

**PROFIL MIKROBIOLOGI AMPO SERUT DARI
BERBAGAI DAERAH DI PULAU JAWA**

SKRIPSI

Oleh

PANDE MAHARANI LUMBANBATU



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

PROFIL MIKROBIOLOGI AMPO SERUT DARI
BERBAGAI DAERAH DI PULAU JAWA

Oleh

PANDE MAHARANI LUMBANBATU

NIM: 23020122120040

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Pande Maharani Lumbanbatu
N I M : 23020122120040
Program Studi : S-1 Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Skripsi yang berjudul: **PROFIL MIKROBIOLOGI AMPO SERUT DARI BERBAGAI DAERAH DI PULAU JAWA** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu: **Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc.** dan **Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik, maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, April 2026

Penulis



(Pande Maharani Lumbanbatu)

Mengetahui:

Pembimbing Utama

(Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc.)

Pembimbing Anggota

(Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si.)

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : PROFIL MIKROBIOLOGI AMPO SERUT
DARI BERBAGAI DAERAH DI PULAU JAWA

Nama Mahasiswa : PANDE MAHARANI LUMBANBATU

Nomor Induk Mahasiswa : 23020122120040

Program Studi/Departemen : S-1 TEKNOLOGI PANGAN / PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji

Dan dinyatakan lulus pada tanggal... **30 APR 2026**

Pembimbing Utama



Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc.

Ketua Program Studi

Pembimbing Anggota



Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P.,
Ph.D

Dekan



Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.



Swastika Dewi, S.TP., M.Sc.

Ketua Departemen



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt.,
M.P., Ph.D.

RINGKASAN

PANDE MAHARANI LUMBANBATU. 23020122120040. 2026. Profil Mikrobiologi Ampo Serut dari Berbagai Daerah di Pulau Jawa. Pembimbing: **BHAKTI ETZA SETIANI** dan **RATIH PARAMASTUTI**.

Produk ampo adalah salah satu produk cemilan tradisional yang terbuat dari tanah dan disukai oleh ibu hamil, anak-anak dan orang dewasa. Konsumsi ampo termasuk dalam praktik geofagia yang disengaja untuk beberapa alasan dan kepercayaan terhadap manfaat kesehatan, seperti meredakan mual, gangguan pencernaan, sebagai sumber mikronutrien tertentu seperti mineral esensial, hingga detoksifikasi alami. Bahan dasar yang digunakan dalam ampo yaitu tanah, yang menimbulkan ironi antara manfaat dan kenyataan potensi risiko bahaya bagi kesehatan konsumennya. Tanah menjadi sumber atau tempat mikroorganisme alami berkembang, serta risiko kontaminasi bahan kimia akibat aktivitas manusia yang tinggi. Penelitian berikut dilakukan untuk mendapatkan hasil analisis yang menjadi jembatan antara kepercayaan dan potensi risiko ilmiah. Penelitian ini mengkaji keamanan konsumsi cemilan ampo serut dengan meninjau profil mikrobiologi yang meliputi angka lempeng total, angka kapang khamir, cemaran koliform, dan aktivitas air.

Analisis dilakukan berdasarkan perbedaan daerah produsen ampo, yaitu Jawa Tengah, DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Timur, dan DI. Yogyakarta. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* di beberapa sentra produksi atau penjualan ampo serut, dengan total lima sampel provinsi dan 4 blok berdasarkan 4 daerah berbeda tiap provinsi. Metode yang digunakan adalah deskriptif kuantitatif dengan teknik analisis statistik deksriptif dan korelasi. Pengujian profil mikrobiologi meliputi uji aktivitas air menggunakan a_w meter, angka lempeng total (ALT) dan angka kapang khamir (AKK) menggunakan *pour plate method*, dan cemaran koliform menggunakan *most probable number* (MPN) sesuai SNI makanan kering. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi dan data dasar ilmiah mengenai profil mutu dan keamanan pangan ampo.

Hasil penelitian menunjukkan variasi kualitas mikrobiologi ampo serut yang signifikan, dengan nilai aktivitas air (a_w) berkisar 0,34-0,60, total bakteri 10^7 - 10^8 CFU/g, total kapang khamir 10^3 - 10^5 CFU/g, dan MPN koliform 10^4 MPN/g. Seluruh parameter cemaran mikroba tersebut telah melampaui ambang batas aman SNI dan PerBPOM No. 3 Tahun 2026 (ALT: $<10^5$, AKK: 10^2 CFU/g, dan koliform: <3 MPN/g), dengan profil tertinggi ditemukan pada sampel asal provinsi DI. Yogyakarta. Berdasarkan tingginya angka cemaran yang melampaui standar nasional, disimpulkan bahwa produk ampo ini dikategorikan memiliki risiko mikrobiologi tinggi dan tidak layak dikonsumsi karena berpotensi menyebabkan gangguan kesehatan atau penyakit bawaan makanan (*foodborne diseases*). Kondisi ini mengindikasikan adanya masalah serius pada cara pengolahan tradisional dan sanitasi lingkungan yang memerlukan perhatian mendalam dalam konteks keamanan pangan.

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis panjatkan atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas Rahmat-Nya yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian hingga penulisan skripsi dengan judul “Profil Mikrobiologi Ampo Serut dari Berbagai Daerah di Pulau Jawa” tepat pada waktunya. Adapun tujuan penyusunan skripsi ini yaitu sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pangan di Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro;
2. Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc. dan Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaga dalam membimbing dan memberikan masukan kepada penulis;
3. drh. Siti Susanti, Ph.D selaku Koordinator Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan;
4. Ulil Afidah, M.Sc. selaku dosen wali penulis;
5. Seluruh Dosen dan Staff Administrasi Program Studi Teknologi Pangan dan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah membantu penulis dalam proses belajar maupun mengurus administrasi;

6. Kedua orang tua penulis, mendiang Bapak Lundu Marnala Lumbanbatu dan Ibu Rusliana Pardosi, kedua adik laki-laki penulis Yustinus Salomo LB dan Welfried LB, kakak perempuan penulis Monica Utami Sibarani, sepupu penulis Dian Veronica Sibarani, dan segenap keluarga besar penulis yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan penuh kepada penulis hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini dengan baik;
7. Keluarga besar penulis, khususnya Bapa Uda David, Bapa Uda Franjo, Bapa Uda Angel, dan Namboru Op. Partogi, yang senantiasa menjadi pengganti mendiang ayah penulis dalam memberikan dukungan finansial dan emosional;
8. Pemerintahan Humbang Hasundutan, yang telah memberikan beasiswa sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan hingga penelitian ini selesai tanpa kekurangan;
9. Teman-teman kuliah penulis, Sofia, Joya, Hikma, Maya, Yohana, teman-teman SMANPOL, KKN, PRMK, BEM, dan masih banyak lagi yang belum disebutkan, atas segenap dukungan fisik dan mental yang sangat berharga bagi penulis;
10. Seluruh rekan-rekan mahasiswa Program Studi Teknologi Pangan yang telah memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis selama menjalani perkuliahan hingga penelitian ini selesai;
11. Terakhir untuk diri sendiri, Pande Maharani Lumbanbatu yang sudah tetap bertahan menyelesaikan penelitian dengan semangat dan pantang menyerah.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan maupun penyusunan skripsi berikut masih belum sempurna baik teknis penulisan maupun materi. Akhir kata,

penulis memohon maaf apabila dalam penulisan maupun penyusunan skripsi berikut masih terdapat kesalahan. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan pihak yang membutuhkan.

