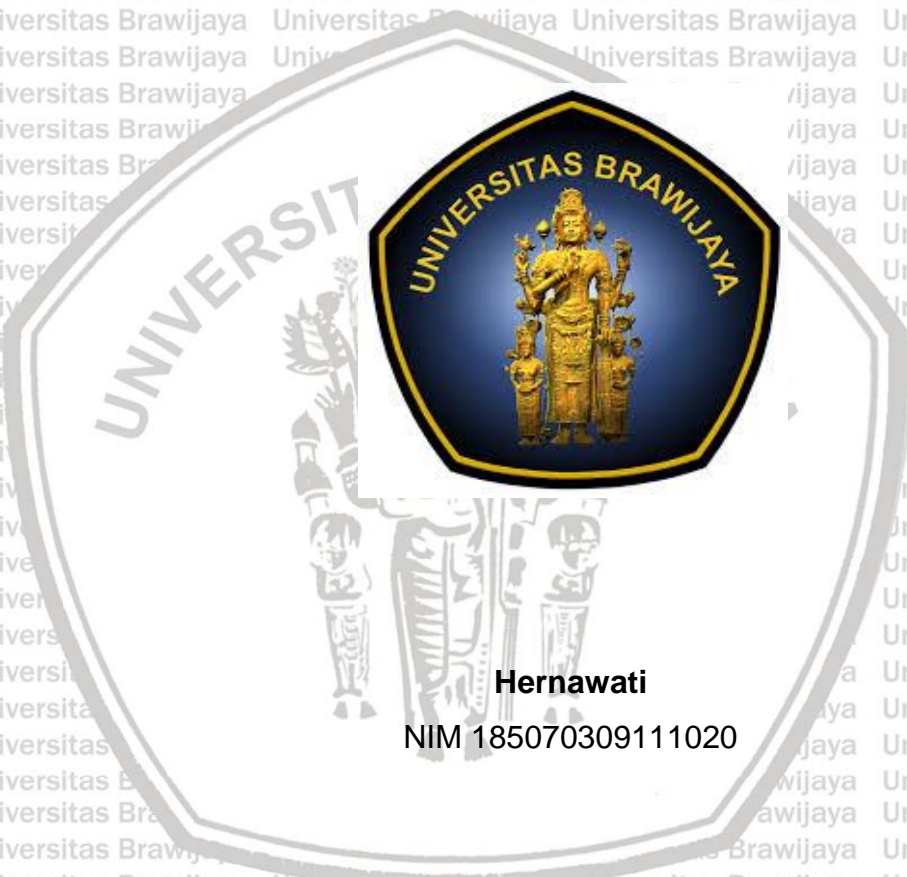


**MUTU MIKROBIOLOGI BISKUIT TEPUNG KOMPOSIT
(TEPUNG BERAS DAN TEPUNG TERIGU) DENGAN PENAMBAHAN
TEPUNG IKAN TONGKOL (*EUTHYNNUS AFFINIS*)**

TUGAS AKHIR



Hernawati

NIM 185070309111020

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG**

2021

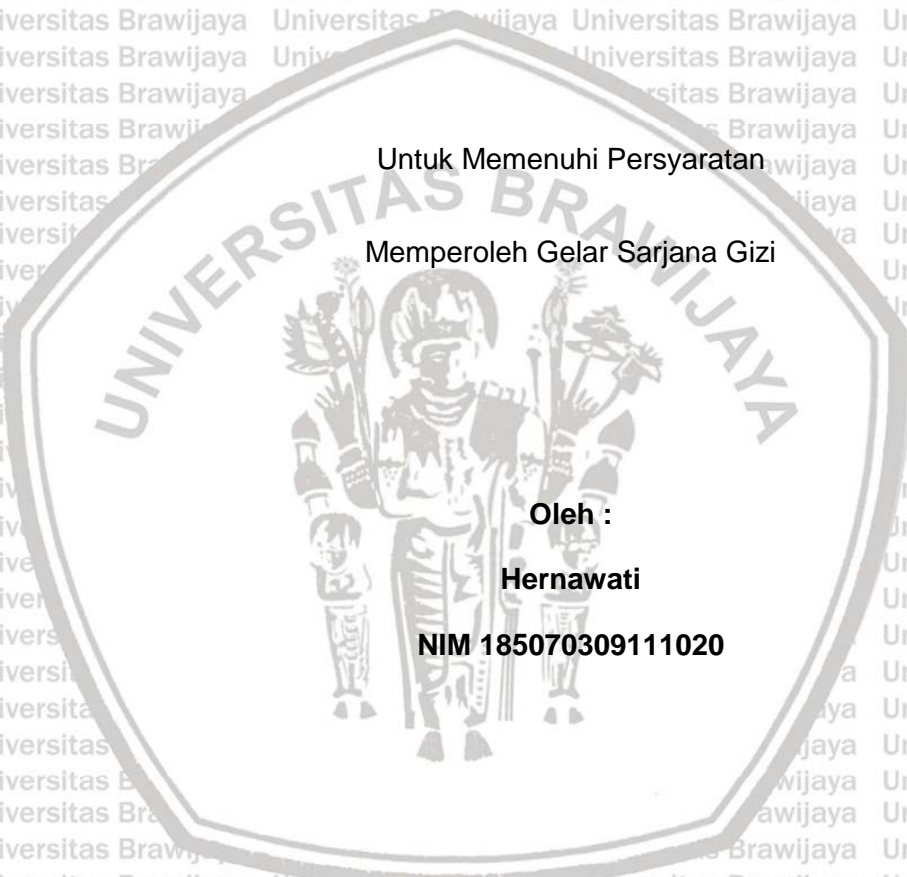




HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

**MUTU MIKROBIOLOGI BISKUIT TEPUNG KOMPOSIT
(TEPUNG BERAS DAN TEPUNG TERIGU) DENGAN PENAMBAHAN
TEPUNG IKAN TONGKOL (*EUTHYNNUS AFFINIS*)**



Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Gizi

Oleh :

Hernawati

NIM 185070309111020

Menyetujui untuk diuji :

Pembimbing-I

Yosfi Rahmi, S.Gz., M.Sc
NIP.19791203 200604 2 002

Pembimbing-II

Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP
NIK. 2016078408251001



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**MUTU MIKROBIOLOGI BISKUIT TEPUNG KOMPOSIT
(TEPUNG BERAS DAN TEPUNG TERIGU) DENGAN PENAMBAHAN
TEPUNG IKAN TONGKOL (*EUTHYNNUS AFFINIS*)**

Oleh :

Hernawati

NIM 185070309111020

Telah diuji pada

Hari : Jum'at

Tanggal : 2 Juli 2021

dan telah dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

Dr. Irma Sarita Rahmawati, S.TP., MP

NIP. 19860916 201903 2 010

Pembimbing-I

Yosfi Rahmi, S.Gz., M.Sc
NIP. 19791203 200604 2 002

Pembimbing-II

Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP
NIK. 2016078408251001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Sarjana Ilmu Gizi



Dr. Nuzul Muslihah, SP., M.Kes
NIP. 19740126 200801 2002

Halaman Peruntukan



*Tugas Akhir ini
kupersembahkan
untuk suami, orangtua
dan anakku Maryam
yang selalu mendoakan dan menjadi
penyemangat dalam menyelesaikan
pendidikan.*



ABSTRAK

Hernawati. 2021. **Mutu Mikrobiologi Biskuit Tepung Komposit (Tepung Beras dan Tepung Terigu) dengan Penambahan Tepung Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)**. Tugas Akhir, Program Studi SARJANA Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Yosfi Rahmi, S.Gz., M.Sc (2) Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP.

Prevalensi masalah gizi kurang dan gizi buruk pada anak balita di Indonesia masih tergolong tinggi. Untuk mengatasi masalah tersebut, pemerintah melaksanakan program intervensi berupa pemberian makanan tambahan (PMT) dalam bentuk biskuit. Inovasi pengembangan produk biskuit sebagai makanan tambahan yang tinggi kandungan zat gizi perlu dilakukan dengan memanfaatkan bahan lokal seperti ikan tongkol. Ikan tongkol dapat diolah menjadi tepung, kemudian dijadikan sebagai bahan tambahan dalam pembuatan biskuit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ada perbedaan jumlah mikroba biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). Metode penelitian yang digunakan *Quasi Experimental* dengan 2 kelompok perlakuan yaitu penambahan tepung ikan tongkol sebesar 10% (P2) dan sebesar 15% (P3) dengan 3 kali pengulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata uji cemaran mikroba ALT adalah P2 = 1.53×10^2 dan P3 = 2.16×10^2 koloni/g. Hasil uji statistik ALT menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara P2 dan P3. Hasil uji kandungan *E.coli* menunjukkan semua sampel nilainya < 3 AMP/g dan uji kandungan *Salmonella sp.* diperoleh hasil negatif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa mutu mikrobiologi biskuit tepung komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol dengan konsentrasi yang berbeda tergolong normal sesuai standar mutu SNI biskuit 2973-2011, sehingga aman untuk dikonsumsi.

Kata kunci : Biskuit, Tepung Komposit, Tepung Ikan Tongkol, Mutu Mikrobiologi

ABSTRACT

Hernawati. 2021. **Microbiological Quality of Composite Flour Biscuits (Rice Flour and Wheat Flour) on the Addition of Tuna Fish Flour (*Euthynnus Affinis*)**. Final Assignment, Nutrition Program, Faculty of Medicine, University Brawijaya. Supervisors: (1) Yosfi Rahmi, S.Gz., M.Sc (2) Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP.

The prevalence of malnutrition and poor nutrition in children under five in Indonesia is still relatively high. To overcome this problem, the government implements an intervention program to provide additional food (PMT) in the form of biscuits. The innovation of developing biscuit products as an additional food that is high in nutrients needs to be done by utilizing local ingredients such as tuna. Tuna can be processed into flour, then used as an additional ingredient in making biscuits. The purpose of this study is to determine the difference amount of microbiology of composite flour biscuits (rice flour and wheat flour) on the addition of tuna fish meal (*Euthynnus affinis*). The research method was Quasi Experimental with 2 treatment groups, namely the addition of tuna fish flour by 10% (P2) and 15% (P3) with 3 repetitions. The results showed that the average ALT microbial contamination test was P2 = 1.53×10^2 and P3 = 2.16×10^2 coloni/g. The results of the ALT statistical test showed there is no significant difference between P2 and P3. The results of the E.coli test showed that all samples had a value of <3 AMP/g and the Salmonella sp. negative results were obtained. Therefore, it can be concluded that the microbiological quality of composite flour on the addition of tuna fish flour with different concentrations is normal according to the quality standard SNI biscuit 2973-2011, that it is safe for consumption.

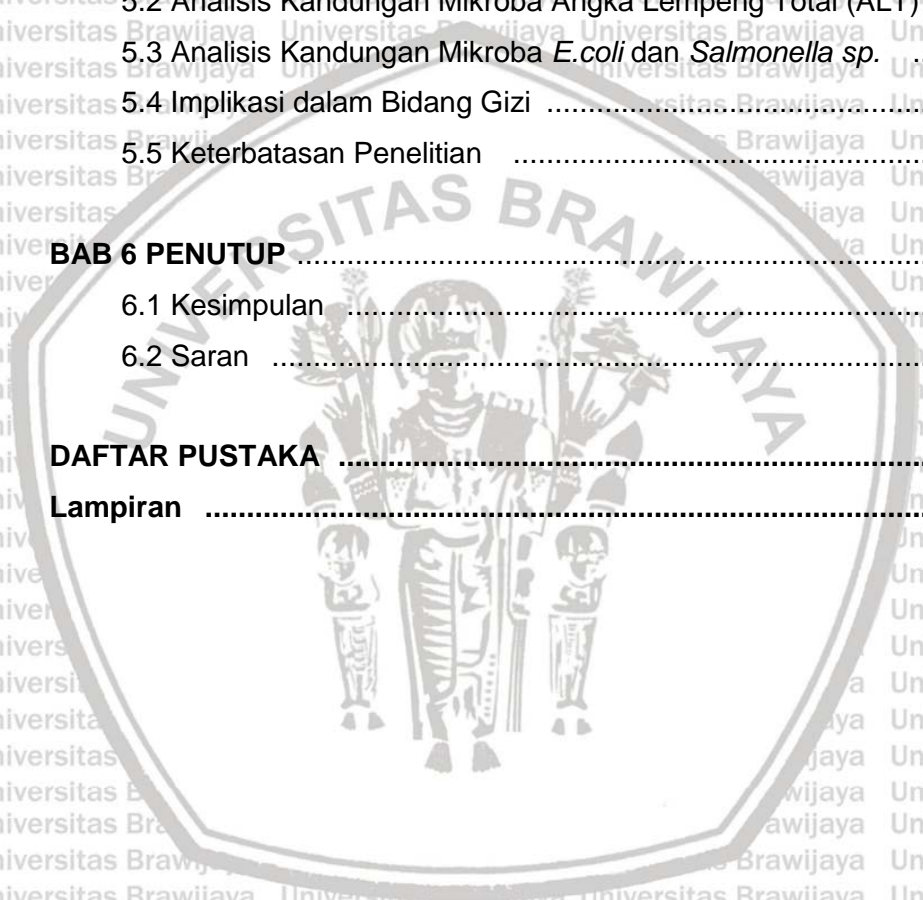
Keywords: Biscuits, Composite Flour, Tuna Fish Flour, Microbiological Quality

DAFTAR ISI

HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERUNTUKAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biskuit	6
2.2 Tepung Komposit	12
2.3 Ikan Tongkol (<i>Euthynnus Affinis</i>)	14
2.4 Tepung Ikan	16
2.5 Mutu Mikrobiologi	17
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	23
3.1 Kerangka Konsep	23
3.2 Hipotesis Penelitian	25
BAB 4 METODE PENELITIAN	26
4.1 Rancangan Penelitian	26
4.2 Objek dan Sampel Penelitian	26
4.3 Variabel Penelitian	28
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	28



4.5 Instrumen Penelitian	28
4.6 Definisi Operasional	30
4.7 Prosedur Penelitian	31
4.8 Alur Penelitian	36
4.9 Pengolahan Data	37
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	38
5.1 Karakteristik Produk	38
5.2 Analisis Kandungan Mikroba Angka Lempeng Total (ALT)	42
5.3 Analisis Kandungan Mikroba <i>E.coli</i> dan <i>Salmonella sp.</i>	44
5.4 Implikasi dalam Bidang Gizi	48
5.5 Keterbatasan Penelitian	49
BAB 6 PENUTUP	50
6.1 Kesimpulan	50
6.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
Lampiran	57



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Syarat Mutu Biskuit SNI 2973-2011	7
Tabel 2.2 Kandungan Gizi Ikan Tongkol	16
Tabel 2.3 Standar SNI Tepung Ikan/Bahan Baku Pakan	17
Tabel 4.1 Definisi Operasional	30
Tabel 4.2 Standar Produk dan Alat Pembuatan Tepung Ikan	31
Tabel 4.3 Formulasi Biskuit T.Komposit dengan Penambahan T.Ikan	33
Tabel 5.1 Rata-Rata Kandungan Mikrobiologi ALT	42
Tabel 5.2 Hasil uji kandungan <i>E.coli</i> dan <i>Salmonella sp</i>	44



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1 Kerangka Konsep	23
Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian	36
Gambar 5.1 Sampel Ikan Tongkol Bebas Kandungan Formalin	38
Gambar 5.2 Tepung Ikan Tongkol (<i>Euthynnus affinis</i>)	39
Gambar 5.3 Biskuit T. Komposit dengan Penambahan T.Ikan Tongkol	41



DAFTAR SINGKATAN

- ALT : Angka Lempeng Total
- AMC : *Aerobic Microbial Count*
- aw : *Activity Water*
- BDD : Bagian dapat dimakan
- BPOM : Badan Pengawas Obat dan Makanan
- Depkes : Departemen Kesehatan
- DHA : *Docosahexaenoic Acid*
- EPA : *Eicosapentaenoic Acid*
- FAO : Food and Agriculture Organization
- GEMARIKAN : Gerakan Memasyarakatkan Makan Ikan
- ISO : *International Organization for Standardization*
- MS : Memenuhi Standar
- PCA : *Plate Count Agar*
- pH : *Power of Hydrogen*
- PMT : Pemberian Makanan Tambahan
- Riskesdas : Riset Kesehatan Dasar
- RPJMN : Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional
- SNI : Standar Nasional Indonesia
- SPC : *Standard Plate Count*
- UU : Undang-Undang

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Permasalahan gizi di Indonesia yang terjadi pada anak balita berdasarkan data statistik mengalami penurunan, hal ini tidak berarti Indonesia terlepas dari masalah gizi. Data Riskesdas 2018 menunjukkan penurunan prevalensi status gizi kurang dan status gizi buruk dibandingkan data Riskesdas 2013 yaitu 19,6% menjadi 17,7%. Angka ini belum mencapai target Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional (RPJMN) 2019 yaitu 17%. Stunting juga mengalami tren penurunan proporsi dari 37,2% menjadi 30,8% (target RPJMN 2019 adalah 28% balita) (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2018).

