

VERIFIKASI UJI CEPAT KOMERSIAL *Escherichia coli* PADA CONTOH UJI DAGING SAPI BEKU

Verification of Escherichia coli Commercial Rapid Test Kit on Frozen Meat

Yasmine Qurrota Ayunina^{1,2*}, Trioso Purnawarman³, dan Surachmi Setiyaningsih³

¹Program Studi Kesehatan Masyarakat Veteriner Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor

²Balai Besar Karantina Pertanian Tanjung Priok, Jakarta

³Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

*Corresponding author: yasminequrrota@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menilai kinerja dan kesesuaian uji cepat komersial dibandingkan dengan uji konvensional melalui proses verifikasi. Dalam penelitian ini digunakan daging sapi beku dari sampel rutin laboratorium yang dibagi menjadi kelompok alami, kelompok bakteri rendah, kelompok bakteri sedang, kelompok bakteri tinggi, dan kelompok kontrol. Setiap kelompok dilakukan sembilan ulangan. Keseluruhan contoh uji dilakukan pengujian *Escherichia coli* (*E. coli*) dengan metode konvensional (SNI 2897: 2008) dan metode uji cepat komersial. Hasil uji *E. coli* dari kedua metode dihitung dengan beberapa kriteria unjuk kerja yaitu; presisi, sensitivitas, spesifisitas, positif palsu, negatif palsu, dan κ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji cepat komersial memiliki presisi yang baik yaitu dengan rata-rata standar deviasi relatif sebesar 0,103. Sensitivitas; spesifisitas; negatif palsu; positif palsu; dan nilai κ masing-masing adalah 94,44%; 100%; 5,56%; 0%; dan 0,872. Hasil ini menunjukkan uji cepat komersial memiliki kinerja yang sama dengan metode konvensional. Perhitungan uji komparatif dengan *student test* menunjukkan metode uji cepat komersial dan metode konvensional menunjukkan kesesuaian pada kelompok natural, kelompok bakteri rendah, dan sedang.

Kata kunci: verifikasi, uji cepat *E. coli*, sensitivitas, presisi

ABSTRACT

This study was aimed to assess the performance and suitability of commercial rapid test compared to the conventional test through verification process. This study used frozen meat from laboratory routine samples which divided into five groups, those were: natural group, low bacteria level group, medium bacteria level group, high bacteria level group, and control group, each sample test performed 9 replicates. All samples were tested for *E. coli* by conventional method (SNI 2897:2008) and commercial rapid test method. *E. coli* test result from both methods was calculated as precision (relative standard deviation), sensitivity, specificity, false negative, false positive, and kappa. The results showed that the commercial kit test had good precision with relative standard deviations score was 0.103. The sensitivity, specificity, false negative, false positive, and kappa score were 94.44%, 100%, 5.56%, 0%, and 0.872, respectively, indicates an equal performance with conventional method. The t student test showed that commercial rapid test method and conventional method had suitability on natural group, low bacteria levels group and medium bacteria level group.

Key words: verification, *E. coli* commercial kit test, sensitivity, precision

PENDAHULUAN

Arus bongkar muat barang di pelabuhan Tanjung Priok sangat padat dan tuntutan penyelesaian layanan dengan cepat maka karantina membutuhkan metode uji cepat dalam melaksanakan tugasnya. Pengertian uji cepat saat ini tidak hanya sebagai metode yang dapat mendeteksi lebih cepat namun kemudahan dalam proses pengujian beberapa jenis sampel sekaligus (Jasson *et al.*, 2010). Sebagai salah satu laboratorium yang terakreditasi terhadap pelaksanaan ISO/IEC 17025 sebelum penerapan metode uji cepat menggantikan uji konvensional, pelaksanaan verifikasi (validasi sekunder) sebagai salah satu syarat teknis harus dilakukan.