Semarang, April 2026

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR ILUSTRASI.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Geofagia	4
2.2. Ampo.....	5
2.3. Risiko Kesehatan Praktik Geofagia	7
2.4. Keamanan Pangan dan Kategorisasi Risiko.....	7
2.5. Parameter Pengujian Mikrobiologi Ampo	8
BAB III MATERI DAN METODE	16
3.1. Materi Penelitian	16
3.2. Metode Penelitian.....	18
3.3. Analisis Data	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1. Karakteristik Umum Ampo Berdasarkan Asal Daerah	28

4.2. Aktivitas Air	33
4.3. Angka Lempeng Total	37
4.4. Angka Kapang Khamir	43
4.5. <i>Most Probable Number</i> Koliform	49
4.6. Hubungan Lokasi Geografis dengan Profil Mikrobiologi	53
4.7. Analisis Tingkat Risiko Mikrobiologi dan Keamanan Pangan Produk Ampo.....	55
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	57
5.1. Simpulan	57
5.2. Saran.....	57
LAMPIRAN	59
DAFTAR PUSTAKA	75
RIWAYAT HIDUP	83

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Karakteristik Kapang dan Khamir Kontaminan Pangan	13
2. Lokasi Pengambilan Sampel.....	16
3. Deskripsi Produk Ampo di Pulau Jawa	28
4. Aktivitas Air Ampo Serut	33
5. Angka Lempeng Total Ampo Serut dari Lima Provinsi di Pulau Jawa	37
6. Angka Kapang Khamir Ampo Serut dari Lima Provinsi di Pulau Jawa	43
7. Hasil Identifikasi Dugaan Kapang dan Khamir Berdasarkan Ciri Makroskopisnya.....	46
8. MPN Koliform Ampo Serut dari Lima Provinsi di Pulau Jawa	49
9. Matriks Risiko Produk Ampo	55

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Cemilan Ampo Serut.....	6
2. Grafik Angka Lempeng Total Ampo Serut di Pulau Jawa	37
3. Gambar Perbedaan Bentuk Ampo DI. Yogyakarta dan Ampo Jawa Tengah .	41
4. Grafik Angka Kapang Khamir Ampo Serut di Pulau Jawa.....	43
5. Grafik <i>Most Probable Number</i> Koliform Ampo Serut di Pulau Jawa	49
6. Heatmap Korelasi <i>Pearson</i> Lokasi Provinsi dengan Profil Mikrobiologi Produk Ampo	53

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Data Hasil Pengujian Aktivitas Air Ampo Serut.....	59
2. Data Hasil Pengujian Angka Lempeng Total Ampo Serut.....	60
3. Data Hasil Pengujian Angka Kapang Khamir Ampo Serut	61
4. Data Hasil Pengujian <i>Most Probable Number</i> Koliform Ampo Serut.....	62
5. Data Perhitungan Koloni Mikroba Setiap Cawan ALT.....	63
6. Data Perhitungan Koloni Kapang Khamir Setiap Cawan AKK	64
7. Data Perhitungan <i>Most Probable Number</i> Koliform	65
8. <i>Output</i> SPSS ANOVA Aktivitas Air Ampo Serut	67
9. <i>Output</i> SPSS ANOVA Angka Lempeng Total Ampo Serut	68
10. <i>Output</i> SPSS ANOVA Angka Kapang Khamir Ampo Serut.....	69
11. <i>Output</i> SPSS ANOVA MPN Koliform Ampo Serut	70
12. <i>Output</i> SPSS Korelasi Pearson Lokasi Geografis dengan Aktivitas Air dan Kualitas Mikrobiologi Produk Ampo.....	71
13. Dokumentasi Cawan ALT yang Dihitung	72
14. Dokumentasi Cawan AKK yang Dihitung.....	73
15. Dokumentasi Ampo Serut dari 5 Provinsi di Pulau Jawa	74
16. Dokumentasi Pelaksanaan Penelitian	74

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ampo merupakan salah satu bentuk produk dari fenomena geofagia, yaitu praktik konsumsi tanah yang disengaja. Produk ini dibuat dari tanah atau lempung murni dari tanah persawahan yang sudah bersih dari kerikil, pasir atau partikel lainnya, serta dipastikan berasal dari tanah galian yang dalam dengan kualitas tertentu, yaitu jauh dari aktivitas aktif manusia maupun hewan (Viunita dan Husain, 2023). Pembuatan ampo dilakukan dengan cara memadatkan tanah liat, kemudian diserut membentuk stik, dan dipanaskan dengan pengasapan (Jamaluddin, 2017). Praktik memakan tanah banyak ditemukan diberbagai sejarah dan kebudayaan manusia di berbagai negara, termasuk Indonesia di beberapa wilayah di Pulau Jawa, seperti Jawa Tengah, Jawa Timur, Jawa Barat, DI. Yogyakarta, dan DKI Jakarta. Konsumsi tanah atau ampo secara tradisional dipercaya memiliki manfaat mengurangi rasa mual, meningkatkan daya tahan tubuh, meskipun belum sepenuhnya dibuktikan secara ilmiah (Bonglaisin *et al.*, 2022).

