

LAPORAN PENELITIAN

METODE PENGUJIAN ANGKA LEMPENG TOTAL (ALT) MENGUNAKAN *PETRIFILM AEROBIC COUNT PLATE* PADA PRODUK PERIKANAN



OLEH :

Ir. Fadjar Kurnia Hartati, MP. (NIDN : 0711116601)

Hak Cipta Penulis Dilindungi Undang-undang (No. 000108205)

**LEMBAGA PENELITIAN
UNIVERSITAS DR. SOETOMO
SURABAYA**

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan Rahmat serta Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Laporan Akhir Penelitian DIPA Universitas Dr. Soetomo ini tepat pada waktunya.

Keberhasilan penyusunan Laporan ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Bahrul Amiq, SH., Mhum, selaku Rektor Universitas Dr. Soetomo Surabaya, beserta jajarannya.
2. Ir. A. Kusyairi, MSi. Selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Dr. Soetomo Surabaya, beserta jajarannya.
3. Ir. Bambang Sigit S., MP. selaku Ketua Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Dr. Soetomo Surabaya.
4. Rekan-rekan Dosen di Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Dr. Soetomo Surabaya.
5. Bapak dan Ibu, H. M. Soehardi dan Hj. Sri Mastuti, yang selalu memanjatkan doa-doa untuk kelancaran dan kemudahan semua urusanku.
6. Suami dan anak-anakku, yang senantiasa mendukung penuh semua cita-citaku.

Demikian penulis berharap agar Laporan Akhir ini bermanfaat bagi pembaca. Penulis menyadari bahwa Laporan ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis mengharap kritik dan saran demi kesempurnaan Laporan ini.

Surabaya,

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
 I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Maksud dan Tujuan.....	2
1.2.1. Maksud.....	2
1.2.2. Tujuan	2
1.3. Pendekatan Masalah.....	2
 II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Pengertian Olahan Hasil Perikanan	4
2.2. Aspek Mikrobiologi	4
2.2.1. Mikrobiologi Secara Umum	4
2.2.2. Mikrobiologi Pangan pada Produk Perikanan	5
2.3. Pengaruh Pengolahan Terhadap Mikroba	6
2.3.1. Pengaruh Pembekuan Terhadap Mikroba.....	7
2.3.2. Pengaruh Pengeringan Terhadap Mikroba	7
2.3.3. Pengaruh Pengalengan Terhadap Mikroba	8
2.3.4. Pengaruh Pasteurisasi Terhadap Mikroba.....	9
2.3.5. Pengaruh Pengolahan dengan Metode Radiasi Terhadap Mikroba	10
2.3.6. Pengaruh Penambahan Senyawa Pengawet pada Pengolahan Terhadap Mikroba	10
2.4. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT).....	12
2.4.1. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) Berdasarkan SNI 01-2332.3-2006.....	12
2.4.2. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) Menggunakan <i>Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate</i>	15
2.5. <i>International Standard Organisation (ISO) 4833</i>	18
 III. METODOLOGI	
3.1. Tempat dan Waktu Pelaksanaan	20
3.2. Metode Kerja Praktek Akhir	20
3.3. Teknik Pengumpulan Data.....	20
3.4. Jenis Data	21

3.5. Teknik Pengolahan dan Analisis Data	21
IV. KEADAAN UMUM.....	22
4.1. Lokasi Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Surabaya	22
4.2. Bidang Kepegawaian	22
4.3. Struktur Organisasi	23
4.3. Sarana dan Prasarana	25
4.3.1. Sarana di LPPMHP Surabaya	25
4.3.2. Prasarana di LPPMHP Surabaya	25
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1. Pengujian Angka Lempeng Total di LPPMHP Surabaya.....	28
5.1.1. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan Menggunakan SNI 01-2332.3-2006	28
5.1.2. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan Menggunakan Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate .	32
5.2. Hasil dan Evaluasi Pengujian ALT menggunakan Metode SNI 01-2332.3-2006 dan <i>Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate</i> Terhadap Kultur Murni Bakteri	36
5.2.1. Hasil Pengujian Terhadap Sampel Kultur Murni Bakteri.....	36
5.2.1.1. Metode <i>Plate Count Agar</i> (PCA)	37
5.2.1.2. Metode <i>Petrifilm AC Plate</i>	39
5.2.2. Evaluasi Metode Terhadap Sampel Kultur Murni Bakteri	42
5.3. Hasil dan Evaluasi Pengujian ALT Menggunakan <i>Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate</i> dan Metode SNI 01-2332.3-2006 Terhadap Produk Perikanan.....	48
5.3.1. Hasil Pengujian dari Sampel Produk Hasil Perikanan.....	48
5.3.1.1. Sampel Produk Hasil Perikanan pada tanggal 29 April 2011	49
5.3.1.2. Sampel Produk Hasil Perikanan pada tanggal 3 Mei 2011	51
5.3.1.3. Sampel Produk Hasil Perikanan pada tanggal 4 Mei 2011	55
5.3.1.4. Sampel Produk Hasil Perikanan pada tanggal 11 Mei 2011	58
5.3.2. Evaluasi Metode Terhadap Sampel Produk Perikanan.....	62
5.4. Identifikasi Waktu Pengujian dan Kapasitas Inkubasi pengujian Angka Lempeng Total (ALT)	64
5.4.1. Identifikasi Waktu Pengujian.....	64
5.4.2. Identifikasi Kapasitas Inkubasi	66
5.5. Kelebihan dan Kelemahan Pengujian Angka Lempeng Total Menggunakan <i>Petrifilm AC Plate</i>	67

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan	71
6.2. Saran	71

DAFTAR PUSTAKA	72
-----------------------------	----

LAMPIRAN	74
-----------------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jumlah Personil di LPPMHP Surabaya.....	23
2. Hasil Pengujian ALT pada Kultur Murni Bakteri dengan Media PCA.....	37
3. Hasil Pengujian ALT pada Kultur Murni Bakteri Menggunakan <i>Petrifilm AC Plate</i>	40
4. <i>Repeatability</i> pada Kultur Murni Bakteri <i>E. Coli</i> dengan media PCA	43
5. <i>Repeatability</i> pada Kultur Murni Bakteri <i>E. Coli</i> menggunakan <i>Petrifilm AC Plate</i>	44
6. <i>Repeatability</i> pada Kultur Murni Bakteri <i>S. Aureus</i> dengan media PCA	45
7. <i>Repeatability</i> pada Kultur Murni Bakteri <i>S. Aureus</i> menggunakan <i>Petrifilm AC Plate</i>	45
8. <i>Repeatability</i> pada Kultur Murni Bakteri <i>Salmonella</i> dengan media PCA	46
9. <i>Repeatability</i> pada Kultur Murni Bakteri <i>Salmonella</i> menggunakan <i>Petrifilm AC Plate</i>	46
10. <i>Reproduksibility</i> Metode Pengujian ALT dengan Sampel Kultur Murni Bakteri <i>E. Coli</i> , <i>S. Aureus</i> dan <i>Salmonella</i>	47
11. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan I dengan Media PCA.....	49
12. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan I menggunakan <i>Petrifilm AC Plate</i>	50
13. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan II dengan Media PCA.....	52
14. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan II Menggunakan <i>Petrifilm AC Plate</i>	53
15. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan III dengan Media PCA.....	55
16. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan III Menggunakan <i>Petrifilm AC Plate</i>	57
17. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan IV dengan Media PCA.....	59
18. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan IV Menggunakan <i>Petrifilm AC Plate</i>	62
19. <i>Reproduksibility</i> Metode Pengujian ALT dengan Sampel Produk Perikanan	69

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alur Pendekatan Masalah	4
2. Media PCA pada Cawan Petri.....	30
3. <i>Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate</i>	32
4. Koloni Kultur Murni Bakteri <i>E. Coli</i> pada Media PCA.....	39
5. Koloni Kultur Murni Bakteri <i>S. Aureus</i> pada Media PCA	39
6. Koloni Kultur Murni Bakteri <i>Salmonella</i> pada Media PCA.....	39
7. Koloni Kultur Murni Bakteri <i>E. Coli</i> (kiri) dan <i>S. Aureus</i> (kanan) pada <i>Petrifilm AC Plate</i>	42
8. Koloni Kultur Murni Bakteri <i>Salmonella</i>	42
9. Kumpulan Air pada Media, Contoh 1276	57
10. Uap Air pada <i>Petrifilm AC Plate</i>	58
11. Pertumbuhan Jamur di Media PCA	68
12. Jamur pada Media PCA Pengamatan Mikroskop, contoh 1256 (kiri) dan 1258 (kanan)	68
13. Karakteristik Bakteri di Media PCA.....	69
14. Karakteristik Bakteri di <i>Petrifilm AC Plate</i>	69
15. Uap Air Bakteri di <i>Petrifilm AC Plate</i>	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Penentuan Angka Lempeng Total (ALT).....	74
2. Terbentunya Air pada Fermentasi Bakteri Asam Laktat (<i>Lactobacillus</i>).....	75
3. About 3M Petrifilm Aerobic Count Plate.....	76

RINGKASAN

PENELITIAN DOSEN PROGRAM STUDI

METODE PENGUJIAN ANGKA LEMPENG TOTAL (ALT) MENGUNAKAN *PETRIFILM AEROBIC COUNT PLATE* PADA PRODUK PERIKANAN DI LABORATORIUM PENGENDALIAN DAN PENGUJIAN MUTU HASIL PERIKANAN (LPPMHP) SURABAYA JAWA TIMUR

Produk perikanan merupakan salah satu andalan Indonesia dalam perolehan devisa negara. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) atau jumlah mikroorganisme, merupakan parameter (tolok ukur) mutu pada produk perikanan. Pengujian ALT di Indonesia sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006. Namun saat ini telah berkembang metode pengujian ALT menggunakan *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate* yang penggunaannya lebih mudah dan cepat.

Tujuan penelitian ini adalah untuk meneliti dan mengevaluasi metode pengujian Angka Lempeng Total (ALT) menggunakan *Petrifilm AC plate* terhadap ketahanannya dalam pengujian ALT pada produk perikanan, serta kesesuaiannya dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006.

Metode penelitian yang digunakan adalah membandingkan hasil pengamatan jumlah mikroorganisme antara metode SNI dan metode *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pengujian yang pertama dengan menggunakan sampel tiga kultur murni bakteri, yaitu *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella*. Penggunaan kultur murni bakteri bertujuan untuk melihat hasil pengujian tanpa adanya kontaminan atau pengaruh dari pertumbuhan bakteri lain, pada masing-masing metode. Kemudian dilakukan pengujian menggunakan beberapa produk perikanan dari perusahaan yang mengujikan produknya di LPPMHP Surabaya. Dari hasil pengujian ini, dilakukan evaluasi metode berdasarkan *International Standard Organisation (ISO) 4883*. Selain itu, juga dilakukan pengamatan terhadap kelebihan dan kekurangan dari pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* dibandingkan SNI 01-2332.3-2006. Dari hasil evaluasi yang telah dilakukan, ternyata semua hasil pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* pada sampel kultur murni dan beberapa produk perikanan, sama dengan hasil pengujian ALT menggunakan SNI 01-2332.3-2006 berdasarkan perhitungan statistik ISO 4883.

Petrifilm AC Plate dapat digunakan dalam pengujian ALT Pada produk perikanan, karena sesuai dengan SNI 01-2332.3-2006 sebagai metode standar pengujian ALT pada produk perikanan. Namun sebaiknya tidak menggunakan *Petrifilm AC Plate* pada pengujian produk perikanan yang diperkirakan mengandung bakteri yang menghasilkan uap air, misalnya Bakteri *Bacillus* pada produk yang mengandung keju.

Keyword: *ALT, Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate, SNI*

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Produk perikanan merupakan salah satu andalan Indonesia dalam perolehan devisa negara. Posisi nilai ekspor produk perikanan Indonesia di pasar dunia pada tahun 2006 menduduki peringkat 10 dengan pasar ekspor utama Indonesia adalah Amerika, Uni Eropa dan Jepang. Pertumbuhan ekspor produk perikanan Indonesia selama 5 (lima) tahun terakhir (2003 – 2007) menunjukkan tren naik, yaitu mencapai rata-rata sebesar 8,28 %. Sebagai contoh: Nilai ekspor perikanan Indonesia tahun 2006 sebesar USD 2,1 Miliar atau meningkat 9 % dibandingkan nilai ekspor tahun 2005 sebesar USD 1,9 Miliar. Tahun 2007 nilai ekspor produk perikanan Indonesia sebesar USD 2,3 Miliar atau meningkat sebesar 9,5 % dibandingkan tahun 2006 (DKP, 2008).

Kemudian, menurut Nanankurnia (2008), kemunduran mutu ikan tidak dapat dipungkiri sebab ikan merupakan produk yang *high perishable* (mudah rusak) sehingga memerlukan penanganan yang khusus. Ditambahkan oleh Riyadi, Dkk (2007), menjelaskan bahwa permasalahan mutu dan keamanan pangan produk hasil perikanan terjadi pada berbagai jenis produk, tahapan kegiatan maupun wilayah dengan berbagai jenis bahan berbahaya dan sumbernya dengan karakteristik yang berbeda. Timbulnya permasalahan ini disebabkan oleh berbagai aspek meliputi teknis, ekonomi, sosial budaya, maupun kelembagaan. Dalam rangka meningkatkan keamanan pangan produk hasil perikanan perlu dilakukan kajian terhadap perumusan pengembangan kebijakan jaminan mutu dan keamanan produk hasil perikanan.

Untuk mengidentifikasi mutu produk perikanan salah satunya dilakukan dengan melakukan pengujian mikrobiologi di laboratorium. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) atau jumlah mikroorganisme, dapat dijadikan parameter (tolak ukur) mutu pada produk perikanan. Pengujian ALT di Indonesia sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006. Namun saat ini telah berkembang metode pengujian ALT menggunakan *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate* yang penggunaannya lebih mudah dan cepat.

Dari uraian diatas, maka penulis pada pelaksanaan Kerja Praktek Akhir (KPA) bermaksud mengambil judul tentang pengujian Angka Lempeng Total (ALT). Kemudian meneliti dan mengevaluasi metode pengujian ALT menggunakan Petrifilm AC Plate terhadap kesesuaiannya dalam pengujian ALT pada produk perikanan, serta

kesesuaiannya dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006, di Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Surabaya Jawa Timur.

1.2 Maksud dan Tujuan

1.2.1 Maksud

Maksud dari Kerja Praktek Akhir (KPA) ini adalah untuk meneliti dan mengevaluasi metode pengujian Angka Lempeng Total (ALT) menggunakan *Petrifilm AC plate* terhadap kesesuaiannya dalam pengujian ALT pada produk perikanan, serta kesesuaiannya dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006.

1.2.2 Tujuan

Tujuan dari Kerja Praktek Akhir (KPA) ini adalah :

1. Meningkatkan pengetahuan serta keterampilan dalam melakukan pengujian Angka Lempeng Total (ALT) menggunakan *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate* dan berdasarkan metode Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006 tentang pengujian ALT.
2. Meneliti dan mengevaluasi metode pengujian Angka Lempeng Total (ALT) menggunakan *Petrifilm AC Plate* terhadap ketahanannya dalam pengujian ALT pada produk perikanan, serta kesesuaiannya dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006.

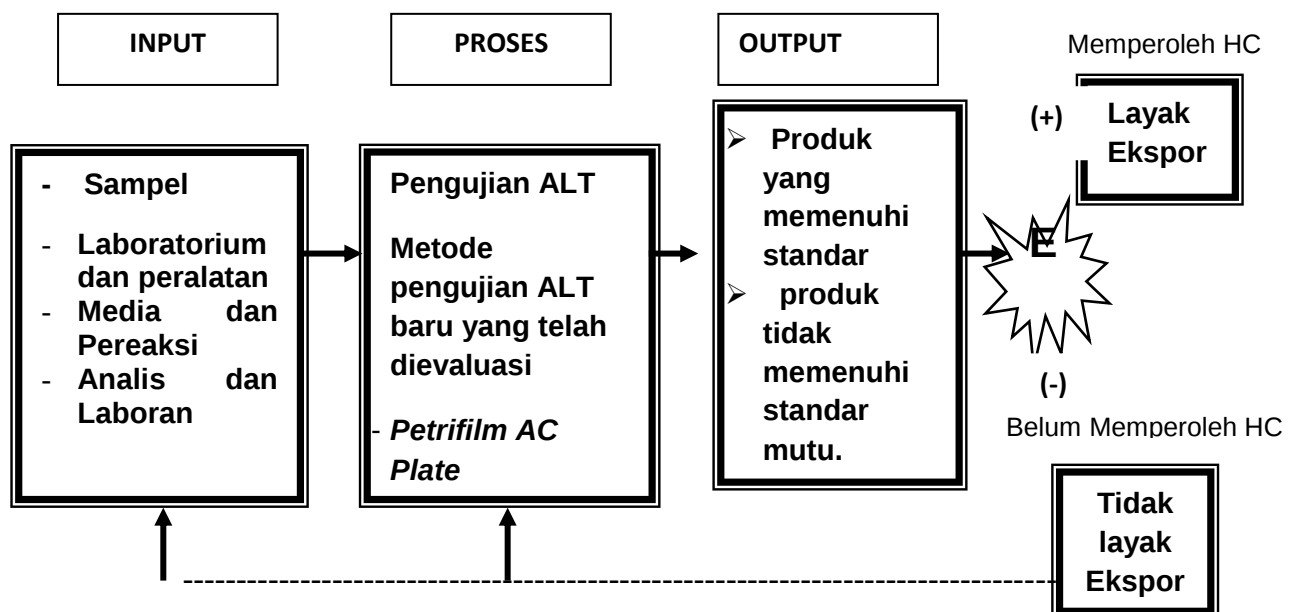
1.3 Pendekatan Masalah

Permasalahan yang sering dihadapi dalam ekspor produk hasil perikanan adalah adanya penolakan dari *buyer* yang disebabkan adanya kerusakan mutu dan kontaminasi bakteri, sehingga produk tersebut tidak memenuhi standar yang layak untuk dikonsumsi, padahal sebelum diekspor produk tersebut telah melalui pengujian mutu terlebih dahulu dan telah memperoleh HC (*Health Certificate*). Hal itu mengakibatkan produk yang diekspor harus dikembalikan lagi pada negara pengeksport atau harus dimusnahkan sehingga dapat menimbulkan kerugian khususnya bagi produsen.

Salah satu permasalahan yang menjadi sorotan adalah kemunduran mutu produk dan adanya bakteri patogen pada produk perikanan, apalagi untuk produk yang berbentuk masak atau siap saji dan tidak dilakukan pemasakan lagi sehingga

persyaratan mutu yang diberikan lebih diperketat dari pada produk setengah jadi atau mentah.

Untuk mengidentifikasi mutu produk perikanan salah satunya dapat dilakukan dengan melakukan pengujian mikrobiologi dilaboratorium. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) atau jumlah mikroorganisme, dapat dijadikan parameter (tolak ukur) mutu pada produk perikanan. Karena dari hasil uji ini dapat dilihat seberapa banyak bakteri atau mikroorganisme dalam produk yang mungkin saja adalah bakteri patogen berbahaya. Pengujian ALT di Indonesia sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006. Saat ini telah berkembang metode pengujian ALT menggunakan *Petrifilm Aerobic Cont (AC) Plate* yang penggunaannya lebih mudah dan cepat. Namun perlu dilakukan penelitian dan dievaluasi ulang ketahanannya terhadap pengujian Angka Lempeng Total (ALT) pada produk perikanan serta kesesuaiannya dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006. Gambar 1. Berikut adalah skema alur pendekatan masalah pada Kerja Praktek Akhir (KPA) ini.



Gambar 1. Alur Pendekatan Masalah

Keterangan :

----- : Garis evaluasi

————— : Garis perintah

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pengertian Olahan Hasil Perikanan

Perikanan adalah kegiatan yang berhubungan dengan pengelolaan dan pemanfaatan sumberdaya ikan dan lingkungannya mulai dari praproduksi, produksi, pengolahan sampai dengan pemasaran, yang dilaksanakan dalam suatu sistem bisnis perikanan. Umumnya, perikanan dimaksudkan untuk kepentingan penyediaan makanan bagi manusia. Selain dari itu, tujuan lain dari perikanan meliputi olah raga, pemancingan ikan yang berkaitan dengan rekreasi, dan mungkin juga menangkap ikan untuk tujuan membuat perhiasan atau mengambil minyak ikan. Usaha perikanan adalah semua usaha perorangan atau badan hukum untuk menangkap atau membudidayakan (usaha penetasan, pembibitan, pembesaran) ikan, termasuk kegiatan menyimpan, mendinginkan atau mengawetkan ikan dengan tujuan untuk menciptakan nilai tambah ekonomi bagi pelaku usaha (komersial/ bisnis) (Admin, 2011).

Ditambahkan oleh Ehsa (2010), bahwa untuk memudahkan kita mendapatkan zat gizi yang ada pada ikan maka diperlukan industri yang mampu melakukan pengolahan ikan. Pengolahan ikan ini dilakukan untuk memperbaiki cita rasa dan meningkatkan daya tahan ikan mentah serta memaksimalkan manfaat hasil tangkapan maupun hasil budidaya. Industri pengolahan ikan telah banyak tersebar khususnya di Indonesia yang merupakan negeri bahari. Berbagai jenis produk telah dihasilkan dengan berbagai merek.

2.2. Aspek Mikrobiologi

2.2.1. Mikrobiologi Secara Umum

Mikrobiologi adalah pengetahuan mengenai organisme hidup yang berukuran mikroskopis. Dunia mikroorganisme terdiri dari lima kelompok organisme : bakteri, protozoa, virus, serta alga dan cendawan mikroskopis. Dalam bidang mikrobiologi kita mempelajari banyak bagian mengenai jasad-jasad renik ini (juga dinamakan mikroba atau protista), dimana adanya, ciri-cirinya, kekerabatan antara sesamanya seperti juga dengan kelompok organisme lainnya, pengendaliannya dan peranannya dalam kesehatan serta kesejahteraan kita (Pelczar dan Chan, 2005).

