

Penggunaan Metode Angka Lempeng Total (Alt) Angka Kapang Khamir (Akk) Dan Petrifilm Dalam Analisis Cemaran Mikroorganisme pada Kue Tradisional

Use of Total Plate Count (Tpc) and Petrifilm Methods in Analysing Microorganism Contamination in Traditional Cakes

Hosiyah¹, Ahmad Syauqi^{1*}, Majida Ramadhan¹

¹Universitas Islam Malang, Indonesia

*)Koresponden Penulis : Email: @syauqi.fmipa

ABSTRAK

Makanan tradisional, seperti putu ayu dan klepon merupakan bagian dari budaya Indonesia yang memiliki potensi kontaminasi mikroorganisme akibat pengolahan dan penyajian yang kurang higienis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat cemaran mikrobiologi pada produk kue tradisional berdasarkan standar keamanan pangan, dengan fokus pada keberadaan *Escherichia coli* (Ecoli), Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka kapang Khamir (AKK). Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif, dimana sampel kue diproduksi secara mandiri, di encerkan bertahap hingga 10⁻⁴ (AKK), 10⁻⁶ (ALT) dan diuji menggunakan media petrifilm serta media TPC untuk ALT dan PDA untuk AKK. Pada ALT sampel klepon menunjukkan nilai yang yaitu 1,46×10⁶ CFU/gram dan sampel putu ayu 2,4×10⁶ CFU/gram. Pada AKK sampel klepon menunjukkan nilai 7,1×10² CFU/gram sedangkan sampel putu ayu diperoleh nilai 7,9×10⁴ CFU/gram. Sedangkan pada uji petrifilm sampel putu ayu menghasilkan 1,9×10⁵ CFU/gram serta pada sampel klepon menghasilkan nilai 1,8×10² CFU/gram. Hal ini mengindikasikan bahwa produk belum memenuhi standar keamanan pangan secara mikrobiologis dan adanya kemungkinan kontaminasi dari lingkungan bahan baku, atau proses produksi yang tidak higienis.

Kata kunci: AKK, ALT, Keamanan Pangan, Koliform, Klepon, Petrifilm, Putu Ayu

ABSTRACT

Traditional foods, such as putu ayu and klepon are part of Indonesian culture that have the potential for microorganism contamination due to unhygienic processing and serving. This study aims to determine the level of microbiological contamination in traditional cake products based on food safety standards, focusing on the presence of Escherichia coli (E.coli), Total Plate Count (TPC) and Yeast Mold Count (YMC). This study uses a quantitative descriptive method, where cake samples are produced independently, to 10⁻⁴ (TPC), 10⁻⁶ (TPC) and tested using petrifilm media and TPC media for TPC and PDA for TPC. In TPC, klepon samples showed a fairly high value of 1.46 × 10⁶ CFU / gram and putu ayu samples 2.4 × 10⁶ CFU / gram. In TPC, klepon samples showed a value of 7.1 × 10² CFU / gram while putu ayu samples obtained a value of 7.9 × 10⁴ CFU / gram. Meanwhile, in the petrifilm test, the putu ayu sample produced 1.9×10⁵ CFU/gram and the klepon sample produced a value of 1.8×10² CFU/gram. This indicates that the product has not met the microbiological food safety standards and there is a possibility of contamination from the raw material environment, or an unhygienic production process.

Keywords: AKK, ALT, Food Safety, Coliform, Klepon, Petrifilm, Putu Ayu.

Pendahuluan

Putu ayu dan klepon merupakan kue tradisional Indonesia yang rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme, terutama pada parutan kelapa yang digunakan sebagai salah satu bahan utama. Sebelumnya telah dibahas pentingnya analisis cemaran mikroba pada makanan ini untuk memastikan keamanan pangan, karena tingginya risiko kontaminasi mikroba akibat karakteristik bahan dan proses pengolahannya. Dalam hal ini, parutan kelapa menjadi salah satu komponen yang paling mudah terkontaminasi oleh mikroorganisme seperti jamur, bakteri, dan khamir. Hal ini dikarenakan parutan kelapa memiliki kadar air dan lemak yang tinggi, sehingga menciptakan lingkungan yang ideal bagi pertumbuhan mikroorganisme [1].

Kue tradisional umumnya dimasak menggunakan suhu 80-100oC, yang merupakan titik didih air pada tekanan standar [2]. Pengukusan dilakukan untuk memastikan tekstur

lembut dan matang sempurna pada kue. Suhu ini cukup panas dan dapat membunuh bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Tetapi pengukusan pada suhu tersebut tidak dapat secara efektif membunuh sebagian besar mikroba patogen non-spora seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Juga pada suhu tersebut tidak dapat secara efektif membunuh bakteri penghasil spora seperti *Bacillus cereus* atau *Clostridium botulinum*.

Dalam mengamati cemaran mikroba dapat dilakukan dengan beberapa cara salah satunya yaitu dengan cara Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang Khamir (AKK). Sebagaimana yang tercantum dalam peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 Tahun 2019 yang berisi tentang Batas Maksimal Cemaran Mikroba Dalam Olahan Pangan, persyaratan batas cemaran mikroba dalam pangan olahan berbeda-beda. Oleh karena itu berdasarkan bakteri di udara yang sering ditemui adalah *Staphylococcus aureus* dan penggunaan air ditemukan *Escherichia coli* (*E. coli*).

Dalam pengamatan *Escherichia coli* (*E. coli*) ini digunakan media Petrifilm sebagai alat bantu untuk analisis mikrobiologi. Media ini merupakan produk siap pakai yang dirancang untuk mendeteksi dan menghitung jumlah mikroorganisme secara cepat. Petrifilm dipilih karena penggunaannya lebih sederhana dibandingkan metode konvensional, tidak memerlukan proses pembuatan media sendiri maupun sterilisasi alat, sehingga menghemat waktu dan sumber daya. Selain itu, media ini telah banyak digunakan dalam industri pangan karena mampu memberikan hasil yang andal dalam mendeteksi berbagai jenis mikroba, seperti bakteri, jamur, maupun khamir. Metode ini juga mempermudah pengamatan pertumbuhan koloni secara langsung pada media, serta mempercepat proses evaluasi mutu mikrobiologis. Hal ini penting untuk produk seperti putu ayu dan klepon, yang berisiko tinggi mengalami kontaminasi mikroba dari bahan mentah maupun lingkungan pengolahan. Oleh karena itu, penggunaan Petrifilm mendukung analisis mikrobiologi yang efisien tanpa mengurangi ketepatan hasil [3].

Kue tradisional Indonesia umumnya dibuat dari bahan-bahan alami yang tersedia di lingkungan sekitar. Tepung ketan, salah satu bahan utama, berasal dari beras ketan yang diolah melalui proses penggilingan. Beras ketan memiliki kadar amilosa rendah dan amilopektin tinggi, sehingga menghasilkan tekstur lengket dan kenyal yang khas setelah dimasak [4]. Bahan-bahan seperti tepung beras, kelapa, gula aren, dan daun pandan yang digunakan dalam pembuatan kue tradisional menunjukkan pemahaman masyarakat lokal terhadap keanekaragaman hayati di lingkungan mereka. Penggunaan bahan alami ini tidak hanya mencerminkan kearifan lokal tetapi juga memperlihatkan adaptasi masyarakat terhadap lingkungan tempat tinggalnya [5].

Peraturan Menteri Kesehatan RII nomor 1096 tahun 2011 tentang higiene sanitasi jasaboga menyebutkan bahwa makanan yang dikonsumsi manusia harus higienis, sehat dan aman yaitu bebas dari cemaran fisika, cemaran kimia dan cemaran biologi. Cemaran biologi atau cemaran mikroba dapat mencemari makanan. Sebanyak 60% dari 41 kasus keracunan dan 72,2% dari 53 kasus keracunan diduga karena adanya mikroorganisme, terutama bakteri patogen. Sementara itu, sisanya disebabkan oleh zat kimia dan lain-lain tidak diketahui. Ternyata sebagian besar kasus keracunan bersumber pada makanan siap santap, sedangkan lainnya berasal dari pengolahan rumah tangga yang diolah untuk konsumsi masal [6].

Material dan Metode

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Sampel kue tradisional berupa putu ayu dan klepon yang diperoleh dari buatan sendiri, Media petrifilm, PDA (Oxoid), PCA (himedia), Aquades steril. Bahan baku untuk pembuatan klepon: Tepung ketan putih 100gr,

Gula merah didapat dari penjual tanpa wadah, kelapa parut di dapat dari penjual sayur, pewarna hijau, air isi ulang. Bahan putu ayu terdiri atas tepung terigu 100gr, gula pasir 100gr, telur ayam 2 butir, santan 10 ml, pewarna makanan warna hijau, kelapa parut, vanili, *baking powder*.

