

VOLUME 15, NOMOR 3 SEPTEMBER 2021

ISSN: 1907-8056
e-ISSN: 2527-5410

AGROINTEK

JURNAL TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN

JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
UNIVERSITAS TRUNOJOYO MADURA

AGROINTEK: Jurnal Teknologi Industri Pertanian

Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian is an open access journal published by Department of Agroindustrial Technology, Faculty of Agriculture, University of Trunojoyo Madura. Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian publishes original research or review papers on agroindustry subjects including Food Engineering, Management System, Supply Chain, Processing Technology, Quality Control and Assurance, Waste Management, Food and Nutrition Sciences from researchers, lecturers and practitioners. Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian is published four times a year in March, June, September and December.

Agrointek does not charge any publication fee.

Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian has been accredited by ministry of research, technology and higher education Republic of Indonesia: 30/E/KPT/2019. Accreditation is valid for five years. start from Volume 13 No 2 2019.

Editor In Chief

Umi Purwandari, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Editorial Board

Wahyu Supartono, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

Michael Murkovic, Graz University of Technology, Institute of Biochemistry, Austria

Chananpat Rardniyom, Maejo University, Thailand

Mohammad Fuad Fauzul Mu'tamar, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Khoirul Hidayat, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Cahyo Indarto, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Managing Editor

Raden Arief Firmansyah, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Assistant Editor

Miftakhul Efendi, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Heri Iswanto, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Safina Istighfarin, University of Trunojoyo Madura, Indonesia

Alamat Redaksi

DEWAN REDAKSI JURNAL AGROINTEK

JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS TRUNOJOYO MADURA

Jl. Raya Telang PO BOX 2 Kamal Bangkalan, Madura-Jawa Timur

E-mail: Agrointek@trunojoyo.ac.id

KATA PENGANTAR

Salam,

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah Tuhan Yang Maha Esa, kami terbitkan Agrotek edisi September 2021. Di tengah pandemi yang berkepanjangan ini, ilmuwan Indonesia masih tetap berkarya. Pada edisi kali ini 32 artikel hasil penelitian, yang terdiri dari 11 artikel dari bidang pengolahan pangan dan nutrisi, sistem manajemen, rantai pasok, dan pengendalian kualitas; 3 artikel tentang rekayasa pangan, dan 2 artikel tentang manajemen limbah. Para penulis berasal dari berbagai institusi pendidikan dan penelitian di Indonesia.

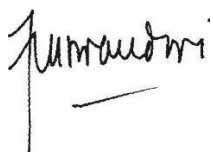
Kami mengucapkan terima kasih kepada para penulis dan penelaah yang telah bekerja keras untuk menyiapkan manuskrip hingga final. Kami juga berterimakasih kepada ibu dan bapak yang memberi kritik dan masukan berharga bagi Agrotek.

Untuk menyiapkan peringkat jurnal Agrotek di masa depan, kami berharap kontribusi para peneliti untuk mengirimkan manuskrip dalam bahasa Inggris. Semoga kita akan mampu menerbitkan sendiri karya-karya unggul para ilmuwan Indonesia.

Selamat berkarya.

Salam hormat

Prof. Umi Purwandari





KINERJA METODE CEPAT UNTUK EVALUASI KEBERSIHAN PERALATAN PRODUKSI PANGAN

Vanessa Agustine^{1*}, Siti Nurjanah², Ratih Dewanti Hariyadi²

¹Magister Profesional Teknologi Pangan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

²SEAFASST Center, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

Article history

Diterima:

11 April 2020

Diperbaiki:

22 Oktober 2020

Disetujui:

22 Oktober 2020

Keyword

ATP bioluminescence;

chromogenic media;

Enterobacteriaceae;

Protein; Verification

ABSTRACT

Sanitation program is intended food from being contaminated spoilage and pathogenic bacteria that lower food quality and affect consumers health. The sanitation programs for equipment in food production are designed to reduce the number of microorganisms. Food industries verify the fullfilment of sanitation programs using various methods. The analytical methods used include microbiological, ATP and protein analysis. The results of the performance of the test method showed that chromogenic media Enterobacteriaceae and ATP bioluminesecence were able to detect Escherichia coli and Klebsiella on stainless steel surface with the lowest concentration of 1 log CFU/100cm². A positive correlation was shown between the Enterobateriaceae chromogenic media with E. coli contamination (R2 = 0.9963) and with Klebsiella contamination (R2 = 0.9946). The results of the methods met the recovery and RSD requirements with RSD values of the artificial contaminations, Escherichia coli, Klebsiella and a combination of E.coli and protein respectively 4.05 %, 4.45 % and 5.44 %. The results of recovery value of Escherichia coli and Klebsiella contamination were 99.64% and 99.25%. The ATP bioluminesecence method also showed a positive correlation with E. coli contamination (R2 = 0.94), Klebsiella contamination (R2 = 0.9611) and protein residues (R2 = 0.8831). The results of the semiquantitative protein method showed that the color changes of the reagent in the kit became green at the lowest concentration of 2 ppm and light purple at a concentration of 4 ppm. Concluded that the chromogenic media Enterobacteriaceae, ATP and protein method able to detect contamination on equipment with fullfilment the performance evaluation.