Pemerintah sudah menjalankan program Pemberian Makanan Tambahan (PMT) sebagai salah satu program intervensi terhadap balita gizi kurang, tujuannya untuk meningkatkan status gizi dan mencukupi kebutuhan gizi balita.

Data hasil Riskesdas tahun 2018 menunjukkan bahwa proporsi balita yang mendapatkan PMT sebesar 41% (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2018). PMT yang diberikan selama ini dalam bentuk biskuit. Biskuit dipilih karena biskuit merupakan kue kering yang dibuat dari adonan keras (*hard dough*), tekstur renyah, struktur berpori, praktis, dapat dimakan kapan saja, memiliki daya simpan yang relatif lama serta dapat dikonsumsi oleh semua kalangan usia, mulai dari anak balita hingga orang dewasa (Manley, 2000). Salah satu bahan pangan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam pembuatan PMT adalah ikan. Salah satu jenis ikan yang menjadi komoditas utama adalah ikan tongkol.

Tingkat konsumsi ikan nasional tahun 2004 sangat rendah, sehingga pemerintah mencetuskan program Gerakan Memasyarakatkan Makan Ikan

(GEMARIKAN). Masyarakat mengonsumsi ikan dalam bentuk segar, diolah dan juga diperjualbelikan dalam bentuk segar, beku maupun dikalengkan (Carpenter dan Volker, 2001). Dengan mengonsumsi ikan, kita telah berpartisipasi dalam mendukung program GEMARIKAN.

Ikan tongkol kaya akan kandungan gizi, diantaranya protein. Protein ikan tongkol terdiri atas asam amino yang lengkap dan kaya asam lemak omega 3 (Andini, 2006 ; Nuraini, 2013). Protein ikan mengandung zat taurin dan asam lemak Omega 3 (EPA dan DHA) yang mampu merangsang pertumbuhan dan perkembangan sel otak balita, membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh, kandungan vitamin D dan magnesium ikan laut berperan dalam proses pembentukan dan kekuatan tulang serta memperkuat otot, sehingga ikan sangat cocok dikonsumsi oleh anak-anak (Andriani dan Bambang, 2012).

Salah satu inovasi pada pengolahan ikan tongkol adalah diolah menjadi tepung ikan, selanjutnya dijadikan bahan baku dalam pembuatan biskuit. Saat ini penggunaan tepung ikan belum dimanfaatkan dengan maksimal, kegunaannya masih sebatas bahan campuran pakan ternak (Moeljanto, 1992). Padahal tepung ikan mempunyai kandungan asam-asam amino esensial cukup tinggi dan lengkap (Madlen *et al.*, 2015). Pengolahan ikan dalam bentuk tepung terutama tepung ikan laut, masih jarang ditemukan.

Mervina (2012) meneliti tentang formulasi biskuit dengan substitusi tepung ikan lele dumbo dan isolat protein kedelai sebagai makanan potensial untuk anak balita gizi kurang. Aini (2014) juga melakukan penelitian tentang formulasi biskuit blondo dan tepung ikan gabus (*Channa striata*) yang berpotensi mengatasi gizi buruk pada balita, sehingga perlu adanya inovasi dan upaya untuk memanfaatkan tepung ikan laut menjadi produk pangan seperti biskuit.

Tepung ikan tongkol dapat dikombinasikan dengan tepung komposit dan di aplikasikan pada pembuatan biskuit. Tujuan pembuatan tepung komposit adalah untuk mendapatkan karakteristik bahan yang sesuai untuk produk olahan yang diinginkan, mendapatkan sifat fungsional serta meningkatkan penerimaan konsumen terhadap hasil olahan produk tertentu. Kombinasi antara tepung beras dan tepung terigu dapat memperbaiki tekstur biskuit dan memperbaiki penerimaan konsumen (Keregero and Mtebe, 1994).

Karakteristik biskuit sebagai makanan tambahan yaitu tiap 100 gram PMT balita mengandung 450 kalori, 14 gram lemak, 9 gram protein, dan 71 gram karbohidrat. PMT Balita mengandung 10 vitamin (vitamin A, B1, B2, B3, B6, B12, D, E, K, dan Asam Folat) dan 7 mineral (besi, zink, fosfor, selenium, dan kalsium). Setiap bungkus PMT Balita terdiri dari 12 keping biskuit atau 540 kalori (45 kalori per biskuit) (Kemenkes, 2016). Selain memiliki kandungan yang padat gizi, biskuit PMT harus memiliki kadar air kurang dari 5%, kandungan mikroba ALT maks. 1×10^4 koloni/g, *Salmonella sp.* negatif dan *E.coli* <3 AMP/g (BSN, 2011). Selain itu pada pembuatan biskuit harus teruji higienis, aman dan bebas kandungan mikroba. Informasi dan syarat mutu kandungan mikroba biskuit telah diatur dalam UU No.18 tahun 2012 tentang Pangan, PP No. 69 tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan, serta SNI biskuit 2973-2011.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk membuat biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan taraf perlakuan yang berbeda. Untuk itu perlu dikaji mutu mikrobiologi untuk mengetahui apakah ada perbedaan kandungan mikroba pada biskuit. Sehingga aman untuk dikonsumsi sebagai makanan tambahan untuk anak balita.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada perbedaan jumlah mikroba pada biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan jumlah mikroba biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui cara pembuatan biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*)
2. Mengetahui perbedaan jumlah mikroba Angka Lempeng Total (ALT), *E.coli* dan *Salmonella sp.* pada biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*)
3. Menganalisis perbedaan jumlah mikroba Angka Lempeng Total (ALT), *E.coli* dan *Salmonella sp.* pada biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*)

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Memberikan hasil penelitian mengenai jumlah mikroba biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan

tongkol (*Euthynnus affinis*) dan dapat dijadikan bahan rujukan untuk penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi yang bermanfaat bagi masyarakat tentang jumlah mikroba pada biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biskuit

Biskuit merupakan makanan ringan dan praktis karena dapat dimakan kapan saja dan memiliki standar mutu kadar air kurang dari 5% sehingga bertekstur renyah dan memiliki daya simpan yang relatif lama (Manley, 2001).

Biskuit adalah produk yang diperoleh dengan langkah memanggang adonan dari tepung terigu dengan penambahan bahan makanan lain dan atau penambahan bahan tambahan pangan yang diijinkan. Biskuit dikelompokkan dalam empat jenis yaitu biskuit keras, *crackers*, *cookies* dan wafer (Badan Standardisasi Nasional, 2011).

Biskuit umumnya berwarna coklat keemasan, permukaan agak licin, bentuk dan ukurannya seragam, *crumb* berwarna putih kekuningan, kering, renyah dan ringan serta aroma yang enak. Bahan pembentukan biskuit dikelompokkan menjadi dua jenis bahan yaitu bahan pengikat dan bahan perapuh. Bahan pengikat fungsinya untuk membentuk adonan agar terlihat kompak, terdiri dari tepung, air, padatan dari susu dan putih telur. Bahan perapuh terdiri dari gula, *shortening*, bahan pengembang, dan kuning telur (Matz, 1978).

Biskuit disukai seluruh kalangan usia karena rasanya enak, bervariasi, bentuk beranekaragam, harga relatif murah, cukup mengenyangkan dan kandungan gizi yang lengkap.

Perubahan sifat kimia biskuit dapat terjadi akibat adanya pengaruh beberapa faktor, seperti komposisi bahan, suhu, dan waktu pemanggangan.

Standar mutu biskuit secara umum telah diatur dalam SNI 2973-2011, dapat dilihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Syarat Mutu Biskuit SNI 2973-2011

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Bau	-	Normal
1.2	Rasa	-	Normal
1.3	Warna	-	Normal
2	Kadar air (b/b)	%	Maks. 5
3	Serat Kasar	%	Maks. 0.5
4	Protein (N x 6.25) (b/b)	%	Min. 5
5	Asam lemak bebas (sebagai asam oleat) (b/b)	%	Maks. 1.0
6	Cemaran logam		
6.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0.5
6.2	Cadmium (Cd)	mg/kg	Maks. 0.2
6.3	Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40
6.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	Maks. 0.05
6.5	Arsen (As)	mg/kg	Maks. 0.5
7	Angka lempeng total	Koloni/g	Maks. 1×10^4
7.1	<i>Coliform</i>	APM/g	20
7.2	<i>Escherichia coli</i>	APM	<3
7.3	<i>Salmonella sp.</i>	-	Negatif/25g
7.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	Koloni/g	Maks. 1×10^2
7.5	<i>Bacillus cereus</i>	Koloni/g	Maks. 1×10^2
7.6	Kapang dan khamir	Koloni/g	Maks. 2×10^2

Sumber: SNI 2973-2011

Bahan-bahan yang digunakan dalam pengolahan biskuit dibagi menjadi dua kelompok, yaitu bahan pengikat dan bahan pelembut. Tepung terigu, susu, dan putih telur berfungsi sebagai bahan pengikat. Sedangkan bahan-bahan yang berfungsi sebagai pelembut adalah gula, lemak, dan kuning telur (Matz, 1992).

a. Tepung terigu

Tepung terigu adalah tepung atau bubuk halus yang berasal dari bulir/biji gandum yang dihaluskan, kemudian biasanya digunakan untuk pembuatan mie, kue dan roti. Kandungan utama tepung ini adalah pati, yaitu karbohidrat kompleks yang tidak larut dalam air. Karakteristik khusus

dibentuk oleh kandungan protein dalam bentuk gluten yang berperan dalam menentukan kekenyalan makanan yang kurang dimiliki oleh jenis tepung lain (Borghet *et al.* 2005).

Tepung yang biasa digunakan dalam proses pembuatan biskuit adalah tepung terigu. Tepung terigu merupakan bahan dasar biskuit yang berfungsi untuk membentuk adonan selama proses pencampuran, membentuk struktur biskuit, mengikat bahan lainnya, dan memberikan citarasa (Matz, 1992). Tepung terigu yang biasa digunakan untuk pembuatan biskuit adalah tepung terigu berprotein rendah dengan kandungan protein antara 8,5 – 10%, sehingga akan menghasilkan biskuit dengan tekstur yang renyah dan lebih tipis (Faridi, 1994). Sebaiknya dalam pembuatan biskuit menggunakan tepung terigu protein rendah (8-9%). Jika menggunakan tepung terigu jenis ini akan menghasilkan kue yang rapuh dan kering merata

Tepung terigu dengan kadar protein rendah memiliki sifat yang lebih mudah terdispersi dan berdaya serap air rendah sehingga membutuhkan air yang lebih sedikit dalam pengolahan adonan. Protein gluten yang ada dalam tepung terigu bersifat elastis, menggumpal dan akan mengembang pada saat terigu dibasahi dengan air. Sifat tersebut yang akan menentukan kualitas dari produk biskuit yang dihasilkan (Purba, 2002).

b. Lemak

Lemak merupakan komponen penting dalam pembuatan biskuit. Jenis lemak yang biasa digunakan untuk pembuatan biskuit dapat berasal dari lemak hewani ataupun lemak nabati. Saat pengadonan, lemak akan mengelilingi tepung terigu dan akan memutuskan ikatan gluten yang terbentuk

di dalamnya, sehingga menghasilkan karakteristik biskuit yang tidak keras dan lebih cepat meleleh di mulut (Manley, 2001). Lemak yang ditambahkan pada biskuit berfungsi untuk melembutkan atau membuat renyah, sehingga menjadi lebih lezat (Astawan, 2008).

c. Air

Air merupakan salah satu komponen penting yang berperan dalam kenampakan, tekstur, serta citarasa makanan (Winarno, 2002). Air dalam adonan berfungsi untuk membentuk gluten, melarutkan garam, membasahi dan mengembangkan pati, mengontrol suhu adonan, serta membantu kegiatan enzim yang ada di dalam adonan.

d. Garam

Garam (NaCl) yang ditambahkan ke dalam adonan biskuit berfungsi untuk menguatkan flavor biskuit dan mempengaruhi warna serta tingkat keremahan biskuit yang dihasilkan. Jumlah garam yang ditambahkan dalam adonan umumnya sebanyak 1% - 2,5% dari berat tepung terigu (Matz, 1992).

e. Gula

Gula pada pembuatan biskuit berfungsi sebagai bahan pemanis yang dapat menghasilkan citarasa manis dan mempengaruhi tekstur biskuit. Selain itu, penambahan gula juga dapat menghaluskan tekstur serta membuat warna biskuit menjadi warna coklat yang menarik (Claudia *et al.*, 2011). Warna coklat yang terbentuk pada biskuit dihasilkan akibat adanya reaksi antara karbohidrat dan protein yang terdapat pada bahan.

f. Baking powder

Baking powder (Na_2CO_3) merupakan senyawa yang berperan dalam melepaskan gas CO_2 agar adonan dapat mengembang dengan sempurna, menjaga penyusutan, dan untuk menyeragamkan remah. Baking powder juga berperan dalam mengatur aroma, membentuk volume, dan mengontrol penyebaran sehingga produk yang dihasilkan menjadi ringan. Selain itu, semakin banyak penambahan baking powder akan membuat kadar air biskuit semakin menurun (Setyowati dan Fithri, 2014).

g. Telur

Penambahan telur pada pembuatan biskuit berfungsi sebagai emulsifier yang akan menghasilkan tekstur renyah pada biskuit. Salah satu emulsifier yang biasa digunakan adalah kuning telur. Penambahan kuning telur berfungsi dalam memperbaiki tekstur biskuit menjadi lebih empuk. Hal tersebut dikarenakan adanya kandungan lesitin sebagai emulsifier sehingga biskuit yang dihasilkan lebih renyah (Hui, 1992).

h. Susu

Penambahan susu pada pembuatan biskuit akan menghasilkan citarasa yang baik dan menambah nilai gizi biskuit. Pembuatan biskuit biasanya menggunakan susu bubuk yang merupakan hasil pengeringan dari susu segar. Susu yang ditambahkan akan membentuk aroma, mengikat air, bahan pengisi, membentuk struktur yang kuat akibat adanya protein berupa kasein (Sundari, 2011)

Proses pembuatan biskuit pada umumnya terdiri dari tiga tahap, yaitu :

a. Pembuatan adonan

Proses pembuatan adonan diawali dengan mencampur bahan – bahan dan kemudian mengaduknya. Terdapat dua metode pencampuran adonan, yaitu metode krim dan metode *all-in* (Manley, 2001).