Geofagia sudah menjadi fenomena yang banyak dijumpai di berbagai lapisan budaya, terutama di kalangan wanita hamil dan juga oleh wanita tidak hamil, anak-anak, hingga pria (Huebl *et al.*, 2016). Secara tradisional, geofagia dipercaya dapat meredakan mual (*morning sickness*), gangguan pencernaan, menjadi sumber mineral atau zat mikro tertentu, hingga berfungsi sebagai

detoksifikasi alami karena sifat protektif tanah liat (Madziva *et al.*, 2024). Sebaliknya dari sudut pandang ilmiah, praktik ini juga menyimpan risiko kesehatan yang signifikan. Sejumlah studi menunjukkan bahaya kontaminasi dari tanah, terutama kandungan spora bakteri seperti *Bacillus* sp. dan *Clostridium* sp. yang mampu bertahan hidup dalam kondisi kering meskipun tanah sudah melewati proses pengasapan (Rorong dan Wilar, 2020). Keamanan produk ampo sangat ditentukan oleh jenis tanah dan cara produksi untuk mengontrol kualitas fisik produk seperti kandungan air dan keberadaan serta perkembangan mikroba patogen berbahaya (Maulana *et al.*, 2019). Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa tanah yang dikonsumsi dapat mengandung spora *Bacillus* sp. (4.900 - 13.475 koloni/gram) dan *Clostridium* (5.050 - 9.050 koloni/gram), yang berpotensi menyebabkan infeksi dan gangguan kesehatan konsumen (Lakudzala dan Khonje, 2011).

Meskipun geofagia di Indonesia mengalami penurunan karena kemajuan zaman, sebagian kecil masyarakat masih melakukannya karena alasan kepercayaan, kesehatan, serta kebutuhan ritual tradisional (Viunita dan Husain, 2023). Timbul ironi karena di satu sisi ampo dipercaya bermanfaat, namun di sisi lain bahan dasar yang digunakan berpotensi membahayakan kesehatan manusia. Beberapa peneliti terdahulu telah menguji karakteristik ampo di Indonesia, baik secara mineralogi dan sifat kimia di Purwodadi dan Boyolali (Mahaney *et al.*, 2000), nutrisi dari ampo bagi ibu hamil dan dampaknya (Maulana *et al.*, 2019), dan aspek mikrobiologi di Jablang yang menghasilkan ALT di atas ambang batas keamanan pangan (Martsa, 2023). Namun, penelitian mendalam mengenai parameter profil mikrobiologi ampo untuk menilai keamanannya dengan cakupan daerah yang lebih luas di Indonesia

masih sangat terbatas dan umumnya hanya berfokus pada lokasi yang spesifik. Oleh karena itu, guna memberikan gambaran untuk menjembatani kesenjangan antara kepercayaan tradisional dan potensi risiko ilmiah khususnya profil mikrobiologi ampo yang lebih komprehensif bagi Indonesia, penelitian ini dilakukan dengan memperluas cakupan analisis pada sampel ampo yang berasal dari 20 daerah berbeda di 5 provinsi.

1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji profil mikrobiologi produk ampo serut yang berasal dari 20 daerah sampling yang tersebar di 5 provinsi di Pulau Jawa. Hal ini dilakukan untuk mengevaluasi tingkat keamanan pangan serta memetakan potensi risiko kontaminasi mikroba patogen pada produk geofagia tersebut. Melalui pendekatan ini, penelitian diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan berupa basis data ilmiah yang komprehensif dan representatif mengenai profil mikrobiologi ampo di Indonesia, yang nantinya dapat menjadi referensi dalam kajian keamanan pangan nasional serta jembatan antara praktik budaya tradisional dengan standar kesehatan ilmiah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Geofagia

Geofagia adalah praktik mengonsumsi tanah atau substansi serupa tanah seperti tanah liat (lempung) secara disengaja. Praktik ini telah dikenal sejak zaman prasejarah dan terdokumentasi di berbagai belahan dunia, termasuk di negara-negara Afrika, Eropa, dan Asia. Bukti sejarah menyebutkan bahwa kebiasaan ini telah ada sejak 2.500 SM, tercatat dalam *Tablets of Nippur* yang menggambarkan khasiat penyembuhan dari konsumsi tanah (Woywodt dan Kiss, 2002; Ferrell, 2008). Geofagia pada manusia atau disebut juga *pica*, dilatarbelakangi oleh berbagai motif, termasuk budaya turun temurun, keinginan pribadi, dan pengobatan tradisional sebagai alasan kesehatan (Young *et al.*, 2011). Tanah yang dikonsumsi diambil dari lapisan dalam tanah dengan beberapa ketentuan untuk meminimalkan kontaminasi permukaan (Viunita dan Husain, 2023).

Di Afrika, praktik geofagia pada manusia diduga berhubungan dengan pengamatan terhadap kebiasaan hewan liar yang memakan tanah untuk detoksifikasi sistem pencernaannya (Macheke *et al.*, 2016). Sementara di Amerika pada era kolonial hingga abad ke-20, geofagia dilakukan untuk pengobatan penyakit lambung yang diakibatkan infeksi cacing tambang (Abrahams, 2010). Kemunculan praktik geofagia di Indonesia adalah bentuk adaptasi krisis pangan pada masa kolonial (Anisya, 2023). Produk berbasis tanah di Indonesia adalah

ampo, stik yang dibuat dari tanah liat murni dengan melewati proses pengasapan. Ampo banyak dijumpai di wilayah Jawa seperti Tuban, Grobogan, Yogyakarta, Jakarta dan Indramayu dan daerah lain, yang dipercaya memiliki manfaat bagi pencernaan serta kesehatan ibu hamil (Jamaluddin, 2017; Maulana *et al.*, 2019; Viunita dan Husain, 2023).

2.2. Ampo

Ampo adalah produk pangan unik berbahan dasar tanah liat yang dikonsumsi di Indonesia dan termasuk dalam praktik geofagia. Produk ini dibuat dari tanah liat murni yang dikumpulkan dari lapisan tanah yang telah dipilih berdasarkan tingkat kebersihan serta bebas dari kerikil dan kotoran permukaan (Viunita dan Husain, 2023). Pemilihan bahan baku cenderung mengutamakan area dengan aktivitas manusia dan hewan ternak yang terbatas, seperti wilayah pegunungan, persawahan organik, dan perkebunan dominasi vegetasi. Proses pembuatannya mencerminkan kearifan lokal masyarakat Jawa dalam mengolah sumber daya alam, di mana tanah liat dipadatkan hingga membentuk balok keras dan padat, kemudian akan diserut membentuk stik gulungan tipis (seperti pada Ilustrasi 1) menggunakan bambu runcing, kemudian dilakukan pemasakan dengan cara pengasapan selama kurang lebih 4 jam hingga kering dan berwarna hitam/coklat merata (Maulana *et al.*, 2019).