© hak cipta dilindungi undang-undang

* Penulis korespondensi

Email : vanessalen27@gmail.com

DOI 10.21107/agrointek.v15i3.7066

PENDAHULUAN

Kontaminasi dapat terjadi karena adanya kontak langsung permukaan peralatan dengan sumber kontaminasi seperti bahan baku produk, pekerja maupun residu produk. Residu produk yang terdapat pada permukaan peralatan dapat menyebabkan kontaminasi silang dan memfasilitasi pertumbuhan mikroorganisme, sehingga perlu dilakukan proses sanitasi yang optimal dengan menggunakan bahan kimia dan jadwal sanitasi yang mampu meminimalkan risiko keamanan pangan. Proses sanitasi pada peralatan produksi merupakan salah satu program yang umumnya diimplementasikan dalam industri pangan untuk menjamin keamanan dan kualitas produk yang dihasilkan. Kebersihan peralatan produksi perlu dievaluasi untuk mengetahui efektivitas dari program sanitasi yang dilakukan (Moore dan Griffith, 2002). Metode pengujian untuk evaluasi kebersihan peralatan produksi ditentukan dengan mempertimbangkan regulasi, biaya, waktu analisa, teknik analisis, kebutuhan manajemen, dan sifat permukaan peralatan (Cruz, 2013). Selain itu efektifitas dan kinerja dari metode juga merupakan bagian yang perlu dipertimbangkan dalam menentukan metode uji (Asgharian *et al.*, 2014).

Metode analisis yang umum digunakan di industri pangan adalah metode mikrobiologi dengan teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara *swab* pada luas permukaan tertentu (Moore dan Griffith, 2002). Umumnya target mikroorganisme yang digunakan untuk mengindikasikan adanya kontaminasi mikroorganisme pada peralatan produksi adalah angka lempeng total (ALT), koliform, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Salmonella*, dll. Akan tetapi, jenis mikroorganisme yang mengindikasikan kontaminasi tinja, kecukupan rantai dingin hingga sanitasi pasca pemrosesan menggunakan jenis koliform termotoleran yaitu *Escherichia coli* dan *Klebsiella* spp yang termasuk dalam keluarga *Enterobacteriaceae*. Pengujian *Enterobacteriaceae* menjadi pilihan yang disarankan untuk mendeteksi kontaminasi yang berasal dari lingkungan area proses produksi. Saat ini, tidak ada regulasi yang spesifik menetapkan batasan keberterimaan mikroorganisme pada sampel lingkungan oleh karenanya batasan keberterimaan ditentukan oleh industri tersebut (National dan Survey, 2006). Batasan

keberterimaan *Enterobacteriaceae* umumnya disarankan pada kisaran 10-100 CFU/100 cm² atau ditentukan berdasarkan data historis (Microbiological Specifications for *et al.*, 2011). Luas area permukaan yang di *swab* untuk proses evaluasi kebersihan setidaknya adalah 100cm² (AOAC 2012).

Residu produk dan kontaminan selain mikroorganisme merupakan sumber pertumbuhan mikroorganisme, sehingga keberadaannya menjadi fokus pada verifikasi program sanitasi peralatan produksi. Metode evaluasi yang umum digunakan yaitu metode *adenosine triphosphate* (ATP) dengan uji bioluminesensi dan metode usap protein secara semikuantitatif. Metode ATP dapat mendeteksi adanya sel hidup yang mengandung senyawa ATP dan kontaminasi lainnya (Labarca, 2014). Penelitian mengenai analisis ATP pada permukaan peralatan telah banyak dilakukan diantaranya adalah penelitian pada industri pengolahan susu dengan batasan keberterimaan < 100 RLU/100 cm² (Zacharski *et al.*, 2018), penelitian pada lingkungan restoran dengan batas keberterimaan < 100 RLU/100 cm² untuk meja kantin dan 150 – 400 RLU/100 cm² untuk peralatan memasak (Osimani *et al.*, 2014) dan penelitian pada lingkungan kebersihan rumah sakit dengan batasan keberterimaan < 250 RLU/100 cm² (Amodio dan Dino, 2014). Hasil penelitian terdahulu memiliki batasan keberterimaan yang berbeda dan belum ada regulasi untuk batas keberterimaan residu atau cemaran senyawa ATP pada permukaan peralatan produksi. Umumnya industri pangan menetapkan batas keberterimaan berdasarkan data historis.

Metode uji protein untuk mendeteksi sisa residu protein pada permukaan peralatan merupakan residu yang sulit dibersihkan sehingga dapat mencemari permukaan peralatan produksi dan menjadi sumber untuk pertumbuhan mikroba. Selain itu, deteksi protein dapat mengindikasikan kemungkinan pertumbuhan mikroorganisme seperti biofilm (Moore dan Griffith, 2002). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kinerja metode analisis mikrobiologi dengan media kromogenik *Enterobacteriaceae*, ATP dengan *bioluminescence assay* dan protein dengan metode semikuantitatif berdasarkan nilai sensitifitas dan korelasinya terhadap parameter yang diuji. Parameter yang diuji adalah untuk melakukan evaluasi kinerja metode verifikasi yaitu dengan analisis mikrobiologi, analisis ATP dan analisis protein semikuantitatif.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Petrifilm *Enterobacteriaceae count plate* (3M), *Clean-trace ATP surface test* (3M) dan *Clean-trace surface protein allergen test swab* (3M) dan *nutrient agar* (Merck). Bakteri cemaran yang digunakan adalah *Klebsiella sp.* klinis yang diperoleh dari Lab Universitas Indonesia dan *non-pathogenic Escherichia coli* (ATCC 25922), residu protein dari krimer (Rich's), pelarut yang digunakan *buffered peptone water* (3M) dan akuades.

Alat utama yang digunakan adalah *stainless steel* (Grade 314) ukuran 10 x 10 cm, Petrifilm *spreader* (3M), *Clean-trace Luminometer* (3M), *biosafety cabinet* (Esco), autoklaf (Tomy), *hot plate stirrer* (Thermo Fisher Scientific) dan inkubator (Memmert). Alat pendukung lainnya adalah jarum ose, pipet tips dan mikropipet 20 - 200 μ l (Thermo scientific), pipet tips dan mikropipet 100 - 1000 μ l (Thermo scientific), cawan petri *disposable* dan *cotton swab* steril.

