunitas bagi balita dengan teknologi pengolahan yang mempertimbangkan keunggulan sumberdaya pangan lokal.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Semakin kuat dugaan bahwa aneka krisis dan bencana kekeringan, banjir, gempa, longsor yang telah dan tengah melanda bangsa Indonesia berdampak pada gangguan pemenuhan kebutuhan dasar (terutama pangan) keluarga miskin, yang akan mempengaruhi keadaan gizi dan kesehatan anggota keluarga yang tergolong rawan (*Vulnerable group*). Thomson (1997) mengidentifikasi kelompok yang rentan terhadap rawan pangan berdasarkan kondisi geografi secara potensial ditemui di daerah yang kering dan tidak subur, sedangkan ditinjau dari individu adalah anak-anak, wanita, ibu hamil dan wanita menyusui. Kondisi ini dicerminkan dengan masih tingginya dan adanya peningkatan prevalensi KEP balita di daerah-daerah yang merupakan kantong-kantong kemiskinan. Menurut Martorell (1995), tumbuh kembang anak sampai dengan usia 3 tahun sangat rentan terhadap perubahan lingkungan. Hal ini disebabkan oleh :

1. Laju pertumbuhan bayi sangat cepat, kebutuhan gizi harus mampu memenuhi. Kurang gizi sangat potensial mengakibatkan retardasi fisik dan mental.
2. Anak-anak usia 2-3 tahun memiliki kebutuhan gizi lebih tinggi/kg BB.
3. Anak-anak usia 2-3 tahun sangat rentan terhadap infeksi dan penyakit karena fungsi pertahanan tubuh yang lemah pada usia tersebut.
4. Anak-anak usia 2-3 tahun belum mampu mengekspresikan keinginan mereka sehingga sangat tergantung pada keberadaan orang tua. Pola perawatan dan pengasuhan yang buruk akan berdampak buruk terhadap tumbuh kembangnya.

Pertumbuhan yang normal dapat dicapai melalui pemberian makanan dengan kualitas dan kuantitas yang baik (Pudjadi, 2001). Formulasi makanan anak balita harus memenuhi persyaratan tertentu khususnya untuk protein, energi, lemak, vitamin dan mineral dan bahan tambahan. Codex Alimentarius Guidelines 1994 mensyaratkan mutu

protein (NPU) sekurang-kurangnya 65 yang setara dengan nilai *Protein Efficiency Ratio* (PER) tidak kurang dari 2,1. PAG guideline no.8 dan Codex Alimentarius 1994 menyarankan agar tiap 100 gram produk mengandung 20 gram protein dan 100 gram produk tersebut harus menyediakan energi sebanyak 400 kkal. Bila mutu protein tinggi, maka kadar protein lebih rendah.

Biskuit merupakan jenis makanan tambahan yang memiliki daya terima yang baik di daerah program World Food Programme (WFP dan FKM Unair, 2008). Namun belum ada klasifikasi yang jelas untuk biskuit, bahkan terkadang dijumpai saling tumpang tindih antara bentuk yang satu dengan lainnya. Hingga saat ini biskuit diklasifikasikan berdasarkan beberapa sifat yaitu : (1) tekstur dan kekerasan, (2) perubahan bentuk akibat pemanggangan, (3) ekstensibilitas adonan, dan (4) pembentukan produk (Manley, 1983). Menurut SNI tahun 1990, biskuit dapat diklasifikasikan menjadi biskuit keras, crackers, cookies, dan wafer. Biskuit keras dibentuk dari adonan keras dan memiliki tekstur padat. Crackers adalah biskuit yang dibuat dari adonan keras melalui fermentasi dan memiliki struktur berlapis-lapis. Jenis yang ketiga yaitu Cookies merupakan jenis biskuit yang dibuat dari adonan lunak. Sifatnya lebih renyah karena tesktur yang kurang padat. Wafer adalah jenis biskuit dari adonan cair dengan sifat yang sangat renyah dan memiliki tesktur yang berongga.

Selain mengandung padat gizi, pemberian makanan tambahan (PMT) balita diharapkan dapat meningkatkan ketahanan tubuh sehingga menurunkan kejadian sakit yang sering diderita balita gizi kurang dan buruk, diantaranya penyakit diare, ISPA, dll. NICUS (*The Nutrition Information Centre of the University of Stellenbosch*) bahwa sebuah simbiotik antara prebiotik dan probiotik mempunyai potensial untuk meningkatkan kesehatan melalui peningkatan survival dan keberadaan mikroorganisme baik (positif) di dalam usus, namun demikian memerlukan penelitian lebih lanjut pada manusia. Sistem pertahanan tubuh secara garis besar terbagi menjadi dua berdasarkan mekanisme responnya, yaitu respon mencegah invasi benda-benda asing melalui kulit, mukosa dan permukaan tubuh yang dikenal sebagai respons imun alami (*innate immunity*), suatu respon imun non spesifik; dan untuk merespons benda asing; atau respons imun spesifik (*adaptive immunity*), yang terdiri dari dua sistem yaitu humoral dan selular, dalam hal ini, mukosa usus merupakan sisi penting yang berhubungan dengan mikroba (Surono, 2004).

Definisi pangan fungsional menurut BPOM adalah pangan yang secara alamiah atau telah melalui proses, mengandung satu atau lebih senyawa yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan.

Tiga factor yang harus dipenuhi agar suatu produk dapat disebut pangan fungsional yaitu:

1. Produk tersebut haruslah suatu produk pangan (bukan kapsul, tablet atau bubuk) yang berasal dari bahan/ingredient yang terdapat secara alami.
2. Produk tersebut dapat dan selayaknya dikonsumsi sebagai bagian dari diet atau menu sehari-hari.
3. Produk memiliki fungsi tertentu pada waktu dicerna, memberikan peran dalam proses tubuh tertentu, seperti memperkuat pertahanan tubuh, mencegah penyakit tertentu, membantu tubuh untuk mengembalikan kondisi tubuh setelah terserang penyakit, menjaga kondisi fisik dan mental, memperlambat proses penuaan, dan sebagainya. (Winarno dan Felicia, K, 2007)

Konsep pertama tentang prebiotik, merujuk pada komponen pangan yang tidak dapat dicerna, namun memiliki manfaat potensial bagi *host* dengan secara selektif mendukung pertumbuhan atau aktivitas koloni mikroorganisme di dalam usus besar yang dianggap memberikan efek potensial bagi kesehatan, sehingga mendukung kesehatan *host*-nya (Gibson dan Roberfroid, 1995 dalam Venter 2007). Berdasar hasil penelitian mengenai prebiotik yang dalam 10 tahun terakhir ini semakin banyak dipublikasikan, Gibson et al (2004) baru-baru ini meninjau kembali konsep awal prebiotik, terutama mengenai 3 aspek kunci definisi prebiotik: 1) resistansi terhadap pencernaan; 2) fermentasi oleh mikroflora usus besar; dan 3) efek tertentu pada flora yang mendukung manfaat kesehatan. Definisi terbaru tentang prebiotik adalah bahan pangan fermentasi tertentu yang dapat mendorong perubahan tertentu terhadap komposisi dan aktivitas mikroflora dalam organ pencernaan dan memberikan manfaat lebih bagi kesehatan dan kesejahteraan (Venter, 2007). Komponen pangan yang secara ilmiah terbukti memberikan manfaat sebagai prebiotik mungkin baru inulin, oligofruktosa, laktulosa, galaktooligosakarida (GOS) dan fruktosaoligosakarida (FOS). Oleh karena struktur kimianya, prebiotik tersebut tahan terhadap pencernaan di dalam usus halus, dan mencapai usus besar tetap dalam kondisi tidak tercerna sehingga difermentasi oleh bakteri. Fermentasi ini menstimulasi pertumbuhan *Bifidobacteria*, species yang digunakan dalam probiotik. Asupan harian prebiotik dapat ditingkatkan melalui konsumsi

secara rutin beberapa jenis pangan seperti bawang prei, *artichoke*, bawang putih, bawang bombay, gandum dan produk gandum, asparagus, dan pisang. Belum ada rekomendasi khusus mengenai kecukupan prebiotik. Namun, dosis 4-20 gram per hari telah menunjukkan efikasi. Prebiotik potensial lain yang hingga saat ini masih dalam penelitian di antaranya *xylooligosaccharides*, *lactitol*, *soyoligosaccharides*, *glucosyloligosaccharides*, *isomaltooligosaccharides* dan *gentiooligosaccharides* (NICUS, 2008). Gibson et al (2004) dan Roberfroid (2005) dalam Venter (2008) juga menyatakan bahwa hingga saat ini baru *inulin-type fructans*, *galactooligosaccharides* dan *lactulose* yang terbukti sebagai prebiotik, meskipun beberapa jenis komponen peptida, protein dan lemak tertentu dianggap berpotensi sebagai prebiotik. Air Susu Ibu (ASI) merupakan sumber prebiotik "asli" *oligosaccharides*. Beberapa jenis makanan yang potensial bagi prebiotik diantaranya *beverage*, produk roti, saus, formula bayi, makanan ringan, sup dan *dairy product* (Franck, 2002 dalam Venter 2007).

Istilah probiotik pertama kali dikenalkan pada tahun 1965 oleh Stillwell dan Lilly. Dalam perkembangannya, muncul berbagai definisi probiotik. Secara sederhana, Salminen et al (1998) dalam Harish dan Varghese (2008) menyatakan bahwa probiotik merupakan suplemen makanan mikroba hidup atau komponen bakteri yang telah terbukti memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan manusia. Definisi probiotik yang lebih baru lagi dikeluarkan oleh Food and Agricultural Organization (FAO), yaitu mikroorganisme hidup yang apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup akan memberikan pengaruh yang menguntungkan bagi "host"-nya (Szajewska, et. al, 2006)

Probiotik akan memberikan manfaat, tergantung pada kemampuannya untuk mempertahankan konstituen aktifnya terhadap suasana asam dalam lambung, hingga sampai pada targetnya. Kriteria yang harus dipenuhi suatu mikroorganisme untuk dapat diklasifikasikan ke dalam probiotik, antara lain: 1) Berasal dari makhluk hidup; 2) non patogen; 3) kebal terhadap *processing*, atau kemampuan untuk bertahan di dalam *vehicle*-nya; 4) Stabilitas di dalam asam dan emped; 5) Adhesi pada jaringan epitel target; 6) Kemampuan untuk bertahan di dalam saluran pencernaan; 7) Produksi substansi antimikroba; 8) Kemampuan untuk memodulasi sistem imun; 9) Kemampuan untuk mempengaruhi aktivitas metabolik (Szajewska et al, 2006).

Probiotik harus berada dalam jumlah minimal tertentu (dalam *Colony Forming Unit/ CFU*) per dosisnya. Meskipun belum ada studi mengenai hubungan dosis-respons, Natural Health Products Directorate Canada baru-baru ini merekomendasikan dosis 5

miliar CFU per hari selama 5 hari untuk probiotik. Dosis yang ditujukan untuk terapi dan pencegahan bervariasi. Asupan harian 10^6 hingga 10^9 CFU merupakan dosis minimum yang efektif untuk tujuan terapi (Szajewska, 2006).

Aspek keamanan probiotik juga penting untuk dipertimbangkan. Idealnya probiotik berasal dari manusia dan dari saluran pencernaan orang sehat, sebab efek positif kesehatan biasanya sangat tergantung pada lingkungan dan spesies. Strain probiotik tidak boleh bersifat patogen, atau berkaitan dengan penyakit kelainan saluran pencernaan. Selain itu bakteri probiotik juga harus tidak mentransfer gen resisten terhadap antibiotik (Surono, 2004)

Berbagai *review* tentang probiotik telah secara luas dilakukan dan mengeksplorasi efek positif probiotik bagi kesehatan. Beberapa manfaat probiotik, antara lain: **a) Efek Probiotik terhadap Bakteri Patogen** (Vanderhoof, 2001, Marteau et al, 2001)); **b) Asimilasi kolesterol;** **c) Efek antikanker dan alergi** (Survana and Bobby, 2003); **d) Intoleransi Laktosa** (Survana and Bobby, 2003); **e) Diare**, salah satu pemanfaatan probiotik yang telah dikenal secara luas adalah untuk penyakit diare. Agent probiotik dapat menjadi “alat” yang penting dalam treatment masalah gastrointestinal pada bayi dan anak-anak. Episode diare akut dapat berhubungan dengan pathogen viral, bacterial maupun parasitic. Probiotik meningkatkan produksi *mucin* usus yang mencegah pelekatan enteropatogen. Pelekatan tersebut dapat dicegah oleh *seric hindrance* (perbedaan structural ligand bakteri yang dapat mengganggu pelekatan pada reseptor) atau melalui inhibisi kompetitif pada tempat pelekatan (Drisko et al, 2003); **f). Manfaat Probiotik terhadap pencegahan Inflammatory Bowel Disease**, probiotik cukup penting perannya dalam treatment inflammatory bowel disease baik pada bayi maupun anak-anak (Vanderhoof dan Young, 2002; Reid, 2002; Young dan Huffman, 2003 dalam Dincki, 2006). Laporan terkait mengindikasikan adanya efek positif intervensi probiotik dalam mengembalikan gangguan imunologi dan normalisasi permeabilitas intestinal pada anak yang mengalami Crohn’s disease.

Beberapa hasil studi tentang probiotik pada anak-anak diantaranya:

Studi	Probiotik	Outcome measure	Measure of effect size	Efek (95% CI)	NTT (95% CI)
Szajewska dan Mrukowicz	Lactobacillus GG, L.reuteri, L. acidophilus LB, S. thermophilus lactis, L. acidophilus, L. Bulgaricus, L. Boulardi	Diare akut \geq 3 hari	RR	0.4 (0.3-0.5)	4 (3-9)
Allen et al	Lactobacillus GG, L.reuteri, L.acidophilus LB, S.thermophilus lactis, L.acidophilus dan L bulgaricus,	Diare akut \geq 3 hari	RR	0.7 (0.6-0.8)	5 (4-7)

	Enterococcus SF68, L.acidophilus dan L.bifidus, L.casei, L.rhamnosus, L.reuteri, L.boulardii					
Szajewska dan Mrukowicz	Lactobacillus GG, L.reuteri, L. acidophilus LB, S. thermophilus lactis, L. acidophilus, L. Bulgaricus, L. Boulardi	Lamanya diare	WMD	-18 jam (-27 sd -10)	-	
Van Niel et al.	Lactobacillus GG, L.uteri, L.acidophilus dan L.bulgaricus	Lamanya diare	WMD	-17 jam (-29 sd -7)	-	
Huang et al.	Lactobacillus GG, L.acidophilus, L.bulgaricus, S.thermophilus, L.rhamnosus, Yalacta, L.reuteri, Enterococcus SF68, S.subtilis, B.bifidum dan B.infantis	Lamanya diare	WMD	-19 jam (-26 sd -14)	-	
Allen et al.	Lactobacillus GG, L.reuteri, L.acidophilus LB, S.thermophilus lactis, L.acidophilus dan L bulgaricus, Enterococcus SF68, L.acidophilus dan L.bifidus, L.casei, L.rhamnosus, L.reuteri, L.boulardii	Lamanya diare	WMD	-30 jam (-42 sd -19)	-	
Tankanov et al	L.acidophilus dan L.bulgaricus	Diare yang berhubungan dengan antibiotic (amoxicillin)	RR	0.96 (0.6-1.5)	Tidak signifikan	
Jirapinyo et al.	L.acidophilus dan L.infantis	Diare yang berhubungan dengan antibiotic (antibiotic spectrum luas)	RR	0.47 (0.18-1.2)	Tidak signifikan	
Conea et al	B.lactis 10 ⁷ CFU dan S.thermophilus 10 ⁶ CFU	Diare yang berhubungan dengan antibiotic (bermacam-macam antibiotik)	RR	0.52 (0.29-0.95)	7 (4-62)	
Arvola et al	LGG (2 x 10 ⁶ CFU)	Diare yang berhubungan dengan antibiotic (bermacam-macam antibiotik)	RR	0.32 (0.1-1.02)	Tidak signifikan	
Vanderhoof et al	LGG (<12 kg:10 ¹⁰ CFU; >12 kg: 2x10 ¹⁰ CFU)	Diare yang berhubungan dengan antibiotic (bermacam-macam antibiotik)	RR	0.29 (0.13-0.61)	6 (4-13)	
Szajewska et al	LGG (6x10 ⁹ CFU)	Diare nosokomial	RR	0.2 (0.06-0.6)	4 (2-10)	
Masretta et al	LGG (10 ¹⁰ CFU)	Diare nosokomial	RR	0.84 (0.6-1.3)	Tidak signifikan	
Saavedra et al	B.lactis Bb12 10 ⁹ CFU dan S.thermophilus 10 ⁷ CFU	Diare nosokomial	RR	0.2 (0.06-0.8)	5 (3-20)	
Chouraqui et al.	B.lactis Bb12 dan S.thermophilus (minimal 10 ⁸ CFU)	Diare nosokomial	RR	0.7 (0.4-1.3)	Tidak signifikan	

WMD : Weighed mean difference RR : Relative Risk NTT : Number needed to tre

BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan Penelitian

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh (efikasi) sinbiotik pemberian makanan tambahan biskuit fungsional berbasis prebiotik pangan lokal (ikan, umbi-umbian) dan probiotik terhadap status gizi dan respon imun humoral balita gizi kurang dan buruk menurut tipe agroekologi wilayah Jawa Timur.

Secara khusus penelitian ini bertujuan untuk:

Tahun Pertama :

1. Menganalisis pola konsumsi balita gizi kurang dan buruk menurut tipe agroekologi daerah Jawa Timur
2. Menganalisis tingkat konsumsi gizi balita gizi kurang dan buruk menurut tipe agroekologi daerah Jawa Timur
3. Mengidentifikasi potensi bahan pangan fungsional menurut tipe agroekologi daerah Jawa Timur
4. Mengembangkan (reformulasi) formula makanan tambahan biskuit fungsional berbasis protein ikan, pangan lokal (prebiotik) dan probiotik sebagai makanan alternative balita gizi kurang Jawa Timur
5. Melakukan uji pengaruh pada hewan coba

Tahun Kedua :

6. Melakukan Intervensi PMT pada balita gizi kurang
7. Mengevaluasi daya terima dan kepatuhan terhadap makanan tambahan biskuit fungsional pada sasaran (balita gizi kurang dan buruk) menurut tipe agroekologi Jawa Timur
8. Menganalisis pengaruh pemberian makanan tambahan biskuit fungsional terhadap status gizi (pertambahan BB/U, TB/U dan BB/TB) balita gizi kurang dan buruk menurut tipe agroekologi daerah Jawa Timur
9. Menganalisis pengaruh pemberian makanan tambahan biskuit fungsional terhadap respon imun humoral dan profil darah balita gizi kurang dan buruk menurut tipe agroekologi daerah Jawa Timur

Manfaat Penelitian

Manfaat Teoritis. Diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan program intervensi makanan tambahan berbasis makanan fungsional yang merupakan upaya meningkatkan mutu (kuantitas dan kualitas) konsumsi masyarakat kelompok rawan gizi dan menurunkan kejadian sakit (morbiditas), khususnya balita yang mengalami gizi kurang dan buruk.

Manfaat Praktis. Model intervensi pemberian makanan tambahan (PMT) berbasis makanan fungsional untuk percepatan perbaikan gizi balita gizi kurang dan buruk pada tipe agroekologi wilayah Jawa Timur.

1. Sebagai dasar (rujukan) ilmiah dalam upaya menggalakan makanan fungsional berbasis pangan lokal di masyarakat, khususnya dikalangan balita
2. Model intervensi PMT berbasis makanan fungsional dengan sasaran balita, khususnya balita gizi kurang dan buruk
3. Masukan bagi perencana dan pengambil kebijakan intansi terkait dalam program pangan dan gizi, khususnya mempercepat dalam mengantisipasi dan mengatasi masalah gizi kurang energi protein (KEP) dan kesakitan balita pada tipe agroekologi yang berbeda.
4. Modul pengetahuan gizi praktis dan teknologi tepat guna untuk pengolahan makanan tambahan fungsional berbasis pangan lokal (ikan, umbi-umbian, dll) menurut spesifikasi tipe agroekologi daerah.

Urgensi (keutamaan) penelitian

Berdasarkan fakta permasalahan gizi kesehatan pada balita tersebut diatas (Risksdas 2007), maka program intervensi dalam bentuk makanan tambahan bergizi dalam jumlah cukup pada balita, serta upaya penguatan ketahanan tubuh balita merupakan hal yang perlu mendapat perhatian serius agar anak balita tidak mudah jatuh ke keadaan kurang gizi dan mudah sakit. Anak yang menderita kurang gizi imunitasnya rendah dan untuk menanggulangi, perlu dilakukan dengan beberapa cara antara lain: peningkatan pelayanan kesehatan masyarakat, pendidikan (penyuluhan) gizi, dan perbaikan pola konsumsi. Salah satu bentuk PMT yang ada selama ini dan memiliki daya terima yang baik adalah biskuit, namun kenyataannya masih berupa makanan pabrikan yang berbasis pangan impor (tepung terigu) dan sebaliknya belum banyak menggali potensi local yang kaya akan gizi, diantaranya adalah produk perikanan (laut dan tawar). Padahal Indonesia memiliki wilayah kawasan laut, pantai dan pesisir yang

cukup luas serta sungai-sungai yang merupakan sumber air dan sekaligus potensi produk perikanan, baik ikan tawar maupun ikan laut yang mempunyai kandungan gizi (terutama protein) yang tinggi.

Berdasarkan kenyataan dan permasalahan seperti tersebut, menunjukkan bahwa pengenalan makanan tambahan (PMT) fungsional yang beragam dan berbasis potensi lokal, termasuk makanan fungsional yang mengandung probiotik sebagai upaya diversifikasi makanan tambahan, nampaknya belum banyak digali dan dikembangkan untuk dalam percepatan penanggulangan masalah KEP balita, padahal selain memberikan manfaat gizi, juga dapat memberikan manfaat bagi kesehatan. Menurut Jalal dan Atmojo (1998) secara menyeluruh masalah gizi kurang dapat diatasi dengan secara lebih berkelanjutan dengan pendekatan ketersediaan dan konsumsi pangan (*food based approach*) daripada pendekatan biokimia dan farmasi. Selain itu dilihat dari perspektif ketahanan pangan yang berkelanjutan (*sustainable*), makanan alternatif berbasis potensi pangan lokal dan pola konsumsi setempat merupakan sumberdaya pangan daerah (lokal) yang mempunyai keunggulan komparatif (agro-sosio-ekonomi dan gizi-kesehatan). Sebagai contoh Dadih dapat digolongkan sebagai pangan pencernaan dan pangan probiotik (Winarno, 2007).