Menurut Feldsine *et al.* (2002), validasi adalah sebuah proses pembuktian suatu metode baru yang memiliki kerja yang sama dengan metode uji konvensional. Terdapat dua jenis validasi yaitu validasi primer dan validasi sekunder atau verifikasi. Validasi primer adalah validasi terhadap suatu metode uji yang benar-benar baru atau modifikasi dari metode konvensional. Verifikasi atau validasi sekunder merupakan penerapan suatu metode uji yang telah diakui pada suatu laboratorium. Verifikasi dilakukan

untuk menegaskan kemampuan laboratorium dalam penerapan metode ini serta sebagai jaminan mutu sebuah laboratorium terhadap hasil pengujian yang dilakukan (Sartory, 2005).

Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) merupakan salah satu agen yang dapat dibawa oleh komoditas yang melalui pelabuhan Tanjung Priok. Terdapat sebuah perangkat uji cepat *E. coli* yang perlu dilakukan verifikasi sebelum diterapkan secara rutin menggantikan uji konvensional di laboratorium karantina hewan Balai Besar Karantina Pertanian (BBKP) Tanjung Priok.

Penelitian ini bertujuan mengetahui kerja uji cepat komersial serta menganalisis tingkat kesesuaian uji cepat dibanding uji konvensional melalui proses verifikasi untuk diaplikasikan secara rutin di Laboratorium Karantina Hewan BBKP Tanjung Priok. Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai jaminan mutu dari hasil uji yang dikeluarkan laboratorium dan sebagai gambaran pelaksanaan proses verifikasi di laboratorium lain.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini merupakan percobaan laboratorium yang dirancang dalam rangka memenuhi persyaratan

ISO/IEC 17025 yaitu verifikasi terhadap metode baru yang akan diterapkan secara rutin pada laboratorium. Hasil verifikasi berupa saran pemakaian suatu metode uji cepat komersial sebagai pengujian rutin *E. coli*. Penelitian ini menggunakan sebuah uji cepat komersial (Rida® Count *E. coli*), kultur murni *E. coli* berbentuk kering beku (ATCC 10799), dan kultur murni *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923). Bahan kimia yang diperlukan dalam pengujian *E. coli* metode konvensional dapat diakses dalam dokumen SNI 2897:2008.

Dalam penelitian ini digunakan daging sapi beku yang merupakan contoh uji rutin di laboratorium BBKP Tanjung Priok. Daging sapi beku dikelompokkan dalam lima kelompok berdasarkan jumlah *E. coli* yaitu alami, inokulasi bakteri level tinggi, bakteri level sedang, bakteri level rendah, dan kelompok kontrol. Setiap kelompok dilakukan pengulangan sebanyak sembilan kali. Seluruh kelompok dan ulangan akan diuji *E. coli* dengan metode konvensional (BSN, 2008) dan metode uji cepat komersial. Jumlah bakteri kultur murni yang diinokulasikan pada kelompok bakteri level rendah, bakteri level sedang dan bakteri level tinggi sebanyak 10-100, 100-1000, dan 1000-10000 cfu/g.

Metode Inokulasi Bakteri Kultur Murni

Escherichia coli dan *S. aureus* yang digunakan merupakan bakteri kultur murni. Bakteri kultur murni ini kemudian dicairkan dengan *phosphate buffered saline* (PBS) pH 7,4 sebanyak 3 ml. Larutan stok dibuat dari 1 ml larutan bakteri PBS ditambahkan dengan media cair *brain heart infusion*. Larutan stok ini diinkubasi pada suhu 35° C selama 24 jam, kemudian dapat disimpan dalam suhu 2-4° C selama satu bulan.

Larutan stok diencerkan dengan mengambil sebanyak 1 ml larutan stok, ditambahkan dengan 9 ml *buffered peptone water* (BPW) (10⁻¹), dilanjutkan hingga pengenceran 10⁻¹⁰. Setiap 1 ml pengenceran ditanam dalam *plate count agar* (PCA) kemudian diinkubasikan dalam suhu 35° C selama 24 jam. Berdasarkan penghitungan jumlah bakteri dalam PCA maka dapat diketahui pengenceran yang akan diinokulasikan untuk setiap level bakteri. Matriks rancangan jumlah dan jenis contoh uji disajikan pada Tabel 1.

