

	LABORATORIUM BALAI BESAR KARANTINA PERTANIAN BELAWAN	Nomor IKM : IKM.BBKP.BLW.05 Edisi/ Revisi : 1/1 Tanggal Terbit : 04 Juni 2018 Tanggal Revisi : 26 April 2021 Halaman Ke : 1 Dari 6 Paraf Kabid : Wasdak :
INSTRUKSI KERJA METODA		
DETEKSI CEMARAN MIKROBA PADA PANGAN ASAL HEWAN DENGAN METODA TPC (<i>Total Plate Count</i>)		

1. **Tujuan** : Menjamin deteksi cemaran mikroba pada pangan asal hewan dengan metode TPC dapat dilaksanakan dengan benar.
2. **Bahan**
 - a). *Plate Count Agar (PCA)*,
 - Campurkan 22,5 g PCA dalam 1 L aquadest
 - Mix larutan sampai homogen
 - Masak larutan sampai mendidih untuk membantu homogenisasi
 - Autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit
 - b). *Buffer Peptone Water (BPW) 0,1%*,
 - Campurkan 25,5 g BPW dalam 1 L aquadest
 - Mix larutan sampai homogen
 - Autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit
 - c). TTC 1 %
3. **Alat**
 - a) Cawan Petri;
 - b) Tabung reaksi;
 - c) pipet volumetrik;
 - d) botol media;
 - e) penghitung koloni (*colony counter*);
 - f) gunting;
 - g) pinset;
 - h) jarum inokulasi (*ose*)
 - i) *stomacher*;
 - j) pembakar bunsen;
 - k) pH meter;
 - l) timbangan;
 - m) magnetic stirer;
 - n) pengocok tabung (*vortex*);
 - o) inkubator;
 - p) penangas air;
 - q) autoklaf;
 - r) lemari pendingin (*refrigerator*);
 - s) friser.

	LABORATORIUM BALAI BESAR KARANTINA PERTANIAN BELAWAN	Nomor IKM : IKM.BBKP.BLW.05 Edisi/ Revisi : 1/1 Tanggal Terbit : 04 Juni 2018 Tanggal Revisi : 26 April 2021 Halaman Ke : 2 Dari 6 Paraf Kabid : Wasdak :
INSTRUKSI KERJA METODA		
DETEKSI CEMARAN MIKROBA PADA PANGAN ASAL HEWAN DENGAN METODA TPC (<i>Total Plate Count</i>)		

4. Penyiapan Sampel

- a. Timbang atau ukur contoh secara aseptik sebanyak 25 gram atau 25 ml kemudian masukkan dalam wadah steril.
- b. **Untuk contoh daging dan telur**
 Tambahkan 225 ml larutan *BPW* steril ke dalam kantong steril yang berisi contoh, homogenkan dengan *stomacher* selama 1 menit sampai dengan 2 menit, dengan kecepatan 10.000 rpm sampai dengan 12.000 rpm. Ini merupakan larutan dengan pengenceran 10^{-1} .
- c. **Untuk contoh susu**
 Tambahkan 225 ml larutan *BPW* steril ke dalam kantong atau wadah steril yang berisi contoh, homogenkan. Ini merupakan larutan dengan pengenceran 10^{-1} .

5. Prosedur Kerja

- a) Pindahkan 1 ml suspensi pengenceran 10^{-1} tersebut dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml *BPW* untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} .
- b) Buat pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} dengan cara yang sama seperti pada butir a), sesuai kebutuhan.
- c) Selanjutnya masukkan sebanyak 1 ml suspensi dari setiap pengenceran ke dalam cawan Petri secara duplo.
- d) Tambahkan 15 ml sampai dengan 20 ml PCA yang sudah didinginkan hingga temperatur 44°C sampai dengan 46°C pada masing-masing cawan yang sudah berisi suspensi. Supaya larutan contoh dan media PCA tercampur seluruhnya, lakukan pemutaran cawan ke depan dan ke belakang atau membentuk angka delapan dan diamkan sampai menjadi padat.
- e) inkubasikan pada temperatur 35°C sampai dengan 37°C selama 24 jam sampai dengan 48 jam dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik.



**LABORATORIUM
BALAI BESAR KARANTINA PERTANIAN
BELAWAN**

Nomor IKM : IKM.BBKP.BLW.05
Edisi/ Revisi : 1/1
Tanggal Terbit : 04 Juni 2018
Tanggal Revisi : 26 April 2021
Halaman Ke : 3 Dari 6
Paraf Kabid :
Wasdak

INSTRUKSI KERJA METODA

**DETEKSI CEMARAN MIKROBA
PADA PANGAN ASAL HEWAN DENGAN METODA TPC (*Total Plate Count*)**

6. Penghitungan Koloni

Hitung jumlah koloni pada setiap seri pengenceran kecuali cawan Petri yang berisi koloni menyebar (*spreader colonies*). Pilih cawan yang mempunyai jumlah koloni 25 sampai dengan 250.