Alat digunakan sebagai berikut: *Laminar Air Flow (LAF) super clean beach*, Autoklaf (hirayama), *Incubator* (Binder dan memmert), *Colony counter* (rocker), Cawan petri steril, Tabung reaksi dan rak tabung reaksi, Pipet mikro dan tips steril (spendorf), Timbangan analitik, Erlenmeyer (iwaki), *Spreader (L-stirrer)*, *Bunsen burner*, *Timer*, kamera.

Metode

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif, yaitu dengan mengumpulkan data berupa angka dari hasil perhitungan koloni mikroorganisme sebagai dasar analisis. Teknik yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Petrifilm, yakni media siap pakai yang efisien untuk menghitung jumlah koloni bakteri maupun kapang dan khamir tanpa perlu proses sterilisasi alat dan media seperti pada metode konvensional. Sampel yang digunakan adalah produk kue tradisional klepon dan putu ayu yang dibuat secara mandiri, kemudian dilakukan pengujian mikrobiologis menggunakan Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang dan Khamir (AKK). ALT digunakan untuk mengetahui jumlah total bakteri aerob mesofilik, sementara AKK digunakan untuk menghitung jumlah koloni kapang dan khamir yang dapat tumbuh pada bahan pangan dengan kadar air tinggi seperti kelapa parut yang digunakan dalam kedua produk kue tersebut. Metode Petrifilm dipilih karena praktis, hemat waktu, serta mampu menghasilkan data yang akurat dalam pengujian mikrobiologis makanan [7]. Penggunaan metode ini juga sejalan dengan standar pemeriksaan mikrobiologi dalam industri pangan yang menuntut efisiensi dan ketepatan data.

Cara Kerja

1. Pembuatan Putu Ayu dan Klepon

Tepung ketan dan pewarna hijau dicampur hingga merata, tambahkan air sedikit demi sedikit, lumatkan hingga kalis, ambil adonan pipihkan isi dengan gula merah lalu bulatkan. Kemudian rebus kedalam air mendidih tunggu hingga mengapung, lalu angkat tiriskan dan taburi kelapa parut kukus.

2. Pembuatan Klepon

Olesi cetakan putu ayu dengan minyak, kocok telur dan gula hingga mengembang, tambahkan santan dan pewarna aduk rata, tuang adonan kedalam cetakan, kukus hingga matang.

3. Pengenceran

Sampel kue putu ayu dan klepon ditimbang sebanyak 50 gram masing-masing, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 450 mL larutan aquades steril (pengenceran 10^{-1}). Suspensi homogen diperoleh melalui pengocokan manual atau stomacher selama 1 menit, dikocok pelan 3-5 menit dan di diamkan hingga mengendap dengan 2 kali ulangan. Suspensi homogen dari pengenceran 10^{-1} diencerkan secara bertahap dengan larutan aquades steril untuk memperoleh tingkat pengenceran hingga 10^{-5} .

4. Uji *Escherherichia.coli* dengan Metode Petrifilm

Pada tahap inokulasi Petrifilm, pertama-tama ambil satu lembar Petrifilm *E. coli* dan letakkan pada permukaan datar yang bersih. Selanjutnya, gunakan inokulator steril untuk mengambil 1 mL dari larutan pengenceran sampel putu ayu. Inokulasi larutan tersebut ke permukaan Petrifilm dengan cara menekan dan meratakan inokulum agar media terdistribusi merata di seluruh permukaan. Setelah itu, ulangi prosedur yang sama untuk sampel klepon pada Petrifilm yang berbeda. Penting untuk menutup Petrifilm dengan hati-

hati, agar tidak terbentuk gelembung udara yang dapat mengganggu pertumbuhan koloni mikroorganisme.

Setelah inokulasi selesai, langkah berikutnya adalah inkubasi. Petrifilm yang telah diinokulasi kemudian ditempatkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Suhu dan waktu inkubasi yang tepat sangat penting untuk memastikan pertumbuhan koloni mikroorganisme pada media tersebut.

Setelah 24 jam inkubasi, lakukan pengamatan terhadap koloni yang tumbuh pada permukaan Petrifilm. Koloni *Escherichia coli* (*E. coli*) yang tumbuh akan terlihat berwarna biru atau biru kehijauan. Jika ditemukan koloni berwarna biru, maka sampel tersebut positif mengandung *E. coli*. Sebaliknya, jika tidak ada koloni berwarna biru, maka sampel tersebut dapat dianggap negatif terhadap keberadaan *E. coli*. (Wahana Hilab Indonesia,n.d.).

5. Cara Membuka Petrifilm

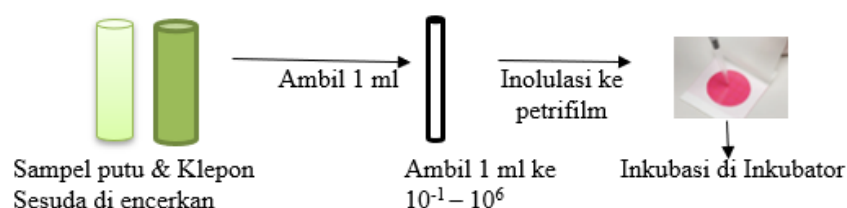
Sebelum memulai prosedur, pastikan area kerja telah dibersihkan dan disterilkan dengan baik. Untuk menjaga kebersihan dan mencegah kontaminasi, gunakan sarung tangan dan masker selama seluruh proses. Selain itu, persiapkan semua alat dan bahan yang diperlukan, seperti Petrifilm *E. coli*, agar tidak terjadi keterlambatan atau kebingungannya setelah kemasan dibuka.

Langkah pertama adalah mengambil Petrifilm *E. coli* dari kemasan dengan hati-hati. Pastikan kemasan tersebut tidak rusak dan media di dalamnya dalam kondisi baik, tanpa ada tanda-tanda kerusakan atau kontaminasi. Pegang Petrifilm hanya pada bagian tepi untuk menghindari kontaminasi langsung pada media. Buka tutup kemasan secara perlahan dan hati-hati. Hindari menyentuh bagian dalam media agar tidak terjadi kontaminasi. Jika Petrifilm dilengkapi dengan pelindung, lepaskan pelindung tersebut secara lembut agar tidak merusak permukaan media.

6. Cara Meratakan Sampel Petrifilm

Untuk inokulasi, pertama gunakan inokulator (*loop* steril) untuk mengambil 1 mL dari larutan pengenceran sampel putu ayu atau klepon. Selanjutnya, teteskan larutan tersebut di tengah permukaan media Petrifilm dengan hati-hati. Setelah meneteskan larutan, tutup Petrifilm dengan bagian atasnya (jika ada) atau gunakan bagian atas yang bersih untuk menekan larutan agar tersebar merata. Tekan bagian atas Petrifilm dengan lembut dan pastikan larutan menyebar ke seluruh permukaan media tanpa menimbulkan gelembung udara. Pastikan larutan terdistribusi secara merata di seluruh permukaan media tanpa ada bagian yang terlewat.

Setelah proses inokulasi, inkubasi Petrifilm pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, amati koloni yang tumbuh pada permukaan media. Koloni *E. coli* akan muncul dengan warna biru atau biru kehijauan, yang menjadi indikator positif untuk keberadaan *E. coli*. Jika tidak ada koloni berwarna biru yang muncul, maka hasilnya dapat dianggap negatif untuk *E. coli*. Prosedur ini telah terbukti efektif dalam mendeteksi *E. coli* dalam sampel makanan dan minuman.



Gambar 1. Prosedur skematis petrifilm

7. Angka Lempeng Total (ALT) menggunakan metode TPC

a. Cara membuat PCA dari bubuk

Timbang 5,4 gram bubuk PCA, larutkan kedalam 1 liter aquades steril. Setelah larutan media siap, sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk menghindari kontaminasi mikroba yang tidak diinginkan. Selanjutnya dinginkan media untuk mencegah kematian mikroba saat pencampuran sampel.

b. Uji ALT

Pastikan menggunakan alat yang steril untuk mengambil sampel, guna menghindari kontaminasi. Lakukan pengenceran 10-1, 10-2 dan hingga 10-6. Dikocok pelan dan didiamkan hingga mengendap bagian atas. Setelah pengenceran dilakukan, ambil 1 ml dari setiap pengenceran dan masukkan kedalam cawan petri steril. Segera tuangkan media PCA kedalam cawan yang berisi sampel. Aduk perlahan secara melingkar dan bentuk angka 8 untuk mencampur sampel dengan media. Teknik ini dinamakan pour plate yang bertujuan untuk meratakan mikroba didalam seluruh media dan dilakukan dibawah laminar air flow.

