

KATA PENGANTAR

Diagnosa Veteriner Vol. 17, No. 3, Tahun 2018

Alhamdulillah, segala puji bagi Tuhan Yang Maha Kuasa. Atas rahmat dan karuniaNya Buletin Diagnosa Veteriner Vol. 17, No. 3, Tahun 2018 dapat diterbitkan. Buletin edisi ini kami menyajikan artikel “Verifikasi TPC di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Balai Besar Veteriner Maros”. Artikel kedua, “Distribusi Kejadian *Brucella melitensis* di Propinsi Sulawesi Selatan dan Sulawesi Barat Tahun 2017”. Artikel terakhir mengenai “Hasil Investigasi Kematian Kambing Tahun 2018 Di Kabupaten Gorontalo Propinsi Gorontalo”.

Redaksi membuka kesempatan kepada semua pihak yang berkepentingan dengan dunia veteriner dan peternakan untuk menyampaikan ide atau gagasan berupa karya ilmiah populer pengamatan lapangan, hasil penelitian atau review melalui buletin ini.

Redaksi mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca sebagai bahan pembelajaran untuk pengembangan Buletin Diagnosa Veteriner volume selanjutnya.

Maros, 21 Desember 2018

Redaksi

DIAGNOSA VETERINER

Buletin Informasi Kesehatan Hewan dan
Kesehatan Masyarakat

International Standard Serial Number (ISSN) : 0216 – 1486

Volume : 17

No : 3

Tahun : 2018

SUSUNAN REDAKSI

Penanggung Jawab : Kepala Balai Besar Veteriner Maros

Pemimpin Redaksi : Kepala Seksi Informasi Veteriner

Penyunting/ editor : Kepala Bidang Pelayanan Veteriner
drh. Dini Marmansari
drh. Saiful Anis, M.Si
drh. Titis Furi Djatmikowati

Sekretariat : Suryani Gesha Utami, A.Md
Marwati, S. Sos

DAFTAR ISI

Diagnosa Veteriner Vol. 17, No. 3, Tahun 2018

	Halaman
Kata Pengantar	i
Susunan Redaksi	ii
Daftar Isi	iii
Verifikasi TPC di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Balai Besar Veteriner Maros	1
Distribusi Kejadian <i>Brucella melitensis</i> di Propinsi Sulawesi Selatan dan Sulawesi Barat Tahun 2017	8
Hasil Investigasi Kematian Kambing Tahun 2018 Di Kabupaten Gorontalo Propinsi Gorontalo	17

Hasil Verifikasi Metode pengujian Total Plate Count (TPC) Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Balai Besar Veteriner Maros

Alfinus¹, Danny Ratih Widyastuti¹

¹⁾ Medik Veteriner, Balai Besar Veteriner Maros
Email : alfinus.bbvetmaros@gmail.com

Intisari

Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner (Kesmavet) Balai Besar Veteriner Maros telah melakukan memverifikasi metode pengujian *Total Plate Count* (TPC) atau Angka Lempeng Total (ALT) sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 2897: 2008, verifikasi ini dilaksanakan oleh 3 (tiga) orang penguji Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner (Kesmavet) dengan Metode yang digunakan adalah metode tuang (*pour plate*) dengan teknik pengenceran bertingkat. Hasil yang diperoleh dari ketiga personil laboratorium adalah RSD sebesar 0,054 dan CV sebesar 5,40 %, dari hasil tersebut maka ketiga personil layak atau berkompeten dalam pengujian *Total Plate Count* (TPC) atau Angka Lempeng Total (ALT) dan Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner telah memenuhi syarat dalam pengujian metode tersebut. Persyaratan standar dalam memenuhi atau tidak memenuhi adalah standar presisi dimana RSD maksimal 0,1 dan CV maksimal 10%.

Kata Kunci : angka lempeng total, metode tuang, tingkat pengenceran bertingkat, standar presisi.