Pengujian *Escherichia coli* Metode Konvensional

Pengujian yang dilakukan untuk menghitung jumlah *E. coli* dalam bahan pangan dengan mengacu pada BSN (2008). Pengujian dilakukan dengan uji pendugaan dan uji peneguhan dengan metode *most probable number* (MPN) *E. coli*. Uji MPN menggunakan tabung fermentasi berseri dalam spesifik media cair dilanjutkan penanaman dalam media padat spesifik dan dilanjutkan dengan uji biokimia. Seluruh tahapan uji dapat diakses dalam dokumen SNI 2897:2008.

Pengujian *Escherichia coli* Metode Uji Cepat Komersial

Tahapan pengujian menggunakan larutan NaCl 0,9% steril sebagai larutan pengencer. Sebanyak 10 g daging

ditambahkan 90 ml larutan NaCl 0,9% dan di homogenkan dengan *stomacher* selama 1-2 menit. Sebanyak 1 ml contoh uji dimasukkan ke dalam lembar uji cepat diinkubasi selama 24 jam dalam 35±1° C. Koloni berwarna merah-ungu menunjukkan bakteri *E. coli*.

Analisis Data

Perhitungan parameter presisi dilakukan dengan menghitung standar deviasi relatif (*relative standard deviation*-RSD) di setiap kelompok bakteri. Presisi metode pengujian mikrobiologis air minum dapat diterima jika hasil RSD kurang dari 30% (Jacangelo dan Watson, 2003). Berikut ini adalah rumus perhitungan standar deviasi relatif (SAC, 2002):

$$RSD = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (\log a_i - \log b_i)^2 / x_i^2}}{2p}$$

Keterangan: a= Lembar uji cepat komersial replika 1, b= Lembar uji cepat komersial replikat 2, xi= Rata-rata replika 1 dan 2, p= Jumlah contoh.

Perhitungan parameter sensitivitas, spesifisitas, tingkat positif palsu, negatif palsu, dan nilai *kappa* dilakukan dengan membandingkan hasil positif dan negatif yang diperoleh antara dua metode uji (SAC, 2002; Brodsky, 2005). Data jumlah *E. coli* dari contoh uji dianalisis dengan *paired student test* untuk membandingkan rata-rata ulangan yang dilakukan oleh dua metode dan membuat asumsi dasar bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara nilai rata-rata dari dua kelompok data.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Escherichia coli merupakan mikroflora normal dalam saluran cerna hewan dan manusia sehingga terkenal sebagai bakteri indikator sanitasi. Selain *strain* patogen seperti *strain E. coli* O157:H7. Hal yang patut diwaspadai yaitu sifat resistensinya terhadap antibiotik *E. coli* yang resisten terhadap antibiotik merugikan kesehatan manusia melalui keparahan penyakit yang ditimbulkan akibat kegagalan pengobatan dengan antibiotik (Ariyanti *et al.*, 2007). Alat diagnostik yang cepat, tepat, dan ekonomis sangat diperlukan dalam memonitoring keberadaan bakteri ini dalam bahan pangan guna mencegah efek buruk yang dapat ditimbulkannya.

Perkembangan Metode Uji Cepat Mikrobiologis

Kurun waktu sepuluh tahun terakhir ini mulai tumbuh ketertarikan dalam pengembangan metode uji cepat. Metode uji cepat dapat didefinisikan sebagai metode atau sistem yang dapat menghemat waktu dan mudah dalam pengujian beberapa jenis serta jumlah sampel yang banyak (Feng, 1996). Berbagai macam jenis uji cepat mikrobiologis dapat dijumpai di pasar merupakan hasil dari perkembangan di bidang bioteknologi.