Ditambahkan oleh Sumarsih (2003), menjelaskan bahwa Mikrobiologi adalah ilmu yang mempelajari mikroba. Mikrobiologi adalah salah satu cabang ilmu dari biologi, dan memerlukan ilmu pendukung kimia, fisika, dan biokimia. Mikrobiologi

sering disebut ilmu praktek dari biokimia. Dalam mikrobiologi dasar diberikan pengertian dasar tentang sejarah penemuan mikroba, macam-macam mikroba di alam, struktur sel mikroba dan fungsinya, metabolisme mikroba secara umum, pertumbuhan mikroba dan faktor lingkungan, mikrobiologi terapan dibidang lingkungan dan pertanian. Mikrobiologi lebih lanjut telah berkembang menjadi bermacam-macam ilmu yaitu virologi, bakteriologi, mikologi, mikrobiologi pangan, mikrobiologi tanah, mikrobiologi industri, dan sebagainya yang mempelajari mikroba spesifik secara lebih rinci atau menurut kemanfaatannya.

Dijelaskan juga oleh Ahira (2010), bahwa mikrobiologi merupakan ilmu pengetahuan yang berinduk ke biologi. Mikrobiologi mempelajari jasad-jasad renik berukuran kecil, khususnya yang tidak dapat diamati dengan mata telanjang dan membutuhkan alat bantu, seperti lup ataupun mikroskop. Perkembangan mikrobiologi yang cukup pesat membuktikan bahwa mikrobiologi adalah cabang ilmu pengetahuan yang mendapat perhatian cukup besar dimasa yang akan datang.

2.2.2. Mikrobiologi Pangan pada Produk Perikanan

UU RI No.7 tahun 1996 dalam ISSN 1829-9334 (2008), menjelaskan bahwa yang dimaksud pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah, yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan dan atau pembuatan makanan atau minuman. Mengingat definisi pangan mempunyai cakupan yang luas, maka upaya untuk mencegah pangan dari kemungkinan tercemar baik dari cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia, merupakan suatu keharusan.

Sebagai salah satu pelaksanaan kegiatan rutin pengawasan paska pemasaran (*Post Marketing Control*) obat dan makanan dan dalam rangka menjamin mutu dan keamanan pangan yang beredar di Indonesia, Laboratorium PPOMN (Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional) Badan POM dan Balai Besar POM atau Balai POM telah melaksanakan pengujian mikrobiologi pangan secara rutin.

Adanya cemaran biologis pada pangan dapat mengakibatkan terjadinya *foodborne diseases*, yaitu penyakit pada manusia yang ditularkan melalui makanan atau minuman yang tercemar. Pangan asal ternak yang terdiri dari daging, telur, susu, pangan asal laut, dan hasil olahannya (seperti dendeng, bakso, sosis, abon, kornet, burger,

mentega, es krim, youghurt, mayonaise, dll.) merupakan bahan pangan yang mengandung protein tinggi, keasaman (pH) kira-kira 4,6 dan kandungan air tinggi (aW >0,85). Hal ini merupakan media yang sangat baik untuk perkembangan mikroorganisme patogen. Dengan demikian dapat dipahami bahwa pangan asal ternak mudah tercemar oleh bakteri patogen penyebab *foodborne diseases*. Saat ini *foodborne diseases* telah menjadi salah satu isu penting bagi kesehatan masyarakat, dan lebih dari 250 *foodborne diseases* telah dilaporkan di seluruh dunia. Sebagian besar penyakit tersebut bersifat infeksius yang disebabkan oleh bakteri, virus, dan parasit. Penyakit lainnya adalah keracunan yang disebabkan oleh toksin/ racun dan bahan kimia yang mencemari makanan. Di Amerika dilaporkan bahwa biaya (*cost*) karena *foodborne diseases* diperkirakan mencapai \$US 20-55 milyar/tahun, yang terdiri dari biaya untuk pengobatan, penurunan produktifitas kerja, kehilangan kesempatan kerja, dll. Dari kira-kira 13,8 juta kasus *foodborne diseases* yang dilaporkan ternyata sebanyak 67% disebabkan oleh cemaran virus, 30% oleh bakteri, dan 3% disebabkan oleh parasit dan jamur (Kusumaningsih, 2010).

Dari penjelasan diatas dapat diambil kesimpulan bahwa mikrobiologi pangan dilakukan untuk menjamin mutu dan keamanan pangan terutama pada produk perikanan. Kegiatan ini dilakukan dengan mengendalikan berbagai jenis mikroba yang terdapat pada berbagai produk hasil perikanan.

2.3. Pengaruh Pengolahan Terhadap mikroba

Proses pengawetan makanan telah lama dikenal dan digunakan oleh manusia, teknologi berjalan seiring dengan meningkatnya kebutuhan manusia akan adanya ketersediaan pangan. Secara umum makanan di alam mempunyai masa penyimpanan (*Shelf life*) yang pendek atau relatif cepat mengalami kerusakan sehingga diperlukan upaya-upaya untuk dapat memperpanjang masa penyimpanan. Masa penyimpanan (*Shelf life*) berbeda dengan masa kadaluarsa, makanan yang telah melewati masa penyimpanan mungkin masih bisa dikonsumsi namun kandungan nutrisi sudah tidak terjamin. Pengawetan makanan/ minuman bisa diartikan sebagai suatu proses untuk menjaga keberadaan nutrisi pada makanan sehingga makanan masih dapat dikonsumsi dengan aman pada waktu yang lama dengan cara membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Trisno, 2010).

Ditambahkan oleh Heri (2011), bahwa Jumlah dan jenis mikroorganisme yang dominan sangat dipengaruhi oleh proses pengolahan yang diterapkan. Populasi

mikroorganisme pada bahan makanan yang mengalami proses pengeringan akan berbeda dengan populasi mikrob yang diawetkan dengan proses pendinginan. Mikroorganisme akan lebih banyak ditemukan pada bahan makanan mentah, karena zat-zat gizi tersedia lebih banyak.

Proses pengolahan selain dapat mengurangi populasi mikroba, terkadang juga dapat menambah populasi mikroba. Hal ini bisa disebabkan karena pemakaian alat-alat pengolahan yang tidak bersih/ steril, pengaruh udara sekitar, air yang digunakan, faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan atau pencampuran dengan bahan-bahan lain yang memungkinkan adanya mikroorgaisme, dan pengaruh. Seperti halnya bahan pangan yang dikeringkan atau dibekukan dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme tertentu, tetapi beberapa jenis mikroorganisme yang tahan terhadap tekanan-tekanan tersebut akan tetap hidup dan berkembang.

2.3.1. Pengaruh Pembekuan Terhadap Mikroba

Pertumbuhan mikroorganisme dalam makanan pada suhu di bawah kira-kira (-12°C) belum dapat diketahui dengan pasti. Jadi penyimpanan makanan beku pada suhu sekitar -18°C dan di bawahnya akan mencegah kerusakan mikrobiologis, dengan persyaratan tidak terjadi perubahan suhu yang besar. Mikroorganisme psikofilik mempunyai kemampuan untuk tumbuh pada suhu lemari es terutama di antara 0°C dan 5°C . Jadi penyimpanan yang lama pada suhu-suhu ini baik sebelum atau sesudah pembekuan dapat mengakibatkan terjadinya kerusakan oleh mikroba (Suhadi, 2010).

Walaupun jumlah mikroba biasanya menurun selama pembekuan dan penyimpanan beku (kecuali spora), makanan beku tidak steril dan sering kali cepat membusuk seperti produk yang tidak dibekukan jika suhu cukup tinggi dan lama penyimpanan pada suhu tersebut cukup lama. Pembekuan dan penyimpanan makanan beku juga mempunyai pengaruh yang nyata pada kerusakan sel mikroba. Jika sel yang rusak atau luka tersebut mendapat kesempatan menyembuhkan dirinya, maka pertumbuhan yang cepat akan terjadi jika lingkungan sekitarnya memungkinkan (Sumarsih, 2003).

2.3.2. Pengaruh Pengeringan Terhadap Mikroba

Pengeringan adalah suatu peristiwa perpindahan massa dan energi yang terjadi dalam pemisahan cairan atau kelembaban dari suatu bahan sampai batas kandungan air yang ditentukan dengan menggunakan gas sebagai fluida sumber panas dan penerima

uap cairan. Proses pengeringan dapat menggunakan sinar matahari maupun menggunakan mesin-mesin pengering. Pemanfaatan sinar matahari dapat menekan biaya sehingga proses ini dengan mudah ditemui pada masyarakat tradisional misalnya untuk pengeringan ikan maupun pengeringan padi. Pemanfaatan mesin pengering banyak digunakan dalam skala industri maupun laboratorium, kelebihanannya yaitu tidak tergantung cuaca dan prosesnya lebih bisa dikontrol. Tujuan dari pengeringan yaitu untuk mengurangi kadar air pada makanan sampai pada kadar tertentu. Pengeringan juga dapat mengurangi berat makanan sehingga mudah dikemas. Mikroorganisme yang mengakibatkan kerusakan makanan tidak dapat berkembang dan bertahan hidup pada lingkungan dengan kadar air yang rendah. Selain itu, banyak enzim yang mengakibatkan perubahan kimia pada makanan tidak dapat berfungsi tanpa kehadiran air (Trisno, 2010).

Ditambahkan oleh Hery (2011), bahwa pada pengeringan salah satu pengendalian mikroorganisme yang bisa dilakukan adalah dengan mengurangi kadar air. Karena mikroorganisme hidup memerlukan air untuk pertumbuhannya, sehingga jumlah air dalam bahan pangan menentukan jenis mikrobial yang memiliki kesempatan untuk tumbuh. Golongan cendawan umumnya dapat tumbuh pada substrat bahan pangan yang memiliki air serendah-rendahnya 12%. Namun ada yang dapat tumbuh pada kandungan air 5%. Bakteri dan khamir memerlukan kadar air yang lebih tinggi, biasanya lebih dari 30%.

2.3.3. Pengaruh Pengalengan Terhadap mikroba

Pengalengan merupakan cara pengawetan bahan pangan dalam wadah yang tertutup rapat dan disterilkan dengan panas. Cara pengawetan ini merupakan yang paling umum dilakukan karena bebas dari kebusukan, serta dapat mempertahankan nilai gizi, cita rasa dan daya tarik. Proses pemanasan kaleng yang dianggap aman adalah yang dapat menjamin bahan makanan tersebut telah bebas dari *Clotridium botulinum*, karena bakteri tersebut menghasilkan toksin yang mematikan dan paling tahan terhadap pemanasan (Bengke, 2008).

Ditambahkan oleh Trisno (2010), bahwa setiap makanan memiliki kemampuan alamiah yang berbeda-beda dalam mempertahankan kualitasnya agar tidak mudah rusak. Buah-buahan yang mengandung kandungan asam yang tinggi seperti strawberry hanya membutuhkan sedikit proses pemanasan ketika proses pengalengan. Sementara buah-buahan seperti tomat membutuhkan pemanasan yang lebih lama dan perlu

ditambahkan zat-zat asam tambahan. Lain halnya dengan makanan yang memiliki kadar asam sangat rendah seperti sayuran dan daging, ketika dikalengkan harus melalui proses tekanan tinggi (*high pressure*). Rendahnya kadar asam pada sayuran dan daging membuat jenis makanan ini memiliki ketahanan yang rendah terhadap mikroorganisme. Tujuan pemberian tekanan udara yang tinggi saat pengalengan dimaksudkan untuk mengusir semua udara termasuk oksigen dari kemasan sehingga mencegah reaksi kimiawi dan enzimatis yang dipicu oleh oksigen. Tujuan kedua untuk menjaga tekanan dalam kaleng pada tekanan yang membuat pertumbuhan mikroorganisme tidak optimal. Proses pengalengan harus dijalankan dengan standar kualitas yang tinggi, Pada kondisi yang buruk dapat menyebabkan peningkatan mikroorganisme dan kadar air, kadar air penting dikontrol karena air merupakan faktor penting (*essential*) dalam pertumbuhan bakteri. Kerusakan makanan dalam kaleng dapat diidentifikasi dari bentuk kemasan, mikroorganisme akan mendekomposisi makanan, proses dekomposisi akan menghasilkan gas sehingga menyebabkan kaleng menggelembung, bocor atau bahkan meledak. Metode pengalengan memiliki resiko pencemaran yang tinggi ketika kaleng tersebut telah terbuka. Salah satu contoh dampak negatif lainnya yaitu berkembangnya bakteri anaerob misalnya *Clostridium botulinum*, mikroorganisme ini tidak menghasilkan gas dan perubahan rasa pada makanan sehingga tidak bisa dideteksi dari rasa dan bau makanan. *Clostridium botulinum* menghasilkan toxin/ zat beracun yang dapat menyebabkan sakit yang akut bahkan kematian.

2.3.4. Pengaruh Pasteurisasi Terhadap Mikroba

Metode pengawetan lain yaitu pasteurisasi, istilah ini diambil dari nama penemunya Louis Pasteur. Pada tahun 1859 Louis Pasteur merupakan orang pertama yang membuktikan bahwa bakteri merupakan penyebab kerusakan makanan. Tes pasteurisasi pertama diselesaikan oleh Pasteur dan Claude Bernard pada 20 April 1862. Pasteurisasi dilakukan dengan memanaskan tempat yang telah diisi makanan/ minuman pada suhu sekurang-kurangnya 63°C selama 30 menit kemudian segera diangkat dan didinginkan hingga suhu setinggi-tingginya 10°C. Dengan cara ini pertumbuhan bakteri dapat dihambat dengan cepat tanpa mengubah rasa minuman dan makanan. Tidak seperti sterilisasi, pasteurisasi tidak dimaksudkan untuk membunuh seluruh mikroorganisme di makanan. Pasteurisasi bertujuan untuk mengurangi jumlah mikroorganisme sehingga tidak lagi bisa menyebabkan penyakit (dengan syarat produk

yang telah dipasteurisasi didinginkan dan digunakan sebelum tanggal kadaluwarsa) (Trisno, 2010).

2.3.5. Pengaruh Pengolahan dengan Metode Radiasi Terhadap Mikroba

Perkembangan metode modern dalam pengolahan makanan yaitu metode *Irradiasi*. *Irradiasi* dalam bentuk *electron* yang berenergi tinggi atau sinar X yang dihasilkan dari *accelerator*, atau oleh sinar gamma (dihasilkan dari sumber radioaktif yang berupa Cobalt 60 atau Caesium-137). *Irradiasi* dapat menghancurkan mikroorganisme atau *inhibisi* dari perubahan biokimia. Penggunaan metode ini memiliki pengaruh yang luas termasuk membunuh bakteri, *mold* dan serangga sehingga dapat menghambat kerusakan dan penuaan pada buah-buahan. Produk ionisasi dapat berupa *electronically charged* (ion) maupun radikal bebas. Produk ini kemudian bereaksi dan menyebabkan perubahan pada material yang diirradiasi atau yang disebut dengan radiolisis. Ion-ion reaktif yang diproduksi oleh makanan irradiasi menghancurkan mikroorganisme dalam sekejap, dengan mengubah struktur membran sel dan mempengaruhi aktivitas metabolik enzim (Trisno, 2010).

Ditambahkan oleh Hery (2011), bahwa radiasi dapat dibedakan menjadi radiasi panas dan Ionisasi. Radiasi panas adalah radiasi yang menggunakan sinar dengan gelombang panjang, sedangkan Ionisasi menggunakan panjang gelombang pendek. Radiasi Ionisasi dapat menggunakan sinar *Ultra Violet* (UV), alpha, beta dan gamma, sedangkan yang banyak digunakan adalah sinar gamma. Hal ini disebabkan karena sinar gamma mempunyai daya tembus yg lebih besar dari sinar lain. Daya tahan mikroorganisme terhadap radiasi dapat dinyatakan dengan harga dimana, yaitu jumlah radiasi yang dibutuhkan untuk mengurangi 90% dari jumlah mikroorganisme awal. Mikrobia yang paling tahan terhadap radiasi adalah *Clostridium botulinum*.

2.3.6. Pengaruh Penambahan Senyawa Pengawet pada pengolahan Terhadap Jumlah Mikroba

Dijelaskan oleh Hery (2011), bahwa pengaruh Penambahan bahan lain untuk pengawetan antara lain sebagai berikut :

1. Penambahan garam dan asam

Garam berperan sebagai penghambat selektif pada mikroorganisme pencemar tertentu. Mikroorganisme pembusuk atau proteolitik dan juga pembentuk spora adalah yang paling mudah terpengaruh walaupun dengan kadar garam yang rendah sekalipun.

Mikroorganisme patogen kecuali *S. Aureus* dapat dihambat oleh kadar garam 10-12%. Namun *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* pada sayur asin, dapat tumbuh cepat dengan adanya garam.

Mekanisme pengawetan dengan NaCl adalah dengan memecahkan membran sel mikroba, karena NaCl mempunyai tekanan osmotik yang tinggi. Selain itu NaCl bersifat hidroskopis sehingga dapat menyerap air dari bahan, menyebabkan Aw bahan menjadi rendah. NaCl juga dapat mengurangi kelarutan O₂, dan mikroba aerob dapat dicegah pertumbuhannya. Penggunaan asam pada bahan makanan mempunyai peranan penting yang bersifat anti mikroba. Karena penambahan asam akan mempengaruhi pH disamping sifat keracunan mikroba dari hasil uraiannya. Toksisitas asam bergantung pada kondisi keasamannya. Pada pH yang sama asam asetat lebih bersifat menghambat terhadap mikroba tertentu dari pada asam laktat yang lebih menghambat dari pada asam sitrat.

2. Penambahan dengan gula

Beberapa peran gula yang dapat dilihat dalam pengaruhnya sebagai pengawet adalah selai, jeli, sari buah pekat, sirup manisan, susu kental manis, dan lain-lain. Penggunaan gula dalam bahan makanan dalam konsentrasi yang tinggi (40%), sebagian air yang ada dalam bahan menjadi tidak tersedia untuk pertumbuhan mikroorganisme sehingga Aw menjadi rendah. Hal tersebut yang menyebabkan mikroorganisme tidak mampu melakukan aktivitasnya.

3. Pengolahan dengan bahan pengawet kimia

Dengan prinsip menghambat atau menghentikan aktivitas mikroorganisme. Umumnya digunakan dalam jumlah yang sangat sedikit, supaya tidak merusak kesehatan. Pengawet bekerja dengan mengganggu cairan nutrisi dalam sel mikroba dan mengganggu membran sel dan sel genetik mikroba. Efektivitas ditentukan juga oleh konsentrasinya, macam dan lingkungan pengawet yang ditambahkan. Umumnya makin tinggi konsentrasi yang digunakan makin efektif. Sifat tumbuh mikroba juga harus diperhatikan dalam penggunaan pengawet ini. Bahan pengawet mempunyai spesifikasi yg berbeda terhadap mikroorganisme atau bahkan spesies mikroorganisme tertentu. Pengawet yang biasa digunakan : As. Benzoat, Sulfur dioksida dan garam sulfit.

2.4. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT)

2.4.1. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) Berdasarkan SNI 01-2332.3-2006

Metode penentuan Angka Lempeng Total ini untuk menentukan jumlah total mikroorganisme aerob dan anaerob (psikofilik, mezofilik dan termofilik) pada produk perikanan (SNI 01-2332.3-2006).

Ditambahkan oleh Nuhi (2009), bahwa TPC (*Total Plate Count*), ALT (Angka Lempeng Total) PLT (Perhitungan Lempeng Total) semuanya merupakan analisis untuk menguji cemaran mikroba dengan metode pengenceran serial dan cawan tuang SPC (*Standard Plate Count*).

Penentuan Angka Lempeng Total pada produk perikanan berdasarkan SNI 01-2332.3-2006, adalah sebagai berikut :

1. Persiapan alat

Alat yang digunakan pada pengujian ini antara lain :

- Timbangan dengan ketelitian 0,0001 g
- *Autoclave*
- Inkubator $35^{\circ}\text{C} \pm ^{\circ}\text{C}$
- *Anaerobic jar*
- Cawan petri 15 mm x 90 mm
- Botol Pengencer 20 ml
- Alat penghitung koloni
- Blender beserta *jar* yang dapat disterilisasi atau stomacher
- Batang gelas bengkok diameter 3 mm – 4 mm, dengan panjang tangkai 15 cm – 20 cm
- Pipet gelas atau pipetor : 0,1 ml, 1 ml, 5 ml, 10 ml

2. Media dan pereaksi

- Plate count agar, sesuai lampiran A (normatif)
- Larutan *butterfield's phosphat buffered*, sesuai lampiran B (normatif)
- *Gas pack* dan indikator anaerob

3. Kondisi

Pada metode cawan agar tuang, untuk menghindari berkurangnya populasi bakteri akibat panas yang berlebihan maka media agar yang dituang mempunyai suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4. Preparasi contoh

a. Berat contoh yang akan diuji diambil dengan ketentuan sebagai berikut :

- Contoh dengan berat lebih kecil dari 1 kg : Dengan menerapkan teknis aseptis, ambil contoh secara acak dan potong kecil-kecil hingga beratnya mencapai 100 gr.
- Contoh dengan berat 1 kg – 4,5 kg : Dengan menerapkan teknis aseptis, ambil contoh secara acak dan potong kecil-kecil hingga beratnya mencapai 300 gr.
- Contoh dengan berat lebih dari 4,5 kg : Dengan menerapkan teknis aseptis, ambil contoh secara acak dan potong kecil-kecil hingga beratnya mencapai 500 gr

b. Pengenceran contoh

Timbang contoh secara aseptis sebanyak 25 gr untuk contoh dengan ketentuan a) dan b) dan 50 gr untuk contoh dengan ketentuan c) diatas, kemudian masukkan dalam wadah atau plastik steril. Untuk contoh 25 gr tambahkan 225 ml larutan *butterfield's phosphat buffered* dan untuk contoh 50 gr tambahkan 450 ml larutan *butterfield's phosphat buffered*, homogenkan selama dua menit. Homogenat ini merupakan larutan pengenceran 10^{-1} . Dengan menggunakan pipet steril, ambil 1 ml homogenat diatas dan masukkan kedalam 9 ml larutan *butterfield's phosphat buffered* untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Siapkan pengenceran selanjutnya (10^{-3}) dengan mengambil 1 ml contoh dari pengenceran 10^{-2} ke dalam 9 ml larutan *butterfield's phosphat buffered*. Pada setiap pengenceran dilakukan pengocokan minimal 20 kali. Selanjutnya lakukan hal yang sama untuk pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} dan seterusnya sesuai kondisi contoh .