Cawan petri yang berisi campuran sampel di wrap dan ditunggu memadat kemudian diinkubasi dalam keadaan terbalik pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah inkubasi selesai, koloni yang tumbuh pada permukaan media agar dihitung menggunakan colony counter untuk mendapatkan jumlah koloni yang tumbuh. Hasil perhitungan kemudian dihitung dalam satuan *Colony Forming Unit per gram* (CFU/g) menggunakan rumus:

$$\text{CFU/g} = \frac{\text{Jumlah koloni rata-rata}}{\text{Volume sampel (ml)}} \times \text{Faktor pengenceran}$$

8. Angka Kapang dan Khamir (AKK) menggunakan PDA

a. Pembuatan media PDA dari Serbuk

Timbang 39 gram bubuk PDA, Larutkan dalam 1 liter aquades steril, Panaskan sambil diaduk hingga larut sempurna, Sterilkan dalam autoklaf pada 121°C selama 15 menit, Dinginkan hingga suhu 45°C sebelum dituangkan ke dalam cawan petri.

b. Uji AKK

Sebanyak 1ml larutan sampel dari setiap tingkat pengenceran menggunakan pipet steril dan dimasukkan kedalam cawan petri steril. Media PDA kemudian dituangkan kedalam cawan petri yang sudah di beri sampel. Cawan diputar putar diatas meja laminar air flow secara perlahan hingga sampel dan media tercampur merata, lalu didiamkan 15 menit hingga memadat dan di wrap. Cawan petri yang berisi campuran media dan sampel diinkubasi dalam posisi terbalik pada suhu 28°C selama 120 jam atau 5 hari. Koloni kapang dan khamir yang tumbuh dihitung menggunakan colony counter. Koloni yang tumbuh pada cawan petri dihitung, dan hasilnya dinyatakan dalam satuan *Colony Forming Unit per gram* (CFU/g) menggunakan rumus:

$$\text{CFU/g} = \frac{\text{Jumlah koloni rata-rata}}{\text{Volume sampel (ml)}} \times \text{Faktor pengenceran}$$

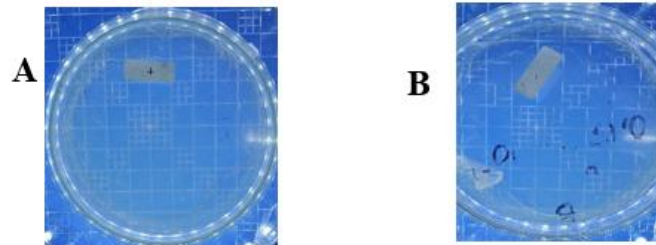
9. Analisis Data

Data hasil perhitungan jumlah mikroorganisme dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui tingkat cemaran mikroorganisme pada kue putu ayu dan klepon. Hasil ALT digunakan untuk mengukur tingkat cemaran mikroorganisme secara keseluruhan, sedangkan hasil AKK digunakan untuk mengukur keberadaan kapang dan khamir pada sampel dan Petrifilm digunakan untuk mengetahui *E. coli* pada sampel.

Hasil dan Diskusi

A. Hasil Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Uji ALT digunakan untuk menentukan jumlah total bakteri yang terdapat dalam sampel kue tradisional. Media yang digunakan adalah *Plate Count Agar* (PCA), yaitu media non-selektif yang umum digunakan untuk menghitung jumlah total mikroorganisme dalam sampel pangan. PCA mengandung tripton, ekstrak *yeast*, dan agar yang menyediakan nutrisi esensial bagi pertumbuhan bakteri. Setiap pengenceran di inokulasikan kedalam cawan petri steril menggunakan metode tuang *pour plate*, media PCA cair yang telah di sterilkan di tuang kedalam cawan yang berisi sampel, lalu di biarkan memadat. Cawan tersebut di inkubasi, koloni yang tumbuh dihitung dan dinyatakan dalam satuan koloni/gram (CFU/g).



Gambar 2. Kontrol positif A (+) berisi media dan B negatif (-) aquaes steril. Media kontrol digunakan sebagai pembandingan atau acuan untuk memastikan keakuratan dan validitas hasil uji. Media ini berperan penting untuk memverifikasi bahwa kondisi laboratorium, alat, media dan prosedur yang digunakan steril dan benar.

1. Hasil Uji ALT pada sampel Putu Ayu

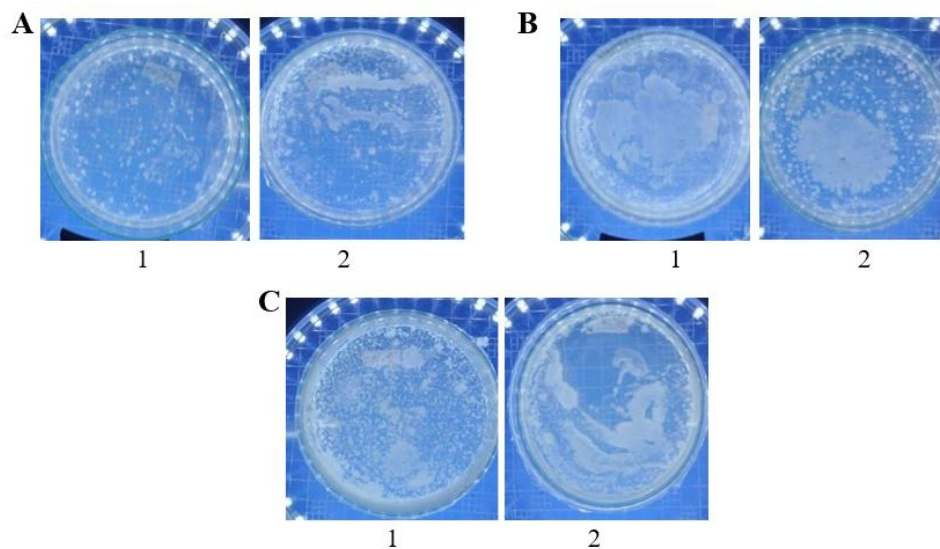
Angka Lempeng Total (ALT) merupakan indikator jumlah keseluruhan bakteri aerob yang terdapat dalam suatu produk pangan. Berdasarkan hasil pengamatan Uji ALT pada tingkat pengenceran 10^{-4} sampai dengan 10^{-6} pada sampel putu ayu, sebagaimana ditampilkan pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil perhitungan nilai ALT pada sampel putu ayu

Pengenceran	Jumlah Koloni		CFU/gram
	Cawan 1	Cawan II	
10-4	205	275	$2,4 \times 10^6$
10-5	349	293	$2,9 \times 10^7$
10-6	333	490	>300

Ket: (Warna Kuning Tabel) Angka yang memenuhi syarat perhitungan ALT

Berdasarkan hasil perhitungan ALT Angka Lempeng Total pada sampel putu ayu, ditemukan jumlah koloni yang valid sesuai standard [4] terdapat pada pengenceran 10^{-4} dengan rata-rata $2,4 \times 10^6$ sedangkan 10^{-5} dan $10^{-6} > 300$ pada 10^{-5} . ALT pada pengenceran tersebut menghasilkan nilai pengenceran terendah. Menurut standard yang ditetapkan oleh Fardiaz (1992) serta merujuk paa SNI 2897:2008 tentang metode pengujian mikrobiologi pada makanan, jumlah koloni yang dapat dihitung secara valid berada dalam rentang 30-300 koloni percawan. Jika jumlah koloni > 300 , maka dapat terjadi overgrowth (pertumbuhan berlebih) yang menyebabkan koloni saling menutupi, sehingga perhitungan menjadi tidak akurat.



Gambar 3. Koloni ALT pada media PCA (A) pengenceran 10-4 sampel putu ayu, (B) pengenceran 10-5 sampel putu ayu, (C) pengenceran 10-6 sampel putu ayu. Notasi 1 dan 2 menunjukkan pengulangan pada sampel.

Dari ketiga tingkat pengenceran yang diuji, hanya pengenceran 10-4 yang menghasilkan jumlah koloni rata-rata dalam kisaran yang diperbolehkan yaitu $2,4 \times 10^6$. Jika dibandingkan dengan standard yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) No.13 tahun 2019 tentang Batas Maksimal Cemaran Mikroba dalam Pangan Olahan, batas maksimum ALT yang diperbolehkan dalam produk kue basah atau jajanan pasar seperti putu ayu adalah 1×10^4 CFU/gram, jelas melebihi batas yang diizinkan. Nilai tersebut menunjukkan adanya potensi kontaminasi mikroba yang cukup tinggi, yang menandakan bahwa produk tersebut tidak memenuhi standard keamanan pangan yang berlaku.