Pendahuluan

Validasi metode adalah proses pembuktian atau konfirmasi pengujian yang obyektif di laboratorium guna memenuhi persyaratan yang telah ditentukan sesuai tujuan penggunaannya. Validasi menggunakan instrumen dan peralatan yang terkalibrasi dan dilakukan oleh personal yang kompeten. Validasi terbagi dua jenis, validasi primer dan sekunder. Verifikasi termasuk ke dalam jenis validasi sekunder, jika laboratorium menggunakan atau mengadopsi metode standar/ acuan baku yang telah divalidasi. Metode analisis kuantitatif diantaranya adalah Angka Lempeng Total (*Total Plate Count*).

Angka Lempeng Total (ALT) dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroba yang tumbuh dalam suatu produk dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar pada suhu dan waktu inkubasi yang ditetapkan. Metoda yang digunakan adalah metoda tuang (*pour plate*) dengan cara menanamkan contoh ke dalam cawan petri terlebih dahulu kemudian ditambahkan media pemupukan.

Prinsip dari Angka Lempeng Total adalah jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata dengan hasil menghitung jumlah total kuman yang tumbuh dalam satu cawan petri dikalikan dengan faktor pengencerannya dengan melihat dua angka penting.

Teknik Pengenceran Bertingkat bertujuan untuk memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1 : 9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisme dari pengenceran sebelumnya.

Acuan verifikasi metode uji Total Plate Count (TPC) yang dilakukan berdasarkan SNI 2897 : 2008 dimana hasil verifikasi di dapat dengan menghitung Presisi. Presisi adalah tingkat kesesuaian antara hasil pengujian individual dengan hasil rata-rata pengujian berulang pada sampel yang homogen dengan kondisi pengujian yang sama. Nilai presisi yang dicapai RSD maksimal 0,1 dan CV maksimal 10%.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan :

<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	<i>Plate Count Agar</i>
<i>Buffer Peptone Water 0.1%</i>	Raktabung
Daging ayam boneless	Lemari pendingin (<i>refrigerator</i>)
HIB	Wadah sampel
HCl 0,1 N	Gunting
NaOH 0,1 N.	pH meter
pH Meter	Timbangan
Tabung reaksi	Cawan Petri
Pipet volumetric	Pembakar Bunsen
Botol media	Stomacher
Penghitung koloni (<i>colony counter</i>)	Magnetik stirer
Inkubator 37 ° C	Pinset
Stomacher	Penangas air
Pengocok tabung (<i>vortex</i>)	Autoklaf
Jarum inokulasi (ose)	Lemasteril (<i>clean bench</i>)
Plastik stomacher	Freezer

Metode

1. Persiapan Matriks

- Timbang 100 gr daging ayam *boneless* (tanpa tulang) dimasukkan dalam kantong plastic stomacher.
- Masukkan 900 ml BPW.
- Homogenkan dengan menggunakan stomacher.
- Bagi matriks ke dalam Erlenmeyer steril masing-masing sebanyak 90 ml.
- Autoclave 121°C selama 15 menit.
- Bagi matriks ke Menghitung Populasi pada Biakan Murni.

2. Pembuatan Media *Buffer Pepton Water* (BPW)

- Timbang media BPW yang digunakan sesuai dengan kebutuhan, untuk membuat larutan media 1 L dibutuhkan media BPW sebanyak 20 gram.
- Larutkan media dengan menggunakan aquabidest.
- Setelah larut kemudian diukur pH media, dimana pH media BPW $7,2 \pm 0,2$ pada temperature 25°C. Jika pH tinggi maka ditambahkan HCl 0,1 N dan bila pH nya rendah maka ditambahkan NaOH 0,1 N.
- Setelah itu media disterilkan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Media siap digunakan.