Ilustrasi 1. Cemilan Ampo Serut

(Sumber: Rofiq, 2025)

Sebagai cemilan tradisional bagi orang Jawa, konsumsi ampo sangat dipengaruhi oleh faktor budaya, sosial, dan kepercayaan akan kesehatan. Meskipun saat ini, ampo sudah jarang untuk dikonsumsi atau ditemukan, namun beberapa komunitas tetap mengonsumsi tanah dan mempertahankannya sebagai kebiasaan turun-temurun yang sarat akan filosofi kedekatan manusia dengan bumi. Secara tradisional, ampo dikonsumsi sebagai makanan ringan atau obat herbal alami untuk mengatasi mual, diare, dan gatal-gatal (Jamaluddin, 2017). Pada kalangan wanita hamil, konsumsi ini dianggap sebagai bagian dari kearifan etnomedisin untuk mendukung kesehatan janin dan mengurangi rasa mual (Viunita dan Husain, 2023). Kini ampo lebih banyak digunakan sebagai bahan tambahan dalam mengurangi rasa pahit dalam pengolahan daun pepaya (Pratiwi, 2017). Secara nutrisi, konsumsi tanah ini diduga memberikan pasokan mikronutrien berupa mineral penting, seperti zat besi dan kalsium (Siewe dan Diko, 2013; Madziva *et al.*, 2024).

2.3. Risiko Kesehatan Praktik Geofagia

Konsumsi tanah, terutama tanah permukaan yang rentan terkontaminasi kotoran, timbal, arsenik, merkuri, serta risiko terjadinya stunting, anemia akibat kehilangan darah kronis, gangguan perkembangan janin, beresiko tinggi menyebabkan infeksi cacing (*geohelminth*) seperti *Ascaris lumbricoides* dan *Trichuris trichiura*, dan keberadaan spora bakteri yang dapat menyebabkan berbagai risiko penyakit (Kutalek *et al.*, 2010; Adehossi *et al.*, 2016; Frazzoli *et al.*, 2016; Ivoke *et al.*, 2017; Madziva *et al.*, 2024). Keberadaan bakteri Koliform, sebagai bagian dari bakteri indikator feses, terdeteksi sangat tinggi terutama pada tanah di lingkungan yang terkontaminasi fekal, terdampak pembuangan limbah sembarangan, dan praktik defekasi terbuka (Capone *et al.*, 2021). Risiko-risiko tersebut menjadi perhatian khusus untuk konsumen ampo atau tanah sejenis. Tingginya risiko infeksi ini berkaitan erat dengan profil mikrobiologi tanah sebagai bahan baku utama, yang dalam konteks keamanan pangan memerlukan kategorisasi risiko yang lebih spesifik untuk menentukan kelayakan konsumsinya.

2.4. Keamanan Pangan dan Kategorisasi Risiko

Keamanan pangan menurut UU RI No. 18 Tahun 2012 tentang pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga aman untuk dikonsumsi. Terdapat empat (4) masalah utama keamanan pangan yaitu cemaran mikroba karena

rendahnya higienitas dan sanitasi, cemaran kimia, penyalahgunaan bahan berbahaya pada pangan, serta penggunaan bahan tambahan berlebihan (Njatrijani, 2021). Dalam konteks ampo dan geofagia, isu keamanan pangan menjadi perdebatan utama, di mana di satu sisi terdapat persepsi manfaat secara tradisional, namun di sisi lain terdapat potensi risiko kesehatan yang serius karena tidak ada jaminan dan standar keamanan pangan terkait ampo (Madziva *et al.*, 2024).

Kategorisasi Risiko mikrobiologi dalam pangan menjadi instrumen krusial untuk mengevaluasi potensi bahaya tersebut melalui analisis keterlampauan ambang batas regulasi. Menurut ICSMF (*International Commission on Microbiological Specifications for Foods*), penentuan tingkat risiko didasarkan pada matriks yang menggabungkan tingkat keparahan (*severity*) dengan probabilitas paparan konsumen (*likelihood*). Parameter indikator seperti angka lempeng total dan angka kapang khamir mencerminkan kualitas sanitasi proses produksi, sementara keberadaan bakteri enterik seperti koliform memberikan sinyal risiko infeksi saluran pencernaan yang nyata. Merujuk pada Peraturan BPOM No. 3 Tahun 2026, suatu produk diklasifikasikan sebagai pangan berisiko tinggi dan tidak layak konsumsi apabila profil mikrobiologinya secara konsisten melampaui batas maksimum, yang mengindikasikan kegagalan mitigasi cemaran biologis yang berpotensi memicu penyakit bawaan pangan (*foodborne diseases*).

2.5. Parameter Pengujian Mikrobiologi Ampo

Untuk mengkaji keamanan pangan ampo serut beberapa parameter akan dianalisis, yaitu profil mikrobiologi yaitu angka lempeng total, angka kapang

khamir, dan *most probable number* koliform, serta faktor intrinsik yang berpengaruh seperti aktivitas air pada produk ampo.

2.5.1. Aktivitas Air (a_w)

Parameter aktivitas air (a_w) menghitung perbandingan antara tekanan uap larutan dengan tekanan uap air solven murni pada temperatur yang sama (Leviana dan Paramita, 2017). Di mana jika aktivitas air dinilai dengan rentang nilai dari 0 (kering total) hingga 1,0 (air murni), yang berarti sebagai ukuran ketersediaan air “bebas” dalam suatu bahan yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan menunjang reaksi biokimiawi (Sarifudin *et al.*, 2015).

Setiap mikroorganisme memiliki batas a_w minimum untuk mampu tumbuh. Sebagian besar bakteri patogen memerlukan $a_w > 0,86$ (Liani, 2018), sedangkan mayoritas kapang dan khamir pertumbuhannya sekitar di 0,61 dengan batas bawah untuk pertumbuhan jamur mikotoksigenik pada a_w 0,78 (Fontana, 2000). Pengendalian a_w pada makanan menjadi faktor penting atau *critical control point* (CCP) dalam umur simpan dan keamanan produk (Sarifudin *et al.*, 2015). Oleh karena itu, analisis a_w pada ampo menjadi parameter yang perlu dilakukan untuk memvalidasi apakah produk ampo yang merupakan hasil pengeringan melalui pengasapan/pemanasan tersebut secara inheren bersifat mikrobiostatik atau mampu menghambat pertumbuhan mikroba, terlepas dari potensi kontaminasi pada bahan baku tanah liatnya.