Tingginya nilai ALT pada penelitian ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang berkaitan erat dengan proses pembuatan yang dilakukan secara mandiri dengan alat yang terbatas. Salah satu faktor utama adalah lingkungan, peralatan, air yang digunakan, kelapa parut. Pembuatan makanan dilingkungan yang tidak di desain khusus untuk produksi pangan, dengan standard sanitasi cenderung memiliki resiko kontaminasi yang lebih tinggi. Alat yang digunakan juga terbatas, sehingga proses pembersihan alat dan bahan menjadi kurang.

Selain itu, kebersihan bahan baku juga sangat berpengaruh. Bahan-bahan seperti tepung, kelapa parut, dan gula berpotensi terkontaminasi sejak proses distribusi hingga penyimpanan di kosan. Keterbatasan ruang penyimpanan dan alat pendingin dapat mempercepat pertumbuhan mikroorganisme, terutama pada bahan yang memiliki kadar air tinggi seperti kelapa parut. Faktor lain yang mempengaruhi adalah proses pengolahan yang tidak optimal. Dalam kondisi alat yang terbatas, proses pemasakan yang mungkin tidak mencapai suhu yang memadai untuk membunuh mikroorganisme.

2. Hasil Uji ALT pada sampel Klepon

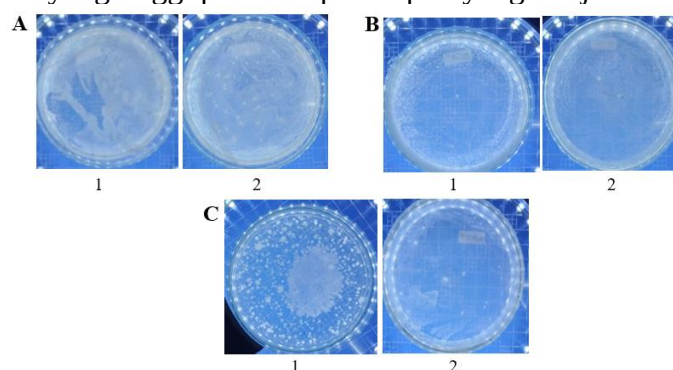
Berdasarkan hasil pengamatan Uji ALT pada tingkat pengenceran 10-4 sampai dengan 10-6 pada sampel klepon, sebagaimana ditampilkan pada tabel berikut:

Tabel 2. Hasil perhitungan nilai ALT pada sampel Klepon

Pengenceran	Jumlah Koloni		ALT CFU/gram
	Cawan 1	Cawan II	
10-4	129	163	1,46×10⁶
10-5	435	293	2,9×10⁶
10-6	96	99	9,75×10⁷

Ket: (Warna Kuning Tabel) Angka yang memenuhi syarat perhitungan ALT

Dari hasil perhitungan ALT pada sampel klepon yang dibuat secara mandiri di kosan dan dibawa ke laboratorium terpadu UNISMA menggunakan wadah tertutup, ditemukan bahwa pengenceran 10-4 menghasilkan rata-rata koloni sebesar 146 CFU. Perhitungan ALT pada pengenceran tersebut menghasilkan nilai 1,46×10⁶ CFU/gram. Sedangkan, pengenceran 10-5 menghasilkan jumlah koloni yang melebihi batas >300 koloni, sehingga tidak digunakan untuk perhitungan ALT. Pengenceran 10-6 jumlah koloni rata-rata sebesar 97,5 CFU dengan nilai ALT sebesar 9,75×10⁷ CFU/gram. Namun, pengenceran 10-4 dipilih sebagai hasil yang paling representatif karena jumlah koloninya berada dalam rentang yang valid sesuai perhitungan standard [4]. Pada pengenceran 10-6, meskipun jumlah koloni berada dalam rentang valid tetapi karena, pengencerannya yang tinggi maka hasil ALT menjadi lebih besar dan hasil tersebut tidak digunakan. Karena pengenceran 10-4 lebih rendah dan valid. Jika dibandingkan dengan Badan Pengawas Obat dan Makanan BPOM No.13 tahun 2019 tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam pangan dan olahan, batas maksimum ALT yang diperbolehkan untuk makanan siap saji seperti klepon adalah sebesar 1×10⁴ CFU/gram jauh melampaui batasan yang diizinkan. Hal ini menunjukkan adanya potensi kontaminasi mikroba yang tinggi pada sampel klepon yang diuji.



Gambar 4. Koloni ALT pada media PCA (A) pengenceran 10-4 sampel klepon, (B) pengenceran 10-5 sampel klepon, (C) pengenceran 10-6 sampel klepon. Notasi 1 dan 2 menunjukkan pengulangan pada sampel.

Tingginya ALT pada sampel ini kemungkinan besar disebabkan oleh beberapa faktor yang berkaitan erat dengan proses pembuatan dan penanganan klepon. Proses pembuatan yang dilakukan dengan alat yang terbatas menjadi salah satu faktor utama. Lingkungan pembuatan yang bukan merupakan tempat produksi makanan yang higienis meningkatkan risiko terjadi kontaminasi. Selain itu peralatan yang digunakan untuk membuat klepon mungkin tidak sepenuhnya steril. Alat-alat seperti panci kukusan, wadah adonan dan pembentukan klepon dengan menggunakan tangan terbuka berpotensi menjadi sumber kontaminasi mikroba. Bahan baku yang digunakan juga berperan dalam tingginya ALT. Klepon menggunakan kelapa parut yang dikenal

memiliki kadar air tinggi dan sangat rentan terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Jika kelapa parut tidak disimpan dalam kondisi dingin atau digunakan dalam keadaan yang tidak segar, maka resiko kontaminasi menjadi lebih besar. Penelitian oleh Dewi dan Suardana pada tahun 2018 menemukan bahwa kelapa parut yang disimpan dalam suhu ruang selama lebih dari 6 jam mengalami peningkatan jumlah mikroba secara signifikan. Selain itu, gula merah dan tepung ketan yang digunakan dalam pembuatan klepon juga berpotensi mengandung mikroorganisme jika tidak disimpan dengan benar atau terpapar lingkungan yang tidak steril.

Berdasarkan penelitian terdahulu di Pasar Songgolangit, Kabupaten Ponorogo, menemukan bahwa nilai ALT pada beberapa sampel klepon berada dalam rentang $0,4495 \times 10^4$ hingga $7,005 \times 10^4$ CFU/gram. Sebagian besar sampel tidak memenuhi standard BPOM karena melebihi ambang batas yang diperbolehkan untuk makanan siap saji, yaitu 1×10^4 CFU/gram [7]. Tingginya nilai ALT pada penelitian tersebut disebabkan oleh praktik kebersihan yang kurang baik selama proses pembuatan dan penjualan, serta minimnya kontrol suhu saat penyimpanan dan distribusi.

Berdasarkan penelitian tersebut, tingginya ALT pada klepon dalam penelitian ini kemungkinan besar disebabkan oleh beberapa faktor, seperti alat yang digunakan kurang steril, lingkungan pembuatan yang tidak higienis, serta suhu penyimpanan yang tidak terkontrol selama transportasi ke laboratorium. Penerapan prinsip *Good Manufacturing Practices* (GMP) dan *Good Hygiene Practices* (GHP) sangat penting digunakan untuk meminimalkan risiko kontaminasi mikroba pada klepon yang diproduksi secara mandiri.