Masalah lainnya adalah tidak jarang pangan olahan (termasuk makanan tambahan untuk balita) yang tersedia dan digunakan untuk intervensi gizi pada balita masih menggunakan bahan baku impor, sehingga tidak tersedia setempat. Berdasarkan potensi bahan baku dan pola konsumsi, daerah-daerah dapat dikelompokkan menjadi 4 (empat) tipe yaitu pertanian, pesisir, kapur dan perkotaan (BKP Jatim-Unibraw, 2005). Hasil studi terdahulu (Harijono, dkk, 2002b) menunjukkan konsumsi energi di daerah marjinal (berlahan kering, kapur dan pesisir) terdiversifikasi lebih baik dibandingkan daerah perkotaan. Hampir 10 % dari total asupan energi di daerah kapur berasal dari umbi-umbian, sementara perkotaan hanya mencapai kurang 1,5%, sedangkan di daerah pesisir jagung masih memberikan kontribusi 6 %, Hal serupa terjadi pada pangan sumber protein nabati yang selama ini sangat didominasi kedele. Kedele merupakan sumber protein nabati utama bagi masyarakat, terutama di daerah perkotaan dan lahan basah, namun sumber protein nabati yang berkembang dikelompok masyarakat di daerah-daerah marjinal (lahan kering, pesisir, kapur) lebih banyak mengandalkan pada jenis kacang-kacangan non kedele seperti kacang tunggak, komak, gudhe dan koro-koroan (Harijono, dkk., 2000a). Disinyalir, perbedaan tipe daerah selain memiliki sumber potensi pangan fungsional yang berbeda, juga

menyebabkan perbedaan karakteristik penyakit yang diderita masyarakat, termasuk kelompok usia anak balita.

Disisi lain, cara pengolahan tradisional terhadap sumberdaya jenis-jenis pangan local (alternatif) untuk makanan tambahan (PMT) balita masih belum berkembang mengikuti selera masyarakat yang telah berkembang secara dinamis, baik dari segi kelompok sasaran, jaminan mutu, kepraktisan dalam konsumsi maupun citranya. Hasil Evaluasi WFP dan FKM Unair (2007) menunjukkan bahwa PMT dalam bentuk biskuit yang difortifikasi vitamin dan mineral memiliki daya terima yang baik pada balita. Demikian juga hasil uji penerimaan yang baik terhadap PMT biskuit fungsional berbasis protein ikan, isolat kedelai dan probiotik pada balita gizi kurang di Kabupaten Sukabumi (Laporan sementara HB kemitraan IPB, Dinkes Sukabumi dan PT Saad Bakery,2008).

Oleh karena itu guna mempercepat dan mengoptimalkan penanganan masalah gizi, khususnya KEP pada balita di propinsi yang prevalensinya masih diatas prevalensi nasional, semangat diversifikasi pangan perlu dilandasi inovasi pengembangan formula makanan tambahan (PMT) bagi balita yang mempertimbangkan berbagai aspek yaitu kandungan gizi, fungsional, daya terima, nilai ekonomi, keawetan serta keunggulan sumberdaya lokal. Biskuit yang berbasis protein ikan, kacang-kacangan dan umbi-umbian sebagai prebiotik, yang dikombinasi dengan probiotik adalah salah satu alternative sinbiotik solusi yang tepat. Selain mengandung padat gizi (energy, protein), karena kandungan prebiotik yang bersimbiotik dengan probiotik dapat meningkatkan ketahanan tubuh balita sehingga tidak mudah sakit.

BAB IV METODE PENELITIAN

a. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian pengembangan (replikasi) dari hasil penelitian Hibah Kemitraan IPB, industri dan Dinkes Sukabumi, yang terdiri dari 2 tahap yaitu: **Tahap Pertama** adalah Pengembangan teknologi dan reformulasi produk olahan fungsional (biskuit ikan lele dan isolat kedelai (Clara Kusharto,dkk, 2008) , meliputi: 1) Pengembangan teknologi pembuatan produk biskuit fungsional berbasis sumberdaya pangan lokal (ikan lokal, kacang-kacangan (kedelai), pisang,dll) sebagai sumber prebiotik; 2) Penyusunan formulasi (komposisi) zat gizi biskuit sesuai usia balita dan kondisi fisiologis serta mempertimbangkan selera setempat; 3) Pengkajian kelayakan organoleptik; 4)Uji Efikasi (Pengaruh) pada hewan coba (Tabel 1).

Tabel 1 Jenis, disain dan lokasi Penelitian

Jenis Penelitian	Disain	Lokasi Penelitian	Waktu
1. Reformulasi Biskuit Fungsional berbasis pangan lokal	Rancangan Acak Lengkap (RAL)	Laboraturium Seafast IPB,Bogor Laboraturium Gizi Fema IPB,Bogor	Juli - Agustus 2009
2. Penelitian terhadap hewan coba	Rancangan Acak Lengkap (RAL)	Laboratorium Hean Puslitbang Gizi dan Makanan	September – Oktober 2009
3. Scalling Up formula biskuit		Laboratorium Boga, UNESA	Oktober 2009
4. Pengumpulan data baseline balita sasaran		Kabupaten Bangkalan	Oktober – November 2009

Tahap Kedua adalah Penerapan formula untuk mengetahui efikasi pemberian formula makanan tambahan fungsional pada sasaran berdasarkan tipe agroekologi di Jawa Timur. Tahap ini akan dilakukan dengan alokasi dana dari Hibah tahun ke-2.

b. Tahapan Penelitian

Tahap I (Pertama)

Tahap I adalah Pengembangan teknologi dan mereformulasi produk biskuit berbasis protein ikan lele, isolat kedelai dan probiotik (Hasil penelitian Hibah Kemitraan, Clara dkk,2008) agar memenuhi syarat biskuit dan persyaratan PMT yaitu gizi seimbang, padat energi-protein dan mudah dicernak, serta memiliki daya terima yang baik bagi balita sasaran setempat.

a. Rancangan Penelitian.

Penelitian yang dilakukan pada tahap ini adalah penelitian eksperimen yang dilakukan di Laboratorium. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang dilakukan tanpa pengulangan.

b. Penyusunan Reformulasi Produk

Penyusunan komposisi produk biskuit, terutama ditekankan pada optimasi kandungan energi, protein, lemak dan karbohidrat dengan menggunakan pendekatan perhitungan dengan mengacu komposisi bahan baku sesuai DKBM (Daftar Komposisi Bahan Makanan) Depkes, RI dengan bantuan software Food Processor serta hasil-hasil penelitian sebelumnya yang relevan. Sumber energi adalah gula, margarin, tepung ikan, tepung terigu, tepung garut; sumber protein: tepung ikan, isolat kedelai, susu; sumber lemak adalah margarin, telur dan susu.

Penyusunan formula untuk masing-masing jenis olahan pangan menggunakan pendekatan *Linear Programming* dan *Excel* dengan tujuan penyesuaian kebutuhan gizi sasaran (balita berusia 2-5 tahun) dan minimasi biaya bahan baku.

c. Pengembangan Teknologi

Agar memenuhi persyaratan biskuit dan sekaligus makanan anak balita, pengembangan pangan olahan berupa padatan dan kering yaitu biskuit dapat disajikan dalam beragam bentuk sajian dan cara pengolahan yang digunakan juga bervariasi sesuai daya terima kelompok sasaran (balita) sebagai makanan selingan. Guna menjamin keamanan pangan serta keawetan mutu, dipilih bentuk kemasan yang tepat.

Penambahan probiotik dalam biskuit disajikan dalam bentuk cream, dimana probiotik dilakukan inkapsulasi terlebih dahulu guna memperpanjang daya simpan dan meningkatkan jaminan keamanan dan keawetan mutu, mengadopsi dari hasil penelitian Kusharto dkk (2008).

d. Pengujian Organoleptik (sensori)

Hasil formula pangan olahan yang dikembangkan dilakukan pengujian secara organoleptik oleh panelis di Laboratorium untuk mengevaluasi daya terima produk, meliputi : warna, rasa, tekstur, aroma dan bentuk. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui sifat sikap atau faktor-faktor cita rasa dan daya terima suatu produk.

e. Penelitian pada hewan coba

Biskuit dengan formula terbaik hasil uji organoleptik kemudian dijadikan bahan uji pada hewan coba. Hal ini untuk membuktikan bahwa biskuit yang akan menjadi PMT benar-benar memiliki manfaat untuk meningkatkan status gizi.

Tahap II (Kedua)

Tahap kedua adalah Uji pengaruh (efikasi) pemberian makanan tambahan fungsional berupa biskuit fungsional berbasis pangan lokal (prebiotik) dan probiotik pada kelompok sasaran terpilih (balita gizi kurang dan buruk).

a. Disain penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan desain *Randomized Controlled Trial (RCT) Double Blind*.

b. Tempat dan Waktu penelitian

Penelitian akan dilakukan pada anak balita berusia 2-5 tahun yang menderita gizi kurang dan buruk (nilai Z-core BB/U < -3 SD) di Kabupaten Bangkalan Jawa Timur.

Penelitian akan dilakukan selama 10 bulan, dengan 3 tahapan dengan durasi waktu masing-masing 3 bulan, mulai bulan Nopember 2009 hingga September 2010.

c. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah anak balita berusia 2-5 tahun yang menderita gizi kurang-buruk (nilai Z-core BB/U < -3 SD) di Kabupaten Bangkalan Jawa Timur.

Sampel (unit penelitian) adalah anak balita berusia 2-5 tahun yang menderita gizi kurang (nilai Z-core BB/U < -3 SD) di Kabupaten Bangkalan Jawa Timur, dengan kriteria inklusi sebagaimana pada tabel 2.

Tabel 2 Kriteria Inklusi Untuk Penentuan Sampel

No	Kriteria
1.	Berumur 2 – 5 tahun (12- 59 bulan)
2.	Status gizi kurang (nilai Z-core BB/U < -3 SD)
3	Sehat (tidak menderita infeksi akut dan kronis atau infeksi sekunder) berdasarkan hasil pemeriksaan dokter
4	Tidak mempunyai kelainan kongenital/cacat bawaan
5	Tidak mempunyai alergi berat berdasarkan medical questionnaire
6	Tidak mengkonsumsi antibiotik dan/atau laxative (4 minggu sebelum penelitian)
7	Telah mendapat penjelasan penelitian
8	Menyetujui Informed consent
9	Bersedia untuk mematuhi semua prosedur penelitian
10	Tidak menerima PMT yang serupa dari penelitian lain
11	Tidak berpartisipasi dalam penelitian lain

Dengan menetapkan salah jenis pertama sebesar α , power test sebesar $1-\beta$, dengan standard deviasi σ , dan perbedaan rata-rata respon imun sebesar δ , maka berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Fredrik R (2005) , pengaruh pemberian

biscuit konsentrat protein ikan teri dan probiotik terhadap respon imun humoral (kadar Imonoglobulin A atau IgA) balita memberikan standard deviasi sebesar 16,35. Dengan mengambil salah jenis pertama (tingkat kesalahan) $\alpha=0.05$, and power test sebesar $1-\beta=0.90$ or $\beta=0.1$, $\sigma= 4,62$, $\mu_0 = 8,23$ and $\mu_1 = 19,83$, yang kemudian disubstitusikan kedalam rumus diatas Lemeshow (*Hypothesis test for two population means (two-sided test)*), maka diperoleh :

$$n = \frac{2 \sigma^2 (Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2} = 4$$

Berdasarkan hasil komputasi di atas maka ulangan percobaan akan dilakukan 4 kali perlakuan termasuk control, kemudian ditambah 50% (2) (kemungkinan gagal sehingga jumlah unit percobaan (sampel) yang diperlukan 4 perlakuan adalah $4 \times 6 = 24$ anak balita gizi kurang dan buruk pada setiap tipe wilayah agroekologi.

Sehingga apabila penelitian ini dilakukan di 3 tempat yang memiliki karakteristik yang berbeda (pesisir, pertanian dataran rendah dan pertanian dataran tinggi) maka diperlukan total jumlah anak balita sebagai sampel (unit percobaan) sebesar 3 lokasi x 24 anak balita = 72 anak balita yang menderita gizi kurang dan buruk.

d. Variabel

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh simbiotik pemberian makanan fungsional (biskuit) berbasis pangan lokal (prebiotik) dan probiotik terhadap: 1) status gizi (antropometry: penambahan BB/U, B/U dan BB/TB serta profil darah: Zn dan Vit A) dan 2) respon imun humoral (*leucocytes*) balita gizi kurang dan buruk .

e. Instrumen dan Cara Pengumpulan data

Data yang dikumpulkan terdiri dari data sampel (unit penelitian) anak balita dan keluarganya. Data sampel (unit penelitian) meliputi: identitas (nama, jenis kelamin. Berat lahir, urutan anak keberapa, dll), sosek keluarga, status kesehatan, biokimia darah , ukuran antropometri (BB, PB/TB, asupan makanan, kejadian sakit dan tingkat kepatuhan.. Data dasar (*base line based*) diambil oleh tenaga yang terlatih dan memiliki kompetensi. Jenis dan cara pengumpulan data, disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Jenis dan cara pengumpulan data

No	DATA	Cara Pengukuran atau Pengumpulan
1	Identitas anak balita (nama, jenis kelamin. Berat lahir, urutan anak beberapa, dll)	Wawancara dengan orangtua (pengasuh) anak balita menggunakan kuesioner
2.	Sosial ekonomi keluarga - Pendapatan - Pengeluaran pangan dan non pangan	Wawancara dengan orangtua (pengasuh) anak balita menggunakan kuesioner
	Pendidikan dan pekerjaan orang tua	Wawancara dengan orangtua (pengasuh) anak balita menggunakan kuesioner
	Jumlah anggota keluarga	Wawancara dengan orangtua (pengasuh) anak balita menggunakan kuesioner
3.	Data konsumsi - Sebelum intervensi - Setelah intervensi	Metode food recall 2 x 24 jam Metode food recall 2 x 24 jam
4.	Status kesehatan - Kejadian sakit (morbiditas)	Pemeriksaan klinis dan observasi serta wawancara tenaga medis kepada orangtua (pengasuh) anak balita. Pemeriksaan dilakukan sebelum, selama dan sesudah intervensi dengan periode 1 bulan
5.	Status gizi antropometri - Berat badan (BB) - Tinggi badan (TB) - Status gizi (BB/U, TB/U dan BB/TB)	Penimbangan dengan timbangan berat badan digital secca, denganketelitian 0,01 kg Pengukuran TB dengan microtoise, dengan ketelitian 0,1 cm Perhitungan berdasarkan Z-score dengan standart WHO 2006
6.	Status biokimia - Kadar Zn dalam serum - Kadar Vit A dalam serum	Dengan AAS (Gibson, 2005) Dengan HPLC (Gibson, 2005)
7.	Respon imun humoral (leucocyte)	Dengan metode . . . (BL Chiang, et al, 2000)
8.	Tingkat kepatuhan Pemberian Makanan Tambahan (biskuit fungsional)	Observasi anak dan wawancara dengan orangtua serta nencatat dari catatan petugas (kader) setiap minggu.
	- Jumlah yang diberikan	Dicatat dalam form isian
	- Jumlah yang dikonsumsi	Dicatat dalam form isian
	- Jumlah sisa	Dicatat dalam form isian
	- Siapa yang mengkonsumsi	Dicatat dalam form isian
	- Alasan tidak mengkonsumsi	Dicatat dalam form isian

f. Bahan dan Prosedur Kerja

Makanan tambahan fungsional yang diberikan berupa biskuit fungsional berbasis pangan lokal (tepung protein ikan, tepung garut/tepung ubi), serta diberikan tambahan probiotik yang disajikan dalam bentuk krim.

Makanan tambahan fungsional diberikan kepada anak balita yang menderita gizi kurang setiap hari sebanyak 1 bungkus (sekitar 50 gram atau setara 200 kkal dan 10 g protein) selama 3 bulan (90 hari), sehingga total makanan tambahan yang diberikan kepada unit percobaan (anak balita gizi kurang) selama intervensi sebanyak 90 bungkus biskuit.

Penyelenggaraan

Dalam penelitian akan ada 6 anak balita sebagai kontrol artinya mendapat makanan biskuit non fungsional (non BF) , 6 anak balita mendapat makanan biskuit non fungsional dan probiotik (non BF dan probiotik) serta 6 anak balita mendapat

makanan biskuit fungsional dan probiotik (BF dan probiotik) secara rutin probiotik tiap hari serta 6 anak balita mendapat makanan biskuit fungsional dan probiotik (BF dan probiotik) secara rutin probiotik selang hari dengan jadual setiap hari (Tabel 4).

Tabel 4 Jadual pemberian makanan tambahan pada balita sasaran

Perlakuan PMT	Jumlah anak balita	Jumlah Makanan Tambahan (biskuit) per hari					
		Senin	Selasa	Rabu	Kamis	Jumat	Sabtu
Non BF	6	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g
Non BF + Probiotik	6	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g
BF + Probiotik (rutin tiap hari)	6	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g
BF + Probiotik (selang hari)	6	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g	50 g

Agar anak balita patuh mengkonsumsi biskuit yang diberikan, maka ada sejumlah kader posyandu yang diminta bantuan untuk mengawasi pemberian biskuit sesuai jumlah dan jadual yang telah ditentukan.

g. Manajemen dan Analisa Data

Pengendalian Mutu Data. Untuk menjamin kualitas data yang akan dikumpulkan dalam penelitian ini, dilakukan beberapa langkah pengendalian mutu sebagai berikut:

1. Rekrutmen enumerator kerjasama dengan FKM UNESA sebagai jejaring Pokja PGKM;
2. Pre Test Kuesioner dan Daftar Isian;
3. Verifikasi Data; dan
4. Supervisi

Manajemen Data. Dilakukan meliputi pemeriksaan kelengkapan Data, pengolahan dan analisis data digunakan soft ware SPSS 15,0 for window.

Model Mathematical untuk peubah respon status gizi

$$Y_{pij} = \mu + M_i + \beta_p X_p + \sum_{k=9}^{15} \beta_k X_k + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{pij} = status gizi setelah intervensi pada unit penelitian ke-j dengan keadaan status gizi sebelum intervensi X-p yang mendapat makanan tambahan ke-i (p=1,2,3)

- μ = parameter rata-rata umum dari $Y_{p_{ij}}$
- M_i = Effect pemberian makanan tambahan ke- i , $i=1,2,3,4$
($i=1$ non BF, $i=2$ non BF + probiotik, $i=3$ BF + probiotik, $i=4$ BF + probiotik)
- X_k = peubah pengganggu ($k=1,2,\dots,15$) sesuai definisi operasional
- β_l = parameter koefisien dari peubah pengganggu ($l=1,2,\dots,6$)
- ε_{ij} = efek galat unit penelitian ke- j karena memperoleh makanan tambahan ke-
 i
 $j=1,2,\dots,14$ (j menunjukkan indeks ulangan perlakuan)

Model Matematis untuk peubah respon immune (leucocyte)

$$Y_{p_{ij}} = \mu + M_i + \beta_p X_p + \sum_{k=9}^{15} \beta_k X_k + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

- $Y_{p_{ij}}$ = respon imum (leucocyte) setelah intervensi pada unit penelitian ke- j dengan keadaan respon immune (leucocyte) sebelum intervensi X_p yang mendapat makanan tambahan ke- i ($p=1,2,3$)
- μ = parameter rata-rata umum dari $Y_{p_{ij}}$
- M_i = Effect pemberian makanan tambahan ke- i , $i=1,2,3,4$
($i=1$ non BF, $i=2$ non BF + probiotik, $i=3$ BF + probiotik, $i=4$ BF + probiotik)
- X_k = peubah pengganggu ($k=1,2,\dots,15$) sesuai definisi operasional
- β_l = parameter koefisien dari peubah pengganggu ($l=1,2,\dots,15$)
- ε_{ij} = efek galat unit penelitian ke- j karena memperoleh makanan tambahan ke-
 i
 $j=1,2,\dots,14$ (j menunjukkan indeks ulangan perlakuan)

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Penelitian prebiotik inulin dan FOS terhadap pertumbuhan Probiotik

Penelitian ini terbagi menjadi 2 tahap. Tahap pendahuluan yang meliputi penyegaran kultur yang digunakan menjadi kultur kerja dan pembuatan kurva pertumbuhan *Enterococcus faecium* IS-27526 untuk mengetahui waktu dan jumlah yang tepat untuk ditambahkan ke uji prebiotik. Penelitian utama dilakukan dengan pengujian pengaruh prebiotik terhadap pertumbuhan probiotik *Enterococcus faecium* IS-27526. Hasil pengujian akan dibandingkan dengan dua galur probiotik lainnya, yaitu *L. plantarum* IS-10506 sebagai pembanding dari probiotik isolat dadih dan juga *L. casei* *Shirota strain* sebagai pembanding dari probiotik komersial. Pengujian pembanding dilakukan dengan metode dan pengukuran yang sama.

Kultur

a. Aktivasi Kultur

Enterococcus faecium IS-27526 merupakan strain isolat probiotik dari dadih yang disimpan dalam bentuk kultur kering pada suhu refrigerasi 7-10°C. Kultur kerja dibuat dengan menyegarkan kultur dengan melakukan tahapan aktivasi sebanyak tiga kali mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Surono (2004).

- Aktivasi I

Enterococcus faecium IS-27526 diambil 1 ose untuk disegarkan dalam 10 ml MRSB selama 24 jam pada suhu 37°C.

- Aktivasi II

Pemurnian kultur dilakukan dengan menggores kuadran pada MRSA yang telah ditambahkan dengan indikator *bromcresol purple* (BCP) di cawan petri steril. Hasil goresan diinkubasi pada posisi cawan terbalik dengan suhu 37°C selama 24 jam.