Saat ini terdapat beberapa metode perhitungan mikrobiologis yang digunakan secara luas di antaranya yaitu metode kultur klasik, penggunaan mesin

otomatisasi sebagai metode alternatif, media isolasi kromogenik dan fluorogenik, metode kultur modifikasi, dan metode perhitungan berdasarkan sifat biokimia (Jasson *et al.*, 2010). Metode kultur klasik merupakan metode konvensional perhitungan koloni bakteri dengan menggunakan media kultur spesifik. Metode ini merupakan *gold standard* yang dipakai oleh banyak laboratorium terutama badan regulasi.

Penggunaan mesin otomatisasi sebagai alternatif metode dimaksudkan untuk meningkatkan efisiensi dan mempersingkat waktu dalam preparasi media, pengenceran berseri (*serial dilution method*), serta perhitungan koloni. Beberapa contoh mesin otomatisasi yaitu mesin preparasi agar, mesin pengenceran otomatis, mesin penghitung koloni otomatis (Glynn *et al.*, 2006). Media kromogenik dan fluorogenik merupakan media kultur bakteri yang mengandung substrat enzim yang berikatan dengan kromogen (menghasilkan reaksi warna) dan fluorogen (reaksi fluoresen) atau kombinasi dari keduanya. Hasil metabolisme dari bakteri target bereaksi dengan enzim yang melepas kromogen/fluorogen. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna pada media. Menurut Schönenbrücher *et al.* (2008) media spesifik yang ditambah enzim substrat fluorogenik/kromogenik tidak membutuhkan tahap untuk subkultur dan uji biokimia.

Metode kultur modifikasi menggunakan prinsip hitungan koloni dan prinsip perhitungan MPN. Metode kultur modifikasi dengan prinsip hitungan koloni menggunakan lapisan plastik tipis mengandung media yang dapat larut dengan air dingin, nutrisi, dan indikator berupa kromogenik substrat (Nero *et al.*, 2008). Metode kultur modifikasi dengan prinsip perhitungan MPN menggunakan indikator kromogen yang ditambahkan dalam media (Kampfer *et al.*, 2008).

Perhitungan bakteri berdasarkan sifat biokimia terbagi menjadi impedansi dan biopendar *adenosine triphosphate* (ATP). Impedansi merupakan metode mendeteksi bakteri melalui produk buangan yang dihasilkan oleh bakteri. Biopendar ATP mendeteksi bakteri melalui keberadaan ATP yang melibatkan reaksi enzim substrat antara lusiferin dan lusiferase (Chen dan Godwin, 2006).

Jenis metode uji cepat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode kultur modifikasi. Indikator yang digunakan yaitu *Salmon-glucuronic acid* (6-chloro-3-indoxyl- β -D-glucuronic acid) yang akan dihidrolisis oleh β -glucuronidase yang dihasilkan *E. coli*. Enzim β -glucuronidase yang dihasilkan oleh 98% strain *E. coli* (Manafi, 1996). Enzim ini bereaksi dengan *Salmon glucuronic acid* dan menimbulkan warna ungu kemerahan (Ushiyama dan Iwasaki, 2010).

Metode ini menghemat waktu, menghemat tempat, efisien saat pengujian dengan jumlah contoh yang banyak serta tidak membutuhkan persiapan yang rumit.

Beberapa uji cepat komersial di pasar memiliki prinsip yang sama yaitu penggunaan indikator fluorogen atau kromogen dalam media kulturnya. *Petrifilm E. coli* yang dikembangkan oleh perusahaan 3M telah dilakukan validasi dengan menggunakan contoh daging kalkun, daging sapi, dan ikan masak dengan penyimpanan beku. Hasil validasi menunjukkan bahwa uji cepat ini setara dengan metode MPN, serta memiliki nilai *repeatability* yang sama baik dengan metode MPN (Gangar *et al.*, 1999). *Compact dry E. coli* yang dikembangkan oleh Nissui telah dibuktikan setara dengan metode konvensional MPN pada beberapa contoh daging segar dengan nilai faktor korelasi sebesar 0,93 (Kodaka *et al.*, 2006).