B. Hasil Uji Angka Kapang dan Khamir (AKK)

Selain ALT, dilakukan pula pengujian Angka Kapang dan Khamir (AKK) untuk menilai adanya pertumbuhan jamur atau khamir pada sampel. Angka Kapang Khamir (AKK) merupakan salah satu parameter penting dalam penilaian kualitas mikrobiologis suatu produk pangan. Uji ini dilakukan untuk mengetahui jumlah kapang dan khamir yang ada dalam sampel makanan termasuk pada produk makanan tradisional seperti klepon. Dalam penelitian ini pengujian AKK dilakukan menggunakan metode hitungan cawan dengan media PDA (*Potato Dextrose Agar*), serta perhitungan jumlah koloni dilakukan menggunakan rumus standar yang telah ditetapkan. Hasil pengujian ditampilkan sebagai berikut:

1. Hasil Uji AKK sampel Klepon

Berdasarkan hasil pengamatan Uji AKK pada tingkat pengenceran 10-1 sampai dengan 10-4 pada sampel klepon, sebagaimana ditampilkan pada tabel berikut:

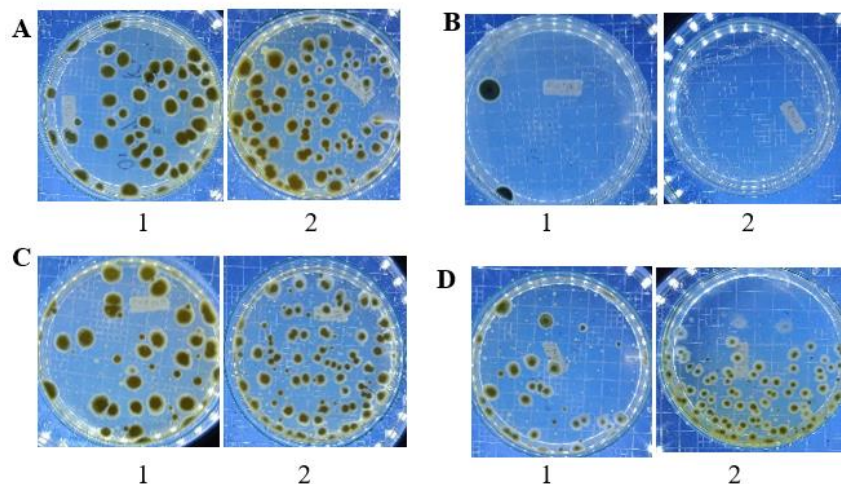
Tabel 3. Hasil dari uji Angka Kapang Khamir AKK Klepon

Pengenceran	Jumlah Koloni		AKK CFU/gram
	Cawan 1	Cawan II	
10-1	44	98	$7,1 \times 10^2$
10-2	2	1	<30
10-3	83	96	$8,9 \times 10^4$
10-4	98	71	$8,4 \times 10^6$

Ket: (Warna Kuning Tabel) Angka yang memenuhi syarat perhitungan AKK

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap uji Angka Kapang Khamir (AKK) pada sampel klepon, dilakukan pengenceran 10-1-10-4. Hasil yang diperoleh menunjukkan

variasi jumlah koloni pada masing-masing pengenceran. Pada pengenceran 10-1 jumlah koloni diperoleh $7,1 \times 10^2$ CFU/gram, sementara itu pada 10-2 jumlah koloni sangat sedikit, menunjukkan bahwa jumlahnya tidak memenuhi standard perhitungan karena <30 . Sedangkan 10-3 dan 10-4, jumlah koloni yang diperoleh masih berada dalam rentang yang tepat. Namun, meskipun pengenceran 10-3 dan 10-4 menghasilkan koloni dalam jumlah valid, nilai perhitungan CFU/gram dari pengenceran tersebut sangat tinggi. Maka, untuk menentukan nilai AKK yang representatif digunakanlah hasil dari pengenceran terendah yang valid, yaitu 10-1.



Gambar 5. Koloni AKK pada media PDA (A) pengenceran 10-1 sampel klepon, (B) pengenceran 10-2 sampel klepon, (C) pengenceran 10-3 sampel klepon, (D) pengenceran 10-3 sampel klepon. Notasi 1 dan 2 menunjukkan pengulangan pada sampel.

Hasil uji AKK yang diperoleh menunjukkan nilai sebesar $7,1 \times 10^3$ CFU/gram. Nilai ini melebihi batas maksimal yang diperbolehkan menurut BPOM 1×10^3 CFU/gram. Berdasarkan BPOM Nomor 13 tahun 2019 tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam olahan pangan, batas maksimal Angka Kapang Khamir yang diperbolehkan untuk produk makanan tertentu adalah 1×10^3 CFU/gram. Namun, peraturan ini tidak menyebutkan secara spesifik batas AKK untuk klepon, sehingga yang digunakan sebagai acuan adalah batas umum. Nilai AKK yang melebihi batas mengindikasikan bahwa adanya potensi kontaminasi selama proses produksi. Angka ini menunjukkan bahwa kualitas kue klepon tidak higienis.

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media pertumbuhan potato dextrose agar (PDA) melalui teknik pour plate, sehingga jumlah koloni yang muncul pada mediadikonversi berdasarkan faktor pengenceran yang telah ditetapkan. Penambahan nutrisi pada media Potato Dextrose Agar (PDA) dapat meningkatkan pertumbuhan jamur, sehingga media yang optimal penting dalam proses isolasi dan perhitungan Angka Kapang Khamir (AKK) pada produk pangan [9]. Nilai yang diperoleh tersebut mencerminkan keberadaan kapang dan khamir yang ada pada kue klepon. Metode ini telah banyak digunakan dalam penelitian mikrobiologi pangan karena keakuratannya dalam memberikan estimasi jumlah mikroorganisme [2].

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tatik Lestari (2019) di kabupaten porogo menunjukkan bahwa nilai AKK pada klepon bervariasi antara $0,8 \times 10^2$ hingga $54,75 \times 10^2$ CFU/gram. Beberapa sampel penelitian tersebut tidak memenuhi syarat yang ditetapkan oleh BPOM RI HK.00.06.1.52.4011 tahun 2009. Faktor yang mempengaruhi tingginya AKK yang pertama adalah kebersihan bahan baku. Bahan baku yang terkontaminasi

seperti tepung, kelapa parut, gula merah dapat menjadi sumber masuknya kapang dan khamir. Proses pembuatan dan lingkungan yang kurang higienis serta peralatan yang tidak steril juga dapat mempengaruhi kontaminasi mikroba, penyimpanan kleponn yang dilakukan pada suhu ruang yang cenderung hangat serta memiliki kelembaban tinggi membuat kondisi ideal bagi pertumbuhan kapang dan khamir. Kandungan air dalam klepon terutama dari kelapa parut, berkontribusi besar terhadap tingginya AKK. Kelapa parut memiliki kandungan air tinggi, yang menjadi media ideal pertumbuhan kapang dan khamir. Selain itu tekstur klepon yang lembut dan kenyal juga dapat menahan kelembaban, mendukung pertumbuhan mikroba jika tidak segera dikonsumsi.

2. Hasil Uji AKK sampel Putu Ayu

Berdasarkan hasil pengamatan Angka Kapang Khamir pada tingkat pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-4} pada sampel putu ayu, sebagaimana ditampilkan pada tabel berikut:

Tabel 4. Hasil dari uji Angka Kapang Khamir AKK Putu Ayu

Pengenceran	Jumlah Koloni		AKK CFU/gram
	Cawan 1	Cawan II	
10-1	81	84	$8,2 \times 10^2$
10-2	0	0	<30
10-3	103	55	$7,9 \times 10^4$
10-4	63	82	$7,2 \times 10^5$

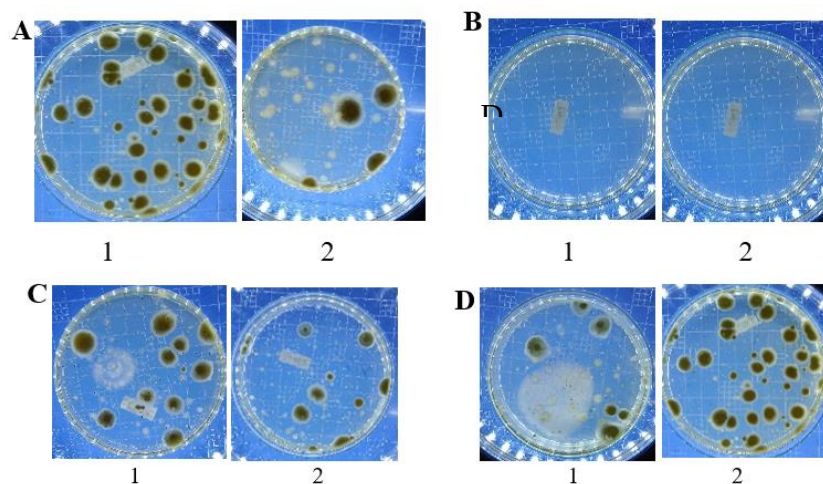
Ket: (Warna Kuning Tabel) Angka yang memenuhi syarat perhitungan AKK

Berdasarkan data pada Tabel 5, jumlah koloni tertinggi tercatat pada pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} , yaitu masing-masing 103 koloni (cawan I) dan 55 koloni (cawan II) pada 10^{-3} serta 63 koloni (cawan I) dan 82 koloni (cawan II) pada 10^{-4} . Kedua pengenceran ini memenuhi syarat perhitungan mikrobiologis berdasarkan standar SNI 2897:2008, yang menyatakan bahwa jumlah koloni yang dapat dihitung secara valid adalah antara 30 hingga 300 koloni per cawan. Oleh karena itu, hasil dari pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} dianggap valid untuk digunakan dalam perhitungan angka AKK. Adapun nilai AKK tertinggi diperoleh pada pengenceran 10^{-4} yaitu sebesar $7,2 \times 10^5$ CFU/gram, sedangkan pada pengenceran 10^{-3} sebesar $7,9 \times 10^4$ CFU/gram. Sementara itu, pengenceran 10^{-1} meskipun menunjukkan nilai $8,2 \times 10^2$ kol/g, namun tidak digunakan dalam perhitungan utama karena secara mikrobiologis jumlah koloninya berpotensi terlalu padat (*crowded plate*) yang dapat menurunkan keakuratan pembacaan koloni individu. Pengenceran 10^{-2} bahkan menunjukkan hasil 0 koloni, sehingga tidak relevan untuk dihitung.