- Aktivasi III

Hasil pemurnian berupa koloni tunggal di MRSA yang dikelilingi daerah berwarna kuning. Koloni tunggal diambil 1 ose kemudian digores ke MRSA agar miring untuk diinkubasi pada 37°C selama 24 jam untuk dijadikan kultur kerja. Kultur kerja dipastikan kemurniannya dengan melakukan pewarnaan gram untuk dilihat penampakan di mikroskop cahaya serta dilakukan uji katalase. Kultur BAL yang positif menampilkan warna ungu tanda gram positif dan tidak adanya gelembung udara sebagai hasil uji katalase negatif. Pengaktifan kultur juga dilakukan pada kultur *Lactobacillus plantarum* IS-10506 yang diperoleh dalam bentuk bubuk kering. Kultur *L. casei* *Shirota strain* tidak diaktivasi, namun digores kuadran untuk memperoleh koloni tunggal.

b. Kurva Pertumbuhan (Surono, 2004)

Enterococcus faecium IS-27526 dari MRSA agar miring diaktifkan terlebih dahulu pada 10 ml MRSB dalam selang waktu 6 jam dalam inkubator 37°C, kemudian dilakukan pengujian kurva pertumbuhan dengan mengambil 2% (v/v) ke dalam 10 ml MRSB. Pengukuran pertumbuhan *Enterococcus faecium* IS-27526 dilakukan dengan pengukuran absorbansi menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm serta penghitungan jumlah total *Enterococcus faecium* IS-27526 yang tumbuh pada media MRSA dengan melakukan pencawan metode agar tuang. Pengukuran dilakukan dari jam ke-0 hingga jam ke-24 setiap 2 jam.

Pengaruh Prebiotik terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecium* IS-27526

a. Tahap Persiapan Pengujian

- Pembuatan m-MRSB

Pembuatan 1 liter MRS basis dilakukan dengan melarutkan Na-asetat.3H₂O 5 gram, MgSO₄.7H₂O 0.2 gram, MnSO₄.4H₂O 0.05 gram dalam sejumlah akuades. Pelarutan pepton 10 gram, lab lemco powder 8 gram, dan yeast extract 4 gram dilakukan dalam sejumlah akuades. Larutan K₂HPO₄ 2 gram dibuat secara terpisah. Ketiga larutan dicampur, ditambahkan 1 ml Tween 80, diaduk sambil dipanaskan, kemudian disterilisasi 121°C selama 15 menit

- Pembuatan larutan stok glukosa dan prebiotik

Larutan stok glukosa 10% (b/v) diperoleh dari pelarutan bubuk glukosa yang kemudian disterilisasi 121°C selama 15 menit. Larutan stok prebiotik inulin dan FOS konsentrasi 10% (b/v) dibuat dengan melarutkan bubuk prebiotik dalam akuades, kemudian disterilisasi 100°C selama 30 menit. Larutan stok glukosa dan prebiotik 10% (b/v) diambil 1% (b/v) secara aseptis untuk pengujian.

b. Tahap Pengujian Aktivitas Prebiotik

Bakteri probiotik *Enterococcus faecium* IS-27526 yang tumbuh di agar miring diambil sejumlah 1 ose kemudian disegarkan terlebih dahulu ke dalam 10 ml MRSB pada inkubator 37°C selama 6 jam. Setelah itu, diambil sejumlah 2% (v/v) kultur segar untuk dimasukkan ke dalam 10 ml MRSB kemudian diinkubasi pada suhu 37°C untuk memperoleh jumlah kultur sekitar log 9. Pengecekan perkiraan jumlah awal dilakukan dengan pengecekan nilai absorbansi dengan spektrofotometer

Kultur awal diambil 1% (v/v), kemudian dimasukkan ke dalam empat jenis media cair untuk pengujian aktivitas prebiotik. Media tersebut adalah m-MRSB, m-MRSB + Glukosa sebagai standar, m-MRSB dengan prebiotik yaitu m-MRSB + Inulin dan m-MRSB + FOS. Kandungan sumber karbon, baik dari glukosa maupun prebiotik, sejumlah 1% (b/v) dari total volume media. Inkubasi kultur dilakukan pada suhu optimum 37°C selama 24 jam (Huebner *et al.*, 2007).

Pengukuran dilakukan dari jam ke-0 hingga jam ke-24 setiap 4 jam, meliputi pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer, pH dengan pHmeter, Total Asam Tertitiasi (TAT), dan penghitungan viabilitas *Enterococcus faecium* IS-27526 dengan pencawanan. Perlakuan pengukuran yang dilakukan terlampir pada Lampiran 1. Pengujian aktivitas prebiotik ini dilakukan dalam dua kali ulangan. Diagram alir pengujian pengaruh prebiotik terhadap pertumbuhan probiotik terlampir pada Lampiran 2.

Screening Pengujian Prebiotik Terhadap *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dan *Lactobacillus casei* Shirota Strain

a. Tahap Persiapan Pengujian

Persiapan pengujian yang dilakukan meliputi persiapan media m-MRSB serta larutan gula. *Screening* yang dilakukan bertujuan untuk melihat aktivitas kedua jenis probiotik, yaitu *Lactobacillus plantarum* IS-10506 dan *Lactobacillus casei* Shirota strain terhadap kisaran konsentrasi 1%, 2% dan 3% prebiotik inulin dan FOS. Larutan prebiotik dari stok 10% disterilisasi terlebih dahulu pada 100°C selama 30 menit.

b. Tahap *Screening*

Tahapan *screening* ini dilakukan dengan probiotik *L. plantarum* IS-10506 dan *L. casei* Shirota strain dengan satu kali ulangan pada media kontrol (m-MRSA) serta prebiotik inulin dan FOS masing-masing dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 3% selama 12 jam dengan pengukuran absorbansi, pH, dan TAT setiap 4 jam. Pencawanan dilakukan pada kondisi awal (0 jam) dan akhir (12 jam) secara duplo pada dua seri pengenceran terbesar. Tahapannya dapat dilihat pada Lampiran 3.

c. Tahap Pengujian Aktivitas Prebiotik

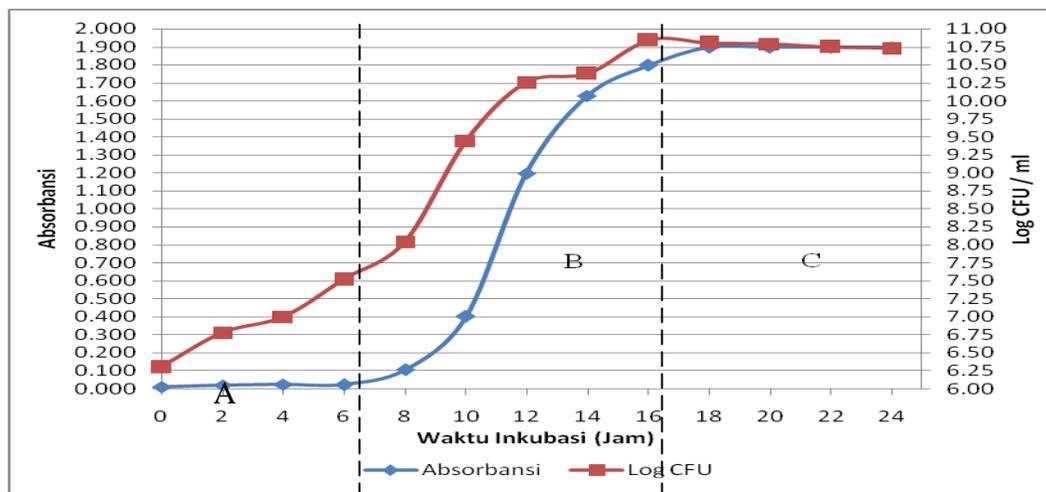
Pengujian perbandingan ini dilakukan dengan melihat pengaruh prebiotik terhadap pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506 dan *L. casei* Shirota strain. Pengujian dilakukan dalam dua kali ulangan tanpa penggunaan media m-MRSB + Glukosa. Pengukuran yang dilakukan meliputi pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer, pH dengan

pHmeter, dan Total Asam Tertitiasi (TAT) dilakukan dari jam ke-0 hingga jam ke-12 setiap 4 jam. Sedangkan pengukuran viabilitas dengan pencawan dilakukan pada jam ke-0 untuk jumlah awal, jam ke-8 untuk jumlah pada awal fase eksponensial, dan jam ke-12 untuk mengetahui jumlah akhir.

HASIL

Kurva Pertumbuhan *E. faecium* IS-27526

Pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 dilakukan dengan dua macam pengukuran, yaitu metode turbidimetri dengan spektrofotometer serta metode hitungan cawan yang mengukur jumlah sel hidup. Metode turbidimetri dilakukan dengan prinsip mengukur kenaikan massa sel. Cahaya yang dibiaskan sumber cahaya akan diserap oleh sel, sehingga semakin tinggi pertumbuhan sel akan memberikan nilai absorbansi yang lebih besar. Hasil pengukuran metode turbidimetri berbanding lurus dengan pencawan pada satuan log cfu/ml dalam pengukuran pertumbuhan *E. faecium* IS-27526. Hasil pengukuran pertumbuhan selama 24 jam menunjukkan kisaran jumlah sel hidup *E. faecium* IS-27526 sebesar $10^6 - 10^{10}$ cfu/ml atau 6 – 10 log cfu/ml.



Gambar 1 Kurva pertumbuhan *E. faecium* IS-27526
(A) Fase Lag; (B) Fase Eksponensial/Log; (C) Fase Stasioner

Pertumbuhan sel pada fase lag cenderung lambat karena adanya adaptasi terhadap media baru, sehingga pada pengukuran absorbansi terlihat sebagai garis lurus. Lay dan Hastowo (1992) menyatakan bahwa pada fase ini tidak terjadi kenaikan

jumlah sel, namun peningkatan ukuran atau besar sel. Fase lag *E. faecium* IS-27526 berlangsung selama 8 jam. Peningkatan absorbansi dan nilai log cfu/ml terjadi mulai dari jam ke-8 – 18 yang merupakan fase eksponensial atau log dari pertumbuhan *E. faecium* IS-27526. Peningkatan terjadi akibat adanya pembelahan biner sel yang meningkatkan jumlah sel hidup sehingga semakin banyak cahaya yang diserap yang membuat nilai absorbansi lebih besar.

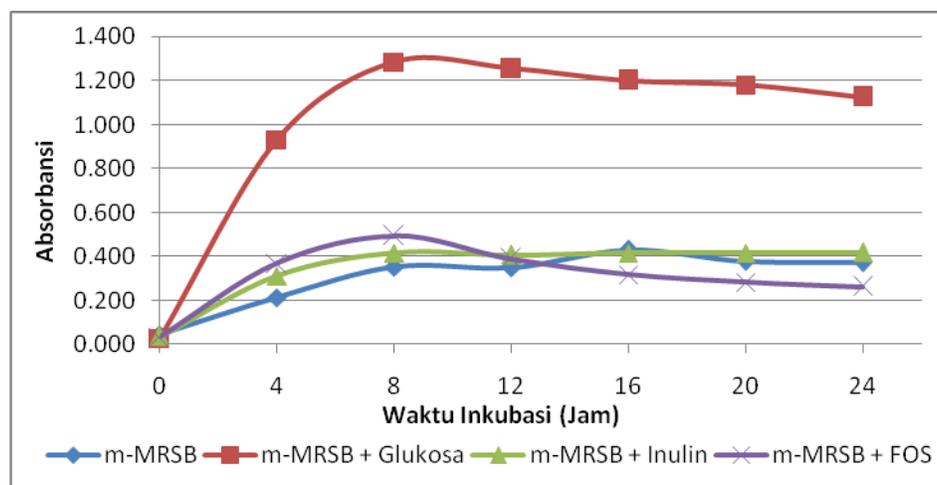
Fase stasioner *E. faecium* IS-27526 terlihat sejak jam ke-18. Nilai absorbansi dan jumlah sel hidup dengan satuan log cfu/ml pada kurva pertumbuhan di fase stasioner menunjukkan garis lurus. Pada fase ini terjadi pertumbuhan sel yang sebanding dengan kematian sel, sehingga jumlah sel yang hidup cenderung konstan pada proses pencawanan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fardiaz (1989b) yaitu populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah walaupun nutrisi sudah mulai habis. White (1995) menyatakan bahwa nilai cahaya yang terserap akan menyimpang dari garis linear apabila densitas sel yang ada sudah sangat tinggi. Nilai absorbansi yang tinggi namun konstan disebabkan fase stasioner sel hidup yang kehabisan nutrisi pada media akan mendegradasi sel yang telah mati sebagai sumber nutrisi dan energinya (Mandelstam dan McQuillen, 1989). Pengukuran massa sel, termasuk dengan metode turbidimetri, tidak akan mengalami perubahan nilai dalam fase stasioner.

Kurva pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 yang dihasilkan belum menunjukkan terjadinya fase kematian karena hingga pengujian di jam ke-24 kurva pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 masih menunjukkan garis lurus yang mengindikasikan fase stasioner. Fase kematian terlihat dari adanya penurunan garis pada kurva pertumbuhan. Pada fase ini terjadi laju kematian sel yang lebih tinggi dibanding dengan laju pertumbuhan sel, sehingga jumlah sel hidup akan berkurang (Pelczar dan Chan, 2008). Fase kematian *E. faecium* IS-27526 terjadi pada waktu lebih dari 24 jam. Sel yang dipindahkan ke media baru akan mengalami fase lag dan lama fase lag ini ditentukan dari usia sel yang dipindahkan. Apabila sel berasal dari fase stasioner, maka banyak sel yang sudah mati akan terbawa yang akan mempengaruhi turbiditas. Selain itu, sel hidup di dalamnya membutuhkan waktu lama untuk pemulihan dari kondisi toksik lingkungan di media lama, seperti adanya kondisi asam, basa, atau alkohol (White, 1995). Apabila berasal dari fase lag, sel masih belum aktif membelah karena masih berada dalam proses pembesaran ukuran sel (Pelczar dan Chan, 2008).

Sel yang berada pada fase eksponensial atau log berada pada kondisi yang aktif membelah dan responsif, sehingga sel pada rentang usia di fase ini dapat dipilih untuk kultur pengujian pengaruh prebiotik. Sel probiotik *E. faecium* IS-27526 yang dipilih untuk pengujian prebiotik adalah sel yang berada pada kondisi awal fase eksponensial atau log. Kondisi ini merupakan kondisi sel yang telah berukuran besar dan telah siap untuk melakukan pertumbuhan dan pembelahan sel (Cooper, 1991). Hal ini didukung pernyataan White (1995) bahwa lama fase lag dapat diminimalkan dengan menggunakan inokulum dari fase eksponensial (log) dan dipindahkan ke media dengan komposisi yang sama.

Pengaruh Prebiotik terhadap Pertumbuhan *E. faecium* IS-27526

Prebiotik yang sudah umum dikenal dan populer digunakan adalah inulin dan fruktooligosakarida (FOS). Prebiotik inulin dan FOS telah banyak diteliti, efeknya hingga secara *in vivo* dan banyak digunakan secara komersial di produk pangan (Rouzaud, 2007). Pengaruh prebiotik terhadap pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 dilihat dari pengukuran absorbansi, pH, Total Asam tertitrisasi (TAT) yang dikonversi menjadi persen asam laktat, dan jumlah sel hidup dengan metode hitungan cawan. Probiotik *E. faecium* IS-27526 ditumbuhkan dalam media m-MRSB yang disuplementasi prebiotik inulin atau FOS kemudian dibandingkan dengan m-MRSB + Glukosa sebagai standar dan m-MRSB sebagai kontrol.

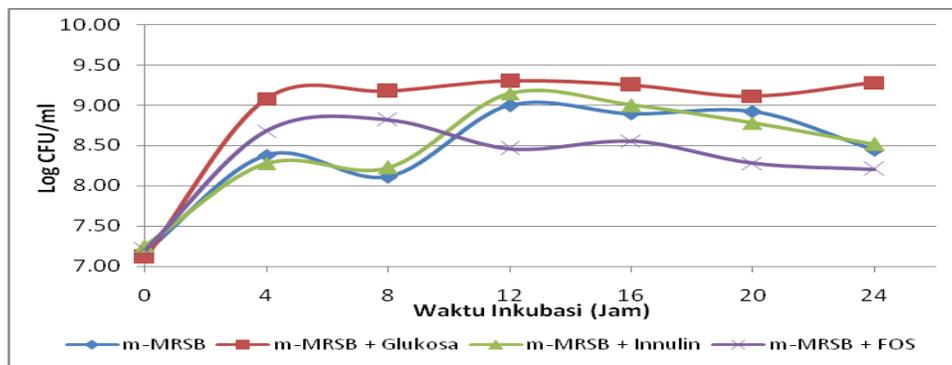


Gambar 2 Pengaruh jenis prebiotik terhadap pertumbuhan (absorbansi) *E. faecium* IS-27526

Gambar 2 menunjukkan hasil pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm yang menggambarkan pertumbuhan probiotik *E. faecium* IS-27526. Metode turbidimetri mengukur pertumbuhan berdasarkan nilai absorbansi, yaitu besarnya penyerapan cahaya oleh sel. Semakin tinggi pertumbuhan sel, maka cahaya terserap akan lebih besar dan nilai absorbansi yang terbaca menjadi lebih besar (Thimann, 1955).

Kurva absorbansi pada waktu inkubasi 24 jam menunjukkan pertumbuhan tertinggi *E. faecium* IS-27526 pada media m-MRSB + Glukosa dengan nilai absorbansi 1,125. Hal ini dikarenakan glukosa adalah sumber karbon paling umum dalam lingkungan dan merupakan pendukung pertumbuhan paling cepat. *E. faecium* IS-27526, yang tergolong dalam Bakteri Asam Laktat (BAL), tumbuh baik di media yang diperkaya glukosa tinggi karena glukosa merupakan sumber karbon utama dan juga merupakan sumber pembentukan asam laktat.

Pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 dalam m-MRSB tanpa suplementasi sumber karbon tergolong rendah. Pot *et al.* (1994) menyatakan bahwa BAL membutuhkan sumber karbohidrat yang dapat difermentasi untuk pertumbuhannya. Absennya sumber karbon membuat pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 tidak sebaik dalam m-MRSB + Glukosa. Selain itu, pertumbuhan dalam m-MRSB hanya mengandalkan sumber nitrogen dan vitamin yang berasal dari pepton, *yeast extract*, dan *lab lemco powder* yang merupakan ekstrak daging. Nilai absorbansi pada m-MRSB + Inulin, m-MRSB + FOS, dan m-MRSB masing-masing sebesar 0.418, 0.263, dan 0.372. Kurva absorbansi menunjukkan adanya tren pertumbuhan, namun setelah itu bersifat statis. Hal ini sesuai dengan kurva hasil hitungan cawan (Gambar 3) yang menunjukkan adanya fase log yang disambung dengan fase stasioner.



Gambar 3 Pengaruh jenis prebiotik terhadap pertumbuhan (log cfu/ml) *E. faecium* IS-27526

Jumlah *E. faecium* IS-27256 pada jam ke-0 berkisar pada 7 log cfu/ml. Hasil pengukuran absorbansi berkorelasi dengan hasil pencawanan dalam satuan log cfu/ml. Pada waktu inkubasi 24 jam, pertumbuhan tertinggi terlihat dari nilai absorbansi dan hitungan cawan tertinggi, yaitu pada nilai absorbansi 1.125 dan menunjukkan 9.3 log cfu/ml pada media m-MRSB + Glukosa. Media dengan sumber karbon glukosa mendukung pertumbuhan sel sehingga jumlah sel hidup tinggi pada metode hitungan cawan dan banyaknya sel meninggalkan nilai penyerapan cahaya atau absorbansi pada metode turbidimetri.

Media m-MRSB memiliki nilai absorbansi 0.372 dan hitungan cawan sebesar dan 8.5 log cfu/ml. Media m-MRSB + Inulin memiliki nilai absorbansi 0.418 dan hitungan cawan sebesar 8.4 log cfu/ml. Sedangkan pada waktu inkubasi 24 jam, pertumbuhan terendah terlihat pada media m-MRSB + FOS dengan nilai absorbansi dan hitungan cawan terendah sebesar 0.218 dan 8.2 log cfu/ml. Umumnya, semakin tinggi nilai absorbansi menunjukkan pertumbuhan yang semakin tinggi, demikian juga pada metode hitungan cawan yang melihat pertumbuhan sel hidup (White, 1995). Gambar 4 menunjukkan bahwa *E. faecium* IS-27526 pada media m-MRSB masih dapat mengalami pertumbuhan, namun tidak secepat pertumbuhan pada media m-MRSB + Glukosa. Media m-MRSB merupakan media MRSB modifikasi tanpa sumber karbon yang terdiri dari mineral, vitamin, dan protein. Lingkungan tumbuh yang kekurangan sumber karbon membuat *E. faecium* IS-27526 memanfaatkan sumber lain untuk menunjang pertumbuhannya.

E. faecium IS-27526, yang tergolong sebagai BAL, dapat tumbuh mengandalkan asam amino sebagai sumber energi dalam kondisi lingkungan yang kritis sumber karbon. Hal ini sesuai pernyataan Surono (2004) bahwa BAL membutuhkan nutrisi kompleks untuk pertumbuhannya, yaitu asam amino dan vitamin. Kedua nutrisi ini dapat diperoleh dari kandungan MRSB yaitu *yeast extract*, *lab lemco powder* yang merupakan ekstrak daging, serta pepton. Ditegaskan juga bahwa vitamin, khususnya niasin dan asam pantotenat, berperan esensial pada pertumbuhan BAL dan dapat diperoleh dari *yeast extract*.

Clifton (1958) menyatakan pepton dapat berperan sebagai sumber penyedia karbon dan nitrogen, serta menyuplai elemen anorganik untuk pertumbuhan bakteri. Penelitian serupa telah dilakukan oleh Audisio *et al.* (2007) yang menumbuhkan *E. faecium* CRL 1385 pada media tanpa glukosa, dengan glukosa, dengan gula merah,

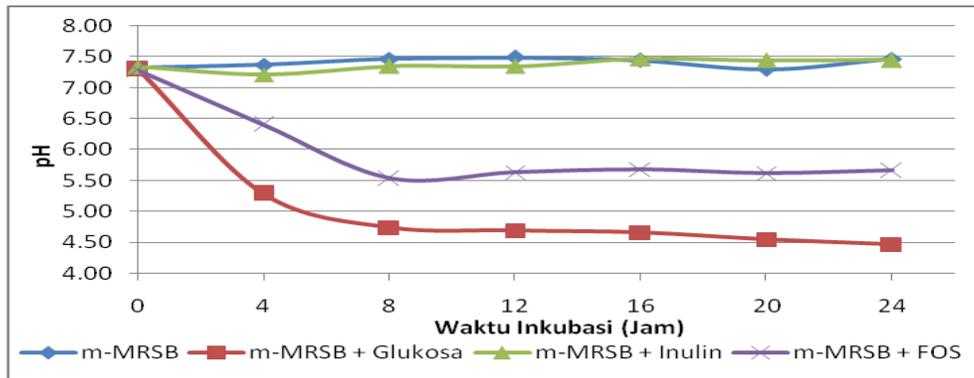
serta dengan penambahan gula putih. Media basis yang digunakan adalah LAPT yang mengandung *meat peptone*, *yeast extract*, dan Tween 80. Hasil penelitian menunjukkan adanya pertumbuhan *E. faecium* CRL1385 pada media tanpa glukosa, yaitu sekitar 8.5 – 9.0 log cfu/ml. Pada taraf signifikansi 5%, pertumbuhan *E. faecium* CRL 1386 tidak berbeda nyata pada tiap media dilihat dari nilai laju pertumbuhannya.