Metode Pengujian

Persiapan Perangkat Penelitian

Persiapan permukaan *stainless steel*

Permukaan uji yang digunakan adalah *stainless steel* (grade 314) dengan ukuran 10x10 cm. *Stainless steel* dicuci bersih kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Swenson *et al.*, 2018).

Persiapan cemaran *Enterobacteriaceae* dan residu protein

Cemaran *Enterobacteriaceae* menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella*. Masing-masing cemaran ditumbuhkan di *nutrient agar* pada suhu 37 \pm 1 °C selama 18 jam kemudian diambil 1 *loop* dan ditransfer secara aseptis pada tabung reaksi berisi 9 ml *buffered pepton water* dan diinkubasi kembali pada suhu 37 \pm 1 °C selama 18 jam. Suspensi kemudian diencerkan sedemikian sehingga diperoleh mikroba sebanyak 10¹, 10², 10³, 10⁴, dan 10⁵ CFU/100 μ l. Residu protein disiapkan dengan menggunakan krimer dengan kandungan protein sebesar 2 %. Krimer dilarutkan dalam akuades dan diencerkan sedemikian sehingga diperoleh konsentrasi protein sebanyak 2 mg, 4 mg, 6 mg dan 8 mg (Moore dan Griffith, 2002).

Tabel 1 Kombinasi perlakuan kontaminasi artifisial

Kode Perlakuan	Perlakuan
P2	Residu protein 2 ppm
P4	Residu protein 4 ppm
P6	Residu protein 6 ppm
P8	Residu protein 8 ppm
E1	Cemaran <i>E. coli</i> 10 ¹
E2	Cemaran <i>E. coli</i> 10 ²
E3	Cemaran <i>E. coli</i> 10 ³
E4	Cemaran <i>E. coli</i> 10 ⁴
E5	Cemaran <i>E. coli</i> 10 ⁵
K1	Cemaran <i>Klebsiela</i> 10 ¹
K2	Cemaran <i>Klebsiela</i> 10 ²
K3	Cemaran <i>Klebsiela</i> 10 ³
K4	Cemaran <i>Klebsiela</i> 10 ⁴
K5	Cemaran <i>Klebsiela</i> 10 ⁵
P2E2	Residu protein 2 ppm dan cemaran <i>E.coli</i> 10 ²
P2E5	Residu protein 2 ppm dan cemaran <i>E.coli</i> 10 ⁵
P8E2	Residu protein 8 ppm dan cemaran <i>E.coli</i> 10 ²
P8E5	Residu protein 8 ppm dan cemaran <i>E.coli</i> 10 ⁵

Persiapan kontaminasi artifisial dan pengambilan sampel

Permukaan *stainless steel* steril dikontaminasi secara artifisial dengan cemaran *Enterobacteriaceae* dan atau residu protein sebanyak 100 µl dan didiamkan selama 1 jam. Sampel *swab* diambil dengan menggunakan perangkat *swab* pada setiap metode. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah metode usap (*swab*) basah dengan teknik zigzag secara horizontal kemudian vertikal dari satu sisi ke sisi lain (AOAC 2012). kombinasi perlakuan kontaminasi artifisial pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Evaluasi Kinerja Metode Media Kromogenik *Enterobacteriaceae*

Sampel *swab* diambil menggunakan *cotton swab* steril kemudian dilarutkan kedalam larutan BPW 10 ml dan dihomogenkan. Sampel *swab* ditransfer sebanyak 1 ml pada lapisan film media kromogenik *Enterobacteriaceae* dan diratakan menggunakan *spreader* hingga membentuk gel. Proses inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 ± 2 jam. Interpretasi hasil pengujian ditunjukkan dengan koloni berwarna merah hingga keunguan pada lapisan media (Silbernagel dan Lindberg, 2003).

Evaluasi kinerja metode media kromogenik EB adalah sensitifitas dan korelasi terhadap parameter yang diuji. Sensitifitas ditinjau berdasarkan kemampuan metode untuk mendeteksi sampel lingkungan terhadap batas minimum keberterimaan. Batasan keberterimaan untuk metode mikrobiologi dengan target *Enterobacteriaceae* adalah 10 - 100 CFU/100 cm² (Microbiological Specifications for *et al.*, 2011). Korelasi ditinjau berdasarkan ada atau tidaknya hubungan linier antar variabel yang terdapat pada penelitian (Gogtay dan Thatte, 2017). Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan *Microsoft Excel 2010*. Metode mikrobiologi juga dievaluasi berdasarkan pendekatan nilai *recovery* dan *relative standard deviation* (RSD). Nilai *recovery* pada penelitian ini dilakukan sebanyak 2 ulangan pada setiap perlakuan kontaminasi artifisial. Nilai *recovery* merupakan persen perolehan kembali sejumlah inokulum yang diinokulasi pada media tertentu dengan batas keberterimaan adalah 80 - 120 % (Standard, 2017). Rumus menghitung Nilai *recovery* adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{Rata - rata log}}{\text{log spike}} \times 100\%$$

Perhitungan nilai *Relative standard deviation* (RSD) dihitung menggunakan jumlah sampel yang lebih banyak yaitu total 44 sampel perlakuan kontaminasi artifisial. RSD merupakan nilai yang diukur dalam pengukuran repeatabilitas dengan nilai tidak lebih dari 0,1. Pengukuran tersebut untuk melihat kedekatan nilai hasil pengujian dengan cara replikasi atau penggandaan sampel secara homogen (AOAC 2012). Rumus menghitung nilai RSD adalah sebagai berikut:

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

Keterangan: $\log a_i - \log b_i)/x_i$ = perbedaan relatif antara hasil logaritma duplikat, dan p = nilai penetapan duplikat.

