

PS1  
9

Jakarta

## LAPORAN HASIL PENELITIAN 2011

### SURVEI CEMARAN MIKROBA PADA SEMUA NAMA DAN JENIS SUSU FORMULA BAYI YANG BEREDAR DI INDONESIA TAHUN 2011

TIMNAS

(dra.Ani Isnawati,M.Kes,Apt



PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN  
KEMENTERIAN KESEHATAN

2011



# KEMENTERIAN KESEHATAN RI

## BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

### PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881754  
Fax (021) 42881754

#### KEPUTUSAN

#### KEPALA PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

NOMOR: HK.03.05/III/962/2011

#### TENTANG

#### PEMBENTUKAN TIM PELAKSANA PENELITIAN TAHUN 2011

#### KEPALA PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

- MENIMBANG** :
- a. bahwa untuk melaksanakan kegiatan penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, perlu ditunjuk Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011;
  - b. bahwa berdasarkan pertimbangan huruf a tersebut diatas, maka dipandang perlu menetapkan Keputusan Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tentang Pembentukan Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011 sejumlah tujuh belas penelitian;
- MENGINGAT** :
1. Undang-Undang Nomor 23 Tahun 1992 tentang Kesehatan (Lembaran Negara Republik Indonesia tahun 1992 Nomor 100, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 3495);
  2. Undang-undang Nomor 14 Tahun 2001 tentang (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2002 Nomor 109, Tambahan Lembaran negara Republik Indonesia Nomor 4130);
  3. Peraturan Pemerintah RI No. 39 Tahun 1995 tentang Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Lembaran Negara Tahun 1995 Nomor 67, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3609);
  4. Peraturan Pemerintah Nomor 20 Tahun 2005 tentang Alih Teknologi Kekayaan Intelektual serta hasil Penelitian dan Pengembangan oleh Perguruan Tinggi dan Lembaga Penelitian dan Pengembangan (Lembaran Negara Tahun 2005 Nomor 43, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4497);
  5. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 791/Menkes/SK/VII/1999 tentang Koordinasi Penyelenggaraan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
  6. Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 1179A/Menkes/SK/X/1999 tentang Kebijakan Nasional Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
  - Peraturan Presiden Nomor 47 Tahun 2009 tentang Pembentukan dan Organisasi Kementerian Negara.
  7. Peraturan Menteri Kesehatan No. 1144/Menkes/Per/VIII/2010 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Kesehatan;
  8. Keputusan Kementerian Kesehatan RI No.03.05/4/220/2001 tanggal 7 Januari 2011 tentang Penetapan Pejabat Kuasa Pengguna Anggaran, Pejabat yang melakukan Tindakan yang Mengakibatkan Pengeluaran Anggaran Belanja/Pembuat Komitmen, Pejabat Pengaji SPP, Pejabat Penandatanganan SPM, Bendahara Penerima dan Pengeluaran pada Kantor Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Jakarta;
- MEMPERHATIKAN** :
1. Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan tahun 2011 dengan No.0683/024-11.1.01/00/2011, tanggal 20 Desember 2010;
  2. Perjanjian Pelaksanaan Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan dengan No. PR.03.01/III/876/2011 sampai dengan Nomor: No. PR.03.01/III/912/2011, tanggal 14 Februari 2011



# KEMENTERIAN KESEHATAN RI

## BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

### PUSAT BIOMEDIS DAN TEKNOLOGI DASAR KESEHATAN

Jalan Percetakan Negara No. 23 Jakarta 10560  
Kotak Pos 1226 Jakarta 10012

Telepon (021) 42881758, 42881763, 42881762, 42881745  
Fax (021) 42881754

#### M E M U T U S K A N

##### MENETAPKAN

- KESATU : 1) Membentuk Tim Pelaksana Penelitian Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2011 sebagaimana tercantum dalam lampiran keputusan ini;  
2) Kepada Tim Pelaksana Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan Tahun Anggaran 2011, dapat diberikan honorarium sebagaimana tersebut dalam lampiran 2 Keputusan ini;
- KEDUA : Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011 mempunyai tugas sebagai berikut:  
1) Melaksanakan Penelitian pada Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2011, dengan susunan Tim seperti pada lampiran surat keputusan ini;  
2) Menyerahkan Laporan Kemajuan Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian dan Laporan Akhir Penelitian kepada Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.
- KETIGA : Dalam melaksanakan tugasnya, Tim bertanggungjawab kepada Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan serta wajib menyampaikan laporan akhir penelitian sebagai pertanggungjawaban kegiatan;
- KEEMPAT : Biaya pelaksanaan kegiatan serta honor Tim Pelaksana Penelitian Tahun 2011 dibebankan pada anggaran DIPA Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Tahun 2011;
- KELIMA : Keputusan ini mulai berlaku sejak bulan Januari sampai dengan Desember 2011 dengan ketentuan apabila dikemudian hari ternyata terdapat kekeliruan dalam penetapan ini akan diadakan perbaikan dan perubahan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di : Jakarta  
Pada tanggal : 17 Februari 2011

Kepala,

  
Drs. Ondri Dwi Sampurno, M.Si., Apt  
NIP 19621119 198803 100 1

##### Tembusan Yth:

1. Sekretaris Jenderal Kemenkes RI;
2. Inspektur Jenderal Kemenkes RI
3. Ketua Badan Pemeriksa Keuangan;
4. Kepala Badan Pengawasan Keuangan dan Pembangunan;
5. Kepala Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
6. Sekretaris Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan;
7. Kanwil Ditjen Anggaran Kemenkeu RI DKI Jakarta;
8. Para Kepala Pusat di Lingkungan Badan Litbang Kesehatan;
9. Kepala Bagian Tata Usaha Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
10. Kepala Bidang Biomedis, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
11. Kepala Bidang Teknologi Dasar Kesehatan, Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
12. Bendaharawan Pengeluaran Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan;
13. Masing-masing yang bersangkutan untuk dilaksanakan.

## KATA PENGANTAR

Laporan yang berjudul “Survey Cemaran Mikroba Pada Semua Nama dan Jenis Susu Formula Bayi yang Beredar di Indonesia Tahun 2011” merupakan survey dilakukan untuk meredakan kegelisahan masyarakat akan publikasi dari Estunik pada tahun 2006 yang menyatakan bahwa sebagian susu formula tercemar bakteri *E.sakazakii*. Pemeriksaan dilakukan tiga institusi yaitu : IPB,BPOM dan Balitbang, supaya hasil lebih meyakinkan.

Pemeriksaan bersama sangat membutuhkan kerjasama antara institusi, baik mengenai tukar informasi mengenai metode pemeriksaan, cara pengambilan sampel, sampai pada penyampaian hasil. Bersama ini kami sampaikan bahwa keberhasilan ini tidak terlepas dari kerja keras peneliti dan litkayasa dalam menyelesaikan kerja bersama.

Akhir kata semoga Laporan ini dapat dimanfaatkan dan dapat berguna bagi program kesehatan dan masyarakat.

Jakarta, Desember 2011

Penulis,

## RINGKASAN EKSEKUTIF

Isu cemaran bakteri *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter spp*) dalam beberapa merek formula bayi telah menimbulkan keresahan pada masyarakat. Kasus ini berasal dari penelitian Estuningsih, dkk (2006) yang dipublikasi dalam *Journal of Food Protection* melaporkan keberadaan bakteri ini di dalam makanan bayi dan formula bayi. Badan POM telah merespon isu tersebut dengan mengumumkan hasil pengujian 96 sampel formula bayi tahun 2008, 11 sampel tahun 2009, 99 sampel tahun 2010, dan 18 sampel sampai Februari 2011 yang ternyata semuanya tidak ditemukan *E. sakazakii*. Namun untuk meredam keresahan masyarakat mengintruksikan pengujian mikroba dalam susu formula yang melibatkan 3 institusi yaitu BPOM, IPB dan Balitbangkes. Survei ini dilakukan untuk mengevaluasi keberadaan *E. sakazakii* dan mikroba lain dalam rangka menjamin keamanan pangan melalui pemantauan, pemeriksaan mutu dan keamanan mikrobiologi di dalam produk formula bayi yang beredar di Indonesia.

BSN (Badan Standar Nasional) menetapkan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan yang tertuang dalam SNI 7388.2009, dan Kepala Badan POM menetapkan peraturan Nomor HK.00.06.1.52.4011 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan. Peraturan ini diadopsi dari Codex Alimentarius Commission (CAC) sejak Juli 2008, menetapkan pembatasan mikroba *E.sakazakii* pada formula bayi yaitu negatif dalam 10 gram.

Metode pemeriksaan tidak menggunakan jumlah sampel seperti untuk menetapkan kontrol kualitas produk seperti yang dilakukan oleh produsen susu formula, karena survei ini merupakan pengujian produk di pasaran dan tidak menyimpulkan *lot acceptance (safety assurance to a level of standard)*. Adapun analisis untuk *lot acceptance* suatu produk dilakukan pada *produk akhir (end product) sebelum lots dilepas ke pasarannya*. Sedangkan untuk menjamin keamanan pangan melalui pemantauan jumlah sampel yang diambil tidak sama dengan jumlah sampel pada *lot acceptance sampling*; dimana cukup diambil satu sampel ( $n=1$ ) per *item* produk yang beredar, namun dalam survei ini menggunakan ( $n=2$ ). Adapun metode deteksi *E. Sakazakii* pada sampel formula bayi dilakukan sesuai ISO/TS 22964 : 2006 ; ALT pada 30°C (ISO 4833-2003); *Enterobacteriaciae* (ISO 21528-2004); *Salmonella spp* (ISO 6579-2002), *S. aureus* (BAM); *B.cereus* (ISO 7932-2004). Pengujian disertai validasi metode uji. Sampel diperoleh dari wilayah Indonesia yang mewakili 7 region Bappenas dengan jumlah 88 sampel terdiri dari 41 sampel ( 2 nomor bets ) dan 6 sampel ( 1 nomor bets ).

Pengujian bakteri *E.sakazakii* dilakukan oleh 3 laboratorium (BPOM, IPB, Balitbangkes) dan jika hasil dari 2 laboratorium menunjukkan hasil berbeda, maka akan dilakukan uji ulangan dengan menggunakan retain sampel. Untuk pengujian mikroba lain (*Enterobacteriaciae*, *Salmonella spp*, *S. aureus*, *B.cereus*) dilakukan oleh 2 laboratorium (BPOM dan Balitbangkes).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua formula bayi negatif *E.sakazakii* dan *Enterobacteriaciae* dalam 10 g sampel, serta negatif *Salmonella spp* dalam 10 g sampel. ALT memenuhi persyaratan kurang dari  $1 \times 10^4$  koloni/ g sampel. Mikroba *S. aureus* dan *B.cereus*

memenuhi persyaratan kurang dari  $1 \times 10^1$  koloni/g sampel. Disamping itu semua produsen telah memenuhi persyaratan GMP dan telah menerapkan sistem HACCP dalam proses produksi. Untuk formula bayi impor wajib melampirkan sertifikat analisis yang menyatakan produk tersebut negatif *E.sakazakii*/10 gram setiap pemasukan produk formula bayi ke wilayah Indonesia. Sehingga hasil pemeriksaan cemaran mikroba pada susu formula bayi yang memenuhi persyaratan SNI 7388: 2009 dan PERATURAN KEPALA BPOM R.I. No. HK.00.06.1.52.4011 tidak terlepas dengan penerapan seperti GMP dan penerapan system HACCP dalam proses produksi dan tidak terlepas dari monitoring BPOM ke Industri Pangan.

## ABSTRAK

**Latar belakang :** Formula bayi dalam bentuk bubuk (*powder*) bukan merupakan produk steril, kemungkinan bisa mengandung mikroorganisme sehingga harus dijamin ketiadaan patogen yang secara epidemiologis menjadi sumber dan pembawa infeksi pada bayi. *Esakazakii* (*Cronobacter spp*) dan mikroba lain (*Enterobacteriaciae*, *Salmonella spp*, *S. aureus*, *S. aureus* , *B.cereus* ) adalah patogen yang menjadi indikator keamanan susu formula bayi.