Tabel 1. Matriks rancangan jumlah dan jenis contoh uji *Escherichia coli*

Kelompok contoh	Uji cepat	Konvensional
Alami	9	9
Bakteri level rendah (10-100 cfu/g)	9	9
Bakteri level sedang (100-1000 cfu/g)	9	9
Bakteri level tinggi (1000-10000 cfu/g)	9	9
Kontrol (<i>Staphylococcus aureus</i>)	9	9
Jumlah	45	45

Presisi

Presisi adalah derajat kesamaan nilai beberapa hasil pengujian yang berulang-ulang. Presisi dibagi menjadi dua bagian yaitu *repeatability* atau keterulangan dan *reproducibility* atau ketertiruan. *Repeatability* atau keterulangan yaitu kemampuan untuk menghasilkan kesamaan hasil uji dari penggunaan berulang prosedur dalam periode singkat, menggunakan laboratorium, peralatan, dan analisis yang sama.

Repeatability diukur dengan RSD. Standar deviasi relatif adalah metode untuk menilai atau membandingkan variasi yang terjadi dalam sekelompok data. Semakin kecil nilai RSD maka presisi atau ketepatan metode akan semakin baik. Standar deviasi relatif dapat dinyatakan dalam bentuk persen dan disebut pula dengan *coefficient of variation* (CV). Presisi metode pengujian air minum dapat diterima jika hasil CV kurang dari 30% (Jacangelo dan Watson, 2003). Hasil pengukuran RSD uji cepat komersial pada tiap kelompok pengujian disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa nilai RSD semakin kecil pada kelompok dengan tingkat jumlah bakteri yang tinggi. Secara keseluruhan metode uji

Tabel 2. Hasil perhitungan standar deviasi relatif

Jenis contoh	Level/bentuk contoh	Jumlah	Rata-rata (cfu/g)	Standar deviasi	RSD	CV (%)
Daging sapi beku	Alami	9	20	12,44	0,154	15,4
	Bakteri level rendah	9	20	11,18	0,113	11,3
	Bakteri level sedang	9	233	48,48	0,079	7,9
	Bakteri level tinggi	9	2308	79,49	0,066	6,6
Rata-rata					0,103	10,3

RSD= Relative standard deviation; CV= Coefficient of variation

cepat komersial ini memiliki presisi yang baik karena memiliki rata-rata sebesar 0,103. Hasil analisis *repeatability* yang dilakukan Belloti *et al.* (2003) menunjukkan metode uji cepat komersial memiliki nilai presisi yang lebih baik dibandingkan metode MPN.

Hal yang sama disebutkan dalam penelitian Morita *et al.* (2003) serta Ushiyama dan Iwasaki (2010), metode uji cepat komersial pada inokulasi bakteri level rendah memiliki nilai RSD yang lebih tinggi dibandingkan inokulasi bakteri level tinggi dan sedang. Hal ini dapat disebabkan oleh nilai RSD dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu selisih, rata-rata jumlah *E. coli* serta keseluruhan jumlah ulangan yang dapat dihitung. Jika terdapat hasil negatif pada salah satu duplikasi maka ulangan tersebut tidak dapat masuk dalam perhitungan dan memperbesar nilai RSD.

Sensitivitas, Spesifisitas serta Tingkat Positif dan Negatif Palsu

Sensitivitas adalah proporsi contoh uji positif *E. coli* yang teridentifikasi secara tepat oleh uji cepat. Spesifisitas adalah kemampuan metode uji cepat komersial dalam membedakan antara organisme target dengan organisme lain (SAC, 2002). Nilai κ juga dapat memperlihatkan kesesuaian dua buah metode. Sensitivitas, spesifitas, tingkat positif dan negatif palsu, serta nilai κ dapat dihitung berdasarkan data pada Tabel 3.