Evaluasi Kinerja Metode ATP Bioluminescence

Pengambilan sampel *swab* dengan perangkat *swab* ATP berbahan dasar dacron, perangkat yang telah di *swab* kemudian diaktifasi dengan cara ditekan bagian atas sehingga dacron bereaksi dengan cairan *luciferin/luciferase*, kemudian di homogenkan selama 3 - 5 detik dan dilakukan pembacaan pada *ATP reader*. Jumlah senyawa ATP akan muncul pada layar *ATP reader* dalam satuan *relative light unit* (RLU) (Tested, 2019).

Evaluasi metode ATP *bioluminescence* ditinjau berdasarkan sensitifitas dan korelasi terhadap parameter yang diuji. Sensitifitas ditinjau berdasarkan kemampuan metode untuk mendeteksi sampel lingkungan terhadap batas minimum keberterimaan. Batasan keberterimaan untuk metode ATP adalah <250 RLU/100 cm² (Azizkhan, 2014). Sedangkan nilai korelasi akan menunjukkan hubungan positif atau negatif yang dinyatakan dalam besarnya koefisien korelasi. Korelasi positif yaitu bila nilai suatu variabel ditingkatkan maka variabel lain juga akan meningkat (Gogtay dan Thatte, 2017). Selain itu, metode ATP *bioluminescence* juga dievaluasi berdasarkan pendekatan nilai *relative standard deviation* (RSD) dengan nilai tidak lebih dari 0,1 (AOAC 2012).

Evaluasi Kinerja Metode Semi-kuantitatif Protein

Pengujian sampel *swab* dengan metode semi-kuantitatif protein menggunakan perangkat protein *swab*, perangkat yang di *swab* kemudian diaktifasi dengan cara ditekan bagian atas sehingga dacron bereaksi dengan larutan pada perangkat, kemudian dipanaskan pada suhu 55 °C selama 15 menit. Indikator hasil yang ditunjukkan adalah perubahan warna dengan adanya reaksi biuret, warna hijau berarti bersih, abu-abu terdapat kontaminasi dan warna ungu mengartikan kontaminasi yang sangat tinggi (Courtney, 2016). Hasil pengujian metode ATP ditinjau berdasarkan sensitifitas dan korelasi terhadap parameter yang diuji. Sensitifitas ditinjau berdasarkan kemampuan metode untuk mendeteksi sampel lingkungan tersebut terhadap batas minimum keberterimaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kinerja Metode Media Kromogenik *Enterobacteriaceae*

Analisis mikrobiologi merupakan salah satu metode yang digunakan di industri pangan untuk melakukan pengujian terhadap sampel usap untuk verifikasi sanitasi permukaan peralatan produksi. Metode dengan media kromogenik *Enterobacteriaceae* merupakan metode alternatif

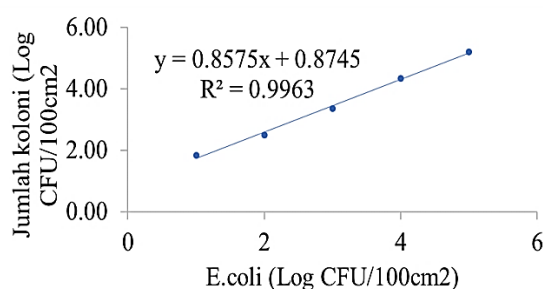
untuk analisis mikrobiologi dengan target *Enterobacteriaceae*, cemaran *E.coli* dan *Klebsiella* merupakan keluarga *Enterobacteriaceae* sebagai target mikroorganisme pada proses sanitasi. Hasil pengujian permukaan SS yang dikontaminasi secara artifisial dengan konsentrasi cemaran *Enterobacteriaceae* terendah sebesar 1 log CFU/100 cm² dengan cemaran *E.coli* (E1) memiliki rata-rata hasil sebesar 1,83±0,10 log CFU/100 cm² dan cemaran *Klebsiella* (K1) sebesar 1,63±0,07 log CFU/100 cm² (Tabel 2).

Hasil ini menunjukkan bahwa metode dengan media kromogenik *Enterobacteriaceae* dapat mendeteksi *Enterobacteriaceae* dibawah batas keberterimaan, yaitu pada konsentrasi < 2 log CFU/100 cm² yang ditetapkan untuk deteksi *Enterobacteriaceae* dengan analisis mikrobiologi. Analisis pada konsentrasi cemaran *E.coli* (E) sebesar 2 - 5 log CFU/100 cm² menghasilkan rata-rata 2,43 - 5,21 log CFU/100 cm², sedangkan cemaran *Klebsiella* (K) sebesar 2 - 5 log CFU/100 cm² memberikan hasil 2,53 - 5,30 log CFU/100 cm². Data tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi cemaran maka hasil analisis memberikan hasil yang tinggi pula. Berdasarkan ICMSF (2011), batas keberterimaan cemaran *Enterobacteriaceae* pada permukaan peralatan adalah ≤ 100 CFU/100 cm² atau ≤ 2 log CFU/100 cm².

Tabel 1 Nilai rata-rata dan RSD metode mikrobiologi

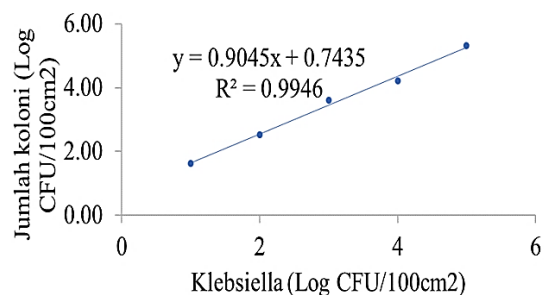
Kode perlakuan	Media Kromogenik <i>Enterobacteriaceae</i>		RSD (%) Media VRBA
	Rata-rata Log CFU/100cm ²	RSD (%)	
E1	1,83±0,10	4,05	4,30
E2	2,43±0,21		
E3	3,36±0,25		
E4	4,18±0,39		
E5	5,21±0,26		
K1	1,63±0,07	4,45	6,54
K2	2,53±0,07		
K3	3,60±0,23		
K4	4,21±0,12		
K5	5,30±0,09		
P2E2	2,46±0,19	5,44	4,85
P8E2	3,04±1,71		
P2E4	4,78±0,70		
P8E4	4,64±0,81		