**Metode :** Codex Alimentarius Commission (CAC) sejak Juli 2008, menetapkan pembatasan mikroba *E.sakazakii* pada formula bayi yaitu negatif dalam 10 gram. Ketentuan ini diadopsi SNI 7388.2009, Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan dan Peraturan Kepala Badan POM Nomor HK.00.06.1.52.4011 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan. Survei ini bukan untuk menyimpulkan *lot acceptance (safety assurance to a level of standard)*. Adapun analisis untuk *lot acceptance* suatu produk dilakukan pada *produk akhir (end product) sebelum lots dilepas ke pasaran*. Sedangkan untuk menjamin keamanan pangan melalui pemantauan jumlah sampel yang diambil tidak sama dengan jumlah sampel pada *lot acceptance sampling*; dimana cukup diambil satu sampel (n=1) per item produk yang beredar, namun dalam survei ini menggunakan (n=2). Adapun metode deteksi *E. Sakazakii* pada sampel formula bayi dilakukan sesuai ISO/TS 22964 : 2006 ; ALT pada 30°C (ISO 4833-2003 ); *Enterobacteriaciae* (ISO 21528-2004); *Salmonella spp*( ISO 6579-2002), *S. aureus* (BAM); *B.cereus* (ISO 7932-2004). Pengujian disertai validasi metode uji. Sampel diperoleh dari wilayah Indonesia yang mewakili 7 region Bappenas dengan jumlah 88 sampel terdiri dari 41 sampel ( 2 nomor bets ) dan 6 sampel ( 1 nomor bets ).

**Hasil :** Semua formula bayi negatif *E.sakazakii* dan *Enterobacteriaceae* dalam 10 g sampel dan *Salmonella spp* negatif dalam 25 g sampel sedangkan ALT, *S.aureus* dan *B.cereus* memenuhi persyaratan . Disamping itu semua produsen telah memenuhi persyaratan GMP dan telah menerapkan sistem HACCP dalam proses produksi. Untuk formula bayi impor wajib melampirkan sertifikat analisis yang menyatakan produk tersebut aman untuk semua bakteri patogen setiap pemasukan produk formula bayi ke wilayah Indonesia.

## SUSUNAN ANGGOTA TIM PENELITI

Susunan tim berdasarkan Keputusan Kepala Pusat biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan No.HK.03.05/III/962/2011

### BADAN LITBANGKES

Koordinator	: Drs. Ondri Dwi Sampurno,M.Si,Apt
Ketua pelaksana Penelitian	: Dra. Ani Isnawati, M.Kes,Apt
Peneliti	: dr. Nelly Puspandari : Dra. Mariana Raini, M.Kes, Apt
Pembantu Peneliti	: Melati Wati, AMAK : Novi Amalia, AMAK : Syamsidar : Sundari Nur Sofia, AMAK : Dorkas Maria Lumbangaol : Yudi Hartoyo : Nirfan Nirfudin
Pembantu lapangan	: Kelik M Arifin : Devi Magdalena

### BADAN PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN

Narasumber	: Dra. Kustantinah, Apt., <i>M.App.Sc.</i>
Koordinator	: Dr. Roy A. Sparringa, <i>M.App.Sc</i>
Peneliti	: Drs. Siam Subagio,M.Si,Apt : Drs. Suratmono,MP : Dra. Frida Tri Hadiati : Ir. Tetty Sihombing, MP
	: Dra. Dwi Retno Budhi S, M.Si,
	: Dra. Setia Murni : Drs. Rusmadi Eko Priyono,Msi

: Dra. Eni Cahyaningsih, M.Si  
: Dra. Sitoresmi Triwibowo  
: Dra. Chairun Nisa, Apt.  
: Didik Joko P, SPT., MSi.  
Pembantu lapangan : Tyas Setyaningsih

## **DAFTAR ISI**

SK PENELITIAN.....	i
KATA PENGANTAR.....	iii
RINGKASAN EKSEKUTIF.....	iv
ABSTRAK.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
I        PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan.....	1
C. Manfaat.....	3
II        METODE .....	4
A. Kerangka Pikir .....	4
B. Sampel dan Jumlah Sampel.....	5
C. Waktu dan Tempat Pengujian.....	5
D. Tahapan Penggerjaan.....	5
1.Sampling formula Bayi.....	5
2.Penanganan dan Pengiriman Sampel .....	8
3.Prosedur Penyerahan Sampel Sampai Pembukaan Kode dan Hasil Pengujian Sampel.....	8
4.Pengujian dan Pengkajian Sampel.....	9
5.Pengumpulan data sekunder.....	26

6. Pelaporan Hasil Pengujian.....	26
III PELAPORAN HASIL PENGUJIAN.....	27
IV PEMBAHASAN.....	30
V KESIMPULAN .....	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
UCAPAN TERIMA KASIH.....	34
LAMPIRAN.....	35

## DAFTAR TABEL

Tabel 1	Jumlah Contoh/Sampel yang Diambil Tiap Produk.....	7
Tabel 2	Hasil Interpretasi Uji Karakteristik Biokimia <i>E.sakazakii</i> .....	12
Tabel 3	Hasil Uji Biokimia Positif <i>Bacillus cereus</i> .....	20
Tabel 4	Hasil Uji Biokimia Positif <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
Tabel 5	Hasil Uji Biokimia Positif <i>Enterobacteriaceae</i> .....	24
Tabel 6	Hasil Uji <i>E. sakazakii</i> ( <i>Cronobacter spp</i> ) dalam Formula Bayi.....	28
Tabel 7	Hasil Uji Mikroba Lain (ALT, <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Salmonella sp</i> , <i>S.aureus</i> , <i>B.cereus</i> .....	29
Tabel 8	Hasil Pengujian <i>E. sakazakii</i> pada Susu Formula.....	36
Tabel 9	Hasil Pengujian ALT, <i>Salmonella sp</i> , <i>Enterobacteracie</i> , <i>S.aureus</i> , <i>B.cereus</i> .....	43

## **DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1	Tata Cara Pengambilan Sampel di Pasaran.....	7
Gambar 2	Diagram alir metode deteksi <i>E. zakazaki</i> pada formula bayi (ISO / TS 22964: 2006) .....	11
Gambar 3	Koloni tipikal <i>E. sakazakii</i> pada media isolasi kromogenik ESIA.....	28

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Isu cemaran bakteri *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter spp*) dalam beberapa merek formula bayi telah menimbulkan keresahan pada masyarakat. Kasus ini berawal dari penelitian Estuningsih, dkk (2006) yang dipublikasi dalam *Journal of Food Protection* melaporkan keberadaan bakteri ini di dalam makanan bayi dan formula bayi. Dalam penelitian dilaporkan bahwa 22.73% formula bayi (n=22) dan 40% makanan bayi (n=15) positif bakteri *E. sakazakii* (*Cronobacter spp*).<sup>(1)</sup> Saat diumumkan pada awal 2008, temuan bakteri ini telah menimbulkan keresahan masyarakat karena tidak disebutkan nama-nama formula bayi tersebut<sup>(2)</sup>. Hal ini menunjukkan besarnya perhatian masyarakat akan pencemaran *E. sakazakii* dalam formula bayi.

Badan POM telah merespon isu tersebut dengan mengumumkan hasil pengujian 96 sampel formula bayi tahun 2008, 11 sampel tahun 2009, 99 sampel tahun 2010, dan 18 sampel sampai Februari 2011 yang ternyata semuanya tidak ditemukan *E. sakazakii*<sup>(3)</sup>. Penelitian oleh IPB pada tahun 2009 juga menunjukkan tidak ditemukan keberadaan bakteri *E. sakazakii* dari 16 sampel formula bayi yang diuji<sup>(4)</sup>. Dalam rangka pemantauan keamanan dan konfirmasi tentang pemenuhan kriteria mikrobiologis (*E. sakazakii*) produk formula bayi, pemerintah melakukan survei cemaran mikroba (*E. sakazakii*) pada formula bayi yang beredar di Indonesia.

*E. sakazakii* merupakan suatu bakteri patogen yang diantaranya menyebabkan meningitis, bakteremia, *cerebritis*, *necrotizing enterocolitis*, khususnya pada neonatus dan bayi berisiko tinggi<sup>(5,6)</sup>. Organisme ini merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang, sel tunggal atau bergandengan, tidak membentuk spora dari famili *Enterobacteriaceae* genus *Enterobacter*<sup>(5,6)</sup>. Pada mulanya disebut “yellow pigmented *Enterobactercloacae*”, kemudian pada tahun 1980 dinamakan menjadi *Enterobacter sakazakii*<sup>(8)</sup>. Virulensi dari bakteri ini berkaitan dengan kemampuan bakteri tersebut menghasilkan racun yang disebut enterotoksin<sup>(7)</sup>. Pada tahun 2007 Iversen et al mengklasifikasikan bakteri ini sebagai *Cronobacter spp*<sup>(8,9,10)</sup>.

Pada tahun 1960 *E. sakazakii* telah diketahui menyebabkan 2 kasus meningitis<sup>(5,7)</sup>. Selanjutnya kasus meningitis, *septicemia* dan *necrotizing enterocolitis* disebabkan *E.sakazakii* telah dilaporkan di berbagai belahan dunia<sup>(8)</sup>. Meskipun kasus infeksi

*E.sakazakii* tergolong rendah namun dapat menimbulkan kematian. Beberapa penelitian melaporkan bahwa *E. sakazakii* menyebabkan kematian 40-48% pada bayi yang berisiko<sup>(5)</sup>. Infeksi bakteri ini terutama berisiko pada bayi lahir prematur, BBLR, kelainan *immunocompromised*, bayi yang lahir dari ibu pengidap HIV dan lain lain. Kasus yang dilaporkan juga dapat terjadi pada dewasa dan anak-anak<sup>(11)</sup>.

Bakteri ini dapat ditemukan di berbagai lingkungan (*ubiquitous*), dan telah diisolasi dari berbagai jenis makanan seperti susu UHT (*Ultra High Temperature*), keju, daging, sayuran, biji sorgum, beras, herbal, rempah-rempah, roti fermentasi, minuman fermentasi, tahu, dan teh asam<sup>(12, 13, 14, 15, 16)</sup>. Beberapa studi melaporkan bahwa *E. sakazakii* (*Cronobacter spp.*) dan spesies *Enterobacter* lainnya dapat diisolasi dari lingkungan seperti tanah, pabrik formula bayi, pabrik coklat dan rumah tangga, dan juga dapat diperoleh dari hewan seperti tikus dan lalat<sup>(17)</sup>. Pada formula bayi, kontaminasi bakteri ini dapat terjadi pada bahan baku, proses pengeringan, fortifikasi susu, penyajian dan sewaktu mengkonsumsi<sup>(18)</sup>. Berdasarkan hasil penelitian dari beberapa negara, dari 141 sampel susu bubuk, 20 diantaranya terkontaminasi dengan *E. sakazakii*.<sup>(7,18)</sup>.

Formula bayi dalam bentuk bubuk (*powder*) bukan produk steril, mungkin mengandung mikroorganisme sehingga harus dijamin ketiadaan patogen yang secara epidemiologis menjadi sumber dan pembawa infeksi pada bayi. *E. sakazakii* (*Cronobacter spp.*) dan *Salmonella enterica* adalah patogen yang menjadi indikator keamanan formula bayi. Kedua bakteri tersebut telah diidentifikasi oleh FAO dan WHO sebagai “Organisme Kategori A”, yakni mikroorganisme yang bisa terkandung di dalam formula bayi dan terbukti dapat menyebabkan penyakit pada bayi<sup>(7,19)</sup>. Namun tidak hanya mikroba *E.sakazakii* yang berbahaya ada mikroba patogen lain yang tidak boleh ada dalam formula susu seperti: *Enterobacter* dan *Salmonella* sp selain itu yang boleh ada namun mempunyai batas tertentu adalah : Angka Lempeng Total (ALT), *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*<sup>(20)</sup>

Codex Alimentarius Commission (CAC) sejak Juli 2008, menetapkan pembatasan mikroba *E. sakazakii* pada formula bayi yaitu negatif dalam 10 gram. Ketentuan ini diadopsi pada tanggal 28 Oktober 2009 dalam bentuk Peraturan Kepala Badan POM Nomor HK.00.06.1.52.4011 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan<sup>(20)</sup>.

Survei ini dilakukan untuk mengevaluasi keberadaan *E. sakazakii* dan mikroba lain dalam rangka menjamin keamanan pangan melalui pemantauan, pemeriksaan mutu dan keamanan mikrobiologi di dalam produk formula bayi yang beredar di Indonesia dengan metode deteksi spesifik dan sensitif yang diacu secara internasional (ISO/TS-22964:2006) .

## **B. Tujuan Survei**

### **Umum**

Melakukan pemantauan keamanan dan konfirmasi tentang pemenuhan kriteria mikrobiologis produk formula bayi yang beredar di Indonesia saat ini.