3. Perhitungan Biakan Mikroba

Biakan dalam agar miring usia 18-24 jam yang berisi bakteri *Escherichia coli* ATCC25922 diinokulasikan sebanyak 1 ose ke dalam 10 ml HIB, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam suhu 35 °C. Lakukan uji *Total Plate Count* pada inokulum tersebut untuk mengetahui jumlah koloninya sesuai Tabel 1 di bawah ini.

4. Tabel 1. Perhitungan Biakan Mikroba

Ulangan	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}
1	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni
Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni	Jumlah Koloni

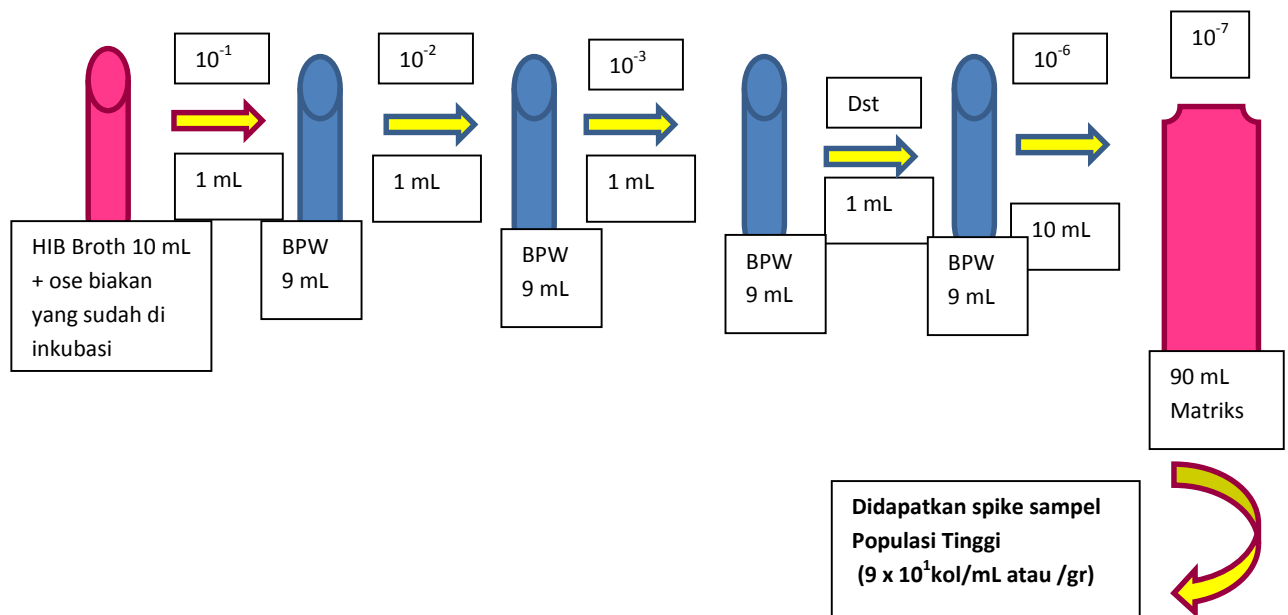
Berdasarkan data di atas maka jumlah bakteri dalam tabung HIB usia 18-24 jam adalah (melihat hasil hitungan jumlah koloni yang berkisar 25-250 koloni/ cawan) dengan perhitungan :

$$\frac{\text{Tingkat pengenceran 1} + \text{tingkat pengenceran 2}}{2 \times \text{Pengenceran tertinggi}}$$