Pencampuran adonan pada metode krim dilakukan dengan cara memasukkan bahan baku secara bertahap, diawali dengan pencampuran lemak dan gula, dan kemudian penambahan tepung terigu pada bagian paling akhir. Metode ini dapat membatasi pengembangan gluten yang berlebihan pada biskuit. Sedangkan untuk metode *all-in* dilakukan dengan mencampurkan dan mengaduk semua bahan sampai terbentuk adonan (Matz, 1992).

b. Pencetakan

Pencetakan yang bertujuan untuk menyeragamkan bentuk biskuit dan menarik daya beli konsumen. Adonan yang telah dicetak kemudian ditata dan diolesi dengan lemak yang berfungsi untuk mencegah menempel nya biskuit pada loyang.

c. Pemanggangan.

Pemanggangan adalah proses utama dalam pembentukan karakteristik produk. Dalam tahap ini terjadi transfer panas dari sumber panas ke dalam biskuit. Proses pemanggangan akan mempengaruhi perubahan fisik dan kimiawi pada biskuit. Adonan dipanggang pada suhu 150 - 200°C selama ± 10 menit. Suhu dan lama pemanggangan akan mempengaruhi kadar air produk biskuit. Suhu juga mempengaruhi warna biskuit yang dihasilkan, suhu yang terlalu rendah akan menghasilkan biskuit yang pucat, sedangkan suhu yang terlalu tinggi

akan menyebabkan hangus sehingga warna biskuit tidak menarik (Muchtadi dan Sugiyono, 2013).

Proses pembuatan biskuit menurut Sunaryo (1985) yang dimodifikasi oleh Hiswaty (2002) menggunakan suhu pemanggangan dalam oven 155°C selama 15 menit kemudian menjadi biskuit. Sedangkan pembuatan biskuit tepung ikan gabus dipanggang selama 20 menit dengan suhu 160°C (Umar, 2013).

2.2 Tepung Komposit

Tepung adalah produk yang mudah disimpan, mudah di fortifikasi untuk memperkaya zat gizi, mudah dibentuk, dan mudah dibuat komposit yaitu campuran dengan tepung jenis lain (Winarno, 2000). Tepung digolongkan menjadi dua jenis yaitu tepung tunggal dan tepung komposit. Tepung tunggal adalah tepung yang terbuat dari satu jenis bahan pangan seperti tepung beras, tepung kasava, tepung ubi jalar, tepung sukun. Sedangkan Tepung komposit adalah tepung yang berasal dari beberapa jenis bahan baku yaitu umbi-umbian, kacang-kacangan, atau sereal dengan atau tanpa tepung terigu atau gandum dan digunakan sebagai bahan baku olahan pangan seperti produk bakery dan ekstrusi, seperti tepung singkong-terigu-kedelai, tepung komposit jagung-beras, atau tepung komposit singkong-terigu-pisang (Widowati, 2009). Sedangkan menurut (Jastra, *et al.*, 1997) tepung komposit ialah tepung yang terbuat dari beberapa macam tepung sereal, umbi-umbian atau leguminosa yang dapat digunakan dalam membuat roti, kue, mi, atau produk makanan lain.

Tujuan pembuatan tepung komposit adalah untuk mendapatkan karakteristik bahan yang sesuai untuk produk olahan yang diinginkan dan atau

untuk mendapatkan sifat fungsional tertentu. Secara politik pangan, tujuannya adalah untuk mensubstitusi atau bahkan menggantikan terigu. Setiap produk diharuskan memiliki karakter tersendiri yang menjadi pertimbangan dalam memilih jenis tepung sehingga menghasilkan karakter produk yang sesuai. Tepung komposit dapat diaplikasikan sangat luas untuk pengolahan berbagai produk pangan. Penggunaan tepung komposit, dari sifat fisik dan kimia, sangat berpotensi untuk menggantikan seluruh atau sebagian dari tepung terigu tergantung jenis produk yang akan dihasilkan (Tajudin, 2014). Tepung komposit mempunyai kelebihan antara lain memiliki nilai gizi yang lebih tinggi dibandingkan dengan hanya satu jenis tepung saja, serta kualitas fisik dan organoleptik yang lebih baik.

Tepung komposit dapat dibuat untuk memperbaiki sifat fisik, kimiawi, dan kandungan gizinya. Salah satu sifat penting dari tepung adalah reologi dan tampilan produk (misal roti) yang dihasilkan. Penyiapan bahan dan pengaturan komposisi dapat memperbaiki atau memenuhi kebutuhan sifat-sifat penting tepung yang dihasilkan (Shahzadi *et al.*, 2005). Pembuatan tepung komposit dimaksudkan juga untuk meningkatkan penerimaan konsumen terhadap hasil olahan produk tertentu. Misalnya, Tanzania adalah produsen sorghum tetapi kurang diterima karena warnanya, aroma, perasa, dan sifat penting lainnya yang kurang bagus. Penambahan sejumlah tertentu tepung terigu dapat memperbaiki penerimaan konsumen (Keregero *and* Mtebe, 1994).

Pada penelitian ini akan dilakukan pembuatan tepung komposit dari golongan sereal, yaitu pencampuran tepung beras dan tepung terigu sebagai bahan utama untuk pembuatan biskuit. Penelitian yang dilakukan oleh Wijayanti (2015) pada eksperimen pembuatan kue semprit menggunakan tepung beras

merah, diperoleh hasil terbaik dan disukai banyak masyarakat adalah penambahan tepung beras sebesar 50%. Istinganah (2017) meneliti tingkat kekerasan dan daya terima biskuit dari campuran tepung jagung dan tepung terigu dengan volume air yang proporsional diperoleh hasil secara keseluruhan, perlakuan yang paling disukai adalah campuran tepung jagung dan tepung terigu 80:20. Sedangkan pada penelitian tentang perbandingan tepung terigu (*Triticum*) dengan tepung beras merah (*Oryza nivara*) dan penambahan gula stevia terhadap karakteristik cookies diperoleh produk cookies terpilih yaitu perlakuan perbandingan tepung terigu dengan tepung beras merah 50:50 (Yulianti *et al.*, 2018).

2.3 Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)

Ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) merupakan ikan yang memiliki nilai ekonomis di perairan Selat Sunda. Ikan tongkol sebagai ikan pelagis yang mempunyai peran penting dalam rantai makanan sebagai ikan karnivor sehingga berpengaruh terhadap keseimbangan ekosistem perairan (Johnson *et al.*, 2013). Ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) memiliki kandungan protein yang tinggi dan juga sangat kaya akan kandungan asam lemak omega-3. Ikan cepat mengalami proses pembusukan dibandingkan dengan bahan makanan lain yang disebabkan oleh bakteri dan perubahan kimiawi pada ikan mati.

Ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) termasuk dalam famili *Scombridae* terdapat di seluruh perairan hangat Indo-Pasifik Barat, termasuk laut kepulauan dan laut nusantara. Klasifikasi Ikan Tongkol menurut Saanin (1986), adalah sebagai berikut:

Phylum : Animalia

Sub Phylum : Chordata

Kelas : *Pisces*
Sub Kelas : *Teleostei*
Ordo : *Perchomorphi*
Sub Ordo : *Scombrina*
Famili : *Scombridae*
Genus : *Euthynnus*
Spesies : *Euthynnus affinis*

Kementerian Kelautan dan Perikanan (2018) menyebutkan bahwa produksi hasil tangkapan ikan tongkol di wilayah Indonesia pada tahun 2017 sebanyak 471.008 ton. Ikan tongkol merupakan jenis komoditas utama nomor dua setelah ikan kakap. Provinsi yang menyumbang banyak produksi ikan kakap adalah Jawa Timur dan kepulauan Riau yang masing-masing 62.414 ton dan 50.675 ton.

Ciri-ciri ikan tongkol (*Euthynnus affinis*), badan berukuran sedang, memanjang seperti torpedo, mempunyai dua sirip punggung yang dipisahkan oleh celah sempit, sirip punggung pertama diikuti oleh celah sempit, sirip punggung kedua diikuti oleh 8-10 sirip tambahan, tidak memiliki gelembung renang, warna tubuh pada bagian punggung gelap kebiruan dan terdapat tanda garis-garis miring terpecah dan tersusun rapi (Collete dan Nauen 1983).

Keunggulan ikan tongkol sebagai ikan laut adalah kandungan omega-3 yang lebih tinggi jika dibanding ikan air tawar. Kandungan omega-3 bermanfaat untuk menetralkan kelebihan kolesterol di dalam tubuh manusia (Aziza, 2015).

Komponen kimia utama daging ikan adalah air, protein dan lemak yaitu berkisar 98 % dari total berat daging. Komponen ini berpengaruh

besar terhadap nilai nutrisi, sifat fungsi, kualitas sensoris dan stabilitas penyimpanan daging. Kandungan komponen kimia lainnya seperti karbohidrat, vitamin dan mineral berkisar 2 % yang berperan pada proses biokimia di dalam jaringan ikan mati (Sikorski, 1994). Setiap 100 g ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) memiliki komposisi kimia yang dapat dilihat pada table 2.2.

Tabel 2.2 Kandungan Gizi Ikan Tongkol

Kandungan	Jumlah
Air (%)	74.7
Lemak (g)	1.5
Protein (g)	13.7
Karbohidrat (g)	8.0

Sumber: Izwardy *et al*, 2018.

2.4 Tepung Ikan

Tepung ikan merupakan suatu produk padat kering yang dihasilkan dengan jelas mengeluarkan sebagian besar cairan dan sebagian atau seluruh lemak yang terkandung di dalam tubuh ikan. Dengan adanya pembuatan tepung ikan ini, selain menjadi salah satu alternatif yang tepat dalam pengolahan ikan dan sebagai makanan tambahan (*Food Supplement*), juga dapat membantu para petani/nelayan dalam peningkatan kesejahteraan.

Pembuatan tepung ikan dilakukan dengan proses pemanasan yaitu dengan cara dilakukan pengukusan selama 1 jam dan pengeringan 1-2 hari di bawah sinar matahari yang cerah (Utomo *et al.*, 2013). Kualitas dari tepung ikan ditentukan berdasarkan jenis ikan yang digunakan dan proses pembuatannya. Tepung ikan yang diolah dengan pemanasan berlebihan dapat menyebabkan terjadinya reaksi pencoklatan dan terjadi penurunan kadar protein sehingga menyebabkan kerusakan (Assadad *et al.*, 2015).

Menurut Clusac dan Ward (1996), pengolahan ikan segar menjadi tepung ikan dapat dilakukan melalui dua cara yaitu cara kering (dry process) dan cara basah (wet process). Cara kering dilakukan pada ikan berkadar lemak rendah (<5%), sedangkan cara basah dilakukan pada ikan yang berkadar lemak tinggi (>5%). Perbedaan kedua cara ini terdapat pada proses pengukusan dan pengepresan pada cara basah yang tidak dilakukan pada cara kering. Sebagian besar proses pembuatan tepung ikan melalui tahap pemanasan, pengepresan, pengeringan dan penggilingan menggunakan mesin yang telah dirancang sebelumnya.

Tabel 2.3 SNI Tepung Ikan / Bahan Baku Pakan

Persyaratan	Kadar air	Protein	Serat kasar	Abu	Lemak
	Maksimal	Minimal	Maksimal	Maksimal	Maksimal
Mutu I	10	65	1,5	20	8
Mutu II	12	55	2,5	25	10
Mutu III	12	45	3	30	12

Sumber : SNI 01-2715-1996/Rev. 92

2.5 Mutu Mikrobiologi

Hampir semua bahan pangan tercemar oleh berbagai mikroorganisme dari lingkungan sekitarnya (yaitu udara, air, tanah, debu, kotoran, bahan organik yang telah busuk). Populasi mikroorganisme yang berada pada suatu bahan pangan umumnya bersifat sangat spesifik dan tergantung pada jenis bahan pangan dan kondisi tertentu dari penyimpanannya (Buckle, 1987).

Mikroba dapat mencemari pangan melalui air, debu, udara, tanah, alat-alat pengolah (selama proses produksi atau penyiapan) juga sekresi dari usus manusia dan hewan. Penyakit akibat pangan (*food borne disease*) yang terjadi segera setelah mengonsumsi pangan, umumnya disebut dengan keracunan.

Pangan dapat beracun karena telah terkontaminasi oleh bakteri patogen yang kemudian dapat tumbuh dan berkembang biak selama penyimpanan, sehingga bakteri tersebut mampu memproduksi toksin yang berbahaya bagi manusia (Ratnasari *et al*, 2017). Bakteri yang terkait dengan keracunan makanan diantaranya adalah *Escherichia coli enteropatogenik*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolityca*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Vibrio cholera*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Enterobacter sakazaki* (ISO, 2006; BPOM, 2008)

Mikroba yang terkandung dalam makanan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan mikrobiologi sehingga makanan tersebut tidak dapat atau tidak layak untuk dikonsumsi. Untuk mengetahui layak dan tidak makanan dikonsumsi, perlu diadakan uji mikroba yang terdapat dalam makanan tersebut dengan cara analisis kuantitatif mikrobiologi pada bahan pangan (Buckle, 1987). Fardiaz (1993) mengemukakan bahwa uji mikrobiologi merupakan salah satu uji yang penting, karena selain dapat menduga daya tahan simpan suatu makanan, juga dapat digunakan sebagai indikator sanitasi makanan atau indikator keamanan makanan. Ada berbagai macam uji mikroba yang digunakan diantaranya :

1. Uji kuantitatif, bertujuan untuk menekan kualitas dan daya tahan suatu makanan.
2. Uji kualitatif, bertujuan untuk menentukan tingkat keamanan suatu bahan pangan.
3. Uji bakteri indikator, bertujuan untuk menentukan tingkat sanitasi bahan pangan.

Pengujian yang dilakukan pada setiap bahan pangan tidak sama tergantung dari berbagai faktor, diantaranya adalah cara penanganan dan konsumsinya, cara penyimpanan dan pengepakan, jenis dan komposisi serta berbagai faktor lainnya. Untuk bahan pangan seperti telur, daging dan susu biasanya dilakukan pengujian mikrobiologi, yaitu dengan cara mengisolasi bakteri pada media selektif.

a. Angka Lempeng Total (ALT)

Cara untuk mengetahui adanya cemaran mikroba pada produk pangan yaitu dengan melakukan pemeriksaan mikrobiologi, Pemeriksaan ini merupakan indikator adanya cemaran mikroba yang melebihi standar batas maksimum (Suriawiria, 1996). Metode dalam pemeriksaan mikrobiologi diantaranya angka lempeng total (ALT). Uji ALT digunakan untuk menghitung banyaknya bakteri yang tumbuh dan berkembang pada sampel, dengan menggunakan media padat (*Plate Count Agar / PCA*) dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni (Cfu) per ml/g atau koloni/100ml. Koloni yang tumbuh menunjukkan jumlah seluruh mikroorganisme yang ada di dalam sampel seperti: bakteri, kapang dan khamir. Cara yang digunakan antara lain dengan cara tuang, cara tetes dan cara sebar (BPOM RI, 2008).

Uji ALT di beberapa negara dinyatakan sebagai *Aerobic Plate Count (APC)* atau *Standard Plate Count (SPC)* atau *Aerobic Microbial Count (AMC)*. ALT secara umum tidak terkait dengan bahaya keamanan pangan namun kadang bermanfaat untuk menunjukkan kualitas, masa simpan/waktu paruh, kontaminasi dan status higienis pada saat proses produksi. ALT untuk produk pangan dalam kaleng dinyatakan dalam ALT aerob dan ALT anaerob. ALT anaerob

dimaksudkan untuk menunjukkan kontaminasi pasca proses pengalengan (BPOM, RI. 2012).

b. *Escherichia coli*

Bakteri yang sering dijadikan sebagai indikator terjadinya keracunan makanan salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli* atau yang lebih dikenal dengan *E.coli* dan juga menjadi salah satu mikroba indikator sanitasi. Timbulnya penyakit seperti diare ringan sampai berat atau keracunan disebabkan oleh keberadaan *E. coli* dalam air atau makanan yang dianggap memiliki korelasi tinggi ditemukannya patogen pada pangan. Diare merupakan penyakit yang menjadikan seseorang buang air besar dengan tekstur lunak bahkan berupa air saja dalam jangka waktu sedikit namun terjadi lebih dari 3 kali (Depkes RI, 2011).