2.5.2. Angka Lempeng Total (ALT)

Analisis profil mikrobiologi penting untuk mengetahui tingkat sanitasi dan potensi adanya mikroba berbahaya. Profil mikrobiologi yang pertama adalah angka lempeng total (ALT), yang digunakan untuk menentukan kualitas mikrobiologi produk ampo. ALT adalah salah satu metode yang digunakan untuk menghitung jumlah koloni bakteri pada sebuah sampel yang telah ditanam pada media agar dan dapat dilihat langsung tanpa mikroskop (Puspitaningrum *et al.*, 2017; Nurmasytha *et al.*, 2021). ALT tidak memberikan informasi jenis mikroba tertentu yang terdapat di sampel, karena metode ini menghitung semua sel yang dapat tumbuh dalam kondisi tertentu, tanpa mengidentifikasi spesies atau strainnya (Nakao, 2014). Produk makanan dapat dikategorikan aman jika total kononi bakteri (angka lempeng total) tidak melebihi 1×10^5 *coloni forming unit* per mL (CFU/mL) (SNI 2973, 2018).

Angka lempeng total pada tanah terdiri dari banyak mikroba, termasuk bakteri yang bisa menjadi antibiotik, dan juga bakteri patogen yang berbahaya bila dikonsumsi manusia (Bisi-Johnson *et al.*, 2010). Contoh bakteri patogen yang terdapat di tanah adalah *Pseudomonas aeruginosa* sp., *Bacillus* sp., *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens* dan *Clostridium botulisme* (Bisi-Johnson *et al.*, 2010; Lakudzala dan Khonje, 2011; Chen *et al.*, 2025). ALT dipengaruhi beberapa faktor seperti yaitu jenis dan asal bahan, a_w , pH, cara pengolahan (penggunaan suhu tinggi dan waktu terkontrol) hingga penyimpanan, dan higienitas (Sulastri *et al.*, 2022; Ginting *et al.*, 2024).

2.5.3. Angka Kapang Khamir (AKK)

Analisis profil mikrobiologi berikutnya adalah angka kapang khamir (AKK) yang dilakukan untuk menjamin bahwa sediaan seperti ampo tidak mengandung jamur dari batas yang telah ditetapkan terhadap keamanan konsumsi produk tersebut. Angka kapang khamir (AKK) merupakan parameter mikrobiologi yang digunakan untuk mengukur jumlah koloni kapang dan khamir yang tumbuh dalam suatu sampel pangan. Prinsip uji AKK dilakukan dengan menumbuhkan mikroorganisme tersebut pada media yang sesuai, seperti PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang mengandung karbohidrat, *dextrose*, dan agar untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme (Octavia dan Wantini, 2017). Kapang bersifat aerobik dan membutuhkan oksigen, sedangkan khamir bersifat fakultatif anaerob (Snyder *et al.*, 2019). Pengujian AKK biasanya dilakukan dengan menginkubasi sampel selama 5-7 hari pada suhu 25°C, dan hasilnya mencerminkan tingkat cemaran mikroba dari bahan pangan yang diuji (Tallo dan Pani, 2023). Batas maksimum cemaran kapang dan khamir yang diperbolehkan dalam produk makanan adalah 10^2 koloni/gram (Per BPOM No. 13, 2019).

Kapang dan khamir merupakan bagian dari kingdom Fungi, yang memiliki kemampuan untuk tumbuh pada rentang aktivitas air (a_w) yang lebih luas dibanding bakteri, sehingga menjadi agen perusak utama dalam makanan kering (Cousin, 2014). Pertumbuhan kapang dan khamir dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu a_w , konsentrasi pH, cara dan suhu pengolahan hingga penyimpanan, tekanan gas O_2 dan CO_2 , konsistensi bahan, status nutrient, jenis dan asal bahan, struktur pori

produk, dan higienitas (Pitt dan Hocking, 1997; Bisi-Johnson *et al.*, 2010; Ibrahim *et al.*, 2015).

Dalam konteks ampo yang berbahan dasar tanah, risiko kontaminasi menjadi signifikan, dimana tanah merupakan habitat alami kapang dan khamir. Produk geofagia umumnya terkontaminasi oleh genus *Penicillium* spp. dan *Aspergillus* spp., termasuk *Aspergillus flavus* yang dikenal berpotensi menghasilkan mikotoksin (Kutalek *et al.*, 2010). Mikotoksin yang dihasilkan mengandung senyawa beracun, bersifat karsinogenik, teratogenik, dan mutagenik berbahaya bagi kesehatan manusia (Al Asna, 2016; Mahardhika *et al.*, 2022). Tabel 1 menampilkan identifikasi genus kapang dan khamir yang umum ditemukan di pangan, dilakukan secara makroskopis dengan mengacu buku Pitt dan Hocking (1997) serta didukung beberapa hasil penelitian terdahulu.

Tabel 1. Karakteristik Kapang dan Khamir Kontaminan Pangan

Genus	Ciri Koloni (Makroskopis)	Ciri Mikroskopis	Karakter Ekologi
<i>Rhizopus</i> sp.	Pertumbuhan sangat cepat, koloni tinggi menutupi media. Warna: putih, abu-abu kehitaman Tekstur: <i>fluffy</i> (berbulu)	Sporangiofor dengan sporangium dan rhizoid	Memerlukan a_w tinggi, khas substrat lembab.
<i>Mucor</i> sp.	Pertumbuhan cepat, koloni lebih rendah dari <i>Rhizopus</i> . Warna: putih hingga abu-abu Tekstur: <i>cottony</i>	Sporangium tanpa rhizoid	Memerlukan a_w tinggi, kondisi lembab.
<i>Penicillium</i> sp.	Koloni menyebar, relatif datar. Warna: hijau kebiruan Tekstur: <i>velvety</i> (beludru)	Konidiofor bercabang membentuk penicillus	Tumbuh pada a_w sedang-rendah, toleran suhu rendah.
<i>Aspergillus</i> sp.	Koloni granular, pertumbuhan cepat Warna: hijau, kuning, hitam Tekstur: <i>powdery</i>	Konidiofor dengan vesikel dan fialid	Xerotoleran hingga xerofilik
<i>Candida</i> sp.	Koloni halus, licin, menyerupai ragi Warna: putih krem Tekstur: <i>smooth</i> (halus)	Sel oval, bertunas (<i>budding</i>), tanpa hifa sejati	Memerlukan a_w tinggi, lingkungan kaya nutrient.

Sumber: disusun berdasarkan Pitt dan Hocking, (1997) dan didukung oleh Bouza *et al.* (2006), Fathoni *et al.* (2017), A'yun dan Janah (2022), Mahardhika *et al.* (2022), dan Pamnani *et al.* (2022).