### **Khusus**

- Mendapatkan informasi tentang cemaran *E.sakazakii* pada formula bayi yang beredar di Indonesia.
- Mendapatkan informasi tentang cemaran mikroba (ALT, *Enetrobacteriaceae*, *Salmonella,sp*, *S.aureus*, *Bacillus aureus*) pada formula bayi yang beredar di Indonesia
- Mendapatkan konfirmasi tentang keamanan mikrobiologi (*E.sakazakii*, ALT, *Enetrobacteriaceae*, *Salmonella,sp*, *S.aureus*, *Bacillus aureus*) pada formula bayi yang beredar di Indonesia.

## **C. Manfaat**

Hasil pemantauan mikrobiologi pada produk susu formula bayi yang beredar di seluruh Indonesia dapat menjadi sumber informasi keamanan bagi masyarakat

## **II. METODE SURVEI DAN PENGUJIAN**

### **A. Kerangka Pikir**

Survei mikroba pada formula bayi dilakukan dalam rangka memantau dan mengkonfirmasi keamanan mikrobiologi formula bayi yang beredar di Indonesia bukan untuk menyimpulkan *lot acceptance (safety assurance to a level of standard)*. Analisis untuk *lot acceptance* suatu produk dilakukan pada produk akhir (*end product*) sebelum *lots* dilepas ke pasaran. Analisis *lot acceptance* dilakukan oleh produsen dan pemerintah dalam hal ini Badan POM melakukan inspeksi secara rutin.

Untuk tujuan survei ini, jumlah sampel yang diambil tidak sama dengan jumlah sampel pada *lot acceptance sampling*; dimana cukup diambil satu sampel ( $n=1$ ) per *item* produk yang beredar (ICMSF, 2002). Jika jumlah sampel yang diambil lebih dari satu ( $n>1$ ) tentu akan lebih baik, tetapi tetap tidak akan memberikan kesimpulan tentang *acceptance*. Sebagai acuan pelaksanaan survei untuk *E. sakazakii* (*Cronobacter spp.*) pada formula bayi, digunakan laporan survey oleh Food Safety Authority of Ireland (FSAI) , Irlandia; dimana untuk setiap merek, diambil sampel ( $n$ ) = 1<sup>(5)</sup>. Untuk memberikan tingkat keyakinan yang lebih baik terhadap konfirmasi tentang pemenuhan kriteria mikrobiologis, maka tim nasional (BPOM, Balitbangkes dan IPB), sepakat melakukan pengambilan sampel ( $n$ )=2. Dengan demikian dari seluruh formula bayi yang beredar, setiap *item* diambil 2 bets dan masing-masing bets sebanyak 3 kemasan (2 kemasan untuk pengujian dan 1 kemasan untuk retained sampel.

### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Pengujian sampel formula bayi untuk pemeriksaan *E.sakazakii* dilakukan di 3 laboratorium mikrobiologi yaitu BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan), IPB (Institut Pertanian Bogor), dan Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan (PBTDK), Balitbangkes sedangkan untuk pemeriksaan mikroba lain dilakukan oleh 2 laboratorium yaitu laboratorium BPOM dan laboratorium

### **C. Sampel dan Jumlah sampel**

Populasi sampel adalah formula bayi. Pengambilan, pengumpulan dan penanganan sampel formula bayi dilakukan oleh petugas yang berwenang dari BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan) RI dari sejumlah wilayah di Indonesia sejak April 2011. Adapun yang dimaksud dengan formula bayi adalah produk susu yang diperuntukkan secara khusus untuk bayi berusia 0 – 6 bulan.

Kriteria inklusi sampel :

- Sampel adalah formula bayi yang dikemas dalam bentuk karton dan kaleng.
- Berasal dari pasar Swalayan dan pasar Tradisional

Kriteria eksklusi sampel :

- Formula bayi yang telah kadaluarsa
- Formula bayi dengan kemasan rusak
- Formula bayi cair (steril)

Jumlah sampel :

Jumlah sampel menggunakan total sampel dari semua formula bayi yang beredar di Indonesia yang diproduksi dalam negeri dan berasal dari impor.

### **D. Tahapan Pengerjaan**

Tahapan kegiatan yang akan dilakukan meliputi : (1). Sampling formula bayi ditingkat peredaran. (2). Penanganan dan pengiriman sampel. (3) Prosedur penyerahan sampel sampai pembukaan kode dan hasil pengujian sampel (4) Pengujian dan pengkajian sampel. (5) Pengumpulan data sekunder dari pabrik yang memproduksi formula bayi (6) Pelaporan hasil pengujian.

#### **1. Sampling formula bayi**

- a. Petugas sampling yaitu petugas Balai Besar/Balai POM di 23 propinsi. Provinsi terpilih dan mewakili pembagian 7 region Bapenas di Indonesia (Sumatera, Jawa – Bali, Kalimantan, Sulawesi, Nusa Tenggara, Maluku dan Malut, Papua)
- b. Tempat Pelaksanaan sampling

Pelaksanaan sampling produk formula bayi dilakukan di 23 provinsi dengan rincian sebagai berikut : region Sumatera (6 provinsi), Jawa-Bali (7 provinsi) Kalimantan (3 provinsi), Sulawesi (3 provinsi), Nusa

Tenggara (2 provinsi), Maluku dan Maluku Utara (1) dan Papua (1 provinsi ). Pengujian dilaksanakan di Jakarta dan Bogor (laboratorium PPOMN BPOM, Laboratorium Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan dan Laboratorium Institut Pertanian Bogor).

c. Tata cara sampling formula bayi

- Persiapan sampling

Tim sampling menyiapkan daftar formula bayi dan kelengkapan administrasi (surat tugas, form sampling) dan peralatan. yang akan dikunjungi.

- Pelaksanaan sampling

Pengambilan sampel dilakukan pada produk formula bayi yang telah terdaftar dan sudah ditetapkan untuk masing-masing propinsi. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan sebelum pengambilan sampel, antara lain : kemasan sampel masih utuh, tidak penyok, kotor, tanggal kadaluwarsa masih lama.

Setiap merek diambil 2 bets, tiap bets masing-masing sebanyak 3 kemasan dan setiap kemasan minimal dengan berat netto 400 gram, 2 (dua) kemasan akan digunakan untuk pengujian *E.sakazakii* serta 1 (satu) kemasan sebagai retain sampel.

Untuk lebih jelasnya pengambilan sampel per produk yang terdaftar dapat dilihat pada contoh/sampel tabel di bawah ini.

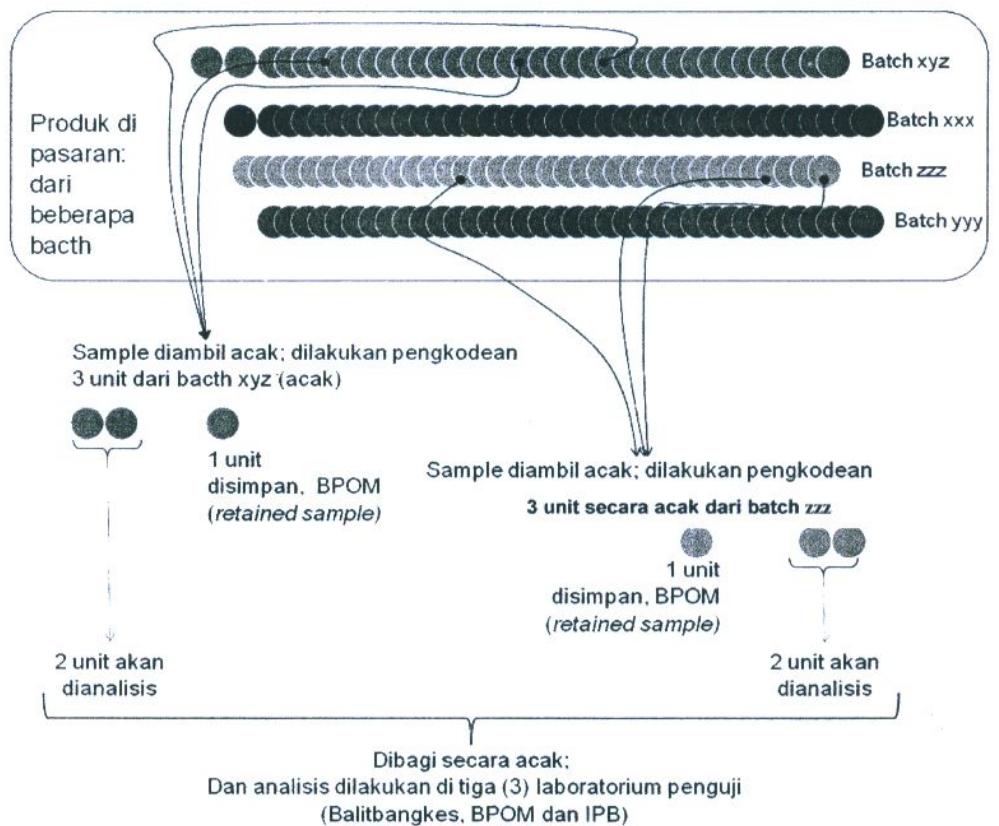
Tabel 1. Jumlah Contoh/Sampel yang diambil Tiap Produk

Jumlah produk terdaftar	No. Bets	Jumlah contoh diambil tiap produk terdaftar	Jumlah total contoh diambil
XYZ	A070311	3	3
	B290211	3	3
Total Sampel/ merek dagang			6

Total jumlah yang disampling dari 47 merek dagang yaitu  $47 \times 2 \times 3 = 282$  kemasan

Penjelasan mengenai pengambilan sampel lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini :

Untuk setiap produk Sufor dengan Nomor Pendaftaran tertentu :



Gambar 1. Tata Cara Pengambilan Sampel di Pasaran

Sebelum dilakukan pengujian, setiap kemasan sampel harus diidentifikasi. Identitas minimal yang harus dicatat tentang sampel yaitu:

- waktu dan tempat sampling.
- Kode sampel
- Merk dagang
- Nomor Pendaftaran
- Nomor Bets
- Kemasan / Berat Bersih
- Jumlah sampel

## **2. Penanganan dan Pengiriman sampel**

- Sampel yang diambil ditempatkan pada wadah yang tidak akan menyebabkan kerusakan selama transportasi
- Sampel selanjutnya dikirim ke Badan POM RI untuk dievaluasi dan didata
- Sampel sebelum dibagikan dicatat nomor betsnya, setiap laboratorium akan mendapatkan produk dengan nomor bets yang berbeda.
- Selanjutnya sampel dikirimkan ke 3 (tiga) laboratorium, yaitu laboratorium PPOMN Badan POM, Laboratorium Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan dan laboratorium Institut Pertanian Bogor untuk pengujian bakteri *E.sakazakii*.

