

Metode Pemeriksaan Mikrobiologi pada Makanan

Pemeriksaan mikrobiologi pada makanan bertujuan mendeteksi dan mengidentifikasi mikroorganisme patogen atau indikator kebersihan. Berikut adalah metode utama yang digunakan:

1. Metode Tradisional (Kultur)

- **Plate Count (Total Viable Count):**
 - **Prosedur:** Homogenisasi sampel, serial dilusi, penanaman pada media agar (misal: Plate Count Agar), inkubasi (24-48 jam), dan penghitungan koloni (CFU/g atau CFU/mL).
 - **Aplikasi:** Menilai kualitas mikrobiologis umum (misal: total bakteri aerob).
- **Metode MPN (Most Probable Number):**
 - **Prosedur:** Inokulasi sampel dalam seri tabung cair (misal: Lactose Broth), observasi pertumbuhan (gas/awan), dan estimasi jumlah menggunakan tabel statistik.
 - **Aplikasi:** Deteksi bakteri koliform atau *E. coli* dalam sampel cair.
- **Kultur Selektif dan Enrichment:**
 - **Prosedur:** Enrichment dengan media cair selektif (misal: Selenite Broth untuk *Salmonella*), dilanjutkan penanaman pada media selektif (misal: XLD Agar).
 - **Aplikasi:** Isolasi patogen seperti *Salmonella* atau *Listeria*.
- **Membrane Filtration:**
 - **Prosedur:** Filtrasi sampel cair melalui membran, inkubasi membran pada media agar.
 - **Aplikasi:** Uji kualitas air atau cairan jernih.

2. Metode Molekuler

- **PCR (Polymerase Chain Reaction):**
 - **Prosedur:** Ekstraksi DNA, amplifikasi gen target (misal: *invA* untuk *Salmonella*), deteksi dengan elektroforesis atau probe fluoresens (real-time PCR).
 - **Aplikasi:** Deteksi cepat patogen seperti *E. coli O157:H7* atau *Listeria monocytogenes*.
- **Sequencing (NGS dan WGS):**
 - **Prosedur:** Sekuensing seluruh genom atau metagenomik untuk identifikasi strain dan analisis resistensi antibiotik.
 - **Aplikasi:** Investigasi wabah atau studi keragaman mikroba.

3. Metode Immunologi

- **ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay):**

- **Prosedur:** Pengikatan antigen patogen/racun oleh antibodi spesifik, deteksi dengan reaksi enzim-substrat.
- **Aplikasi:** Deteksi toksin *Staphylococcus aureus* atau *Clostridium botulinum*.
- **Uji Lateral Flow:**
 - **Prosedur:** Sampel dialirkan pada strip yang mengandung antibodi berlabel; garis warna muncul jika target terdeteksi.
 - **Aplikasi:** Uji cepat *Salmonella* atau *Campylobacter*.

4. Metode Cepat Lainnya

- **Biosensor:**
 - **Prosedur:** Antibodi/nukleat probe pada sensor mendeteksi target dan menghasilkan sinyal elektrik/optik.
 - **Aplikasi:** Deteksi *E. coli* dalam waktu nyata.
- **ATP Bioluminescence:**
 - **Prosedur:** Pengukuran ATP dari sel hidup menggunakan enzim luciferase.
 - **Aplikasi:** Pemeriksaan kebersihan permukaan.
- **Flow Cytometry:**
 - **Prosedur:** Penghitungan sel mikroba berdasarkan hamburan cahaya atau fluoresens.
 - **Aplikasi:** Analisis cepat jumlah sel dalam produk cair.

5. Teknik Pendukung Identifikasi

- **Biokimia (API Strips):**
 - **Prosedur:** Uji aktivitas enzimatis (misal: fermentasi karbohidrat) untuk identifikasi genus/spesies.
 - **Aplikasi:** Konfirmasi *Enterobacteriaceae*.
- **MALDI-TOF MS:**
 - **Prosedur:** Analisis profil protein menggunakan spektrometri massa.
 - **Aplikasi:** Identifikasi cepat bakteri/ragi.

6. Sampling dan Persiapan Sampel

- **Pengambilan Sampel:** Aseptik dan representatif (sesuai standar ISO 7218 atau FDA BAM).
- **Persiapan:** Homogenisasi (untuk padatan), filtrasi (cairan), atau penghilangan inhibitor (untuk PCR).

7. Pertimbangan Pemilihan Metode

- **Target Organisme:** Bakteri, virus, jamur, atau parasit.
- **Sensitivitas & Spesifisitas:** Kultur untuk konfirmasi hidup vs PCR untuk kecepatan.
- **Biaya & Waktu:** Metode cepat (ELISA/PCR) lebih mahal tetapi hemat waktu.
- **Regulasi:** Patuhi standar seperti ISO, FDA BAM, atau SNI.

Contoh Aplikasi

- **Deteksi *Salmonella*:** Enrichment dalam Selenite Broth → plating pada XLD Agar → konfirmasi dengan PCR/antisera.
- **Uji *Listeria*:** Metode imunomagnetik (IMS) + plating pada PALCAM Agar.

Dengan kombinasi metode tradisional dan modern, keamanan pangan dapat dipastikan secara akurat dan efisien.