7. Interpretasi Hasil

7.1 Cawan dengan jumlah koloni kurang dari 25

Bila cawan duplo dari pengenceran terendah menghasilkan koloni kurang dari 25, hitung jumlah yang ada pada cawan dari setiap pengenceran.

Rerata jumlah koloni per cawan dan kalikan dengan faktor pengencerannya untuk menentukan nilai TPC yang diperkirakan.

Tandai nilai TPC dengan tanda bintang (lihat Tabel 1 no.3) untuk menandai bahwa penghitungannya diluar 25 koloni sampai dengan 250 koloni per cawan.

7.2 Cawan dengan jumlah koloni lebih dari 250

Bila jumlah koloni per cawan lebih dari 250, hitung koloni-koloni pada cawan untuk memberikan gambaran penyebaran koloni secara representatif. Tandai penghitungan TPC dengan tanda bintang untuk menandai bahwa penghitungannya diluar 25-250 koloni per cawan (lihat Tabel 1 no.4).

7.3 Spreaders

Penyebaran koloni biasanya dibagi dalam 3 bentuk

- a) Rantai koloni, tidak terlalu kelihatan terpisah, disebabkan karena disintegrasi rumpun bakteri.
- b) Terbentuknya lapisan air antara agar dan dasar cawan.
- c) Terbentuknya lapisan air pada sisi atau permukaan agar.

Bila cawan yang disiapkan untuk contoh lebih banyak ditumbuhi oleh spreader seperti (a), dan total area yang melebihi 25% dan 50 % pertumbuhannya dilaporkan sebagai cawan spreader.

Hitung rerata jumlah koloni dari setiap pengenceran, kemudian laporkan jumlahnya sebagai TPC (lihat Tabel 1 no.5). Selain 3 (tiga) bentuk spreader, dapat dihitung sebagai satu pertumbuhan koloni. Untuk tipe (a), bila hanya terdapat satu rantai, hitunglah sebagai koloni tunggal. Bila ada satu atau lebih rantai yang terlihat dari sumber lain, hitung tiap sumber itu sebagai satu koloni, termasuk untuk tipe (b) dan (c) juga dihitung sebagai koloni. Gabungkan perhitungan koloni dan perhitungan spreader untuk menghitung TPC.

	LABORATORIUM BALAI BESAR KARANTINA PERTANIAN BELAWAN	Nomor IKM : IKM.BBKP.BLW.05 Edisi/ Revisi : 1/1 Tanggal Terbit : 04 Juni 2018 Tanggal Revisi : 26 April 2021 Halaman Ke : 4 Dari 6 Paraf Kabid : Wasdak
	INSTRUKSI KERJA METODA	
DETEKSI CEMARAN MIKROBA PADA PANGAN ASAL HEWAN DENGAN METODA TPC (<i>Total Plate Count</i>)		

7.4 Cawan tanpa koloni.

Bila cawan Petri dari semua pengenceran tidak menghasilkan koloni, laporkan TPC sebagai kurang dari 1 kali pengenceran terendah yang digunakan. Tandai TPC dengan tanda bintang bahwa penghitungannya diluar 25 koloni sampai dengan 250 koloni (lihat Tabel 1 no.6).

7.5 Cawan duplo, cawan yang satu dengan 25 koloni sampai dengan 250 koloni dan cawan yang lain lebih dari 250 koloni.

Bila cawan yang satu menghasilkan koloni antara 25 sampai dengan 250 dan yang lain lebih dari 250 koloni, hitung kedua cawan dalam penghitungan TPC (lihat Tabel 1 no.7)

7.6 Cawan duplo, satu cawan dari setiap pengenceran dengan 25 koloni sampai dengan 250 koloni.

Bila 1 cawan dari setiap pengenceran menghasilkan 25 koloni sampai dengan 250 koloni, dan cawan lain kurang dari 25 koloni atau menghasilkan lebih dari 250 koloni, hitung keempat dalam penghitungan TPC (lihat Tabel 1 no.8).

7.7 Cawan duplo, dua cawan dari satu pengenceran dengan 25 koloni sampai dengan 250 koloni, hanya 1 cawan dari pengenceran yang lain dengan 25 koloni sampai dengan 250 koloni. Bila kedua cawan dari satu pengenceran menghasilkan 25 koloni sampai dengan 250 koloni, hitung keempat cawan termasuk cawan yang kurang dari 25 atau yang lebih dari 250 koloni dalam penghitungan TPC (lihat Tabel 1 no.9).