Bakteri *Escherichia coli* dapat menyebar melalui air dan mengkontaminasi bahan-bahan yang bersentuhan dengannya. Dalam proses pengolahan biasanya bakteri ini akan mengkontaminasi alat-alat yang digunakan dalam proses pengolahan makanan yang apabila tertelan oleh manusia dapat menyebabkan diare (Faridz, 2007)

Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* optimal pada suhu 37°C dan banyak terjadi pada kondisi anaerob. *Escherichia coli* dapat memfermentasi laktosa dan memproduksi indol yang berfungsi untuk mengidentifikasi bakteri yang terdapat atau mengkontaminasi makanan dan air *Escherichia coli* dapat bertahan hidup hingga suhu 60°C pada waktu 15 menit atau pada suhu 55°C pada waktu 60 menit (Ganiswarna, 1995).

c. *Salmonella sp.*

Salmonella adalah genus bakteri yang merupakan penyebab utama penyakit bawaan diseluruh dunia dan umumnya ditularkan ke manusia melalui konsumsi makanan yang terkontaminasi asal hewan, terutama daging, unggas, telur dan susu. Gejala-gejala infeksi *Salmonella* biasanya muncul 12 – 72 jam setelah infeksi dan termasuk demam, sakit perut, diare, mual dan kadang-kadang muntah (WHO, 2019).

Bakteri *Salmonella sp* merupakan bakteri patogen yang menjadi indikator bahwa makanan tersebut kualitasnya sudah menurun yang apabila tertelan oleh manusia akan mengakibatkan penyakit saluran pencernaan. Bakteri ini dapat menyebar melalui alat pengolahan yang digunakan kurang higiene dan waktu penyimpanan terlalu lama (Dharmojo, 2001). Ada hubungan antara sanitasi dengan kontaminasi *Salmonella*, hal ini didasarkan pada penelitian di lapangan yaitu keterikatan faktor penyebab adanya *Salmonella* seperti sanitasi air dan sanitasi peralatan. Meliputi penyediaan air bersih untuk seluruh kegiatan, penggantian air bilasan yang sudah kotor, ketersediaan tempat sampah yang kondisinya tertutup dan kebersihan peralatan pedagang (pisau dan talenan) (Nugroho *et al*, 2014).

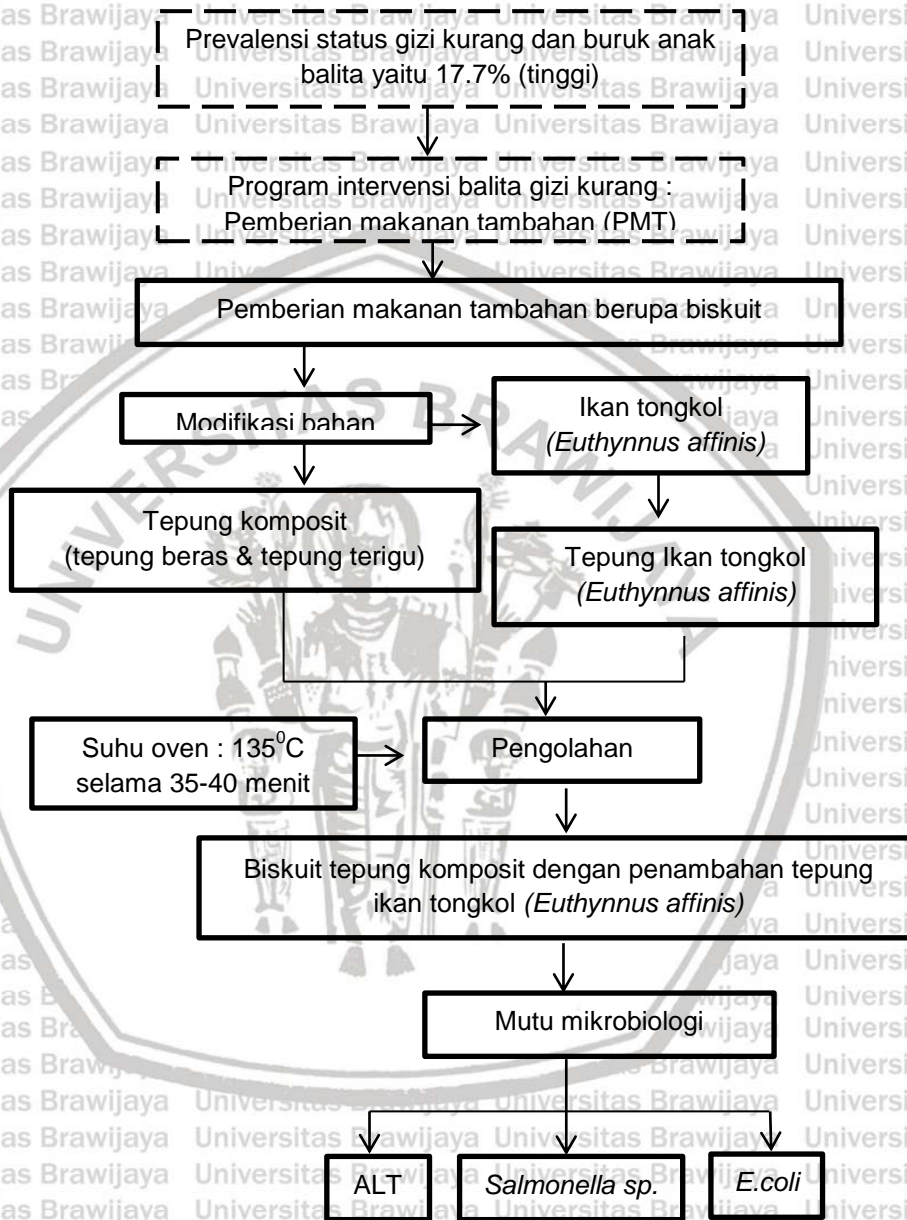
Salmonella dapat tumbuh optimum di berbagai kondisi lingkungan di luar inang. Sebagian besar serotipe *Salmonella* tumbuh pada kisaran suhu 5-47°C dan 15 optimum pada kisaran suhu 35-37°C. *Salmonella* tumbuh dalam kisaran pH antara 4-9 dengan pH optimal antara 6.5 dan 7.5. mereka membutuhkan aktivitas air tinggi (aw) antara 0,99 dan 0,94 (Pui *et al*, 2011). *Salmonella* tidak tahan terhadap kadar garam tinggi dan akan mati jika berada pada media dengan kadar garam di atas 9% (Jay *et al*, 2005). *Salmonella* dapat tumbuh

optimum pada media pertumbuhan yang sesuai dan memproduksi koloni yang tampak oleh mata dalam jangka waktu 24 jam pada suhu 37°C. *Salmonella* sensitif terhadap panas dan tidak tahan pada suhu lebih dari 70°C dan pasteurisasi pada suhu 71,1°C selama 15 menit (Cox *et al.*, 2000).



BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :
 [Solid Box] : Variabel yang diteliti
 [Dashed Box] : Variabel yang tidak diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Penjelasan Kerangka Konsep

Prevalensi status gizi kurang dan buruk pada anak balita di Indonesia pada tahun 2018 masih tergolong tinggi. Intervensi terhadap balita dengan status gizi kurang adalah dengan pemberian makanan tambahan (PMT). Tujuannya untuk memenuhi kecukupan gizi balita. PMT yang diberikan dalam bentuk biskuit dan juga olahan pangan lokal.

Biskuit merupakan salah satu makanan yang mudah diterima oleh balita karena bentuknya unik, rasanya gurih, renyah dan juga mudah dibawa kemana saja. Pangan lokal yang dapat dimanfaatkan adalah ikan tongkol. Ikan tongkol memiliki kelebihan yaitu mudah ditemukan di pasar, kaya kandungan gizi, tinggi protein, lemak, mineral, asam lemak, harga terjangkau dan mudah didapatkan di pasar. Sehingga ikan tongkol sangat bagus dikonsumsi anak balita pada masa tumbuh kembangnya. Namun Ikan tongkol juga memiliki kelemahan yaitu cepat mengalami kerusakan, tinggi kadar air sehingga mudah ditumbuhi bakteri yang menyebabkan ikan cepat busuk serta dapat menyebabkan keracunan histamin.

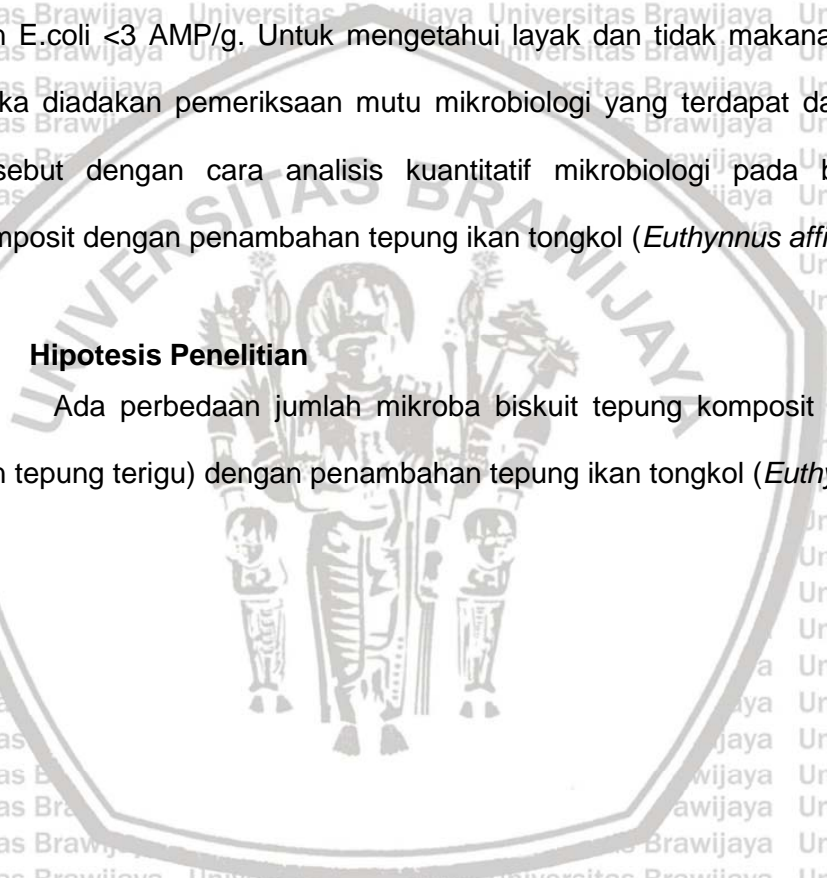
Salah satu inovasi pengolahan ikan tongkol adalah diolah menjadi tepung ikan tongkol. Tepung ikan tongkol dapat dimodifikasi kedalam pembuatan biskuit yang ditambahkan pada tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) sebagai bahan dasar pembuatan biskuit. Pembuatan biskuit tepung komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol diharapkan dapat menambah nilai gizi biskuit.

Dalam pembuatan biskuit harus memperhatikan perilaku hygiene sanitasi dan bebas mikroba sehingga produk aman dan layak untuk dikonsumsi. Produk biskuit harus bebas dari cemaran mikroba patogen yang dapat menyebabkan terjadinya keracunan makanan. Sehingga kandungan mikrobiologi dalam bahan

pangan harus diketahui. Hal ini merupakan salah satu uji yang penting karena dapat digunakan sebagai indikator sanitasi makanan atau indikator keamanan makanan. Mikroba yang terkandung dalam makanan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan mikrobiologi sehingga makanan tersebut tidak dapat atau tidak layak untuk dikonsumsi. Berdasarkan standar mutu SNI biskuit 2973-2011, kandungan mikroba ALT maks. 1×10^4 koloni/g, *Salmonella sp.* nilainya negatif dan *E.coli* < 3 AMP/g. Untuk mengetahui layak dan tidak makanan dikonsumsi, maka diadakan pemeriksaan mutu mikrobiologi yang terdapat dalam makanan tersebut dengan cara analisis kuantitatif mikrobiologi pada biskuit tepung komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).

3.2 Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan jumlah mikroba biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).



BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan penelitian *Quasi Experimental*. Penelitian dibagi menjadi 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

Penelitian pendahuluan dilakukan pembuatan biskuit dengan tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol

(*Euthynnus affinis*) dan dilakukan uji organoleptik. Selanjutnya didapatkan hasil

uji organoleptik 2 perlakuan terbaik yaitu penambahan tepung ikan sebanyak

15% (P3) sebagai perlakuan terbaik 1 dan penambahan tepung ikan sebanyak

10% (P2) sebagai perlakuan terbaik 2. Penelitian utama adalah melakukan

pembuatan biskuit tepung komposit (tepung beras dan terigu) dengan

penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) 10% (P2) dan 15%(P3)

yang merupakan perlakuan terbaik, dan dilakukan pemeriksaan mutu

mikrobiologi biskuit.

4.2 Objek dan Sampel Penelitian

Objek penelitian ini berupa biskuit tepung komposit (tepung beras dan

terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*). Setelah

dilakukan uji organoleptik, diambil 2 (dua) perlakuan terbaik.

4.2.1. Kriteria Inklusi Sampel

Sampel penelitian menggunakan bahan dasar ikan tongkol segar yang

telah ditepungkan, tepung beras dan tepung terigu yang tersedia secara

komersial di pasar domestik, dengan kriteria inklusi sebagai berikut :

Profil Ikan Tongkol sebagai basis tepung ikan memiliki karakteristik sebagai berikut :

- a) Ikan tongkol segar dan bebas dari kandungan formalin. Ikan tongkol terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan kandungan formalin dengan menggunakan *test kit* formalin.
- b) Ikan tongkol segar yang masih memiliki warna yang terang atau cerah dan belum dilakukan proses pengasapan
- c) Ikan tongkol dengan kriteria sirip ikan masih kuat dan tidak mudah rapuh
- d) Insang ikan tongkol masih berwarna merah dan mata dalam keadaan jernih menonjol serta cembung
- e) Ikan tongkol didapatkan di Pasar pelelangan Ikan Kota Kendari

Karakteristik tepung ikan tongkol sebagai berikut:

- a) Tepung ikan tongkol memiliki butiran-butiran yang seragam, bebas dari benda asing serta tidak hangus.
- b) Tepung ikan tongkol memiliki warna halus bersih, seragam, serta bau khas ikan amis

4.2.2. Kriteria Eksklusi Sampel

- a. Ikan Tongkol tidak segar
- b. Ikan tongkol dengan kualitas daging yang jelek (daging serta kulitnya mudah sobek).
- c. Ikan tongkol mengandung formalin.

4.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian sebagai berikut:

- a. Variabel bebas (*independent variable*): Penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) pada biskuit berbahan dasar tepung komposit.
- b. Variabel terikat (*dependent variable*): Mutu mikrobiologi pada biskuit berbahan dasar tepung komposit (tepung beras dan terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2021 di:

- a. Laboratorium Ilmu Bahan Makanan (IBM) Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Kendari untuk pembuatan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) dan pembuatan biskuit.
- b. Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Haluoleo untuk mutu mikrobiologi pada produk biskuit tepung komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan pembuatan biskuit : Ikan tongkol segar, tepung terigu merk segitiga biru, tepung beras merk rose brand, mentega merk blue band, butter, susu skim, gula halus, keju dan bubuk vanili.

Bahan analisa : Media *Plate Count Agar* (PCA), larutan NaCl kandungan mikroba ALT 0.9%, larutan *butterfield's phosphate buffered*.