Preparasi Sampel Makanan pada Uji Mikrobiologi

Preparasi sampel makanan merupakan tahap kritis dalam uji mikrobiologi untuk memastikan hasil yang akurat, representatif, dan menghindari kontaminasi silang. Proses ini melibatkan homogenisasi, pengenceran, dan penyesuaian sampel sesuai jenis makanan dan target mikroorganisme. Berikut adalah prosedur umum dan prinsipnya:

1. Prinsip Dasar Preparasi Sampel

- **Aseptik:** Seluruh alat dan wadah harus steril (autoklaf/suhu tinggi).
- **Representatif:** Sampel harus diambil dari bagian yang relevan (misal: area permukaan atau bagian dalam).
- **Homogen:** Sampel harus tercampur merata untuk distribusi mikroba yang seragam.
- **Pengenceran:** Untuk mengurangi kepadatan mikroba ke tingkat yang dapat dihitung/dianalisis.

2. Alat dan Bahan yang Dibutuhkan

- Alat steril: pisau, gunting, spatula, cawan petri, tabung reaksi.
- **Stomacher** atau blender untuk homogenisasi.
- Larutan pengencer steril: **Buffered Peptone Water (BPW)**, larutan fisiologis (NaCl 0,85%), atau **Pepton Water**.
- Pipet otomatis steril dan tip.
- Inkubator atau water bath (untuk pencairan sampel beku).

3. Prosedur Preparasi Sampel

A. Pengambilan Sampel

- Sesuai standar (misal: **ISO 7218**, **FDA BAM**, atau **SNI**).
- Contoh: 25 g atau 25 mL sampel diambil secara aseptik.
- Untuk makanan padat (daging, sayuran): potong kecil-kecil dengan pisau steril.

B. Homogenisasi

- **Tujuan:** Membebaskan mikroba dari matriks makanan dan membuat suspensi seragam.
- **Metode:**
 1. **Stomacher:** Masukkan 25 g sampel + 225 mL larutan pengencer (rasio 1:10) ke dalam kantong stomacher, hancurkan selama 1-2 menit.
 2. **Blender:** Untuk makanan keras (misal: biji-bijian), blender dengan larutan pengencer.
 3. **Pengocokan Manual:** Untuk sampel cair, kocok kuat selama 1-2 menit.

C. Pengenceran Serial

- **Tujuan:** Menurunkan konsentrasi mikroba agar dapat dihitung/dideteksi.
- **Prosedur:**
 1. Ambil 1 mL suspensi homogenat (10^{-1}), masukkan ke 9 mL larutan pengencer (10^{-2}).
 2. Ulangi hingga diperoleh deret pengenceran (misal: 10^{-1} hingga 10^{-6}).
 3. Gunakan pipet steril untuk setiap pengenceran.

D. Penanganan Sampel Khusus

- **Makanan Berlemak:** Tambahkan **Tween 80** atau **lecithin** untuk melarutkan lemak.
- **Makanan Kering (tepung, rempah):** Rendam dalam larutan pengencer selama 15-30 menit sebelum homogenisasi.
- **Makanan Beku:** Cairkan dalam lemari pendingin ($2-5^{\circ}\text{C}$) atau water bath ($\leq 45^{\circ}\text{C}$, maksimal 15 menit).

4. Contoh Preparasi untuk Uji Spesifik

- **Uji Salmonella:**
 - 25 g sampel + 225 mL BPW → inkubasi 37°C , 18–24 jam (pre-enrichment).
 - Lanjutkan dengan enrichment selektif (misal: Selenite Cystine Broth).

- **Uji Total Plate Count (TPC):**
 - Homogenat 10^{-1} hingga 10^{-6} → tuang atau sebar pada Plate Count Agar (PCA).
 - **Uji E. coli:**
 - Homogenat → inokulasi pada media selektif (misal: EMB Agar) atau metode MPN.
-

5. Faktor yang Mempengaruhi Preparasi

- **Jenis Mikroba:**
 - Bakteri vegetatif: homogenisasi biasa.
 - Spora (misal: *Clostridium*): tambahkan perlakuan panas (pasteurisasi) untuk menghilangkan sel vegetatif.
 - **Matriks Makanan:**
 - Cair vs. padat → metode homogenisasi berbeda.
 - **Target Analisis:**
 - Deteksi patogen vs. uji kualitas umum (TPC).
-

6. Kesalahan Umum yang Harus Dihindari

- Kontaminasi dari alat/tangan.
 - Pengenceran tidak akurat (misal: pipet tidak dikalibrasi).
 - Waktu homogenisasi terlalu singkat → distribusi mikroba tidak merata.
 - Sampel tidak diinkubasi sesuai suhu/waktu yang ditentukan.
-

7. Dokumentasi dan Pelaporan

- Catat detail:
 - Jenis sampel, berat/volume, metode homogenisasi, larutan pengencer.
 - Suhu dan waktu inkubasi.
 - Hasil pengenceran dan media yang digunakan.
-

8. Pertimbangan Keamanan

- Gunakan **biosafety cabinet** untuk sampel berisiko tinggi (misal: diduga mengandung patogen).

- Sterilisasi alat dan limbah biologis (autoklaf 121°C, 15 menit).

Preparasi yang tepat menentukan akurasi hasil uji mikrobiologi. Selalu ikuti protokol standar (ISO, FDA, atau SNI) sesuai tujuan analisis!