## **3. Prosedur penyerahan sampel sampai pembukaan kode dan hasil pengujian sampel**

### **a. Direktorat Inspeksi dan Sertifikasi Pangan BPOM :**

- Melakukan pengumpulan dari Balai Besar/Balai POM dan pendataan sampel.
- Menutup identitas sampel dan melakukan pengkodean sampel.
- Menyerahkan kode sampel kepada Sekretaris Utama Badan POM disertai Berita Acara Penyerahan Kode Sampel dalam amplop tertutup untuk disimpan sampai waktu pembukaan kode dan hasil pengujian sampel oleh Tim Nasional Survei Cemaran Mikroba pada Formula Bayi yang Beredar di Indonesia,

- Menyerahkan sampel kepada PPOMN, Badan Litbangkes Kemenkes dan IPB, disertai Berita Acara Penyerahan Sampel.
- b. BPOM cq PPOMN, Badan Litbangkes dan IPB menyerahkan hasil pengujian disertai Berita Acara Penyerahan Hasil Pengujian kepada Deputi III BPOM dalam amplop tertutup untuk disimpan sampai waktu pembukaan kode dan hasil pengujian sampel oleh Tim Nasional Survei Cemaran Mikroba pada Formula Bayi yang Beredar di Indonesia.
- c. Penyerahan hasil pengujian sampel dari Deputi III Badan POM kepada Timnas disertai Berita Acara Penyerahan Hasil Pengujian
- d. Penyerahan kode sampel oleh Sestama Badan POM kepada Timnas disertai Berita Acara Penyerahan Kode Sampel.
- e. Pembukaan kode dan hasil pengujian oleh Tim Nasional disertai Berita Acara Pembukaan Kode dan Hasil Pengujian

#### **4. Pengujian dan pengkajian sampel**

Pengujian dan Pengkajian terhadap hasil pengujian sampel formula bayi, bila ada perbedaan hasil pengujian pada dua laboratorium, maka dilakukan pengujian ulang dengan menggunakan retain sampel dan pengujian dikerjakan di laboratorium PPOMN oleh kedua laboratorium tersebut

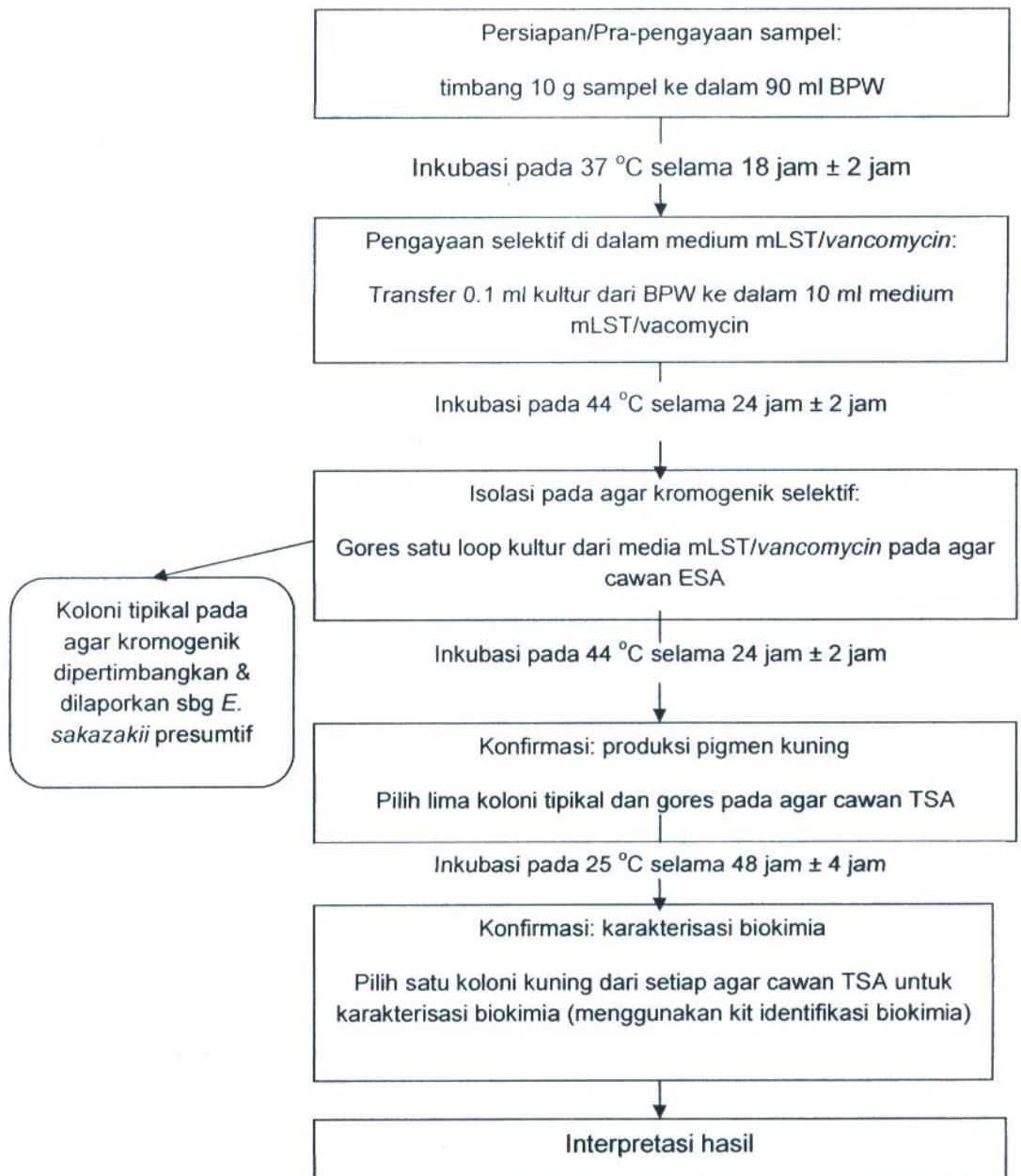
##### **a. Metode Uji *E. Sakazakii* (*Cronobacter sakazakii*)**

Metode deteksi *E. Sakazakii* (*Cronobacter sakazakii*) pada sampel formula bayi dilakukan sesuai ISO/TS 22964 : 20006 (*Milk and milk products – Detection of Enterobacter sakazakii*). Masing-masing sampel formula bayi diuji triplikat.

Sepuluh (10) g contoh ditimbang secara aseptis ke dalam 90 ml larutan *buffered peptone water* (BPW) steril sehingga diperoleh pengenceran 1 : 9. Sampel kering dibiarkan berdispersi di dalam larutan BPW tanpa pengadukan. Jika sampel tidak larut sempurna setelah 30 menit, maka sampel dalam media dihomogenkan. Media BPW yang sudah diinokulasikan, diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  selama 18 jam  $\pm$  2 jam. Setelah inkubasi, 0,1 ml kultur dari BPW ditransfer ke dalam 10 ml

media mLST/*vancomycin*, diinkubasi pada suhu  $44^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam  $\pm 2$  jam dengan menggunakan penangas air bersikulasi. Setelah inkubasi, 1 ose penuh ( $\pm 10\mu\text{g}$ ) digores pada cawan berisi media chromocult Enterobacter Sakazakii Agar (ESA) karena media ESIA belum masuk ke Indonesia , cawan diinkubasi pada suhu  $44^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam  $\pm 2$  jam. Setelah inkubasi, keberadaan koloni koloni tipikal presumtif *E. Sakazakii* diamati yakni koloni berukuran kecil hingga sedang (1 mm – 3 mm) dan berwarna hijau-biru. Koloni atipikal seringkali sedikit transparan dan berwarna ungu. Koloni tipikal presumtif *E. Sakazakii* dikonfirmasi produksi pigmen kuningnya dengan cara memilih satu hingga lima koloni tipikal yang teramat pada cawan kromogenik ESA dan kemudian digores pada permukaan agar-agar cawan TSA. Cawan diinkubasi pada suhu suhu  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  selama 44 jam hingga 48 jam. Setelah inkubasi, keberadaan koloni berpigmen kuning pada cawan TSA diamati.

Tahap konfirmasi selanjutnya adalah uji biokimia. Identifikasi *E. Sakazakii* menggunakan *biochemical identification kit* API 20E atau ID 32. Satu koloni berpigmen kuning dari cawan TSA disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,85%. Konfirmasi karakterisasi biokimia yang dipersyaratkan meliputi oksidase, L-lisin dekarboksilase, L-ornitin dekarboksilase, L-arginin dekarboksilase, fermentasi gula: D-sorbitol, L-ramnose, D-Sukrose, D-melibiose, amigdalin dan pemanfaatan sitrat. Interpretasi hasil uji biokimia dengan menggunakan perangkat lunak apiwebTM atau interpretasi manual (Tabel 1). Diagram alir metode deteksi ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram alir metode deteksi *E. sakazakii* pada formula bayi (ISO/TS 22964: 2006)

Tabel 2. Hasil interpretasi uji karakteristik biokimia

Karakteristik Biokimia	Reaksi	Persen <i>Enterobacter sakazakii</i> menunjukkan reaksi
Produksi pigmen kuning	+	>99
Oksidase	-	>99
L-Lisin dekarbobilase	-	>99
L-Ornitin dekarbobilase	+	±90
L-Arginin dihidrolase	+	>99
Produksi asam dari		
Fermentasi D-sorbitol	-	±95
Fermentasi L-ramnosa	+	>99
Fermentasi D-sukrosa	+	>99
Fermentasi D-melibiosa	+	>99
Fermentasi amigdalin	+	>99
Hidrolisis sitrat	+	>95

Untuk memvalidasi bahwa metode ISO/TS 22964:2006 mampu mendeteksi *E. sakazakii* pada formula bayi, maka dilakukan pengujian kontrol positif yakni sampel formula bayi yang sengaja diinokulasikan dengan kultur *E. sakazakii* ATCC 51329. Prosedur persiapan sampel untuk pengujian kontrol positif dimulai dengan menginokulasikan 1 ose penuh kultur *E. sakazakii* ATCC 51329 dari agar miring TSA ke dalam 10 ml *Brain Heart Infusion broth* (BHI), diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 jam. Setelah inkubasi, 1 ml kultur ditransfer ke 10 ml *Brain Heart Infusion broth*, diinkubasi pada suhu 37 °C selama ± 24 jam. Setelah inkubasi, diperkirakan jumlah *E. sakazakii* di dalam media BHI adalah 10<sup>9</sup>/ml. Kultur di media BHI ditransfer ke larutan KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> untuk dibuat seri pengenceran: 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-6</sup> dan 10<sup>-5</sup>. Dari seri pengenceran 10<sup>-5</sup>, sebanyak 1 ml kultur diinokulasikan ke dalam 100 g sampel formula bayi (sekitar 1000 CFU per g) dan kultur di dalam sampel susu segera dihomogenkan. Selanjutnya, sampel yang telah diinokulasikan dengan kultur *E. sakazakii* ATCC 51329 diuji sesuai dengan prosedur yang telah dijelaskan sebelumnya.

- b. Metode Uji Lempeng Total
  - Homogenisasi sampel

Sampel ditimbang secara aseptik 25 g dalam wadah yang sesuai, ditambahkan 225 mL larutan Peptone Dilution Fluid (PDF) kemudian dihomogenkan hingga diperoleh suspensi dengan pengenceran  $10^{-1}$ .

- Pengenceran

Suspensi pengenceran  $10^{-1}$  diencerkan hingga tingkat pengenceran  $10^{-4}$ .

- Inokulasi dan inkubasi

Suspensi tiap pengenceran diinokulasikan 1 mL ke dalam cawan Petri steril dan dibuat duplo. Media Plate Count Agar (PCA) cair suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$  dituangkan ke dalam tiap cawan sebanyak 15 – 20 mL, setelah dicampur homogen dibiarkan memadat. Catatan untuk memudahkan penghitungan koloni ke dalam media ditambahkan larutan trifenil tetrazolium klorida steril 5%.. Setelah memadat seluruh cawan diinkubasi pada  $30^{\circ}\text{C}$  selama 72 jam dengan posisi cawan dibalik. Koloni yang tumbuh berwarna merah pada cawan diamati dan dihitung.

- Interpretasi hasil ALT dengan suhu inkubasi  $30^{\circ}\text{C}$

Dipilih cawan Petri dari dua pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni 10 – 300 per cawan ( $\theta = 90 \text{ mm}$ ). Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total dalam tiap gram atau tiap mL sampel.

$$\begin{aligned} N &= \Sigma C / (V(n_1 + 0,1 n_2) \times d) \\ &= (V(n_1 + 0,1 n_2) \times d) \end{aligned}$$

Rumus 1

N = Jumlah mikroba dalam sampel

$\Sigma C$  = Jumlah koloni pada dua cawan petri dari dua pengenceran

V = Volume inokulum yang dimasukkan ke dalam masing-masing cawan Petri ( $V = 1 \text{ mL}$ )

$n_1$  = Jumlah cawan Petri yang digunakan pada pengenceran 1

$n_2$  = Jumlah cawan Petri yang digunakan pada pengenceran 2

d = Pengenceran yang berhubungan dengan pengenceran pertama  
(untuk produk cair d =  $10^0 = 1$ )

Contoh 1:

Hitungan yang diperoleh untuk pengenceran  $10^{-1}$  adalah 210 dan 190  
 $10^{-2}$  adalah 23 dan 18

Untuk rumus 1.

$$\begin{aligned} N &= \frac{\sum C}{(V(n_1+0,1 n_2) \times d)} \\ &= \frac{210+190+23+18}{(1 \times (2+0,1 \times 2) \times 10^{-1})} \\ &= \frac{441}{2,2 \times 10^{-1}} \\ &= 200,5 \times 10^1 \\ &= 2,0 \times 10^3 \text{ per gram atau mililiter sampel} \end{aligned}$$

Contoh 2 :

Hitungan yang diperoleh untuk pengenceran  $10^{-1}$  adalah 195 dan 36  
 $10^{-2}$  adalah 22 dan 20

Untuk rumus 1.

$$\begin{aligned} N &= \frac{\sum C}{(V(n_1+0,1 n_2) \times d)} \\ &= \frac{195+22+20}{(1 \times (1+0,1 \times 2) \times 10^{-1})} \\ &= \frac{237}{2,2 \times 10^{-1}} \\ &= 197,5 \\ &= 2,0 \times 10^2 \text{ per gram atau mililiter sampel} \end{aligned}$$

Perhitungan untuk jumlah koloni yang rendah

Jika cawan Petri menunjukkan jumlah koloni antara 4-10 koloni,  
mengikuti rumus 1.