2.5.4. *Most Probable Number* (MPN) Koliform

Keberadaan koliform merupakan pengujian yang penting dilakukan dalam keamanan pangan ampo. Koliform merupakan bakteri indikator utama kontaminasi feces (kotoran manusia atau hewan) dan tingkat sanitasi pada produksi pangan yang tidak baik (Uliyanti dan Filemon, 2024). Bakteri koliform terdiri dari *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, dan

Serratia liquefaciens (Tominaga, 2019; Kuo *et al.*, 2021). Salah satu jenis koliform adalah *Escherichia coli* yang merupakan bakteri enterik yang dapat bertahan dalam saluran pencernaan dan menjadi flora natural pada usus manusia, berbentuk batang gram negatif, fakultatif anaerob, dan tidak membentuk spora, umumnya banyak ditemukan di tanah (Amelia *et al.*, 2025). Jika suatu pangan terkandung koliform, maka konsumen yang mengonsumsinya akan terdampak gejala diare akut hingga berdarah atau gangguan saluran pencernaan (Romadhon, 2016). Dalam konteks pangan tradisional seperti ampo, perlu dilakukan penelitian lanjut terhadap kandungan mikroorganisme seperti bakteri gram negatif, koliform untuk mengindikasikan kelayakan dan keamanan ampo untuk dimakan, terkhusus anak-anak dan ibu hamil.

Metode pengujian yang digunakan untuk mengetahui keberadaan koliform dalam penelitian ini adalah metode *Most Probable Number* (MPN). MPN merupakan metode enumerasi mikroorganisme dilihat dari hasil pertumbuhan mikroorganisme pada medium cair spesifik dalam seri tabung yang ditanam dari sampel cair maupun padat, kemudian dihasilkan jumlah mikroorganisme perkiraan terdekat (Harti, 2015). Metode ini terdiri dari 3 tahapan: uji presumtif (penduga), uji konfirmasi (peneguhan) dan uji pelengkap. Tahapan analisis mencakup pengenceran sampel, inkubasi pada media cair dengan kaya laktosa, serta pengamatan gas hasil aktivitas fermentasi bakteri guna menghitung jumlah bakteri dengan pendekatan tabel statistik MPN (Jiwintarum *et al.*, 2017). Tabung dengan penampangan gas pada tabung durham dan media berubah keruh diindikasikan

sebagai tabung positif yang dianggap positif untuk perhitungan MPN (Kuo *et al.*, 2021; Safitri dan Pratami, 2023).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada Juli - Desember 2025 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian yang dilakukan yaitu preparasi sampel, pengujian mikrobiologi dan aktivitas air pada ampo.

3.1. Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel uji ampo dari 5 provinsi di pulau Jawa yaitu, ampo dari Jawa Tengah, DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Timur, dan DI. Yogyakarta dengan kondisi baik, penyimpanan di tempat yang kering dan kedap udara. Penjelasan lokasi pengambilan sampel secara rinci dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Lokasi Pengambilan Sampel

Provinsi	Daerah	Nama Toko Penjual	Jumlah Sampel
Jawa Tengah	Boyolali	Nastri	1
	Sragen	Nifar	1
	Grobogan	Harwena	1
	Solo	Sumber.waras76	1
DKI Jakarta	Jakarta Pusat	Parluasan store	1
	Jakarta Utara	Baput04	1
	Jakarta Barat	DKJN Shop	1
	Jakarta Timur	Shopsans	1
Jawa Barat	Indramayu	Gumostore	1
	Cirebon	Bee Grow	1

Provinsi	Daerah	Nama Toko Penjual	Jumlah Sampel
Jawa Timur	Bogor	Bugar badanku	1
	Bekasi	Sukses gibran	1
	Tuban	B adhi	1
	Semanding	Sumber rejeki petani	1
	Blitar	Novyas	1
DI. Yogyakarta	Tulung Agung	Helycon	1
	Sleman	Walexia	1
	Bantul	Kusuma	1
	Kotagede	Toko jamu berkah	1
	Kota Yogyakarta	Toko jamu sukses	1
Total			20

Bahan-bahan uji yang digunakan adalah *Plate Count Agar* (PCA) (Merck, Germany), natrium klorida (NaCl) fisiologis 0,85% (Merck, Germany), *Potato Dextrose Agar* (PDA) (HiMedia, India), kloramfenikol (Sanbe farma, Indonesia), akuades steril, *Lauryl Sulfate Triptose Broth* (LSTB) (Mebep Bioscience, China), *Escherichia Coli Broth* (ECB) (Merck, Germany), *Eosyn Methylen Blue Agar* (EMBA) (Mebep Bioscience, China) dan etanol 70% (Onemed, Indonesia).

Penggunaan peralatan pada penelitian ini yakni timbangan analitik (Shimadzu, Japan), a_w meter (Novasina, Switzerland), mikro pipet (Dragonlab, China), cawan petri (Anumbra, Ceko), *hot plate magnetic stirrer* (Ika, Germany), labu ukur (Herma, China), lampu spiritus kaca, *laminar air flow* (LAF) (Airtech, Taiwan), inkubator (Memmert, Germany), tabung reaksi (Herma, China), grinder (Masindo, Indonesia) tabung ulir, labu erlenmeyer, *aluminum foil*, plastik wrap, tabung durham, vortex (Thermolyne, USA), autoklaf (Hirayama, Japan), pipet ukur (Precicolor, Germany), termometer batang, jarum ose, cup plastik, alat tulis, dan laptop untuk analisis hasil uji.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian ini terdiri dari rancangan penelitian, hipotesis, prosedur penelitian, pengujian parameter, dan analisis data yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian. Urutan metode penelitian diuraikan secara ringkas sebagai berikut.

3.2.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan satu faktor perlakuan utama, yaitu provinsi asal sampel ampo, serta daerah sebagai variabel blok untuk mengendalikan bias akibat perbedaan kondisi produksi maupun lingkungan. Justifikasi homogenitas sampel didasarkan pada kesamaan sumber bahan baku tanah dan praktik pengolahan di dalam satu wilayah geofisika yang berdekatan. Sebanyak 20 sampel diperoleh dari 5 provinsi di Pulau Jawa, yaitu Jawa Tengah, DKI Jakarta, Jawa Barat, Jawa Timur, dan DI. Yogyakarta melalui metode *purposive sampling*. Pemilihan lima provinsi sampel di Pulau Jawa didasarkan pada pertimbangan bahwa wilayah tersebut merupakan sentra utama persebaran konsumen dan produsen ampo secara tradisional. Secara geografis, Pulau Jawa memiliki karakteristik tanah lempung yang luas digunakan dalam praktik geofagia, sehingga pemilihan lokasi ini diharapkan dapat merepresentasikan variasi profil mikrobiologi ampo yang beredar di pasar tradisional Indonesia.