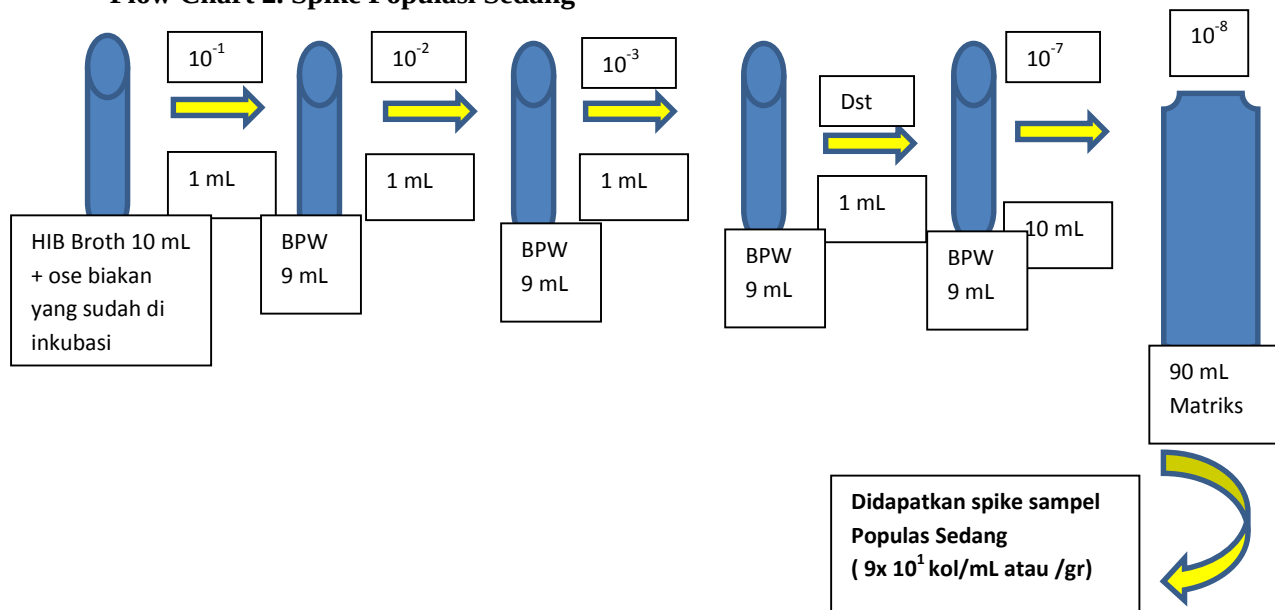
5. Metode Spiking Sampel

Biakan alam agar miring usia 18-24 jam yang berisi bakteri *Escherichia coli* ATCC25922 diinokulasikan sebanyak 1 ose ke dalam 10 ml HIB, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam suhu 35 °C. Selanjutnya prosedur dilakukan seperti pada flowchart berikut :