Kurva pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 juga menunjukkan bahwa tren pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 pada media m-MRSB + Inulin menyerupai kurva pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 pada media m-MRSB (Gambar 3). Hal ini mengindikasikan bahwa pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 memanfaatkan komposisi m-MRSB dan tidak didukung dengan pemanfaatan inulin oleh *E. faecium* IS-27526. Jumlah sel hidup *E. faecium* IS-27526 dalam media m-MRSB + FOS sebesar 8.7 log cfu/ml pada jam ke-4, kemudian meningkat menjadi 8.8 log cfu/ml pada waktu inkubasi 8 jam. Namun, terjadi penurunan menjadi 8.5 log cfu/ml ketika waktu inkubasi 12 jam dan 8,2 log cfu/ml pada waktu inkubasi 24 jam. Pada Gambar 4 terlihat bahwa kurva pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 optimum pada jam ke-8, namun mengalami penurunan setelahnya. Peningkatan jumlah sel hidup pada media m-MRSB + FOS mengindikasikan bahwa *E. faecium* IS-27526 dapat memanfaatkan FOS untuk pertumbuhannya, namun dengan segera mengalami penurunan pertumbuhan.

Penurunan jumlah sel hidup disebabkan karena berkurangnya jumlah FOS sebagai sumber nutrisi bagi pertumbuhan *E. faecium* IS-27526. Konsentrasi FOS yang ditambahkan ke dalam media m-MRSB adalah 1% (b/v). Fardiaz (1989b) menyatakan bahwa pada fase log pertumbuhan jumlah sel sensitif terhadap lingkungan dan dapat diperlambat oleh kurangnya zat nutrisi pada media hingga sel akan memasuki fase stasioner. Dinyatakan juga bahwa nutrisi penting untuk membentuk energi dan menyusun komponen sel.

Karakteristik pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 yang memanfaatkan FOS dapat ditingkatkan apabila diberikan konsentrasi yang lebih tinggi sehingga pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 optimum. Penambahan jumlah nutrisi dapat meningkatkan jumlah sel yang ada karena terjadi sintesis RNA, DNA, dan protein baru secara cepat sehingga dapat meningkatkan kecepatan pembelahan sel (Mandelstam dan McQuillen, 1989). Pengukuran pH setelah waktu inkubasi 24 jam menunjukkan bahwa media m-MRSB + Glukosa memiliki pH terendah, yaitu terjadi penurunan dari pH 7.30 di jam ke-0 menjadi 4.47. Hal ini mengindikasikan paling tingginya pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 sesuai

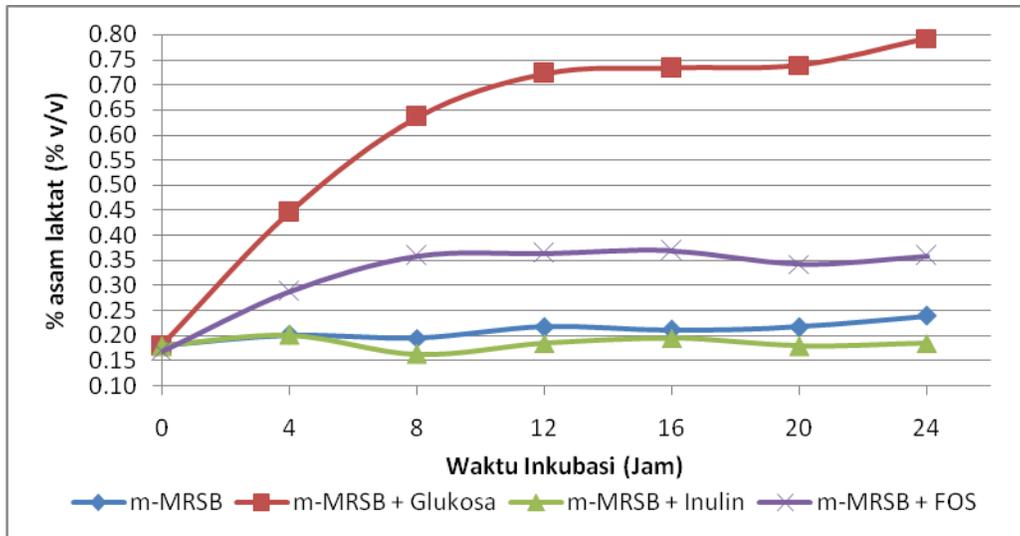
dengan pengukuran absorbansi dan hitungan cawan. Hasil pengukuran pH dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Pengaruh jenis prebiotik terhadap nilai pH media selama pertumbuhan *E. faecium* IS-27526

E. faecium IS-27526 merupakan probiotik yang tergolong dalam BAL homofermentatif yang melakukan fermentasi asam laktat yang mengubah karbohidrat hampir seluruhnya menjadi produk tunggal, yaitu asam laktat (Madigan et al., 1997 dalam Surono, 2004b). BAL homofermentatif dapat mengubah 95% glukosa atau heksosa lainnya menjadi asam laktat dan sejumlah kecil CO₂ (Rahman et al., 1992). Sumber karbohidrat yang dapat difermentasi meliputi glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa, maltosa, laktosa, dekstrin, sorbitol, dan manitol (Gilliland, 1986). Surono (2004b) menyatakan bahwa BAL homofermentatif menghasilkan 2 molekul asam laktat dari heksosa apapun yang dapat difermentasi, termasuk fruktosa. BAL homofermentatif menghasilkan asam laktat lebih banyak yang dapat menurunkan pH.

Hasil pengukuran pH sebanding dengan hasil pengukuran TAT (% asam laktat). Pengukuran ini dapat mengindikasikan banyaknya asam laktat yang terbentuk. Semakin tinggi total asam yang terbentuk pada media menandakan semakin tingginya asam laktat yang dihasilkan oleh *E. faecium* IS-27526, karena homofermentatif, sehingga hampir seluruh produk fermentasi yang dibentuk adalah asam laktat. Hasil pengukuran TAT (% asam laktat) dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5 Pengaruh jenis prebiotik terhadap nilai TAT (% asam laktat) media selama pertumbuhan *E. faecium* IS-27526

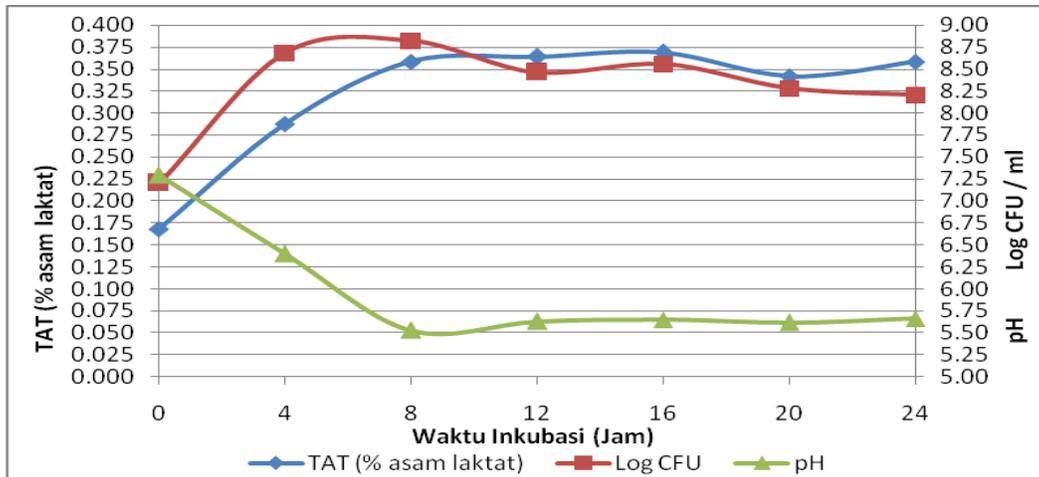
Setelah waktu inkubasi 24 jam, nilai TAT (% asam laktat) yang tertinggi diperoleh pada media m-MRSB + Glukosa, yaitu 0.7925% asam laktat, karena glukosa merupakan sumber karbon paling umum dalam membentuk asam laktat. Selain nilai TAT (% asam laktat) tertinggi, media m-MRSB + Glukosa memiliki nilai pH terendah yaitu 4,47. Gambar 8 menunjukkan nilai pH m-MRSB dan media m-MRSB + Inulin pada jam ke-0 adalah 7.33 dan 7.34. Setelah 24 jam, kondisi pH media m-MRSB dan media m-MRSB + Inulin masih berkisar pada pH 7, masing-masing sebesar 7.46 dan 7.45. Hal ini mengindikasikan tidak terjadi pembentukan asam laktat yang dapat menurunkan pH media m-MRSB dan m-MRSB + Inulin. Nilai TAT (% asam laktat) media m-MRSB dan m-MRSB + Inulin, yaitu 0.2389% dan 0.1846%, tergolong rendah karena tidak ada sumber karbon yang dapat difermentasi oleh *E. faecium* IS-27526.

Probiotik *E. faecium* IS-27526 tidak dapat memanfaatkan inulin dalam pertumbuhannya karena kurva pertumbuhannya memiliki kesamaan dengan kurva pertumbuhan pada m-MRSB sebagai kontrol. Selain itu, pengukuran pH dan TAT (% asam laktat) menunjukkan bahwa media yang mengandung inulin tidak memberikan perubahan pH dan TAT (% asam laktat). Hal ini menunjukkan bahwa *E. faecium* IS-27526 tidak dapat memanfaatkan inulin untuk proses fermentasi asam laktat yang akan membentuk energi untuk pertumbuhan. Media m-MRSB + FOS mengalami penurunan pH dari 7.29 menjadi 5.56 dengan nilai TAT (% asam laktat) sebesar 0.3583% pada waktu inkubasi 24 jam. Hasil kedua pengukuran ini menunjukkan *E. faecium* IS-27526

mampu memfermentasi FOS sehingga menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan pH media. Berbagai monosakarida dimetabolisme oleh BAL menjadi glukosa-6-fosfat atau fruktosa-6-fosfat dalam tahapan glikolisis atau jalur Embden Meyerhoff Parnas (EMP) (Surono, 2004b). FOS merupakan oligosakarida yang tersusun atas satu monomer glukosa dan monomer-monomer fruktosa yang jumlahnya tergantung pada nilai derajat polimerisasi (DP). FOS memiliki DP antara 2 – 8 (De Leenheer dan Hoebregs, 1994 dalam Franck dan De Leenheer, 2005).

Prebiotik FOS yang dapat dipecah oleh enzim β -fruktosidase, akan menghasilkan glukosa dan fruktosa. Molekul monosakarida ini akan masuk ke tahap glikolisis kemudian menghasilkan asam piruvat, 2 molekul *adenosine triphosphate* (ATP), dan 2 molekul NADH. Asam piruvat diubah oleh enzim laktat dehidrogenase menjadi asam laktat dengan mengubah 2 molekul NADH menjadi 2 molekul NAD^+ . Prinsip fermentasi asam laktat adalah transfer H^+ dari NADH kepada gugus karbonil dari piruvat sehingga piruvat tereduksi menjadi laktat (Bertoni, 2007). Fermentasi asam laktat dengan memanfaatkan FOS yang dilakukan oleh *E. faecium* IS-27526 menghasilkan ATP. Peran ATP sangat penting dalam proses pertumbuhan karena merupakan sumber energi dalam aktivitas sel, salah satunya adalah pertumbuhan (Bertolani, 2007). Hal ini sesuai dengan hasil hitungan cawan bahwa media m-MRSB + FOS mengalami pertumbuhan mencapai fase log dengan jumlah sel hidup tertinggi 8.8 log cfu/ml pada waktu inkubasi 8 jam. Namun, setelah itu terjadi akhir fase log yang dilanjutkan dengan penurunan jumlah sel hidup. Penurunan ini disebabkan telah terjadi kekurangan nutrisi sehingga *E. faecium* IS-27526 tidak dapat melakukan pembelahan sel lagi.

Hasil pengukuran hitungan cawan (log cfu/ml), pH, dan TAT (% asam laktat) pada media m-MRSB + FOS dapat dilihat pada Gambar 6. Pada gambar tersebut terlihat bahwa peningkatan pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 terjadi hingga jam ke-8. Selama peningkatan pertumbuhan, media menunjukkan peningkatan TAT (% asam laktat) sehingga media menjadi semakin asam dengan nilai pH yang menurun. Nilai pH dan TAT (% asam laktat) media cenderung konstan setelah 8 jam inkubasi. FOS sebagai sumber nutrisi telah dimanfaatkan oleh *E. faecium* IS-27526 untuk difermentasi membentuk asam laktat, sehingga tidak ada lagi sumber karbon untuk membentuk asam laktat baru yang dapat menurunkan pH media kembali. Tidak berlangsungnya fermentasi asam laktat menyebabkan minimnya jumlah ATP yang dapat digunakan untuk mendukung pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 sehingga setelah 8 jam pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 cenderung menurun.



Gambar 6 Pengaruh prebiotik FOS terhadap pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 (log cfu/ml), pH media, serta nilai TAT (% asam laktat)

E. faecium IS-27526 dapat memanfaatkan FOS untuk difermentasi membentuk asam laktat yang menurunkan pH media dan meningkatkan TAT (% asam laktat). Selain itu, dihasilkan juga ATP yang digunakan untuk mendukung aktivitas pertumbuhannya hingga mencapai jumlah sel tertinggi pada fase log sebesar 8.8 log cfu/ml. Jumlah sel hidup atau kurva pertumbuhan dapat ditingkatkan dengan penambahan konsentrasi FOS hingga optimum. Konsentrasi FOS dalam media pengujian ini adalah 1% (b/v). Pertumbuhan optimum *E. faecium* IS-27526 terjadi pada waktu inkubasi 12 jam dalam media m-MRSB + Glukosa dengan jumlah sel hidup 9.3 log cfu/ml, nilai absorbansi 1.255, pH media 4.69, serta nilai TAT (% asam laktat) pada media sebesar 0.7219%. Pertumbuhan dikatakan optimum merujuk pada jumlah sel hidup tertinggi dan menunjukkan pertumbuhan sel tertinggi untuk pengukuran lainnya, yaitu nilai absorbansi tertinggi, pH media terendah, dan TAT (% asam laktat) tertinggi dalam media.

Pada waktu inkubasi yang sama, pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 pada media m-MRSB + Inulin ditunjukkan dengan jumlah sel hidup sebesar 9.1 log cfu/ml, nilai absorbansi 0.407, pH media 7.34, serta nilai TAT (% asam laktat) 0.1846%. Media m-MRSB sebagai kontrol menunjukkan pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 dengan jumlah sel hidup sebesar 9.0 log cfu/ml, nilai absorbansi 0.349, pH media 7.49, serta nilai TAT (% asam laktat) media sebesar 0.2171%. Pertumbuhan *E. faecium* IS-27526 pada media m-MRSB + FOS ditunjukkan dengan jumlah sel hidup sebesar 8.5 log cfu/ml, nilai absorbansi 0.389, pH media 5.63, serta nilai TAT (% asam laktat) 0.3637%.

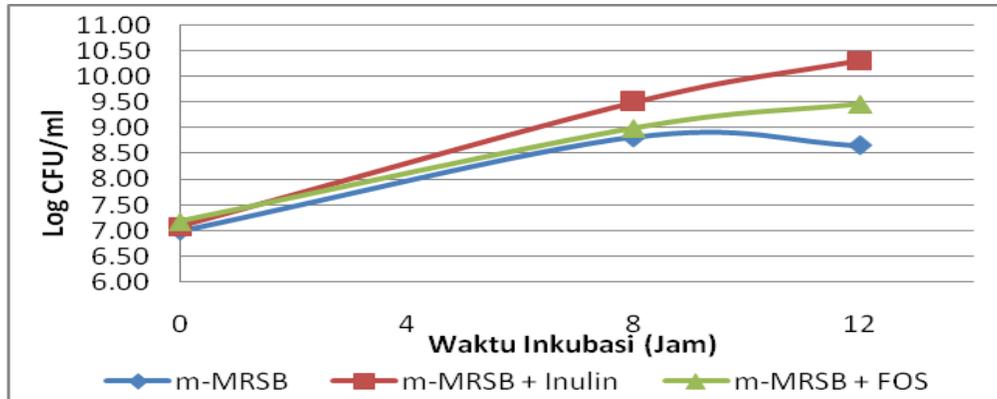
Penelitian yang telah dilakukan oleh Audisio *et al.* (2001) melihat efek prebiotik dari berbagai sumber karbohidrat kompleks terhadap *E. faecium* CRL1385. Hasil

pertumbuhan *E. faecium* tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan 5% di antara kontrol tanpa sumber karbon, penambahan gula putih, penambahan gula merah, serta penambahan glukosa. Penelitian Huebner *et al.* (2007) menunjukkan bahwa strain dari spesies probiotik yang sama, yaitu *L. plantarum* 4008 dan 12006, menunjukkan skor aktivitas prebiotik yang berbeda. Huebner *et al.* (2007) juga menyatakan adanya hubungan antara strain dengan kapasitas metabolik yang berbeda. Pemanfaatan prebiotik oleh BAL membutuhkan keberadaan sistem transportasi dan hidrolisis yang spesifik (Barrangou *et al.*, 2003 dalam Huebner *et al.*, 2007). Perbedaan strain ini dikarenakan perbedaan pengkodean gen dalam sistem metabolik yang berpengaruh terhadap skor aktivitas prebiotik (Huebner *et al.*, 2007).

Pengaruh Prebiotik terhadap Pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506

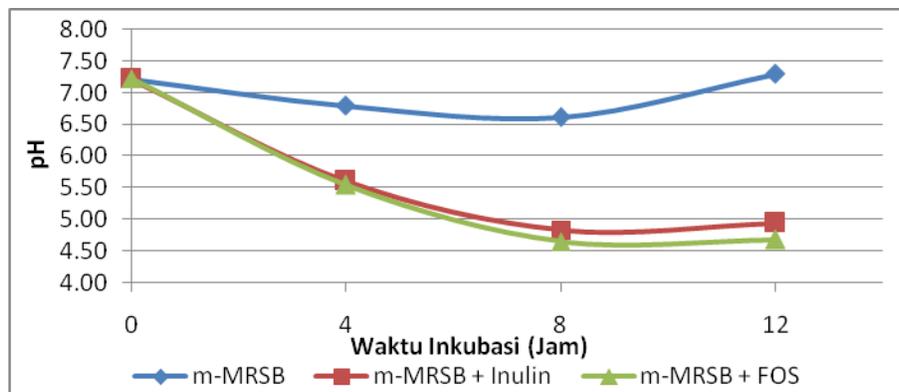
Pengujian efek prebiotik terhadap strain *E. faecium* IS-27526 dibandingkan dengan kedua strain lainnya, yaitu *L. plantarum* IS-10506 isolat dadih dan juga *L. casei* strain Shirota sebagai probiotik komersial. Pengukuran yang dilakukan adalah pH media dan TAT (% asam laktat) setiap 4 jam hingga waktu inkubasi 12 jam. Penghitungan sel hidup dengan mencawakan kultur dilakukan pada jam ke-0, 8, dan 12. Pengujian ini tidak menggunakan standar m-MRSB + Glukosa.

Huebner *et al.* (2007) dengan penelitian serupa menunjukkan jumlah log cfu/ml *Lactobacillus* serta *Bifidobacterium* paling optimum pada media standar glukosa. Pembuktian teori bahwa BAL memerlukan glukosa untuk tumbuh optimum telah terlihat dari pengujian terhadap probiotik *E. faecium* IS-27526. Pola pertumbuhan BAL pada media glukosa diperkirakan akan sama, yaitu menunjukkan hasil paling optimum, sehingga penggunaan standar glukosa tidak lagi digunakan pada *L. plantarum* IS-10506 dan *L. casei* strain Shirota. Pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506 tertinggi pada media m-MRSB + Inulin sebesar 10.3 log cfu/ml di jam ke-12. Jumlah sel yang tumbuh pada media m-MRSB + FOS di jam yang sama adalah sebesar 9.5 log cfu/ml. Pada jam tersebut, jumlah sel terendah diperoleh pada media kontrol m-MRSB yaitu 8.7 log cfu/ml. Hasil hitungan cawan dapat dilihat pada Gambar 7.



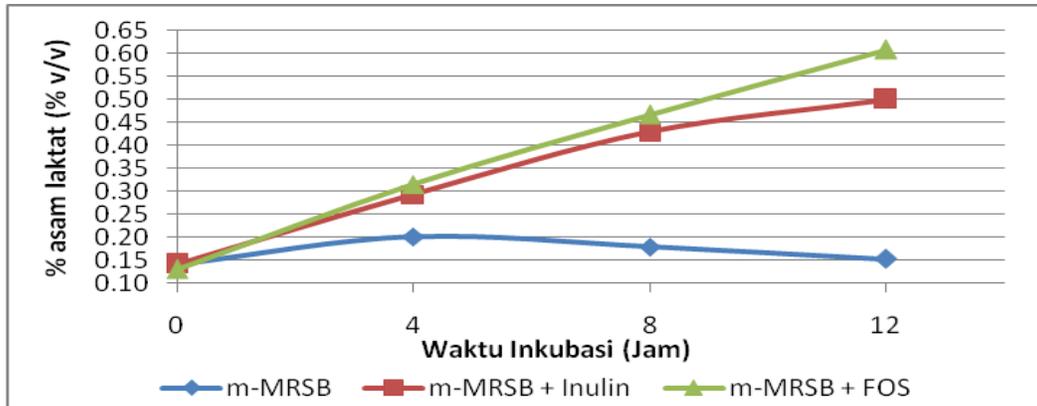
Gambar 7 Pengaruh jenis prebiotik terhadap pertumbuhan (log cfu/ml) *L. plantarum* IS-10506

Hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa pH media m-MRSB + Inulin serta m-MRSB + FOS, masing-masing bernilai 7.23 dan 7.22 pada jam ke-0, mengalami penurunan menjadi 4.94 serta 4.69 pada jam ke-12. Nilai pH media m-MRSB masih berada pada kisaran pH 7, yaitu pada jam ke-0 dan jam ke-12 adalah 7.22 dan 7.30. Gambar 8 menunjukkan bahwa pH media yang mengandung prebiotik lebih asam dibanding kontrol.