5. Prosedur pengujian

a. Metode cawan agar tuang/ *puor plate method*

- Pipet 1 ml dari setiap pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan seterusnya kedalam cawan petri steril. Lakukan secara duplo untuk setiap pengenceran;
- Tambahkan 12 ml – 15 ml PCA yang sudah didinginkan dalam *waterbath* hingga mencapai suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ke dalam masing-masing cawan yang sudah berisi contoh. Supaya contoh dan media tercampur sempurna lakukan pemutaran cawan ke depan ke belakang dan ke kiri ke kanan (catatan : untuk pengujian bakteri termofilik, penambahan media PCA kedalam cawan sebanyak 40 ml sampai 50 ml;
- Setelah agar menjadi padat, untuk penentuan mikroorganisme aerob inkubasi cawan-cawan tersebut dalam posisi terbalik dalam inkubator selama $48\text{ jam} \pm 2\text{ jam}$ pada suhu $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (psikofilik), 35°C (mesofilik), 45°C (termofilik).

b. Metode cawan agar sebar/ *Spread Plate Method*

- Tuang 12 ml – 15 ml PCA ke dalam cawan-cawan petri steril dan dinginkan. Pipet 0,1 ml dari setiap pengenceran ke dalam cawan petri yang berisi media PCA diatas dan ratakan dengan menggunakan batang sendok. Lakukan secara duplo pada setiap pengenceran.
- Setelah contoh meresap kedalam agar. Untuk menentukan mikroorganisme aerob inkubasi cawan-cawan tersebut dalam posisi terbalik dalam inkubator selama 48 jam ± 2 jam pada suhu $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (psikofilik), 35°C (mesofilik), 45°C (termofilik);
- Lakukan kontrol tanpa contoh dengan melakukan larutan pengencer dengan larutan PCA.

6. Pembacaan dan perhitungan koloni pada cawan petri

a. Cawan yang mengandung antara 25-250 koloni.

Catat pengenceran yang digunakan dan hitung total jumlah koloni. Perhitungan Angka Lempeng Total sbb:

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

Dengan : N = Jumlah koloni produk (koloni /ml atau koloni /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.

b. Cawan yang mengandung lebih besar dari 250 koloni.

Bila jumlah koloni per cawan lebih besar dari 250 pada seluruh pengenceran maka laporan hasilnya sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD), tetapi jika salah satu pengenceran mempunyai jumlah koloni mendekati 250 laporkan sebagai

c. Cawan yang mengandung kurang dari 25 koloni atau cawan tanpa koloni.

Bila pada kedua pengenceran yang digunakan diperoleh koloni kurang dari 25, catat koloni yang ada, tetapi nyatakan perhitungan sebagai kurang dari 25 dan dikalikan dengan $1/d$, dimana d adalah faktor pengenceran pertama yang digunakan dan dilaporkan sebagai perkiraan ALT.

2.4.2. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) menggunakan *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate*

3M mikrobiologi merupakan perusahaan yang mengembangkan metode pengujian mikrobiologi. Salah satu metode pengujian yang dikeluarkan oleh 3M adalah *Petrifilm AC Plate*. 3M *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate* merupakan sistem yang memberikan kemudahan dalam melakukan pengujian jumlah mikroorganisme pada contoh. Didalamnya mengandung nutrisi standar metode, senyawa pembentuk gel yang larut dalam air dan indikator tetrazolium yang memfasilitasi penghitungan koloni bakteri aerob di dalam makanan dan minuman industri. *Petrifilm AC Plate* aman dari kontaminasi meskipun tidak disterilkan ketika akan digunakan dalam pengujian. 3M mikrobiologi telah mendapat sertifikasi ISO (*Internasional Organisation of Standization*) 9001.

3M tidak menyarankan *Petrifilm AC Plate* untuk digunakan dalam industri-industri selain makanan dan minuman. Sebagai contoh, 3M tidak mendokumentasikan *Petrifilm AC Plate* untuk pengujian air, farmasi atau kosmetik. *Petrifilm AC plate* juga dilarang penggunaannya dalam diagnosis kondisi manusia atau hewan.

Petrifilm AC Plate belum diuji terhadap semua produk makanan, proses makanan, aturan metode pengujian lain atau dengan semua kemungkinan strain (kelompok) mikroorganisme. Namun *Petrifilm AC plate* telah dievaluasi oleh AOAC/ AFNOR/ pedoman NordVal dan telah dilakukan pengujian pada beberapa contoh kategori makanan, berikut : sayuran, daging, susu, dan makanan olahan.

1. Persiapan Peralatan

Alat yang digunakan pada pengujian ini antara lain :

- Timbangan dengan ketelitian 0,0001 g
- *Autoclave*
- *Accu jet*
- Inkubator $35^{\circ}\text{C} \pm ^{\circ}\text{C}$
- Alat penghitung koloni
- Botol pegencer 500 ml
- Tabung reaksi
- Spreader (plastik penyebar contoh)
- Cawan petri 15 mm x 90 mm
- Blender beserta *jar* yang dapat disterilisasi atau stomacher

- Pipet gelas atau pipetor : 0,1 ml, 1 ml, 5 ml, 10 ml

2. Preparasi contoh

- Gunakan Pengencer steril sesuai:

Butterfield's fosfat buffer, 30,1% pepton air, pepton pengencer garam, larutan garam (0,85-0,90), kaldu *letheen bisulfit* bebas atau air suling. Jangan gunakan pelarut yang mengandung sitrat, bisulfit atau tiosulfat karena bisa menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada Petrifilm AC plate. Apabila buffer sitrat adalah pengencer dalam prosedur standar pengujian, maka harus digantikan dengan salah satu buffer yang tercantum di atas, kemudian dihangatkan pada suhu 40 - 45 °C.

- Blender atau homogenkan contoh.
- Untuk pertumbuhan optimal dan pemulihan mikroorganisme, diusahakan dilakukan penyesuaian PH suspensi contoh 6,6 - 7,2. untuk produk asam, menyesuaikan PH dengan 1 N NaOH. Sedangkan untuk produk alkali, menyesuaikan PH dengan 1 N HCl.

3. Prosedur Pengujian

- Tempatkan petrifilm pada permukaan yang datar.
- Dengan pipet tegak lurus sedot larutan suspensi contoh.
- Angkat film atas dan dengan pipet tegak lurus mengeluarkan 1 ml suspensi contoh ke pusat film bawah.
- Tekan tombol down accu jet hingga contoh terlepas dari pipet.
- Tempatkan spreader (plastik penyebar contoh) dengan sisi tersembunyi yang terdapat rongga diletakkan dibagian bawah. Tekan lembut di tengah spreader untuk membagikan sampel secara merata. Jangan geser spreader di film sebelum gel terbentuk.
- Jangan lepaskan spreader dari film sebelum sampai satu menit untuk mengizinkan gel terbentuk.

4. Inkubasi

Film yang telah berisi sampel diinkubasikan dengan posisi horisontal dengan penyusunan sisi yang seragam, film dapat disusun bertumpuk dengan tidak lebih dari 20 tumpukan. Lamanya waktu inkubasi dan temperatur dapat digunakan tergantung pada metode referensi lokal yang penguji gunakan. Misalnya :

- Metode resmi AOAC (986,33 jumlah bakteri dan coliform pada susu, metode film kering rehydratable dan 989,10 jumlah bakteri dan koliform dalam produk susu, metode film kering rehydratable) Petrifilm AC Plate inkubasi selama 48 jam $\pm$ 3 jam pada 32 °C + 1 °C.
- Metode resmi (990,12 Plate Count Aerobik dalam makanan, metode film kering rehydratable). Inkubasi Petrifilm AC Plate 48 jam + 3 jam pada 35 °C $\pm$ 1 °C.
- Noric sistem untuk validasi metode mikrobiologi alternatif, NordVal Validasi (Ref. No: 2003-20-5408-00011). NordVal validasi untuk rincian plat petrifilm metode AC.

5. Pembacaan dan perhitungan koloni pada Petrifilm AC Plate

- Petrifilm AC plate dapat dihitung dengan menggunakan standar koloni counter atau kaca pembesar diterangi lainnya. Hitung semua koloni merah tanpa memandang ukuran atau intensitas.
- Kawasan pertumbuhan melingkar sekitar 20 cm². Perkiraan dapat dilakukan di film yang mengandung lebih dari 300 koloni dengan menghitung jumlah koloni dalam dua atau lebih persegi representatif. Kalikan 20 jumlah rata-rata yang telah dihitung, untuk menentukan jumlah perkiraan per film.
- Konsentrasi dari koloni yang tinggi pada Petrifilm AC plate akan menyebabkan seluruh wilayah pertumbuhan menjadi merah atau pink. Kadang-kadang, di film penuh sesak ditumbuhi koloni, sehingga pusat koloni mungkin kurang terlihat, tetapi banyak koloni kecil bisa dilihat di pinggiran. Bila salah satu terjadi, hasil tersebut dicatat sebagai koloni yang Terlalu Banyak Untuk Dihitung (TBUD). Ketika sebuah jumlah yang sebenarnya dibutuhkan, maka lihat pada pengenceran yang lebih tinggi.
- Beberapa organisme dapat mencairkan gel, yang memungkinkan mereka untuk menyebar dan mengaburkan kehadiran koloni lainnya. Jika gel cair mengganggu dalam penghitungan, harus dilakukan perkiraan jumlah koloni dengan menghitung daerah tidak terpengaruh.
- Jika diperlukan, koloni dapat diisolasi untuk identifikasi lebih lanjut. Angkat film atas dan pilih koloni dari gel di film. Kemudian lakukan tes pengujian menggunakan prosedur standar.
- Jika film yang telah dikeluarkan dari inkubator tidak dilakukan perhitungan hingga selama 1 jam, maka sebaiknya disimpan terlebih dahulu pada wadah yang tertutup pada suhu $\leq$ minus 15 ° C, dan disimpan tidak lebih dari satu minggu.

6. Penyimpanan dan Pembuangan Petrifilm AC plate

Apabila Petrifilm AC plate belum digunakan, harus didinginkan atau dibekukan pada suhu $\leq 8^{\circ}\text{C}$ (46°F). Hanya sebelum digunakan, biarkan kantong yang belum dibuka untuk mencapai suhu kamar. Kembalikan film yang tidak digunakan ketika pengujian, ke dalam kantong. Tutup dengan cara melipat ujung kantong yang dibuka, hingga tertutup rapat. Untuk mencegah pengaruh dari kadar air, jangan membuka wadah film ketika didinginkan. Film yang tertutup dalam wadah dapat disimpan di tempat kering dan sejuk, selama tidak lebih dari satu bulan. Sebaiknya Petrifilm AC plate dalam wadah yang tertutup disimpan dalam freezer jika suhu laboratorium melebihi 25°C (77°F) dan/ atau laboratorium terletak di daerah yang kelembabannya relatif melebihi 50% (dengan pengecualian terdapat udara ber-AC).

Petrifilm AC plate tidak boleh digunakan melewati tanggal kedaluwarsa. Freezer yang digunakan untuk penyimpanan kantong yang telah dibuka tidak boleh memiliki siklus defrost otomatis, karena apabila ini terjadi berulang kali akan mengekspos film mengalami gangguan pada kelembaban.

Setelah digunakan, *Petrifilm AC Plate* mungkin mengandung mikroorganisme yang mungkin berpotensi menimbulkan Biohazard (bahaya biologi). Ikuti standar industri saat ini untuk pembuangan film yang telah digunakan.

2.5. *International Standard Organisation (ISO) 4833*

ISO (*International Organization for Standardization*) atau Organisasi Internasional untuk Standardisasi adalah federasi dunia badan-badan standar nasional (badan anggota ISO). Pekerjaan Standar Internasional yang dilakukan biasanya dipersiapkan terlebih dahulu melalui ISO komite teknis. Setiap anggota tubuh harus tertarik pada subjek yang satu telah didirikan oleh komite teknis dan memiliki hak untuk diwakili pada komite itu. Organisasi-organisasi internasional, pemerintah dan non-pemerintah, bersama ISO, juga mengambil bagian dalam pekerjaan. ISO memiliki kerja sama yang erat dengan Komisi Elektroteknik Internasional (IEC) dalam semua masalah standardisasi elektroteknik.

Tugas utama dari komite teknis adalah menyiapkan Standar Internasional. Draft Standar Internasional diadopsi oleh komite teknik diedarkan ke badan anggota untuk pemungutan suara. Publikasi sebagai Standar Internasional memerlukan persetujuan oleh sedikitnya 75% dari badan anggota casting suara.

Harap diingat kemungkinan bahwa beberapa unsur dari dokumen ini dapat menjadi subjek paten hak. ISO tidak bertanggung jawab untuk mengidentifikasi salah satu atau semua hak paten tersebut.

ISO 4833 dipersiapkan oleh Komite Teknis ISO / TC 34, produk makanan, Subkomite SC 9, Mikrobiologi.

Edisi ketiga ini membatalkan dan menggantikan edisi kedua (ISO 4833:1991). Teknis perubahan berikut telah dibuat:

- Sub klausul 5.2, Plate agar, menghitung: pemeriksaan produk disertakan.
- Klausul 10, Ekspresi hasil: data presisi yang diberikan, dan contoh data presisi untuk produk.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini telah dilaksanakan, mulai tanggal 14 Maret 2016 sampai dengan 21 Mei 2016, di Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Surabaya, Jawa Timur.

3.2. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode survei dan eksperimental. Menurut Nazir (1988), yang dimaksud dengan metode survei adalah penyelidikan yang dilakukan untuk mencari dan memperoleh fakta-fakta dari gejala-gejala yang ada dan mencari keterangan-keterangan secara faktual, baik tentang institusi sosial, ekonomi maupun politik dari suatu kelompok ataupun daerah.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental laboratorium. Dengan menggunakan teknik pengumpulan data yang dilakukan secara langsung terhadap gejala subjek yang diteliti dalam situasi sebenarnya maupun dalam situasi buatan dalam bentuk kegiatan percobaan (Surachmad,1994).

3.3. Teknik Pengumpulan Data

Mardalis (2003), mengemukakan bahwa teknik pengumpulan data dapat dilakukan dengan cara :

a. Observasi

Observasi adalah suatu studi yang disengaja dan sistematis tentang keadaan fenomena sosial dan gejala-gejala psikis dengan jalan mengamati dan mencatat.

b. Wawancara

Wawancara adalah teknik mengumpulkan data yang digunakan peneliti untuk mendapatkan keterangan-keterangan lisan melalui cakap-cakap dan berhadapan muka dengan orang yang dapat memberikan keterangan kepada peneliti, wawancara ini dapat dipakai untuk melengkapi data yang diperoleh melalui observasi.

c. Kuisioner

Kuisioner atau angket adalah teknik pengumpulan data melalui formulir-formulir yang berisi pertanyaan-pertanyaan yang diajukan secara tertulis pada seorang atau

sekumpulan orang untuk mendapatkan jawaban atau tanggapan dan informasi yang diperlukan.

3.4. Jenis Data

Nazir (1988), menjelaskan bahwa data yang diperoleh digolongkan menjadi dua yaitu :

a. Data Primer

Yaitu data yang diperoleh secara langsung dari tempat praktek, baik yang digunakan melalui wawancara langsung pada responden, observasi dan dengan alat-alat lain.

b. Data Sekunder

Merupakan data atau informasi yang diperoleh secara tidak langsung dari sumbernya, baik dari unit usaha maupun dari sumber literatur lainnya.

Data primer maupun data sekunder dapat berupa data kualitatif maupun data kuantitatif.

3.5. Teknik Pengolahan dan Analisis Data

Menurut Narbuko dan Ahmadi (2001), setelah data primer dan data sekunder terkumpul dilakukan pengolahan data melalui :

a. Pengeditan (*Editing*)

Pengeditan merupakan memeriksa, mengoreksi dan melakukan pengecekan kembali terhadap data-data yang terkumpul secara seksama.

b. Tabulasi (*Tabulating*)

Tabulasi merupakan menyajikan data dalam bentuk tabel yang merupakan langkah berikutnya dalam proses analisis data sehingga dapat dibaca dan dimengerti.

c. Analisis (*Analizing*)

Data teknis dianalisa dengan menggunakan analisa deskriptif yaitu menyajikan data sesuai dengan informasi yang diperoleh di lapangan. Setelah data yang dikumpulkan diedit, dikode dan ditabulasi kemudian dianalisis. Analisis data yang digunakan yaitu analisa deskriptif atau menyajikan data sesuai dengan keadaan sebenarnya guna mempermudah pengambilan keputusan. Misalnya data hasil praktek berupa catatan tentang prosedur pengujian yang ada di lapangan.

IV. KEADAAN UMUM

4.1. Lokasi Laboratorium Pengendalian dan Pengujian (LPPMHP) Surabaya

LPPMHP Surabaya berlokasi di Jalan Pagesangan 58 B Surabaya Jawa Timur. Lokasi ini termasuk dalam wilayah Kelurahan Pagesangan, Kecamatan Jambangan, Kotamadya Surabaya, Propinsi Jawa Timur. Adapun batas – batas Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP Surabaya) adalah sebagai berikut :

- 1) Sebelah Utara berbatasan dengan Kantor Karantina Ikan Surabaya
- 2) Sebelah Selatan berbatasan dengan area persawahan
- 3) Sebelah Timur berbatasan dengan perumahan penduduk
- 4) Sebelah Barat berbatasan dengan Kantor Dinas Pemantapan Pangan

Lokasi LPPMHP Surabaya tergolong strategis karena jauh dari jalan raya yang banyak dilalui kendaraan. Getaran dari kendaraan yang lewat akan mempengaruhi proses pengujian, sehingga lokasi laboratorium yang jauh dari jalan raya adalah baik. Akan tetapi suara bising kadang terdengar saat ada kereta api yang melintas di sekitar laboratorium tapi suara ini tidak begitu berpengaruh karena suara ini jarang terdengar.

4.2. Bidang Kepegawaian

Sampai akhir tahun 2015 jumlah pegawai yang tercatat sebanyak 49 orang dan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Personil di LPPMHP Surabaya

No	Bidang/ Tempat	Jumlah Personil (orang)
1	Pengendalian mutu	6
2	Administrasi	14
3	Laboratorium Mikrobiologi	5
4	Laboratorium Kimia	9
5	Laboratorium Organoleptik	6
6	Umum	11
	Jumlah	49

Sumber : LPPMHP Surabaya (2015)

Personil di LPPMHP Surabaya memiliki tingkat pendidikan S2 sebanyak 3 orang, S1 sebanyak 27 orang, Diploma 3 sebanyak 3 orang dan SMA atau sederajat sebanyak 9 orang serta 2 orang dengan pendidikan Sekolah Dasar.

Tahun 2015, rasio jumlah tenaga kerja dibandingkan dengan volume pekerjaan semakin bertambah menjadi tidak seimbang. LPPMHP Surabaya termasuk laboratorium yang mempunyai kesibukan paling tinggi di Indonesia dengan tingkat permintaan pengujian bertambah tetapi perimbangan jumlah SDM menjadi kurang sehingga berdampak pada beban kerja yang terlalu banyak pada tiap-tiap personil.

4.3. Struktur Organisasi

Berdasarkan Surat Keputusan Gubernur Jawa Timur Nomor : 131 Tahun 2008, tentang Susunan Organisasi dan Tata Kerja Unit Pelaksana Teknis Dinas Perikanan Propinsi Jawa Timur, maka dalam melaksanakan tugas dan fungsinya, LPPMHP Surabaya Jawa Timur merupakan Unit Pelaksana Teknis dari Dinas Perikanan dan Kelautan Propinsi Jawa Timur.

Mewujudkan jaminan mutu hasil perikanan sesuai dengan tuntutan perdagangan global adalah visi dari LPPMHP Surabaya, sedangkan misinya adalah sertifikasi produk perikanan yang cepat, tepat, dan akurat. Dalam pelaksanaannya LPPMHP Surabaya mempunyai tugas :

- a. Menyusun rencana dan program kegiatan pengujian mutu hasil perikanan.
- b. Pengelolaan dan pemeliharaan sarana prasarana.
- c. Pelaksanaan pengujian dan pengawasan.
- d. Pelaksanaan pengembangan teknologi pengolahan hasil perikanan.
- e. Pelaksanaan tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala Dinas.

Sesuai dengan surat keputusan tersebut Struktur Organisasi Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan Jawa Timur terdiri dari :

- 1) Kepala UPT Laboratorium
- 2) Sub Bagian Tata Usaha
- 3) Seksi Pengujian
- 4) Seksi Pengendalian Mutu
- 5) Kelompok Jabatan fungsional

Sedangkan hubungan tata kerja organisasinya adalah :

1. Kepala UPT Laboratorium

Dalam melaksanakan tugasnya bertanggung jawab kepada Kepala Dinas Perikanan dan Kelautan Jawa Timur dan tugas pokoknya adalah memimpin, mengkoordinasikan, dan mengendalikan tugas-tugas pengujian mutu hasil perikanan, ketatausahaan dan pelayanan masyarakat.

2. Sub Bagian Tata Usaha

Dipimpin seorang Kepala Sub Bagian Tata Usaha yang dalam menjalankan tugasnya berada di bawah dan bertanggung jawab kepada Kepala UPT LPPMHP Surabaya. Mempunyai tugas pokok :

- a. Melaksanakan pengelolaan surat menyurat, urusan rumah tangga dan kearsipan.
- b. Melaksanakan pengelolaan administrasi kepegawaian.
- c. Melaksanakan pengelolaan administrasi keuangan.
- d. Melaksanakan pengelolaan perlengkapan dan peralatan kantor.
- e. Melaksanakan tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala UPT LPPMHP Surabaya antara lain :
 - Melaksanakan proses penerbitan sertifikat mutu (ekspor/ non ekspor)
 - Melaksanakan fungsi manajerial sesuai ISO 17025 : 2005 sebagai laboratorium terakreditasi.
 - Menghimpun, menyusun, mengusulkan, mengevaluasi dan melaporkan program kerja LPPMHP Surabaya secara keseluruhan.

