



LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG	<b>INSTRUKSI KERJA</b>	Nomor : IK-LAB-5.4.1.7J Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 1 dari 7
<b>CARA UJI PENETAPAN KADAR CEMARAN MIKROBA (ALT) PADA KOPI BUBUK</b>		

<p>Disetujui oleh :</p>  <p>Kepala Seksi SS</p>	<p>Diajukan oleh :</p>  <p>Penyelia</p>
--	--

<p>LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG</p>	<p><b>INSTRUKSI KERJA</b></p>	<p>Nomor : IK-LAB-5.4.1.7J Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 2 dari 7</p>
<p><b>CARA UJI PENETAPAN KADAR CEMARAN MIKROBA (ALT) PADA KOPI BUBUK</b></p>		

**A. Persiapan dan homogenisasi contoh uji untuk Angka Lempeng Total, *Eschericia coli*, *Bacillus cereus*, Kapang dan Khamir**

**A. Prinsip**

Pembebasan sel- sel bakteri yang mungkin terlindung oleh partikel makanan dan untuk menggiatkan kembali sel- sel bakteri yang mungkin viabilitasnya berkurang karena kondisi yang kurang menguntungkan dalam makanan. Persiapan dan homogenisasi contoh bertujuan agar bakteri terdistribusi dengan baik di dalam contoh makanan yang ditetapkan.

**B. Peralatan**

1. Alat homogenisasi (blender) dengan kecepatan putaran 10000- 12000 rpm.
2. Otoklaf terkalibrasi.
3. Penangas listrik.
4. Neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,1 g.
5. Gelas piala steril.
6. Labu Erlenmeyer steril.
7. Botol pengencer steril.
8. Pipet volumetric steril 1,0 ml dan 10,0 ml terkalibrasi.
9. Tabung reaksi.
10. Spatula steril.
11. Labu ukur 50 ml, 100 ml, 500 ml, dan 1000 ml terkalibrasi dan.
12. Penangas listrik

**C. Larutan pengencer**

Butterfield" phosphate- Buffered Dilution Water (BPB)

- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  34 g
- Air suling 500 ml

Atur pH dengan NaOH sehingga pH 7,2 tepatkan volume 1000 ml dengan air suling. Sterilisasi pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15 menit. Simpan pada refrigerator untuk membuat larutan pengencer 1,5 ml larutan stok diencerkan dengan air suling sampai volume 1000 ml, kemudian dimasukkan di dalam botol pengencer sebanyak 450 ml dan e dalam tabung reaksi sebanyak (  $9 \pm 1$  ) ml dan di sterilisasi pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selam 15 menit.

LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG	<b>INSTRUKSI KERJA</b>	Nomor : IK-LAB-5.4.1.7J Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 3 dari 7
<b>CARA UJI PENETAPAN KADAR CEMARAN MIKROBA (ALT) PADA KOPI BUBUK</b>		

#### **D. Homogenisasi contoh**

1. Timbang 50 contoh secara aseptik ke dalam botol pengencer yang telah berisi 450 ml larutan pengencer sehingga diperoleh pengenceran 1:10. dan
2. Kocok campuran beberapa kali sehingga homogen.

### **II. Angka lempeng total (metode plate count)**

#### **A. Prinsip**

Pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah contoh diinkubasi dalam pembenihan yang sesuai selama 48 jam pada suhu (  $35 \pm 1$  ) °C.