Gambar 8 Pengaruh jenis prebiotik terhadap nilai pH media selama pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506

Nilai pH hasil pengukuran sesuai dengan hasil perhitungan TAT (% asam laktat). Pada waktu inkubasi 12 jam, nilai TAT (% asam laktat) yang tertinggi diperoleh pada media m-MRSB + FOS sebesar 0.6080%, disusul oleh m-MRSB + Inulin sebesar 0.4994%, dan terendah pada media m-MRSB sebesar 0.1520%. Nilai TAT (% asam laktat) pada media yang mengandung prebiotik lebih tinggi dibanding dengan kontrol (Gambar 9).



Gambar 9 Pengaruh jenis prebiotik terhadap nilai TAT (% asam laktat) pada media selama pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506

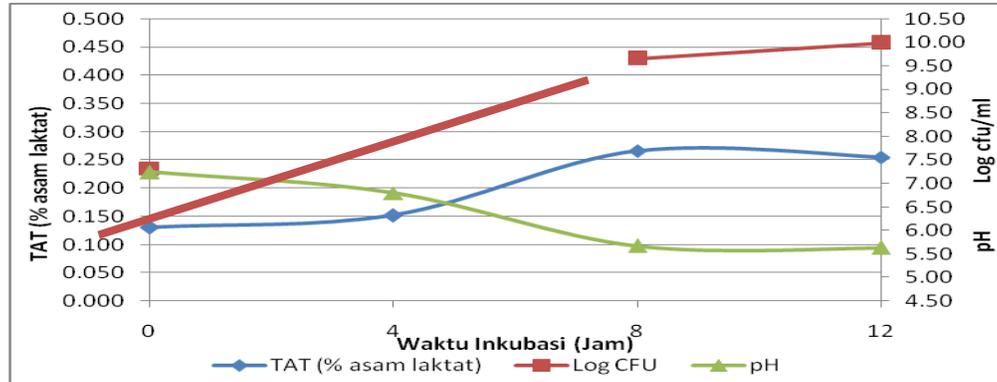
Sumber karbon dapat dimetabolisme oleh BAL melalui jalur EMP menghasilkan 2 mol asam laktat serta 2 mol ATP dari 1 molekul heksosa pada kondisi normal (Surono, 2004b). *L. plantarum* IS-10506, yang merupakan BAL, dapat memfermentasi inulin dan FOS menjadi asam laktat. Asam laktat merupakan asam yang mudah terdisosiasi membentuk ion H^+ dan ion $CH_3CHOHCOO^-$. Semakin tinggi konsentrasi asam laktat akan menghasilkan konsentrasi ion H^+ yang semakin tinggi sehingga pH menjadi semakin asam (Helferich dan Westhoff, 1980).

Pertumbuhan optimum *L. plantarum* IS-10506 ditunjukkan pada waktu inkubasi 12 jam ditunjukkan pada media m-MRSB + Inulin dengan jumlah sel hidup 10.3 log cfu/ml, pH media 4.94, dan TAT (% asam laktat) media sebesar 0.4994%. Pada waktu inkubasi yang sama, pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506 pada media m-MRSB + FOS memiliki jumlah sel hidup 9.5 log cfu/ml, pH media 4.69, dan TAT (% asam laktat) media sebesar 0.6080%. Media m-MRSB menunjukkan pertumbuhan sel terendah, yaitu 8.7 log cfu/ml, pH media 7.30, dan TAT (% asam laktat) media sebesar 0.1520%.

Hasil pengujian menunjukkan probiotik *L. plantarum* IS-10506 dapat tumbuh dan memanfaatkan prebiotik inulin dan FOS menjadi asam laktat yang menurunkan pH media. Jenis prebiotik yang signifikan berpengaruh ditentukan dengan analisis statistik menggunakan ANOVA. Hasil analisis menunjukkan adanya pengaruh nyata dari jenis media, waktu inkubasi, serta interaksi keduanya terhadap pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506. Analisis lanjutan dengan uji Tukey digunakan untuk menganalisis interaksi antara variabel jenis media dan waktu inkubasi.

L. plantarum IS-10506 dapat memanfaatkan prebiotik inulin dan FOS, namun tumbuh lebih cepat dengan prebiotik inulin dibanding FOS. Hasil pengukuran hitungan

cawan, pH media, dan TAT (% asam laktat) pada media m-MRSB + Inulin terhadap pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506 dapat dilihat pada Gambar 10. Selama pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506, terjadi penurunan pH dan peningkatan nilai TAT (% asam laktat) secara bertahap.



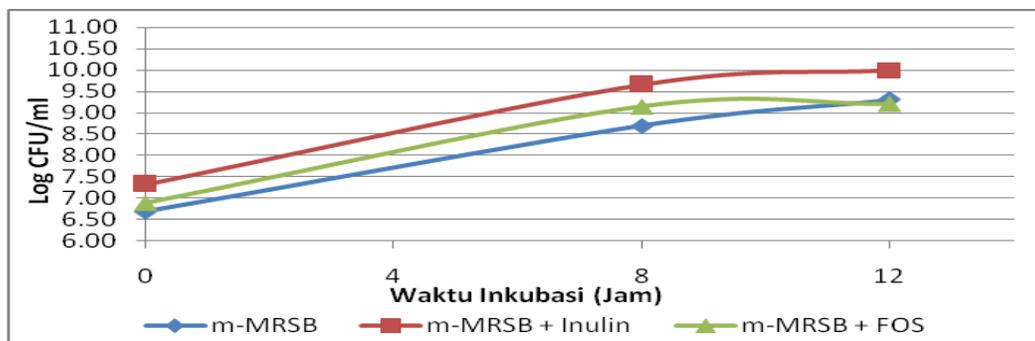
Gambar 10 Pengaruh prebiotik inulin terhadap pertumbuhan *L. plantarum* IS-10506 (log cfu/ml), pH media, serta nilai TAT (% asam laktat)

L. plantarum IS-10506 menunjukkan adanya kemampuan untuk memecah ikatan pada rantai panjang inulin. Inulin umumnya dapat dipecah dengan enzim inulinase yang didominasi β -fruktosidase yang dapat dijumpai pada beberapa tanaman dan mikroorganisme (kapang, khamir, dan bakteri). Inulinase memotong unit fruktosa dari ujung yang tidak tereduksi atau dari posisi fruktosa tertentu (Molina *et al.*, 2005). Penelitian yang dilakukan Saulnier *et al.* (2007) menunjukkan bahwa *L. plantarum* WCFS1 tidak dapat tumbuh dengan baik menggunakan FOS dari pengukuran OD_{600 nm} setelah 24 jam inkubasi. Penelitian yang dilakukan oleh Huebner *et al.* (2007) menunjukkan bahwa strain berbeda dari *L. plantarum* menunjukkan skor aktivitas prebiotik yang berbeda.

Jenis prebiotik sama yaitu inulin dan FOS dapat mendukung pertumbuhan *L. plantarum* 4008 dengan baik, namun tidak dapat dimanfaatkan oleh *L. plantarum* 12006. Kemampuan tumbuh dengan memanfaatkan 2% FOS yang ditambahkan pada MRSB kontrol tanpa glukosa terlihat baik pada *L. plantarum* strain DL6 namun tidak demikian dengan *L. plantarum* strain GL2 (Pennachia *et al.*, 2006). Penelitian pada manusia menunjukkan biskuit yang mengandung FOS tidak memberi efek signifikan terhadap total *Lactobacillus* sp dan *Enterococcus* sp. setelah konsumsi biskuit dengan ataupun tanpa FOS. Namun terjadi peningkatan nominal sebesar 0.2 terhadap jumlah total *bifidobacteria* pada satuan log 10 cfu/g feses (Tuohy *et al.*, 2001).

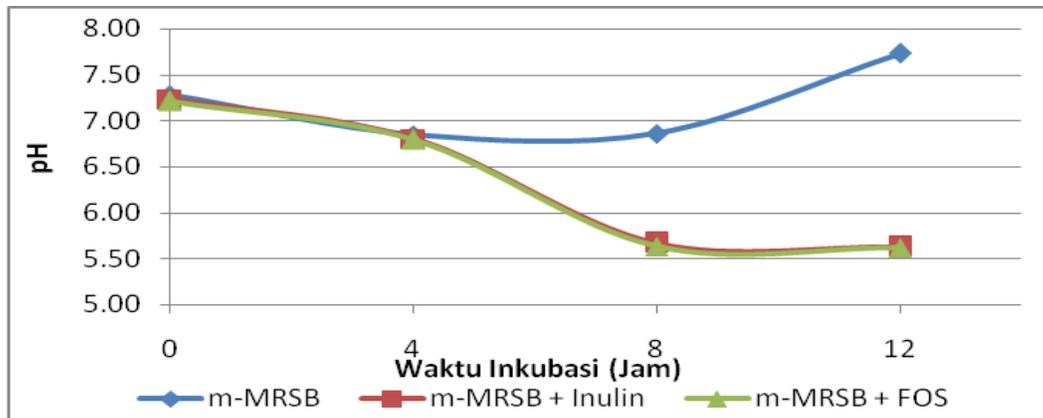
Pengaruh Prebiotik terhadap Pertumbuhan *L. casei* strain Shirota

Pengujian pengaruh prebiotik dilakukan pada *L. casei* strain Shirota mewakili probiotik komersial. Pengujian dilakukan dengan metode sama seperti *L. plantarum* IS-10506. Pengukuran yang dilakukan antara lain pengukuran pH media dan TAT (% asam laktat) setiap 4 jam selama 12 jam, sedangkan jumlah sel hidup dicek dengan metode hitungan cawan pada jam ke-0, 8, dan 12. Pertumbuhan tertinggi *L. casei* strain Shirota diperoleh pada waktu inkubasi 12 jam pada media m-MRSB + Inulin sebesar 10.0 log cfu/ml. *L. casei* strain Shirota pada media m-MRSB + FOS dan m-MRSB sebesar 9.2 dan 9.3 log cfu/ml. Gambar 11 menunjukkan hasil hitungan cawan *L. casei* strain Shirota.



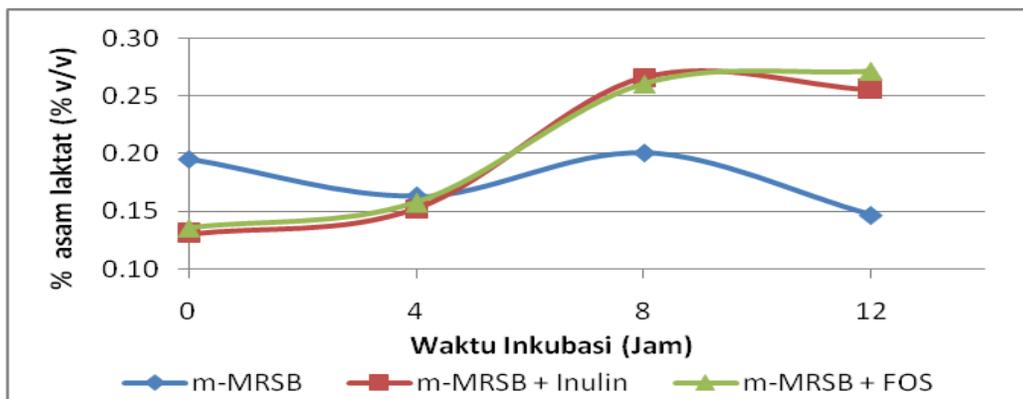
Gambar 11 Pengaruh jenis prebiotik terhadap pertumbuhan (log cfu/ml) *L. casei* strain Shirota

Kondisi awal pH media m-MRSB pada jam ke-0 tidak menunjukkan kondisi asam, yaitu 7.28, dan masih berkisar pada pH 7 setelah inkubasi 12 jam yaitu sebesar 7.73. Media m-MRSB + Inulin dan m-MRSB + FOS memiliki pH awal 7.24 dan 7.21. Setelah inkubasi 12 jam, nilai pH masing-masing menurun menjadi 5.63 dan 5.62. Penelitian Smiricky-Tjardes *et al.* (2003) menunjukkan bahwa fermentasi prebiotik FOS secara *in vitro* pada mikrobiota dari feses babi mengalami penurunan pH hingga 5.1 setelah waktu inkubasi 12 jam.



Gambar 12 Pengaruh jenis prebiotik terhadap nilai pH media selama pertumbuhan *L. casei* strain Shirota

Hasil pengukuran pH sesuai dengan pengukuran TAT (% asam laktat) (Gambar 18). Setelah waktu inkubasi 12 jam, nilai TAT (% asam laktat) pada media m-MRSB, m-MRSB + Inulin, dan m-MRSB + FOS secara berturut-turut adalah 0.1466%, 0.2551%, dan 0.2714%. Nilai TAT (% asam laktat) media prebiotik lebih tinggi dibanding kontrol m-MRSB, sesuai dengan nilai pH media mengandung prebiotik yang lebih rendah dibanding pH m-MRSB.



Gambar 13 Pengaruh jenis prebiotik terhadap nilai TAT (% asam laktat) media selama pertumbuhan *L. casei* strain Shirota

Asam laktat merupakan produk akhir dari metabolisme karbohidrat oleh BAL. Sumber karbohidrat yang dapat difermentasi meliputi glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa, maltosa, laktosa, dekstrin, sorbitol, dan manitol (Gilliland, 1986). Namun, proses pembentukan asam laktat juga dapat terjadi dari sumber campuran sukrosa, glukosa, dan fruktosa (Budiyanto, 2002). Inulin dan FOS merupakan bentuk polimer dan oligomer dari glukosa dan fruktosa karena strukturnya berupa GF_n (Gibson dan Angus, 2000). Inulin dan FOS yang dipecah ikatan polimer dan oligomernya menghasilkan satu

monomer glukosa dan monomer-monomer fruktosa yang dapat digunakan untuk membentuk asam laktat. Penumpukan asam laktat dapat menyebabkan penurunan pH (Naidu dan Clemens, 2000).

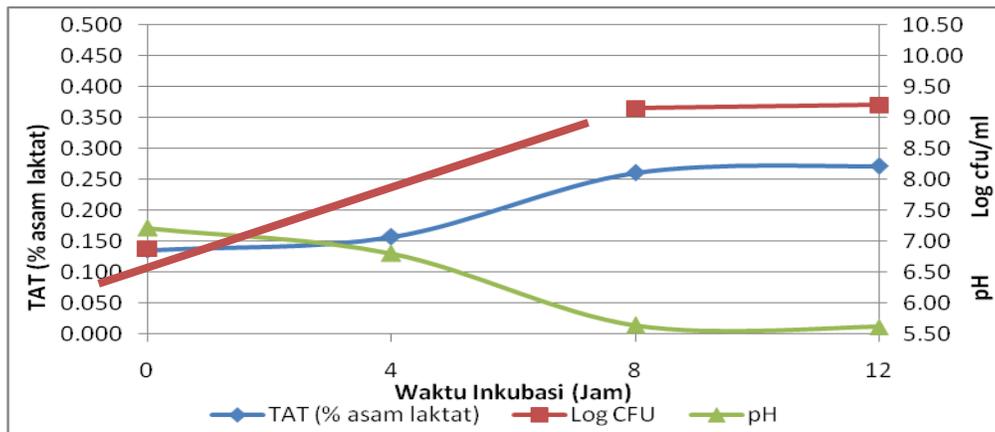
Pertumbuhan optimum *L. casei* strain Shirota terjadi pada media m-MRSB + Inulin dengan jumlah sel hidup sebesar 10.0 log cfu/ml, nilai absorbansi 0.899, pH media 5.63, dan nilai TAT (% asam laktat) 0.2551%. Pertumbuhan dalam media m-MRSB + FOS ditunjukkan dengan jumlah sel hidup 9.2 log cfu/ml, nilai absorbansi 0.860, pH media 5.62, dan nilai TAT (% asam laktat) 0.2714%. Media m-MRSB menunjukkan pertumbuhan *L. casei* strain Shirota sebesar 9.3 log cfu/ml, nilai absorbansi 1.518, pH media 7.73, dan nilai TAT (% asam laktat) 0.1466%.

L. casei strain Shirota menunjukkan kemampuan tumbuh di kedua jenis prebiotik, Variabel jenis media dan waktu inkubasi memiliki pengaruh nyata terhadap pertumbuhan *L. casei* strain Shirota pada taraf kepercayaan 5%. Pertumbuhan *L. casei* strain Shirota pada media m-MRSB + Inulin tidak berbeda nyata secara signifikan dengan m-MRSB + FOS, namun pertumbuhan pada m-MRSB + Inulin berbeda nyata dengan kontrol pada taraf kepercayaan 5%. Walaupun dikatakan berbeda nyata, namun perbedaannya tidak mencapai 1 satuan log. Pertumbuhan *L. casei* strain Shirota pada m-MRSB + FOS tidak berbeda nyata dibanding kontrol dan juga tidak berbeda nyata dengan m-MRSB + Inulin pada taraf kepercayaan 5%. *L. casei* strain Shirota dapat tumbuh dengan baik pada kedua jenis prebiotik karena pertumbuhan *L. casei* strain Shirota di kedua media tidak berbeda signifikan. Walaupun demikian, pertumbuhan *L. casei* strain Shirota cenderung memberikan hasil jumlah sel hidup yang lebih tinggi, yaitu sebesar 10.0 log cfu/ml.

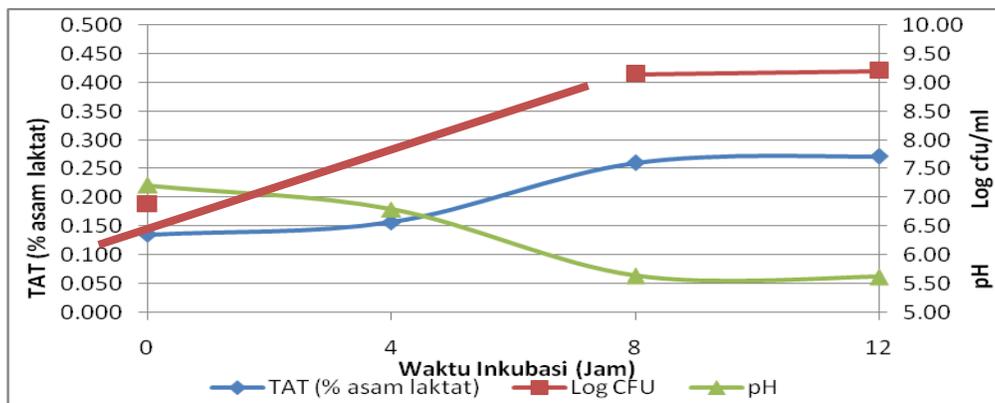
Dilihat dari segi waktu inkubasi berdasarkan analisis statistik menunjukkan bahwa pertumbuhan dari jam ke-0, 8, dan 12 masing-masing memiliki perbedaan secara signifikan pada taraf kepercayaan 5%. Hal ini disebabkan karena selama jam ke-0 hingga jam ke-12 pertumbuhan *L. casei* strain Shirota berada pada fase log yang masih aktif membelah dan membentuk sel baru, sehingga jumlah sel setiap waktu penghitungan sel hidup akan berbeda. Peningkatan jumlah sel terjadi cukup tinggi akibat proses pembelahan biner sel selama fase log (Lay dan Hastowo, 1992). Probiotik *L. casei* strain Shirota mampu memanfaatkan kedua jenis prebiotik, yaitu inulin dan FOS, untuk membentuk asam laktat yang menurunkan pH media dan meningkatkan nilai TAT (% asam laktat). Selain itu, kedua jenis prebiotik ini juga mendukung pertumbuhan *L. casei*

strain Shirota. Namun, efek kedua prebiotik terhadap jumlah sel hidup *L. casei* strain Shirota tidak berbeda signifikan pada taraf signifikansi 5%.

Pengaruh prebiotik inulin terhadap jumlah sel hidup, nilai pH media, dan nilai TAT (% asam laktat) selama pertumbuhan *L. casei* strain Shirota dapat dilihat pada Gambar 14, sedangkan pengaruh prebiotik FOS terhadap parameter yang sama dapat dilihat pada Gambar 15. Pertumbuhan *L. casei* strain Shirota dalam media mengandung prebiotik menunjukkan terjadinya penurunan pH dan peningkatan nilai TAT (% asam laktat) karena terjadinya fermentasi prebiotik untuk menghasilkan asam laktat dan energi untuk mendukung pertumbuhan.



Gambar 14 Pengaruh prebiotik inulin terhadap pertumbuhan *L.casei* strain Shirota (log cfu/ml), pH media, serta nilai TAT (% asam laktat)



Gambar 15 Pengaruh prebiotik FOS terhadap pertumbuhan *L.casei* strain Shirota (log cfu/ml), pH media, serta nilai TAT (% asam laktat)

Studi mengenai interaksi prebiotik dengan probiotik bersifat spesifik. Studi ini dibutuhkan dalam aplikasi sinbiotik, yaitu gabungan prebiotik-probiotik. Sistem sinbiotik efisien apabila kedua komponen saling cocok satu sama lain yang diketahui dapat mendukung pertumbuhan strain bakteri probiotik tersebut ketika diekpos substrat yang

telah diaplikasikan prebiotik (Kneifel *et al.*, 2000 dalam Pennachia *et al.*, 2006). Penacchia *et al.* (2006) melalui studinya menyatakan perlunya melihat kemungkinan pemilihan lebih dari satu prebiotik untuk meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus* sp.

B. Formulasi Biskuit Fungsional

Formulasi diawali dengan membuat formula dasar biskuit. Bahan yang digunakan adalah tepung terigu protein rendah, gula bubuk, tepung susu, telur, mentega, margarin, *baking powder* dan soda kue. Proses pembuatan biskuit diawali dengan mencampur gula bubuk, margarin, dan mentega, lalu dimixer dengan kecepatan tinggi sampai warnanya memucat. Kemudian ditambahkan telur, lalu dimixer kembali sampai agak mengembang. Lalu ditambahkan bahan berbentuk tepung ke dalam adonan. Adonan dimixer dengan kecepatan rendah sampai kalis. Adonan yang telah kalis dimasukkan ke dalam lemari es selama 15 menit, fungsinya agar adonan lebih mudah dibentuk dan dicetak. Setelah itu, adonan dipipihkan setebal 0.5 cm, lalu dicetak. Pemanggangan dilakukan selama 20 menit dengan suhu awal 140°C dan suhu akhir oven 160°C. Formulasi awal dilakukan dengan metode *trial and error* dan didapat formulasi awal biskuit pada Tabel 5.