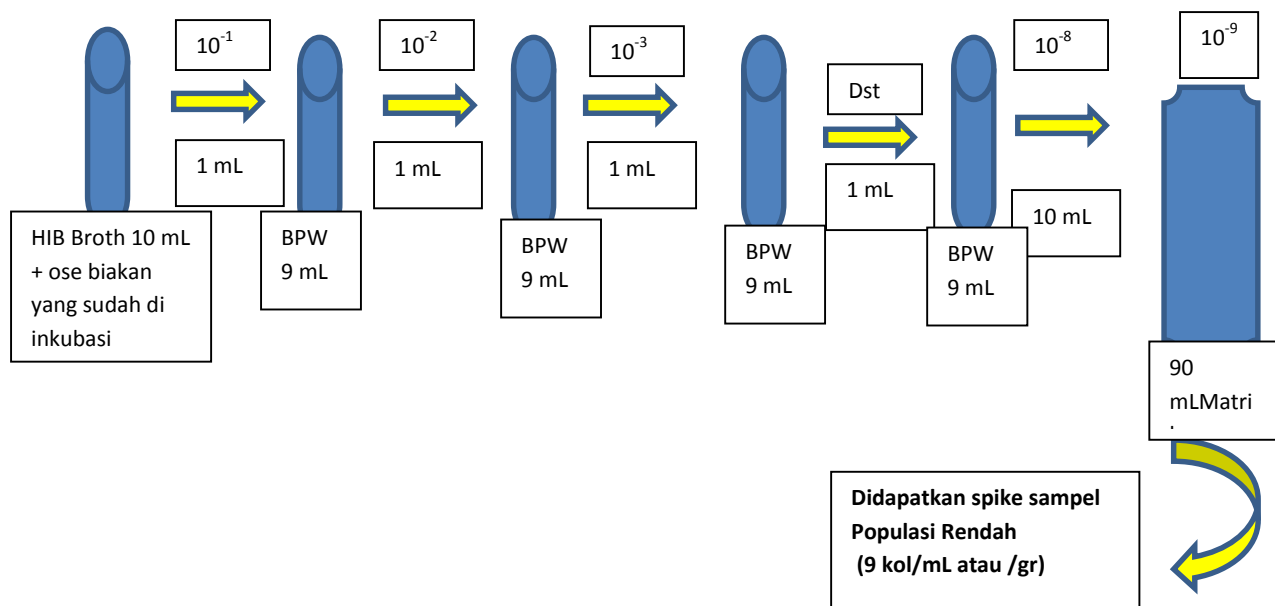
Flow Chart 1. Spike Populasi Tinggi



Flow Chart 2. Spike Populasi Sedang



FlowChart 3. Spike Populasi Rendah



6. Prosedur Kerja Verifikasi

- Uji verifikasi TPC dilakukan oleh 3 orang penguji dengan waktu, peralatan dan tempat yang sama.
- Setiap penguji melakukan pengujian TPC sebanyak 3 kali pengulangan pada tiap populasi tinggi (3x), sedang (3x) dan rendah (3x) secara duplo, serta lakukan pengujian dengan blanko kosong.
- Tuang tiap cawan petri dengan media *Plate Count Agar* sebanyak 15-20 ml. Homogenkan dengan cara memutar cawan petri membentuk angka 8.
- Inkubasi selama 24 - 48 jam pada temperatur 35°C dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik.
- Masing-masing penguji menghitung jumlah koloni yang muncul di cawan petri. Catat semua hasil koloni yang di dapat.
- Dari hasil (d) hitung presisinya.

G. Analisis Data

Analisis Data dilakukan dengan menghitung S2, Sr, Mean, RSD dan CV dengan menggunakan excel yang telah terprogram dan hasil yang diharapkan memiliki Presisi (RSD maximal 0,1 dan CV maximal 10%).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Verifikasi TPC dilakukan pada tanggal 12 September 2018 oleh drh. Alfinus, drh. Yuliana Fatie, dan Irmayanti, ST.

Hasil perhitungan biakan dalam agar miring usia 18-24 jam yang berisi bakteri *Escherichia coli* ATCC25922 diinokulasikan sebanyak 1 ose ke dalam 10 ml HIB, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam suhu 35 °C dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil biakan bakteri *Escherichia coli* ATCC25922

Ulangan	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
1	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	96	12	1
2	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	84	6	0

Berdasarkan data di atas maka jumlah bakteri dalam tabung HIB usia 18-24 jam adalah :

$$\frac{96+84}{(2) \times 10^{-7}} = 9 \times 10^8$$

Hasil verifikasi metode uji TPC yang dilakukan oleh 3 orang penguji dengan waktu, peralatan dan tempat yang sama sebagai berikut.