Bahan analisa : Plate Count Agar (PCA), alkohol, *Brilliant Green*
 kandungan *E.coli* : *Lactose Bile Broth* (BGLB), *Eosin Methylene Blue*
Agar (EMBA), Kapas, *Buffer Pepton Water* (BPW),
Lauryl tryptose Broth (LB), *Escherichia coli Broth*
 (ECB), *Tryptone Broth*, *Media Methyl Red-Voges*
Proskauer (MR-VP), *Reagent kovac*, *A-Napthol*,
 KOH 40%, *Koser citrate broth*.

Bahan analisa : Larutan *Lactose broth*, Larutan gentian violet,
 kandungan *Salmonella* Larutan safranin, Alcohol 96%, Larutan lugol,
sp. Minyak imersi

4.5.2 Alat Penelitian

Alat pembuat biskuit : Oven, kompor, termometer oven, mixer, timbangan digital, cetakan, baskom, spatula, rol kayu, ayakan 100 mesh.

Alat analisa : Cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, Pipet
 kandungan volume, botol media, penghitung koloni (*colony*
 mikrobiologi *counter*), gunting, pinset, jarum inokulasi (ose),
 stomacher, pipet penghisap, lampu spiritus, plastik steril, gelas baker, labu erlenmeyer, *plastic wrap*,
 kaki tiga, karet pengisap, aluminium foil, batang pengaduk, mikrotip, mikro pipet, pembakar Bunsen, pH meter, timbangan, *magnetic stirrer*, pengocok tabung (*vortex*), inkubator, penangas air, autoklaf, lemari steril (*clean bench*), lemari pendingin (*refrigerator*).

4.6 Definisi Operasional

Definisi Operasional dalam penelitian disajikan dalam Tabel 4.1 dibawah ini :

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Skala	Cara Ukur	Hasil Ukur
Biskuit Tepung Komposit	Biskuit adalah kue kering yang renyah, manis dan gurih terbuat dari adonan mentega, butter, gula halus, keju, vanili dan kombinasi tepung komposit (tepung beras dan terigu) dan tepung ikan tongkol.	-	-	-
Tepung Komposit	Tepung yang terdiri dari tepung terigu dan tepung beras dengan komposisi tepung terigu 95% dan tepung beras 5%.	-	-	-
Tepung Ikan Tongkol	Tepung yang didapatkan dari ikan tongkol segar melalui serangkaian proses dari pencucian, sorting ikan (hanya bagian daging), steaming menggunakan steamer pada suhu $\pm 80^{\circ}\text{-}90^{\circ}\text{C}$ (± 15 menit) dan dilakukan pengeringan menggunakan oven (suhu 65°C selama 8-9 jam) setelah itu dilakukan penghalusan menggunakan blender atau penggiling mekanis dan dilakukan pengayakan dengan kerapatan 100 mesh.	-	-	-
Mutu mikrobiologi	Kandungan mikroba dalam biskuit yang diperbolehkan berdasarkan SNI Biskuit 2973-2011	Rasio	Metode TPC dan MPN	Dalam Satuan koloni

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Metode Pembuatan Tepung Ikan Tongkol

a. Standar bahan dan alat Pembuatan Tepung Ikan

Tabel 4.2 Standar Produk dan alat Pembuatan Tepung Ikan

No	Parameter Proses	Value	Keterangan
1.	Bahan Dasar	Ikan Tongkol (3 kg)	Berat ikan setelah dibersihkan (BDD) sebanyak 42.5% (1.275 kg) dari berat utuh dan rendemen tepung ikan tongkol 19.8%.
2.	Peralatan	<ul style="list-style-type: none"> - Alat Steamer (tempat pengukusan) - Blender (alat penghancur ikan) - Tempat/wadah untuk penjemuran - Ayakan / saringan (100 mesh) 	Pembuatan Tepung ikan ini menggunakan pengeringan dengan oven, pengukusan dengan alat steamer serta penggilingan menggunakan blender.
3.	Standar hasil	<p>Tepung ikan yang bermutu baik harus mempunyai sifat-sifat sebagai berikut :</p> <ul style="list-style-type: none"> - butiran-butirannya harus seragam - bebas dari benda asing, warna halus bersih, seragam, serta bau khas ikan amis 	-

b. Tahapan Proses :

1. Menyiapkan ikan tongkol 3 kg dan dicuci bersih.
2. Membersihkan ikan tongkol dari sisik, organ dalam (jeroan) dan kepala ikan.
3. Ikan tongkol yang telah bersih, direndam dengan menggunakan asam asetat 3% (\pm 60 menit), kemudian dihancurkan dengan menggunakan blender hingga bentuknya menjadi bubuk ikan.
4. Bubur ikan dikukus pada suhu 80 – 90°C selama 15 menit.
5. Bubur ikan yang telah dikukus, dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 65°C selama 8 – 9 jam sampai terbentuk seperti *cake* kering.

6. Bubur ikan yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender, lalu diayak dengan menggunakan ayakan dengan kerapatan 100 mesh dengan hasil rendemen 19.8%.

7. Tepung ikan siap diolah sebagai bahan baku pembuatan biskuit.

4.7.2 Metode Pembuatan Biskuit Tepung Komposit

Tahapan Proses pembuatan biskuit komposit yaitu :

1. Menyiapkan semua bahan-bahan yang diperlukan.
2. Mencampur mentega, butter, susu skim, gula halus, keju dan vanili dengan menggunakan mixer sampai adonan rata dan mengembang.
3. Adonan yang telah mengembang, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit tepung beras, tepung terigu dan tepung ikan, sambil diaduk perlahan dengan menggunakan spatula sampai adonan kalis.
4. Selanjutnya, adonan diuleni dengan menggunakan tangan untuk memastikan adonan benar-benar kalis.
5. Adonan yang sudah kalis, dipipihkan dan dibentuk/dicetak sesuai dengan bentuk yang diinginkan.
6. Adonan biskuit yang sudah dicetak, didiamkan selama 10 menit kemudian dipindahkan kedalam loyang yang telah diolesi mentega secara tipis dan merata.
7. Panggang biskuit dengan menggunakan oven pada suhu 135°C selama 35-40 menit.
8. Jika aroma harum biskuit sudah keluar dan warna berubah kecoklatan, maka segera diangkat dan didinginkan.
9. Biskuit siap disajikan.

Tabel 4.3 Formulasi Biskuit Tepung Komposit (Tepung Beras dan Tepung Terigu) dengan Penambahan Tepung Ikan Tongkol (untuk 1 resep 500 g)

Jenis Bahan	Formula	
	P2	P3
Tepung komposit (g)	150	125
Tepung ikan tongkol (g)	50	75
Mentega (g)	100	100
Butter (g)	20	20
Gula halus (g)	88	88
Susu skim (g)	60	60
Keju (g)	30	30
Vanili (g)	2	2
Total Berat (g)	500	500

Konsentrasi penambahan tepung komposit dan tepung ikan tongkol dari 2 taraf perlakuan yaitu 10% (P2) dan 15% (P3) dari total bahan sebagai berikut :

$$P2 = \text{Tepung komposit } 30\% \times \text{total berat bahan (500g)} = 150 \text{ g}$$

$$\text{Tepung ikan tongkol } 10\% \times \text{total berat bahan (500g)} = 50 \text{ g}$$

$$P3 = \text{Tepung komposit } 25\% \times \text{total berat bahan (500g)} = 125 \text{ g}$$

$$\text{Tepung ikan tongkol } 15\% \times \text{total berat bahan (500g)} = 75 \text{ g}$$

4.7.3 Metode Uji Mutu Mikrobiologi

a) Pengujian metode TPC (*total plate count*) berdasarkan SNI 2897:2008 yaitu :

1. Persiapan sampel

a) Menimbang sampel padat dan semi padat sebanyak 25 g.

b) Menambahkan 225 ml larutan BPW 0,1% steril ke dalam kantong steril yang berisi sampel, homogenkan dengan stomacher selama 1 menit sampai 2 menit (kecuali untuk sampel susu). Ini merupakan larutan dengan pengenceran 10^{-1} .

2. Cara Uji

a) Memindahkan 1 ml pengenceran 10^{-1} tersebut dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml BPW untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} .

b) Membuat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan seterusnya dengan cara yang sama seperti butir a), sesuai kebutuhan.

c) Memasukan sebanyak 1 ml suspense dari setiap pengenceran ke dalam cawan petri secara duplo.

d) Menambahkan 15 ml sampai dengan 20 ml PCA yang sudah didinginkan hingga temperature $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pada masing-masing cawan yang sudah berisi suspense.

Supaya larutan sampel dan media PCA tercampur seluruhnya, lakukan pemutaran cawan ke depan dan ke belakang atau membentuk angka delapan dan diamkan sampai menjadi padat.

e) Menginkubasi pada temperature 34°C sampai dengan 36°C selama 24 jam sampai dengan 48 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik.

3. Menghitung Jumlah Koloni

b) Pengujian metode MPN (*Most Probable Number*) yaitu :

Pemeriksaan MPN dilakukan terhadap bahan pemeriksaan yang telah disiapkan dengan menggunakan metode tabung ganda. Pemeriksaan tabung ganda terdiri dari : test perkiraan (*presumptive test*) dan test penegasan (*confirmative test*) .

Test perkiraan (*presumptive test*) dengan media lactose Broth

Cara pemeriksaan :

1) Siapkan 7 tabung reaksi yang masing-masing berisi media lactose broth sebanyak 10 ml. Tabung disusun pada rak tabung reaksi dan diberi tanda.

2) Dengan pipet steril ambil bahan pemeriksaan masukan ke dalam tabung 1 sd 5 sebanyak 20ml tabung ke 6 sebanyak 1 ml dan ke 7 sebanyak 0,1 ml kemudian digoyang agar tercampur merata.

3) Inkubasikan pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Setelah 24 jam diperiksa ada tidaknya pembentukan gas dalam tabung durham. Pembentukan gas pada tabung dilanjutkan pada test penegasan.

Test penegasan (*confirmative test*)

Media yang dipergunakan : *Brilliant green lactose bile broth* 2%. Tes ini untuk menegaskan hasil positif dari test perkiraan.

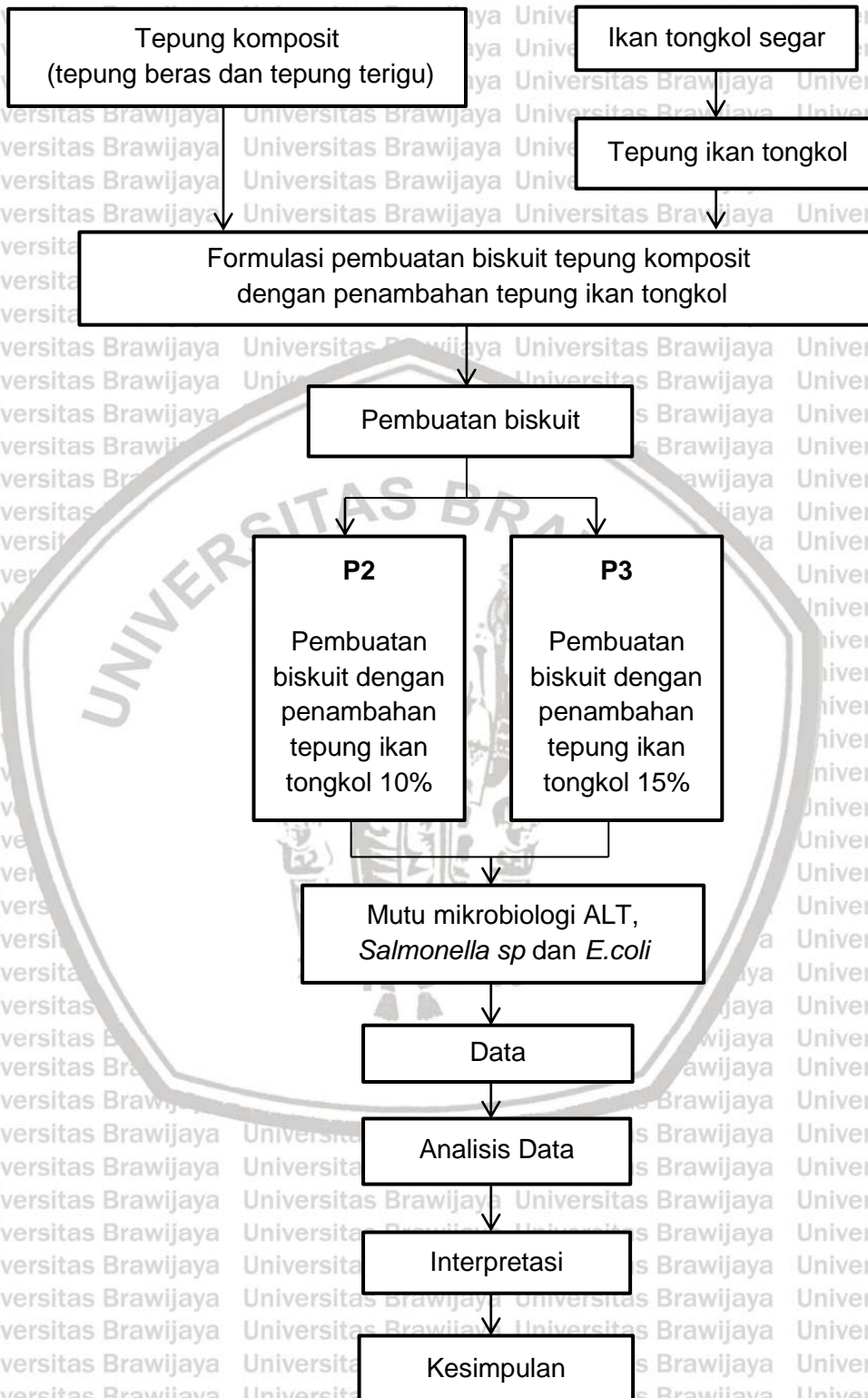
Cara pemeriksaan :

- 1) Dari tiap-tiap tabung presumptive positif dipindahkan 1-2 ose ke dalam tabung konfirmatif yang berisi 10 ml BGLB 2%
- 2) Satu seri tabung BGLB 2% diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 24-48 jam (untuk memastikan adanya coliform) dan satu seri yang lain diinkubasi pada suhu 44°C selama 24 jam (untuk memastikan adanya coli tinja).
- 3) Pembacaan dilakukan setelah 24-48 jam dengan melihat tabung BGLB 2% yang menunjukkan positif gas.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.1. Diagram alir penelitian

4.9 Pengolahan Data

Data kandungan mikroba ALT diolah dengan menggunakan SPSS 16. Tahapan analisis data yaitu dengan uji normalitas data, uji homogenitas, dan Independent T-Test.

Uji normalitas dilakukan dengan *Shapiro-Wilk*. Data dikatakan normal bila nilai $p > 0,05$.

Dilanjutkan uji homogenitas dengan *Levene's test* untuk mengetahui homogenitas data.

Homogenitas bila $p > 0,05$. Jika data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji Independent T-Test.

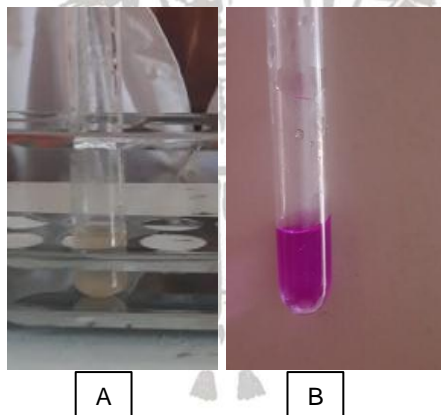


BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1 Karakteristik Produk

5.1.1 Tepung Ikan tongkol

Pada proses penelitian ini ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) sebagai bahan baku pembuatan tepung ikan tongkol didapatkan di pasar Pelelangan Ikan Kota Kendari yang terletak di Kota Lama, Kendari. Sampel ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) yang digunakan memiliki berat $\pm 2-3$ ekor/kg. Selanjutnya dilakukan uji kandungan formalin pada ikan dengan menggunakan *rapid test kit* Formalin, diperoleh hasil seluruh sampel ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) yang didapatkan bebas dari kandungan formalin (sesuai dengan kriteria inklusi penelitian), ditandai dengan tidak perubahan warna yang terbentuk pada sampel ikan tongkol yang diperiksa. Kemudian dilakukan proses pembuatan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*).



