

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla>

## EVALUASI PENGGUNAAN *PETRIFILM AEROBIC COUNT PLATE* (PACP) PADA PENGUJIAN ANGKA LEMPENG TOTAL (ALT) DI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI BALAI RISET PEMULIAAN IKAN SUKAMANDI

Diah Artati dan Moh. Oman

Balai Riset Pemuliaan Ikan  
Jl. Raya 2 Sukamandi, Patokbeusi, Subang, Jawa Barat 41263  
E-mail: [publikasi.bppi@gmail.com](mailto:publikasi.bppi@gmail.com)

### ABSTRAK

Enumerasi mikroorganisme adalah suatu teknik yang digunakan untuk mengestimasi jumlah mikroorganisme dalam suatu bahan atau sampel. Salah satu metode enumerasi mikroorganisme adalah pengujian Angka Lempeng Total (ALT) dengan menggunakan media cawan agar yang telah sesuai dengan SNI 2332.3:2015, yaitu TSA (*triptic soy agar*). Penggunaan media TSA dalam pengujian ALT tergolong mudah dan murah, tetapi kurang efektif. Media alternatif yang penggunaannya sedang berkembang adalah PACP (*petrifilm aerobic count plate*). Penggunaan media PACP dalam pengujian ALT perlu dievaluasi hasilnya dibandingkan dengan media TSA. Pengujian tersebut dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Riset Pemuliaan Ikan (BRPI), Sukamandi dengan menggunakan kultur murni bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil pengujian penggunaan media PACP dibandingkan media TSA dalam penentuan ALT tersebut menunjukkan bahwa kedua media memberikan hasil yang relatif sama. Nilai ALT kultur murni bakteri *A. hydrophila* sama-sama dapat ditentukan pada tingkat pengenceran  $10^{-6}$ , dengan hasil jumlah koloni yang relatif sama (188 dan 177 koloni dibandingkan 218 dan 186 koloni). Evaluasi keterulangan dan reproduibilitas dari penggunaan kedua media tersebut juga menunjukkan hasil yang sama-sama dapat diterima. Dengan demikian, penggunaan media PACP dalam pengujian ALT memiliki kesesuaian dengan SNI 2332.3:2015 sebagai acuan penentuan ALT pada produk perikanan.

**KATA KUNCI:** ALT (angka lempeng total); PACP (*petrifilm aerobic count plate*); TSA (*triptic soy agar*)

### PENDAHULUAN

Enumerasi mikroorganisme (mikroba) dalam bidang mikrobiologi sangat perlu dilakukan untuk mengetahui jumlah mikroorganisme pada suatu media atau sampel yang ditumbuhkan. Pertumbuhan mikroba dapat diketahui dengan adanya pertambahan ukuran, pertambahan jumlah, dan perubahan total kandungan materi selular dari mikroba di dalam suatu populasi (Hogg, 2005). Salah satu metode enumerasi mikroorganisme ialah *Total Plate Count* (TPC) atau enumerasi mikroba dengan metode Angka Lempeng Total (ALT). Prinsip kerja dari metode ini adalah menumbuhkan mikroorganisme pada media, kemudian diamati dan dihitung jumlah koloni yang terbentuk (Madigan *et al.*, 2014).

Media pengujian ALT yang sering digunakan dan telah sesuai dengan SNI 2332.3:2015 adalah media cawan agar (BSN, 2015). Penggunaan media agar untuk pengujian ALT tergolong mudah dan murah, tetapi kurang efektif dan efisien karena memerlukan beberapa tahap penyiapan media agar (sterilisasi, memasak, dan

mencetak) terlebih dahulu. Dengan semakin berkembangnya teknologi, maka semakin berkembang pula metode pengujian ALT, sehingga hal tersebut bisa diatasi melalui menggunakan PACP (*petrifilm aerobic count plate*) yang lebih cepat dan mudah serta telah mendapatkan sertifikat ISO 9001 (Anonim, 2000).

Pengujian ALT di Laboratorium Mikrobiologi Balai Riset Pemuliaan Ikan (BRPI), Sukamandi selama ini masih menggunakan media agar. Kegiatan uji coba ini bertujuan untuk mengevaluasi kesesuaian penggunaan media PACP terhadap SNI 2332.3:2015 dalam penentuan ALT, sehingga kedepannya diharapkan dapat menggantikan metode konvensional dan meningkatkan efektivitas dan efisiensi kerja di Laboratorium Mikrobiologi BRPI, Sukamandi.