Tabel 3. Proporsi sampel yang diklasifikasi-silangkan

Metode uji cepat komersial	Metode konvensional		Jumlah
	Positif	Negatif	
Positif	34	0	34
Negatif	2	9	11
Jumlah	36	9	45

Dari hasil penelitian diketahui bahwa sensitivitas dan spesifitas dari uji cepat komersial *E. coli* mencapai 94,44 dan 100% dengan tingkat kepercayaan 95%. Berdasarkan Tabel 2 diketahui tingkat positif dan negatif palsu yaitu sebesar 0 dan 5,56%. Nilai sensitivitas dan spesifitas yang tinggi menunjukkan bahwa metode uji cepat komersial ini dapat mengidentifikasi bakteri *E. coli* dengan tepat dan dapat membedakannya dengan mikroorganisme nontarget. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Bottini *et al.* (2011) yang membuktikan bahwa uji cepat komersial memiliki sensitivitas uji hingga 100%.

Uji κ dilakukan untuk melihat nilai kesepakatan antara metode konvensional dan metode uji cepat komersial. Berdasarkan Tabel 3 diketahui nilai kesepakatan dari kedua uji ini yaitu 0,872. Nilai kesepakatan uji cepat komersial terhadap metode konvensional ini masuk dalam kategori bagus sekali (Nordval, 2009).

Studi Komparatif Uji Cepat dengan Uji Konvensional

Rata-rata hasil uji *E. coli* dengan menggunakan dua metode dibandingkan menggunakan uji t untuk melihat ada tidaknya perbedaan. Hasil uji t dari kedua metode

disajikan pada Tabel 4. Dari hasil uji diketahui bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara nilai rata-rata dari dua metode (konvensional dan uji cepat komersial) pada kelompok alami, bakteri level rendah, dan bakteri level sedang. Menurut Gangar *et al.* (1999) secara statistik tidak terdapat perbedaan rata-rata jumlah *E. coli* antara kedua metode pada jenis contoh uji daging dalam tiga tingkat inokulasi bakteri (rendah, sedang, dan tinggi). Pengujian yang dilakukan oleh Lauer *et al.* (2007) menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan rata-rata jumlah *E. coli* antara metode uji cepat komersial dengan metode konvensional MPN pada daging mentah, daging ham, kalkun dan dada kalkun beku, namun berbeda nyata pada contoh uji daging babi tanpa tulang, sosis fermentasi, daging ayam, susu mentah, dan susu bayi. Tabel 4 juga menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok bakteri level tinggi. Rata-rata jumlah *E. coli* pada kelompok bakteri level tinggi dengan metode uji cepat menunjukkan jumlah yang sesuai dengan kisaran jumlah bakteri yang diinokulasikan pada bakteri level tinggi yaitu 3-4 log cfu/g. Rata-rata jumlah *E. coli* yang didapat dengan metode konvensional jumlahnya di bawah kisaran bakteri yang diinokulasikan.

Tabel 4. Hasil uji komparatif uji cepat komersial dengan uji konvensional

Kelompok contoh uji	Metode uji	Rata-rata $\pm$ standar deviasi (log cfu/g)	P
Alami	Konvensional	0,89 $\pm$ 0,253	0,089
	Uji cepat	1,18 $\pm$ 0,280	
Bakteri level rendah (10-100 cfu/g)	Konvensional	1,03 $\pm$ 0,310	0,583
	Uji cepat	1,12 $\pm$ 0,283	
Bakteri level sedang (100-1000 cfu/g)	Konvensional	2,02 $\pm$ 0,380	0,055
	Uji cepat	2,37 $\pm$ 0,128	
Bakteri level tinggi (1000-10000 cfu/g)	Konvensional	2,96 $\pm$ 0,167	0,000 ^a
	Uji cepat	3,36 $\pm$ 0,015	
Kontrol (<i>Staphylococcus aureus</i>)	Konvensional	-	-
	Uji cepat	-	

P = Nilai probabilitas; ^a nilai $P < 0,5$ menunjukkan berbeda nyata

Pengujian yang dilakukan oleh Morita *et al.* (2003) mendapatkan hasil yang hampir sama yaitu terdapat perbedaan yang nyata pada inokulasi bakteri 100-250 dan 1000 cfu/g (bakteri level sedang dan tinggi). Penelitian Ushiyama dan Iwasaki (2010) menunjukkan bahwa pada bakteri level tinggi, rata-rata jumlah *E. coli* dengan metode konvensional secara signifikan lebih rendah dibanding metode uji cepat komersial terutama pada contoh uji daging sapi beku, daging babi beku, dan segar.