3. Seksi Pengujian

Dipimpin oleh seorang Kepala Seksi Pengujian yang dalam menjalankan tugasnya berada di bawah dan bertanggung jawab kepada Kepala UPT LPPMHP Surabaya. Kepala Seksi Pengujian mempunyai tugas pokok sebagai berikut :

- a. Menyusun perencanaan kegiatan pengujian mutu hasil perikanan.
- b. Menyusun perencanaan kebutuhan perangkat keras dan lunak untuk program pengujian mutu hasil perikanan.
- c. Menyiapkan dan mengumpulkan data serta bahan untuk melaksanakan pengujian mutu hasil perikanan.
- d. Melakukan pengujian mutu hasil perikanan secara mikrobiologi, organoleptik, dan kimia.

- e. Membuat laporan pelaksanaan kegiatan pengujian mutu terhadap produk pengolahan.
- f. Melakukan pemeliharaan dan perawatan, bahan kimia, dan reagen.
- g. Melaksanakan tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala UPT LPPMHP Surabaya diantaranya :
 - Mengembangkan kemampuan pengujian sesuai tuntutan pasar.
 - Melaksanakan fungsi manajerial sesuai ISO/ IEC 17025 : 2005 sebagai laboratorium terakreditasi.

4. Seksi Pengendalian Mutu

Dipimpin oleh seorang Kepala Seksi Pengendalian Mutu yang dalam menjalankan tugasnya berada di bawah dan bertanggung jawab kepada Kepala UPT LPPMHP Surabaya dan mempunyai tugas pokok sebagai berikut :

- Mengumpulkan dan menginventarisasi data usaha pengolahan hasil perikanan tradisional maupun modern.
- Melakukan pengawasan dan pembinaan pada unit usaha pengolahan hasil perikanan tradisional maupun modern.
- Melakukan *monitoring* dan evaluasi secara berkala pada unit usaha pengolahan hasil perikanan tradisional maupun modern.
- Melaksanakan tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala LPPMHP Surabaya.

4.4. Sarana dan Prasarana

4.4.1. Sarana di LPPMHP Surabaya

Peralatan yang dimiliki oleh LPPMHP Surabaya sudah memenuhi persyaratan untuk melaksanakan pemeriksaan/pengujian secara benar dan baik (*Good Laboratory Practices*). Seluruh inventarisasi peralatan yang ada di laboratorium diatur penggunaannya dalam buku manual laboratorium sesuai dengan sistem mutu di LPPMHP Surabaya. Secara teknis tiap-tiap laboratorium di LPPMHP didukung oleh peralatan yang mendukung pada proses pengujian.

4.4.2. Prasarana LPPMHP Surabaya

Dalam meningkatkan tugas dan fungsinya, LPPMHP Surabaya dilengkapi dengan fasilitas-fasilitas berupa bangunan laboratorium dan instalasi pembantu yang permanen dan beberapa unit mobil keliling. Secara rinci fasilitas tersebut sebagai berikut :

LPPMHP Surabaya sebagai induk laboratorium perikanan dengan luas bangunan 1.483,14 m² dan menempati luas area 4.000 m², terdiri dari :

1. Gedung Perkantoran Utama

Mempunyai luas 311,04 m² dan terdiri dari dua lantai yang digunakan untuk :

- a. Ruang Kepala UPT LPPMHP Surabaya
- b. Sub Bagian Tata Usaha
- c. Seksi Pengawasan Mutu (lantai 2)
- d. Ruang tamu
- e. 2 (dua) kamar mandi dan toilet.

2. Gedung Laboratorium Kimia

Laboratorium kimia mempunyai luas 392,1 m² dan terdiri dari dua lantai yang digunakan untuk :

- a. Ruang tamu dan ganti pakaian laboratorium
- b. Ruang preparasi contoh
- c. Ruang *instrument* ICP
- d. Ruang pengujian kimia I : HPLC, GH dan AAS
- e. Ruang pengujian kimia II : Protein, lemak, garam, dan lain-lain.
- f. Ruang staf
- g. Gudang rutin (*glass ware*)
- h. Gudang rutin (*chemical*)
- i. 2 (dua) kamar mandi dan toilet.

3. Gedung Laboratorium Organoleptik

Mempunyai luas 200m² dan terdiri dari satu lantai yang digunakan untuk :

- a. Ruang penerimaan contoh
- b. Ruang preparasi dan distribusi contoh ke seluruh laboratorium
- c. Ruang dapur persiapan organoleptik
- d. Ruang uji organoleptik (bilik panelis)
- e. Ruang cuci peralatan
- f. Ruang gudang operasional
- g. Ruang ganti pakaian laboratorium
- h. Ruang staf dan Kepala Seksi Pengujian
- i. Dua kamar mandi

4. Gedung Laboratorium Mikrobiologi

Mempunyai luas 400 m², terdiri dari dua lantai dan gedung workshop teknologi 180 m², digunakan untuk :

- a. Ruang tamu dan ruang ganti pakaian
- b. Ruang preparasi media
- c. Ruang preparasi contoh mikrobiologi
- d. Ruang pengujian
- e. Ruang inkubasi
- f. Ruang cuci peralatan
- g. Ruang penirisan/persiapan gelas
- h. Ruang staf
- i. Ruang *technical meeting*
- j. Gudang persiapan media/peralatan
- k. Kamar mandi

Selain itu, prasarana yang menunjang kelancaran pelayanan di laboratorium adalah : Kantin, Musholla, Tempat parkir dan *Security*.

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) di LPPMHP Surabaya

Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Surabaya dalam melaksanakan pengujian Angka Lempeng Total (ALT) mengacu pada SNI 01-2332.3-2006. Namun saat ini telah dilakukan pengembangan metode pengujian menggunakan *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate* yang telah mendapatkan sertifikat dari ISO 9001, untuk meningkatkan efektifitas dan efisiensi kerja laboratorium mikrobiologi LPPMHP Surabaya dalam pengujian ALT.

5.1.1. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan Menggunakan SNI 01-2332.3-2006

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) di LPPMHP Surabaya yang berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006. Adapun tahapan prosedur pengujian di LPPMHP Surabaya adalah sebagai berikut :

1. Persiapan Alat dan Mesin

Adapun peralatan dan mesin yang digunakan dalam pengujian ALT di LPPMHP surabaya yang berdasarkan SNI 01-2332.3-2006 dan fungsinya, sebagai berikut :

- *Accu jet* : Alat untuk menghisap larutan melalui pipet.
- *Autoclave* : Alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang digunakan dalam mikrobiologi menggunakan uap air panas bertekanan. Tekanan yang digunakan pada umumnya 15 Psi atau sekitar 2 atm dan dengan suhu 121°C (250°F) selama 15 menit.
- Botol 500 ml : sebagai tempat sampel pada pengenceran pertama, dan wadah media PCA ketika disterilkan ataupun saat didinginkan.
- Bunsen : Salah satu alat yang berfungsi untuk menciptakan kondisi yang steril. Api yang menyala dapat membuat aliran udara karena oksigen dikonsumsi dari bawah dan diharapkan kontaminan ikut terbakar dalam pola aliran udara tersebut.
- Cawan petri : Cawan petri berfungsi untuk membiakkan (kultivasi) mikroorganisme.
- *Coloni counter* : Mesin yang digunakan menghitung koloni yang tumbuh di media PCA.

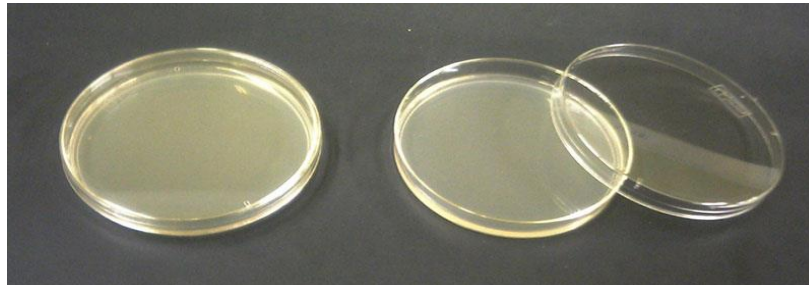
- *Hot plate stirrer* dan *Stirrer bar* : *Hot plate stirrer* dan *Stirrer bar (magnetic stirrer)* berfungsi untuk menghomogenkan suatu larutan dengan pengadukan.
- Inkubator : Inkubator adalah alat untuk menginkubasi atau memeras mikroba pada suhu yang terkontrol. Alat ini dilengkapi dengan pengatur suhu dan pengatur waktu.
- *Laminary air flow* : Alat yang berguna untuk bekerja secara aseptis karena BSC mempunyai pola pengaturan dan penyaring aliran udara sehingga menjadi steril.
- Oven : Mesin yang digunakan untuk mensterilkan pipet dan cawan petri, sterilisasi pipet dan cawan petri ini dilakukan selama ± 3 jam.
- Pan : Sebagai tempat contoh produk perikanan saat dilakukan pemotongan.
- Pipet ukur 1 ml : Pipet ukur merupakan alat untuk memindahkan larutan dengan volume yang diketahui.
- Rak tabung reaksi : Tempat diletakkannya tabung reaksi.
- Semprotan alkohol : Sebagai wadah alkohol dalam penerapan prinsip aseptis.
- Spidol : Alat yang digunakan untuk menulis kode sampel dan digunakan dalam perhitungan koloni.
- *Stomacher* : Mesin yang digunakan untuk mencampurkan larutan BFP dan sampel pada pengenceran pertama.
- Tabung reaksi : Tabung yang digunakan untuk melarutkan larutan BFP dan sampel.
- Timbangan dengan ketelitian 0,01 gr : Digunakan untuk menimbang sampel yang dilarutkan dalam larutan BFP.
- Timbangan dengan ketelitian 0,0001 gr : Digunakan untuk menimbang media PCA sebelum dilarutkan dalam aquades.
- *Vortex mixer* : Sebagai mesin pencampur larutan BFP dan contoh dalam tabung reaksi.
- *Waterbath* : Merupakan mesin yang digunakan untuk membiakkan bakteri atau untuk mendinginkan larutan Plate Count Agar (PCA).

2. Persiapan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pengujian ALT, beserta fungsinya adalah sebagai berikut :

- Alkohol : Merupakan desinfektan dalam menjalankan prinsip aseptis.
- Media *Plate Count Agar* (PCA) : Merupakan media non selektif untuk menumbuhkan bakteri. Media ini didapatkan dengan melarutkan PCA sebanyak 23

gr ke dalam 1 Lt aquades dengan bantuan *stearer* dan *hot plate*. Kemudian sterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu ambil PCA menggunakan sarung tangan dan dinginkan dalam *waterbath* selama ± 1 jam, hingga mencapai suhu $45 \pm 1^\circ\text{C}$. Berikut adalah gambar media PCA pada cawan petri.



Gambar 2. Media PCA pada Cawan Petri

Sumber : Data Primer (2016)

- Larutan *Butterfield's Phosphat Buffered* (BFP) : merupakan larutan yang digunakan untuk mengencerkan sampel. Pembuatan larutan BFP dengan cara terlebih dahulu buat larutan stok BFP. Larutan stok dibuat dengan melarutkan senyawa KH_2PO_4 sebanyak 34 gr kedalam 500 ml air, homogenkan dengan *stearer* dan *hot plate*. Atur pH pada kisaran netral ($7 \pm 0,2$) dengan menambahkan larutan NaOH 1 N, kemudian tambahkan aquades hingga volume menjadi tepat 1 liter dan simpan larutan stok dalam lemari pendingin. Untuk mendapatkan larutan BFP pengencer, lakukan dengan menggunakan pipet, ambil 10 ml larutan BFP stok dan tepatkan hingga 1 Lt dengan penambahan aquades. Sterilisasi dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C.

3. Preparasi dan Pengenceran Sampel

Sampel yang datang dari perusahaan diterima di ruang penerimaan contoh. Kemudian diberikan kode contoh diruangan organoleptik. Sampel yang telah memiliki kode dikirim ke ruang penerimaan laboratorium mikrobiologi kemudian ditata pada meja sampel. Selanjutnya siapkan larutan *Butterfield's Phosphat Buffered* (BFP) 225 ml. Dengan menerapkan teknis aseptis letakkan sampel pada pan, potong dan ambil sampel masukkan ke dalam BFP 225 ml hingga beratnya bertambah 25 gr. Kemudian masukkan dalam plastik steril dan homogenkan menggunakan mesin *stomacher* selama 60 detik. Homogenat (larutan campuran) ini merupakan larutan pengenceran 10^{-1} . Dengan menggunakan pipet steril, ambil 1 ml homogenat diatas dan masukkan kedalam 9 ml larutan BFP untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Siapkan pengenceran

selanjutnya (10^{-3}) dengan mengambil 1 ml sampel dari pengenceran 10^{-2} ke dalam 9 ml larutan BFP. Pada setiap pengenceran dilakukan pengocokan menggunakan vortex mixer. Selanjutnya lakukan hal yang sama untuk pengenceran 10^{-4} .

4. Prosedur Pengujian

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) di laboratorium mikrobiologi LPPMHP Surabaya yang berdasarkan SNI 01-2332.3-2006 menggunakan metode cawan agar tuang/ *pour plate method*. Adapun tahapan prosedur pengujiannya adalah sebagai berikut :

- Siapkan cawan petri yang akan digunakan dalam pengujian, beri tanda kode sampel dan tanda pengencerannya.
- Pipet 1 ml dari setiap pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan seterusnya kedalam cawan petri steril. Lakukan secara duplo untuk setiap pengenceran;
- Tambahkan 12 ml – 15 ml PCA yang sudah didinginkan dalam *waterbath* hingga mencapai suhu $45^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ ke dalam masing-masing cawan yang sudah berisi sampel. Supaya sampel dan media tercampur sempurna lakukan pemutaran cawan ke depan ke belakang dan ke kiri ke kanan membentuk angka delapan;
- Setelah agar menjadi padat, untuk penentuan mikroorganisme inkubasi cawan-cawan tersebut dalam posisi terbalik dalam inkubator selama 48 jam ± 2 jam pada suhu $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

5. Pembacaan dan Perhitungan Koloni pada Cawan Petri

a. Cawan yang mengandung antara 25-250 koloni.

Catat pengenceran yang digunakan dan hitung total jumlah koloni. Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) sebagai berikut :

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

Dengan : N = Jumlah koloni produk (koloni /ml atau koloni /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.

b. Cawan yang mengandung lebih besar dari 250 koloni

Bila jumlah koloni per cawan lebih besar dari 250 pada seluruh pengenceran maka laporan hasilnya sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD), tetapi jika salah satu pengenceran mempunyai jumlah koloni mendekati 250 laporkan sebagai.

c. Cawan yang mengandung kurang dari 25 koloni atau cawan tanpa koloni

Bila pada kedua pengenceran yang digunakan diperoleh koloni kurang dari 25, catat koloni yang ada, tetapi nyatakan perhitungan sebagai kurang dari 25 dan dikalikan dengan $1/d$, dimana d adalah faktor pengenceran pertama yang digunakan dan dilaporkan sebagai perkiraan ALT.

5.1.2. Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikan Menggunakan *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate*

LPPMHP Surabaya saat ini telah mengembangkan metode pengujian Angka Lempeng Total dengan menggunakan *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate*. *Petrifilm AC Plate* dapat dilihat pada Gambar 3. Metode ini dipilih karena cara kerjanya yang lebih mudah dan cepat. Metode ini telah mendapatkan sertifikasi ISO (*International Organization for Standardization*) 9001 dan telah dievaluasi oleh AOAC Internasional (OMA 990,12). Namun belum dilakukan pengujian ketahanan *Petrifilm AC Plate* ini terhadap produk hasil perikanan dan kesesuaiannya dengan metode Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2332.3-2006 tentang pengujian Angka Lempeng Total (ALT). Adapun tahapan proses pengujian menggunakan *Petrifilm AC Plate* adalah sebagai berikut :



Gambar 3. *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate*
Sumber: Data Primer (2016)

1. Persiapan Alat dan Mesin

Adapun alat dan mesin yang digunakan dalam pengujian ALT di LPPMHP Surabaya berdasarkan metode penggunaan *Petrifilm AC plate* dan fungsinya, sebagai berikut :

- *Accu jet* : Alat untuk menghisap larutan melalui pipet.
- *Autoclave* : Alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang digunakan dalam mikrobiologi menggunakan uap air panas bertekanan. Tekanan yang digunakan pada umumnya 15 Psi atau sekitar 2 atm dan dengan suhu 121°C (250°F).
- Botol 500 ml : sebagai tempat sampel pada pengenceran pertama
- Bunsen : Salah satu alat yang berfungsi untuk menciptakan kondisi yang steril Api yang menyala dapat membuat aliran udara karena oksigen dikonsumsi dari bawah dan diharapkan kontaminan ikut terbakar dalam pola aliran udara tersebut.
- *Coloni counter* : Mesin yang digunakan menghitung koloni yang tumbuh di media PCA.
- *Hot plate stirrer* dan *Stirrer bar* : *Hot plate stirrer* dan *Stirrer bar (magnetic stirrer)* berfungsi untuk menghomogenkan suatu larutan dengan pengadukan.
- Inkubator : Inkubator adalah alat untuk menginkubasi atau memeras mikroba pada suhu yang terkontrol. Alat ini dilengkapi dengan pengatur suhu dan pengatur waktu.
- *Laminary air flow* : Alat yang berguna untuk bekerja secara aseptis karena BSC mempunyai pola pengaturan dan penyaring aliran udara sehingga menjadi steril dan aplikasi sinar UV beberapa jam sebelum digunakan.
- Pan : Sebagai tempat contoh produk perikanan saat dilakukan pemotongan.
- Pipet ukur 1 ml : Pipet ukur merupakan alat untuk memindahkan larutan dengan volume yang diketahui.
- Rak tabung reaksi : Tempat diletakkannya tabung reaksi.
- Semprotan alkohol : Sebagai wadah alkohol dalam penerapan prinsip aseptis.
- *Spreader* : Plastik penyebar sampel, dengan sisi tersembunyi terdapat rongga yang diletakkan dibagian bawah ketika pengujian.
- Spidol : Alat yang digunakan untuk menulis kode sampel dan digunakan dalam perhitungan koloni.
- *Stomacher* : Mesin yang digunakan untuk mencampurkan larutan BFP dan sampel pada pengenceran pertama.

- Tabung reaksi : Tabung yang digunakan untuk melarutkan larutan BFP dan sampel.
- Timbangan dengan ketelitian 0,01 gr : Digunakan untuk menimbang sampel yang dilarutkan dalam larutan BFP.
- *Vortex mixer* : Sebagai mesin pencampur larutan BFP dan sampel dalam tabung reaksi.

2. Persiapan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pengujian ALT, beserta fungsinya adalah sebagai berikut :

- Alkohol : Merupakan desinfektan dalam menjalankan prinsip aseptis.
- Larutan *Butterfield's Phosphat Buffered* (BFP) : merupakan larutan yang digunakan untuk mengencerkan sampel. Pembuatan larutan BFB dengan cara terlebih dahulu buat larutan stok BFP. Larutan stok dibuat dengan melarutkan senyawa KH_2PO_4 sebanyak 34 gr kedalam 500 ml air, homogenkan dengan *stearer* dan *hot plate*. Atur pH pada kisaran netral ($7 \pm 0,2$) dengan menambahkan larutan NaOH 1 N, kemudian tambahkan aquades hingga volume menjadi tepat 1 liter dan simpan larutan stok dalam refrigerator. Untuk mendapatkan larutan BFP pengencer, lakukan dengan menggunakan pipet, ambil 10 ml larutan BFP stok dan tepatkan hingga 1 Lt dengan penambahan aquades. Sterilisasi dalam *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C .
- *Petrifilm AC Plate* : Merupakan bahan utama dalam proses pengujian ALT, berbentuk kertas film berwarna kuning. *Petrifilm AC plate* dikemas dalam wadah *sealable*, berisi 50 film setiap wadah. *Petrifilm AC Plate* disimpan dalam lemari pendingin. Ketika akan digunakan, terlebih dahulu dibiarkan pada ruangan terbuka hingga suhunya mencapai suhu kamar sebelum dapat digunakan dalam pengujian ALT.

3. Preparasi dan Pengenceran Sampel

Sampel yang datang dari perusahaan diterima di ruang penerimaan sampel. Kemudian diberikan kode contoh diruangan organoleptik. Sampel yang telah memiliki kode dikirim ke ruang penerimaan laboratorium mikrobiologi kemudian ditata pada meja sampel. Selanjutnya siapkan larutan *Butterfield's Phosphat Buffered* (BFP) 225 ml. Dengan menerapkan teknis aseptis letakkan sampel pada pan, potong dan ambil sampel masukkan ke dalam BFP 225 ml hingga beratnya bertambah 25 gr. Kemudian masukkan dalam plastik steril dan homogenkan menggunakan mesin stomacher selama

60 detik. Homogenat (larutan campuran) ini merupakan larutan pengenceran 10^{-1} . Dengan menggunakan pipet steril, ambil 1 ml homogenat diatas dan masukkan kedalam 9 ml larutan BFP untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Siapkan pengenceran selanjutnya (10^{-3}) dengan mengambil 1 ml sampel dari pengenceran 10^{-2} ke dalam 9 ml larutan BFP. Pada setiap pengenceran dilakukan pengocokan menggunakan vortex mixer. Selanjutnya lakukan hal yang sama untuk pengenceran 10^{-4} .

4. Prosedur Pengujian

Pengujian angka lempeng total di laboratorium mikrobiologi LPPMHP surabaya yang menggunakan *Petriefilm AC plate* dalam pengujian ALT, memiliki tahapan prosedur pengujian sebagai berikut :

- Siapkan *Petriefilm AC plate* yang sudah tidak dingin, berikan tanda kode sampel dan tanda pengencerannya.
- Tempatkan *Petriefilm AC plate* pada permukaan yang datar.
- Dengan pipet, tegak lurus sedot larutan suspensi sampel.
- Angkat film atas dan dengan pipet tegak lurus mengeluarkan 1 ml suspensi sampel ke pusat film bawah.
- Tekan tombol *down accu jet* hingga sampel terlepas dari pipet.
- Tempatkan *spreader* (plastik penyebar sampel) dengan sisi tersembunyi yang terdapat rongga diletakkan dibagian bawah. Tekan lembut di tengah *spreader* untuk membagikan sampel secara merata. Jangan geser *spreader* di film sebelum gel terbentuk.
- Jangan lepaskan spreader dari film sebelum sampai satu menit untuk mengizinkan gel terbentuk.