Sumber : Dokumentasi Pribadi

Ket : A : Ikan tongkol bebas kandungan formalin

B : Perubahan warna jika ikan mengandung formalin

Gambar 5.1 Sampel ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) bebas dari kandungan formalin

Ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) yang bebas dari kandungan formalin, selanjutnya dibersihkan dari tulang, kepala dan jeroan ikan. Yang diambil hanya daging ikan. Selanjutnya daging ikan dicuci bersih dan dilakukan perendaman dengan menggunakan larutan cuka 3% selama ± 1 jam. Kemudian daging ikan dihaluskan dengan menggunakan blender dan dikukus ± 15 menit. Selanjutnya dilakukan pengeringan.

Proses pembuatan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) menggunakan suhu pengering 65°C selama ± 8-9 jam. Tepung yang dihasilkan memiliki karakteristik warna tepung sedikit kecoklatan, butiran yang seragam, bau amis khas aroma ikan, dan lolos ayakan 100 mesh. Hasil rendemen tepung ikan sebesar 19,8% dari BDD ikan tongkol segar.



Sumber : Dokumentasi pribadi

Gambar 5.2 Tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*)

Rendemen yang diperoleh pada penelitian ini nilainya lebih rendah dibandingkan dengan rendemen tepung ikan cakalang hasil penelitian Litaay dan Santoso (2013) yaitu sebesar 40.06%. Namun disisi lain, jika dibandingkan dengan hasil penelitian tepung ikan gabus yang dilakukan oleh Zuhri, dkk (2014) diperoleh hasil rendemen tepung ikan lele dumbo sebesar 3,6% dari berat utuh ikan lele dumbo. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Sari, dkk (2014) diperoleh rendemen tepung ikan gabus sebesar 8%. Adapun rendemen tepung ikan sembilang berdasarkan Tampubulon, dkk (2018) yaitu diperoleh hasil rendemen sebesar 14,02%.

Rendahnya hasil rendemen tepung ikan tongkol karena yang digunakan pada penelitian ini hanya dagingnya saja. kemudian dilakukan perendaman, perebusan dan pengeringan. Sehingga berat tepung ikan tongkol yang dihasilkan hanya sedikit dan berpengaruh pada rendemen yang dihasilkan. Menurut Litay dan Santoso (2013), pengaruh perendaman akan mempengaruhi hasil rendemen karena perendaman dengan

berbagai macam media akan mempengaruhi banyak tidaknya pemecahan protein dan lemak.

Suhu pengeringan yang digunakan pada pembuatan tepung ikan juga berpengaruh terhadap rendemen. Karena selain mengawetkan bahan pangan, tujuan pengeringan adalah mengurangi volume dan berat produk (Estiasih dan Ahmaadi, 2011).

Melalui pengeringan, biasanya kadar air dapat menurun mencapai 60-70% sehingga menghasilkan rendemen yang rendah. Semakin tinggi suhu pengeringan menyebabkan kadar air pada bahan menjadi menurun. Seiring berkurangnya kadar air maka rendemen yang dihasilkan semakin sedikit. Pernyataan ini didukung oleh Rahmawati (2008) dalam Yuniarti et al (2013), semakin kecil kadar air yang dihasilkan menyebabkan penurunan bobot air, karena air dalam bahan merupakan komponen utama yang mempengaruhi bobot bahan. Apabila kadar air dihilangkan maka bahan akan lebih ringan sehingga akan mempengaruhi rendemen produk akhir.

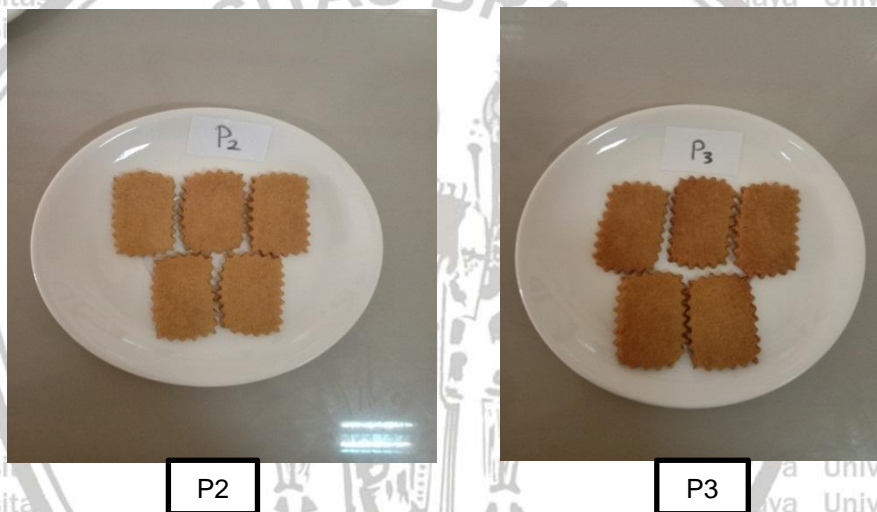
Selain itu, proses *filleting* juga mempengaruhi hasil rendemen. Sejalan dengan yang dikemukakan oleh Hustiany (2005) bahwa semakin baik kualitas dari *filleting* pada ikan maka semakin besar pula rendemen yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin besar nilai ekonomis nya.

5.1.2 Biskuit Tepung Komposit dengan Penambahan Tepung Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)

Pada penelitian ini proses pembuatan biskuit tepung komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) menggunakan 2 perlakuan terbaik yaitu formulasi penambahan tepung ikan tongkol 10% dan 15% dengan proporsi tepung komposit yang digunakan yaitu tepung terigu 95% dan tepung beras 5%. Sedangkan bahan baku lainnya yaitu mentega 100 g, gula halus 88 g, butter 20 g, keju 30 g, susu skim 60 g dan vanili 2 g. Bahan-bahan seperti gula halus, mentega, keju, susu skim, butter, vanili, dicampur menjadi satu dengan menggunakan mixer, setelah adonan

mengembang dan tercampur rata, ditambahkan tepung komposit dan tepung ikan tongkol sedikit demi sedikit sambil diaduk perlahan dengan menggunakan spatula. Setelah adonan kalis, maka diuleni dengan menggunakan tangan dan kemudian dipipihkan untuk dilakukan proses pencetakan biskuit. Biskuit yang sudah dicetak, kemudian dipanggang menggunakan oven dengan suhu pemanggangan 135°C selama 35-40 menit. Pembuatan biskuit dengan menggunakan resep $\frac{1}{2}$ resep (250 g) diperoleh biskuit sebanyak 31-34 keping, dengan berat 8 - 8,2 g per keping biskuit.

Berikut gambar biskuit hasil olahan tepung komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol 10% dan 15%.



Sumber : Dokumentasi Pribadi

Keterangan :

P2 = Biskuit tepung komposit 30% dengan penambahan tepung ikan tongkol 10%

P3 = Biskuit tepung komposit 25% dengan penambahan tepung ikan tongkol 15%

Gambar 5.3. Biskuit Tepung Komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol

Sesuai dengan hasil uji organoleptik yang dilakukan pada peneliti sebelumnya didapatkan formulasi yg akseptabel adalah 10% (P2) dan 15% (P3). Sehingga P2 dan P3 merupakan 2 perlakuan terbaik yang akan dilakukan pemeriksaan mutu mikrobiologinya.

5.2 Analisis Kandungan Mikroba Angka Lempeng Total (ALT) pada Biskuit Tepung Komposit (Tepung Beras dan Tepung Terigu) dengan Penambahan Tepung Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)

Metode penentuan Angka Lempeng Total (ALT) ini dapat menentukan jumlah total mikroorganisme aerob dan anaerob (psikofilik, mezofilik, dan termofilik) pada produk perikanan (SNI 01-2332.3-2006). Berdasarkan hasil uji laboratorium didapatkan analisis kandungan mikrobiologi ALT pada biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol sebagai berikut :

Tabel 5.1 Rata-rata kandungan mikrobiologi ALT pada biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol

Perlakuan	ALT (koloni/g)	Standar (koloni/g)	Mean ± SD	Keterangan
P2	1,5 x10 ²	Maks. 1x10 ⁴	153,3 ± 25,16	MS
P2	1,8 x10 ²	Maks. 1x10 ⁴		MS
P2	1,3 x10 ²	Maks. 1x10 ⁴		MS
P3	2,5 x10 ²	Maks. 1x10 ⁴	216,67 ± 41,63	MS
P3	1,7 x10 ²	Maks. 1x10 ⁴		MS
P3	2,3 x10 ²	Maks. 1x10 ⁴		MS

Keterangan : MS = Memenuhi Standar

Dari Tabel 5.1 dapat diinterpretasikan bahwa hasil uji normalitas data dengan menggunakan *Shapiro-Wilk* diperoleh *p value* sebesar 0,655 (*p*>0,05), sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata ALT pada tiap kelompok biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol terdistribusi normal. Uji Homogenitas menggunakan uji *Levene's*, diperoleh *p value* sebesar 0,333 (*p*>0,05) yang berarti data homogen. Selanjutnya dilakukan uji beda dengan *Independent T-Test*, diperoleh *p value* sebesar 0,087 (*p*>0,05). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara kelompok biskuit komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol sebesar 10% (P2) dan 15% (P3).

Berdasarkan hasil uji kandungan mikroba ALT biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol pada Tabel 5.1

menunjukkan bahwa keseluruhan sampel memenuhi persyaratan aman yaitu berada dibawah batas aman maksimal cemaran mikroba ALT. Berdasarkan SNI Biskuit yaitu batas aman untuk cemaran mikroba ALT adalah maksimal 1×10^4 koloni/g, sehingga biskuit tepung komposit dengan penambahan 10% (P2) dan 15% (P3) tepung ikan tongkol aman untuk dikonsumsi karena jumlah ALT tidak melebihi ambang batas.

Hasil uji cemaran ALT pada penelitian ini nilainya lebih besar dibandingkan dengan nilai studi kasus kualitas produk biskuit di wilayah DKI Jakarta yang dilakukan oleh Susanto (2018) masing-masing sampel biskuit yang diambil dari 3 pelaku usaha biskuit (pelaku industry utama, non pelaku industry utama dan UKM). Hasil uji cemaran mikroba uji ALT nilainya berturut-turut <10 koloni/g, <10 koloni/g, 20 koloni/g. Adapun biskuit dengan penambahan tepung kulit pisang 25%, 50%, 75% yang dilakukan oleh Hernawati, dkk (2018) diperoleh nilai cemaran mikroba ALT berturut-turut $4,0 \times 10^4$, $4,3 \times 10^3$, $8,0 \times 10^3$ koloni/g. Swamilaksita, dkk (2019) juga melakukan penelitian pengembangan biskuit MP-ASI dengan bahan dasar kulit pisang ambon (*Musa acuminata colla*) dan penambahan ubi jalar merah (*Ipomoea batatas*) untuk anak usia 6-24 bulan, diperoleh nilai TPC sebesar $1,4 \times 10^2$ koloni/g.

Cemaran mikroba dapat terjadi pada semua produk, pertanian, baik produk peternakan, tanaman pangan, hortikultura maupun perikanan. Cemaran berasal dari pengolah makanan maupun dari peralatan yang digunakan dalam pengolahan dan lingkungan tempat pengolahan. Cemaran dapat terjadi karena kontak langsung antara anggota tubuh orang yang sedang sakit dengan makanan, baik yang disengaja maupun tidak disengaja (Susanto, 2018).

Pertumbuhan mikroba pada produk biskuit dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya proses pemanasan. Proses pengolahan pangan menggunakan suhu tinggi bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam pangan, fungsinya untuk membunuh mikroorganisme dalam pangan sehingga dapat memperpanjang umur simpannya (Yuniastri dkk, 2018). Pada pembuatan biskuit tepung komposit dengan penambahan

tepung ikan, proses pemanasan dilakukan pada suhu 135°C, hal tersebut mengakibatkan bakteri tidak dapat berkembang dengan baik. Proses pengolahan biskuit dilakukan dengan pemanggangan menyebabkan kadar air pada produk menurun. Pemanggangan termasuk dalam proses pengeringan dimana kadar air bahan dikurangi sampai batas tertentu sehingga menghambat pertumbuhan mikroba (Effendi, 2012).

Berdasarkan SNI Biskuit 2973-2011, maka produk biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol dalam kategori normal dan aman untuk dikonsumsi. Namun produk biskuit mempunyai waktu tertentu untuk dikonsumsi secara aman karena produk pangan mengalami penurunan mutu mikrobiologi ditandai dengan nilai TPC dan MPN melebihi batas maksimal yang disebabkan oleh aktivitas pertumbuhan mikroorganisme meningkat selama penyimpanan (Rawat, 2015). Faktor lain yang dapat berpengaruh yaitu meningkatnya kadar air pada biskuit sebagai akibat permeabilitas tempat penyimpanan biskuit, sehingga uap air dapat masuk ke dalam pembungkus selanjutnya air meresap ke dalam biskuit (Winiati & Arpah, 2004).

5.3 Analisis Kandungan Mikroba *E.coli* dan *Salmonella sp.* pada Biskuit Tepung Komposit (Tepung Beras dan Tepung Terigu) dengan Penambahan Tepung Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*)

Tabel 5.2 Hasil uji kandungan *E.coli* dan *Salmonella sp.* biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol

Perlakuan	Standar <i>Salmonella sp.</i>	Uji <i>Salmonella sp.</i> (per 25 g)	Standar <i>E.coli</i>	Uji <i>E.coli</i> CFU (AMP/g)	Ket
P2	Negatif	Negatif	<3	<3	MS
P3	Negatif	Negatif	<3	<3	MS

Keterangan : MS = Memenuhi Standar

Berdasarkan uji *Salmonella sp.* pada Tabel 5.2 menunjukkan bahwa biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol 10% (P2) dan 15% (P3) tidak mengandung *Salmonella sp.* yang ditunjukkan dengan hasil negatif, hal ini sesuai dengan ketentuan SNI biskuit 2973-2011. Hal ini menggambarkan bahwa biskuit tersebut dapat dikonsumsi dengan aman. *Salmonella* dapat bertahan hidup dalam keadaan laten untuk waktu yang lama dalam tepung terigu, dan dapat muncul dari dormansi ketika kondisi yang menguntungkan berlaku, seperti dalam adonan atau campuran (Eglezos, 2010). Selain itu, bahan mentah seperti tepung, gula, susu bubuk, ragi, coklat, bubuk coklat, kacang dan selai kacang yang digunakan dalam pembuatan produk roti dapat membawa patogen dan menghasilkan kontaminasi mikroba pra-pembakaran (Akins, 2014). Meskipun bahan-bahan seperti tepung, cokelat, selai kacang, produk susu, rempah-rempah, dapat menjadi sumber potensial *Salmonella*, mayoritas kontaminasi terjadi melalui peralatan pembuatan kue. Banyak penyebab kontaminasi terjadi karena pembakaran yang kurang baik (Lathrop *et al.*, 2014). Sementara pembakaran dianggap sebagai langkah membunuh yang efektif dalam mengendalikan patogen bawaan makanan dalam produk roti, validasi ilmiah formal dari keragaman proses pemanggangan komersial untuk inaktivasi patogen belum sepenuhnya dipelajari (Lathrop *et al.*, 2014, Lopez, 2014).