Analisis pada kombinasi perlakuan residu protein konsentrasi rendah dengan cemaran *E.coli* konsentrasi tinggi (P2E4) menunjukkan rata-rata hasil sebesar $4,78 \pm 0,70$ log CFU/100 cm², sedangkan pada perlakuan P8E4 menunjukkan rata-rata hasil sebesar $4,64 \pm 0,81$ log CFU/100 cm² (Tabel 2). Hasil pengujian pada P8E2 menunjukkan rata-rata hasil sebesar $3,04 \pm 1,71$ log CFU/100 cm² yakni lebih tinggi dari konsentrasi *E.coli* yang diinokulasi secara artifisial pada permukaan yang diuji. Kombinasi perlakuan P2E2 menunjukkan nilai cemaran *Enterobacteriaceae* memiliki nilai rata-rata $2,46 \pm 0,19$ log CFU/100 cm² setara dengan kontaminan yang diinokulasi. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh kompleksitas kontaminan pada permukaan yang diusap berpengaruh terhadap efisiensi pelepasan bakteri pada kapas usap ke larutan pengencer dan teknik pengambilan sampel yang dilakukan.



Gambar 1 Korelasi jumlah koloni pada media kromogenik *Enterobacteriaceae* dengan cemaran *E.coli*

Hasil analisis media kromogenik *Enterobacteriaceae* menunjukkan nilai berkorelasi positif yaitu cemaran *E.coli* ($R^2 = 0,9963$) (Gambar 1), cemaran *Klebsiella* ($R^2 = 0,9946$) (Gambar 2). Nilai korelasi tersebut menunjukkan adanya hubungan yang linier antara variabel jumlah cemaran *Enterobacteriaceae* yang dikontaminasi secara artifisial dengan jumlah koloni yang diperoleh dengan hasil analisis media kromogenik *Enterobacteriaceae*. Kombinasi perlakuan antara residu protein dengan cemaran *E.coli* menunjukkan nilai berkorelasi positif ($R^2 = 0,9748$). Nilai korelasi tersebut lebih kecil dibandingkan dengan korelasi dengan cemaran *Enterobacteriaceae*, akan tetapi masih dikatakan memiliki hubungan yang linier. Semakin tinggi konsentrasi cemaran *Enterobacteriaceae* yang diinokulasi maka akan semakin tinggi pula hasil analisa yang diperoleh pada media kromogenik *Enterobacteriaceae* (Tabel 2).



Gambar 2 Korelasi jumlah koloni pada media kromogenik *Enterobacteriaceae* dengan cemaran *Klebsiella*

Nilai RSD yang diperoleh pada metode kromogenik *Enterobacteriaceae* menunjukkan nilai yang memenuhi kualifikasi parameter presisi atau RSD yaitu cemaran *E.coli* (4,05%), cemaran *Klebsiella* (4,45%) dan perlakuan kombinasi campuran cemaran *E.coli* dan residu protein (5,44%) sedangkan pada media VRBA yaitu cemaran *E.coli* (4,30%), cemaran *Klebsiella* (6,54%) dan perlakuan kombinasi campuran cemaran *E.coli* dan residu protein (4,85%) (Tabel 2). Nilai RSD tersebut menunjukkan bahwa pengulangan pengujian pada perlakuan yang sama memiliki nilai yang berdekatan atau presisi. Oleh karena itu, metode dengan media kromogenik *Enterobacteriaceae* memenuhi kualifikasi sebagai metode alternatif mikrobiologi untuk menguji sampel permukaan peralatan produksi. Metode uji yang baik adalah metode yang mampu menghasilkan nilai yang presisi, akurat linier dan stabil untuk menghitung jumlah kontaminan dari sampel yang diuji (Rubashvili *et al.*, 2015).

Hasil evaluasi media kromogenik *Enterobacteriaceae* berdasarkan persentase *recovery* dengan cemaran *Enterobacteriaceae* menunjukkan hasil yang memenuhi kualifikasi parameter akurasi dengan rentang 80 hingga 120 %, yaitu cemaran *E.coli* (99,64 %) dan cemaran *Klebsiella* (99,25 %), sedangkan pada media VRBA yaitu cemaran *E.coli* (99,37 %) dan cemaran *Klebsiella* (100,26 %) (Tabel 3). Persentase tersebut menunjukkan nilai perolehan kembali yang dikontaminasi pada SS dengan media kromogenik *Enterobacteriaceae*. Penelitian serupa dihasilkan nilai % *recovery* cemaran *E.coli* pada permukaan *stainless steel* adalah 90,1 % dengan menggunakan kapas usap dengan teknik usap basah (Keeratipibul *et al.*, 2017).

Tabel 2 Persentase (%) *recovery* metode mikrobiologi

Kode perlakuan	Media kromogenik	Media VRBA
E1	98,27	95,30
E2	101,36	100,80
E3	100,59	100,63
E4	98,99	99,79
E5	98,97	100,35
Total	99,64	99,37
K1	96,56	101,78
K2	100,81	100,19
K3	100,67	100,83
K4	98,11	98,83
K5	100,11	99,68
Total	99,25	100,26

Tabel 3 Kinerja metode ATP bioluminesensi

Kode perlakuan	Rata-rata RLU/100cm ²	RSD (%)
Kontrol	21±3,10	15,18
P2	51±36,49	11,13
P4	77±21,75	
P6	126±31,92	
P8	256±46,98	
E1	304±23,54	9,41
E2	661±162,23	
E3	656±119,12	
E4	732±134,45	
E5	924±67,91	
K1	355±31,48	7,87
K2	571±48,67	
K3	630±99,50	
K4	807±56,89	
K5	869±44,87	
P2E2	717±112,92	7,93
P8E2	615±96,91	
P2E4	744±185,91	
P8E4	858±84,51	