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

Hasil dinyatakan sebagai : Angka perkiraan N per gram atau mililiter sampel

Jika cawan Petri menunjukkan jumlah koloni antara 1-3 koloni, maka hasil dinyatakan sebagai :

Mikroorganisme ada tetapi kurang dari ( $4 \times 1/d$ ) per gram atau mL atau kurang dari 40

Bila tidak satupun koloni tumbuh dalam cawan maka Angka Lempeng Total dinyatakan sebagai kurang dari  $1/d$  per mL untuk sampel cair dan  $1/d$  per gram untuk sampel padat.

Contoh :

Hitungan yang diperoleh pada pengenceran  $10^{-1}$  adalah 0 dan 0

$N < 1/d$ )

$< 1/(10^{-1})$

$< 1/0,1$

$< 10$

Perhitungan untuk kasus tertentu

Apabila jumlah koloni pada pengenceran pertama ( $d_1$ ) lebih besar dari 300 dan jumlah koloni pada pengenceran kedua ( $d_2$ ) kurang 10

Apabila pengenceran pertama ( $d_1$ ) berada antara 300-334 digunakan metode perhitungan umum

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

Apabila jumlah koloni pada pengenceran pertama ( $d_1$ ) lebih besar dari 334, maka hanya dihitung jumlah koloni pada pengenceran ke dua saja dan dinyatakan sebagai angka perkiraan, kecuali bila jumlah koloni pada pengenceran kedua ( $d_2$ ) kurang dari 8 maka hasil tidak dapat diterima.

Contoh 1

Hitungan yang diperoleh untuk pengenceran  $10^{-2}$  adalah 310 dan 315  
 $10^{-3}$  adalah 8 dan 8

$$\begin{aligned}
 N &= \frac{\sum C}{(V(n_1 + 0,1 n_2) \times d)} \\
 &= (310+315+8+8)/( 2,2 \times 10^{-2}) \\
 &= (1( 2+0,1 \times 2) \times 10^{-2}) \\
 &= 291,4 \times 10^2 \\
 &= 2,9 \times 10^4 \text{ koloni/g atau koloni/mL}
 \end{aligned}$$

### Contoh 2

Hitungan yang diperoleh untuk pengenceran  $10^{-2}$  adalah 335 dan 340  
 $10^{-3}$  adalah 9 dan 9

$$\begin{aligned}
 N &= \frac{\sum C}{(V(n_1 + 0,1 n_2) \times d)} \\
 &= (9+9)/( 2 \times 10^{-3}) \\
 &= ( 2 \times 10^{-3})
 \end{aligned}$$

Hitungan yang diperoleh untuk pengenceran  $10^{-2}$  adalah 335 dan 340  
 $10^{-3}$  adalah 7 dan 7

### Hasil tidak dapat diterima

#### Contoh 3

Hitungan yang diperoleh untuk pengenceran  $10^{-2}$  adalah 335 dan 340  
 $10^{-3}$  adalah 7 dan 7

### Hasil tidak dapat diterima (Pengujian diulang)

Apabila jumlah koloni pada setiap cawan untuk semua pengenceran lebih besar dari 300 maka dilaporkan

**Lebih dari 300/d koloni/g atau koloni/mL**

d : pengenceran dari inokulasi terakhir

Apabila jumlah koloni pada pengenceran terakhir lebih besar dari 10 dan kurang 300 maka dilaporkan

$$N = \frac{\sum C}{(V(n_1) \times d)}$$

#### Contoh 1

Hitungan yang diperoleh untuk pengenceran  $10^4$  adalah 120 dan 120

$$\begin{aligned} N &= \frac{\sum C}{(V(n_1) \times d)} \\ &= \frac{120+120}{1(2) \times 10^4} \end{aligned}$$

Jika terjadi pertumbuhan koloni spreader maka dihitung sebagai satu koloni. Jika koloni spreader kurang dari  $\frac{1}{4}$  bagian cawan maka koloni dihitung dari  $\frac{1}{2}$  bagian cawan dan dikalikan 2. Jika koloni spreader lebih dari  $\frac{1}{4}$  bagian cawan maka cawan tidak masuk dalam perhitungan.

Bulatkan hasil yang dihitung ke dalam 2 angka. Untuk ini, jika angka terakhir adalah di bawah 5, angka sebelumnya tidak diubah.; jika angka terakhir adalah 5 atau lebih, angka sebelumnya dinaikkan satu unit. Apabila angka didepannya ganjil maka dinaikan satu unit dan jika angka didepannya genap maka diturunkan. Teruskan sampai diperoleh 2 angka yang signifikan. Catat jumlah  $N$  yang didapat.

Contoh :

$$12,7 \times 10^4 = 13 \times 10^4 = 1,3 \times 10^5$$

$$12,4 \times 10^4 = 12 \times 10^4 = 1,2 \times 10^5$$

$$15,5 \times 10^4 = 16 \times 10^4 = 1,6 \times 10^5$$

$$14,5 \times 10^4 = 14 \times 10^4 = 1,4 \times 10^5$$

c. Metode Uji Angka *B.cereus*

- Homogenisasi sampel

Sampel ditimbang secara aseptik 25 g dalam wadah yang sesuai, ditambahkan 225 mL larutan Butterfield's phosphate-buffered dilution water kemudian dihomogenkan hingga diperoleh suspensi dengan pengenceran  $10^{-1}$ .

- Pengenceran

1mL suspensi pengenceran  $10^{-1}$  dipipet ke dalam tabung yang berisi 9 mL larutan Butterfield's phosphate-buffered dilution water, dikocok homogen hingga diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ . Pengenceran dilanjutkan hingga tingkat pengenceran  $10^{-4}$ .

- Inokulasi dan inkubasi

Setiap suspensi pengenceran diinokulasikan sebanyak 0,1 mL dengan cara sebar ke permukaan lempeng media MYP agar. Suspensi disebar-ratakan menggunakan batang kaca bengkok steril, dibuat duplo. Inkubasi pada  $30^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Dipilih 5 atau lebih koloni spesifik, masing-masing diinokulasi ke media NA miring, inkubasi pada  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam

- Konfirmasi/Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan menggunakan biakan TSA atau NA miring, dengan uji biokimia konvensional atau menggunakan kit API 50 CH. Adapun uji biokimia secara konvensional adalah sebagai berikut :

• Phenol red glucose Broth

Inokulasikan 1 sengkelit biakan ke dalam 3 mL media broth, inkubasi tabung secara anaerob pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Amati terjadi perubahan warna dari merah menjadi kuning.

• Nitrate Broth

Inokulasikan 1 sengkelit biakan ke dalam 5 mL media Nitrate Broth. Inkubasi tabung pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Untuk uji nitrit tambahkan 0,25 mL masing-masing pereaksi nitrat (larutan Alfa naftilamin dan Asam sulfanilat). Terjadi perubahan warna merah muda atau merah dalam waktu sekitar 10 menit.

• Uji Voges Proskauer

Inokulasikan 1 sengkelit biakan pada 5 mL media modifikasi VP, diinkubasi pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Tambahkan 0,6 mL

larutan alfa-naftol dan 0,2 mL larutan KOH 40%. Aduk dan tambahkan sedikit kristal kreatin, biarkan selama 1 jam pada suhu ruangan. Amati perubahan warna yang terjadi. Uji dinyatakan positif jika terjadi warna merah muda.

- **Uji Tirosin**

Inokulasikan 1 sengkelit koloni tersangka pada permukaan tyrosine agar miring. Inkubasi agar miring pada suhu 35 °C selama 48 jam. Amati daerah jernih di sekitar pertumbuhan, yang mengindikasikan bahwa tirosin telah diuraikan.

- **Uji Lisozim**

Inokulasikan biakan pada 2,5 mL media Nutrient Broth yang mengandung 0,001 % lisozim, inkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Dilakukan uji kontrol positif ( dalam 2,5 mL Nutrient Broth ) secara bersamaan. Amati adanya pertumbuhan pada kedua media. Bila tida terjadi pertumbuhan inkubasi dilanjutkan selama 24 jam berikutnya.

- **Uji Motilitas**

Inokulasikan biakan pada media Nutrient Broth inkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Inokulasikan suspensi biakan pada media motility untuk *Bacillus cereus* secara tusuk. Inkubasi tabung pada suhu 30 °C selama 18-24 jam. Amati pertumbuhan pada garis tegak lurus. *Bacillus cereus* bersifat motil.

- **Uji aktifitas hemolitik**

Tandai bagian bawah lempeng Trypticase soy sheep blood Agar menjadi 6-8 bagian. Inokulasikan 1 sengkelit biakan suspensi 24 jam , pada permukaan setiap bagian yang telah berisi Trypticase soy sheep blood Agar. Inkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Amati adanya hemolisis. *Bacillus cereus* dapat menghemolisis dengan kuat dan membentuk zona 2-4 mm disekeliling koloni.

- **Interpretasi hasil**

**Uji biokimia konvensional**

*Bacillus cereus* dinyatakan positif jika memberikan hasil sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Positif *Bacillus cereus*

Media	Hasil pengamatan
MYP	Koloni merah muda dikelilingi daerah keruh.
Phenol red glucose Broth	Terjadi perubahan warna merah menjadi kuning (positif)
Nitrate broth	Timbul warna merah (positif)
Uji Voges Proskauer	Timbul warna merah muda (positif)
Uji Tirosin	Adanya daerah jernih (positif)
Uji Lisozim	Adanya pertumbuhan (positif)
Uji Motilitas	Motil (positif)
Uji aktifitas hemolitik	Adanya hemolitik (positif)
Pewarnaan Gram	Gram (+), batang berspora

#### Uji biokimia dengan API 50 CH

*Bacillus cereus* dinyatakan positif apabila diperoleh hasil : Excellent identification/ Very good ID/ Good ID/ Acceptable ID.

- Perhitungan

Dipilih cawan yang mengandung 15– 150 koloni terduga (koloni merah muda eosin dan daerah keruh di sekelilingnya). Jumlah *Bacillus cereus* dari sampel dihitung berdasarkan persentase koloni uji yang telah dikonfirmasi sebagai *Bacillus cereus*.

Contoh : Jumlah koloni pada pengenceran  $10^{-4} = 65$ . Dari uji konfirmasi terhadap 5 koloni tersangka, hanya 4 yang terbukti sebagai *Bacillus cereus*. Maka jumlah *Bacillus cereus* per gram atau per mL sampel adalah :  $4/5 \times 65 \times 10^4 \times 10 = 5.200.000$  koloni.

(Catatan : 10 = dikalikan sepuluh karena yang dipipet 0,1 mL)

d. Metode Uji Angka *S. Aureus*

- Homogenisasi sampel.

Sampel ditimbang secara aseptik 25 g dalam wadah yang sesuai, ditambahkan 225 mL larutan Peptone Dilution Fluid (PDF) kemudian dihomogenkan hingga diperoleh suspensi dengan pengenceran  $10^{-1}$ .

- Pengenceran

Suspensi pengenceran  $10^{-1}$  diencerkan hingga tingkat pengenceran  $10^{-4}$ .