### BAHAN DAN METODE

Kegiatan pengujian ALT ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi BRPI, Sukamandi. Sampel uji bakteri yang digunakan adalah kultur murni bakteri *Aeromonas hydrophila*, sedangkan media tumbuh

bakteri yang diuji adalah PACP (*petrifilm aerobic count plate*) sebagai media yang dievaluasi dan media agar TSA (*triptic soy agar*) sebagai pembanding. Proses penanaman bakteri dilakukan di dalam *Bio Safety Cabinet*, kemudian diinkubasi dalam inkubator.

### Pengujian Media TSA

Pengujian ALT pada media TSA dilakukan dengan menggunakan metode cawan agar sebar (*Spread Plate Method*). Pengujian ini dilakukan dengan cara menuangkan 12-15 mL TSA ke dalam cawan petri steril, kemudian didinginkan hingga benar-benar memadat sempurna. Selanjutnya, sebanyak 0,1 mL sampel pada berbagai tingkat pengenceran, yaitu  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , dan  $10^{-6}$  dimasukkan ke dalam media TSA menggunakan pipet, kemudian diratakan menggunakan batang penyebar. Masing-masing pengenceran dilakukan secara duplo dan disertakan kontrol media dan kontrol pengencer untuk mengetahui kelayakan jumlah koloni yang tumbuh. Cawan yang telah berisi sampel kemudian diinkubasi dengan posisi dibalik pada suhu  $32 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 24-48 jam (suhu dan waktu sebelumnya sudah melalui tahap optimasi). Hasil inkubasi kemudian diamati dan dihitung ALT sesuai dengan SNI 2332.3:2015 tentang penentuan angka lempeng total pada produk perikanan (BSN, 2015).

### Pengujian Media PACP

Media PACP merupakan media berbentuk kertas film yang berlapis nutrisi dan mengandung gel. Penyimpanan PACP sebelum digunakan adalah pada suhu  $8^\circ\text{C}$ . Saat akan digunakan PACP dibiarkan terlebih dahulu pada suhu ruang sampai kondisinya sudah tidak dingin. Selanjutnya, sebanyak 1 mL sampel pada berbagai tingkat pengenceran ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , dan  $10^{-6}$ ) dimasukkan ke dalam media PACP tepat pada bagian tengah lapisan film bagian bawah. Sampel kemudian diratakan dengan menggunakan *spreader* khusus dengan sisi yang berongga berada di bagian bawah. Alat *spreader* ditekan dengan lembut pada bagian tengahnya dan ditahan selama satu menit hingga gel terbentuk lingkaran. Masing-masing pengenceran dilakukan secara duplo dan disertakan kontrol pengencer untuk mengetahui kelayakan jumlah koloni yang tumbuh. Kontrol pengujian ALT pada media PACP hanya dilakukan terhadap pengencer, karena PACP hanya mampu bekerja ketika bereaksi dengan pengencernya. Selanjutnya, PACP yang telah berisi sampel diinkubasi dengan posisi horisontal pada suhu  $32 \pm 2^\circ\text{C}$  selama 24-48 jam (suhu dan waktu sudah melalui tahap optimasi). Hasil inkubasi kemudian diamati dan dihitung ALT sesuai dengan SNI 2332.3:2015 tentang penentuan angka lempeng total pada produk perikanan (BSN, 2015).

### Evaluasi Keterulangan dan Reprodusibilitas

Selanjutnya, nilai-nilai ALT hasil penghitungan dari media uji PACP perlu dievaluasi tingkat keterulangan (*repeatability*) dan reprodusibilitasnya (*reproducibility*). Keterulangan perlu dilakukan sebagai bagian dari jaminan mutu suatu hasil pengujian, sedangkan reprodusibilitas dilakukan untuk melihat kesesuaian antara metode yang dikembangkan dengan metode standar. Tingkat keterulangan dan reprodusibilitas dalam kegiatan ini dievaluasi berdasarkan acuan ISO 4833-2:2013 (ISO, 2013).