Kinerja Metode ATP Bioluminesensi

Analisis dengan ATP bioluminesensi merupakan salah satu metode alternatif dengan hasil cepat yang digunakan di industri pangan untuk melakukan pengujian terhadap sampel usap permukaan peralatan produksi. Metode ATP dengan bioluminesensi ini menggunakan alat pembaca yang mendeteksi total ATP dengan satuan unit *Relative Light Unit* (RLU) berdasarkan banyaknya senyawa ATP yang bereaksi dengan

luciferin/luciferase pada kit yang dapat menghasilkan cahaya kemudian dibaca oleh alat pembaca. Hasil uji metode ATP bioluminesensi pada permukaan SS tanpa perlakuan kontaminasi (kontrol) memiliki rata-rata hasil 21±3,10 RLU/100 cm². Perlakuan kontaminasi residu protein (P) pada konsentrasi 2 ppm (51±36,49 RLU/100 cm²) dan 4 ppm (77±21,75 RLU/100 cm²) memiliki nilai RLU yang tidak jauh berbeda, sedangkan lonjakan nilai RLU terlihat pada

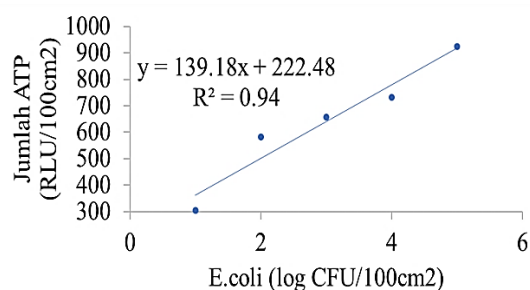
konsentrasi protein 6 ppm ($126 \pm 31,92$ RLU/100 cm^2) (Tabel 4).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ATP bioluminesensi mampu mendeteksi senyawa ATP yang berasal dari protein dengan konsentrasi yang tinggi. Data ini selaras dengan penelitian Moore and Griffith (2002) kemampuan metode ATP mampu mendeteksi protein pada konsentrasi yang tinggi. Hasil analisis juga menunjukkan perlakuan residu protein 8 ppm memiliki rata-rata hasil yaitu $256 \pm 46,98$ RLU/100 cm^2 dimana nilai tersebut diatas batasan keberterimaan senyawa ATP pada permukaan peralatan produksi yaitu sebesar <250 RLU/100 cm^2 . Perlakuan kontaminasi dengan cemaran *E.coli* dan *Klebsiella* dengan konsentrasi 1 log CFU/100 cm^2 memiliki rata-rata hasil cemaran *E.coli* ($304 \pm 23,54$ RLU/100 cm^2) dan cemaran *Klebsiella* ($355 \pm 31,48$ RLU/100 cm^2) (Tabel 4). Data tersebut menunjukkan bahwa 1 log cemaran *Enterobacteriaceae* memiliki nilai kisaran 300 RLU/100 cm^2 dimana nilai tersebut diatas batas keberterimaan senyawa ATP pada permukaan peralatan. Hasil penelitian ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Cholewinska *et al.* (2014), bahwa cemaran dengan konsentrasi 1 – 2,5 log CFU/100 cm^2 memiliki nilai ATP berkisar 46 - 8500 RLU/100 cm^2 .

Analisis kombinasi perlakuan residu protein konsentrasi rendah dengan cemaran *E.coli* konsentrasi rendah (P2E2) menunjukkan rata-rata hasil yaitu $717 \pm 112,92$ log CFU/100 cm^2 , perlakuan P8E2 yaitu $615 \pm 96,91$ log CFU/100 cm^2 , perlakuan P2E4 yaitu $744 \pm 185,91$ log CFU/100 cm^2 , perlakuan P8E4 yaitu $858 \pm 84,51$ log CFU/100 cm^2 (Tabel 4). Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa kombinasi perlakuan tersebut menghasilkan nilai RLU yang tidak berbeda jauh antar perlakuan. Nilai RLU bergantung pada jumlah ATP yang terdapat pada sel hidup yang terdapat pada permukaan uji. Jumlah ATP pada sel bervariasi pada residu dan mikroba bergantung pada ukuran sel (Roberts *et al.*, 2019).

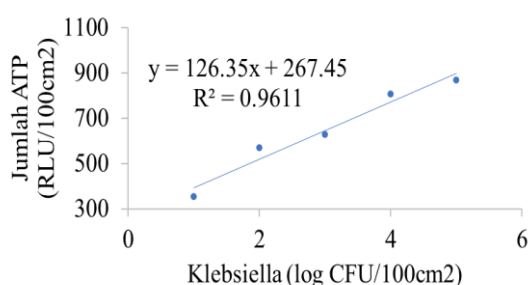
Hasil analisis ATP bioluminesensi menunjukkan nilai yang berkorelasi positif dengan cemaran *Enterobacteriaceae* yang diinokulasi yaitu cemaran *E.coli* ($R^2 = 0,94$) (Gambar 3) dan cemaran *Klebsiella* ($R^2 = 0,9611$) (Gambar 4). Peningkatan konsentrasi cemaran *Enterobacteriaceae* menghasilkan nilai RLU yang semakin tinggi pada alat pembaca. Korelasi pada metode ATP bioluminesensi selaras dengan hasil pada metode kromogenik *Enterobacteriaceae*,

semakin tinggi konsentrasi cemaran *Enterobacteriaceae* maka jumlah koloni maupun senyawa ATP juga akan semakin tinggi dan menunjukkan nilai korelasi yang positif. Menurut Lindell (2015), metode analisis ATP bioluminesensi dengan cemaran mikroorganisme memiliki nilai korelasi yaitu 0,83. Selain itu penelitian Azizkhan (2014) menunjukkan nilai korelasi metode ATP dengan cemaran *Aerobic plate Count* memiliki range korelasi antara 0,72 – 0,99.



