

LABORATORIUM
BALAI RISET DAN STANDARDISASI
INDUSTRI PALEMBANG

INSTRUKSI KERJA

Nomor : IK-LAB-5.4.1.8K
Revisi/ Edisi : 0/7
Tanggal Terbit : 01 April 2019
Halaman : 1 dari 6

CARA UJI ANGKA LEMPENG TOTAL PADA KOPI INSTAN

Disetujui oleh :



Kepala Seksi SS

Diajukan oleh :



Penyelia

CARA UJI ANGKA LEMPENG TOTAL PADA KOPI INSTAN

A. Prinsip

Pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah contoh diinkubasikan dalam pemberian yang sesuai selama 72 jam pada suhu (30 ± 1) $^{\circ}\text{C}$.

B. Peralatan

1. Incubator (30 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, terkalibrasi.
2. Oven/ alat sterilisasi kering terkalibrasi.
3. Otoklaf.
4. Penangas air bersirkulasi (45 ± 1) $^{\circ}\text{C}$.
5. Alat penghitung koloni.
6. Botol pengencer 160 mL terbuat dari gelas borosilikat, dengan sumbat karet atau tutup ulir plastic.
7. Pipet ukur 1 mL steril dengan skala 0,1 mL dilengkapi bulb dan pipettor, dan
8. Cawan petri gelas/plastic (berukuran minimal 15 mm x 90 mm) steril.

C. Pemberian dan pengencer

1. Buffered peptone water (BPW).
 - Peptone 10 g
 - Natrium klorida 5 g
 - Dinatrium hydrogen fosfat 3,5 g
 - Kalium dihidrogen fosfat 1,5 g
 - Air suling 1 L

Larutkan bahan – bahan diatas menjadi 1 000 mL dengan air suling dan atur pH 7,0. Masukkan kedalam botol pengencer. Sterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

2. Plate count agar (PCA)
 - Yeast extract 2,5 g
 - Pancreatic digest of caseine 5 g
 - Glukosa 1 g
 - Agar 15 sampai dengan 20 g
 - Air suling 1 L

CARA UJI ANGKA LEMPENG TOTAL PADA KOPI INSTAN

Larutkan semua bahan – bahan, atur pH 7,0. Masukkan dalam labu, sterilkan pada 121°C selama 15 menit

D. Cara kerja

1. Timbang 25 g contoh, masukkan kedalam Erlenmeyer yang telah berisi 225 mL larutan pengencer hingga diperoleh pengenceran 1:10.
2. Kocok campuran beberapa kali hingga homogen. Pengenceran dilakukan sampai tingkat pengenceran tertentu sesuai keperluan.
3. Pipet masing – masing 1 mL dari pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-4} atau sesuai keperluan kedalam cawan petri steril secara duplo.
4. Ke dalam setiap cawan petri tuangkan sebanyak 12 mL sampai dengan 15 mL media PCA yang telah dicairkan yang bersuhu (45 ± 1) °C dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama.
5. Goyangkan cawan petri dengan hati – hati (putar dan goyangkan ke depan dan ke belakang serta kekanan dan kekiri) hingga contoh tercampur rata dengan pemberian.
6. Kerjakan pemeriksaan blanko dengan mencampur air pengencer dengan pemberian untuk setiap contoh yang diperiksa.
7. Biarkan hingga campuran dalam cawan petri membeku.
8. Masukkan semua cawan petri dengan posisi terbalik ke dalam lemari pengering dan inkubasikan pada suhu 30°C selama 72 jam.
9. Catat pertumbuhan koloni pada setiap cawan petri yang mengandung (25 – 250) koloni setelah 48 jam.
10. Hitung angka lempeng total dalam 1 mL contoh dengan mengalikan jumlah rata – rata koloni pada cawan petri dengan faktor pengenceran yang digunakan.

E. Perhitungan

Angka lempeng total (kolono/mL) = $n \times F$

Keterangan :

- n adalah rata – rata koloni dari dua cawan petri dari satu pengenceran, dinyatakan dalam koloni per mL (kolono/mL).
- F adalah faktor pengenceran dari rata – rata koloni yang dipakai.