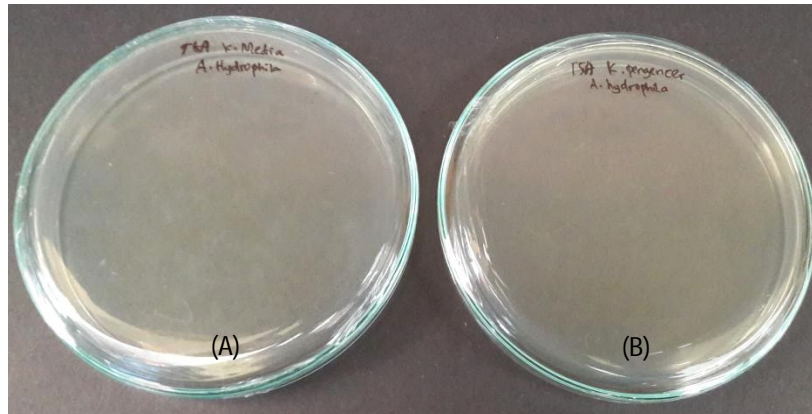
Nilai keterulangan dihitung dengan cara mentransformasi nilai hasil pengujian ALT jumlah koloni kultur murni bakteri *A. hydrophila* yang diperoleh pada masing-masing media ke dalam nilai logaritmis ( $\log_{10}$ ), kemudian nilai logaritmis ALT tersebut dikurangi dan ditambah dengan nilai keterulangan  $r = 0,25$  sebagai kisaran batas atas dan batas bawah nilai keterulangan. Nilai reprodusibilitas dihitung dengan cara mentransformasi nilai hasil pengujian ALT ke dalam nilai logaritmis ( $\log_{10}$ ), kemudian dikurangi dan ditambah dengan nilai  $r = 0,45$  sebagai metode standar. Hasil perhitungan tersebut digunakan sebagai batas reprodusibilitas dari metode PACP yang sedang diuji cobakan.

### HASIL DAN BAHASAN

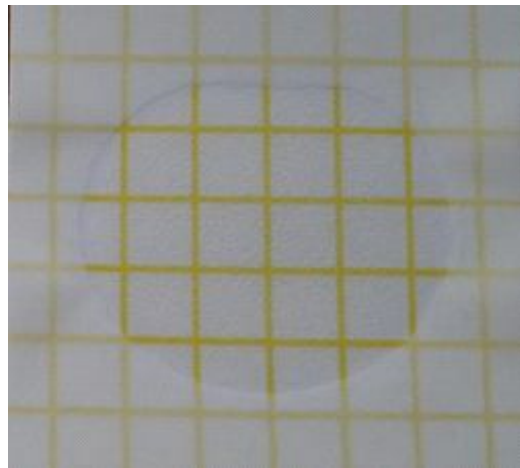
Kelayakan jumlah koloni yang tumbuh pada suatu media dapat diketahui dengan adanya kontrol media dan kontrol pengencer. Pada kegiatan ini, kontrol media dan pengencer yang digunakan pada media TSA (Gambar 1) maupun kontrol pengencer pada media PACP (Gambar 2) tidak menunjukkan adanya cemaran, sehingga hasil perhitungan pada kedua media tersebut dapat diterima.

Hasil pengujian ALT menggunakan media TSA dan PACP pada kegiatan ini ditunjukkan pada Tabel 1. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA yang dihitung sesuai dengan SNI 2332.3:2015 terdapat pada cawan petri dengan tingkat pengenceran  $10^{-6}$ , yaitu sebanyak 188 koloni dan 177 koloni. Pada tingkat pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-5}$  termasuk dalam kategori tidak bisa untuk dihitung (TBUD), karena jumlah koloni yang tumbuh masih terlalu padat. Pada media PACP, jumlah koloni bakteri yang tumbuh yang dapat dihitung sesuai dengan SNI 2332.3:2015 juga terdapat pada tingkat pengenceran  $10^{-6}$ , yaitu sebanyak 218 koloni dan 186 koloni. Seperti halnya pada media TSA, jumlah koloni bakteri pada tingkat pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-5}$  juga masuk dalam kategori TBUD.

Warna koloni bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh dari kedua media tersebut bersifat spesifik sesuai dengan indikator warna (berfungsi untuk



Gambar 1. Cawan petri kontrol media (A) dan kontrol pengencer (B) pada media uji TSA (*triptic soy agar*).



Gambar 2. Kontrol pengencer pada media uji PACP (*petrifilm aerobic count plate*).

mempermudah menginterpretasikan jenis bakteri yang tumbuh) dari masing-masing media. Koloni bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh pada media TSA berwarna putih kekuningan, sedangkan pada media PACP koloninya berwarna merah.

Kesesuaian hasil uji ALT dari kedua metode yang diuji pada kegiatan ini terhadap SNI 2332.3:2015 perlu diketahui melalui evaluasi keterulangan dan reproduibilitas data. Perhitungan nilai keterulangan hasil pengujian ALT kultur murni bakteri *A. hydrophila* dalam media TSA dan PACP ditunjukkan pada Tabel 2. Hasil perhitungan nilai keterulangan pengujian ALT kultur murni bakteri *A. hydrophila* pada media TSA (8,2788 dan 8,2553) dan PACP (8,3010 dan 8,2788) tersebut menunjukkan bahwa keduanya masuk dalam batas keberterimaan keterulangan sesuai ISO 4833:2013. Hal ini menunjukkan bahwa data pengujian ALT pada kedua media tersebut akurat.