Nilai AKK yang tinggi menunjukkan bahwa terjadi kontaminasi signifikan oleh mikroorganisme kapang dan khamir pada produk putu ayu. Terdapat beberapa kemungkinan penyebab kontaminasi ini, antara lain proses produksi yang tidak higienis, seperti penggunaan peralatan yang kurang bersih, penanganan bahan baku yang tidak memenuhi standar sanitasi, serta kurangnya perlindungan terhadap produk saat dan setelah proses pengolahan. Selain itu, penyimpanan produk dalam suhu ruang yang lembap tanpa pengemasan tertutup juga memungkinkan pertumbuhan kapang dan khamir meningkat secara signifikan. Kondisi lingkungan yang terbuka saat proses produksi atau saat produk disajikan kepada konsumen juga dapat menjadi faktor pemicu meningkatnya angka AKK

karena memungkinkan terjadinya kontaminasi silang dari udara, debu, serangga, atau sentuhan langsung tangan manusia.

Jika dibandingkan dengan standar keamanan pangan yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM) dalam Peraturan BPOM No. 13 Tahun 2019 tentang Persyaratan Cemarkan Mikroba dalam Pangan Olahan, nilai AKK maksimum yang diperbolehkan untuk pangan siap saji atau pangan basah seperti kue tradisional adalah sebesar 1×10^2 CFU/gram. Berdasarkan batas tersebut, seluruh hasil pengujian pada sampel putu ayu dalam penelitian ini melebihi ambang batas yang diizinkan. Hasil valid yang paling rendah pun, yaitu $7,9 \times 10^4$ kol/g, masih melebihi ambang batas sekitar 790 kali lipat. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa secara mikrobiologis, sampel putu ayu yang diuji tidak memenuhi syarat kelayakan konsumsi berdasarkan regulasi BPOM, dan berpotensi membahayakan kesehatan konsumen apabila dikonsumsi secara terus-menerus.



Gambar 5. Koloni AKK pada media PDA (A) pengenceran 10-1 sampel putu ayu, (B) pengenceran 10-2 sampel putu ayu, (C) pengenceran 10-4 sampel putu ayu. Notasi 1 dan 2 menunjukkan pengulangan pada sampel.

Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Setyowati (2021), yang melaporkan bahwa sebanyak 60% sampel jajanan pasar di Kota Surabaya menunjukkan angka AKK di atas batas maksimum yang diperbolehkan oleh BPOM. Hal ini disebabkan oleh lingkungan penjualan yang terbuka dan kurangnya pengemasan pada produk pangan. Penelitian oleh Putri dan Rahayu (2020) juga menemukan bahwa produk makanan tradisional yang dijual di lingkungan sekolah memiliki tingkat kontaminasi kapang dan khamir yang tinggi, terutama karena penanganan yang kurang higienis dan penyimpanan dalam suhu ruang tanpa pendingin. Selain itu, Rahmawati (2019) menunjukkan bahwa suhu dan kelembaban lingkungan sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan kapang dan khamir pada produk makanan basah. Hal ini menjelaskan bahwa faktor penyimpanan dan kebersihan lingkungan sangat berperan dalam menentukan kualitas mikrobiologis suatu produk pangan.

Secara keseluruhan, dari empat tingkat pengenceran yang diuji, pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} memberikan hasil yang paling valid dan sesuai untuk dijadikan dasar penilaian angka AKK, karena keduanya memenuhi kriteria perhitungan yang ditetapkan dalam metode standar. Namun, mengingat hasil dari pengenceran 10^{-3} ($7,9 \times 10^4$ kol/g) menunjukkan nilai yang lebih rendah dan kemungkinan berada dalam rentang yang lebih dekat dengan jumlah koloni ideal (100–150 CFU/cawan), maka pengenceran ini dapat dianggap sebagai

hasil yang paling representatif untuk menggambarkan tingkat kontaminasi kapang dan khamir dalam sampel putu ayu. Meski demikian, nilai tersebut tetap menunjukkan bahwa produk telah terkontaminasi secara signifikan, sehingga tidak layak konsumsi berdasarkan parameter AKK.

C. Hasil Uji *Escherichia coli*

Uji *Escherichia coli* (*E. coli*) dilakukan untuk menentukan apakah terdapat kontaminasi bakteri patogen dalam kue tradisional yang diuji. Hasil uji *E. coli* menggunakan Petrifilm disajikan sebagai berikut:

1. Hasil Uji pada Sampel Putu Ayu

Berdasarkan hasil pengamatan Uji Petrifilm pada tingkat pengenceran 10-1 sampai dengan 10-4 pada sampel putu ayu, sebagaimana ditampilkan pada tabel berikut:

Tabel 5. Hasil dari uji Petrifilm sampel Putu Ayu

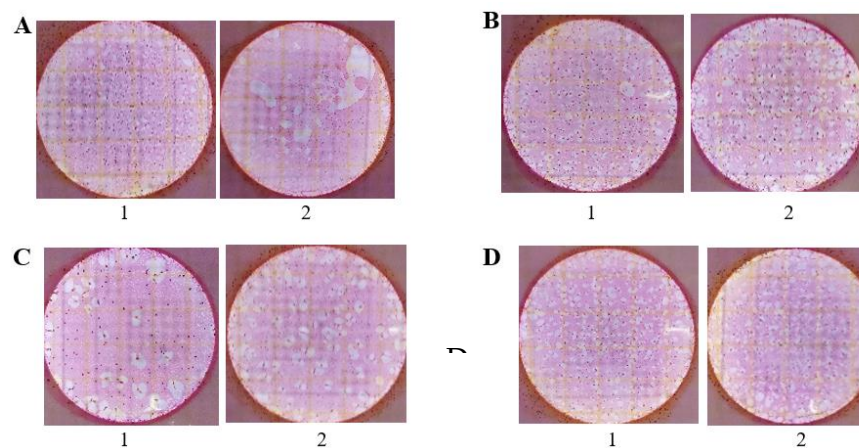
Pengenceran	Jumlah Koliform		Rata-rata CFU/gram
	Cawan 1	Cawan II	
10-1	489	188	1,8×10³
10-2	377	161	1,6×10⁴
10-3	244	152	1,9×10⁵
10-4	107	186	1,4×10⁶

Pada penelitian ini, sampel putu ayu yang digunakan adalah hasil buatan sendiri, yang kemudian diuji menggunakan petrifilm untuk mendeteksi keberadaan total coliform dan *Escherichia coli*. Proses inkubasi dilakukan selama 78 jam pada suhu yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri 37°C. Hasil pengamatan menunjukkan adanya pertumbuhan koloni coliform pada seluruh tingkat pengenceran, namun tidak ditemukan adanya koloni *Escherichia coli* (*E. coli*).

Hasil penelitian menunjukkan adanya pertumbuhan koloni coliform pada semua tingkat pengenceran. Pada pengenceran 10-1 jumlah coliform 1,8×10³ CFU/g. Seiring meningkatnya pengenceran, jumlah coliform yang tumbuh menurun, namun CFU/gram justru meningkat secara signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi awal bakteri pada sampel cukup tinggi, sehingga pada pengenceran yang lebih rendah, koloni terlalu padat dan berpotensi tumpang tindih sehingga menyulitkan proses perhitungan koloni yang akurat.

Pengenceran 10-3 memberikan hasil yang paling optimal untuk perhitungan, yaitu 1,9×10⁵ CF/gram. Nilai ini menunjukkan bahwa tingkat kontaminasi pada sampel putu ayu berada pada kisaran sangat tinggi.

Coliform merupakan kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator kontaminasi lingkungan, terutama yang berkaitan dengan kebersihan air, alat serta bahan baku yang digunakan dalam proses produksi makanan. Keberadaan coliform dalam makanan disebabkan oleh beberapa faktor, seperti sanitasi yang tidak memadai selama proses pengolahan, kualitas air yang digunakan, hingga kontaminasi silang dari peralatan atau tangan pekerja.