Epidemiologi *Salmonella sp.* sebagai agen penyakit bawaan makanan lainnya telah berkembang selama beberapa dekade dengan tren yang luas dalam produksi makanan yang dikonsumsi, seperti meningkatnya industrialisasi dan globalisasi pasokan makanan dan meningkatnya permintaan makan siap saji di masyarakat. Infeksi *Salmonella sp.* merupakan salah satu penyebab dari *food borne disease*. Beberapa bakteri patogen yang berperan serta sebagai penyebab penyakit melalui makanan yaitu *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica* dan *Listeria monocytogenes* (Chlebicz & Śliżewska, 2018). Infeksi merupakan masalah kesehatan masyarakat yang dapat menyebabkan salmonellosis biasanya ditandai oleh sindrom gastroenteritis yang sembuh

sendiri (bermanifestasi sebagai diare, demam, pusing, mual dan nyeri perut), dengan periode inkubasi antara 4 dan 72 jam (Zelpina dkk, 2020).

Pada proses pembuatan biskuit diterapkan perilaku hygiene sanitasi diantaranya badan dan pakaian yang digunakan dalam keadaan bersih, selalu mencuci tangan dengan air mengalir menggunakan sabun, menggunakan masker, plastik tangan serta semua alat yang digunakan dalam keadaan bersih. Hal ini dilakukan untuk menjaga kualitas agar produk biskuit yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi. Jika dilihat dari suhu pemanasan yang digunakan saat pembuatan tepung ikan 65°C selama 8-9 jam dan proses pemanggangan biskuit 135°C selama 35-40 menit, bakteri *E.coli* dan *Salmonella sp.* tidak dapat tumbuh dan hidup pada suhu tersebut. Karena *E.coli* dan *Salmonella sp.* merupakan golongan mikroba mesofil yang hanya dapat hidup pada rentang suhu 20-45°C dengan suhu optimum pertumbuhan 37°C (Jay et al, 2005 dalam Kustyawati, 2020). Suhu tinggi akan merusak protein dalam sel bakteri dan membuatnya tidak dapat hidup kembali (Sutiknowati, 2016)

Selain itu, perlunya tindakan pencegahan dengan membiasakan masyarakat untuk melakukan pola hidup bersih dan sehat dalam hal keamanan pangan. Disamping itu, penerapan *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP) sangat penting dilakukan. Dimana prinsip HACCP yang merupakan pendekatan sistematis untuk identifikasi, evaluasi, dan pengendalian bahaya keamanan pangan berdasarkan tujuh prinsip yang dilakukan yaitu melakukan analisis bahaya, menentukan titik kontrol kritis, menetapkan batas kritis, menetapkan prosedur pemantauan, menetapkan tindakan korektif, menetapkan prosedur verifikasi dan menetapkan prosedur pencatatan dan dokumentasi (Zelpina dkk, 2020).

Berdasarkan hasil uji *E.coli* pada Tabel 5.2 menunjukkan bahwa biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol 10% (P2) dan 15% (P3) menunjukkan bahwa sampel mengandung *E.coli* <3 AMP/g. Hal ini masih tergolong normal sesuai dengan SNI biskuit 2973-2011. Hal ini

menggambarkan bahwa biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol tersebut dapat dikonsumsi dengan aman.

Telah diketahui bahwa *E. coli* adalah anggota dari keluarga *Enterobacteriaceae*, bakteri enterik, yang merupakan bakteri anaerobik Gram negatif fakultatif, yang biasanya ditemukan di saluran usus hewan berdarah hangat termasuk manusia (Silva *et al.*, 2012).

Di saluran pencernaan, strain *E. coli* komensal terletak di usus besar, terutama di sekum dan usus besar (Tenailon *et al.*, 2010). *E. coli* dapat mengganggu saluran cerna pada anak-anak dan orang dewasa, sering digunakan dalam studi tentang kejadian resistensi antibiotik pada bakteri komensal (Oluyeye *et al.*, 2015).

Beberapa penyakit yang sering timbul akibat bakteri *E. coli* adalah penyakit diare, bakteri *E. coli* yang menyebabkan diare sangat sering ditemukan diseluruh dunia. Bakteri ini diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-sifat virulensi nya dan setiap grup menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda seperti yang sudah diutarakan. Gejalanya yaitu diare yang merupakan buang air besar yang encer dengan frekuensi 4x atau lebih dalam sehari, kadang disertai muntah, badan lesu atau lemah, panas, tidak nafsu makan, bahkan darah dan lendir dalam kotoran. Akibat dari diare itu sendiri adalah kehilangan air dan elektrolit (dehidrasi) yang mengakibatkan gangguan asam basa (asidosis metabolik dan hypokalemia), gangguan gizi (intake kurang, output berlebih), hipoglikemia dan gangguan sirkulasi (Black, J.M., & Hawks, J.H. 2014)

Biskuit tepung komposit (tepung terigu dan tepung beras) dengan penambahan tepung ikan tongkol mengandung karbohidrat dan glukosa yang tinggi sehingga menjadi sumber energi bagi tumbuhnya mikroba. Bahan baku, lingkungan pabrik, keadaan mikrobiologi peralatan dan paket, dan kurangnya kebersihan adalah faktor yang mungkin terjadinya kontaminasi mikroorganisme (Park & Chen, 2009). Ketika proses teknologi kurang tepat, maka metode produksi minuman dan makanan akan memiliki dampak yang signifikan pada jenis mikro flora pembusuk (Kregiel, 2015).

Berdasarkan hasil pengujian, seluruh sampel biskuit tepung komposit (tepung terigu dan tepung beras) dengan penambahan tepung ikan tongkol yang di uji memenuhi batas persyaratan batasan cemaran mikroba. Semua sampel produk biskuit dapat memenuhi parameter cemaran mikroba ALT, *Salmonella sp.*, dan *E.coli*, sehingga dampak negatif cemaran mikroba pada tubuh dapat dihindari.. Cemaran mikroba berupa bakteri patogen dapat menyebabkan keracunan pada tubuh manusia (Djaafar dan Rahayu, 2007).

Hasil uji cemaran mikroba *Salmonella sp.* dan *E.coli* pada penelitian ini hasilnya sama dengan studi kasus kualitas produk biskuit di wilayah DKI Jakarta yang dilakukan oleh Susanto (2018) masing-masing sampel biskuit yang diambil dari 3 pelaku usaha biskuit (pelaku industry utama, non pelaku industry utama dan UKM) diperoleh nilai cemaran mikroba uji *Salmonella sp.* hasilnya negatif dan *E.coli* hasilnya <3 AMP/g. Sama halnya dengan penelitian biskuit dengan penambahan tepung kulit pisang 25%, 50%, 75% yang dilakukan oleh Hernawati, dkk (2018) diperoleh nilai cemaran mikroba uji *Salmonella sp.* hasilnya negatif dan *E.coli* hasilnya <3 AMP/g.

5.5 Implikasi dalam Bidang Gizi

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dengan analisis kadar proksimat dan pembahasan mutu mikrobiologi pada biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*), implikasi penelitian ini dalam bidang gizi yaitu perlakuan penambahan tepung ikan tongkol 10% (P2) dengan konsumsi \pm 4 keping biskuit (32 g – 32.8 g) mampu memenuhi 21% AKG total kebutuhan protein, dan 38% AKG untuk total kebutuhan lemak, serta biskuit dengan penambahan tepung ikan tongkol 10% (P2) dan 15% (P3), dari segi mutu mikrobiologi kandungan ALT, *Salomenella sp.* dan *E.coli* memenuhi syarat biskuit SNI 2973-2011, sehingga aman untuk dikonsumsi.

5.6 Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat beberapa kekurangan yang harus diperbaiki dan menjadi keterbatasan dalam penelitian yaitu dalam pembuatan tepung ikan tongkol dan pembuatan biskuit, alat pengering yang digunakan yaitu oven, namun tidak memiliki pengatur suhu sehingga menggunakan *thermometer* oven yang diletakkan di dalam oven untuk mengontrol suhu saat pengeringan produk. Saat proses pencetakan biskuit diperoleh jumlah biskuit yang tidak seragam dikarenakan menggunakan cetakan manual yang akhirnya mempengaruhi jumlah biskuit yang dihasilkan. Selain itu, tepung ikan tongkol yang dihasilkan, tidak dilakukan pemeriksaan kandungan mikrobya.



BAB 6. PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Tahapan pembuatan biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) adalah dimulai dengan tahap persiapan bahan, pencampuran bahan, pencetakan biskuit dan proses pemanggangan biskuit. Suhu pemanggangan 135°C selama 35 – 40 menit.
2. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara jumlah mikroba Angka Lempeng Total (ALT), *Salmonella sp.* dan *E.coli* pada biskuit dengan penambahan tepung ikan tongkol 10% (P2) dan 15% (P3).
3. Berdasarkan mutu SNI biskuit 2973-2011, jumlah cemaran mikroba Angka Lempeng Total (ALT), *Salmonella sp.* dan *E.coli* biskuit tepung komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol dalam ambang batas normal, sehingga aman untuk dikonsumsi.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk masa simpan biskuit tepung komposit (tepung beras dan tepung terigu) dengan penambahan tepung ikan tongkol.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pemanfaatan tepung ikan tongkol selain dibuat produk biskuit.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, Qurratu. 2014. Formulasi Biskuit Blondo dan Tepung Ikan Gabus (*Channa striata*) yang Berpotensi Mengatasi Gizi Buruk pada Balita. Skripsi. Departemen Gizi Masyarakat Fakultas Ekologi Manusia Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Akins, D. 2014. Flour Food Safety. White paper, Ardent Mills. http://www.ardentmills.com/uploads/Ardent_Mills_Flour_Food_Safety_White_Paper.pdf.
- Andini, Y. 2006. Karakteristik Surimi Hasil Ozonisasi Daging Merah Ikan Tongkol (*Euthynnus sp.*). Skripsi. Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Andriani, M dan Bambang W., 2012. Pengantar Gizi Masyarakat. Kencana Prenada Media Group, Jakarta.
- Astawan, M., dan Kasih, A. L. 2008. Khasiat Warna-Warni Makanan. Gramedia, Jakarta.
- Aziza, *et al.* 2015. Bakso Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan Filler Tepung Gembili sebagai Fortifikan Inulin. Jurnal Teknologi Hasil Pertanian. 2015, Vol. VIII, No. 2.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2018. Hasil Utama Riskesdas 2018. Kementerian Kesehatan. Jakarta
- Black, J.M., & Hawks, J.H. 2014. Keperawatan Medikal Bedah : Manajemen Klinis Untuk Hasil Yang Diharapkan. St. Louis: Elsevier Inc.
- Borgh, A.Van Der., H. Goesaert, W.S.Veraverbeke and J. A. Delcour. 2005. *Fractionation of Wheat and Wheat Flour Into Starch and Gluten Over view of the Main Processes and the Factors Involved. Journal of Cereal Science.* 2005. 41(3): 221–237.
- B POM. Pengujian Mikrobiologi Pangan. Info POM. 2008. Vol. 9(2) : 1-9.
- B POM, RI. Pengujian Mikrobiologi Pangan. Maret 2008. Vol. 9, No. 2, ISSN 1829-9334.
- B POM, RI. 2012. Pedoman Kriteria Cemaran pada Pangan Siap Saji dan Pangan Industri Rumah Tangga. Direktorat SPP, Deputi iii, Badan POM RI, Jakarta.
- BSN. 2011. Standar Nasional Indonesia-SNI 2973:2011:Biskuit. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., and Wotton, M. 1987. Ilmu. Pangan. Hariya Purnomo dan Adiono (penerjemah). Universitas. Indonesia Press, Jakarta.
- Buckle, K. A., *et al.* 1985. Ilmu Pangan. H. Purnomo dan Adiono (penerjemah). Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Carpenter, Kent E. & Volker H. Niem. *FAO Species Identification Guide: The Living Marine Resources of The Western Pacific. Food and Agriculture Organization, Rome.* 2001. Vol. 6: 3732. ISBN 92-5-104587-9

- Chlebicz & Ślizewska, 2018. *Campylobacteriosis, salmonellosis, yersiniosis, and listeriosis as zoonotic foodborne diseases: a review*. International Journal of Environmental Research and Public Health. Vol 15(5): 1–28. doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph15050863>.
- Claudia, R. T., Estiasih., D.W. Ningtyas., dan E. Widyastuti. 2011. Pengembangan Biskuit dari Tepung Ubi Jalar Oranye. J Pangan dan Agroindustri. 2011. Vol. 4 (3) : 1589-1595.
- Collette, B.B. and C.E. Nauen, 1983. *FAO Species Catalogue*. Vol. 2. *Scombrids of the world. An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species known to date*. Rome: FAO. FAO Fish. Synop. 125(2):137 p.
- Cox NA, Berrang ME, Cason JA. 2000. *Salmonella Penetration of Egg Shell and Proliferation in Broiler Hatching Eggs-a Review*. Poultry Science. 2000.79: 1571-1574.
- Departemen Kesehatan RI. 2011. Buku Saku Petugas Kesehatan: Lintas Diare, Lima Langkah Tuntaskan Diare. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Dharmojoono. 2001. *Limabelas Penyakit Menular dari Binatang ke Manusia*. Milenia Populer, Jakarta.
- Djaafar, Titiek F dan Rahayu, Siti. 2007. Cemaran Mikroba pada Pertanian, Penyakit yang Ditimbulkan dan Pencegahannya. Jurnal Litbang Pertanian, 26(2), 2007.
- Effendi, H.M.S. 2012. *Teknologi Pengolahan dan Pengawetan Pangan*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Eglezos, S. 2010. *Microbiological quality of wheat grain and flour from two mills in Queensland, Australia*. J. Food. Prot., 73: 1533-1536.
- Estiasih, Teti dan Kgs, Ahmaadi. 2011. *Teknologi Pengolahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara 274 hlm; 23 cm.
- Fardiaz, Srikandi. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Erlangga, Jakarta.
- Faridi, D. 1994. *The Science of Cookies and Crackers Production*. Chapman and Hall. New York.
- Faridz, et al., 2007. Analisis Jumlah Bakteri dan Keberadaan *Escherichia coli* pada Pengolahan Ikan Teri Nasi di PT. Kelola Mina Laut Unit Sumenep. *Jurnal Embryo*. Desember 2007. Vol.4 No.2 (ISSN 0216-0188), Hal: 94-106
- Fatmawati dan Mardiana. 2014. Tepung Ikan Gabus sebagai Sumber Protein (*Food Supplement*). *Jurnal Bionature*. April 2014. Vol. 15, No. 1, hal.54-60.
- Ganiswarna, S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. 271-288 dan 800-810. Bagian farmakologi fakultas kedokteran universitas Indonesia. Jakarta.
- Hernawati, dkk. 2018. Uji Mikrobiologi Biskuit Dengan Penambahan Tepung Kulit Pisang. *Life Science* 7 (2) 2018



Hui, A.Y. 1992. *Encyclopedia of food and Technology*. Jhon Wiley and Sons Company Inc., New York.

International Standard Organization. 2006. *Milk and Milk Product : Detection Enterobacter sakazaki*. First Edition. 22964. IDF/RM 210.

Istinganah, Miftakhul., Rauf, Rusdin., Widyaningsih, E.N. 2017. Tingkat Kekerasan dan Daya Terima Biskuit dari Campuran Tepung Jagung dan Tepung Terigu dengan Volume Air yang Proporsional. *Jurnal Kesehatan*. Desember 2017. Vol. 10, No. 2. ISSN 1979-7621.

Izwardi, D, et al. 2018. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia 2017*. Jakarta : Kementerian Kesehatan RI.

Jastra, Y., Edial A, Azman, Aswardi, dan K. Iswari. 1997. Penggunaan Tepung Komposit (Terigu, Ubi kayu, dan Jagung) dalam Pembuatan Mie. *Prosiding Seminar Teknologi Pangan.*, 428-437.