8. Pelaporan Hasil

- a) Bulatkan angka menjadi 2 angka yang sesuai, bila angka ketiga 6 atau di atasnya, maka angka ketiga menjadi 0 (nol) dan angka kedua naik 1 angka, misalnya 456 menjadi 460.
- b) Bila angka ketiga 4 atau dibawahnya, maka angka ketiga menjadi 0 (nol) dan angka kedua tetap, misalnya 454 menjadi 450.
- c) Bila angka ketiga 5, maka angka tersebut dapat dibulatkan menjadi 0 (nol) dan angka kedua adalah angka genap, misalnya 445 menjadi 440.
- d) Bila angka ketiganya 5, maka angka tersebut dapat dibulatkan menjadi 0 (nol) dan angka kedua naik 1 angka, misalnya 455 menjadi 460.

	LABORATORIUM BALAI BESAR KARANTINA PERTANIAN BELAWAN	Nomor IKM : IKM.BBKP.BLW.05 Edisi/ Revisi : 1/1 Tanggal Terbit : 04 Juni 2018 Tanggal : 26 April 2021 Revisi : 5 Dari 6 Halaman Ke : Paraf Kabid Wasdak
	INSTRUKSI KERJA METODA	
DETEKSI CEMARAN MIKROBA PADA PANGAN ASAL HEWAN DENGAN METODA TPC (<i>Total Plate Count</i>)		

Tabel 1 Petunjuk Penghitungan TPC

No	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	TPC per ml atau gram	Keterangan
1	=== ===	175 208	16 17	190.000	bila hanya satu pengenceran yang berada dalam batas yang sesuai, hitung jumlah rerata dari pengenceran tersebut.
2	=== ===	224 225	25 30	250.000	bila ada dua pengenceran yang berada dalam batas yang sesuai, hitung jumlah masing-masing dari pengenceran sebelum merata-ratakan jumlah yang sebenarnya.
3	18 14	2 0	0 0	1.600*	Jumlah koloni kurang dari 25 koloni pada pengenceran terendah, hitung jumlahnya dan kalikan dengan faktor pengencerannya dan beri tanda * (diluar jumlah koloni 25 sampai dengan 250).
4	=== ===	==== ====	523 487	5.100.000*	Jumlah koloni lebih dari 250 koloni, hitung koloni yang dapat dihitung atau yang mewakili beri tanda* (diluar jumlah koloni 25 sampai dengan 250).
5	=== ===	245 230	35 spreader	290.000	Bila ada dua pengenceran diantara jumlah koloni 25 sampai dengan 250, tetapi ada spreader, hitung jumlahnya dan kalikan dengan faktor pengenceran, namun untuk spreader tidak dihitung.
6	0 0	0 0	0 0	100*	Bila cawan tanpa koloni, jumlah TPC adalah kurang dari 1 kali pengenceran terendah yang digunakan, dan beri tanda*
7	=== ===	245 278	23 20	260.000	Jika salah satu jumlah koloni 25 sampai dengan 250, dan yang lain lebih dari 250 koloni, hitung kedua cawan petri termasuk yang lebih dari 250 koloni, dan rerata jumlahnya.
8	=== ===	225 255	21 40	270.000	Bila salah satu cawan dengan jumlah koloni 25 sampai dengan 250 koloni dari tiap pengenceran, hitung jumlah dari tiap pengenceran termasuk yang kurang dari 25 koloni, lalu rerata jumlah yang sebenarnya.
9	=== === === ===	220 240 260 230	18 48 30 28	230.000 270.000	Bila hanya satu cawan yang menyimpang dari setiap pengenceran, hitung jumlah dari tiap pengenceran termasuk yang kurang dari 25 koloni atau lebih dari 250 koloni, kemudian rerata jumlah sebenarnya.