- Inokulasi dan inkubasi

Suspensi tiap pengenceran diinokulasikan 1 mL dengan cara sebar ke permukaan 3 lempeng media Baird Parker Agar masing-masing 0,3 mL, 0,3 mL dan 0,4 mL. Suspensi disebar-ratakan menggunakan batang kaca bengkok steril dan diinkubasi pada 37°C selama 24 -48 jam dengan posisi cawan dibalik. Dipilih cawan dengan jumlah koloni yang tumbuh antara 20 – 200, kemudian dihitung. Dipilih 10 koloni spesifik, masing-masing diinokulasi ke media NA/TSA miring, inkubasi pada 37 °C selama 24 jam

- Konfirmasi/Uji Biokimia

Identifikasi / konfirmasi dilakukan menggunakan biakan pada TSA atau NA miring, dengan reaksi uji biokimia secara konvensional atau menggunakan kit API Staph . Adapun uji biokimia secara konvensional adalah sebagai berikut :

- Sepuluh koloni spesifik masing-masing diinokulasi pada media BHIB, diinkubasi pada 37 °C selama 18-24 jam.
- Diambil 0,1 mL dari biakan BHIB, kemudian ditambahkan 0,3 mL plasma kelinci, diinkubasi pada 37 °C selama 4-6 jam
- Diamati terjadinya koagulasi plasma kelinci dalam setiap tabung

- Interpretasi hasil

- Uji biokimia konvensional

Biakan dinyatakan sebagai positif *Staphylococcus aureus* bila diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 4, Hasil Uji Biokimia *Staphylococcus aureus* Positif

Keterangan	Hasil Pengamatan
Lempeng BPA	koloni bulat, halus, konveks, lembab, diameter 2-3 mm, berwarna abu-abu kehitaman, memucat di tepi koloni, dan apabila dicuplik dengan sengkelit, koloni tampak seperti mentega sampai lengket
	Positif
Mikroskopik	Gram positif bentuk kokus, berkelompok seperti anggur

- Uji menggunakan kit API Staph  
*Staphylococcus aureus* dinyatakan positif apabila menunjukkan hasil *Excellent identification/ Very good ID/ Good ID/ Acceptable ID.*
- Perhitungan

Angka *S. aureus* dinyatakan berdasarkan persentase koloni spesifik yang telah dikonfirmasi sebagai *S. aureus* (koagulase positif) dikalikan jumlah koloni dari tiga cawan (triplo), dan faktor pengenceran.

$$\text{Angka } S. \text{ aureus} : \frac{A}{10} \times B \times C$$

A = koloni spesifik *S. aureus* (koagulase positif)

B = jumlah koloni terduga *S. aureus* dari tiga cawan (triplo)

C = faktor pengenceran

*Contoh*

Penghitungan koloni terduga *S. aureus* pada pengenceran  $10^{-2}$  (C) adalah 90 (B), dan dari 10 koloni yang dikonfirmasi ternyata 9 positif (A) sebagai *S. aureus*, maka angka *S. aureus* per gram atau per mL sampel adalah:

$$\text{Angka } S. \text{ aureus} : \frac{9}{10} \times 90 \times 10^{-2} = 81 \times 10^{-2} \text{ koloni/g}$$

e. Metode Uji *Enterobacteriaceae*

- Homogenisasi sampel

Sampel ditimbang secara aseptik 10 g dalam wadah yang sesuai, ditambahkan 90 mL Single Strength Buffered Peptone Water, kemudian dihomogenkan hingga diperoleh suspensi dengan pengenceran  $10^{-1}$ . Inkubasi pada 30 °C selama 24 ± 2 jam.

- Tahap Pengkayaan

Suspensi pengenceran  $10^{-1}$  secara aseptik dipipet 1 mL dinokulasikan pada 10 mL Enterobacteriaceae Enrichment Broth dan kemudian diinkubasi pada 30 °C selama 24 ± 2 jam.

- Isolasi

Biakan pengkayaan diinokulasikan 1 sengkelit pada permukaan VRBGA, diinkubasi pada 30 °C selama 24 ± 2 jam. Koloni spesifik yang tumbuh pada VRBGA diamati. Koloni spesifik berwarna merah sampai ungu, diameter 0,5 mm atau lebih besar, dengan atau tanpa zona presipitasi. Koloni spesifik dari VRBGA dilanjutkan untuk uji konfirmasi

- Konfirmasi/Uji Biokimia

• Uji Fermentasi

Sebelum digunakan, panaskan Glucose Agar selama 10 menit dan biarkan memadat. Biakan diinokulasikan dengan cara tusuk pada media Glucose Agar tegak. Biakan yang sama juga diinokulasikan pada media nonselektif seperti NA atau PCA. Inkubasikan pada 37 °C selama 24 ± 2 jam. Amati perubahan warna yang terjadi pada media Glucose Agar. Hasil positif apabila berubah menjadi kuning. Enterobacteriaceae memberikan hasil positif.

• Uji oksidase sebagai berikut :

Totolkan biakan dari NA atau PCA pada kertas sitokrom-oksidase menggunakan ose platina. Amati perubahan warna bekas penotolan. Jika terjadi perubahan warna menjadi ungu tua dalam waktu 5-10 detik, oksidase dinyatakan positif dan bila tidak terjadi perubahan warna, oksidase dinyatakan negatif. *Enterobacteriaceae* memberikan hasil oksidase negatif.

• Interpretasi hasil

*Enterobacteriaceae* dinyatakan positif bila diperoleh hasil pengujian sebagai berikut :

Tabel 5. Hasil Uji Biokimia *Enterobacteriaceae* Positif

Jenis uji	Hasil
Oksidase	Tidak terjadi perubahan warna
Fermentasi	Perubahan warna media menjadi kuning

f. Metode Uji *Salmonella*

- Tahap Pra-Pengkayaan (Pre-Enrichment)  
Sampel ditimbang secara aseptik 25 g dalam wadah steril yang sesuai, ditambahkan 225 mL media Buffered Peptone Water (BPW) kemudian dihomogenkan. Suspensi sampel kemudian diinkubasi pada  $37 \pm 1$  °C selama 18 -20 jam.
- Tahap Pengkayaan (Enrichment)  
Suspensi pra-pengkayaan dipipet 0,1 mL diinokulasikan ke dalam 10 mL media Rappaport Vassiliadis + Soya (RVS) diinkubasi pada  $41,5 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam dan untuk 10 mL media Muller Kauffman Tetrathionate Novobiocin Broth (MKTn) diinokulasi dengan 1 mL suspensi pra-pengkayaan kemudian diinkubasi pada  $37 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam.
- Tahap Isolasi  
Suspensi biakan RVS dan MKTn masing-masing inokulasikan pada lempeng media selektif Brilliant Green Agar (BGA) dan Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD), kemudian diinkubasikan pada  $37 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam dengan posisi cawan dibalik.  
Koloni spesifik yang tumbuh pada masing-masing media selektif diamati, dipilih satu atau lebih koloni untuk diinokulasikan pada media agar miring Tryptose Soy Agar (TSA) atau Nutrient Agar (NA) dan diinkubasi  $37 \pm 1$  °C selama 24 - 48 jam, selanjutnya digunakan sebagai stok biakan untuk uji konfirmasi.
- Tahap Identifikasi /konfirmasi  
Identifikasi / konfirmasi dilakukan menggunakan biakan pada TSA atau NA miring, dengan reaksi uji biokimia secara konvensional atau menggunakan kit API 20E . Adapun uji biokimia secara konvensional adalah sebagai berikut :

- Triple Sugar Iron Agar (TSIA)  
Biakan diinokulasikan dengan cara digoreskan pada bagian miring (slant) dan ditusukkan pada bagian agar tegak (butt) kemudian diinkubasi pada  $37 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam. Diamati perubahan warna biakan yang terjadi.
- Urea Agar  
Biakan diinokulasikan dengan cara digoreskan pada permukaan agar miring dan diinkubasikan pada  $37 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam. Diamati perubahan warna biakan yang terjadi.
- Lysine Decarboxylase Broth (LDB)  
Biakan diinokulasikan menggunakan sengkelit pada media LDB dan diinkubasikan pada  $37 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam. Diamati perubahan warna biakan dan kekeruhan yang terjadi.
- Voges-Proskauer (VP)  
Biakan diinokulasikan menggunakan sengkelit pada media VP dan diinkubasikan pada  $37 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam. Pada biakan ditambahkan 3 tetes larutan alfa naftol dan 2 tetes larutan KOH 40%. Diamati perubahan warna biakan yang terjadi.
- Tryptone Broth (uji indol)  
Biakan diinokulasikan menggunakan sengkelit pada media Tryptone Broth atau Tryptophan Broth dan diinkubasikan pada  $37 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam. Pada biakan kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan Kovac's. Diamati terbentuknya cinsin berwarna merah cherry di permukaan biakan yang terjadi.
- Beta-galactosidase (ONPG)  
Biakan disuspensikan dalam 0,5 mL larutan NaCl 0,85%, masukkan sebuah cakram ONPG secara aseptis dan diinkubasikan pada  $37 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam. Diamati perubahan warna biakan yang terjadi.
- Uji Serologi  
Biakan dicampurkan menggunakan sengkelit pada setetes larutan NaCl fisiologis di permukaan gelas objek, diamati jika tidak terjadi

aglutinasi spontan maka dilanjutkan dengan penetesan antisera polivalen O, H dan Vi diamati dengan menggoyang – goyang gelas objek dan diamati dengan seksama. Diamati terjadinya aglutinasi pada gelas objek. Untuk uji antisera polivalen H, biakan diinokulasi pada media NA semi-padat dan diinkubasi pada  $37 \pm 1$  °C selama  $24 \pm 3$  jam.

- Interpretasi Hasil

TSIA	: Butt (positif) ; Slant (negatif) dengan atau pembentukan $H_2S$
Urea Agar	: Negatif
LDB	: Positif
Beta galaktosidase	: Negatif
VP	: Negatif
Indol	: Negatif

## 5. Pengumpulan data sekunder

Prosedur pengumpulan data sekunder dari pabrik tentang penerapan sistem manajemen keamanan pangan pada industri formula bayi :

- BPOM melakukan audit sarana untuk Penerapan Cara Produksi Pangan yang Baik (CPPB).
- Analisis dan evaluasi hasil inspeksi sarana produksi formula bayi dalam kurun waktu 2010-2011.
- Verifikasi penerapan Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP)/ISO 22000
- Analisis dan evaluasi Sertifikat Analisis (*CoA-Certificate of Analysis*) produk formula bayi impor

## 6. Pelaporan hasil pengujian

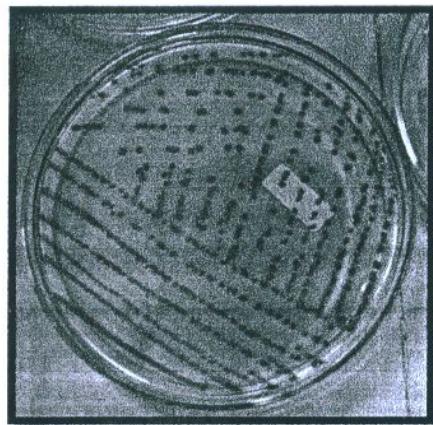
Pelaporan hasil pengujian seluruh sampel formula bayi akan dinyatakan sebagai pernyataan positif atau negatif dalam 10 gram sampel formula bayi, untuk pemeriksaan *E. Sakazakii*, *Enterobacteriaceae*, sedangkan *Salmonella sp* positif atau negatif dalam 25 gram. Untuk *S.aureus* batas maksimum  $1 \times 10^1$  kol/g dan *Bacillus aureus* batas maksimum  $1 \times 10^2$  koloni/g.

### **III. Hasil Pengujian Formula bayi**

Data terkini hasil sampling dari BPOM, menunjukkan bahwa ada 47 merek /produk terdaftar formula bayi yang beredar di pasaran di 23 provinsi di Indonesia. Dari 47 produk terdaftar 41 produk mempunyai 2 nomor bets dan 6 produk hanya ada 1 nomor bets, sehingga jumlah keseluruhan sampel adalah 88 sampel. Berdasarkan kesepakatan jumlah analisis untuk tiap unit sampel per nomor pendaftaran, maka sejumlah 88 sampel formula bayi dianalisis dan setiap sepertiga dari jumlah tersebut dianalisis di tiga laboratorium. Laboratorium PPOMN- BPOPM mendapat 60 sampel, Laboratorium Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan 59 sampel dan Laboratorium IPB mendapat 64 sampel. Data sampel uji dapat dilihat pada Lampiran 2.

Validasi dilakukan pada metode pengujian yang mengacu pada referensi dari CAC, yakni ISO/TS 22964:2006 ini sebelum melangkah pada pengujian sampel guna mengetahui apakah metode dapat digunakan untuk uji *E.sakazakii* dan menghasilkan data yang valid. Sebagai tahap validasi terhadap metode pengujian digunakan Kontrol positif.