Tabel 5 Komposisi dasar biskuit

Komposisi	%
Tepung terigu	40
Gula bubuk	18
Tepung susu	6
Telur	18
Margarin	9
Mentega	9
<i>Baking powder</i>	0.008
Soda kue	0.004

Formulasi selanjutnya dilakukan formulasi biskuit dengan penambahan tepung ikan, tepung kepala ikan, dan isolat protein kedelai. Penambahan tepung ikan, tepung kepala ikan, dan isolat protein kedelai dimaksudkan untuk meningkatkan kandungan protein dari biskuit. Biskuit yang dihasilkan harus memenuhi kriteria makanan tambahan yang dianjurkan WHO, dimana per 100 gram makanan tambahan harus mengandung minimal 400 kkal energi dan 15 gram protein. Selain itu, formula biskuit didasarkan pada

kebutuhan energi dan protein balita. Kecukupan energi dan protein untuk anak balita menurut Widya Karya Pangan dan Gizi (2004), umur 1 sampai 3 tahun (berat badan 12 kg) adalah 1000 kkal energi dan 25 gram protein per hari. Sedangkan pada usia yang lebih tinggi yaitu 4-6 tahun, kebutuhan energi dan protein meningkat sejalan dengan peningkatan berat badan yaitu menjadi 1550 kkal energi per hari dan 39 gram protein per hari. Selain itu BPOM (2004) menyatakan bahwa makanan dapat dikatakan sebagai sumber protein yang sangat baik bila mengandung sedikitnya 20% dari Angka Kecukupan Gizi yang dianjurkan per saji. Jadi untuk memenuhi kriteria tersebut, biskuit yang dihasilkan minimal mengandung 5 gram protein per sajian. Berikut merupakan formula biskuit dengan penambahan tepung ikan, tepung kepala ikan, dan isolat protein kedelai (Tabel 6).

Tabel 6 Formula biskuit dengan penambahan tepung ikan dan isolat protein kedelai

Komponen (g)	%
Tepung ikan lele	3.5
Tepung kepala ikan lele	1.5
Isolat protein kedelai	10
Tepung terigu	25
Gula bubuk	18
Telur	18
Margarin	9
Mentega	9
Tepung susu	6
Total	100
<i>Baking powder</i>	0.008
Soda Kue	0.004

Formula diatas memberikan sumbangan 490.03 kkal energi dan 22.60 gram protein per 100 gram biskuit. Sehingga diharapkan dengan mengkonsumsi 50 gram biskuit, dapat memberikan kontribusi asupan protein balita lebih dari 20%.

Formulasi selanjutnya dilakukan penggunaan tepung garut (*Maranta arundinaceae, L*) atau tepung ubi jalar (*Ipomea batatas*) sebagai bahan substitusi tepung terigu (Table 7). Hal ini dilakukan karena diduga kedua tepung tersebut memiliki kandungan prebiotik yang baik untuk pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecium*. Selain itu penggunaan kedua tepung ini juga dapat membantu pengembangan produk lokal

seperti ubi jalar dan garut. Berikut merupakan formula biskuit yang dicobakan. Tepung garut didapat dari petani lokal daerah Jawa Timur, sedangkan tepung ubi jalar yang digunakan dalam formulasi ini adalah tepung ubi jalar putih yang diproduksi oleh Kelompok Petani Hurip, Cikarawang, Bogor, untuk selanjutnya tepung ubi yang digunakan untuk memproduksi biskuit berasal dari petani lokal di Jawa Timur.

Tabel 7 Formula biskuit balita dengan substitusi tepung garut (*Maranta arundinaceae*, L) atau tepung ubi jalar (*Ipomea batatas*)

Komponen (g)	Formulasi			
	F1	F2	F3	F4
Tepung terigu	150	-	150	-
Tepung garut	-	-	100	250
Tepung ubi jalar	100	250	-	-
Tepung ikan lele	35	35	35	35
Tepung kepala ikan lele	15	15	15	15
Isolat Protein Kedelai	100	100	100	100
Gula bubuk	180	180	180	180
Telur	180	180	180	180
Margarin	90	90	90	90
Mentega	90	90	90	90
Tepung susu	60	60	60	60
Total	1000	1000	1000	1000
<i>Baking powder</i>	8	8	8	8
Soda Kue	4	4	4	4

Formula F1 merupakan formula dengan taraf substitusi tepung terigu 40%. Warna biskuit F1 agak gelap dibandingkan biskuit tanpa penambahan tepung ubi jalar. Warna gelap diduga berkorelasi positif dengan penambahan tepung karena warna tepung ubi jalar yang keabu-abuan. Selain itu, penambahan tepung ubi jalar menyebabkan tekstur yang agak keras (padat) dan menimbulkan *off flavour* tanah (*earthy*). Tekstur biskuit yang lebih keras diduga karena besar ukuran tepung ubi jalar yang lebih besar daripada tepung terigu (100 mesh). Demikian pula pada formula F2 dengan taraf substitusi tepung terigu 100%. Pada formula ini tepung ubi jalar me-replace tepung terigu seluruhnya. Biskuit yang dihasilkan memiliki warna lebih gelap, tekstur yang lebih keras, dan *off flavour* yang lebih kuat.

Formula F3 dan F4 merupakan formula dengan penambahan tepung garut. Pada formula F3 tepung garut mensubstitusi tepung terigu sebanyak 40%. Pada taraf substitusi ini biskuit memiliki warna yang cenderung lebih cerah daripada biskuit tanpa penambahan tepung garut. Hal ini dikarenakan tepung garut memiliki warna yang lebih putih (lebih terang) daripada tepung terigu. Tepung garut memiliki penampakan

menyerupai tepung sagu. Warna tepung yang lebih cerah diduga memberikan korelasi positif dengan warna biskuit yang dihasilkan. Selain warna, atribut biskuit yang dipengaruhi oleh tepung garut adalah tekstur biskuit. Biskuit dengan penambahan tepung garut terasa lebih renyah, lebih mudah digigit, dan lebih mudah hancur ketika dimakan. Pengaruh ini diduga disebabkan tepung garut diduga memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dan memiliki densitas kamba yang lebih rendah daripada tepung terigu. Selain atribut warna dan tekstur, substitusi tepung garut tidak memberikan pengaruh terhadap rasa dan aroma biskuit. Pada taraf substitusi tepung garut 100% terhadap tepung terigu, biskuit yang dihasilkan memiliki warna yang paling cerah daripada formula yang lain, tekstur yang paling renyah, dan paling mudah hancur ketika dimakan. Formula F4 merupakan formula yang paling disukai ketika diujikan terhadap beberapa panelis dibandingkan ketiga formula lain.

Berdasarkan ulasan diatas diketahui penambahan tepung ubi jalar memberikan beberapa dampak kurang menyenangkan terhadap biskuit yang dihasilkan, diantaranya warna biskuit menjadi lebih gelap, tekstur menjadi lebih padat, dan aroma *off flavour* tanah yang masih terasa pada biskuit. Sedangkan penambahan tepung garut memberikan pengaruh yang menyenangkan terhadap biskuit, diantaranya warna biskuit yang lebih cerah, tekstur yang lebih renyah dan lebih mudah hancur ketika dimakan. Pengaruh substitusi tepung diatas memberikan korelasi positif yang berarti, semakin banyak tepung yang disubstitusi, semakin besar pengaruhnya terhadap biskuit. Berdasarkan ulasan diatas dapat disimpulkan bahwa substitusi tepung garut memberikan dampak yang lebih baik terhadap karakteristik fisik biskuit dibandingkan dengan substitusi tepung ubi jalar.

C. Tahap Pengujian Aktivitas Sinbiotik pada Hewan Coba

Pengujian pembanding ini dilakukan dengan melihat pengaruh prebiotik terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat serta peningkatan berat badan tikus percobaan. Intervensi pada tikus percobaan dilakukan selama 4 minggu, mulai tanggal 1 September hingga 27 September 2009. Pengujian pertumbuhan bakteri asam laktat dilakukan sebelum intervensi, serta pada hari ke 7 intervensi, dengan dua kali ulangan penggunaan media m-MRSB. Pengukuran berat badan tikus dilakukan setiap dua hari sekali.

a. Pertambahan berat badan tikus

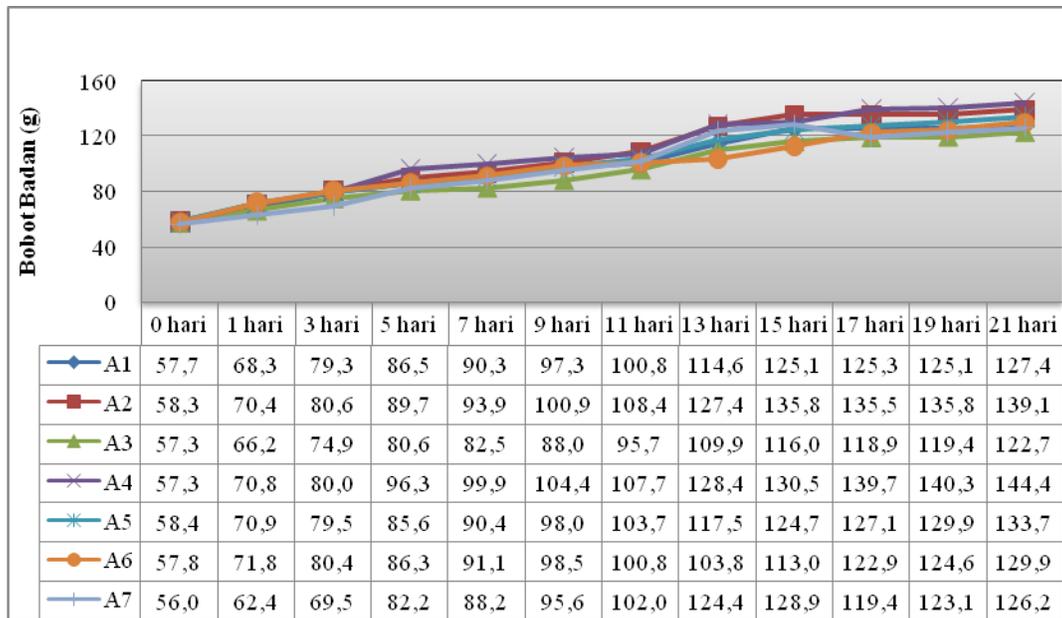
Pengukuran berat badan tikus dilakukan setiap dua hari sekali. Rata-rata berat badan tikus pada awal penelitian berkisar antara 56,0 g – 58,4 g dan di akhir penelitian rata-rata berat badan tikus mengalami peningkatan dengan kisaran berat badan antara 122,7 g – 144,4 g (Tabel 8). Peningkatan berat badan tikus di akhir pengamatan antara lain dipengaruhi oleh perlakuan yang diberikan dan lingkungan yang di kontrol, dengan indikasi berat badan tikus pada awal penelitian menunjukkan kondisi yang homogen. Data rata-rata berat badan tikus secara keseluruhan selama 21 hari pengamatan disajikan pada Lampiran 4.

Tabel 8 Rata-rata berat badan tikus pada awal dan akhir penelitian

Perlakuan	Rata-rata Berat Badan Tikus (g)	
	Awal	Akhir
A1	57,7	127,4
A2	58,3	139,1
A3	57,3	122,7
A4	57,3	144,4
A5	58,4	133,7
A6	57,8	129,9
A7	56,0	126,2

Tikus merupakan hewan yang tidak pernah berhenti tumbuh, walaupun kecepatan tumbuh akan menurun saat mencapai usia dewasa (Muchtadi 1989). Hasil penimbangan terhadap berat badan tikus selama 21 hari pengamatan menunjukkan bahwa rata-rata berat badan tikus dari ke tujuh perlakuan mengalami peningkatan (Gambar 15).

Tikus yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah tikus umur sapih dengan rata-rata berat badan yaitu 50 g. Pertumbuhan dan perkembangan yang baik dari mahluk hidup ditandai dengan terjadinya kenaikan berat badan. Pertumbuhan dan perkembangan berat badan sangat dipengaruhi oleh kandungan gizi makanan. Rata-rata berat badan tikus selama 21 hari pengamatan yang tertinggi terdapat pada perlakuan biskuit garut + FOS + krim probiotik (A4) dibandingkan perlakuan lainnya.



Gambar 16 Rata-rata berat badan tikus selama 21 hari pengamatan

Keterangan:

A1 = Ransum

A2 = Ransum + Biskuit garut + Krim probiotik

A3 = Ransum + Biskuit ubi + Krim probiotik

A4 = Ransum + Biskuit garut + FOS + Krim probiotik

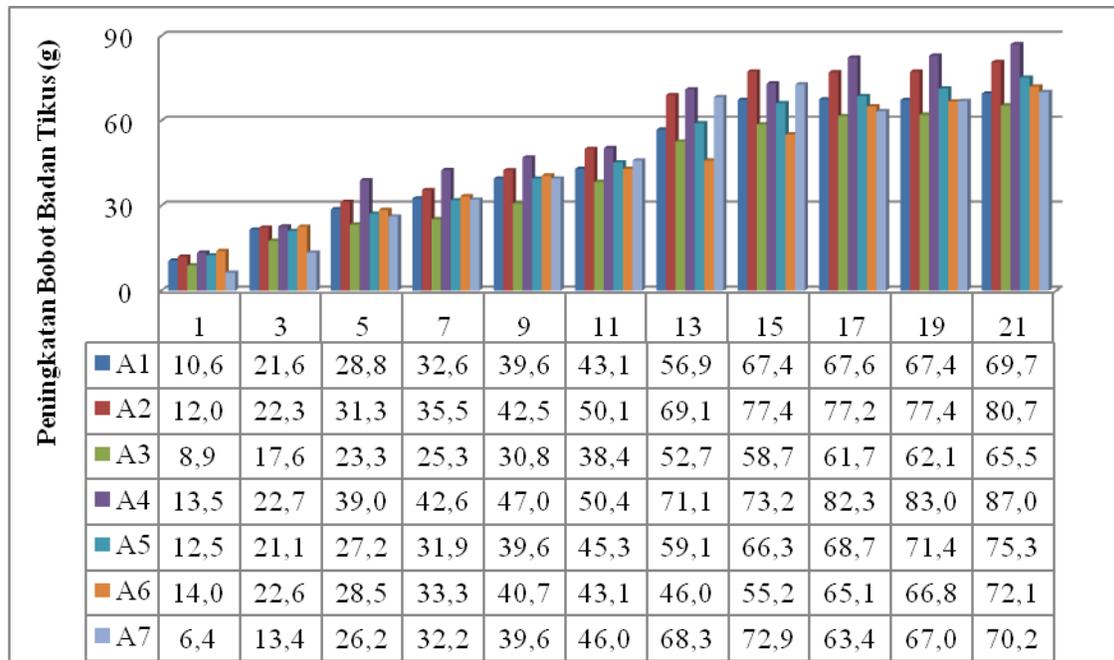
A5 = Ransum + Biskuit ubi + FOS + Krim probiotik

A6 = Ransum + Krim probiotik

A7 = Ransum + FOS + Krim probiotik

Analisis data terhadap perubahan berat badan tikus didasarkan pada pengurangan berat badan tikus pada pengamatan hari ke-1 hingga pengamatan hari ke-21 (selang penimbangan 2 hari) dengan data hari pengamatan ke-0. Hasil penimbangan berat badan tikus dari ke tujuh perlakuan menunjukkan bahwa tikus mengalami peningkatan berat badan yang selalu meningkat (Gambar 16). Data peningkatan berat badan tikus secara keseluruhan dapat dilihat pada Lampiran 5.

Pertumbuhan antara lain ditentukan oleh asupan makanan yang diberikan. Semua tikus mendapatkan jenis ransum yang sama, namun perbedaan terdapat pada perlakuan yang diberikan pada setiap kelompok tikus. Peningkatan berat badan tikus yang mendapatkan biskuit garut + FOS + krim probiotik (A4) adalah lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya karena selain mendapatkan gizi yang memadai dari ransum dan biskuit, juga mendapatkan FOS dan probiotik yang dapat meningkatkan penyerapan zat gizi di dalam tubuh karena adanya sinbiotik antara prebiotik yaitu FOS + biskuit garut dan probiotik (*Enterococcus faecium* IS-27526).



Gambar 17 Rata-rata peningkatan berat badan tikus selama 21 hari pengamatan

Keterangan:

A1 = Ransum

A2 = Ransum + Biskuit garut + Krim probiotik

A3 = Ransum + Biskuit ubi + Krim probiotik

A4 = Ransum + Biskuit garut + FOS + Krim probiotik

A5 = Ransum + Biskuit ubi + FOS + Krim probiotik

A6 = Ransum + Krim probiotik

A7 = Ransum + FOS + Krim probiotik

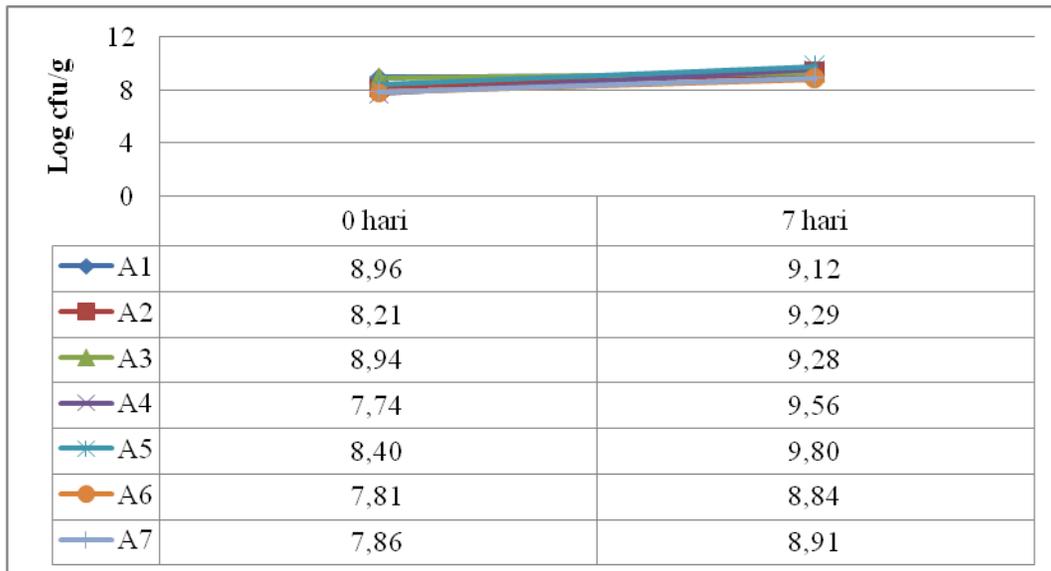
b. Mikrobiota fekal tikus

Total fekal bakteri asam laktat tikus

Bakteri asam laktat memiliki peranan yang penting pada kehidupan manusia. Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri gram positif, tidak menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang, tidak membentuk sitokrom dan memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat. Bakteri asam laktat yang secara normal tumbuh di saluran pencernaan dapat memberikan efek positif terhadap kesehatan tubuh melalui kemampuannya menekan pertumbuhan patogen.

Rata-rata jumlah bakteri asam laktat fekal tikus pada awal penelitian berkisar antara $5,49 \times 10^7$ cfu/g (7,74 log cfu/g) – $9,12 \times 10^8$ cfu/g (8,96 log cfu/g), sedangkan pada akhir penelitian mengalami peningkatan, yaitu berkisar antara $6,91 \times 10^8$ cfu/g (8,84 log cfu/g) – $6,30 \times 10^9$ cfu/g (9,80 log cfu/g) (Gambar 17). Secara keseluruhan rata-rata jumlah bakteri asam laktat fekal tikus dari ke tujuh perlakuan yang diberikan

mengalami peningkatan. Data jumlah bakteri asam laktat fekal tikus dapat dilihat pada Lampiran 6.



Gambar 18 Jumlah bakteri asam laktat fekal tikus

Keterangan:

A1 = Ransum

A2 = Ransum + Biskuit garut + Krim probiotik

A3 = Ransum + Biskuit ubi + Krim probiotik

A4 = Ransum + Biskuit garut + FOS + Krim probiotik

A5 = Ransum + Biskuit ubi + FOS + Krim probiotik

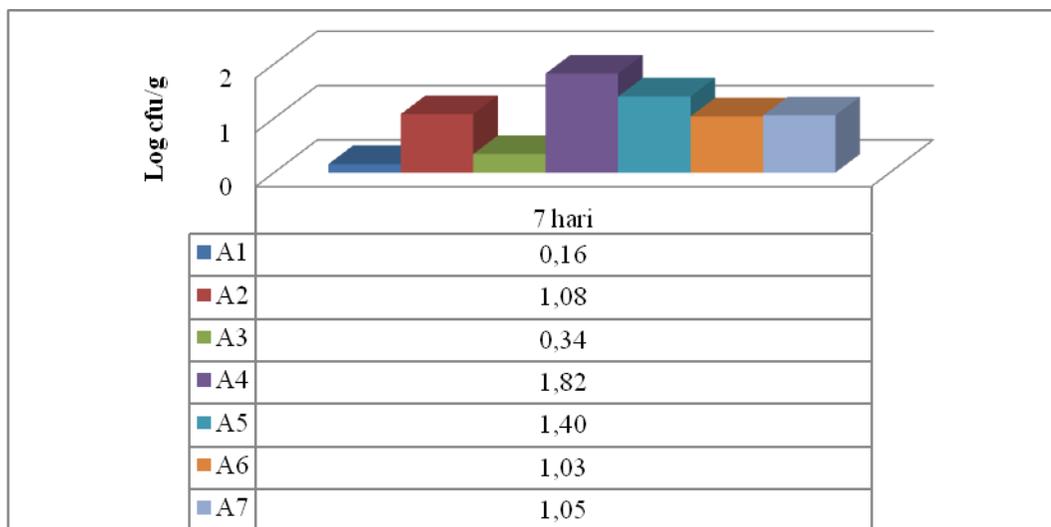
A6 = Ransum + Krim probiotik

A7 = Ransum + FOS + Krim probiotik

Perlakuan yang paling baik dalam meningkatkan jumlah bakteri asam laktat fekal tikus hingga akhir pengamatan adalah perlakuan biskuit garut + FOS + krim probiotik (A4) dan perlakuan biskuit ubi + FOS + krim probiotik (A5). Lu dan Walker (2001) menyatakan bahwa ada beberapa cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan populasi bakteri non patogen di dalam saluran pencernaan, antara lain adalah dengan pemberian gizi yang baik dan lingkungan yang stabil. Selain itu, Bourlioux *et al.* (2003) juga menyatakan bahwa bakteri dalam saluran pencernaan membutuhkan gizi dan energi untuk tumbuh dan berkembang-biak. Berdasarkan asumsi tersebut, maka peningkatan jumlah bakteri asam laktat fekal tikus dapat dikaitkan dengan kesehatan saluran pencernaan tikus. Tikus yang diberi perlakuan biskuit garut + FOS + krim probiotik (A4) dan perlakuan biskuit ubi + FOS + krim probiotik (A5) memiliki kesehatan saluran cerna yang lebih baik daripada tikus yang diberikan perlakuan lainnya.