5. Inkubasi

Film yang telah berisi sampel diinkubasikan dengan posisi horisontal dengan penyusunan sisi yang seragam, film dapat disusun bertumpuk dengan tidak lebih dari 20 tumpukan. Inkubasi dilakukan selama 48 jam $\pm$ 1 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

6. Pembacaan dan perhitungan koloni pada *Petriefilm AC Plate*

Koloni yang tumbuh kemudian dilakukan pembacaan jumlah koloni dengan *coloni counter*. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah koloni menggunakan metode standar lokal yaitu sesuai SNI 01-2332.3-2006 tentang pengujian angka lempeng total. Adapun perhitungannya adalah sebagai berikut :

a. *Petrifilm AC plate* yang mengandung antara 25-250 koloni.

Catat pengenceran yang digunakan dan hitung total jumlah koloni. Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) sbb:

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

Dengan : N = Jumlah koloni produk (koloni /ml atau koloni /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.

b. *Petrifilm AC plate* yang mengandung lebih besar dari 250 koloni.

Bila jumlah koloni per cawan lebih besar dari 250 pada seluruh pengenceran maka laporan hasilnya sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD), tetapi jika salah satu pengenceran mempunyai jumlah koloni mendekati 250 laporkan sebagai perkiraan ALT.

c. *Petrifilm AC plate* yang mengandung kurang dari 25 koloni atau cawan tanpa koloni.

Bila pada kedua pengenceran yang digunakan diperoleh koloni kurang dari 25, catat koloni yang ada, tetapi nyatakan perhitungan sebagai kurang dari 25 dan dikalikan dengan $1/d$, dimana d adalah faktor pengenceran pertama yang digunakan dan dilaporkan sebagai perkiraan ALT.

5.2. Hasil dan Evaluasi Pengujian ALT Menggunakan Metode SNI 01-2332.3-2006 dan *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate* Terhadap Kultur Murni Bakteri.

Sebelum meneliti ketahanan *Petrifilm AC Plate* terhadap pengujian ALT pada produk perikanan, serta untuk melihat kesesuaian hasil pengujian dengan metode SNI 01-2332.3-2006. Terlebih dahulu dilakukan pengujian ALT pada sampel kultur murni bakteri menggunakan metode pengujian SNI 01-2332.3-2006 dan *Petrifilm AC Plate*.

5.2.1. Hasil Pengujian Terhadap Sampel Kultur Murni Bakteri

Tujuan penggunaan kultur murni bakteri adalah untuk membandingkan sejauh mana kesamaan antara dua metode ini, hanya dengan membiakkan kultur murni bakteri saja. Dengan penggunaan kultur murni bakteri diharapkan tidak ada kontaminan atau

pengaruh dari pertumbuhan bakteri lain, pada masing-masing metode. Adapun hasil pengujian Angka Lempeng Total (ALT) kultur murni bakteri, dapat dilihat dibawah ini:

5.2.1.1. Metode *Plate Count Agar* (PCA)

Pengujian ALT yang pertama dilakukan menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA). Pengujian ini dilakukan menggunakan 3 kultur bakteri yaitu : AS, BS dan CS. Masing-masing kultur dilakukan pengulangan pengujian sampai 3 kali, yaitu : AS (AS 31, AS 32, AS 33), BS (BS 31, BS 32, BS 33) dan CS (CS 21, CS 22, CS 23). Pengujian ini dilakukan secara *duplo* untuk memberikan akurasi jumlah mikroba yang tumbuh pada pengujian ALT, dengan pengkodean A dan B pada tutup cawan petri. Pengenceran dilakukan sebanyak 4 kali, hingga pengenceran ke 10^{-4} . Hasil pengujian ALT pada kultur murni bakteri menggunakan PCA dapat dilihat pada Tabel 2. Berikut:

Tabel 2. Hasil Pengujian ALT pada Kultur Murni Bakteri dengan Media PCA

No .	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	
1.	AS 31	A	76	10	2	2	Koloni berwarna putih
		B	113	14	0	0	
2.	AS 32	A	99	16	6	0	Koloni berwarna putih
		B	95	18	1	0	
3.	AS 33	A	90	8	2	0	Koloni berwarna putih
		B	89	10	1	0	
4.	BS 31	A	519	101	6	8	Koloni motil berwarna putih dan bulat kuning
		B	621	92	8	1	
5.	BS 32	A	504	106	25	20	Koloni motil berwarna putih dan bulat kuning
		B	577	124	18	2	
6.	BS 33	A	685	78	17	1	Koloni motil berwarna putih dan bulat kuning
		B	662	91	10	4	
7.	CS 21	A	TBU	28	3	1	Koloni tampak lonjong dengan kenampakan yang jelas
		B	D TBU D	28	1	0	
8.	CS 22	A	TBU	34	3	1	Koloni tampak lonjong dengan kenampakan yang jelas
		B	D	43	5	1	

			TBU D				
9.	CS 23	A B	TBU D TBU D	51 43	5 3	1 1	Koloni tampak lonjong dengan kenampakan yang jelas

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan kode sampel:

AS : Kode sampel kultur murni bakteri *Eschericia Coli*

BS : Kode sampel kultur murni bakteri *Staphylococcus Aureus*

CS : Kode sampel kultur murni bakteri *Salmonella*

TBUD : Koloni yang jumlahnya Terlalu Banyak Untuk Dihitung (TBUD)

Untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media PCA, maka dibuatkan kontrol pengencer dan media, dilakukan secara duplo. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I sebanyak 1 koloni, kontrol pengencer II sebanyak 1 koloni, kontrol media I sebanyak 1 koloni dan kontrol media II tidak ditumbuhi koloni. Dapat dilihat dari kontrol pengencer dan kontrol media hanya ditumbuhi koloni atau jamur ≤ 1 . Sedangkan standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni atau jamur yang tumbuh pada kontrol media dan agar maksimal adalah 5 (lima). Hal ini menunjukkan kalau jumlah koloni dari hasil pengujian ALT menggunakan media PCA ini dapat diterima, karena cemaran dari media ataupun pengencer yang dapat diabaikan.

Dari pegujian ALT ini, dapat diamati karakteristik koloni yang tumbuh pada media PCA ditinjau dari sampel kultur murni bakteri yang digunakan. Sampel dengan kultur murni bakteri *Eschericia coli*, mencirikan koloni yang berwarna putih dan menyebar pada media PCA. Pada sampel kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* didapatkan koloni *motil* (melakukan pergerakan) berwarna putih dan berbentuk bulat agak besar berwarna kuning. Sedangkan untuk kultur murni bakteri *Salmonella*, koloninya berbentuk lonjong, berwarna putih dengan titik hitam dibagian tengahnya. Berikut adalah Gambar 4. koloni *E. Coli*, Gambar 5. Koloni *S. Aureus* dan Gambar 6. Koloni *Salmonella* pada media PCA.



Gambar 4. Koloni Kultur Murni Bakteri *E. Coli* pada Media PCA
Sumber : Data Primer (2016)



Gambar 5. Koloni Kultur Murni Bakteri *S. Aureus* pada Media PCA
Sumber : Data Primer (2016)



Gambar 6. Koloni Kultur Murni Bakteri *Salmonella* pada Media PCA
Sumber : Data Primer (2016)

5.2.1.2. Metode *Petrifilm AC Plate*

Selanjutnya pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate*. Pengujian ini dilakukan menggunakan 3 kultur bakteri yaitu : AS, BS dan CS. Masing-masing kultur dilakukan pengulangan pengujian sampai 3 kali dengan sampel kultur bakteri yang identik, yaitu : AS (AS 31, AS 32, AS 33), BS (BS 31, BS 32, BS 33) dan CS (CS 21, CS 22, CS 23). Pengujian ini dilakukan secara *duplo* untuk memberikan akurasi jumlah mikroba yang tumbuh pada pengujian ALT, dengan pengkodean A dan B pada tutup

film bagian atas. Pengenceran dilakukan sebanyak 4 kali, hingga pengenceran ke 10^{-4} . Hasil pengujian ALT pada kultur murni bakteri menggunakan *Petrifilm AC Plate* dapat dilihat pada Tabel 3. Berikut:

Tabel 3. Hasil Pengujian ALT pada Kultur Murni Bakteri Menggunakan *Petrifilm AC Plate*

No .	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	
1.	AS 31	A	99	11	0	0	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	93	13	1	0	
2.	AS 32	A	117	5	0	0	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	106	7	0	0	
3.	AS 33	A	98	10	0	0	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	84	7	0	0	
4.	BS 31	A	TBU	66	8	1	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D 620	156	5	0	
5.	BS 32	A	TBU	90	16	0	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D TBU D	96	8	0	
6.	BS 33	A	TBU	93	16	2	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D TBU D	93	9	2	
7.	CS 21	A	TBU	26	0	1	Koloni berwarna merah atau merah muda dan terpecah
		B	D TBU D	16	4	0	
8.	CS 22	A	TBU	36	4	2	Koloni berwarna merah atau merah muda dan terpecah
		B	D TBU D	14	2	0	

9.	CS 23	A	TBU	31	4	0	Koloni berwarna merah atau merah muda dan terpecah
		B	D	32	4	1	
			TBU				
			D				

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan kode sampel:

AS : Kode sampel kultur murni bakteri *Eschericia Coli*

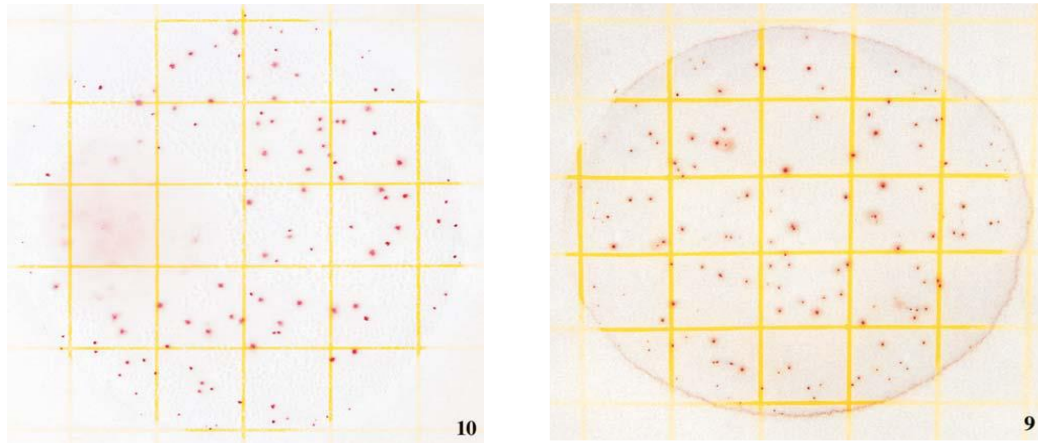
BS : Kode sampel kultur murni bakteri *Staphylococcus Aureus*

CS : Kode sampel kultur murni bakteri *Salmonella*

TBUD : Koloni yang jumlahnya Terlalu Banyak Untuk Dihitung (TBUD)

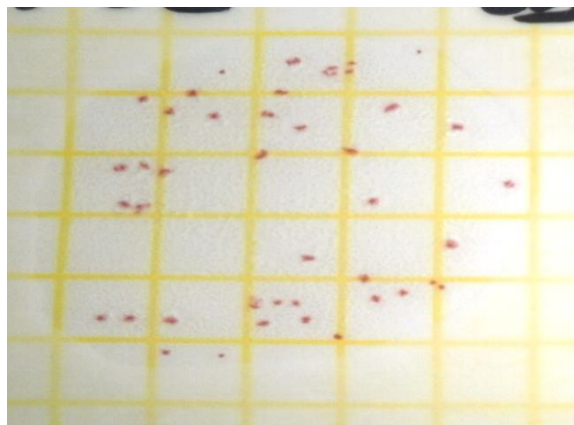
Untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media *Petrifilm AC Plate*, maka dibuatkan kontrol pengencer, dilakukan secara duplo. Kontrol pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* hanya dilakukan terhadap pengencer. Ini dikarenakan *Petrifilm AC Plate* hanya dapat bekerja ketika bereaksi dengan pengencernya. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I sebanyak 1 koloni, kontrol pengencer II tidak ditumbuhi koloni. Dari kontrol pengencer dapat dilihat hampir tidak terjadi pertumbuhan koloni, sedangkan standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni atau jamur yang tumbuh pada kontrol media dan agar maksimal adalah 5 (lima). Sehingga dapat dikatakan kalau jumlah koloni yang tumbuh pada *Petrifilm AC Plate* dapat diterima.

Koloni yang terbentuk pada pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate*, semuanya berwarna merah atau merah muda. Pada sampel kultur murni bakteri *Escherecia coli* dan *Staphylococcus aureus*, semua koloni berbentuk titik bulat. Sedangkan pada sampel kultur murni *Salmonella*, koloni berbentuk titik merah yang terpecah. Berikut adalah Gambar 7. koloni kultur murni bakteri *E. Coli* dan *S. Aureus*, serta Gambar 8. Kultur murni *Salmonella* pada *Petrifilm AC Plate*.



Gambar 7. Koloni Kultur Murni Bakteri *E. Coli* (kiri) dan *S. Aureus* (kanan) pada *Petrifilm AC Plate*

Sumber : Data Primer (2016)



Gambar 8. Koloni Kultur Murni Bakteri *Salmonella*

Sumber : Data Primer (2016)

5.2.2. Evaluasi Metode Terhadap Sampel Kultur Murni Bakteri

Setelah didapatkan hasil pengujian ALT pada kultur murni bakteri, selanjutnya dilakukan evaluasi ketahanan metode pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* terhadap sampel kultur murni dan kesesuaiannya dengan metode SNI 01-2332.3-2006. Evaluasi ini dilakukan sebagai acuan awal penelitian untuk pengujian ALT dengan dua metode ini. Apabila pada pengujian ini didapatkan hasil sesuai dengan yang diharapkan, maka penelitian selanjutnya dapat dilakukan. Evaluasi yang dilakukan sesuai dengan ISO 4833. Berikut adalah evaluasi yang dilakukan :

1. *Repeatability* (Keterulangan)

Repeatability dilakukan untuk memberikan jaminan hasil pengujian yang telah dilakukan oleh peneliti adalah baik atau akurat dan tidak menyimpang dari metode uji, ataupun mendapatkan pengaruh lain yang mempengaruhi hasil pengujian. Keterulangan yang dilakukan sesuai ISO 4833.

Repeatability diartikan sebagai perbedaan absolut antara dua hasil uji independen tunggal, diperoleh dengan menggunakan metode yang sama pada identik uji materi di laboratorium yang sama oleh operator yang sama menggunakan peralatan yang sama dalam waktu singkat interval waktu, tidak boleh lebih besar dari batas keterulangan, dengan r (simpangan) = 0,25, di log₁₀ mikroorganisme per mililiter (Sesuai dengan 1,8 pada skala normal dalam mikroorganisme per mililiter). Adapun keterulangan yang telah dilakukan dapat dilihat pada tabel berikut :

a. Sampel kultur murni bakteri *Eschericia Coli*

Jumlah koloni yang didapatkan pada sampel kultur murni *E. Coli*, dilakukan perhitungan ALT. Hasil perhitungan ALT kemudian dilog₁₀. Jumlahkan hasil log₁₀ dan hitung rata-ratanya. Rata-rata log₁₀ ALT ditambah dan dikurangi dengan $r = 0,25$, hasil perhitungan ini merupakan batas *repeatability* (keterulangan). Log ALT yang masuk dalam batas *repeatability*, disimpulkan sebagai hasil pengujian yang baik. Hasil perhitungan *repeatability* kultur murni *E. Coli* dapat dilihat pada Tabel 4. dan Tabel 5. dibawah.

- Metode *Plate Count Agar* (PCA)

Tabel 4. *Repeatability* pada Kultur Murni Bakteri *E. Coli* dengan media PCA

No.	Kode contoh	PCA		Batas <i>repeatability</i> * (Log ALT)	Kesimpulan
		ALT	Log		
1.	AS 31	760	2,8808	2,6906 – 3,1906	Diterima
2.	AS 32	970	2,9868	2,6906 – 3,1906	Diterima
3.	AS 33	900	2,9542	2,6906 – 3,1906	Diterima
Jumlah			8,8218		
Rata-rata			2,9406		

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan * : 0,25, nilai batas *repeatability* sesuai ISO 4833

Sesuai Tabel 4. diatas, semua hasil pengujian ALT kultur murni bakteri *E. Coli* pada media PCA, masuk dalam batas keberterimaan *repeatability* ISO 4833.

- Metode *Petrifilm AC Plate*

Tabel 5. *Repeatability* pada Kultur Murni Bakteri *E. Coli* menggunakan *Petrifilm AC Plate*

No.	Kode contoh	Petrifilm AC Plate		Batas <i>repeatability</i> * (Log ALT)	Kesimpulan
		ALT	Log		
1.	AS 31	930	2,9685	2,7396 – 3,2196	Diterima
2.	AS 32	1100	3,0414	2,7396 – 3,2196	Diterima
3.	AS 33	910	2,9590	2,7396 – 3,2196	Diterima
Jumlah			8,9689		
Rata-rata			2,9896		

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan * : 0,25, nilai batas *repeatability* sesuai ISO 4833

Sesuai Tabel 5. diatas, semua hasil pengujian ALT kultur murni *S. Aureus* pada media PCA, masuk pada batas keberterimaan *repeatability* ISO 4833.

b. Sampel kultur murni bakteri *Staphylococcus Aureus*

Jumlah koloni yang didapatkan pada sampel kultur murni *S. Aureus*, dilakukan perhitungan ALT. Hasil perhitungan ALT kemudian dilog10. Jumlahkan hasil log10 dan hitung rata-ratanya. Rata-rata log10 ALT ditambah dan dikurangi dengan $r = 0,25$, hasil perhitungan ini merupakan batas *repeatability* (keterulangan). Log ALT yang masuk dalam batas *repeatability*, disimpulkan sebagai hasil pengujian yang baik. Hasil perhitungan *repeatability* kultur murni *S. Aureus* dapat dilihat pada Tabel 6. dan Tabel 7. dibawah.

- Metode *Plate Count Agar* (PCA)

Tabel 6. *Repeatability* pada Kultur Murni Bakteri *S. Aureus* dengan media PCA

No.	Kode contoh	PCA		Batas repetability* (Log ALT)	Kesimpulan
		ALT	Log		
1.	BS 31	9700	3,9868	3,7484 – 4,2484	Diterima
2.	BS 32	12000	4,0791	3,7484 – 4,2484	Diterima
3.	BS 33	8500	3,9294	3,7484 – 4,2484	Diterima
Jumlah			11,9953		
Rata-rata			3,9984		

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan * : 0,25, nilai batas *repeatability* sesuai ISO 4833

Sesuai Tabel 6. diatas, semua hasil pengujian ALT kultur murni bakteri *E. Coli* pada media PCA, masuk dalam batas keberterimaan *repeatability* ISO 4833..

- Metode *Petrifilm AC Plate*

Tabel 7. *Repeatability* pada Kultur Murni Bakteri *S. Aureus* menggunakan *Petrifilm AC Plate*

No.	Kode contoh	Petrifilm AC Plate		Batas repetability* (Log ALT)	Kesimpulan
		ALT	Log		
1.	BS 31	11000	4,0414	3,7671 – 4,2671	Diterima
2.	BS 32	11000	4,0414	3,7671 – 4,2671	Diterima
3.	BS 33	9300	3,9685	3,7671 – 4,2671	Diterima
Jumlah			12,0513		
Rata-rata			4,0171		

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan * : 0,25, nilai batas *repeatability* sesuai ISO 4833

Semua hasil pengujian ALT kultur murni bakteri *S. Aureus* menggunakan *Petrifilm AC Plate*, masuk dalam keberterimaan *repeatability* ISO 4833.

c. Contoh kultur murni bakteri *Salmonella*

Jumlah koloni yang didapatkan pada sampel kultur murni *Salmonella*, dilakukan perhitungan ALT. Hasil perhitungan ALT kemudian dilog10. Jumlahkan hasil log10 dan hitung rata-ratanya. Rata-rata log10 ALT ditambah dan dikurangi dengan $r = 0,25$, hasil perhitungan ini merupakan batas *repeatability* (keterulangan). Log ALT

yang masuk dalam batas *repeatability*, disimpulkan sebagai hasil pengujian yang baik. Hasil perhitungan *repeatability* kultur murni *Salmonella* dapat dilihat pada Tabel 8. dan Tabel 9. dibawah.

- Metode *Plate Count Agar* (PCA)

Tabel 8. *Repeatability* pada Kultur Murni Bakteri *Salmonella* dengan media PCA

No.	Kode contoh	PCA		Batas repetability* (Log ALT)	Kesimpulan
		ALT	Log		
1.	CS 21	2800	3,4472	3,3201 – 3,8201	Diterima
2.	CS 22	3900	3,5911	3,3201 – 3,8201	Diterima
3.	CS 23	4700	3,6721	3,3201 – 3,8201	Diterima
Jumlah			10,7104		
Rata-rata			3,5701		

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan * : 0,25, nilai batas *repeatability* sesuai ISO 4833

Sesuai tabel diatas, semua hasil pengujian ALT kultur murni bakteri *E. Coli* pada media PCA, masuk dalam batas keberterimaan *repeatibility* ISO 4833..

- Metode *Petrifilm AC Plate*

Tabel 9. *Repeatability* pada Kultur Murni Bakteri *Salmonella* menggunakan *Petrifilm AC Plate*

No.	Kode contoh	Petrifilm AC Plate		Batas repetability* (Log ALT)	Kesimpulan
		ALT	Log		
1.	CS 21	2600	3,4150	3,2421 – 3,7421	Diterima
2.	CS 22	3600	3,5563	3,2421 – 3,7421	Diterima
3.	CS 23	3200	3,5051	3,2421 – 3,7421	Diterima
Jumlah			10,4764		
Rata-rata			3,4921		

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan * : 0,25, nilai batas *repeatability* sesuai ISO 4833

Semua hasil pengujian ALT kultur murni bakteri *Salmonella* menggunakan *Petrifilm AC Plate*, masuk dalam keberterimaan *repeatibility* ISO 4833.