Dari 155 sampel yang telah diinokulasikan dengan kultur *E.sakazakii* ATCC 51329, seluruh sampel yang dilakukan pengujian menunjukkan adanya pertumbuhan koloni tipikal berupa koloni hijau biru pada media isolasi agar-agar kromogenik (Gambar 3); sehingga dapat dikatakan positif *E. sakazakii* di dalam 10 gram sampel yang diuji atau disimpulkan bahwa seluruh sampel mengandung *E. sakazakii* (*Cronobacter spp*) (Lampiran 3). Hasil ini menunjukkan bahwa metode uji ISO/TS 22964:2006 merupakan metode yang sensitif dan valid untuk mendeteksi *E. sakazakii*.



Gambar 3. Koloni tipikal *E. sakazakii* (*Cronobacter* spp.) pada media isolasi kromogenik ESIA

Hasil pengujian sampel formula bayi dari ke-tiga laboratorium dapat diketahui pada Tabel 6 .

Tabel 6. Hasil Uji *E.sakazakii* (*Cronobacter* spp) dalam Formula Bayi

No.	Jumlah sampel (N)	Hasil Pengujian <i>E.sakazakii</i>		
		IPB	BPOM	Balitbang/ Kemkes
1	64(100%)	Negatif/10 g		
2	60(100%)		Negatif/10 g	
3	59(100%)			Negatif/10 g

Secara keseluruhan ada 88 sampel formula bayi yang telah dilakukan pengujian menunjukkan bahwa pada seluruh sampel formula bayi **tidak ditemukan** bakteri *E. Sakazakii* (negatif dalam 10 g).

Hasil pengujian mikroba lain selain *E. sakazakii* (ALT, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* sp, *S.aureus*, *Bacillus cereus* ).dapat diketahui pada Tabel di bawah ini.

Tabel 7. Hasil Uji Mikroba lain (ALT, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella sp*, *S.aureus*, *Bacillus cereus* ).

Jumlah sampel	ALT < 1 x 10 <sup>4</sup>		<i>Enterobacteriaceae</i>		<i>Salmonella sp</i>		<i>S.aureus</i> < 1x 10 <sup>1</sup>		<i>B.cereus</i> < 1 x 10 <sup>1</sup>	
	BPOM	Balit-bang	BPOM	Balit-bang	BPOM	Balit-bang	BPOM	Balit-bang	BPOM	Balit-bang
88 (50%)	MS		Negatif// 10 g		Negatif// 25 g		MS		MS	
88 (50%)		MS		Negatif// 10 g		Negatif// 25 g		MS		MS

Keterangan :

MS = memenuhi syarat

Secara keseluruhan ada 88 sampel formula bayi yang telah dilakukan pengujian menunjukkan bahwa pada seluruh sampel formula bayi **tidak ditemukan** bakteri *Enterobacteriaceae* (negatif dalam 10 g), *Salmonella sp* (negatif dalam 25 g), ALT memenuhi syarat < 1 x 10<sup>4</sup> dan *S.aureus serta B.cereus* memenuhi syarat < 1 x 10<sup>1</sup>

Hasil pengumpulan data yang diperoleh dari observasi adalah sebagai berikut :

Pabrik telah menerapkan cara produksi pangan yang baik (GMP/*Good Manufacturing Practic*) dan telah memverifikasi penerapan *Hazard Analysis Critical Control Point* (HACCP/ISO 22000) telah dilaksanakan oleh industri formula bayi. Untuk produk impor, analisis dan evaluasi dilakukan melalui sertifikat Analisis (CoA= Certificate of Analysis)

## V. PEMBAHASAN

Standar uji ISO/TS 22964:2006 merupakan metode yang spesifik untuk mendeteksi *E.sakazakii* (*Cronobacter spp*) yang dikembangkan oleh International Organization for Standardization (ISO). Protokol uji dalam ISO/TS 22964:2006 telah diperbaiki atau dimodifikasi dengan penggunaan media isolasi kromogenik yang sangat membantu untuk membedakan *E.sakazakii* (*Cronobacter spp*) dari *Enterobacteriaceae* lainnya yang mungkin ada di dalam formula bayi. Sehingga perlu dilakukan validasi metode. Sedangkan metode penetapan mikroba lain menggunakan metode pemeriksaan ISO untuk ALT, *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* sp, *B. cereus* dan metode BAM (*Bacteriological Analytical Manual*) digunakan untuk pemeriksaan *S.aureus*. Metode ini digunakan karena metode sudah divalidasi dan merupakan metode yang sudah rutin digunakan di BPOM.

Seluruh sampel formula bayi yang diperiksa *E. Sakazaki* dan mikroba lain (ALT, oleh laboratorium Badan Litbangkes Kementerian Kesehatan, BPOM dan IPB menunjukkan hasil negatif atau tidak ditemukan bakteri baik *E. Sakazakii* serta pengujian mikroba lain yang dilakukan oleh BPOM dan Litbangkes. Semua hasil negative atau memenuhi persyaratan Peraturan Kepala BPOM R.I No. HK.006.06.1.52.4011 dan SNI 7388 : 2009. Hasil ini tidak terlepas dari peran pemerintah (Badan POM) dalam melakukan pengawasan melalui inspeksi penerapan sistem manajemen keamanan pangan (GMP/*Good Manufacturing Practic* dan HACCP/*Hazard Analysis Critical Control Point*) oleh industri formula bayi. Di samping itu setiap industri formula bayi juga melakukan pengujian *E sakazakii* dan mikroba lain pada produk akhir sebelum diedarkan. Sedangkan untuk formula bayi impor, setiap pemasukan produk formula bayi ke wilayah Indonesia wajib melampirkan sertifikat analisis yang menyatakan produk tersebut negatif *E. sakazakii*/10 gram.

## VI. KESIMPULAN

1. Hasil pengujian yang dilakukan 3 laboratorium mikrobiologi (BPOM,IPB dan Balitbangkes) menunjukkan bahwa seluruh sampel formula bayi (n=88) yang diuji tidak ditemukan *E. sakazakii* (*Cronobacter spp*) atau negatif dalam 10 gram.
2. Hasil pengujian yang dilakukan 2 laboratorium mikrobiologi (BPOM dan Balitbangkes) menunjukkan bahwa seluruh sampel formula bayi (n=88) yang diuji tidak ditemukan *Enterobacteriaceae* atau negatif dalam 10 gram, *Salmonella sp* atau negatif dalam 25 gram, dan ALT (30° C), 72 jam) tidak melebihi batas  $1 \times 10^4$  kol/g, *Staphylococcus aureus* tidak melebihi batas  $1 \times 10^1$  kol/g, serta *Bacillus cereus* tidak melebihi batas  $1 \times 10^2$  kol/g
3. Sarana Produksi Formula Bayi telah Memenuhi persyaratan GMP dan telah menerapkan Sistem HACCP dalam proses produksi
4. Hasil-hasil tersebut di atas menunjukkan bahwa produk formula bayi yang beredar di indonesia memenuhi standar untuk batas mikroba seperti yang dipersyaratkan dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan No. HK. 00.06.1.52.4011 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan dan Standar Codex (CAC/RCP 66-2008).

## DAFTAR PUSTAKA

1. Estuningsih S, Kress C, Hassan AA, Akineden Ö, Schneider E, dan Usleber E. 2006. *Enterobacteriaceae* in dehydrated powdered infant formula manufactured in Indonesia and Malaysia. *Journal of Food Protection* 69: 3013-3017.
2. Fauzi M, Putusan MA tidak kunjung dilaksanakan, MI Media Indonesia.com, Kamis 3 Maret 2011, diperoleh dari www.mediaindonesia.com, 3 Maret 2011
3. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2011, Penjelasan Hasil Pengujian Susu Formula, Nomor: HM.04.02.1.23.02.11.01067.Jakarta
4. Gitapratwi D, Dewanti-Hariyadi R, Hidayat SH. 2010. Genetic Diversity of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) Isolated from Utensils Related to Powdered Infant Formula (PIF) Handling, PIF and Other Dried Food Products. Dipresentasikan pada *Graduate Student Research Paper Competition*, Pertemuan Tahunan Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI), Jakarta, 29 – 30 September 2010.
5. WHO 2007, Food Safety, *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula : meeting report, MRA Series 6, 27 Februari 2007.
6. White MN, 1998, Biological Characterization of *Enterobacter sakazakii*, Desertation, Ottawa-Carleton Institute of Biology, Canada
7. Codex Alimentarius Commision, Risk Profile of *Enterobacter sakazakii* and Other Microorganisms in Powdered Infant Formula, Januari 2004, Prepared by USA and Canada
8. Iversen C, Lehner A, Mullane N, Marugg J, Fanning S, Stephan R dan Joosten H. 2007a. Identification of “*Cronobacter*” spp (*Enterobacter sakazakii*). *J Clin Microbiol* 45:3814-3816.
9. Iversen C, Lehner A, Mullane N, Bidlas E, Cleenwerck I, Marugg J, Fanning S, Stephan R dan Joosten H. 2007b. The taxonomy of *Enterobacter sakazakii*: Proposal of a New Genus *Cronobacter* gen. nov. and Description of *Cronobacter sakazakii* subsp. *sakazakii*, comb. nov., *Cronobacter malonaticus* subsp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov. and *Cronobacter genomospecies I*. Research Article. *BMC Evolutionary Biology* 7:64.
10. Iversen C, Mullane N, McCardell B, Tall BD, Lehner A, Fanning S, Stephan R dan Joosten H. 2008. *Cronobacter* gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of *Enterobacter sakazakii*, and proposal of *Cronobacter sakazakii* gen. nov., comb. nov., *Cronobacter malonaticus* sp. nov., *Cronobacter turicensis* sp. nov., *Cronobacter muytjensii* sp. nov., *Cronobacter dublinensis* sp. nov., *Cronobacter* genomospecies 1, and of three subspecies, *Cronobacter dublinensis* subsp. *dublinensis* subsp. nov., *Cronobacter dublinensis* subsp. *lausannensis* subsp. nov. and *Cronobacter dublinensis* subsp. *lactaridi* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 58: 1442-1447.
11. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2002. *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula – Tennessee, 2001. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 51: 297-300.

12. Gassem MA. 1999. Study of the microorganisms associated with the fermented bread (khamir) produced from sorghum in Gizan region, Saudi Arabia. *J Appl Microbiol* 86(2): 221-225.
13. Iversen C dan Forsythe SJ. 2003. Risk Profile of *Enterobacter sakazakii*, an emergent pathogen associated with infant milk formula. *Trends in Food Science and Technology* 14:443 – 454
14. Iversen C, Lane M, Forsythe SJ. 2004. The Growth Profile, Thermotolerance and Biofilm Formation of *Enterobacter sakazakii* Grown in Infant Formula Milk. *Letters in Applied Microbiology* 38: 378-382.
15. Muytjens HL, Roelofs WH, dan Jasper GHJ. 1988. Quality of powdered substituted for breast milk with regard to members of the family *enterobacteriaceae*. *Journal of Clinical Microbiology* 26: 743 – 746
16. Skladal P, Mascini M, Salvadori C, dan Zannoni G. 1993. Detection of Bacterial Contamination in Sterile UHT Milk Using an L-Lactetae Biosensor. *Enzyme and Microbiol Technology* 15:508-512.
17. Shaker R, Osaili T, Al-Omary W, Jaradat Z, dan Al-Zuby M. 2007. Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp. from food and food production environments. *Food Control* 18: 1241–1245.
18. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2002. *Enterobacter sakazakii* infections associated with the use of powdered infant formula – Tennessee, 2001. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 51: 297-300.
19. FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. 2004. *Enterobacter sakazakii* and other microorganisms in powdered infant formula. Meeting report. Geneva, Switzerland, 2-5 February 2004. *[FAO/WHO] Microbiological Risk Assessment Series*, No. 6.
20. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2011, Penjelasan Hasil Pengujian Susu Formula, Nomor: HM.00.06.1.52.4011, Jakarta

## UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselenggaranya penelitian/survei ini sampai dengan terselesaikannya pembuatan laporan ini kami ucapkan terima kasih kepada :

1. Kepala Badan Litbangkes
2. Kepala Badan POM
3. Kepala Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan
4. Kepala PPOMN,Badan POM
5. IPB (Institut Pertanian Bogor)
6. Teman-teman peneliti dan litkayasa dari Balitbangkes
7. Teman-teman kerja dari BPOM dan PPOMN –BPOM
8. Peneliti dari IPB

Semua telah membantu lancarnya penelitian dan sumber dana yang diperoleh dari Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan serta bantuan metode serta kelengkapan penelitian baik dari BPOM dan IPB.