Hasil beberapa penelitian mengenai bakteri asam laktat mengungkapkan bahwa konsumsi susu yang mengandung probiotik berpengaruh terhadap mikrobiota fekal manusia dan hewan percobaan (Alkalin *et al.* 1997; Danielson *et al.* 1989; Gilliland *et al.* 1978; Hosoda *et al.* 1996) yang menyebabkan peningkatan jumlah bakteri yang menguntungkan seperti laktobasili dan bifido serta menekan jumlah bakteri usus yang berpotensi sebagai patogen seperti bakteri koliform dan *enterobacteria*.

Peningkatan jumlah bakteri asam laktat fekal tikus pada pengamatan hari ke-7 disajikan pada Gambar 18. Peningkatan jumlah bakteri asam laktat fekal tikus terbesar akibat perlakuan yang diberikan ditemukan pada perlakuan biskuit garut + FOS + krim probiotik (A4) yaitu 1,82 log cfu/g (Lampiran 7).



Gambar 19 Peningkatan jumlah bakteri asam laktat fekal tikus

Keterangan:

A1 = Ransum

A2 = Ransum + Biskuit garut + Krim probiotik

A3 = Ransum + Biskuit ubi + Krim probiotik

A4 = Ransum + Biskuit garut + FOS + Krim probiotik

A5 = Ransum + Biskuit ubi + FOS + Krim probiotik

A6 = Ransum + Krim probiotik

A7 = Ransum + FOS + Krim probiotik

Peningkatan jumlah bakteri asam laktat fekal tikus yang lebih tinggi terdapat pada perlakuan biskuit garut + FOS + krim probiotik (A4) dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini diduga karena bakteri asam laktat memerlukan zat gizi yang sangat kompleks. Kolonisasi oleh probiotik untuk membentuk mikroekosistem yang normal dapat dimanipulasi melalui pengaturan diet yang mengandung prebiotik, probiotik atau kombinasi keduanya yaitu sinbiotik. Dalam hal ini merujuk pada komponen yang

terdapat pada biskuit garut dan FOS yang memberikan efek prebiotik. Keuntungan dari kombinasi ini adalah meningkatkan daya tahan hidup bakteri probiotik akibat substrat yang spesifik telah tersedia untuk fermentasi.

Penelitian pada tikus dan manusia yang pernah dilakukan menunjukkan bahwa pemberian FOS menurunkan resiko kanker usus. FOS dalam diit merupakan substrat yang segera difermentasi oleh mikroba kolon. Penggabungan antara probiotik dan prebiotik yang disebut sinbiotik, memberikan pengaruh yang menguntungkan bagi inangnya, dengan cara memperbaiki *survival* dan implantasi suplemen mikroba hidup dalam saluran cerna, stimulasi pertumbuhan secara selektif, dan aktivasi metabolisme dari satu atau sejumlah terbatas bakteri yang mempunyai efek promotif bagi kesehatan, sehingga dengan demikian meningkatkan kesehatan inangnya.

Telah dibuktikan bahwa bila kedua bahan ini digabungkan dalam satu produk tunggal, maka kegunaan masing-masing atau kedua komponennya ditingkatkan. Misalnya gabungan FOS dengan *Bifidobakteri longum* menurunkan risiko kelainan pre-neoplastik kolon lebih banyak dari pada hanya dengan pemberian probiotik atau prebiotik saja pada tikus percobaan. Demikian juga dengan penambahan pati jagung yang kaya akan amilose (RS2) ke dalam suatu preparat probiotik akan mempertahankan densitas yang lebih tinggi dari mikroorganisme probiotik yang hidup, bila dibandingkan dengan tanpa RS2.

D. Intervensi : Survey Base line Pra Intervensi

Pelaksanaan Persiapan Studi Intervensi

Kegiatan studi intervensi PMT Biskuit fungsional berbasis sinbiotik pre biotic pangan local dan probiotik dilakukan melalui beberapa tahapan yang dimulai akhir Oktober 2009, diantaranya: seleksi sasaran berdasarkan data sekunder (laporan posyandu); skrining dengan pengukuran antropometri dan pemeriksaan kesehatan; penetapan sasaran dan persetujuan keikutsertaan; pemberian obat cacing; distribusi PMT biscuit serta pemantauan kepatuhan konsumsi biscuit dan pertumbuhan berdasarkan berat badan (BB), tinggi badan(TB) dan lingkar lengan atas (LLA).

1. Seleksi Sasaran

- a. Seleksi berdasarkan data sekunder (laporan penimbangan posyandu)

Data awal yang digunakan untuk menentukan calon-calon sasaran adalah data hasil penimbangan bulan terakhir yang telah direkap oleh petugas gizi di

puskesmas.dan pustu. Rekapitulasi daftar balita berusia 2-5 tahun yang teridentifikasi kategori gizi kurang/buruk dari puskesmas tersebut diperoleh 54 balita. Berdasarkan daftar balita tersebut, kemudian dilakukan verifikasi ke lokasi (Desa, Posyandu) dengan wawancara kepada kader posyandu dan bidan desa (pembina), meliputi: umur, jenis kelamin, alamat, profil keluarga, dan hasil pemantauan pertumbuhan (BB/U, BB/TB) yang tertera di KMS.

b. Seleksi secara langsung (antropometri dan pemeriksaan klinis)

Balita-balita yang teridentifikasi awal telah memenuhi kriteria inklusi (termasuk gizi kurang), dilakukan penjadualan akhir Oktober 2009 untuk dilakukan pengukuran dan pemeriksaan secara langsung. Pengukuran antropometri meliputi tinggi badan, berat badan, lingkar lengan atas (Lila) dan lingkar kepala.. Bahan dan alat yang digunakan dalam pemeriksaan antropometri adalah : 1) Timbangan injak (*bathroom scale*) merk Seca dengan kapasitas timbang 200 kg dan ketelitian 0,1 kg; 2) *Microtoise* dengan kapasitas 200 cm dan ketelitian 0,1 cm dan papan ukur panjang badan dengan ketelitian 0,1 cm; 3) Daftar nama anak dan kodenya; 4) Form pengukuran BB , TB dan lila; dan 5) Alat tulis

Pemeriksaan klinis terhadap sampel (anak balita sasaran) meliputi infeksi umum dari tubuh sampel dan auskultasi pada dada dan perut menggunakan stetoskop. Selain itu dilakukan pemeriksaan suhu tubuh, frekuensi nadi, frekuensi nafas dan tekanan darah. Pemeriksaan dilakukan oleh dokter (tim peneliti Unair dan Puskesmas Geger) yang telah ditugaskan. Alat-alat yang digunakan antara lain: Stetoskop, Termometer, Lampu senter, Tensimeter dan alat tulis



Gambar 20 Pengukuran antropometri balita sasaran



Gambar 21 Pemeriksaan Klinis Balita Sasaran

c. Penetapan Sasaran terpilih Studi Intervensi

Berdasarkan hasil pengukuran antropometri dan pemeriksaan klinis yang dilakukan pada balita-balita pada saat skrining, selanjutnya diseleksi berdasarkan criteria inklusi yang telah ditetapkan (tabel 9). Balita-balita yang memenuhi syarat inklusi tersebut, maka ditetapkan sebagai sampel atau sasaran studi intervensi PMT biscuit fungsional. Jumlah total balita yang memenuhi syarat sebanyak 35 , namun yang ditetapkan menjadi sasaran dipilih sebanyak 34 anak balita. (daftar sasaran terlampir). Terdapat 1 balita yang orangtuanya tidak bersedia berpartisipasi sebagai sasaran PMT biscuit fungsional.

Tabel 9. Kriteria Inklusi Untuk Penentuan Sampel

No	Kriteria
1.	Berumur 2 – 5 tahun (12- 59 bulan)
2.	Status gizi kurang (nilai Zscore BB/U < -2 SD)
3	Sehat (tidak menderita infeksi sekunder) berdasarkan hasil pemeriksaan dokter
4	Tidak mempunyai kelainan kongenital/cacat bawaan
5	Tidak mempunyai alergi berat berdasarkan <i>medical questionnaire</i>
6	Tidak mengkonsumsi antibiotik dan/atau <i>laxative</i> (4 minggu sebelum penelitian)
7	Telah mendapat penjelasan penelitian
8	Menyetujui <i>Informed consent</i>
9	Bersedia untuk mematuhi prosedur penelitian
10	Tidak menerima PMT yang serupa dari penelitian lain
11	Tidak berpartisipasi dalam penelitian lain



Gambar 22 Balita Sasaran PMT Biskuit Fungsional

d. Pembuatan surat kesediaan untuk berpartisipasi (inform consent)

Privasi dan kerahasiaan sasaran (responden) harus dijamin dan ini kadang-kadang tidak mudah pada beberapa situasi. Selain itu keikutsertaan dalam kegiatan studi juga harus bersifat sukarela. Oleh karena itu untuk saling menjaga hak dan kewajiban kedua belah pihak, maka dilakukan secara tertulis dengan menandatangani formulir persetujuan sebelum kegiatan studi intervensi dilakukan. Jumlah orangtua balita yang bersedia menandatangani sebanyak 34 orang, dengan disaksikan oleh petugas puskesmas pada awal Nopember 2009..

2. Pemberian Obat cacing pada Balita Sasaran

Pemberian obat cacing dilakukan untuk membersihkan balita dari keberadaan berbagai jenis cacing parasit yang mungkin terdapat dalam tubuh balita. Obat cacing diberikan pada balita sasaran yang dalam 3 bulan terakhir belum /tidak diberikan obat cacing. Pemberian obat cacing diberikan oleh dokter/bidan sebelum dilakukan intervensi PMT biscuit fungsional.



Gambar 23 Obat Cacing dan Polindes

3. Pengumpulan data awal (base line)

a. Pengumpulan data dengan kuesioner

Pengumpulan data awal telah dilakukan pada tanggal 3 - 7 Nopember 2009. Selain dilakukan pengukuran antropometri (berat badan, tinggi badan, LK dan Lila), juga dilakukan wawancara dengan kuesioner (terlampir) dan observasi terhadap lingkungan rumah tinggal balita sasaran.



Gambar 24 Wawancara dengan Orangtua Balita Calon Sasaran

b. Pengumpulan sampel feces

Pengumpulan feses dilakukan pada balita sasaran sebanyak 34 balita pada saat *baseline* dan *endline*. Pada 2 hari sebelumnya, orang tua balita sampel melalui kader-kader pendamping dibagikan wadah feses berupa pot bertutup berukuran 100 ml. Pada orang tua balita diminta mengambil sebanyak kira-kira 20 g (secukupnya) feses balita sampel dan dimasukkan dalam pot yang telah diberi label nama dan kode sampel. Pot diserahkan pada kader pendamping atau petugas puskesmas yang ditunjuk atau petugas peneliti untuk sesegera mungkin untuk disimpan di tempat penyimpanan sampel di masing-masing puskesmas pembantu (pustu).



Gambar 25 Pengambilan sampel feses balita sasaran

Hasil Analisis Data Baseline Balita Calon Sasaran Intervensi

1. Karakteristik Balita

Umur dan Jenis kelamin. Balita sasaran berusia antara 18 bulan dan 58 bulan, dengan rata-rata umur balita adalah 30,88 bulan. Sebagian besar (52,4%) balita perempuan, berumur antara 24-36 bulan, sedangkan balita laki-laki sebagian besar (46,2%) berumur 37-48. Distribusi Balita menurut umur dan jenis kelamin disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Distribusi Umur Balita menurut Jenis Kelamin

Umur (bulan)	Laki-laki		Perempuan		Total	
	n	%	n	%	N	%
24 – 36	5	38,5	11	52,4	16	47,1
37 – 48	6	46,2	6	28,6	12	35,3
49 – <60	2	15,4	4	19,0	6	17,6
Jumlah	13	100,0	21	100,0	34	100,0

Urutan kelahiran Anak balita dalam keluarga. Anak balita sasaran dalam keluarga, sebagian besar (32,4%) merupakan anak kedua, namun juga anak yang ketujuh dalam keluarganya. Distribusi anak balita berdasarkan urutan lahir dalam keluarga, disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Distribusi Anak berdasarkan Urutan Kelahiran dalam Keluarga

Anak ke	n	%
Pertama	10	29,4
Kedua	11	32,4
Ketiga	7	20,6
Keempat	4	11,8
Kelima	1	2,9
Ketujuh	1	2,9
Jumlah	34	100,0

2. Pelayanan Gizi dan Kesehatan Balita

Penerimaan PMT. Balita sasaran, menurut orangtua balita sebagian besar (55,9 %) sudah pernah menerima makanan PMT sebelumnya, namun juga cukup besar (44,1%) yang menyatakan belum pernah menerima PMT sampai saat penelitian dilakukan. Distribusi Balita menurut pengalaman memperoleh makanan tambahan (PMT) disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Distribusi Balita menurut Pengalaman Penerimaan PMT

Penerimaan PMT	n	%
Ya, sekarang tidak	3	8,8
Ya, lupa waktu	16	47,1
Ya, lupa waktu pemberian	15	44,1
Tidak pernah		
Jumlah	34	100,0

Jenis PMT. Jenis makanan tambahan (PMT) yang pernah diterima balita sasaran cukup beragam, diantaranya berupa paket bahan baku, makanan jajanan, makanan lengkap, biskuit maupun bubur instan. Sebagian besar (63,1%) pernah menerima PMT dalam bentuk paket bahan baku. Distribusi Balita menurut jenis PMT yang pernah diterima, disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Distribusi Balita menurut Jenis PMT yang Pernah Diterima

Jenis PMT	n	%
Paket bahan baku	12	63,1
Makanan jajanan	4	21,0
Makanan lengkap	1	5,3
Biskuit	1	5,3
Bubur instan	1	5,3
Jumlah	19	100,0

Penerimaan Vitamin A. Balita sasaran sebagian besar (88,3%) pernah memperoleh suplemen vitamin A dengan frekuensi berkisar antara 1 hingga 2 kali, dan hanya sebagian kecil (5,9%) yang belum pernah menerima vitamin A hingga usia lebih dari tahun. Distribusi balita menurut pengalaman penerimaan vitamin A disajikan pada tabel 14.

Tabel 14. Distribusi Balita menurut Penerimaan Vitamin A

Penerimaan Vitamin A	n	%
Ya, dua kali	19	55,9
Ya, satu kali	7	20,6
Ya, lupa frekuensi	4	11,8
Tidak	2	5,9
Lupa	2	5,9
Jumlah	34	100,0

Penerimaan Obat Cacing. Balita sasaran sebagian besar (55,9%) menyatakan tidak pernah menerima atau mengonsumsi obat cacing hingga saat ini, namun sebagian lain yaitu sebanyak 41,1 % menyatakan sudah pernah menerima atau mengonsumsi obat cacing dengan frekuensi 1-2 kali. Distribusi Balita menurut Penerimaan Obat cacing disajikan pada Tabel 15.

Tabel 15. Distribusi Balita menurut Penerimaan Obat Cacing

Penerimaan Obat Cacing	n	%
Ya, dua kali	3	8,8
Ya, satu kali	5	14,7
Ya, lupa frekuensi	6	17,6
Tidak	19	55,9
Lupa	1	2,9
Jumlah	34	100,0

3. Pola Konsumsi Balita Sasaran.

Praktek Pemberian ASI

Pemberian ASI saja. Durasi pemberian ASI saja pada balita sasaran cukup beragam, mulai dari 3 hari hingga lebih dari 2 tahun (24 bulan). Sebagian besar (32,3%) pengasuh balita menyatakan bahwa anak balita diberi ASI saja selama 13 – 24 bulan, namun demikian masih cukup banyak yang memberikan ASI saja kurang dari 6 bulan bahkan hanya 3 hari saja. Distribusi balita menurut durasi pemberian ASI saja disajikan pada Tabel 16.

Tabel 16 Distribusi Balita menurut Durasi Pemberian ASI

Lama (bulan)	n	%
< 1 (3 hari)	1	2,9
1	1	2,9
2	1	2,9
3	1	2,9
4	2	5,9
5	1	2,9
6	3	8,8
7 – 9	5	14,7
10 - 12	2	5,9
13 - 24	11	32,3
> 24	2	5,9
Tidak tahu	3	8,8
Tidak diberi ASI	1	2,9
Jumlah	34	100,0

ASI eksklusif didefinisikan sebagai pemberian ASI kepada bayi sampai dengan 6 bulan secara langsung oleh ibunya dan tidak diberi makanan cair atau padat lainnya kecuali obat tetes atau sirup yang berisi suplemen vitamin, mineral atau obat (Gibney et al, 2005). Praktek pemberian ASI eksklusif pada balita gizi kurang dari 6 bulan ternyata masih cukup banyak, demikian juga yang memberikan ASI saja lebih dari usia 12 bulan.

Kolustrum merupakan cairan yang keluar pada hari-hari pertama setelah melahirkan dan kaya akan zat antibody yang sangat bermanfaat pembangunan sistetm ketahanan tubuh bagi bayi. Namun demikian, ternyata sebagian besar (58,8%) pengaush menyatakan tidak memberikan kolustrum pada saat itu kepada balita yang sekarang ini menderita gizi kurang dan buruk. Distribusi pemberian kolustrum pada balita sasaran disajikan pada Tabel 17.

Tabel 17 Distribusi Balita menurut Pemberian Kolustrum pada Bayi

Pemberian Kolustrum	N	%
Ya	14	41,2
Tidak	18	52,9
Tidak yakin	2	5,9
Jumlah	34	100,0

Setelah pemberian ASI secara eksklusif (4-6 bulan), bayi harus tetap diberikan ASI hingga berusia 2 tahun yang disertai makanan pendamping ASI. Sebagian besar (89,6%) balita sasaran yang saat ini menderita gizi kurang tetap mendapatkan ASI pada hingga berusia 13-24 bulan, namun sebagian lainnya (14,7%) kurang dari 12 bulan bahkan ada yang tidak pernah diberi ASI hingga saat ini. Distribusi balita menurut lama pemberian ASI disajikan pada Tabel 18.

Tabel 18 Distribusi Balita menurut Lama Pemberian ASI

Lama (bulan)	n	%
< 1	0	0
1 – 3	2	5,9
4 – 6	0	0
7 – 12	3	8,8
13 – 24	24	80,6
>24	4	11,8
Tidak diberi ASI	1	2,9
Jumlah	34	100,0

Praktek Pemberian Makanan

Setelah bayi berusia 6 bulan, ASI tidak lagi dapat mencukupi kebutuhan gizi yang optimal untuk perkembangan bayi. Oleh karena itu dibutuhkan MP-ASI yang diperkenalkan secara perlahan agar tidak menimbulkan reaksi buruk terhadap makanan tersebut (Gibney, et al, 2005). Hasil penelitian menunjukkan bahwa balita sasaran yang sedang menderita gizi kurang, ternyata sebagian besar (41,2%) sudah terlalu dini diberikan makanan dan minuman pertama kali selain ASI kurang dari 4 bulan dan sebaliknya sebagian (11,8%) lainnya justru terlambat yaitu sudah berusia lebih dari 12

bulan. Distribusi Balita menurut umur pertama kali di beri Makanan/Minuman selain ASI disajikan pada Tabel 19.

Tabel 19. Distribusi Umur Pertama Kali diberi Makanan/Minuman Selain ASI

Lama (bulan)	N	%
< 1	10	29,4
2	4	11,8
3	0	0
4	5	14,7
5	0	0
6	5	14,7
7 – 12	6	17,6
>12	4	11,8
Jumlah	34	100,0

Ket. < 1 = 7 hari (5 bayi)

Selain ASI, jenis makanan yang pertama kali diberikan ibu atau pengasuh balita sasaran sebagian besar , berurutan adalah buah-buahan (47,1%), bubur instan yang dibeli (14,7%), bubur beras buatan sendiri (14,7%) dan selanjutnya nasi tim/lontong (8,8%). Susu formula hanya diberikan oleh 2,9% ibu /pengasuh balita sebagai makanan/minuman pertama kali, disinyalir hal terkait dengan faktor sosial ekonomi dan akses ketersediaan susu formula tersebut. Distribusi balita menurut jenis makanan yang pertama kali diberikan selain ASI secara lengkap disajikan pada Tabel 20.

Tabel 20. Distribusi Balita menurut Jenis Makanan Pertama Kali yang Diberikan

Jenis Makanan/Minuman	n	%
Susu formula	1	2,9
Air tajin	1	2,9
Buah	16	47,1
Bubur instan	5	14,7
Bubur buatan sendiri	5	14,7
Bubur dan pisang	1	2,9
Nasi/nasi tim/lontong	3	8,8
Kelapa muda	1	2,9
Tidak tahu/lupa	1	2,9
Jumlah	34	100,0

Berdasarkan tabel 20 , menunjukkan buah menjadi pilihan makanan yang paling banyak diberikan sebagai makanan yang pertama kali selain ASI. Cara pemberian makanan tersebut yang paling banyak dilakukan adalah dengan sendok dan piring (70,6%), dan ternyata juga masih ada (26,5%) yang cara memberikan makanannya tanpa alat bantu makanan (tangan secara langsung). Distribusi balita sasaran menurut cara pemberian makanan/minuman pertama selain ASI disajikan pada Tabel 12.