Jay, J.M.M.J. Loessner., D.A. Golden. 2005. *Modern Food Microbiology Seventh Edition*. Springer Science and Bussiness Media Inc., USA.

Johnson, M.G. and A.R. Tamatamah. 2013. *Length frequency distribution, mortality rate, and reproductive biology of Kawakawa Euthynnus affinis* Cantor, 1849 in the Coastal Water of Tanzania, Pakistan. *J. of Biological Science*. 2013. 16(21):1270-1278

Kemkes. 2016. Perbaikan Gizi Untuk Generasi Agar Mampu Menangkan Persaingan. <https://www.kemkes.go.id/article/print/16122100005/perbaikan-gizi-untuk-generasi-agar-mampu-menangkan-persaingan.html>

Keregero M.M. and K. Mtebe. 1994. *Acceptability of Wheat-Sorghum Composite Flour Products: An Assessment*. *Plant Foods Hum Nutr*. 1994. 46 (4): 305-12

Kregiel, D. 2015. Health Safety of Soft Drinks: Contents, Containers, and Microorganisms. *BioMed Research International*, Volume 2015, 15 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2015/128697>.

Kustyawati, Maria Erna. 2020. *Mikrobiologi Hasil Pertanian*. Bandar Lampung : Pusaka Media.

KKP. 2018. Satu Data Kementerian Kelautan dan Perikanan. <https://kkp.go.id/setjen/satudata/cari/engine/produksiikantongkol2018>. (diakses tgl 6 Juli 2018)

Lathrop et al., 2014. *Survival of Salmonella during baking of peanut butter cookies*. *J. Food Prot.*, 77: 635-639.

Litaay dan Santoso. 2013. Pengaruh Perbedaan Metode Perendaman dan Lama Perendaman Terhadap Karakteristik Fisiko-Kimia Tepung Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, Vol.5, No.1, Hlm. 85-92, Juni 2013.

Lopez, S. 2014. *A Look at Kill-Step Validation*. *Snack Food and Wholesale Bakery*. <http://www.snackandbakery.com/articles/87410-a-look-at-kill-step-validation>

- Madlen, S., Christina, M., Mathilde, K., and Lars, L. 2015. *Fish and rapeseed oil consumption in infants and mothers: dietary habits and determinants in a nationwide sample in Germany. European Journal of Nutrition.* 2015. 54 (7): 1069-1080.
- Manley, D. 2000. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies.* Third edition. Woodhead Publishing limited, Cambridge.
- Manley, D. 2001. *Biscuit, Cracker and Cookie Recipes for The Industry.* Woodhead Publishing Ltd, England.
- Matz SA & T. D. Matz. 1978. *Cookies and Crackers Technology.* Texas: The AVI Publishing Co., Inc.
- Matz. 1992. *Cookies and Crackers Technology.* 2nd ed. The AVI Pub. Co. Inc. Westport. Conecticut.
- Mervina, C. 2012. Formulasi Biskuit dengan Substitusi Tepung Ikan Lele Dumbo dan Isolat Protein Kedelai sebagai Makanan Potensial untuk Anak Balita Gizi Kurang. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 2012. 23(1), 9—16
- Moeljanto. 1992. *Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan.* Penebar Swadaya, Jakarta.
- Muchtadi, T.G dan Sugiyono. 2013. *Prinsip Proses dan Teknologi Pangan.* Cetakan I. CV Alfa beta. Bogor
- Nuraini, T. (2013). *Manajemen Sumber Daya Manusia.* Yayasan Aini Syam, Pekan baru.
- Oluyeye *et al.*, 2015. *Carriage of antibiotic resistant commensal E. coli in infants below 5 months in Ado-Ekiti. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.* 4: 1096–1102.
- Park & Chen, 2009. *Microbial quality of soft drinks served by the dispensing machines in fast food restaurants and convenience stores in Griffin, Georgia, and surrounding areas,” Journal of Food Protection,* 72(12): 2607–2610.
- Pui, C.F, W.C .Wong, L.C. Chai, R. Tunung, P. Jayeletchumi, M.S. Noor Hidayah, A. Ubong, M.G. Farinazleen, Y.K. Cheah and R. Son. 2011. *Review article Salmonella: A foodborne pathogen. International Food Research Journal.* 2011. 18: 465-473.
- Purba, S. B., 2002. *Pembuatan Biskuit.* Bogor. Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.
- Rawat, S. 2015. *Food Spoilage: Microorganisms and their prevention.* Asian Journal of Plant Science and Research, 5(4):47-56.
- Saanin, H. 1986. *Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan.* Jilid I dan II. Bina Cipta, Bandung.
- Sari, dkk. 2014. Uji Organoleptik Formulasi Biskuit Fungsional Berbasis Tepung Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*). *Agritech*, vol. 34, no. 2, Mei 2014

- Setyowati, W.T. dan C.N. Fithri. 2014. Formulasi Biskuit Tinggi Serat (Kajian Proporsi Bekatul Jagung: Tepung Terigu dan Penambahan Baking Powder). *J. Pangan dan Agroindustri*. 2014. Vol. 2 (3): 224 – 231.
- Shahzadi, N., M.S. Butt, S. Rehman and K. Sharif. 2005. *Rheological and Baking Performance of Composite Flours*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 1560–8530/2005/07–1–100–104. (<http://www.ijab.org>).
- Sikorski, Z.E. dan Pan, B.S. 1994. *Preservation of Seafood Quality*. Dalam : Shahidi, Botta, J.R. (Eds). *Seafood : Chemistry, Processing Technology and Quality*. Blackie Academic and Professional, London.
- Silva N, Igrejas G, Gonc ,alves A, Poeta P. 2012. *Commensal gut bacteria: Distribution of Enterococcus species and prevalence of Escherichia coli phylogenetic groups in animals and humans in Portugal*. *Annals of Microbiology*, 62: 449–459. <https://doi.org/10.1007/s13213-011-0308-4>
- Sunaryo. 1985. *Pengolahan Produk Serealia*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sundari, T. 2011. *Formulasi Biskuit Dengan Tepung Komposit Berbasis Labu Kuning (Cucurbita moschata) Sebagai Alternatif Makanan Pendamping Asi*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Suriawiria, U.1996. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Susanto, Damar A. 2018. *Kualitas Produk Biskuit Menghadapi Pemberlakuan SNI Biskuit Secara Wajib [Studi Kasus di DKI Jakarta] (Quality of Biscuit Product Facing Mandatory Indonesian National Standard [SNI] of Biscuit [Case Study in DKI Jakarta])*. *Penelitian Gizi dan Makanan*, Juni 2018 Vol. 41 (1):1-12
- Sutiknowati, Lies Indah. 2016. *Bioindikator Pencemar, Bakteri Escherichia coli*. *Jurnal Osean Volume XLI, Nomor 4 Tahun 2016* : 63 – 71.
- Swamilaksana, Prita D dan Novianti, A. 2018. *Pengembangan Biskuit MP-ASI dengan Bahan Dasar Kulit Pisang Ambon (Musa Acuminata colla) dan Penambahn Ubi Jalar Merah (Ipomoea batatas) Sebagai Sumber β-Karoten untuk Anak Usia 6-24 Bulan*. Universitas Esa Unggul.
- Tajudin. 2014. *Politik Pangan Berbasis Industri Tepung Komposit*. *Forum Penelitian Agro Ekonomi*. Juli 2014. Volume 32 No. 1: 19 – 41.
- Tampubolon, dkk. 2018. *Karakteristik Kimia dan Profil Asam Amino Tepung Ikan Sembilang (Paraplotosus albilabris) dengan Metode Penanganan yang Berbeda*. *Berkala Perikanan Terubuk*, Vol. 46, No.1, Februari (2018). Hal.11-18.
- Tenailon O, Skurnik D, Picard B, Denamur E. 2010. *The Population Genetics of Commensal Escherichia coli*. *Us National Library of Medicine, National Institutes of Health*.
- Umar, Musdalifah. 2013. *Studi Pembuatan Biskuit dengan Substitusi Tepung Ikan Gabus (Ophiocephalus striatus)*. Skripsi. Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar



[WHO] World Health Organization. 2019. *Salmonella*. (<http://www.who.int/topics/salmonella/en/> diakses tgl 29 Juni 2019).

Widowati, S. 2009. Tepung Aneka Umbi Sebuah Solusi Ketahanan Pangan. Tabloid Sinar Tani 6 Mei 2009. Jakarta. Tersedia di http://new.litbang.pertanian.go.id/artikel/240/pdf/TepungAnekaUmbi_SebuahSolusiKetahananPangan.pdf

Winarno, F. G. 2000. Potensi dan Peran Tepung-tepungan bagi Industri Pangan dan Program Perbaikan Gizi. Prosiding. Seminar Nasional Interaktif: Penganeekaragaman Makanan untuk Memantapkan Ketersediaan Pangan. Jakarta. 2000. Hal. 4-10.

Winarno, FG. 2002. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia. Jakarta.

Winiati & Arpah, 2004. Pengetahuan Kemasan Plastik (Produk Industri Pangan dan Jasaboga). Departemen Teknologi Pangan dan Gizi. FTP. IPB.

Yulianti, Alumni and Wisnu Cahyadi, DS and Yusep Ikrawan, DS. 2018. Perbandingan Tepung Terigu (*Triticum*) dengan Tepung Beras Merah (*Oryza Nivara*) dan Penambahan Gula Stevia Terhadap Karakteristik Cookies. Skripsi. Fakultas Teknik Unpas. (<https://repository.unpas.ac.id/35501/>)

Yuniarti, D.W, Titik D.S Dan Eddy S. 2013. Pengaruh Suhu Pengeringan Vakum Terhadap Kualitas Serbuk Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus Striatus*) Thpi Student Journal, Vol. 1 No. 1 PP 1-9 Universitas Brawijaya Received.

Yuniastri dkk, 2018. Mikroorganisme Dalam Pangan. Jurnal Pertanian Cemara. Volume 15 Nomor 2 November 2018. Hal. 15-20.

Zelpina dkk, 2020. Dampak Infeksi *Salmonella sp.* dalam Daging Ayam dan Produknya Terhadap Kesehatan Masyarakat. Journal of Health Epidemiology and Communicable Diseases. JCECDs,6(1), 2020, hal.25-34

Zuhri, dkk. 2014. Pengkayaan Kualitas Mi Kering dengan Penambahan Tepung Daging Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) sebagai Sumber Protein. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Pertanian Perikanan. Volume 3, Nomer 4, Tahun 2014, Halaman 119-126.

Lampiran 1. Uji Statistik

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Angka Lempeng Total	.210	6	.200*	.939	6	.655

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptives

		Statistic	Std. Error	
Perlakuan 2	Mean	153.33	14.530	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	90.82	
		Upper Bound	215.85	
	5% Trimmed Mean	.		
	Median	150.00		
	Variance	633.333		
	Std. Deviation	25.166		
	Minimum	130		
	Maximum	180		
	Range	50		
	Interquartile Range	.		
	Skewness	.586	1.225	
	Kurtosis	.	.	
Perlakuan 3	Mean	216.67	24.037	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	113.24	
		Upper Bound	320.09	
	5% Trimmed Mean	.		
	Median	230.00		
	Variance	1733.333		
	Std. Deviation	41.633		
	Minimum	170		
	Maximum	250		
	Range	80		
	Interquartile Range	.		
	Skewness	-1.293	1.225	
	Kurtosis	.	.	

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Hasil TPC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.210	1	4	.333

3. Uji Independent T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Hasil TPC	Equal variances assumed	1.210	.333	-2.255	4	.087	-63.333	28.087	-141.316	14.649
	Equal variances not assumed			-2.255	3.289	.102	-63.333	28.087	-148.431	21.764



Lampiran 2. Alur Pembuatan Tepung Ikan Tongkol



Lampiran 3. Alur Pembuatan Biskuit Tepung Komposit dengan Penambahan Tepung Ikan Tongkol

Bahan-bahan pembuatan biskuit (tepung beras, tepung terigu, tepung ikan tongkol, gula halus, susu skim, mentega, butter, keju, vanilli.



Bahan-bahan seperti mentega, gula halus, butter, keju, susu skim dicampur jadi satu, kemudian dihaluskan menggunakan mixer sampai adonan merata dan mengembang sambil ditambahkan seluruh bahan lainnya sedikit demi sedikit dan diaduk perlahan menggunakan spatula. Jika sudah mulai kalis, lanjut uleni dengan tangan yang bersih.



Adonan yang sudah kalis diratakan pada bidang rata untuk segera dilakukan proses cetak.



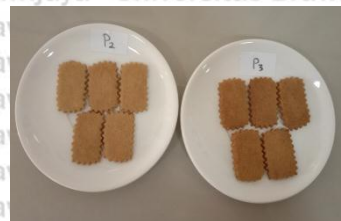
Proses pencetakan biskuit



Pemanggangan biskuit menggunakan oven



Biskuit tepung komposit dengan penambahan tepung ikan tongkol



Lampiran 4. Hasil Laboratorium Uji Kandungan Mikroba ALT, Salmonella sp., E.coli pada Biskuit Tepung Komposit (Tepung Beras dan Tepung Terigu) dengan Penambahan Tepung Ikan Tongkol



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS HALUOLEO
FAKULTAS KEDOKTERAN
Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu Kendari Telp (0401)3196110

Hasil Pengujian Bahan Makanan

Nama Sampel : Biskuit
Jumlah Sampel : 6 sampel

Hasil Uji Mikrobiologi Biskuit dengan penambahan Tepung Ikan

Kode Sampel	Parameter Uji Mikrobiologi		
	Total Plate Count (TPC) (koloni/g)	Uji Salmonella sp. (per 25 g)	Uji Escherichia coli CFU
326	1.5×10^2	0 (negatif)	< 3
164	1.8×10^2	0 (negatif)	< 3
348	1.3×10^2	0 (negatif)	< 3
246	2.5×10^2	0 (negatif)	< 3
315	1.7×10^2	0 (negatif)	< 3
372	2.3×10^2	0 (negatif)	< 3

Kendari, 2 April 2021

Laboratorium FK UHO



Andi Nola Kholidha S, S.Si, M.Biomed
NIP 63080512015042002



Lampiran 5. Surat Keterangan Telah Melakukan Penelitian

KEMENTERIAN KESEHATAN RI
BADAN PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
SUMBER DAYA MANUSIA KESEHATAN
POLITEKNIK KESEHATAN KENDARI
 Jl. Jend. A.H. Nasution, No. G.14 Anduonohu, Kota Kendari
 Telp. (0401) 3190492 Fax. (0401) 3193339 e-mail: poltekkes_kendari@yahoo.com
 Jurusan Gizi : Jl. Pattimura No. 45 Puuwatu Kota Kendari 93114 Telp. (0401) 329321 Fax (0401) 3123173

SURAT KETERANGAN TELAH MELAKUKAN PENELITIAN
 Nomor : UT.05.03/7/ 321/2021

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sri Yunanci V.G ., SST, MPH
 NIP : 196910061992032002
 Jabatan : Ketua Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Kendari

Dengan ini menyatakan bahwa :

Nama : Hernawati
 NIM : 185070309111020
 Jabatan : Mahasiswa Sarjana Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran
 Universitas Brawijaya

Judul Penelitian : Uji Mikrobiologi Dan Perkiraan Masa Simpan Biskuit Tepung
 Komposit (Tepung Beras Dan Tepung Terigu) Dengan Penambahan
 Tepung Ikan Tongkol (*Euthynnus Affini*)

Pembimbing : 1. Yosfi Rahmi, S.Gz, M.Sc
 2. Rahma Micho Widyanto, S.Si, MP

Telah melakukan penelitian di Laboratorium Ilmu Bahan Makanan Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kendari.
 Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Kendari, 8 Maret 2021
 Ketua Jurusan Gizi


 Sri Yunanci V.G ., SST, MPH
 NIP. 196910061992032002