Setelah dilakukan perhitungan *repeatability* (keterulangan) pada kultur murni bakteri, ternyata semua hasil pengujian ALT pada sampel kultur murni bakteri dapat

diterima sesuai perhitungan statistik ISO 4833. Hal ini menunjukkan bahwa kerja peneliti dalam pengujian ini, telah dilakukan dengan baik sesuai metode. Sehingga dapat dikatakan bahwa data pengujian yang didapatkan adalah akurat.

2. *Reproduksibility* (Reproduksibilitas)

Reproduksibility dilakukan untuk melihat kesamaan atau kesesuaian antara metode yang dikembangkan dengan metode standar. *Reproduksibility* yang dilakukan sesuai dengan ISO 4833. Pada evaluasi awal dilakukan perhitungan *Reproduksibility* pada hasil pengujian ALT kultur murni bakteri. Digunakan kultur murni bakteri dengan harapan tidak banyak terjadi penyimpangan pada hasil pengujian nantinya. Hasil perhitungan ini digunakan sebagai acuan awal, sebelum dilakukan evaluasi metode dengan sampel produk perikanan.

Reproduksibility diartikan sebagai perbedaan absolut antara dua hasil uji tunggal, diperoleh dengan menggunakan metode yang sama pada uji identik bahan di laboratorium yang berbeda dengan operator berbeda menggunakan peralatan yang berbeda, tidak boleh lebih besar dari batas reproduktifitas, $R = 0,45$, di $\log_{10}$ mikroorganisme per mililiter (Sesuai dengan 2,8 pada skala normal dalam mikroorganisme per mililiter).

Jumlah koloni kultur murni bakteri yang didapatkan dari masing-masing media, dilakukan perhitungan ALT. Hasil perhitungan ALT kemudian dilog₁₀ dan catat hasilnya. Karena standar metode pengujian adalah SNI 01-2332.3-2006, maka kurangi dan tambahkan masing-masing log₁₀ ALT PCA dengan $r = 0,45$, hasil ini merupakan batas *reproduksibility* (reproduksibilitas). Log ALT *Petrifilm AC Plate* yang masuk pada batas *reproduksibility*, disimpulkan sebagai hasil pengujian ALT yang sesuai dengan metode standar (SNI 01-2332.3-2006). Adapun perhitungan *reproduksibility* yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 10. berikut :

Tabel 10. *Reproduksibility* Metode Pengujian ALT dengan Sampel Kultur Murni Bakteri *E. Coli*, *S. Aureus* dan *Salmonella*

No	Kode contoh	PCA		<i>Petrifilm AC Plate</i>		Batas <i>reproduksibility</i> * (Log ALT)	Kesimpulan
		ALT	Log	ALT	Log		
1.	AS 31	760	2,8808	930	2,9685	2,4308 – 3,3308	Diterima
2.	AS 32	970	2,9868	1100	3,0414	2,5368 – 3,4368	Diterima

3.	AS 33	900	2,9542	910	2,9590	2,5042 – 3,4042	Diterima
4.	BS 31	9700	3,9868	11000	4,0414	3,4368 – 4,4914	Diterima
5.	BS 32	12000	4,0791	11000	4,0414	3,6291 – 4,5291	Diterima
6.	BS 33	8500	3,9294	9300	3,9685	3,4794 – 4,3794	Diterima
7.	CS 21	2800	3,4472	2600	3,4150	2,9972 – 3,8972	Diterima
8.	CS 22	3900	3,5911	3600	3,5563	3,1411 – 4,0411	Diterima
9.	CS 23	4700	3,6721	3200	3,5051	3,2221 – 4,1221	Diterima

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan * : 0,45, nilai batas *reproduksibility* sesuai ISO 4833

Dari perhitungan *reproduksibility* ternyata semua hasil perhitungan ALT kultur murni bakteri dengan dua metode berbeda, memiliki hasil pengujian yang sama sesuai perhitungan statistik ISO 4833. Hasil ini menunjukkan bahwa pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* memiliki kesesuaian yang baik dengan SNI 01-2332.3-2006 sebagai metode standar pengujian ALT, ditinjau dari penggunaan sampel kultur murni bakteri. Selanjutnya dapat dilakukan evaluasi kesesuaian metode pada sampel produk perikanan.

5.3. Hasil dan Evaluasi Pengujian ALT Menggunakan *Petrifilm Aerobic Count (AC) Plate* dan Metode SNI 01-2332.3-2006 Terhadap Produk Perikanan

Setelah didapatkan evaluasi hasil pengujian ALT pada kultur murni bakteri dan hasil pengujian ALT, kemudian dilakukan pengujian ketahanan *Petrifilm AC Plate* terhadap pengujian ALT pada produk perikanan, serta untuk melihat kesesuaian hasil pengujian dengan metode SNI 01-2332.3-2006. Pengujian ini dilakukan pada beberapa sampel produk perikanan yang diujikan oleh perusahaan di LPPMHP Surabaya. Adapun hasil pengujian dan evaluasi yang dilakukan adalah sebagai berikut :

5.3.1. Hasil Pengujian dari Sampel Produk Hasil Perikanan

Setelah dilakukan pengujian ALT pada produk perikanan, akhirnya didapatkan perhitungan jumlah koloni yang beragam dengan beberapa karakteristik tertentu. Berikut adalah hasil dari pengujian yang telah dilakukan :

5.3.1.1. Sampel Produk Hasil Perikanan pada Tanggal 29 April 2015

Pengujian ALT produk perikanan I menggunakan media PCA dan *Petrifilm AC Plate*, dilakukan menggunakan 6 sampel produk perikanan yang diujikan beberapa perusahaan di LPPMHP Surabaya. Pengujian ini dilakukan secara *duplo* untuk memberikan akurasi jumlah mikroba yang tumbuh pada pengujian ALT, dengan pengkodean A dan B pada bagian tutup media. Pengenceran dilakukan sebanyak 4 kali, hingga pengenceran ke 10^{-4} . Berikut adalah Keterangan kode sampel dan hasil pengujian ALT pada produk perikanan I :

29968642 SCP 1-13 : Prefried frozen dim sum shrimpers (vannamei cook)

249934756 SOO 1-21 : Frozen breaded shrimp

1191 SO 1-13 : Vannamei PND

509952657 OCT 1-6 : Octopus boiled (gurita beku)

509952545 IT 1-13 : Tuna steak

..6564 : King salmon nat fillet (fillet salmon beku)

- Metode *Plate Count Agar* (PCA)

Tabel 11. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan I dengan Media PCA

No	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	
1.	29968642	A	57	7	0	0	Koloni berwarna putih dan kuning, dan terdapat koloni motil
		B	62	15	2	0	
2.	1191	A	TBU	229	29	8	Pengenceran 10^{-1} terbentuk jamur, Koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	242	26	2	
			TBU				
			D				
3.	249934756	A	TBU	99	11	2	Koloni berwarna putih dan kuning dan terdapat koloni motil
		B	D	140	36	6	
			TBU				
			D				
4.	509952657	A	TBU	388	26	0	Pengenceran pertama terbentuk jamur
		B	D	286	27	4	
			TBU				

			D				
5.	509952545	A	TBU	TBU	151	16	Pengenceran pertama terbentuk jamur
		B	D	D	119	12	
			TBU	505			
			D				
6.	..6564	A	283	48	5	2	Koloni berwarna putih dan kuning
		B	328	52	6	0	

Sumber : Data primer (2016)

Untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media PCA, maka dibuatkan kontrol pengencer dan media, dilakukan secara duplo. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I sebanyak 1 koloni, kontrol pengencer II sebanyak 2 koloni, kontrol media I sebanyak 1 koloni dan kontrol media II sebanyak 2 koloni. Dapat dilihat dari kontrol pengencer dan media, ternyata hanya ditumbuhi ≤ 2 koloni, sedangkan standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni atau jamur yang tumbuh pada kontrol media dan agar maksimal adalah 5 (lima). Hal ini menunjukkan hasil pengujian ALT menggunakan media PCA ini dapat diterima, karena kontaminan yang diberikan dari pengencer dan media sangat kecil. Koloni yang tumbuh berwarna putih dan kuning, terdapat koloni yang membentuk pergerakan (motil), beberapa sampel juga membentuk jamur pada media PCA.

- Metode *Petrifilm AC Plate*

Tabel 12. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan I menggunakan *Petrifilm AC Plate*

No	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
1.	29968642	A	111	18	2	0	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	80	15	2	0	
2.	1191	A	TBU	TBU	55	5	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	D	44	4	
			TBU	304			
			D				
3.	249934756	A	TBU	91	12	0	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	96	15	3	

			TBU D				
4.	509952657	A B	TBU D TBU D	TBU D 339	35 34	2 7	Koloni berwarna merah atau merah muda
5.	509952545	A B	TBU D TBU D	TBU D TBU D	152 122	13 11	Koloni berwarna merah atau merah muda
6.	..6564	A B	259 245	17 32	5 6	1 0	Koloni berwarna merah atau merah muda

Sumber : Data primer (2016)

Untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media *Petrifilm AC Plate*, maka dibuatkan kontrol pengencer, dilakukan secara duplo. Kontrol pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* hanya dilakukan terhadap pengencer. Ini dikarenakan *Petrifilm AC Plate* hanya dapat bekerja ketika bereaksi dengan pengencernya. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I dan kontrol pengencer II tidak ditumbuhi koloni. Dapat dilihat pada pengujian ini, kontrol pengencer yang sama sekali tidak ditumbuhi koloni, sedangkan standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni atau jamur yang tumbuh pada kontrol media dan agar maksimal adalah 5 (lima). Hal ini menunjukkan hasil pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* ini dapat diterima, karena tidak terdapat kontaminan dari pengencer. Koloni yang tumbuh berwarna merah dan merah muda.

5.3.1.2. Sampel Produk Hasil Perikanan pada tanggal 3 Mei 2016

Pengujian ALT produk perikanan II menggunakan media PCA dan *Petrifilm AC Plate*, dilakukan menggunakan 6 sampel produk perikanan yang diujikan beberapa perusahaan di LPPMHP Surabaya. Pengujian ini dilakukan secara *duplo* untuk memberikan akurasi jumlah mikroba yang tumbuh pada pengujian ALT, dengan pengkodean A dan B pada bagian tutup media. Pengenceran dilakukan sebanyak 4 kali, hingga pengenceran ke 10^{-4} . Berikut adalah Keterangan kode sampel dan hasil pengujian ALT pada produk perikanan II :

1271 ISE : kapassan HL (kapasan beku tanpa kepala)

1258 KTT 17-21 : Meat (daging paha katak)

509954750 IT 1-8 SSFNCCO : Fillet kakap

279927429 FUU 1-6 : Frog meat (paha katak beku kecil)

1268 IBJ 1-12 : King snapper fillet

29969594 IG 9-13 : Ikan Gulama

- Metode *Plate Count Agar* (PCA)

Tabel 13. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan II dengan Media PCA

No .	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
1.	1271	A	TBU	TBU	TBU	109	Pengenceran 10 ⁻¹ terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	D	108	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		
2.	1258	A	TBU	TBU	TBU	42	Pengenceran 10 ⁻¹ terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	D	43	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		
3.	509954750	A	TBU	TBU	TBU	39	Koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	D	33	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		
4.	279927429	A	TBU	TBU	TBU	42	Pengenceran 10 ⁻¹ terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	D	55	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		
5.	1268	A	TBU	TBU	TBU	134	Pengenceran 10 ⁻¹ terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	D	122	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		
6.	29969594	A	TBU	TBU	183	20	Koloni berwarna putih dan

		B	D TBU D	D TBU D	132	13	kuning
--	--	---	---------------	---------------	-----	----	--------

Sumber : Data primer (2016)

Pada pengujian kali ini dibuatkan kontrol lingkungan, untuk melihat seberapa tinggi kontaminan dari lingkungan. Kontrol lingkungan dibuat setelah dilakukan penghidupan lampu UV selama ± 30 menit. Penghidupan lampu UV dilakukan 2 sampai 3 kali setiap bulan untuk mengurangi kontaminan dari bakteri di ruang laboratorium mikrobiologi. Standar LPPMHP terhadap jumlah koloni atau jamur pada kontrol lingkungan adalah 15 (lima belas). Dari kontrol lingkungan didapatkan ≤ 6 koloni. Jumlah ini masih dapat diterima, karena dalam pengujian dilakukan pada *laminary flow chart* dan digunakan bunsen untuk meminimalkan kontaminan dari lingkungan. Selain itu pengujian dilakukan dengan cepat dan teliti, sehingga jumlah kontaminan yang sedikit tidak akan mempengaruhi hasil pengujian.

Sedangkan untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media PCA, maka dibuatkan kontrol pengencer dan media, dilakukan secara duplo. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I sebanyak 2 koloni, kontrol pengencer II sebanyak 1 koloni, kontrol media I tidak ditumbuhi koloni dan kontrol media II sebanyak 1 koloni. Dapat dilihat kontrol pengencer dan media hanya ditumbuhi ≤ 2 koloni, sedangkan standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni atau jamur yang tumbuh pada kontrol media dan agar maksimal adalah 5 (lima). Hal ini menunjukkan hasil pengujian ALT menggunakan media PCA ini dapat diterima, karena kontaminan yang diberikan dari pengencer dan media sangat kecil. Koloni yang tumbuh berwarna putih dan kuning, beberapa sampel juga membentuk jamur pada media PCA.

- Metode *Petrifilm AC Plate*

Tabel 14. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan II Menggunakan *Petrifilm AC Plate*

No	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
1.	1271	A	TBU	TBU	TBU	107	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	D	D	112	

			TBU D	TBU D	TBU D		
2.	1258	A B	TBU D TBU D	TBU D TBU D	TBU D TBU D	45 43	Koloni berwarna merah atau merah muda
3.	509954750	A B	TBU D TBU D	TBU D TBU D	TBU D TBU D	42 45	Koloni berwarna merah atau merah muda
4.	279927429	A B	TBU D TBU D	TBU D TBU D	TBU D TBU D	69 63	Koloni berwarna merah atau merah muda
5.	1268	A B	TBU D TBU D	TBU D TBU D	TBU D TBU D	146 154	Koloni berwarna merah atau merah muda
6.	29969594	A B	TBU D TBU D	TBU D TBU D	148 117	10 15	Koloni berwarna merah atau merah muda

Sumber : Data primer (2016)

Untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media *Petrifilm AC Plate*, maka dibuatkan kontrol pengencer, dilakukan secara duplo. Kontrol pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* hanya dilakukan terhadap pengencer. Ini dikarenakan *Petrifilm AC Plate* hanya dapat bekerja ketika bereaksi dengan pengencernya. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I ditumbuhi 1 koloni dan kontrol pengencer II tidak ditumbuhi koloni. Dari hasil pengujian ini, dapat dilihat kontrol pengencer ditumbuhi ≤ 1 koloni. Hal ini menunjukkan hasil pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* ini dapat diterima, karena kontaminan dari pengencer

sangat kecil. Koloni yang tumbuh pada *Petrifilm AC Plate* berwarna merah dan merah muda.

5.3.1.3. Sampel Produk Hasil Perikanan pada tanggal 4 Mei 2016

Pengujian ALT produk perikanan III menggunakan media PCA dan *Petrifilm AC Plate*, dilakukan menggunakan 6 sampel produk perikanan yang diujikan beberapa perusahaan di LPPMHP Surabaya. Pengujian ini dilakukan secara *duplo* untuk memberikan akurasi jumlah mikroba yang tumbuh pada pengujian ALT, dengan pengkodean A dan B pada bagian tutup media. Pengenceran dilakukan sebanyak 4 kali, hingga pengenceran ke 10^{-4} . Berikut adalah Keterangan kode sampel dan hasil pengujian ALT pada produk perikanan III :

1289 IED 1-21 : Frozen white baitte (fillet ikan daging putih)

1274 IBB 20-25 : Yellow fin tuna steak (daging tuna bentuk stik)

989945515 ST 5-8 : Coconut shrimp skower (daging vannamei beku)

249934732 SOO 1-21 : Frozen breaded shrimp

309936804 CB 1-6 : Tuna flake in pouch (serbuk daging ikan tuna)

1276 1-13 : Shrimp cheese stick (shrimp shiumaiy keju)

- Metode *Plate Count Agar* (PCA)

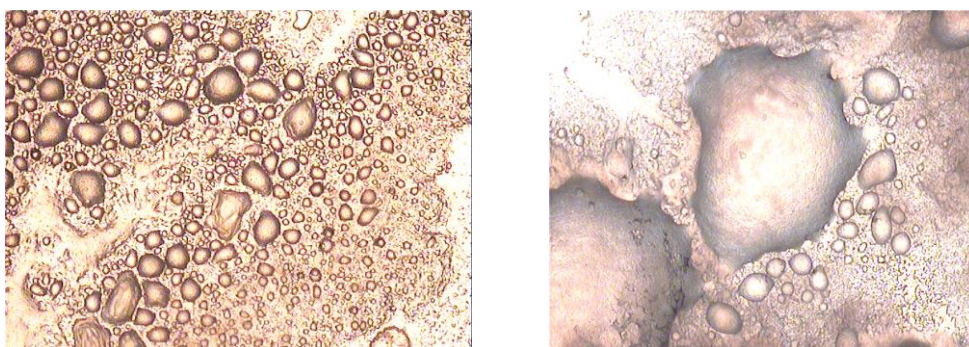
Tabel 15. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan III dengan Media PCA

No	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	
1.	1289	A	TBU	TBU	199	19	Pengenceran 10^{-1} terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	165	21	
			TBU	TBU			
			D	D			
2.	1274	A	TBU	96	11	0	Koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	92	9	1	
			TBU				
			D				
3.	989945515	A	TBU	TBU	TBU	270	Pengenceran 10^{-1} terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	D	280	
			TBU	TBU	TBU		

			D	D	D		
4.	249934732	A B	TBU D TBU D	TBU D TBU D	89 73	9 6	Koloni berwarna putih dan kuning
5.	309936804	A B	134 187	8 14	2 0	0 1	Pengenceran 10^{-1} terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning
6.	1276	A B	TBU D TBU D	30 16	2 4	1 11	Pengenceran 10^{-1} terbentuk jamur dan sebuah kumpulan air dalam media, koloni berwarna putih dan kuning, serta terdapat koloni motil

Sumber : Data primer (2016)

Untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media PCA, maka dibuatkan kontrol pengencer dan media, dilakukan secara duplo. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I sebanyak 2 koloni, kontrol pengencer II sebanyak 1 koloni, kontrol media I tidak ditumbuhi koloni dan kontrol media II sebanyak 1 koloni. Dapat dilihat kontrol pengencer dan media hanya ditumbuhi ≤ 2 koloni, sedangkan standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni atau jamur yang tumbuh pada kontrol media dan agar maksimal adalah 5 (lima). Hal ini menunjukkan hasil pengujian ALT menggunakan media PCA ini dapat diterima, karena kontaminan yang diberikan dari pengencer dan media sangat kecil. Koloni yang tumbuh berwarna putih dan kuning, terdapat koloni yang membentuk pergerakan (motil), beberapa sampel juga membentuk jamur pada media PCA. Pada sampel shrimp shiumaiy keju (kode 1276) terbentuk sebuah kumpulan air, kemudian dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop digital dengan pembesaran 50 kali, kumpulan air di mikroskop dapat dilihat pada Gambar 9. Berikut :



Gambar 9. Kumpulan Air pada Media, Contoh 1276
Sumber : Data Primer (2016)

- Metode *Petrifilm AC Plate*

Tabel 16. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan III Menggunakan *Petrifilm AC Plate*

No	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
1.	1289	A	TBU	TBU	189	27	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	D	158	20	
		TBU	TBU				
		D	D				
2.	1274	A	TBU	89	7	3	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	72	4	0	
		TBU					
		D					
3.	989945515	A	TBU	TBU	TBU	308	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	D	D	297	
		TBU	TBU	TBU			
		D	D	D			
4.	249934732	A	TBU	TBU	59	3	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	D	68	4	
		TBU	TBU				
		D	D				
5.	309936804	A	99	11	0	1	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	87	12	2	0	
6.	1276	A	TBU	93	11	3	Pengenceran 10 ⁻¹ , 10 ⁻² terbentuk

		B	D TBU D	56	9	2	uap air sehingga koloni tidak dapat dihitung
--	--	---	---------------	----	---	---	--

Sumber : Data primer (2016)

Untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media *Petrifilm AC Plate*, maka dibuatkan kontrol pengencer, dilakukan secara duplo. Kontrol pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* hanya dilakukan terhadap pengencer. Ini dikarenakan *Petrifilm AC Plate* hanya dapat bekerja ketika bereaksi dengan pengencernya. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I ditumbuhi 1 koloni dan kontrol pengencer II tidak ditumbuhi koloni. Dari hasil pengujian ini, dapat dilihat kontrol pengencer ditumbuhi ≤ 1 koloni, sedangkan standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni atau jamur yang tumbuh pada kontrol media dan agar maksimal adalah 5 (lima). Hal ini menunjukkan hasil pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* ini dapat diterima, karena kontaminan dari pengencer sangat kecil. Koloni yang tumbuh berwarna merah dan merah muda. Pada sampel 1276 pengencer I dan II terbentuk uap air pada *Petrifilm AC Plate*, sehingga koloni rusak dan tersebar. Uap air pada *Petrifilm AC Plate* dapat dilihat pada Gambar 10. Berikut.