Tabel 21. Cara Pemberian Makanan/Minuman Pertama selain ASI

Cara Pemberian	N	%
Sendok dan piring	24	70,6
Botol dan dot	1	2,9
Tangan langsung	9	26,5
Jumlah	34	100,0

Berdasarkan Tabel 21, menunjukkan sebagian ibu/pengasuh ada yang langsung dengan menggunakan tangan ketika memberikan makanan kepada balita. Padahal diantara ibu/pengasuh balita tersebut, ternyata tidak semua selalu mencuci tangan sebelum memberikan makanan, bahkan terdapat 5,9 % yang tidak pernah mencuci tangan. Distribusi ibu balita menurut kebiasaan mencuci tangan sebelum memberikan makan kepada anak balita disajikan pada Tabel 22.

Tabel 22. Distribusi ibu balita menurut Kebiasaan Mencuci Tangan sebelum Memberikan Makan

Cuci tangan sebelum makan	n	%
Selalu	26	76,5
Kadang-kadang	6	17,6
Tidak pernah	2	5,9
Jumlah	34	100,0

Frekuensi Pemberian Makanan dan Minuman

Pertumbuhan balita sangat tergantung dari diet atau asupan makanan dan minuman yang diberikan (Boyle,2003). Selain jenis makanan, frekuensi pemberian juga menentukan besar kecilnya jumlah asupan yang diperoleh balita. Sebagian besar (70,6%) balita sasaran yang menderita gizi kurang/buruk ternyata sudah diberikan makanan dengan frekuensi 3 kali sehari, namun juga terdapat balita yang dalam sehari hanya diberikan 2 kali makan. Distribusi balita menurut frekuensi pemberian makanan disajikan pada Tabel 23.

Tabel 23. Distribusi Balita menurut Frekuensi Pemberian Makanan

Frekuensi Pemberian Makan	N	%
2 kali	2	5,9
3 kali	24	70,6
4 kali	2	5,9
Tidak tentu (2-3)	6	17,6
Jumlah	34	100,0

Selain makanan, keberadaan air sebagai salah satu zat gizi sangat penting bagi kelangsungan proses pertumbuhan balita. Frekuensi pemberian minuman balita

sebagian besar berkisar antara 2 – 4 kali sehari. Distribusi balita menurut frekuensi pemberian minuman disajikan pada Tabel 24.

Tabel 24. Distribusi Balita menurut Frekuensi Pemberian Makanan

Frekuensi Pemberian Minum	N	%
3 kali	1	2,9
Tidak tentu (2-3)	5	14,7
Tidak tentu (3-4)	13	38,2
Lainnya	15	44,1
Jumlah	34	100,0

Tingkat konsumsi

Rata-rata asupan balita untuk zat gizi karbohidrat sebesar 48,58 gram, protein 24,16 gram dan lemak 17,45 gram, dengan energi rata-rata 515,9 kkal, sedangkan tingkat konsumsi energi berkisar antara 27,4 s/d 65,3 % dengan rerata 39,69 % dan tingkat konsumsi protein berkisar antara 37,5 s/d 160,45 % dengan rerata 80,25 %.

Pada Tabel 16 terlihat bahwa semua (100%) balita sasaran mempunyai tingkat kecukupan energi di bawah 70 persen. Tingkat kecukupan protein meskipun sebagian besar sudah diatas 90 persen, namun balita yang mempunyai tingkat konsumsi dibawah 70 persen juga masih cukup besar (41,2%). Distribusi balita menurut tingkat konsumsi disajikan pada tabel 25.

Tabel 25. Distribusi Balita menurut Tingkat Konsumsi Energi dan Protein

Tingkat Konsumsi	N	%
Energi :		
< 70 %	34	100,0
70 – 80 %	0	0
80 – 90 %	0	0
.> 90 %	0	0
Jumlah	34	100,0
Protein :		
< 70 %	14	41,2
70 – 80 %	0	0
81 – 90 %	5	14,7
.> 90 %	15	44,1
Jumlah	34	100,0

Pemantauan Pertumbuhan dan Status Gizi

Kunjungan posyandu

Pemantauan pertumbuhan balita seharusnya dilakukan secara rutin setiap bulan untuk mengetahui bagaimanakecenderungan pertumbuhan balita. Posyandu

merupakan tempat yang sudah lama dan biasa digunakan masyarakat untuk memantau pertumbuhan balitanya dengan melakukan penimbangan berat badan dan pengukuran tinggi badan setiap bulan. Namun terlihat pada tabel 26, menunjukkan bahwa balita calon sasaran yang menderita gizi kurang ternyata sebagian besar tidak pernah ke posyandu dalam 3 bulan terakhir, dan hanya 23,5 persen yang hadir rutin ke posyandu setiap bulan.

Tabel 26. Distribusi Balita menurut Kunjungan Posyandu 3 bulan terakhir

Frekuensi Kunjungan	N	%
Tidak pernah	12	35,3
1 kali	11	32,4
2 kali	3	8,8
3 kali	8	23,5
Jumlah	34	100,0

Salah satu alat bantu untuk mengetahui perkembangan pertumbuhan dan perkembangan balita adalah Kartu Menuju Sehat atau lebih populer disebut KMS. Pada tabel 27 terlihat bahwa sebagian besar (41,2%) menyatakan tidak punya KMS karena hilang dan bahkan 14,7 persen menyatakan tidak pernah mempunyai KMS.

Tabel 27. Distribusi Balita menurut Kepemilikan KMS

Kepemilikan KMS	N	%
Tidak pernah punya	5	14,7
Tidak punya krn hilang	14	41,2
Tidak punya krn rusak	2	5,9
Mempunyai dan disimpan	13	38,2
Jumlah	34	100,0

Status Gizi Balita Berdasarkan Zscore (BB/U, TB/U, BB/TB)

Status gizi merupakan kondisi kesehatan tubuh seseorang atau sekelompok orang yang diakibatkan oleh konsumsi, penyerapan (absorpsi) dan penggunaan (utilisasi) zat gizi makanan. Penilaian status gizi menggunakan baku WHO-NCHS dan dihitung berdasarkan skor simpangan baku (Z-score). Penentuan prevalensi berdasarkan nilai Z skor lebih tepat dibandingkan cara persen terhadap median (Gibson, 2005). Pada tabel 19 terlihat bahwa status gizi balita calon sasaran intervensi berdasarkan indeks BB/U sebagian besar (73,5 %) tergolong Zscore -2 - -3 (gizi kurang) dan bahkan 14,7 persen tergolong gizi Zscore <-3 (kurang berat/(buruk). Berdasarkan indeks TB/U sebagian besar balita calon sasaran juga tergolong Zscore -2 s/d -3 dan jumlah balita yang tergolong Zscore < -3 (stunting) cukup banyak (35,4%).

Namun berdasarkan indeks BB/TB, sebagian besar (82,4%) balita sasaran memiliki Zscore masih kurang dari -2. Distribusi balita menurut status gizi Zscore disajikan pada tabel 28.

Tabel 28 Distribusi Balita menurut Status Gizi Awal berdasarkan Zscore

Status Gizi berdasarkan Zscore	N	%
BB/U		
< -3	5	14,7
-2 s/d -3	25	73,5
> -2	4	11,8
Jumlah	34	100,0
TB/U		
< -3	12	35,4
-2 s/d -3	18	52,9
> -2	4	11,7
Jumlah	34	100,0
BB/TB		
< -3	2	5,9
-2 s/d -3	4	11,7
> -2	28	82,4
Jumlah	34	100,0

Berat badan Balita sasaran yang menderita gizi kurang, sering mengalami tidak naik dari bulan ke bulan berikutnya. Menurut pernyataan ibu/pengasuh balita, penyebab berat badan tidak naik sebagian besar (52,9%) karena sakit dan anak tidak mau atau sulit makan (35,3%). Distribusi penyebab nerat badan balita sasaran tidak naik disajikan pada Tabel 29.

Tabel 29 Penyebab Berat Badan Anak Tidak Naik

Penyebab	N	%
Anak sakit	18	52,9
Anak tidak mau makan	12	35,3
Anak kurang makan	7	20,6
Tidak tahu	7	20,6

Ket. % terhadap 34 responden

Kejadian Sakit. Terjadinya masalah gizi tidak hanya disebabkan oleh asupan gizi yang kurang, tetapi juga dipengaruhi oleh penyakit infeksi. Balita sasaran dalam 3 bulan terakhir, sebagian besar pernah menderita sakit dengan frekuensi berkisar antara 1 – 5 kali. Namun balita sasaran sebagian besar (76,5%) tidak pernah menderita penyakit

diare. Diantara penyakit yang paling sering diderita berturut-turut adalah ISPA, demam dan diare. Distribusi balita menurut frekuensi kejadian sakit, disajikan pada Tabel 30.

Tabel 30 Distribusi Frekuensi Kejadian Sakit pada Balita dalam 3 bulan terakhir

Frekuensi	ISPA		Diare		Demam	
	N	%	N	%	N	%
1	7	20,6	3	8,8	7	20,6
2	4	11,8	3	8,8	6	17,6
3	7	20,6	2	5,9	5	14,7
4	0	0	0	0	1	2,9
5	1	2,9	0	0	0	0
Tidak pernah	15	44,1	26	76,5	15	44,1
	34	100,0	34	100,0	34	100,0

Karakteristik orangtua Balita

Usia ibu balita berkisar antara 25 hingga 58 tahun, dengan rata-rata usia adalah 36,94 tahun. Pendidikan orangtua balita (kepala keluarga/ayah dan ibu) berpendidikan masih rendah, bahkan sebagian tidak pernah sekolah. Pendidikan yang ditamatkan orang tua balita (KK dan IKK) sebagian besar berturut-turut adalah tamat SD (35,3% dan 38,2%). Distribusi tingkat pendidikan orangtua balita sasaran disajikan pada Tabel 31

Tabel 31 Pendidikan Orangtua Balita

Tingkat Pendidikan	Kepala keluarga		Istri KK	
	n	%	n	%
Tidak Sekolah	7	20,6	5	14,7
Tidak Tamat SD	3	8,8	7	20,6
Tamat SD	12	35,3	13	38,2
Tamat SLTP	5	14,7	3	8,8
Tamat SLTA	6	17,6	4	11,8
Tamat PT	1	2,9	1	2,9
Jumlah	34	100	33	100

Keterangan : 1 KK meninggal

Sebagian besar orangtua balita, kepala keluarga (KK) mempunyai pekerjaan sebagai petani baik yang punya lahan maupun tidak punya lahan karena domisili di daerah pertanian, sedangkan IKK sebagian besar (50,0%) tidak bekerja atau sebagai ibu rumah tangga. Distribusi pekerjaan orang tua balita secara lengkap disajikan pada Tabel 32.

Tabel 32 Pekerjaan Orangtua Balita

Pekerjaan	Kepala keluarga		Istri KK	
	n	%	n	%
Tidak bekerja (IRT)	1	2,9	17	50,0
Petani punya lahan	5	14,7	5	14,7
Petani tanpa lahan	8	23,5	4	11,8
Pedagang/toko	7	20,6	2	5,9
PNS	2	5,9	2	5,9
Pegawai swasta	2	5,9	1	2,9
Buruh lainnya	4	11,8	2	5,9
Sopi/ojek	4	11,8		
Lainya	1	2,9		
Jumlah	34	100	33	100

Keterangan : 1 IKK menjadi KK

Potensi Bahan Pangan Lokal

Lokasi penelitian untuk tahap efikasi biskuit fungsional ini, dipilih Kabupaten Bangkalan, Propinsi Jawa Timur. Tepatnya di Kecamatan Geger dan Kecamatan Burneh. Daerah yang dipilih ini memiliki potensi alam, berupa lahan yang ditanami umbi-umbian berserat seperti: ubi jalar, garut, dan bentoel. Ijin untuk melakukan penelitian di Kabupaten Bangkalan ini telah diajukan melalui surat dari LPPM IPB Nomor : 506/I3.11/PL/9 tertanggal 29 Juli 2009. Surat ditujukan kepada Gubernur Jawa Timur, UP. Kepala Bankesbang Linmas Jawa Timur. Setelah melalui berbagai proses, perijinan penelitian telah turun dari Bankesbang Bangkalan (Lampiran 8).

Cara memperoleh pangan. Hasil produksi pangan di lingkungan keluarga umumnya belum mencukupi kebutuhan pangan keluarga. Keluarga balita calon sasaran intervensi, memperoleh pangan sebagian besar (58,8%) dengan cara membeli, sedangkan sebagian lainnya (41,2%) memperoleh dengan cara memproduksi dan membeli.

Jenis pangan yang diproduksi sendiri. Selaian di pekarangan, kegiatan produksi pangan untuk memenuhi keluarga dilakukan pada lahan sawah maupun tegal yang dimiliki atau menggarap lahan orang lain. Terlihat pada tabel 33 pangan pokok yang banyak dihasilkan keluarga balita sasaran adalah padi, jagung dan ubi, sedangkan kelompok lauk nabati adalah kacang-kacangan dan kelompok hewani adalah ayam dan telur. Kelompok sayuran yang paling banyak ditanam adalah bayam dan sawi sehingga jenis sayuran tersebut cukup mendominasi menu makanan sayuran sehari-hari dalam keluarga, demikian juga kelompok buah, dimana pisang, mangga dan papaya mendominasi jenis buah yang dikonsumsi keluarga sehari-hari, termasuk anak balita.

Tabel 33. Jenis Pangan yang Diproduksi oleh Keluarga

Kelompok Pangan	Jenis pangan
Pangan Pokok	Padi, jagung, ubi, singkong
Lauk Pauk	Nabati : kedele, kacang tanah Hewani: sapi, kambing, ayam, bebek, telur, ikan tawar
Sayuran	Sayuran hijau: bayam, sawi, kangkung Sayuran lain : bawang merah, bawang putih
Buah-buahan	Mangga, pepaya, pisang

Jenis pangan yang tersedia di daerah setempat. Wilayah lokasi intervensi merupakan daerah pertanian yang sebagian besar merupakan lahan tadah hujan atau lahan kering sehingga hasil produksi pangan yang ada cenderung sesuai dengan kondisi yang ada. Kelompok pangan pokok, selain padi-padian (padi dan jagung), di daerah Geger sangat terkenal sebagai penghasil aneka umbi – umbian seperti ubi jalar, singkong, talas, gembolo, gembili dan aneka jenis umbi lainnya. Kacang-cangan juga merupakan hasil pertanian andalan, diantaranya kacang tanah, kacang merah dan kedele. Adanya ketersediaan beberapa jenis kacang-kacangan terutama kedele, di daerah lokasi penelitian terdapat beberapa home industri yang mengolah kacang-kacangan menjadi aneka olahan (tempe, tahu, kacang goreng, dll) meskipun dalam jumlah produksi yang masih terbatas. Sedangkan lauk hewani selain telur, lauk yang cukup banyak tersedia adalah ikan, yang diolah menjadi ikan pindang dan ikan asin. Kelompok sayuran, jumlah produksi relatif terbatas karena kurangnya ketersediaan air, namun untuk kelompok buah-buahan sudah cukup banyak tumbuh dan menyebar di daerah kecamatan geger, terutama buah mangga dan rambutan.

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

A. Penelitian prebiotik inulin dan FOS terhadap pertumbuhan Probiotik

Prebiotik jenis FOS memberikan efek lebih baik dibandingkan dengan inulin terhadap pertumbuhan probiotik jenis *Enterococcus faecium* IS-27526.

B. Formulasi Biskuit Fungsional

Formula F4 (penambahan tepung garut) merupakan formula yang paling disukai dan memberikan sumbangan 490.03 kkal energi energi dan 22.60 gram protein per 100 gram biskuit. Diharapkan dengan mengkonsumsi 50 gram biskuit, dapat memberikan kontribusi asupan protein balita lebih dari 20% kebutuhan.

C. Pengujian Aktivitas Sinbiotik pada Hewan Coba

Berdasar prebiotik jenis FOS memiliki efektifitas sinbiotik yang lebih baik daripada inulin terhadap pertumbuhan probiotiknya, maka formula biskuit yang mengandung FOS dari pangan lokal, berupa tepung ubi jalar dan tepung garut yang digunakan pada hewan coba. Hasil yang diperoleh dua formula biskuit yang paling baik dalam meningkatkan berat badan tikus serta jumlah bakteri asam laktat adalah formula dengan penambahan FOS + tepung garut + probiotik, dan formula tepung garut + probiotik. Oleh karena itu untuk tahap penelitian kedua, yaitu penelitian epidemiologi berupa intervensi pada balita gizi kurang akan digunakan formula biskuit probiotik dengan penambahan tepung garut sebagai bahan pangan lokal yang berfungsi sebagai prebiotik.

D. Intervensi : Survey Base Line Pra Intervensi

Hasil skrining balita berdasarkan pengukuran antropometri, pemeriksaan klinis dan wawancara diperoleh 34 balita yang memenuhi kriteria inklusi sebagai calon sasaran intervensi PMT Biskuit Fungsional, yang tersebar di 4 desa kecamatan Geger, Bangkalan, Madura. Hasil analisis data awal menunjukkan :

- a. Balita calon sasaran intervensi berumur 25 -58 bulan dan merupakan anak yang ke 2 – 7, dengan riwayat : sebagian besar pernah menerima paket PMT dan vitamin A, namun belum pernah menerima obat cacing. Praktek ASI eksklusif masih rendah dan kolustrum belum banyak diberikan, pemberian makanan selain

ASI terlalu dini (< 4 bulan) dan sebagian terlalu terlambat (> 1 tahun), dengan frekuensi pemberian makanan berkisar 2-4 kali sehari.

- b. Tingkat konsumsi energi semua (100%) balita calon sasaran masih dibawah 70%, sedangkan tingkat konsumsi protein masih cukup besar (41,2) yang kurang dari 70 persen.
- c. Penilaian status gizi balita sasaran dengan beberapa indek (BB/U, TB/U, BB/TB) sebagian besar mengalami gangguan dan keterlambatan pertumbuhan. Namun demikian , balita tersebut jarang ke posyandu dan tidak memiliki KMS sebagai media pantau pertumbuhan. Berat badan balita sering tidak naik terutama karena sakit demam, Ispa, diare (52,9%) dan karena sulit makan (35,3%).
- d. Kacang-kacangan dan umbi-umbian merupakan pangan potensial di daerah lokasi intervensi yang merupakan daerah pertanian lahan kering dan meskipun bukan daerah penghasil ikan, masyarakat lokasi penelitian mudah memperoleh ikan dan ikan sudah menjadi bagian menu harian, terutama ikan pindang dan ikan asin.

Saran

1. Perlu dikembangkan makanan tambahan balita yang berbasis pangan lokal dan memperhatikan sosiokultur setempat, yang mengandung padat gizi (Kalori, protein) dan mampu mencegah atau menurunkan kejadian sakit balita.
2. Balita yang memiliki BB/U Zscore dibawah - 2 dan sering mengalami sakit infeksi, perlu diprioritaskan untuk memperoleh makanan tambahan biskuit fungsional (padat gizi dan mengandung zat kekebalan tubuh).

DAFTAR PUSTAKA

- Atmarita. 2006. Mampukan Indonesia Bersepakat untuk Melakukan Peningkatan Sumberdaya Manusia (SDM) yang Cerdas dan Berkualitas. *Gizi Indonesia*, 29 (1): 47-57
- Boyle, MH. 2003. *Community Nutrition in Action* 3rd ed. Wadsworth Thomson. Learning Inc. USA.
- BL Chiang, YH Sheih, LH Wang, CK Liao and HS Gill. Enhancing immunity by dietary consumption of a probiotic lactic acid bacterium (*Bifidobacterium lactis* HN19): optimization and definition of cellular immune responses. *European Journal of Clinical Nutrition* (2000) 54,849-855.
- Codex Alimentarius Commission, 1994. *Codex Alimentarius Food for Special Dietary Uses (Including Foods for Infant and Children)*. FAO-WHO.
- Drisko JA, Giles CK, Bischoff BJ. Probiotics in Health Maintenance and Disease Prevention. *Alternative Medicine Review*, Volume 8, Number 2, 2003
- Gibson,RS, 2005. *Principles of Nutritional Assessment*. Oxford University Press. New York.
- Gibney,MJ., MK Barie, MK John,. 2005. *Public Health Nutrition*. Blackwell, Publishing.Ltd, Oxford.
- Hautvast JL, 2000. Severe Linear Growth Retardation in Rural Zambian Children in the Influence of Biological Variable. *Am.Jour.Clin.Nutr*;71:550-550.
- Kathleen Mahan and S. Escott-Stump. 2004. *Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy*, 11 th Edition. SAUNDERS. Elsevier, USA.
- Manley DJR. 1983. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies*. Ellis Horwood Limited, Chichester.
- Martorell R, 1995. *Promoting Healthy Growth : Rationale and Benefits dalam Child Growth and Nutrition in Developing Countries*. Andresen PP, Pelletier.D dan Alderman H. Cornell University Press. Ithaca and London.
- Marteau PR, de Vrese M, Cellier CJ, Schrezenmeir J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 2001;73:430S-436S
- Roitt I, Delves PJ. 2001. *Roitt's Essential Immunology*. Tenth edition. Blackwell Scientific Publication,London.
- Rosado JL, 1999. Separate and Joint Effect of Micronutrient Deficiencies on Linear Growth. *J.Nutr*.129 (suppl):531S-533S.
- Pudjiadi,S, 2001. *Ilmu Gizi Klinis pada Anak*. Edisi Keempat, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Salminen S, Deighton M, Benno Y, Gorbach S, 1998. Lactic Acid Bacteria in Health Disease. In Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects, Salminen S and A Von Wright (eds) Marcel Dekker, New York. Pp 211-254.

Surono IS. 2004. Probiotik. Susu Fermentasi dan Kesehatan. Penerbit YAPMMI, Jakarta.

Suvarna VC, Bobby VU. Probiotics in human health: A current Assessment. *Current Science*, Vol. 88, No. 11, 10 June 2005

Vanderhoof JA. Probiotics: future directions. *Am J Clin Nutr* 2001;73:1152S-1155S

Winarno dan Felicia K. 2007. Pangan Fungsional dan Minuman Energi. BRIO Press, Bogor.

B. DRAFT ARTIKEL ILMIAH

Masih dalam proses penyelesaian

C. SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN

Program selanjutnya adalah intervensi biskuit fungsional berbasis sinbiotik prebiotik asal pangan lokal dan probiotik kepada balita gizi kurang di Kecamatan Geger, Kabupaten Bangkalan. Hasil penelitian, kemudian akan disosialisasikan di kabupaten lain di Jawa Timur..

Usulan program tahun kedua secara lengkap dapat dilihat pada Proposal Usulan terlampir terpisah.