F. Pernyataan hasil

CARA UJI ANGKA LEMPENG TOTAL PADA KOPI INSTAN

- 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 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, hitung jumlah koloni yang terletak antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni dan kalikan dengan factor pengenceran. Nyatakan hasilnya sebagai jumlah bakteri per gram.

Contoh : $10^{-2} \quad 10^{-3}$

120	25
105	20

$$ALT = \frac{120+105+25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 1) \times 10^{-2}]} = 124,9375$$

- c. Jika hasil dari dua pengenceran jumlahnya berturut – turut terletak antara 25 koloni sampai dengan 250 koloni, hitung jumlah koloni darimasing – 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 cawan petri.
- n_1 adalah jumlah cawan petri dari pengenceran pertama yang dihitung.
- n_2 adalah jumlah cawan petri dan pengenceran kedua.
- d adalah pengenceran pertama yang dihitung.

Contoh : $10^{-2} \quad 10^{-3}$

131	30
143	25

$$ALT = \frac{131+143+30+25}{[(1 \times 2) + (0,1 \times 2) \times 10^{-2}]} = 164,3357$$

CARA UJI ANGKA LEMPENG TOTAL PADA KOPI INSTAN

- d. Jika jumlah koloni dari masing – masing cawan petri lebih dari 25 koloni nyatakan sebagai jumlah bakteri perkiraan.
- Jika jumlah koloni per cm^2 kurang dari 100 koloni, maka nyatakan hasilnya sebagai jumlah perkiraan : jumlah bakteri dikalikan factor pengenceran.

$$\begin{array}{rcc} 10^2 & 10^3 & \text{jumlah bakteri perkiraan} \\ \sim & 640 & 1000 \times 640 = 640000 (6,4 \times 10^5) \end{array}$$

- Jika jumlah koloni per cm^2 lebih dari 100 koloni, maka nyatakan hasilnya :

Area x factor pengenceran x 100 contoh rata – rata jumlah koloni 110 per cm^2

Contoh :

$$\begin{array}{cccc} 10^{-2} & 10^{-3} & \text{area } (\text{cm}^2) & \text{jumlah bakteri perkiraan} \\ \sim & 7150 & 65 & > 65 \times 10^3 \times 100 = > 6500000 (6,5 \times 10^6) \\ \sim & 6490 & 59 & > 59 \times 10^3 \times 100 = > 5900000 (5,9 \times 10^6) \end{array}$$

- e. Jika jumlah koloni dari masing – masing yang tumbuh pada cawan petri kurang dari 25, maka nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari 25 koloni dikalikan pengenceran yang terendah dan
- f. Menghitung koloni yang merambat.

Perambatan koloni ada 3 macam, yaitu :

- Perambatan berupa rantai yang tidak terpisah.
- Perambatan yang terjadi diantara dasar cawan petri dan pembenihan, dan
- Perambatan yang terjadi pada pinggir atau permukaan pembenihan.

Jika terjadi hanya satu perambatan (seperti rantai) maka koloni dianggap satu. Jika terbentuk lebih dari satu perambatan dan berasal dari sumber yang terpisah – pisah, maka tiap sumber dihitung sebagai satu koloni.

- g. Jika tidak ada koloni yang tumbuh pada cawan petri, nyatakan hasil sebagai nol koloni per gram dikalikan dengan factor pengenceran terendah (<10).

- Cara membulatkan angka

Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya 2 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 $5,3 \times 10^2$.

- b) Jika angka ketiga kurang dari 5, maka bulatkanlah kebawah dan

CARA UJI ANGKA LEMPENG TOTAL PADA KOPI INSTAN

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

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

- bulatkan keatas jika angka kedua merupakan angka ganjil, dan

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

- bulatkan kebawah jika angka kedua merupakan angka genap.

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

G. Dokumen Acuan

ICS 67.120.10

H. Dokumen Terkait

F-LAB-5.4.1.0.2 Rekaman Mutu Hasil Pengujian.