Pengambilan sampel dilakukan pada kriteria bahwa sampel berasal dari toko atau produsen yang secara rutin menjual ampo, produk disimpan dalam kondisi kering dalam kemasan utuh, serta penjual bersedia memberikan sampel untuk

diobservasi dan informasi terkait proses pengolahan. Hal ini dilakukan untuk meminimalisir bias yang disebabkan oleh sampel sisa (stok lama) atau sampel yang terkontaminasi secara tidak disengaja di luar proses produksi utama. Seluruh sampel diuji secara laboratoris untuk mengukur parameter keamanan pangan dan karakteristik fisikokimia, yang meliputi ALT, AKK, MPN Koliform, dan aktivitas air (a_w).

Model matematis yang digunakan dalam rancangan percobaan penelitian ini adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

Dimana:

- Y_{ij} = hasil pengamatan pada perlakuan ke-i (P_1, P_2, P_3, P_4, P_5)
dan kelompok ke-j (1, 2, 3,4)
- μ = nilai umum rata-rata hasil pengamatan perlakuan
- τ_i = pengaruh perlakuan (provinsi ke-i)
- β_j = pengaruh kelompok (daerah ke-j)
- ϵ_{ij} = pengaruh komponen galat (*error*) pada perlakuan ke-i (P_1, P_2, P_3, P_4, P_5) dan blok ke-j (1, 2, 3,4)

3.2.2. Hipotesis

Hipotesis empiris yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

H0: tidak terdapat pengaruh perbedaan yang signifikan pada profil mikrobiologi dan aktivitas air pada produk ampo yang berasal dari lima provinsi.

H1: sekurang-kurangnya terdapat satu pengaruh perbedaan pada minimal salah satu parameter keamanan pangan (profil mikrobiologi atau aktivitas air) pada ampo yang berasal dari dua puluh lokasi di lima provinsi.

Secara statistik, hipotesis empiris tersebut dapat dijabarkan sebagai berikut:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$$

H1: $\mu_1 \neq \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$, sekurang-kurangnya terdapat satu pengaruh perbedaan pada minimal salah satu parameter keamanan pangan (profil mikrobiologi atau aktivitas air) pada ampo yang berasal dari lima provinsi.

Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

$\text{Sig} \geq \alpha (0,05)$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak

$\text{Sig} < \alpha (0,05)$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

3.2.3. Prosedur Penelitian

Penelitian diawali dengan pengumpulan sampel ampo dari 20 daerah di lima provinsi berbeda di Pulau Jawa, lihat Tabel 2. Sampel di tempatkan pada kemasan kedap udara dengan kondisi kering di suhu ruang sebelum ke tahap preparasi dan pengujian.

a. Preparasi sampel

Sampel ampo yang akan digunakan dalam pengujian dihaluskan menggunakan grinder hingga membentuk bubuk kering, kemudian di simpan pada cup plastik kering yang kedap udara sesuai jumlah yang dibutuhkan untuk setiap pengujian. Cup berisi sampel diletakkan di kotak penyimpanan dengan kondisi gelap/ tidak terkena sinar matahari langsung, dan suhu ruang normal tidak lembab

ataupun terlalu panas. Sampel kering untuk uji mikrobiologi kemudian dilarutkan pada NaCl fisiologis 0,85%. Larutan NaCl fisiologis 0,85% dibuat dengan mencampurkan bubuk NaCl sebanyak 8,5 g ke 1000 mL akuades kemudian di sterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C, dan didinginkan sebelum dimasukkan sampel. Perbandingan pengenceran adalah 1:10 (b/v) yaitu 25 g bubuk ampo dicampurkan dengan 225 mL NaCl fisiologis 0,85% menggunakan vortex selama 1 menit untuk setiap sampel per parameter uji.

b. Preparasi Pengujian Mikrobiologi

Pembuatan media untuk uji ALT dimulai dari menimbang *plate count agar* (PCA) sebanyak 22,5 gram, kemudian dilarutkan dengan akuades 1000 mL. Larutan PCA di aduk menggunakan *hot plate stirrer* dan disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Sebelum digunakan sebagai media penumbuhan bakteri, media didinginkan hingga suhu 45-50°C. Sedangkan pembuatan media untuk uji AKK yaitu menggunakan *potato dextrose agar* (PDA) sebanyak 39 g dalam 1000 mL akuades, dilarutkan dengan *hot plate stirrer* dan di sterilisasi dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C. Media PDA yang sudah steril didinginkan secara aseptis sampai mencapai suhu 40-50°C, kemudian ditambahkan kloramfenikol sebanyak 1 mL dan diaduk.

Pada uji MPN *Coliform*, media yang digunakan ada 3 jenis, yaitu media *Lauryl Sulfate Triptose Broth* (LSTB), *Escherichia Coli Broth* (ECB), dan *Eosyn Methylen Blue Agar* (EMBA). Masing-masing media dilarutkan dalam 3 wadah berbeda, LSTB (35,6 g/L), ECB (37 g/L), dan EMBA (37,5 g/L) ke dalam akuades

menggunakan *hot plate stirrer*. Seluruh media kemudian disterilisasi dengan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C dan dibiarkan hingga dingin secara aseptis.

3.2.4. Pengujian Parameter

a. Aktivitas Air (a_w)

Pengujian a_w dalam sampel ampo berikut dilakukan dengan mengacu pada penelitian (Ardiansyah *et al.*, 2019). Metode pengujian aktivitas air (a_w) pada sampel ampo dilakukan menggunakan a_w meter dengan prosedur instrumental. Sebelumnya, alat harus sudah dikalibrasi baru bisa digunakan untuk pengujian. Diawali dengan menyalakan alat dan membiarkannya melewati fase pemanasan (*warm-up*) hingga sensor internal mencapai kondisi stabil. Sampel ampo bubuk dimasukkan secukupnya ke dalam wadah sampel (*sample cup*) yang bersih hingga menutupi dasar wadah secara merata. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam ruang ukur alat dan penutupnya ditutup rapat untuk memulai proses analisis secara otomatis. Alat akan mengukur kesetimbangan kelembaban relatif antara sampel dengan udara di dalam ruang ukur hingga mencapai titik ekuilibrium. Proses ini ditunggu hingga selesai yang umumnya ditandai dengan notifikasi atau bunyi alarm, dan nilai akhir aktivitas air (a_w) akan ditampilkan secara digital pada layar instrument.

b. Angka Lempeng Total (ALT)