Gambar 10. Uap Air pada *Petrifilm AC Plate*

Sumber : Data Primer (2016)

5.3.1.4. Sampel Produk Hasil Perikanan pada tanggal 11 Mei 2016

Pengujian ALT produk perikanan IV menggunakan media PCA dan *Petrifilm AC Plate*, dilakukan menggunakan 6 sampel produk perikanan yang diujikan beberapa perusahaan di LPPMHP Surabaya. Pengujian ini dilakukan secara *duplo* untuk

memberikan akurasi jumlah mikroba yang tumbuh pada pengujian ALT, dengan pengkodean A dan B pada bagian tutup media. Pengenceran dilakukan sebanyak 4 kali, hingga pengenceran ke 10^{-4} . Berikut adalah Keterangan kode sampel dan hasil pengujian ALT pada produk perikanan IV :

1069929097 CTSI 1-3 : Cutlefish (cumi-cumi)

1069929749 SRSI 1-13 : Surimi ikan

2499105313 SOO 1-21 : Frozen breaded shrimp

989947707 ST 13-21 CPD IQF : Udang cook

1372 IUT 14-26 : Croaker won (ikan gulama)

509957336 17-21 : Ribbon fish (ikan layur)

- Metode *Plate Count Agar* (PCA)

Tabel 17. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan IV dengan Media PCA

No	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	
1.	989947707	A	TBU	TBU	75	45	Koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	132	5	
			TBU	TBU			
			D	D			
2.	2499105313	A	TBU	233	37	0	Pada pengenceran 10^{-4} A terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning, terdapat koloni motil
		B	D	207	33	3	
			TBU				
			D				
3.	1069929097	A	TBU	TBU	TBU	138	Pada pengenceran 10^{-2} B dan 10^{-4} B terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	D	49	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		
4.	10699291245	A	TBU	TBU	TBU	116	Pada 10^{-4} B pengenceran terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning
		B	D	D	D	124	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		
5.	1372	A	TBU	254	49	8	Koloni berwarna putih dan

		B	D TBU D	223	48	2	kuning
6.	509957336	A B	TBU D TBU D	TBU D TBU D	TBU D TBU D	52 67	Pada 10^{-1} pertama terbentuk jamur, koloni berwarna putih dan kuning

Sumber : Data primer (2016)

Pada pengujian kali ini dibuatkan kontrol lingkungan, untuk melihat seberapa tinggi kontaminan dari lingkungan. Standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol lingkungan adalah sebanyak 15 (lima belas). Kontrol lingkungan dibuat setelah dilakukan penghidupan lampu UV selama ± 30 menit. Dari kontrol lingkungan ini, didapatkan ≤ 7 koloni. Jumlah ini masih dapat diterima karena masih dibawah standar LPPMHP, serta dalam pengujian dilakukan pada *laminary flow chart* dan digunakan bunsen untuk meminimalkan kontaminan dari lingkungan. Selain itu pengujian dilakukan dengan cepat dan teliti, sehingga jumlah kontaminan yang sedikit tidak akan mempengaruhi hasil pengujian.

Untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media PCA, maka dibuatkan kontrol pengencer dan media, dilakukan secara duplo. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I sebanyak 1 koloni, kontrol pengencer II tidak ditumbuhi koloni, kontrol media I tidak ditumbuhi koloni dan kontrol media II sebanyak 1 koloni. Dapat dilihat kontrol pengencer dan media hanya ditumbuhi ≤ 1 koloni, sedangkan standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni atau jamur yang tumbuh pada kontrol media dan agar maksimal adalah 5 (lima). Hal ini menunjukkan hasil pengujian ALT menggunakan media PCA ini dapat diterima, karena kontaminan yang diberikan dari pengencer dan media sangat kecil. Koloni yang tumbuh berwarna putih dan kuning, terdapat koloni yang membentuk pergerakan (motil), beberapa sampel juga membentuk jamur pada media PCA.

- Metode *Petrifilm AC Plate*

Tabel 18. Hasil Pengujian ALT pada Produk Perikanan IV Menggunakan *Petrifilm AC Plate*

No	Kode contoh	Cawan petri	Pengenceran				Keterangan
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
1.	989947707	A	TBU	TBU	56	4	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	D	43	5	
			TBU	TBU			
			D	D			
2.	2499105313	A	TBU	160	14	6	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	219	18	4	
			TBU				
			D				
3.	1069929097	A	TBU	TBU	TBU	87	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	D	D	43	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		
4.	10699291245	A	TBU	TBU	TBU	66	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	D	D	75	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		
5.	1372	A	TBU	185	33	3	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	145	27	8	
			TBU				
			D				
6.	509957336	A	TBU	TBU	TBU	59	Koloni berwarna merah atau merah muda
		B	D	D	D	53	
			TBU	TBU	TBU		
			D	D	D		

Sumber : Data primer (2016)

Untuk mengidentifikasi kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada media *Petrifilm AC Plate*, maka dibuatkan kontrol pengencer, dilakukan secara duplo. Kontrol

pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* hanya dilakukan terhadap pengencer. Ini dikarenakan *Petrifilm AC Plate* hanya dapat bekerja ketika bereaksi dengan pengencernya. Pada pengujian ini didapatkan kontrol pengencer I ditumbuhi 1 koloni dan kontrol pengencer II tidak ditumbuhi koloni. Dari hasil pengujian ini, dapat dilihat kontrol pengencer ditumbuhi ≤ 1 koloni, sedangkan standar LPPMHP Surabaya terhadap jumlah koloni atau jamur yang tumbuh pada kontrol media dan agar maksimal adalah 5 (lima). Hal ini menunjukkan hasil pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* ini dapat diterima, karena kontaminan dari pengencer sangat kecil. Koloni yang tumbuh pada *Petrifilm AC Plate* berwarna merah dan merah muda.

5.3.2. Evaluasi Metode Terhadap Sampel Produk Perikanan

Setelah didapatkan hasil perhitungan ALT pada berbagai sampel produk perikanan, selanjutnya dilakukan perhitungan *reproduksibility* untuk melihat kesesuaian metode pengujian menggunakan *Petrifilm AC plate* terhadap metode SNI 01-2332.3-2006.

Jumlah koloni sampel produk perikanan yang didapatkan dari masing-masing media, dilakukan perhitungan ALT sesuai dengan metode standar. Hasil perhitungan ALT kemudian dilog₁₀ dan catat hasilnya. Karena standar metode pengujian ini adalah SNI 01-2332.3-2006, maka kurangi dan tambahkan masing-masing log₁₀ ALT media PCA dengan nilai simpangan (r) = 0,45 sesuai aturan ISO 4833, hasil ini merupakan batas *reproduksibility* (reproduksibilitas). Log ALT *Petrifilm AC Plate* yang masuk pada batas *reproduksibility*, disimpulkan sebagai hasil pengujian ALT yang sesuai dengan metode standar (SNI 01-2332.3-2006). Adapun perhitungan *reproduksibility*, dapat dilihat pada Tabel 19. berikut :

Tabel 19. *Reproduksibility* Metode Pengujian ALT dengan Sampel Produk Perikanan

No.	Kode contoh	PCA		Petrifilm AC Plate		Batas diterima* <i>reproduksibility</i> (Log ALT)	Kesimpulan
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	249934756	13000	4,1139	9400	3,9731	3,6639 – 4,5639	Diterima
2.	29968642	600	2,7782	960	2,9823	2,3282 – 3,2285	Diterima
3.	1276	3000	3,4771	7500	3,8751	3,0271 – 3,9271	Diterima
4.	2499105313	9600	3,9822	19000	4,2787	3,5322 – 4,4322	Diterima

5.	249934732	81000	4,9085	64000	4,8062	4,4585 – 5,3585	Diterima
6.	10699291245	1200000	6,0792	710000	5,8513	5,6292 – 6,5292	Diterima
7.	29969594	160000	5,2041	130000	5,1139	4,7541 – 5,6541	Diterima
8.	1372	600000	4,4314	18000	4,2253	3,9814 – 4,8814	Diterima
9.	509957336	27000	5,7782	560000	5,7482	5,3282 – 6,2282	Diterima
10.	5099552657	27000	4,4314	35000	4,5441	3,9814 – 4,8814	Diterima
11.	1069929097	940000	5,9731	650000	5,8129	5,5231 – 6,4231	Diterima
12.	1271	1100000	6,0414	1100000	6,0414	5,5914 – 6,4914	Diterima
13.	1191	28000	4,4472	49000	4,6902	3,9972 – 4,8972	Diterima
14.	989945515	2800000	6,4472	2900000	6,4624	5,9972 – 6,8972	Diterima
1	2	3	4	5	6	7	8
15.	989947707	120000	5,0792	49000	4,6902	4,6292 – 5,5292	Diterima
16.	1289	182000	5,2600	178000	5,2504	4,8100 – 5,7100	Diterima
17.	..6564	5000	3,6990	2500	3,3979	3,2490 – 4,1490	Diterima
18.	509954750	360000	5,5563	440000	5,6435	5,1063 – 6,0063	Diterima
19.	1258	430000	5,6335	440000	5,6435	5,1835 – 6,0835	Diterima
20.	509952545	14000	4,1461	14000	4,1461	3,6961 – 4,5961	Diterima
21.	1274	9400	3,9731	8100	3,9084	3,5231 – 4,4231	Diterima
22.	30936804	1600	3,2041	930	2,9685	2,7541 – 3,6541	Diterima
23.	1268	1300000	6,1139	1500000	6,1761	5,6639 – 6,5639	Diterima
24.	279927429	490000	5,6902	660000	5,8195	5,2402 – 6,1402	Diterima

Sumber : Data primer (2016)

Keterangan * : 0,45 nilai batas *reproduksibility* metode sesuai ISO 4833

Keterangan kode sampel :

249934756 SOO 1-21 : Frozen breaded shrimp

29968642 SCP 1-13 : Prefried frozen dim sum shrimpers (vannamei cook)

1276 SW 1-13 : Shrimp cheese stick (shrimp shiumaiy keju)

2499105313 SOO 1-21 : Frozen breaded shrimp

249934732 SOO 1-21 : Frozen breaded shrimp

29969594 IG 9-13 : Ikan Gulama

1372 IUT 14-26 : Croaker won (ikan gulama)

509957336 17-21 : Ribbon fish (ikan layur)

509952657 OCT 1-6 : Octopus boiled (gurita beku)

1069929097 CTSI 1-3 : Cutlefish (cumi-cumi)
 1271 ISE : kapasan HL (kapasan beku tanpa kepala)
 1191 SO 1-13 : Vannamei PND
 989945515 ST 5-8 : Coconut shrimp skower (daging vannamei beku)
 989947707 ST 13-21 CPD IQF : Udang cook
 1289 IED 1-21 : Frozen white bailte (fillet ikan daging putih)
 ..6564 : King salmon nat fillet (fillet salmon beku)
 509954750 IT 1-8 SSFNCCO : Fillet kakap
 1258 KTT 17-21 : Meat (daging paha katak)
 509952545 IT 1-13 : Tuna steak
 1274 IBB 20-25 : Yellow fin tuna steak (daging tuna bentuk stik)
 309936804 CB 1-6 : Tuna flake in pounch (serbuk daging ikan tuna)
 1268 IBJ 1-12 : King snapper fillet
 279927429 FUU 1-6 : Frog meat (paha katak beku kecil)
 1069929749 SRSI 1-13 : Surimi ikan

Dari perhitungan reproduksibility diatas dapat dilihat bahwa pengujian ALT pada produk perikanan menggunakan dua metode memiliki hasil pengujian yang sama, sesuai perhitungan statistik ISO 4833. Selanjutnya dapat disimpulkan bahwa pengujian ALT pada produk perikanan dapat menggunakan *Petrifilm AC Plate*, karena sesuai dengan SNI 01-2332.3-2006 sebagai metode standar pengujian ALT pada produk perikanan.

5.4. Identifikasi Waktu Pengujian dan Kapasitas Inkubasi pengujian Angka Lempeng Total (ALT)

Identifikasi waktu penguji dilakukan untuk melihat efektifitas pengujian ALT menggunakan Petrifilm AC Plate dibandingkan dengan metode SNI 01-2332.3-2006. Adapaun identifikasi yang telah dilakukan adalah sebagai berikut :

5.4.1. Identifikasi Waktu pengujian ALT

Pada pengujian Angka Lempeng Total (ALT) melewati beberapa tahapan pegujian dengan berbagai variasi waktu pengujian. Identifikasi waktu pengujian ini dilakukan pada satu sampel yang sama dan masing-masing dikerjakan secara duplo. Identifikasi yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Waktu Pengujian ALT berdasarkan SNI 01-2332.3-2006.

- Pengovenan cawan dan pipet ukur : Pada persiapan peralatan dilakukan pengovenan (sterilisasi kering) untuk cawan petri dan pipet ukur pada suhu 170°C - 180°C selama 2 jam. Namun untuk mencapai suhu 170°C – 180°C diperlukan waktu 1 jam, sehingga total waktu pengovenan adalah ± 3 jam.
- Sterilisasi pengencer : Sterilisasi pengencer atau pereaksi *Butterfield's Phosphat Buffered* (BFP) dilakukan dalam *autoclave* (sterilisasi uap) pada suhu 121°C selama 15 menit. Namun untuk mencapai suhu sterilisasi dibutuhkan waktu lebih dari 1 jam. Sehingga total waktu yang diperlukan untuk sterilisasi ini adalah $\pm 1,5$ jam.
- Sterilisasi media : Media yang digunakan adalah *Plate Count Agar* (PCA) yang sebelum digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu di dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan waktu yang dibutuhkan untuk mencapai suhu sterilisasi adalah lebih dari 1 jam, Sehingga total waktu sterilisasi adalah $\pm 1,5$ jam.
- Prosedur pengujian ALT : Tahapan ini dilakukan mulai pengenceran sampel, pemindahan sampel pada cawan petri, penuangan media, proses pengerasan gel media agar (± 15 menit). Sehingga total waktu yang diperlukan adalah ± 30 menit.
- Waktu inkubasi : inkubasi dilakukan selama 48 jam ± 2 jam pada suhu $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Perhitungan koloni : Perhitungan koloni menggunakan *coloni counter* untuk pengujian ALT metode SNI 01-2332.3-2006 untuk satu sampel uji memerlukan waktu ± 15 menit.

2. Waktu Pengujian ALT menggunakan *Petrifilm Aerobic Count* (AC) *Plate*

- Pengovenan pipet ukur : Pada persiapan peralatan dilakukan pengovenan (sterilisasi kering) untuk pipet ukur pada suhu 170°C - 180°C selama 2 jam. Namun untuk mencapai suhu 170°C – 180°C diperlukan waktu 1 jam, sehingga total waktu pengovenan adalah ± 3 jam.
- Sterilisasi pengencer : Sterilisasi pengencer atau pereaksi dilakukan dalam *autoclave* (sterilisasi uap) pada suhu 121°C selama 15 menit. Namun untuk mencapai suhu sterilisasi dibutuhkan waktu lebih dari 1 jam. Sehingga total waktu yang diperlukan untuk sterilisasi ini adalah $\pm 1,5$ jam.
- Prosedur Pengujian ALT : Tahapan ini dilakukan mulai pengenceran sampel, pemindahan sampel pada *Petrifilm AC Plate*, proses pembentukan gel (5 menit). Total waktu yang diperlukan adalah ± 10 menit.
- Waktu inkubasi : inkubasi dilakukan selama 48 jam ± 2 jam pada suhu $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

- Perhitungan koloni : Perhitungan koloni dengan *coloni counter* untuk pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* untuk satu sampel uji memerlukan waktu $\pm$ 10 menit.
3. Identifikasi Waktu Pengujian ALT berdasarkan SNI 01-2332.3-2006 dengan *Petrifilm AC Plate*

Sterilisasi peralatan (cawan petri dan pipet ukur) dan pengencer (BFP), serta inkubasi dapat diabaikan dalam identifikasi waktu pengujian. Hal ini dilakukan karena peralatan dan pengencer telah disterilisasi diluar waktu pengujian sebagai stok (cadangan) pengujian. Sedangkan inkubasi merupakan tetapan baku pengujian yang waktu pekerjaannya sama dan tidak terdapat variasi pekerjaan pada kondisi ini, sehingga dapat diabaikan untuk identifikasi waktu pengujian.

Waktu pengujian ALT metode SNI 01-2332.3-2006 yaitu 90 menit (sterilisasi media) + 30 menit (prosedur pengujian ALT) + 15 menit (perhitungan koloni), sehingga total waktu pengujian ALT metode SNI 01-2332.3-2006 adalah $\pm$ 215 menit. Sedangkan waktu pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* yaitu 10 menit (prosedur pengujian) + 10 menit (perhitungan koloni), sehingga total waktu pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* adalah 20 menit.

Dari uraian diatas, ketika waktu pengujian ALT metode SNI 01-2332.3-2006 dibandingkan waktu pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* akan didapatkan perbandingan $215 : 20 = 10 : 1$. Sehingga dapat disimpulkan pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* memiliki waktu pengujian 10 kali lebih cepat dibandingkan pengujian ALT metode SNI 01-2332.

5.4.2. Identifikasi Kapasitas Inkubasi

Pada pengujian ALT metode SNI 01-2332.3-2006 inkubasi dilakukan dalam inkubator, LPPMHP menetapkan maksimal tumpukan cawan petri pada inkubator dipengujian ALT adalah 6 tumpukan dan didalam inkubator terdapat 3 rak tempat diletakkanya cawan petri. Dengan tetapan tumpukan ini, satu rak inkubator dapat ditempati 300 cawan petri. Sehingga untuk jumlah total cawan petri yang dapat diinkubasikan dalam inkubator adalah 300 cawan dikalikan 3 rak inkubator adalah 900 cawan petri.

Sedangkan untuk pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* penumpukan film ketika pengujian dapat dilakukan setinggi 20 tumpukan. Pada satu rak inkubator,

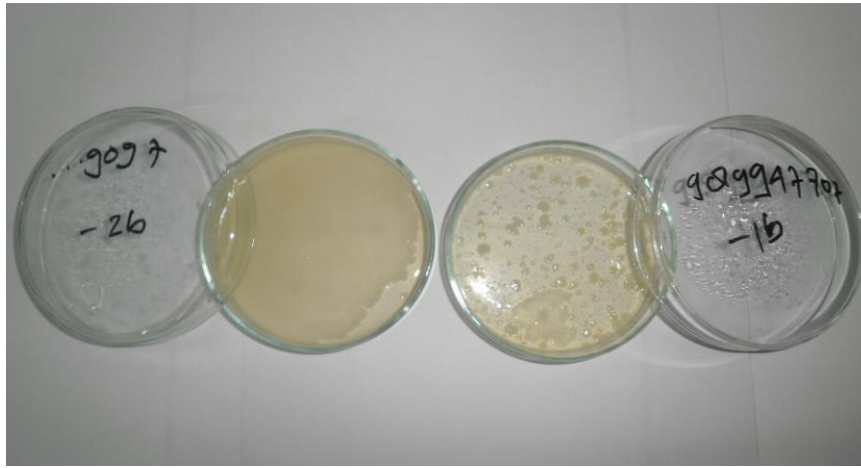
Petrifil AC Plate dapat disusun menjadi 15 baris dan 5 banjar. Sehingga dengan 20 tumpukan, satu rak inkubator akan mampu menampung 1500 petrifilm. Karena didalam inkubator terdapat 3 rak, maka total yang dapat ditampung dalam inkubator adalah $1500 \times 3 = 4500$ *petrifilm AC Plate* pada jenis pengujian ALT yang sama.

Dari uraian diatas, ketika kapasitas inkubasi pengujian ALT metode SNI 01-2332.3-2006 dibandingkan dengan kapasitas pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* akan didapatkan perbandingan $900 : 4500 = 1 : 5$. Sehingga dapat disimpulkan pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* memiliki kapasitas inkubasi 5 kali lebih besar dibandingkan dengan pengujian ALT metode SNI 01-2332.

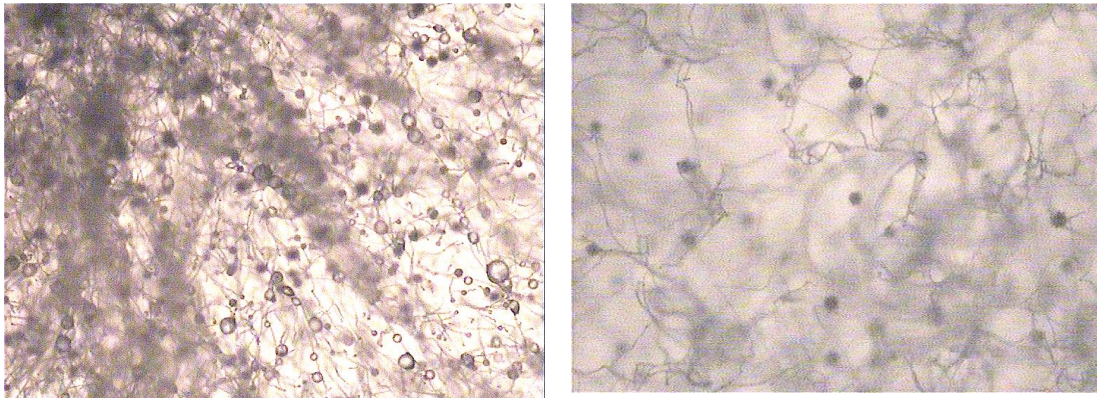
5.5. Kelebihan dan Kelemahan Pengujian Angka Lempeng Total Menggunakan *Petrifilm AC Plate*

1. Kelebihan

- *Petrifilm AC Plate* memberikan kecepatan dalam pengujian ALT. Karena tidak perlu menunggu pembuatan media PCA dan sterilisasi cawan petri.
- *Petrifilm AC Plate* memberikan kemudahahan dalam pengujian. Karena cara kerjanya lebih mudah dan tidak menggunakan peralatan yang gampang pecah (cawan petri).
- *Petrifilm AC Plate* menghemat jumlah tenaga kerja. Karena penggunaannya yang lebih mudah dan tidak banyak peralatan yang digunakan.
- *Petrifilm AC Plate* lebih mudah untuk disimpan dan tidak perlu dilakukan sterilisasi ketika akan dilakukan pengujian.
- *Petrifilm AC Plate* lebih mudah ketika dilakukan inkubasi, karena dapat ditumpuk hingga 20 kali. Sehingga memberikan banyak ruang pada inkubator.
- *Petrifilm AC Plate* tidak ditumbuhi jamur sehingga memudahkan ketika dilakukan perhitungan jumlah koloni bakteri. Gambar 11. adalah pertumbuhan jamur pada media PCA, dan Gambar 12. merupakan hasil pengamatan jamur menggunakan mikroskop digital dengan pembesaran 50 kali.



