

LABORATORIUM
BALAI RISET DAN
STANDARDISASI INDUSTRI
PALEMBANG

INSTRUKSI KERJA

Nomor : IK-LAB-5.4.1.9D
Revisi/ Edisi : 0/7
Tanggal Terbit : 01 April 2019
Halaman : 1 dari 4

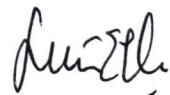
CARA UJI PENENTUAN JUMLAH BAKTERI TOTAL (ANGKA LEMPENG TOTAL)

Disetujui oleh :



Kepala Seksi SS

Diajukan oleh :



Penyelia

LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG	INSTRUKSI KERJA	Nomor : IK-LAB-5.4.1.9D Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 2 dari 4
CARA UJI PENENTUAN JUMLAH BAKTERI TOTAL (ANGKA LEMPENG TOTAL)		

A. Prinsip

Pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah contoh diinubasikan dalam pembenihan yang cocok selama 24 Jam sampai dengan 48 jam pada suhu $(35\pm1)^\circ\text{C}$

B. Bahan

Pembenihan dan Pengencer

1. Buffered Peptone Water (BPW).
2. Plate Count Agar (PCA)

C. Peralatan

1. Pinggan petri gelas (15mm x 100 mm) atau plastik (15mm x 90 mm), disterilkan.
2. Pipet 1 ml, 5 ml, 10 ml berskala
3. Botol pengenceran (10ml ,100 ml) gelas bersilikat yang resisten, dengan tutup uliran dari plastik.
4. Penangas air dengan termostat untuk mengatur suhu agar, $45^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$
5. Lemari pengering, $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$
6. Alat penghitung koloni bakteri (Colony Counter) dengan sumber cahaya dan gridplate

D. Prosedur

1. Persiapan contoh uji
Lakukan Persiapan dan homogenisasi contoh dengan cara mengocok botol contoh 25 kali dengan panjang busur 30 cm hingga homogen.
2. Cara melakukan pengenceran sepuluh kali ialah dengan mencampur 10 ml dari tingkat pengenceran yang sebelumnya dengan 90 ml zat pengencer . Semua tingkat pengenceran dikocok 25 kali dengan panjang busur 30 cm selama 7 detik.
3. Kocok tiap botol Contoh Tanpa pengenceran untuk melarutkan bahan yang mengendap, lalu pipet 1 ml dari setiap contoh untuk dimasukkan kedalam pinggan petri yang telah diberi label (lakukan dalam duplo).

LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG	INSTRUKSI KERJA	Nomor : IK-LAB-5.4.1.9D Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 3 dari 4
CARA UJI PENENTUAN JUMLAH BAKTERI TOTAL (ANGKA LEMPENG TOTAL)		

4. Dengan setiap kali menggunakan pipet steril yang berbeda, buatlah pengenceran tingkat $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$, dst. dari contoh yang telah dipersiapkan .
5. Kemudian Tiap pinggan petri diisi dengan 12-15 ml plate count agar (dinginkan sampai $40-44^{\circ}\text{C}$) dalam waktu 15 menit sejak pengenceran pertama dibuat. Untuk setiap deretan pengenceran, tuangkan pula agar dengan zat pengencer sebagai inokulum kedalam pinggan petri untuk digunakan sebagai kontrol.
6. Inokulum dan medium agar dicampur merata dengan menggerakkan pinggan petri kebelakang, kedepan dan memutar pada permukaan datar.
7. Biarkan agarnya membeku, lalu pinggan petri disusun secara terbalik dan disimpan pada 35°C selama 48 ± 2 jam.
8. Setelah masa inkubasi, dengan menggunakan alat penghitung koloni bakteri atau tally register, dihitung jumlah koloni per pinggan petri pada semua pinggan petri yang mengandung 25-250 koloni dan catat hasilnya untuk tiap pengenceran.

E. Perhitungan

Rata-Ratakan hasilnya dan laporan sebagai jumlah bakteri total per ml contoh uji. Jumlah Bakteri Total per ml = Rata-rata jumlah per pinggan X Faktor Pengenceran. Perhitungannya adalah sebagai berikut :

Cawan dengan koloni antara 25-250 CFU

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

N = Jumlah koloni per ml atau g produk

n^1 = Jumlah ulangan pada cawan pertama yang dapat dihitung

n^2 = Jumlah ulangan pada cawan kedua yang dapat dihitung

d^1 = Pengenceran pada cawan pertama yang dapat dihitung

contoh

1 : 100	1 : 1000
232 , 244	33 , 28

LABORATORIUM BALAI RISET DAN STANDARDISASI INDUSTRI PALEMBANG	INSTRUKSI KERJA	Nomor : IK-LAB-5.4.1.9D Revisi/ Edisi : 0/7 Tanggal Terbit : 01 April 2019 Halaman : 4 dari 4
CARA UJI PENENTUAN JUMLAH BAKTERI TOTAL (ANGKA LEMPENG TOTAL)		

$$\begin{aligned}
 N &= \frac{\square C}{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d^1} \\
 &= \frac{(232+244+33+28)}{(1 \times 2) + (0,1 \times 2) \times 0,01} \\
 &= \frac{537}{2 + 0,2 \times 0,01} \\
 &= \frac{537}{0,022} \\
 &= 24.409
 \end{aligned}$$

Keterangan :

1. Cara melaporkan dan mencatat hasil

Hitung koloni hanya pada pinggan petri yang mengandung 25-250 koloni per pinggan. Bila jumlah koloni perpinggan tidak berada diantara 25-250 dan terdapat satu atau lebih pinggan petri yang mengandung lebih dari 250 koloni, catatlah sebagai taksiran :
Bila semua pinggan petri mengandung lebih dari 250 koloni, buatlah suatu taksiran dari jumlah koloni tersebut, umpama : bila faktor pengenceran adalah 1 : 1000 dan jumlah koloni rata-rata dari dua pinggan petri adalah 523, laporkan sebagai 520.000.

2. Cara membulatkan angka

Setiap angka besar harus dibulatkan sampai pada dua satuan angka yang berarti. Bila membulatkan maka angka kedua dijadikan satu angka lebih besar hanya bila angka ketiga dari kiri adalah 5 atau lebih besar dari 5, dan angka tersebut diganti menjadi nol. Bila angka ketiga adalah 4 atau kurang dari 4, angka ketiga diganti dengan nol dan angka kedua dipertahankan, umpama 528 menjadi 530 atau 523 menjadi 520

F. Dokumen Acuan

SNI 01 – 2897-1992 Cara Uji Cemaran Mikroba

G. Dokumen Terkait

F-LAB-5.4.1.0.2 Rekaman Mutu Hasil Pengujian