Pengujian ALT dalam sampel ampo berikut dilakukan dengan mengacu pada SNI-2897-2008 (Badan Standardisasi Nasional, 2008) dengan sedikit modifikasi. Metode uji Angka Lempeng Total (ALT) diawali dengan mempersiapkan sampel ampo yang telah dipreparasi dan memperoleh pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, dilakukan pengenceran berjenjang dengan cara memindahkan 1 mL suspensi ke dalam 9 mL larutan NaCl fisiologis 0,85% steril untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} , dilanjutkan sampai dengan pengenceran 10^{-8} . Sebanyak 1 mL dari masing-masing pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri secara duplo, kemudian ditambahkan 15–20 mL media PCA yang telah didinginkan hingga suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Setelah itu, dilakukan pemutaran cawan ke depan dan belakang membentuk angka delapan agar larutan tercampur merata, lalu dibiarkan hingga memadat. Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 hingga 48 jam dalam posisi terbalik. Hasil akhir berupa jumlah koloni bakteri aerob mesofilik yang tumbuh, yang digunakan untuk menentukan tingkat kontaminasi mikrobiologi dalam sampel.

Catat pertumbuhan koloni pada setiap cawan petri yang mengandung 25 koloni- 250 koloni setelah 48 jam. Rumus perhitungan total bakteri:

$$N \text{ (CFU/g)} = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \cdot n_2)] \times d}$$

Dengan:

N : Jumlah koloni produk, dinyatakan dalam CFU/g

$\sum C$: Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 : Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n_2 : Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d : Pengenceran dari cawan pertama yang dihitung

c. Angka Kapang Khamir (AKK)

Pengujian AKK dalam sampel ampo berikut dilakukan dengan mengacu pada SNI 2332 (2015) dengan modifikasi pada penggunaan media PDA. 1 mL sampel ampo yang telah dilarutkan menjadi pengenceran 10^{-1} diambil dan dimasukkan ke dalam tabung berisi 9 mL NaCl fisiologis 0,85%, lalu dikocok hingga homogen untuk menghasilkan pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilanjutkan hingga 10^{-5} sesuai kebutuhan. Sebanyak 0,5 mL dari masing-masing pengenceran dituang ke permukaan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang mengandung kloramfenikol, kemudian digoyang merata, dan dilakukan duplo. Uji blanko dilakukan untuk memastikan sterilitas media dan pengencer. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 20-25 °C dan diamati pada hari ke-3 hingga ke-5. Koloni kapang tampak berbentuk kapas atau bulat dengan tekstur kasar dan warna bervariasi, sedangkan koloni khamir berbentuk bulat kecil, putih, menyerupai bakteri.

Pengamatan hasil dilakukan dengan memilih cawan dari pengenceran yang menghasilkan koloni antara 10-150, dihitung menggunakan rumus berikut:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Dengan:

N : Jumlah koloni produk, dinyatakan dalam CFU/g

$\sum c$: Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

- n_1 : Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
- n_2 : Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
- d : Pengenceran pertama yang dihitung

d. Most Probable Number (MPN) Koliform

Pengujian MPN koliform dalam sampel ampo berikut dilakukan dengan mengacu pada pedoman BAM FDA (Feng *et al.*, 2020) dan SNI 2897:2008 (Badan Standardisasi Nasional, 2008) dengan beberapa modifikasi pada jenis media yang digunakan. Siapkan 2 tabung reaksi (Tabung B dan Tabung C) masing-masing 9 mL NaCl fisiologis 0,85%, kemudian 1 mL dari pengenceran 10^{-1} ditambahkan pada tabung B yang menjadi pengenceran 10^{-2} dan dilanjut hingga tabung C menjadi pengenceran 10^{-3} . Uji terdiri dari tiga tahap, yaitu uji presumtif, uji konfirmasi, dan uji pelengkap. Pada tahap presumtif, masing-masing pengenceran diinokulasikan ke dalam tiga tabung reaksi berisi medium LSTB (*Lauryl Sulfate Tryptose Broth*) dan tabung durham, masing-masing diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam untuk mendeteksi perubahan kekeruhan dan pembentukan gas. Tabung yang menunjukkan gas dan kekeruhan berarti positif untuk dilanjutkan ke tahap konfirmasi dengan memindahkan satu sengkeli biakan ke 3 tabung media ECB (*Escherichia Coli Broth*) yang juga dilengkapi tabung durham dan diinkubasi pada suhu $44\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Jika hasilnya positif, maka dilanjutkan ke uji pelengkap dengan cara menggoreskan inokulum dari tabung positif ECB ke media EMBA (*Eosyn Methylen Blue Agar*) dan diinkubasi 24 jam pada suhu inkubasi 37°C .

Pengamatan dilakukan pada cawan EMBA yang menunjukkan pertumbuhan koloni, warna, dan bentuk bakteri. Seluruh hasil positif dari 3 tahap MPN akan dicatat dan disesuaikan pada tabel MPN seri 333 tabung menurut formula Thomas untuk mendapatkan indeks MPN yang akan dilanjutkan untuk perhitungan dengan rumus berikut;

$$\text{MPN (MPN/g)} = \text{indeks tabel MPN} \times \frac{1}{\text{pengenceran tabung tengah}}$$

3.3. Analisis Data

Data hasil pengujian yang meliputi parameter mikrobiologi (Angka Lempeng Total/ALT, Angka Kapang dan Khamir/AKK, serta *Most Probable Number*/ MPN Koliform) dan parameter aktivitas air akan dianalisis secara kuantitatif menggunakan statistik deskriptif untuk memperoleh nilai rata-rata, standar deviasi, dan distribusi data menggunakan *Microsoft Excel 2021*, serta dibandingkan dengan ambang batas keamanan pangan. Selanjutnya, dilakukan uji normalitas (*Shapiro-Wilk*) dan homogenitas varians (*Levene's test*) sebagai syarat analisis varians (ANOVA) dengan SPSS 22 (*Statistical Product and Service Solution*), guna menguji perbedaan signifikan antar asal daerah sampel ampo. Jika hasil ANOVA menunjukkan signifikansi ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji lanjutan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui kelompok yang berbeda nyata. Selain itu, dilakukan analisis korelasi *Pearson* untuk mengevaluasi hubungan lokasi ampo (provinsi) dengan aktivitas air dan cemaran mikrobiologi (TPC, AKK, dan MPN Koliform) kemudian divisualisasikan dalam bentuk heatmap dengan

software OriginPro 2026. Keseluruhan hasil analisis ini akan menjadi dasar dalam menyimpulkan tingkat keamanan konsumsi ampo sebagai produk geofagia.