Batas Maksimum Cemaran Mikroba SNI No. 01-6366-2000

Daging	1X10⁴ CFU/g
Susu	1X10⁶ CFU/ ml
Telur	1X10⁵ CFU/ g

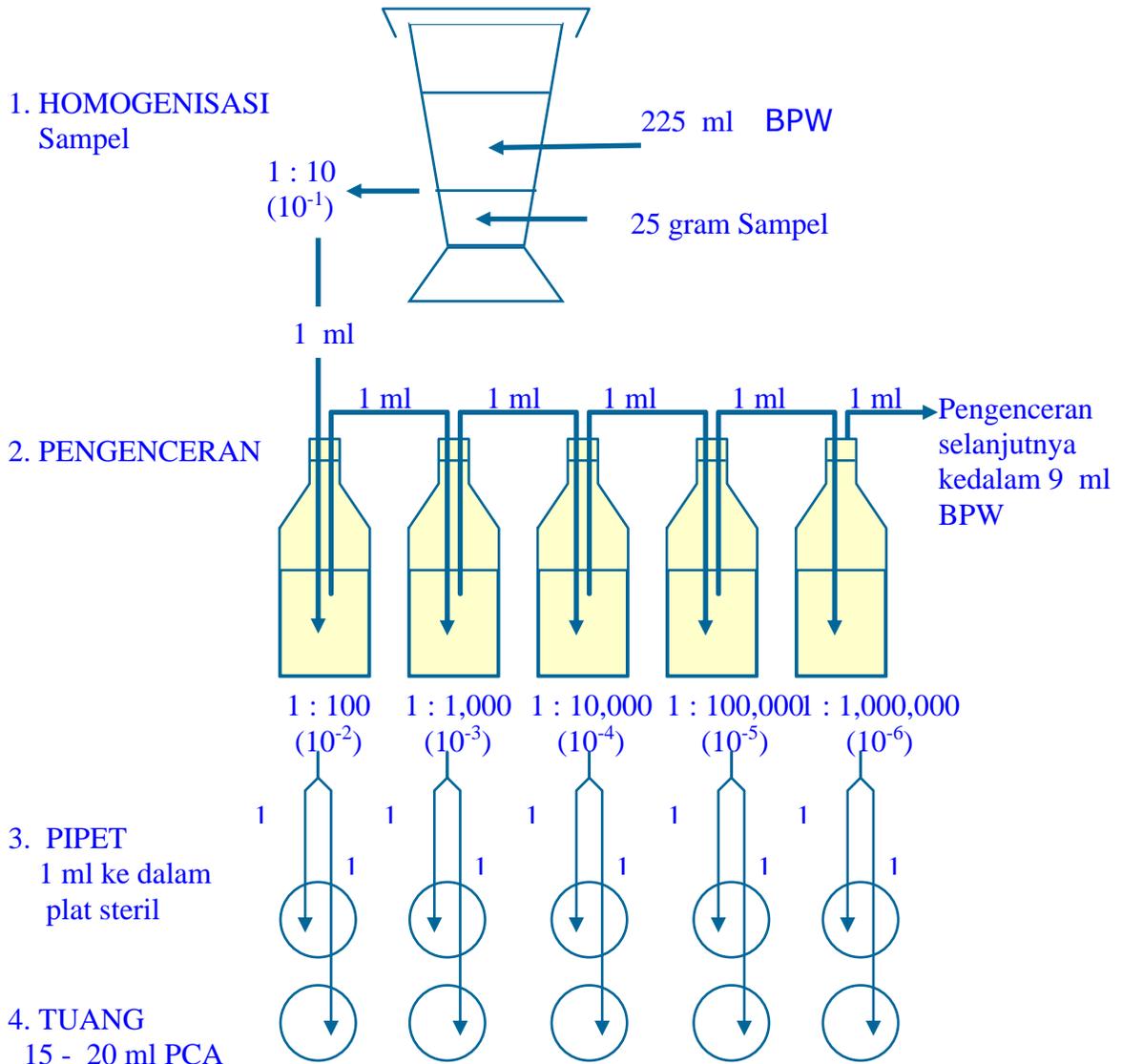
	LABORATORIUM BALAI BESAR KARANTINA PERTANIAN BELAWAN	Nomor IKM : IKM.BBKP.BLW.05 Edisi/ Revisi : 1/1 Tanggal Terbit : 04 Juni 2018 Tanggal Revisi : 26 April 2021 Halaman Ke : 5 Dari 6 Paraf Kabid : Wasdak
INSTRUKSI KERJA METODA		
DETEKSI CEMARAN MIKROBA PADA PANGAN ASAL HEWAN DENGAN METODA TPC (<i>Total Plate Count</i>)		

9. Pustaka

Badan Standardisasi Nasional.2008. Metode Pengujian Cemaran Mikroba dalam Daging, Telur, Susu serta Hasil Olahannya. SNI 2897:2008

Badan Standardisasi Nasional. 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan. SNI 7388:2009.

TOTAL PLATE COUNT



5. INKUBASI
pada suhu 35°C selama 24-48 jam

6. HITUNG
Cawan petri yang mengandung 25 - 250 koloni dan kalikan dengan faktor pengencerannya ; Nyatakan Aerobic plate count sebagai jumlah mikroba per gram contph (CFU/gram)