Gambar 6. Koliform ada media petrifilm (A) pengenceran 10-1 sampel putu ayu, (B) pengenceran 10-2 sampel putu ayu, (C) pengenceran 10-3 sampel putu ayu, (D) 10-4 sampel putu ayu. Notasi 1 dan 2 menunjukkan pengulangan pada sampel.

Dalam penelitian ini tidak ditemukan adanya koloni *Escherichia coli* (*E. coli*) pada semua tingkat pengenceran. Tidak ditemukannya *Escherichia coli* (*E. coli*) mengindikasikan bahwa tidak terdapat kontaminasi yang berasal dari tinja hewan atau manusia, karena *E. coli* biasanya digunakan sebagai indikator utama kontaminasi fekal (2001). Namun, inkubasi yang dilakukan selama 78 jam sedikit melebihi standard yang disarankan dalam metode petrifilm, yaitu 24-48 jam (3M Microbiology, 2017). Menurut standard SNI 7388:2009 tentang batas maksimum cemaran mikroba pangan, jumlah maksimum total coliform yang diperbolehkan dalam makanan siap saji adalah <100 cfu/g. Hasil penelitian ini menunjukkan jumlah coliform yang jauh melebihi batasan, terutama pada pengenceran 10-3 dan 10-4, yang mencapai angka hingga 105 dan 106 CFU/g. Berdasarkan pedoman BPOM Hk.03.1.23.07.12.3976 tentang persyaratan higienis dan sanitasi makanan, makanan yang melebihi batas tersebut disebut dianggap tidak layak konsumsi karena berpotensi menyebabkan gangguan kesehatan, seperti diare atau infeksi pencernaan.

Salah satu yang mempengaruhi adalah kurangnya kebersihan alat dan bahan yang digunakan selama proses pembuatan. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa, peralatan yang tidak disanitasi dengan baik dapat menyebabkan sumber utama kontaminasi coliform [1]. Selain itu, proses produksi yang melibatkan kontak langsung dengan tangan tanpa penggunaan sarung tangan juga dapat memperbesar resiko kontaminasi. Faktor lain yang menyebabkannya adalah penyimpanan makanan, dimana suhu ruang yang tidak terkontrol dapat menjadi pertumbuhan coliform.

Menjaga kebersihan tangan merupakan aspek krusial dalam menjamin keamanan pangan. Tangan yang tidak bersih dapat menjadi media penularan mikroorganisme patogen yang menyebabkan penyakit bawaan makanan. Penelitian oleh [10] menunjukkan bahwa mencuci tangan menggunakan sabun antiseptik dapat mengurangi jumlah koloni bakteri hingga 87%, dibandingkan dengan penggunaan hand sanitizer yang hanya mencapai 71%. Hal ini disebabkan oleh kemampuan sabun dalam mengangkat kotoran dan mikroorganisme dari permukaan kulit melalui mekanisme surfaktan dan gesekan mekanis saat mencuci tangan.

1. Hasil Uji pada Sampel Klepon

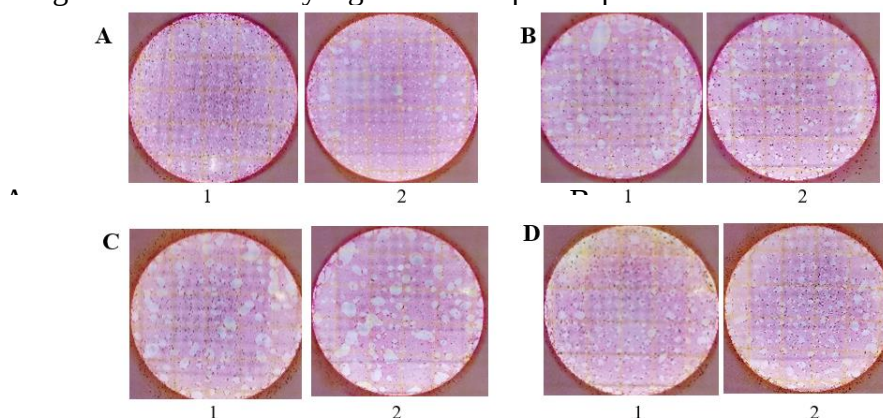
Hasil pengujian pada sampel klepon menunjukkan peningkatan jumlah koloni coliform seiring dengan pengenceran:

Tabel 6. Hasil dari uji Petrifilm sampel Klepon

Pengenceran	Jumlah Koliform		CFU/gram
	Cawan 1	Cawan II	
10-1	158	210	1,8×10²
10-2	125	227	1,76×10⁴
10-3	176	170	1,73×10⁵
10-4	289	113	2,01×10⁶

Seiring dengan peningkatan pengenceran, jumlah koloni yang terhitung menjadi lebih representatif. Pada pengenceran 10^{-2} , menghasilkan nilai $1,76 \times 10^4$ CFU/gram. Demikian pula, pengenceran 10^{-3} menghasilkan $1,73 \times 10^5$ CFU/gram. Nilai-nilai ini menunjukkan konsistensi dan keakuratan yang lebih baik dalam penghitungan karena jumlah koloni berada dalam rentang yang ideal untuk metode ini, yakni antara 30 hingga 300 koloni per cawan [4]. Pada pengenceran 10^{-4} , yaitu $2,01 \times 10^6$ CFU/gram, yang mencerminkan tingginya tingkat kontaminasi koliform pada sampel klepon. Oleh karena itu, semua tingkat pengenceran dari 10-1 dan 10-4 pada pengujian ini memenuhi syarat validitas. Namun, nilai yang digunakan dari pengenceran yang paling kecil yaitu $1,8 \times 10^2$.

Berdasarkan hasil pengujian, jumlah koloni coliform pada sampel klepon jauh melebihi batas maksimum yang ditetapkan oleh SNI 7388;2009, yaitu < APM/g. Gambar 9. Koloni ada media petrifilm (A) pengenceran 10-1 sampel putu ayu, (B) pengenceran 10-2 sampel putu ayu, (C) pengenceran 10-3 sampel putu ayu, (D) 10-4 sampel putu ayu. Tingginya koloni coliform menunjukkan adanya kontaminasi yang signifikan dalam proses produksi atau penyimpanan klepon. Kontaminasi coliform menunjukkan adanya kontaminasi yang signifikan dalam proses produksi atau penyimpanan klepon. Kontaminasi coliform dapat berasal dari air yang digunakan, bahan baku, peralatan yang tidak higienis atau sanitasi yang buruk selama proses pembuatan.



Gambar 7. Koloni pada media petrifilm (A) pengenceran 10-1 sampel klepon, (B) pengenceran 10-2 sampel klepon, (C) pengenceran 10-3 sampel klepon, (D) pengenceran 10-4 sampel klepon. Notasi 1 dan 2 menunjukkan pengulangan pada sampel.

Meskipun hasil uji Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang Khamir (AKK) pada sampel putu ayu dan klepon menunjukkan nilai yang sangat tinggi, namun hasil uji terhadap keberadaan *Escherichia coli* (*E. coli*) menunjukkan hasil negatif. Hal ini dapat dijelaskan dari beberapa aspek ilmiah. ALT dan AKK merupakan parameter mikrobiologis umum yang mengukur keberadaan mikroorganisme secara keseluruhan, baik bakteri aerob mesofilik maupun jamur dan khamir, tanpa mengkhususkan jenis atau genus tertentu. Oleh karena itu, tingginya nilai ALT dan AKK tidak selalu mengindikasikan keberadaan *E. coli*, melainkan bisa disebabkan oleh mikroorganisme lain seperti *Staphylococcus aureus*,

Bacillus cereus, *Aspergillus* sp., dan *Saccharomyces cerevisiae* yang umum ditemukan pada bahan pangan seperti kelapa parut, tepung, maupun lingkungan sekitar yang kurang higienis.

Tidak terdeteksi *Escherichia coli* (*E. coli*), pada hasil uji mikrobiologis menunjukkan tingginya angka Angka Lempeng Total (ALT), Angka Kapang Khamir (AKK), serta jumlah koloni pada media Petrifilm. Hal ini juga diduga disebabkan oleh kondisi lingkungan pengolahan yang kurang higienis. Proses produksi dilakukan di dapur terbuka yang berdekatan dengan area pencucian dan penjemuran pakaian, sehingga meningkatkan risiko kontaminasi silang melalui udara. Penelitian oleh Kadarwati dan Dewi (2023) menyatakan bahwa bakteri koliform dapat tersebar melalui udara, terutama di lingkungan yang lembap dan tidak terkontrol kebersihannya. Kurangnya pemisahan antara area bersih dan kotor dalam lingkungan produksi pangan juga memperbesar risiko kontaminasi silang.