Gambar 3 Korelasi jumlah ATP pada metode ATP bioluminesensi dengan cemaran *E.coli*

Nilai korelasi pada perlakuan residu protein ($R^2 = 0,8831$) (Gambar 5) nilai korelasi tersebut lebih rendah dibandingkan nilai korelasi pada perlakuan cemaran *Enterobacteriaceae* dengan metode ATP bioluminesensi. Korelasi tersebut ditunjukkan dengan hasil analisis pada konsentrasi residu protein 2 dan 4 ppm yang memiliki nilai berdekatan sedangkan mengalami lonjakan nilai RLU pada konsentrasi 8 ppm (Tabel 4). Hasil analisis antara metode ATP bioluminesensi dengan kombinasi perlakuan residu protein dan cemaran *E.coli* menunjukkan korelasi yang tidak erat ($R^2 = 0,7628$). Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan jumlah ATP pada residu protein dan cemaran *E.coli*. Oleh karena itu, metode ATP tidak dapat menggambarkan salah satu cemaran yang mungkin terdapat pada permukaan uji.

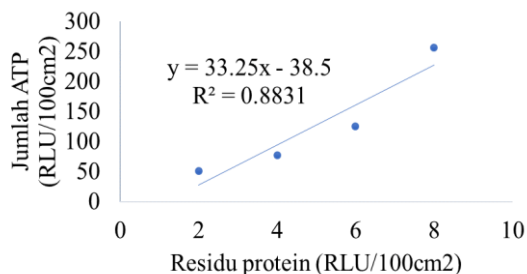


Gambar 4 Korelasi jumlah ATP pada metode ATP bioluminesensi dengan cemaran *Klebsiella*

Tabel 4 Kinerja Metode Protein Semikuantitatif

Kode perlakuan	Perubahan warna (per 100cm ²)	Interpretasi hasil
Kontrol	Hijau	Negatif Protein
P2	Hijau	Negatif Protein
P4	Ungu Muda	Positif Protein
P6	Ungu Tua	Positif Protein
P8	Ungu Tua	Positif Protein

Nilai RSD yang diperoleh pada metode ATP bioluminesensi menunjukkan nilai yang memenuhi kualifikasi parameter presisi atau RSD pada perlakuan cemaran *E.coli* (9,41 %), cemaran *Klebsiella* (7,87 %) dan kombinasi campuran cemaran *E.coli* dan residu protein (7,93 %) (Tabel 2). Akan tetapi, nilai RSD pada parameter residu protein tidak memenuhi kualifikasi (11,13) diatas batas keberterimaan nilai RSD yaitu < 10 %. Hasil analisis pada pengulangan sampel dengan residu protein tidak memiliki presisi yang baik, hal ini ditunjukkan dengan nilai RLU pada residu protein 2 ppm dan 4 ppm yang dikontaminasi secara artifisial yang tidak berdekatan sedangkan pada residu protein 6 ppm dan 8 ppm menunjukkan nilai RLU yang semakin meningkat (Tabel 4).



Gambar 5 Korelasi jumlah ATP pada metode ATP bioluminesensi dengan residu protein

Kinerja Metode Semikuantitatif Protein

Analisis dengan metode protein semikuantitatif merupakan salah satu metode alternatif dengan hasil cepat yang digunakan di industri pangan untuk melakukan pengujian terhadap sampel usap permukaan peralatan produksi. Metode ini berfokus pada residu protein yang terdapat pada permukaan peralatan produksi. Protein merupakan bahan organik di permukaan yang dapat bertindak sebagai sumber makanan bagi mikroorganisme, sehingga memberikan peluang bakteri berkembang biak atau tumbuh. Verifikasi pada residu protein dapat meningkatkan evaluasi terhadap proses sanitasi yang dilakukan

secara keseluruhan. Alat pengujian untuk menganalisis residu protein pada penelitian ini menggunakan prinsip semikuantitatif dengan perubahan warna pada reagen dengan skala warna yaitu hijau, abu-abu, ungu muda dan ungu tua yang membedakan dari jumlah konsentrasi protein pada sampel yang diuji, semakin tinggi konsentrasi protein maka warna reagen semakin pekat. Limit deteksi pada perangkat uji protein semikuantitatif adalah 3 ppm dengan perubahan warna yang akan terjadi adalah hijau (residu protein dibawah 3 ppm), abu-abu (tingkat kontaminasi rendah), ungu muda (tingkat kontaminasi sedang) dan ungu tua (tingkat kontaminasi tinggi) (Courtney, 2016).

Hasil analisis pada sampel usap kontrol dan konsentrasi residu protein sebanyak 2 ppm menghasilkan warna reagen pada perangkat menjadi hijau artinya permukaan sampel bebas dari residu protein. Konsentrasi residu protein 4 ppm pada permukaan SS menghasilkan ungu muda pada reagen yang artinya terdapat kontaminasi protein pada permukaan. Perlakuan SS dengan konsentrasi residu protein sebanyak 6 ppm dan 8 ppm mengubah warna reagen menjadi ungu tua yang artinya terdapat kontaminasi protein dalam jumlah yang tinggi (Tabel 5). Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa residu protein dengan konsentrasi 2 ppm pada permukaan SS tidak terdeteksi oleh metode semikuantitatif protein, akan tetapi pada konsentrasi residu protein 4 ppm terdapat perubahan warna reagen menjadi warna ungu muda yang menandakan adanya kontaminasi protein pada sampel.