Penyebab perbedaan yang signifikan dari kedua metode ini karena metode MPN memiliki perhitungan berdasarkan teori probabilitas yaitu positif dan negatif setiap tabung dalam seri sangat tergantung dengan peluang sel hidup yang terambil oleh pipet, sedangkan uji cepat komersial membaca seluruh sel hidup yang terambil oleh pipet. Terdapat beberapa hal yang menyebabkan hasil negatif palsu pada metode MPN yaitu terdapat bahan yang dapat mematikan mikroorganisme atau berinteraksi dengan media cair,

serta gagalnya uji peneguhan dan pelengkap mengidentifikasi organisme karena tabung Durham dilingkupi oleh substrat padat dari yang dihomogenkan contoh uji sehingga gas tidak mampu terperangkap (Corry *et al.*, 2011). Selain itu, waktu pengerjaan yang lebih lama (lima hari) dapat meningkatkan peluang kesalahan dalam perhitungan.

Metode konvensional maupun uji cepat memberikan hasil negatif pada kelompok kontrol yang diinokulasi dengan bakteri *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa metode uji cepat komersial sama halnya dengan metode konvensional tidak bereaksi silang dengan bakteri lain. Hasil penelitian dari Ushiyama dan Iwasaki (2010) mendapatkan bahwa uji cepat komersial ini tidak bereaksi positif dengan beberapa bakteri baik Gram positif maupun Gram negatif lainnya.