Tidak terdeteksinya *Escherichia coli* (*E. coli*) pada produk kue tradisional, seperti putu ayu dan klepon, diduga kuat berkaitan dengan proses sanitasi bahan baku, khususnya telur. Telur yang digunakan telah dicuci terlebih dahulu dengan air mengalir sebelum dicampurkan ke dalam adonan. Proses pencucian ini efektif dalam mengurangi kontaminasi mikroba pada permukaan kulit telur, termasuk *Escherichia coli* (*E. coli*), yang umumnya berasal dari kontaminasi feses pada cangkang telur.

Selain itu, proses pengolahan seperti pengukusan pada putu ayu dan perebusan pada klepon dilakukan pada suhu tinggi ($\pm 100^{\circ}\text{C}$), yang terbukti efektif dalam membunuh bentuk vegetatif bakteri termasuk *Escherichia coli* (*E. coli*), yang merupakan bakteri Gram negatif non-spora. Menurut studi oleh Mercer et al. (2015) yang diterbitkan dalam jurnal *Frontiers in Microbiology*, sebagian besar strain *Escherichia coli* (*E. coli*) memiliki nilai D60 (durasi waktu yang dibutuhkan untuk mengurangi populasi bakteri sebanyak 90% pada suhu 60°C) hanya sekitar 0,1 hingga 0,3 menit. Meskipun terdapat beberapa strain *E. coli* dengan *Locus of Heat Resistance* (LHR) yang menunjukkan resistensi lebih tinggi, namun keberadaan strain tersebut sangat jarang ditemukan pada produk makanan tradisional. Oleh karena itu, proses pemanasan selama pengolahan kemungkinan besar telah berhasil menonaktifkan *E. coli* sebelum dilakukan pengujian laboratorium.

Lebih lanjut, tidak ditemukannya *Escherichia coli* (*E. coli*) juga dapat menunjukkan bahwa selama proses produksi, tidak terjadi kontaminasi fekal secara langsung yang menjadi sumber utama bakteri ini. *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan indikator sanitasi yang berasal dari saluran pencernaan manusia dan hewan, sehingga keberadaannya erat kaitannya dengan kebersihan tangan, peralatan, serta air yang digunakan dalam proses produksi. Meskipun sanitasi secara umum pada lingkungan produksi buatan sendiri terbilang minim (sebagaimana tercermin dari tingginya ALT dan AKK), hasil negatif terhadap *Escherichia coli* (*E. coli*) tetap dapat terjadi jika tidak ada paparan langsung terhadap sumber kontaminasi fekal.

Berdasarkan penelitian dalam pemeriksaan cemaran mikrobiologi pada pasar songgolangit kabupaten ponorogo, menemukan bahwa kue klepon yang dijual di pasar tersebut memiliki tingkat cemaran mikrobiologi yang melebihi batas yang ditetapkan oleh peraturan BPOM RI nomor HK.00.06.1.52.4011 tahun 2009. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa 1 sari 3 penjual, yaitu penjual B, tidak memenuhi syarat karena hasil pemeriksaan tidak sesuai dengan persyaratan yang berlaku [9]. Penelitian yang dilakukan pada Isolasi Bakteri Pencemar pada jajanan tradisional yang dijual oleh pedagang kaki lima di Jl. Al-Falah dan sekitarnya. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 6 sampel kue juga tidak memenuhi standard cemaran mikroba, dengan jumlah koloni yang melebihi batas yang diperbolehkan

Kesimpulan

Berdasarkan data hasil penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua sampel putu ayu dan klepon terdeteksi mengandung mikroorganisme. Pada ALT sampel klepon menunjukkan nilai yaitu $1,46 \times 10^6$ CFU/gram dan sampel putu ayu $2,4 \times 10^6$ CFU/gram. Pada AKK sampel klepon menunjukkan nilai $7,1 \times 10^2$ CFU/gram sedangkan sampel putu ayu diperoleh nilai $7,9 \times 10^4$ CFU/gram. Sedangkan pada uji petrifilm sampel putu ayu menghasilkan $1,9 \times 10^5$ CFU/gram serta pada sampel klepon menghasilkan nilai $1,8 \times 10^2$ CFU/gram.
2. Tingkat kontaminasi mikroorganisme pada kedua jenis kue tersebut melebihi ambang batas maksimum yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) Nomor 13 tahun 2019 yaitu 1×10^4 , sehingga tidak memenuhi standard keamanan pangan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Kontributor dalam penelitian ini, sehingga penelitian dapat diselesaikan dengan baik dan dengan hasil yang cukup baik.

Daftar Pustaka

- [1] Subekti, A. (2019). Teknologi Pangan Tradisional: Pengolahan Dan Penyimpanan. Jakarta: Gramedia.
- [2] Subekti, A. (2019). Teknologi Pangan Tradisional: Pengolahan Dan Penyimpanan. Jakarta: Gramedia.
- [3] Subekti, A. (2019). Teknologi Pangan Tradisional: Pengolahan Dan Penyimpanan. Jakarta: Gramedia.
- [4] Adriani, M., 2018. *Characteristic Of Glutinous Rice Flour In Indonesia Traditional Foods.*, 45 (3), 215-220.
- [5] Lestari, T., & Rahmawati, R. (2019). Pemeriksaan Cemarkan Mikrobiologi Pada Kue Klepon Yang Beredar Di Pasar Songgolangit Kabupaten Ponorogo Dengan Metode Angka Lempeng Total (ALT) Dan Angka Kapang Kamir (AKK).
- [6] Arnita, R., & Faridah, F. (2018). Panduan Praktis Membuat Kue Basah Tradisional. Bandung: Penerbit Andi.
- [7] Setyowati, N. (2021). Studi AKK Pada Jajanan Pasar Di Surabaya. *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 6(2), 58–65.
- [8] Badan Standardisasi Nasional. (2023). Standar Mutu Telur Ayam Konsumsi Sesuai SNI 3926:2023.
- [9] BPOM RI (Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia). (2008). *Pedoman Keamanan Pangan untuk Industri Rumah Tangga*. Jakarta: BPOM RI.
- [10] Syauqi, A. (2019). Penambahan Nutrisi Potato Dextrose Agar Pada Pembuatan Starter Mikroorganisme Jamur Dengan Bahan Baku Tepung Beras. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 4(2), 45–50. Universitas Islam Malang.
- [11] Syauqi, A. (2021). Penambahan Kultur Mikroba Jamur Mikroskopis Pada Produk Delignifikasi Material Organik. *Jurnal Sains Alami (Known Nature)*, 4(1), 28–33
- [12] Irianto, K. (2013). Mikroorganisme Penyebab Keracunan Makanan Di Indonesia. Bandung: CV. Yrama Widya.
- [13] Kadarwati, R., & Dewi, Y. R. (2023). Pengaruh Metode Mencuci Tangan terhadap Keberadaan Bakteri pada Telapak Tangan Siswa SMK Kesehatan. *Plenary Health: Jurnal Kesehatan Paripurna*, 1(3). <https://doi.org/10.37985/plenaryhealth.v1i3.664>

- [14] Lestari, T., & Rahmawati, R. (2019). Pemeriksaan Cemarkan Mikrobiologi Pada Kue Klepon Yang Beredar Di Pasar Songgolangit Kabupaten Ponorogo Dengan Metode Angka Lempeng Total (ALT) Dan Angka Kapang Kamir (AKK).
- [15] Putri, R., & Rahayu, I. (2020). Kontaminasi Makanan Di Lingkungan Sekolah. *Jurnal Gizi dan Keamanan Pangan*, 10(2), 56–64.
- [16] Rahmawati, S. (2019). Pengaruh Suhu Terhadap Kapang Dan Khamir Pada Pangan. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 11(2), 112–120.
- [17] Setyowati, N. (2021). Studi AKK Pada Jajanan Pasar Di Surabaya. *Jurnal Mikrobiologi Terapan*, 6(2), 58–65.
- [18] Subekti, A. (2019). *Teknologi Pangan Tradisional: Pengolahan Dan Penyimpanan*. Jakarta: Gramedia.
- [19] Sutomo. (2012). *Teknik Pengolahan Kue Tradisional Indonesia*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- [20] Vail, D. (2003). *Petrifilm Ec For Microbial Detection*. *Food Quality Magazine*, 18(2), 14–18.
- [21] *World Health Organization (WHO)*. (2005). *Foodborne Disease Guidelines*. Geneva: Who Press.
- [22] *World Health Organization (Who)*. (2020). *Report On Foodborne Diseases: Global Burden Of Food Contamination*. Geneva: Who Press.