analisis	data 1	data 2	log data 1	log data 2	mean	var	log 1-log2	(log1-log2)2
Alfinus	166	154	2.220108088	2.187520721	2.203814404	0.000530968	0.032587367	0.001061937
Alfinus	106	132	2.025305865	2.120573931	2.072939898	0.004538002	-0.095268066	0.009076004
Alfinus	116	106	2.064457989	2.025305865	2.044881927	0.000766444	0.039152124	0.001532889
Yunex	136	156	2.133538908	2.193124598	2.163331753	0.001775227	-0.05958569	0.003550454
Yunex	156	136	2.193124598	2.133538908	2.163331753	0.001775227	0.05958569	0.003550454
Yunex	152	84	2.181843588	1.924279286	2.053061437	0.033169685	0.257564302	0.06633937
Irmayanti	111	145	2.045322979	2.161368002	2.103345491	0.006733224	-0.116045023	0.013466447
Irmayanti	150	140	2.176091259	2.146128036	2.161109647	0.000448897	0.029963223	0.000897795
Irmayanti	130	140	2.113943352	2.146128036	2.130035694	0.000517927	-0.032184683	0.001035854
Alfinus	32	30	1.505149978	1.477121255	1.491135617	0.000392805	0.028028724	0.000785609
Alfinus	23	31	1.361727836	1.491361694	1.426544765	0.008402469	-0.129633858	0.016804937
Alfinus	28	28	1.447158031	1.447158031	1.447158031	0	0	0
Yunex	54	58	1.73239376	1.763427994	1.747910877	0.000481562	-0.031034234	0.000963124
Yunex	52	53	1.716003344	1.72427587	1.720139607	3.42173E-05	-0.008272526	6.84347E-05
Yunex	48	39	1.681241237	1.591064607	1.636152922	0.004065912	0.09017663	0.008131825
Irmayanti	14	23	1.146128036	1.361727836	1.253927936	0.023241637	-0.2155998	0.046483274
Irmayanti	23	28	1.361727836	1.447158031	1.404442934	0.003649159	-0.085430195	0.007298318
Irmayanti	20	29	1.301029996	1.462397998	1.381713997	0.013019816	-0.161368002	0.026039632
Alfinus	7	11	0.84509804	1.041392685	0.943245363	0.019265794	-0.196294645	0.038531588
Alfinus	19	12	1.278753601	1.079181246	1.178967424	0.019914562	0.199572355	0.039829125
Alfinus	8	6	0.903089987	0.77815125	0.840620619	0.007804844	0.124938737	0.015609688
Yunex	4	4	0.602059991	0.602059991	0.602059991	0	0	0
Yunex	7	11	0.84509804	1.041392685	0.943245363	0.019265794	-0.196294645	0.038531588
Yunex	8	5	0.903089987	0.698970004	0.801029996	0.020832484	0.204119983	0.041664967
Irmayanti	3	5	0.477121255	0.698970004	0.58804563	0.024608434	-0.22184875	0.049216868
Irmayanti	2	3	0.301029996	0.477121255	0.389075625	0.015504066	-0.176091259	0.031008132
Irmayanti	0	0	0	0	0	0	0	0
			mean		1.440417359			0.461478313

S2 0.005697263
 Sr 0.075480217
 Mean 1.398235461
RSD 0.053982479
CV 5.398247924

Berdasarkan data diatas dapat dilihat bahwa RSD yang diperoleh sebesar 0,054 dimana RSD hasil lebih kecil dari 0,1 (RSD maximal 0,1) dan CV yang dihasilkan sebesar 5,40 % dimana CV hasil lebih kecil dari 10% (CV maximal 10%).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil perhitungan di atas maka Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner Balai Besar Veteriner memenuhi atau layak dalam pengujian metode *Total Plate Count* (TPC) dan ketiga personil tersebut memiliki kompetensi dalam pengujian tersebut.

Ucapan Terima Kasih

1. Kepada Allah SWT yang telah memberikan kesehatan dan kekuatan kepada seluruh personil laboratorium kesmavet Balai Besar Veteriner Maros.
2. Kepala Balai Besar Veteriner Maros dan staf nya terkhusus personil Laboratorium Kesmavet Balai Besar Veteriner Maros.
3. Drh. Kanti Puji Rahayu Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan.

Daftar Pustaka

- SNI 2897-2008. 2008. *Metode Pengujian Cemaran Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu, serta Hasil Olahannya*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- S.A.C Singlas.2002.*Guidance Notes C&B And ENV 002 Method Validation of Microbiological Methods*. The SAC Accreditation Programme. Singapore