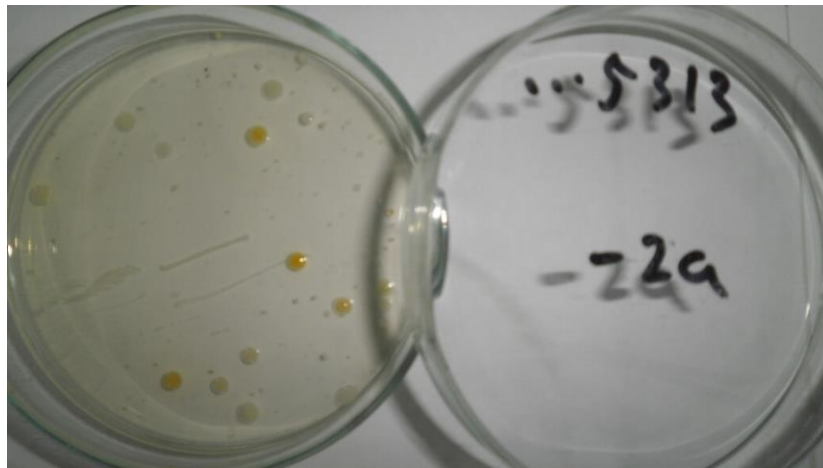
Gambar 11. Pertumbuhan Jamur di Media PCA
Sumber : Data Primer (2016)



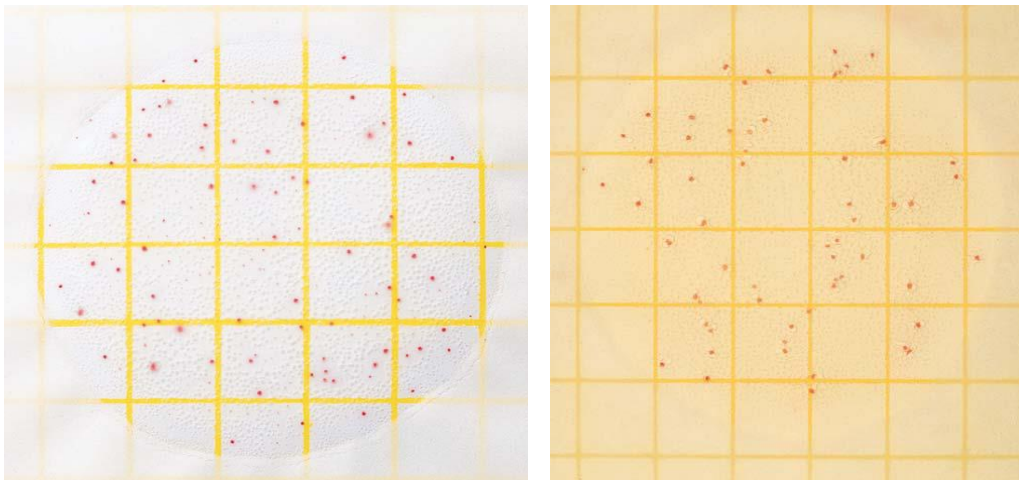
Gambar 12. Jamur pada Media PCA Pengamatan Mikroskop, contoh 1256 (kiri) dan 1258 (kanan)
Sumber : Data Primer (2016)

2. Kelemahan.

- Petrifilm AC Plate tidak dapat memberikan karakteristik bakteri yang tumbuh dari produk. Koloni bakteri yang tumbuh di Petrifilm AC Plate berbentuk serupa dengan warna yang sama. Karakteristik bakteri diperlukan dalam pendugaan awal terhadap bakteri pada sampel yang diujikan. Gambar 13. adalah karakteristik koloni bakteri pada media PCA, dan Gambar 14. merupakan karakteristik koloni di *Petrifilm AC Plate*.



Gambar 13. Karakteristik Bakteri di Media PCA
Sumber : Data Primer (2016)



Gambar 14. Karakteristik Bakteri di *Petrifilm AC Plate*
Sumber : Data Primer (2016)

- *Petrifilm AC Plate* tidak tahan pada produk yang mengandung bakteri penghasil uap air (misalnya kelompok bakteri *Lactobacillus*). Sehingga menyulitkan ketika perhitungan koloni. Reaksi pembentukan uap air dapat dilihat pada lampiran 2. Uap air pada *Petrifilm AC Plate* dapat dilihat pada Gambar 15. berikut :



Gambar 15. Uap Air Bakteri di *Petrifilm AC Plate*
Sumber : Data Primer (2016)

- *Petrifilm AC Plate* tidak dapat digunakan sebagai indikator kontrol lingkungan kerja pengujian, karena tidak memiliki kemampuan dalam pembacaan pertumbuhan jamur.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil setelah melaksanakan Kerja Praktek Akhir (KPA) di Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan antara lain :

1. Setelah dilakukan evaluasi metode berdasarkan ISO 4833, ternyata pengujian ALT menggunakan *Petrifilm AC Plate* sesuai dengan SNI 01-2332.3-2006 sebagai metode standar pengujian, serta memiliki kesesuaian yang baik pada pengujian ALT dengan sampel produk perikanan.
2. Kelebihan *Petrifilm AC Plate* antara lain : pengujiannya 10 kali lebih cepat dibandingkan metode standar, memberikan kemudahan dalam pengujian ALT, menghemat jumlah tenaga kerja, lebih mudah untuk disimpan dan tidak perlu dilakukan sterilisasi ketika akan dilakukan pengujian, kapasitas inkubasi 5 kali lebih banyak dibandingkan metode standar, serta tidak ditumbuhi jamur.
3. Kelemahan dari *Petrifilm AC Plate* antara lain : tidak dapat memberikan karakteristik bakteri yang tumbuh dari produk, tidak tahan pada produk yang mengandung bakteri penghasil uap air seperti bakteri *Bacillus*, sehingga menyulitkan ketika perhitungan koloni, serta tidak dapat digunakan sebagai indikator kontrol lingkungan kerja pengujian.

6.2. Saran

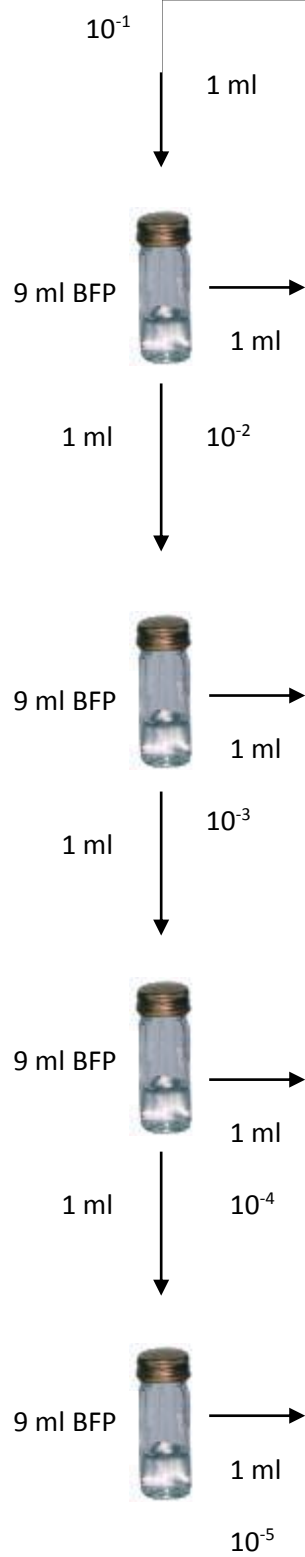
Adapun saran yang dapat diberikan adalah:

1. *Petrifilm AC Plate* dapat digunakan dalam pengujian ALT Pada produk perikanan, karena sesuai dengan SNI 01-2332.3-2006 sebagai metode standar pengujian ALT pada produk perikanan.
2. Sebaiknya tidak menggunakan *Petrifilm AC Plate* pada pengujian produk perikanan yang diperkirakan mengandung bakteri yang menghasilkan uap air, misalnya bakteri *Lactobacillus* pada produk perikanan yang dicampurkan keju.

DAFTAR PUSTAKA

- Admin. 2011. Perikanan. <http://id.wikipedia.org/wiki/Perikanan> [diakses 08-05-2001]
- Ahira, Anne. 2010. *Menyusun Makalah Mikrobiologi itu Mudah*. <http://www.anneahira.com/makalah-mikrobiologi.htm> [diakses 06-02-2011]
- Bengke. 2008. Pengalengan Ikan Segar. <http://agrokompleksonline.blogspot.com/2009/05/pengalengan-ikan-segar.html> [diakses 08-05-2011]
- DKP. 2008. DKP Dorong Penerapan Food Safety Produk Perikanan. <http://www.kkp.go.id/index.php/archives/c/34/208/dkp-dorong-penerapan-food-safety-produk-perikanan/>. [diakses 08-05-2011]
- Ehsa. 2010. *Industri Pengolahan Ikan*. <http://ehsablog.com/industri-pengolahan-ikan.html> [diakses 08-05-2011]
- Hery. 2011. *Sifat Mikroorganisme Terhadap Proses Pengolahan*. <http://herypurwantomanik.blogspot.com/2011/03/sifat-mikroorganisme-terhadap-proses.html> [diakses 08-05-2011]
- ISSN 1829-9334. 2008. *Pengujian Mikrobiologi Pangan*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Hal 1
- KKP. 2008. *DKP Dorong Penerapan Food Safety Produk Perikanan*. <http://www.kkp.go.id/index.php/archives/c/34/208/dkp-dorong-penerapan-food-safety-produk-perikanan/> [diakses 08-05-2011]
- Kusumaningsih, Anni. 2010. *Bahaya Cemaran Mikroba Pada Pangan Asal Ternak*. <http://bbalitvet.litbang.deptan.go.id/ind/index.php/en/component/content/article/38-ilmiah/134-bahaya-cemaran-mikroba-pada-pangan-asal-ternak> [diakses 16-02-2011]
- Mardalis. 1993. *Metode Penelitian Suatu Pendekatan Proposal*. PT. Bumi Aksara. Jakarta. Hal. 63-66
- Nanankurnia. 2008. *Kemunduran Mutu Ikan*. <http://nanankurnia.wordpress.com/2008/03/01/kemunduran-mutu-ikan/>. [diakses 19-04-2010]
- Narbuko, C dan Abu Achmadi. 2001. *Metodologi Penelitian*. PT. Bumi Aksara. Jakarta. Hal. 153-155
- Nazir, M. 1998. *Metode Penelitian*. Ghalia Indonesia. Jakarta. Hal. 58-71
- Nuhi. 2009. *Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT)*. <http://nhinstein.wordpress.com/2009/10/28/tpc> [diakses 08-02-2011]

- Pelczar, Michael dan Chan. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Universitas Indonesia. Jakarta. Hal 1 – 2
- Riyadi, Dkk. 2007. *Menuju Jaminan Keamanan Pangan Produk Perikanan dengan Traceability*. <http://www.bbrp2b.kkp.go.id/en/media-massa/menuju-jaminan-keamanan-pangan-produk-perikanan-dengan-traceability/> [diakses 08-05-2011]
- Siswoyo, B.B. *Pengembangan Jiwa Kewirausahaan di Kalangan Dosen dan Mahasiswa*. Fakultas Ekonomi Universitas Negeri Malang. Malang. Hal. 118
- SNI 01-2332.3-2006. 2006. *Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta. Hal. 2 - 4
- Sumarsih, Sri. 2003. *Mikrobiologi Dasar*. Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Yogyakarta. Yogyakarta. Hal 2
- Suhadi. 2010. *Pengaruh Faktor Lingkungan Terhadap Pertumbuhan Mikroba*. <http://theman9.blogspot.com/2010/03/pengaruh-faktor-lingkungan-terhadap-pertumbuhan-mikroba/> [diakses 08-02-2011]
- Susaptotono, Yogyo. *Ekspor Udang Masih Andalan*. http://www.indonesia.go.id/id/index.php/www.bangka.go.id/index.php?option=com_content&task=view&id=11570&Itemid=696 [diakses 08-02-2010]
- Trisno, Iwan. 2010. *Pengawetan Makanan/ Minuman* http://litbang.patikab.go.id/index.php?option=com_content&view=article&id=78:pengawetan-makananminuman&catid=90:pengawetan-makananminuman&Itemid=60 [diakses 08-05-2011]
- Wiryawan, Adam. 2011. *Uji Organoleptik*. http://www.chem-is-try.org/materi_kimia/instrumen/uiji-organoleptik/uiji-organoleptik/ [diakses 08-02-2011]

Lampiran 1. Skema Penentuan Angka Lempeng Total (ALT)**PENGENCERAN**

HOMOGENASI
25 gr contoh dalam 225 ml BFP



PCA



PCA



PCA



PCA



PCA



PCA



PCA



PCA



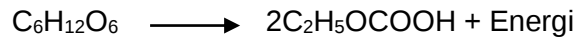
Inkubasi
35°C, 48 + 2 jam



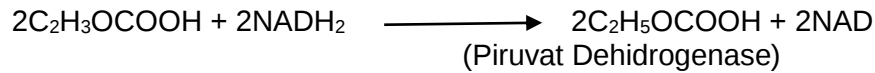
Hitung ALT

Lampiran 2. Terbentunya Air pada Fermentasi Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus*)

Fermentasi Asam Laktat

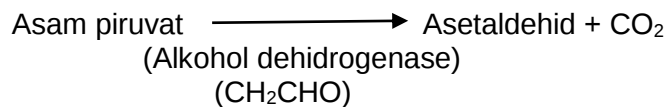


Proses

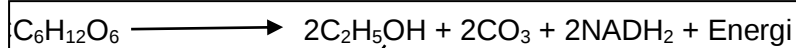
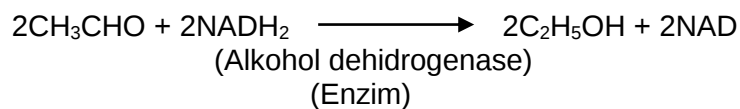


Fermentasi Alkohol

1. Gula $\longrightarrow$ Asam Piruvat
2. Dekarboksilase Asam Piruvat



3. Asetaldehid oleh alkohol dehidrogenase diubah menjadi etanol



Fermentasi Asam Cuka



Terbentuk uap air pada tahapan fermentasi terakhir

Lampiran 3. About 3M Petrifilm Aerobic Count Plate

Description

The 3m petrifilm aerobic count (AC) plate is a sample-ready-culture-medium system which contains standard methods nutrients, a cold-water-soluble gelling agent, and a tetrazolium indicator that facilitates colony enumeration of aerobic bacteria in the food and beverage industries. Petrifilm AC plate are decontaminated though not sterilized. 3M microbiology is certified to ISO (international standards organization) 9001.

Cautions

3M has not documented petrifilm AC plates for use in industries other than food and beverage. For example, 3M has not documented petrifilm AC plates for testing water, pharmaceuticals or cosmetics.

Petrifilm AC plate have not been tested with all possible food products, food processes, testing protocols or with all possible strains of microorganism.

The petrifilm AC plate has been evaluated following AOAC/ AFNOR/ NordVal guidelines and has performed in representative sample of the following food categories : vegetable, meat, dairly, and processed foods.

Do not use petrifilm AC plate for U.S.-recognized laboratory pasteurized counts. Do not use petrifilm AC plate in the diagnosis of conditions humans or animals

For information on documentation of product performance contact your official 3M microbiology representative.

User Responsibility

No one culture medium will always recover the exact same strains or enumerate a particular strain exactly as does another medium. In addition, external factors such as sampling methods, testing protocols, preparation time and handling may influence recovery and enumeration. For example, some strains (such as some lactic acid bacteria or some micrococci) may not be detected on petrifilm AC plate while some bacterial strains may recover at higher levels compared to plate count agar.

It is the user's responsibility in selecting any test method to evaluate a sufficient number of sample with particular foods and microbial challenges to satisfy the user that the chosen test method meets the user's criteria.

It is also the user's responsibility to determine that any test methods and results meet its customers' or suppliers' requirements.

As with any culture medium, petrifilm AC plate result do not constitute a guarantee of quality of food or beverage products or processes that are tested with the plates.

The user must train its personnel in proper testing techniques : for example, good laboratory practices (U.S. food and drug administration, title 21, part 58 of the code of federal regulations) or ISO 17025

DISCLAIMER OF WARRANTIES/ LIMITED REMEDY

UNLESS OTHERWISE PROHIBITED BY LAW, 3M DISCLAIMS ALL EXPRESS AND IMPLIED WARRANTIES, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, ANY WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR USE. If any 3M petrifilm plate is proven to be defectiv, 3M or its authorized distributor will replace or, at its option, refund the purchase discovery of any suspected defect in a product and return the product to 3M. Please call customer service (1-800-328-1671 in the U.S) or your official 3M microbiology representative for a returned goods authorization.

LIMITATION OF 3M LIABILITY

UNLESS OTHERWISE PROHIBITED BY LAW, 3M WILL NOT BE LIABLE TO USER OR OTHERS FOR ANY LOSS OR DAMAGE, WHETHER DIRECT, INDIRECT, SPECIAL, INCIDENTAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, LOST PROFITS. Except where prohibited by law, in no event shall 3M's liability under any legal theory exceed the purchase price of the plates alleged to be defective. Customer may have additional rights and should seek advice in country of purchase.

STORAGE AND DISPOSAL

Store unopened petrifilm plate pouches refrigerated or frozen at temperature $< 8^{\circ}\text{C}$ (46°F). Just prior to use, allow unopened pouches to come to room temperature before opening. Return unused plates to pouch. Seal by folding the end of the pouch over and taping shut. To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches. Store resealed pouches in a cool dry place for no longer than one month. It is recommended that resealed pouches of petrifilm plates be stored in a freezer (see below) if the laboratory temperature exceeds 25°C (77°F) and/or the laboratory is located in a region where the relative humidity exceeds 50% (with the exception of air-conditioned premises).

To store opened pouches in a freezer, place petrifilm plates in a sealable container. To remove frozen petrifilm plates for use, open the container, remove the plates that are needed and immediately return remaining plates to the sealed container. Plates should not be used past their expiration date. The freezer that is used for open pouch storage must not have an automatic defrost cycle as this would repeatedly expose the plates to moisture which can damage the plates.

Do not use plates that show discoloration. Expiration date and lot number are noted on each package of petrifilm plates. The lot number is also noted on individual plates. Jangan gunakan piring yang menunjukkan perubahan warna. Expiration tanggal dan nomor banyak dicatat pada setiap paket piring petrifilm. Jumlah banyak juga tercatat di piring masing-masing.

After use, petrifilm AC plates may contain microorganisms that may be a potential biohazard. Follow current industry standards for disposal.

Instructions for Use

Sample Preparation

1. Use appropriate sterile diluents:

Butterfield's phosphate buffer, 30,1% peptone water, peptone salt diluent, saline solution (0,85-0,90), bisulfite-free letheen broth or distilled water

Do not use diluents containing citrate, bisulfite or thiosulfate with petrifilm plates; they can inhibit growth. In citrate buffer is indicate in the standard procedure, substitute with one of the buffer listed above, warmed to $40\text{--}45^{\circ}\text{C}$.

2. Blend or homogenize sample.

3. For optimal growth and recovery of microorganism, adjust the PH of the sample suspension to 6,6 – 7,2 for acidic products, adjust the PH with 1 N NaOH. For alkaline products, adjust the PH with 1 N HCl.

Plating

1. Place the petrifilm on a flat, level surface (see figure a)
2. Lift the top film and with the pipette perpendicular dispense 1 ml of sample suspension onto the center of bottom film (see figure b)
3. Drop the top film down onto the sample. (see figure c)
4. Place the plastic spreader with the recessed side down on the center of the plate (see figure d). Press gently on the center of the spreader to distribute the sample evenly. Spread the inoculum over the entire petrifilm plate growth area before the gel is formed. Do not slide the spreader across the film.
5. Remove the spreader and leave the plate undisturbed for at least one minute to permit the gel to form.

Incubation

Incubate plates in a horizontal position with the clear side up in stacks of no more than 20 plate. Several incubation times and temperatures can be used depending on current local reference methods.

For example:

AOAC official methods (986.33 bacterial and coliform counts in milk, dry rehydratable film methods and 989.10 bacterial and coliform counts in dairy products, dry rehydratable film methods) incubate petrifilm AC plates 48 hours $\pm$ 3 hours at 32°C $\pm$ 1°C.

AOAC official methods (990.12 aerobic plate count in foods, dry rehydratable film methods). Incubate petrifilm AC plate 48 hours $\pm$ 3 hours at 35°C $\pm$ 1°C AOAC.

AFNOR validated method

Total aerobic count in comparison to ISO 4833 (3M 01/1-09/89) all foods. Incubate petrifilm AC plates 72 hours $\pm$ 3 hours at 30°C $\pm$ 1°C.

Noric system for validation of alternative microbiological methods, NordVal Validation (Ref. No.: 2003-20-5408-00011).

Refer to NordVal validation for petrifilm AC plate method details.

Interpretation

1. Petrifilm AC plate can be counted using a standard colony counter or other illuminated magnifier. Count all red colonies regardless of size or intensity (see figure e).
2. The circular growth area is approximately 20 cm². Estimates can be made on plates containing greater than 300 colonies by counting the number of colonies in two or more representative square. Multiply the average number by 20 to determine the estimated count per plate (see figure f).
3. High concentrations of colonies on the petrifilm AC plates will cause the entire growth area to become red or pink. Occasionally, on overcrowded plates, the center may lack visible colonies, but many small colonies can be seen on the edges. When any of these occurs, record result as too numerous to count (TNTC). When an actual count is required, plate at higher dilution.
4. Some organisms can liquefy the gel, allowing them to spread out and obscure the presence of other colonies. If liquefied gel interferes with counting, an estimated count should be made by counting the unaffected areas.
5. Where necessary, colonies may be isolated for further identification. Lift the top film and pick the colony from the gel (see figure h). Test using standard procedures.
6. If the plate cannot be counted within 1 hour of removal from the incubator, they may be stored for later enumeration by freezing in a sealable container at temperatures $\leq$ minus 15°C for no longer than one week.

For further information refer to the appropriate petrifilm plate “Interpretation Guide”. If you have questions about specific applications or procedures, please contact your official 3M microbiology representative nearest you.

FDA. 1998. Bacteriological Analytical Manual, 8th ed., Revision A, Appendix 3.64.

1. International Standard Organization, ISO 6887-1:1999. Microbiology of food animal feeding stuffs – preparation of test samples, initial suspension and decimal dilution for microbiological examination.

2. International Standard Organization, ISO 8261:2001. Milk and milk product – general guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination.

AOAC is a registered trademark of AOAC INTERNATIONAL

Official Methods is a service mark of AOAC INTERNATIONAL