Selanjutnya, perhitungan nilai reproduibilitas hasil pengujian ALT kultur murni bakteri *A. hydrophila* dalam media TSA dan PACP ditunjukkan pada Tabel 3. Hasil pengujian ALT kultur murni bakteri *A. hydrophila* pada media TSA dan PACP menunjukkan nilai yang relatif sama berdasarkan perhitungan statistik ISO 4833:2003. Nilai reproduibilitas hasil pengujian ALT pada media TSA (8,2788 dan 8,2553) tersebut merupakan nilai yang dapat diterima, karena masuk dalam batas reproduibilitas (7,8288-8,7288). Demikian pula, nilai reproduibilitas pada PACP sebesar (8,3010 dan 8,2788) juga masuk dalam batas reproduibilitas yang ditetapkan (7,8053-8,7053).

Nilai logaritmis hasil pengujian ALT pada media PACP yang masuk pada batas reproduibilitas tersebut menunjukkan bahwa pengujian ALT menggunakan media PACP dalam kegiatan uji coba ini sesuai dengan metode standar SNI 2332.3:2015. Hasil kegiatan uji

Tabel 1. Hasil pengujian ALT (angka lempeng total) kultur murni bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan beberapa tingkat pengenceran pada media TSA (*triptic soy agar*) dan PACP (*petrifilm aerobic count plate*)

Media uji	Sampel	Jumlah koloni pada tingkat pengenceran					
		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
TSA	1	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	188
	2	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	177
PACP	1	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	218
	2	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	186

Keterangan: TBUD= tidak bisa untuk dihitung

Tabel 2. Nilai keterulangan (berdasarkan ISO 4833:2013) hasil pengujian ALT (angka lempeng total) kultur murni bakteri *Aeromonas hydrophila* pada media TSA (*triptic soy agar*) dan PACP (*petrifilm aerobic count plate*)

Media uji	Sampel	ALT	log ALT	Rata-rata log ALT	Batas keterulangan	Kesimpulan
TSA	1	190.000.000	82,788	82,670	8,0170-8,5170	Diterima
	2	180.000.000	82,553			
PACP	1	200.000.000	83,010	82,899	8,0399-8,5399	Diterima
	2	190.000.000	82,788			

Tabel 3. Nilai reproduibilitas (berdasarkan ISO 4833:2013) hasil pengujian ALT (angka lempeng total) kultur murni bakteri *Aeromonas hydrophila* pada media TSA (*triptic soy agar*) dan PACP (*petrifilm aerobic count plate*)

Sampel	Media TSA		Media PACP		Reproduibilitas	Kesimpulan
	ALT	log ALT	ALT	log ALT		
1	190.000.000	82,788	200.000.000	83,010	7,8288-8,7288	Diterima
2	180.000.000	82,553	190.000.000	82,788	7,8053-8,7053	Diterima

coba ini sesuai dengan hasil evaluasi kesesuaian pengujian ALT menggunakan media PACP terhadap metode standar pengujian SNI 01-2321.3-2006 yang dilakukan sebelumnya (Hartati, 2016).

### KESIMPULAN

Penggunaan media PACP dalam pengujian ALT telah sesuai dengan SNI 2332.3:2015 sebagai acuan penentuan ALT pada produk perikanan.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya disampaikan kepada tim Laboratorium Mikrobiologi BRPI, Sukamandi yang telah membantu pelaksanaan kegiatan ini.

### DAFTAR ACUAN

- Anonim. (2000). *3M Petrifilm Aerobic Count Plate*. US Microbiology, 6 pp.
- BSN. (2015). SNI 2332.3:2015: *Cara Uji Mikrobiologi - Bagian 3: Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan*. Badan Standardisasi Nasional (BSN). Jakarta, 12 hlm.
- Hartati, F.K. (2016). Evaluasi metode pengujian angka lempeng total menggunakan metode *Petrifilm Aerobic Count Plate* terhadap metode uji SNI 01.2332.2006 pada produk perikanan di LPPMHP Surabaya. *Jurnal Teknik Industri Heuristic*, 13(2), 89-105.
- Hogg, S. (2005). *Essential Microbiology*. John Wiley and Sons. West Sussex, England, 456 pp.

- ISO. (2013). *ISO 4833-2. 2013: Horizontal Method for the Enumeration of Microorganism Part 2: Colony count at 30°C by the surface plating technique*. International Standard Organization. Geneva, 4 pp.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Buckley, D.H., Stahl, D.A. & Bender, K.S. (2014). *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson Education Limited. Harlow, United Kingdom, 1040 pp.
- Riyanto. (2015). *Validasi dan Verifikasi Metode Uji Sesuai Dengan ISO/IEC 17025 Laboratorium Pengujian dan Kalibrasi*. Deepublish. Yogyakarta, 137 hlm.