KESIMPULAN

Hasil analisis beberapa parameter unjuk kerja menunjukkan bahwa uji cepat komersial memiliki kinerja yang baik pada contoh uji daging beku. Uji cepat komersial memiliki kesesuaian dengan uji konvensional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak Karantina Hewan BBKP Tanjung Priok yang telah memfasilitasi penelitian ini, serta teman-teman di Laboratorium Karantina Hewan yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariyanti, T., Supar, dan A. Kusumaningsih. 2007. Cemar *E. coli* pada bahan pangan asal ternak periode 2000-2004 dan resistensinya terhadap antibiotik. **Prosiding Seminar Nasional Hari Pangan Sedunia XXVII Dukungan Teknologi untuk Meningkatkan Produk Pangan Hewani dalam Rangka Pemenuhan Gizi Masyarakat**. Badan Litbang Pertanian. Bogor:207-211.
- Belloti, V., J.A. Souza, M.A.F. Barros, L.A. Nero, M.R. Matos, V.V. Gusmao, and L.B. Moraes. 2003. Evaluation of Petrifilm™ EC and HS for total coliforms and *Escherichia coli* enumeration in water. **Braz. J. Microbiol.** 34(4):301-304.
- Bottini, G., F. Losito, A. De Ascentis, F.R. Priolisi, A. Mari, G. Antonini. 2011. Validation of the microbiological survey method for total viable count and *E. coli* in food sample. **Am. J. Food Technol.** 6(11):951-962.
- Brodsky, M. 2005. Verification and Validation of Methods in an Accreditation Environment. A microbiological perspective FPAC. <http://www.flworkshop.com>.
- BSN. Badan Standardisasi Indonesia. 2008. **SNI 2897:2008 tentang Metode Pengujian Cemar Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu serta Hasil Olahannya**. Badan Standardisasi Indonesia. Jakarta.
- Chen, F.C. and S.L. Godwin. 2006. Comparison of ATP rapid bioluminescence assay and standard plate count methods for assessing microbial contamination of consumers refrigerators. **J. Food Prot.** 69:2534-2538.
- Corry, J.E.L., G.D.W. Curtis, and R.M. Baird. 2011. **Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology**. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Feldsine, P., C. Abeyta, and W.H. Andrews. 2002. AOAC international methods committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official methods of analysis. **J. AOAC Int.** 85(5):1187-1200.
- Feng, P. 1996. Emergence of rapid methods for identifying microbial pathogen in foods. **J. AOAC Int.** 79:809-812.
- Gangar, V., M.S. Curiale, K. Lindberg, and S. Gambrel-Lenarz. 1999. Dry rehydratable film method for enumerating confirmed *E. coli* in poultry, meats and seafood: collaborative study. **J. AOAC Int.** 82(1):73-78.
- Glyn, B., S. Lahiff, M. Wernicke, T. Barry, T.J. Smith, and M. Meher. 2006. Current and emerging molecular diagnostic technologies applicable to bacterial food safety. **Int. J. Dairy Technol.** 59:126-139.
- Jacangelo, J. and M. Watson. 2003. Protocol for Equipment Verification Testing Inactivation of Microbiological Contaminants: requirements for all studies. In Environmental Technology Verification Protocol. Malley, J. (Ed.). <http://www.epa.gov/etv/pubs/039204epadwctr.pdf>.
- Jasson, V., L. Jacxsen, P. Luning, A. Rajkovic, and M. Uyttendaele. 2010. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria. **Food Microbiol.** 27(6):710-730.
- Kampfer, P., A. Nienhuser, G. Packroff, F. Wernicke, A. Mehling, K. Nixdorf, S. Fiedler, C. Kolauch, and M. Esser. 2008. Molecular identification of coliform bacteria isolated from drinking water reservoir with traditional method and the Colilert-18 system. **Int. J. Hyg. Environ. Health.** 211:374-384.
- Kodaka, H., S. Mizuochi, H. Teramura, and T. Nirazuka. 2006. Comparison of compact dry EC with the most probable number method (AOAC official method 966.24) for enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria in raw meats. **J. AOAC Int.** 89(1):100-115.
- Lauer, W.F., F.L. Martinez, and A. Patel. 2007. Validation of rapid *E. coli* 2 for enumeration and differentiation of *Escherichia coli* and other coliform bacteria in selected foods-performance-tested method 050601. **J. AOAC Int.** 90(5):1284-1315.
- Manafi, M. 1996. Fluorogenic and chromogenic enzyme substrates in culture media and identification tests. **Int. J. Food Microbiol.** 31:45-58.
- Morita, H., M. Ushiyama, S. Aoyama, and M. Iwasaki. 2003. Sensitivity and specificity of the sanita-kun aerobic count: Internal validation and independent laboratory study. **J. AOAC Int.** 86(2):355-366.
- Nero, L.A., L.D. Rodrigues, G.N. Vicoso, and M.B.T. Ortolani. 2008. Performances of petrifilm aerobic count plates on enumeration of lactic acid bacteria in fermented milks. **J. Rapid. Method. Automat. Microbiol.** 16:132-139.
- Nordval. Nordic System for Validation of Alternative Microbiological Methods. 2009. Protocol for the Validation of Alternative Microbiological Methods. National Veterinary Institute of Norway. <http://www.sva.se/upload/Redesign2011/Pdf/>.
- SAC. Singapore Accreditation Council. 2002. Method Validation of Microbiological Methods. SAC-SINGLAS 002. Singapore. <http://www.sac-accreditation.gov.sg>.
- Sartory, D.P. 2005. Validation, verification, and comparison: Adopting new methods in water microbiology. **Water SA.** 31(3):393-396.
- Schönenbrücher, V., E.T. Mallinson, and M. Bülte. 2008. A comparison of standard cultural methods for detection of foodborne *Salmonella* species including three new chromogenic plating media. **Int. J. Food Microbiol.** 23:61-66.
- Ushiyama, M. and M. Iwasaki. 2010. Evaluation of sanita-kun *E. coli* and coliform sheet medium for the enumeration of total coliform and *E. coli*. **J. AOAC Int.** 93(1):163-183.