#### **B. Peralatan**

1. Incubator (  $35 \pm 1$  ) °C terkalibrasi.
2. Oven/ alat sterilisasi kering terkalibrasi.
3. Otoklaf terkalibrasi.
4. Penangas air bersirkulasi (  $45 \pm 1$  ) °C.
5. Cawan petri gelas/ plastic berdiameter 15 mm x 90 mm steril.
6. Pipet ukur 1 ml, 5 ml, dan 10 ml steril terkalibrasi. dan
7. Alat penghitung koloni (colony counter)

#### **C. Pembenihan dan pengencer**

Plate count agar (PCA)

- Tryptone 5g
- Yeast extract 2,5 g
- Glukosa 1 g
- Agar 15 g
- Air suling 1000 ml

Larutkan bahan- bahan di atas menjadi 1000 ml dengan air suling dan atur pH menjadi 7,0. Masukkan ke dalam botol. Sterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

<p>LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG</p>	<p><b>INSTRUKSI KERJA</b></p>	<p>Nomor : IK-LAB-5.4.1.7J Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 4 dari 7</p>
<p><b>CARA UJI PENETAPAN KADAR CEMARAN MIKROBA (ALT) PADA KOPI BUBUK</b></p>		

#### D. Cara kerja

1. Buat tingkat pengenceran sesuai kebutuhan seperti gambar A.1 dengan menggunakan larutan pengencer Butterfield's Phosphate- Buffered Dilution Water (BPB).
2. Pipet masing- masing 1 ml dari tingkat pengenceran (F)  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-4}$  ke dalam cawan petri steril secara duplo.
3. Tuangkan 12 sampai dengan 15 ml media PCA yang masih cair dengan suhu (  $45 \pm 1$  )  $^{\circ}\text{C}$  ke dalam masing- masing cawan petri.
4. Goyangkan cawan petri dengan hati- hati (putar dan goyang ke depan, ke belakang, ke kanan dan ke kiri) sehingga contoh dan pembenihan tercampur merata dan memadat.
5. Kerjakan pemeriksaan blanko dengan mencampur air pengencer untuk setiap contoh yang di periksa
6. Biarkan sampai campuran dalam cawan petri memadat
7. Masukkan semua cawan petri dengan posisi terbalik ke dalam lemari pengering pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama (  $48 \pm 2$  ) jam.
8. Catat pertumbuhan koloni (n) pada setiap cawan petri yang mengandung 25 koloni sampai dengan 250 koloni setelah 48 jam

#### E. Perhitungan

Angka Lempeng total ( koloni/g ) =  $n \times F$

##### Keterangan :

n adalah rata- rata koloni dari dua cawan petri dari satu pengenceran , di nyatakan dalam koloni per gram (koloni/g) , dan

F adalah fktor pengenceran dari rata-rata koloni yang dipakai

#### F. Pernyataan Hasil

##### Cara Menghitung

- a) Pilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni setiap cawan petri . Hitung semua koloni dalam cawan petri

<p>LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG</p>	<p><b>INSTRUKSI KERJA</b></p>	<p>Nomor : IK-LAB-5.4.1.7J Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 5 dari 7</p>
<p><b>CARA UJI PENETAPAN KADAR CEMARAN MIKROBA (ALT) PADA KOPI BUBUK</b></p>		

menggunakan alat penghitung koloni. Hitung rata- rata jumlah koloni dan kalikan dengan factor pengenceran . Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram.

- b) Jika salah satu dari dua cawan petri terdapat jumlah koloni lebih kecil dari 25 koloni atau lebih besar dari 250 koloni. Hitung jumlah koloni yang terletak antara 25 sampai dengan 250 koloni dan kalikan dengan factor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram.

Contoh :

$10^{-2}$	$10^{-3}$
120	25
105	20

$$ALT = \frac{120 + 150 + 25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 1) \times 10^{-2}]} = 124,9375$$

- c) Jika hasil dari dua pengenceran jumlahnya berturut- turut terletak antara 25 koloni smapai dengan 250 koloni , hitugn jumlah koloni dari masing-masing pengenceran koloni per g dengan rumus :

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

**Keterangan :**

- C adalah jumlah koloni dari tiap-tiap petri
- $n_1$  adalah jumlah petri dari pengenceran pertama yang di hitung
- $n_2$  adalah jumlah petri dari pengenceran kedua
- d adalah pengenceran pertama yang di hitung