## LAMPIRAN

Tabel 8. Hasil Pengujian *E. Sakazakii* pada Susu Formula

No	NOMOR PENDAFTARAN	PRODUSEN/IMPORTIR	NAMA BETS	KODE SAMPEL	IPB	BPOM	KEMENKES	Kesimpulan
1	MD. 810509430040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	1910441	546	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
2			1911091	988		Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
3	ML. 510502002069	PT. Mead Johnson Indonesia	9E54224	264	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
4	MD. 810412328001	PT. Sari Husada	15121OBRC	228	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
5			12101OBRC	414	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
6	ML. 810411076019	PT. Mead Johnson Indonesia	1638 JLC0913	672		Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
7			1509 JJCO929	864	Negatif/10 g		Negatif/10 g	Negatif/10 g
8	MD. 810412072003	PT. MIROTA KSM INC	0WWE5	176	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
9			0WWE6	489		Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
10	MD. 810210194008	PT. SUGIZINDO	270110BRE	464	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g

11	MD. 810409408040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	0907822	704	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
12			0907821	549		Negatif/10 g	Negatif/10 g
13	ML. 810417018124	PT. Wyeth Indonesia	OL21D2	373	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
14			1A27D1	275	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
15	ML. 510406002076	PT. Fonterra Brands Indonesia	2011	584		Negatif/10 g	Negatif/10 g
16			2051	582	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
17	ML. 510202012008	PT. Mead Johnson Indonesia	OJ60865	324	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
18	ML. 510415007019	PT. Abbott	95101QU04	179	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
19			95168QU01	350		Negatif/10 g	Negatif/10 g
20	ML 510411078019	MEAD JOHNSON NUTRITION (PHILIPPINES)	JAM0934	371	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
21			JJC0925	209	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
22	ML 810411010043	NESTLE PHILIPPINES INC	101601894A	490	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
23			0325018894C	234		Negatif/10 g	Negatif/10 g
24	ML 510202006035	NV NUTRICIA	233845	740	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g

25			235536	281	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
26	ML 510204001656	PBM NUTRITIONALS	H27HV3VV	906	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
27	ML 510420001071	SHS INTERNATIONAL LTD	100180980	498	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
28	MD. 810412259001	PT. Sari Husada	010710V1C	315	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
29			271010V1C	376			
30	MD. 810409118005	PT. Frisian Flag	HFT TM	576			
31			EKN MY	811	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
32	MD. 510409407040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	0905891	756	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
33			0900853	885	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
34	MD. 810413370001	PT. Nestle Indonesia	0301022731	587			
35			1005022722	386	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
36	MD. 810409335040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	1911201	157	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
37			1910271	790			
38	MD. 809010195008	PT. Sugizindo Bogor 16810, Indonesia	130210VLC	481	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g

39			010610VLC	230	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
40	MD. 809012327001	PT. Sari Husada	260310LMC	953	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
41			271010LME	516	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
42	MD. 509009238040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	9905501	526	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
43			9903291	178	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
44	ML. 510402009035	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	235185	431	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
45			235392	796	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
46	MD. 510409287040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	0906292	614	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
47			0900951	636	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
48	MD. 810409288040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	0906931	225	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
49			0907892	248	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
50	MD. 510409334040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	1912122	271	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
51			0974431	544	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
52	ML. 510402003079	PT. Nestle Indonesia	01590346AA	433	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g

53			03200346AC	467		Negatif/10 g		Negatif/10 g
54	MD. 510410016989	PT. Kalbe Morinaga Indonesia	10V2606KB21	374	Negatif/10 g	Negatif/10 g		Negatif/10 g
55			10S2702KB31	707		Negatif/10 g		Negatif/10 g
56	MD. 810413377001	PT. Nestle Indonesia	0335022731	902	Negatif/10 g	Negatif/10 g		Negatif/10 g
57			0359022731	920	Negatif/10 g	Negatif/10 g		Negatif/10 g
58	ML. 810411066019	PT. Mead Johnson Indonesia	JLC0914	590	Negatif/10 g	Negatif/10 g		Negatif/10 g
59			JLC0917	574		Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
60	ML. 510202009008	PT. Mead Johnson Indonesia	3259L51855	837	Negatif/10 g	Negatif/10 g		Negatif/10 g
61			2639J51880	438	Negatif/10 g	Negatif/10 g		Negatif/10 g
62	ML. 510702004079	PT. Nestle Indonesia	01960346AE	435	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
63	ML. 510402004069	PT. Mead Johnson Indonesia	CH52956	459	Negatif/10 g	Negatif/10 g		Negatif/10 g
64			OK62546	682	Negatif/10 g	Negatif/10 g		Negatif/10 g
65	ML. 510202002079	PT. Nestle Indonesia	10170346AG	408		Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
66			03230346AD	966	Negatif/10 g	Negatif/10 g		Negatif/10 g

67	ML. 510412013040	PT. Nestle Indonesia	028800017L1	422	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
68			03140017M1	825	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
69	MD. 510710017989	PT. Kalbe Morinaga Indonesia	10Y1801KB31	870	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
70			10Z2601KB21	214	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
71	ML. 510411065019	PT. Mead Johnson Indonesia	JGC0931 0350	964	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
72			JFC0929 0615	562	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
73	ML. 510224009008	PT. Wyeth Indonesia	OL276F01	752		Negatif/10 g	Negatif/10 g
74			OJ036F01	570	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
75	ML. 5104150008019	PT. Abbott	95104QU01	250	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
76			01040QU02	560		Negatif/10 g	Negatif/10 g
77	ML. 510702012060	PT. Abbott	88010NR	618	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
78			94109NR	444	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
79	MD. 810410019989	PT. Kalbe Morinaga Indonesia	10U1203KA31	144		Negatif/10 g	Negatif/10 g
80			10V2102KA32	554	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g

81	ML. 510417001245	PT. Wyeth Indonesia	OH05B2	823	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
82		OJ01B1	192		Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
83	MD. 810413009417	PT. Netania Kasih Karunia, Pasuruan	B1L 02 400B	134	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
84		B1L 17 400B	588	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
85	MD 810412270001	PT. SARI HUSADA	100311S1C	826		Negatif/10 g	Negatif/10 g
86		080411S1C	529	Negatif/10 g		Negatif/10 g	Negatif/10 g
87	ML.510702013008	PT. Mead Johnson Indonesia	OA60444	522	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
88		OC63258	917	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g	Negatif/10 g
				64	60	59	

**Tabel 9. Hasil Pengujian ALT, *Salmonella* sp, *Enterobacteriaceae*, *S.aureus*, *B. cereus***

No	NOMOR PENDAFTARAN	NAMA PRODUSEN/IMPOR TIR	KODE BETS	KODE SAMPEL	ALT $< 1 \times 10^4$ kol/g	HASIL UJI BPOM DAN KEMKES	Kesimpulan			
							<i>Salmonella</i> sp/ 25 g	Enterobacte- riacae/ 10 g	<i>Staphyloco-</i> <i>aureus</i> $1 \times 10^7$ kol/g	<i>B.Cereus</i> $1 \times 10^2$ kol/g
1	MD. 810509430040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	1910441	546	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
2			1911091	988	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
3	ML. 510502002069	PT. Mead Johnson Indonesia	9E54224	264	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
4	MD. 810412328001	PT. Sari Husada	15121OBRC	228	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
5			12101OBRC	414	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
6	ML. 810411076019	PT. Mead Johnson Indonesia	1638 JLC0913	672	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
7			1509 JJC0929	864	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
8	MD 810412072003	PT. MIROTA KSM INC	0WW0E5	176	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
9			0WW0E6	489	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
10	MD 810210194008	PT. SUGIZINDO	270110BRE	464	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
11	MD. 810409408040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	0907822	704	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS

11	MD. 810409408040	P.T. Nutricia Indonesia Sejahtera	0907822	704	MS	Negatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
12		0907821	549	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
13	ML. 810417018124	P.T. Wyeth Indonesia	OL21D2	373	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
14		1A27D1	275	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
15	ML. 510406002076	P.T. Fonteira Brands Indonesia	2011	584	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
16		2051	582	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
17	ML. 510202012008	P.T. Mead Johnson Indonesia	OJ60865	324	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
18	ML. 510415007019	PT. Abbott	95101QU04	179	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
19		95168QU01	350	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
20	ML. 510411078019	MEAD JOHNSON NUTRITION (PHILIPPINES)	JAM0934	371	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
21		JJC0925	209	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
22	ML. 810411010043	NESTLE PHILIPPINES INC	101601894A	490	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
23		0325018894C	234	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
24	ML. 510202006035	NV NUTRICIA	233845	740	MS	Nrgatif/25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS

25			235536	281	MS	Nrgatif 25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
26	ML 510204001656	PBM NUTRITIONALS	H27HV3VV	906	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
27	ML 510420001071	SHS INTERNATIONAL LTD	100180980	498	MS	Nrgatif 25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
28	MD. 810412259001	PT. Sari Husada	010710V1C	315	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
29			271010V1C	376	MS	Nrgatif 25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
30	MD. 810409118005	PT. Fisian Flag	HFT TM	576	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
31			EKN MY	811	MS	Nrgatif 25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
32	MD. 510409407040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	0905891	756	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
33			0900853	885	MS	Nrgatif 25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
34	MD. 810413370001	PT. Nestle Indonesia	0301022731	587	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
35			1005022722	386	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
36	MD. 810409335040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	1911201	157	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
37			1910271	790	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
38	MD. 808010195008	PT. Sugizindo Bogor 16810, Indonesia	130210VLC	481	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS

39			010610VLC	230	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
40	MD. 809012327001	PT. Sari Husada	260310LMC	953	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
41			271010LME	516	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
42	MD. 509009238040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	9905501	526	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
43			9903291	178	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
44	ML. 510402009035	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	235185	431	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
45			235392	796	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
46	MD. 510409287040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	0906292	614	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
47			0900951	636	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
48	MD. 810409288040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	0906931	225	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
49			0907892	248	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
50	MD. 510409334040	PT. Nutricia Indonesia Sejahtera	1912122	271	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
51			0974431	544	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
52	ML. 510402003079	PT. Nestle Indonesia	01590346AA	433	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS

53			03200346AC	467	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
54	MD. 510410016989	PT. Kalbe Moringga Indonesia	10V2606KB21	374	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
55			10S2702KB31	707	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
56	MD. 810413377001	PT. Nestle Indonesia	0335022731	902	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
57			0359022731	920	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
58	ML. 810411066019	PT. Mead Johnson Indonesia	JLC0914	590	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
59			JLC0917	574	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
60	ML. 510202009008	PT. Mead Johnson Indonesia	3259L51855	837	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
61			2639J51880	438	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
62	ML. 510702004079	PT. Nestle Indonesia	01960346AE	435	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
63	ML. 510402004069	PT. Mead Johnson Indonesia	OH52956	459	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
64			OK62546	682	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
65	ML. 510202002079	PT. Nestle Indonesia	10170346AG	408	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
66			03230346AD	966	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS

67	ML_510412013040	PT. Nestle Indonesia	02880017L1	422	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
68			03140017M1	825	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
69	MD_510710017989	PT. Kalbe Moringaga Indonesia	10Y1801KB31	870	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
70			10Z2601KB21	214	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
71	ML_510411065519	PT. Mead Johnson Indonesia	JGC0931	964	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
72			JFC0929 0615	562	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
73	ML_510224009008	PT. Wyeth Indonesia	OL276F01	752	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
74			OJ036F01	570	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
75	ML_510415008019	PT. Abbott	95104QU01	250	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
76			01040QU02	560	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
77	ML_510702012060	PT. Abbott	88010NR	618	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
78			94108NR	444	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
79	MD_810410019989	PT. Kalbe Moringaga Indonesia	10U1203KA3 1	144	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
80			10V2102KA32	554	MS	Nrgatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS

81	ML_510417001245	PT. Wyeth Indonesia	OH05B2	823	MS	Negatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
82		OJ01B1	192	MS	Negatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
83	MD_810413009417	PT. Netaria Kasih Karunia, Pasuruan	B1L 02 400B	134	MS	Negatif.25 g		MS	MS	MS
84		B1L 17 400B	588	MS	Negatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS
85	MD_810412270001	PT. SARI HUSADA	100311S1C	826	MS	Negatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
86		080411S1C	529	MS	Negatif.25 g		MS	MS	MS	MS
87	ML_510702013008	PT. Mead Johnson Indonesia	OA60444	522	MS	Negatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS
88		OC63258	917	MS	Negatif.25 g	Negatif/10 g	MS	MS	MS	MS