Contoh :

$10^{-2}$	$10^{-3}$
131	30
143	25

$$ALT = \frac{131 + 143 + 25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 1) \times 10^{-2}]} = 164,3357$$

- d) Jika jumlah koloni dari masing-masing petri lebih dari koloni nyatakan sebagai jumlah bekteri perkiraan

LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG	<b>INSTRUKSI KERJA</b>	Nomor : IK-LAB-5.4.1.7J Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 6 dari 7
<b>CARA UJI PENETAPAN KADAR CEMARAN MIKROBA (ALT) PADA KOPI BUBUK</b>		

- Jika jumlah koloni per  $\text{cm}^2$  kurang dari 100 koloni , maka nyatakan hasilnya sebagai jumlah perkiraan: jumlah bakteri dikalikan factor pengenceran

Contoh :

$10^{-2}$	$10^{-3}$	Jumlah bakteri perkiraan
~	30	$1000 \times 640 = 640.000 (6,4 \times 10^5)$

- Jika jumlah koloni per  $\text{cm}^2$  lebih dari 100 koloni , maka nyatakan hasilnya : area x factor pengenceran x 100 contoh rata-rata jumlah koloni per  $\text{cm}^2$

Contoh :

$10^{-2}$	$10^{-3}$	Area ( $\text{cm}^2$ )	Jumlah bakteri perkiraan
~	7150	65	$> 65 \times 10^3 \times 100 = > 6.500.000 (6,5 \times 10^6)$
~	6490	59	$> 59 \times 10^3 \times 100 = > 5.900.000 (5,9 \times 10^6)$

- e) Jika jumlah koloni dari masing masing koloni yang tumbuh pada cawan petri kurang dari 25, maka nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari 25 koloni di kalikan pengenceran yang terendah, dan

- f) Menghitung koloni Perambat

Perambatan pada koloni ada 3 macam , yaitu .

- Merupakan rantai yang tidak terpisah
- Perambat yang terjadi diantara dasar cawan petri dan pembenihan , dan
- Prambatan yang terjadi pada pinggir atau penukaran pembenihan . Jika terjadi hanya satu permbatan ( seperti ranati) maka koloni di anggap satu. Jika terbentuk satu atau lebih rantai terbentuk dan berasal dari sumber yang terpisah-pisah maka uap sumber di hitung sebagai satu koloni.

### Cara Menghitung dan membulatkan angka

Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya dua angka penting yang digunakan , yaitu angka pertama dan kedua (dimulai dari kiri) ,

- a) Jika angka ketiga lebih besar dari 5, maka bulatkan ke atas.

Contohnya : 528 dilaporkan sebagai 530 penulisannya  $5,3 \times 10^2$

<p>LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG</p>	<p><b>INSTRUKSI KERJA</b></p>	<p>Nomor : IK-LAB-5.4.1.7J Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 7 dari 7</p>
<p><b>CARA UJI PENETAPAN KADAR CEMARAN MIKROBA (ALT) PADA KOPI BUBUK</b></p>		

b) Jika angka ketiga kurang dari 5, maka bulatkan ke bawah.

Contohnya: 523 dilaporkan sebagai 520 penulisannya  $5,2 \times 10^2$

c) Jika angka ketiga sama dengan 5, maka bulatkan sebagai berikut

- Bulatkan ke atas jika angka kedua merupakan angka ganjil.

Contohnya : 575 dilaporkan sebagai 580 penulisannya  $5,8 \times 10^2$

- Bulatkan ke bawah jika angka kedua merupakan angka genap

Contohnya : 565 dilaporkan sebagai 560 penulisannya  $5,6 \times 10^2$

#### **G. Dokumen Acuan**

SNI 01-3542-2004

#### **H. Dokumen Terkait**

F-LAB-5.4.1.0.2 Rekaman Mutu Hasil Pengujian.