KESIMPULAN

Ketiga metode tersebut menunjukkan kinerja yang memenuhi kualifikasi yakni sensitifitas, korelasi dan parameter verifikasi. Metode kromogenik *Enterobacteriaceae* dan ATP bioluminesensi dapat mendeteksi pada konsentrasi terendah 1 log CFU/100 cm² dan berkorelasi

positif antara jumlah yang dihasilkan dan konsentrasi kontaminan yang ditambahkan. Metode kromogenik *Enterobacteriaceae* juga memenuhi kualifikasi parameter verifikasi yakni nilai RSD dengan cemaran *E.coli*, *klebsiella* dan kombinasi residu protein dan cemaran *E.coli* berturut-turut 4,05 %, 4,45 % dan 5,44 %, sedangkan untuk persen *recovery* dengan *e.coli* dan *klebsiella* adalah 99,64 % dan 99,25 %.

Metode ATP bioluminesensi menunjukkan korelasi yang positif antara jumlah ATP yang dihasilkan dan konsentrasi cemaran *E.coli*, *klebsiella* dan kombinasi residu protein dan cemaran *E.coli* berturut-turut 0,94; 0,9611; dan 0,8831. Akan tetapi jumlah ATP tidak berkorelasi positif dengan kombinasi perlakuan residu protein dan cemaran *E.coli* 0,0279. Nilai RSD dengan cemaran *E.coli*, *klebsiella* dan kombinasi residu protein dan cemaran *E.coli* berturut-turut 9,41 %, 7,87 % dan 7,93 %. Metode protein menunjukkan perubahan warna reagen ungu muda pada residu 4 ppm, sedangkan pada residu 2 ppm menunjukkan warna hijau yaitu negatif protein.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada PT 3M Indonesia atas dukungan selama proses penelitian hingga penyusunan jurnal ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amodio, E., Dino, C. 2014. Use of ATP bioluminescence for assessing the cleanliness of hospital surfaces: A review of the published literature (1990-2012). *Journal of Infection and Public Health*, 7(2), 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2013.09.005>
- AOAC. 2012. Appendix J: AOAC INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Microbiological Methods for Food and Environmental Surfaces. *Aoac Official Methods of Analysis*, 1–21.
- Asgharian, R., Hamedani, F.M., Heydari, A. 2014. Step by Step How to Do Cleaning Validation © Sakun Publishing House (SPH): IJPLS. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 5(3), 3345–3366. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Courtney, R.C. 2016. *Evaluation of Qualitative Food Allergen Detection Methods and Cleaning Validation Approaches*. Thesis. Lincoln (US): Nebraska University
- Garthwaite, I., Chowdhury, R., Quindere, J., Stitt, V., Hutchison, V. (n.d.). *Development and validation of a simple swab for the rapid detection of potential food allergen residues on processing equipment*. 61(0), 9453.
- Gogtay, N.J., Thatte, U.M. 2017. Principles of correlation analysis. *Journal of Association of Physicians of India*, 65(MARCH), 78–81.
- Keeratipibul, S., Laovittayanurak, T., Pornruangsarp, O., Chaturongkasumrit, Y., Takahashi, H., Techaruvichit, P. 2017. Effect of swabbing techniques on the efficiency of bacterial recovery from food contact surfaces. *Food Control*, 77, 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.013>
- Labarca, J.A. 2014. Assessment of hospital daily cleaning practices using ATP bioluminescence in a developing country. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases: An Official Publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, 18(6), 675–677. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2014.06.008>
- Lindell, I.C. 2015. *ATP bioluminescence to establish a test procedure for hygiene testing of liners and tubes on farm level An investigation of the effect of ageing on the hygienic status of rubber liners and tubes*. Thesis. Uppsala (Swedia): Swedish University of Agricultural Science
- Azizkhan, Z.M. 2014. Comparison between ATP Bioluminescence Technique and Traditional Microbiological Method to Detect Contamination within Food Facilities in Saudi Arabia (Jiddah). *Public Health Frontier*, 3, 11–18. <https://doi.org/10.5963/phf0301003>
- Microbiological Specifications for, I. C. on, dan Swanson, K. M. 2011. Sugar, Syrups and Honey. In *Microorganisms in Foods 8*. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-9374-8_19
- Moore, Ginny, dan Griffith, C. 2002. A comparison of traditional and recently developed methods for monitoring surface hygiene within the food industry: An industry trial. *International Journal of Environmental Health Research*, 12(4),

- 317–329. <https://doi.org/10.1080/0960312021000056429>
- National, T., Survey, M. 2006. Examination of the Microbiological Status of Food Preparation Surfaces. *3 Rd Trimester National Microbiological Survey 2006 (06NS3), 2006*, 29. https://www.fsai.ie/uploadedfiles/food_prep_surfaces.pdf
- Osimani, A., Garofalo, C., Clementi, F., Tavoletti, S., Aquilanti, L. 2014. Bioluminescence ATP monitoring for the routine assessment of food contact surface cleanliness in a university canteen. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(10), 10824–10837. <https://doi.org/10.3390/ijerph111010824>
- Rubashvili, I., Karukhnishvili, N., Loria, K., Dvali, N. 2015. Validation of Swab Sampling and HPLC Methods for Determination of Meloxicam Residues on Pharmaceutical Manufacturing Equipment Surfaces for Cleaning Validation. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 12(3), 40–52. <https://doi.org/10.5505/tjps.2015.43531>
- Silbernagel, K.M., Lindberg, K.G. 2003. 3M™ Petrifilm™ Enterobacteriaceae Count Plate Method for Enumeration of Enterobacteriaceae in Selected Foods: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 86(4), 802–814. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.4.802>
- Standard, C.D. 2017. *Dansk standard Mikrobiologiske undersøgelser i fødevarekæden – Metodevalidering – Del 2: Protokol til validering af alternative (ophavsretlige) metoder ved hjælp af en referencemetode Microbiology of the food chain – Method validation – Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method.*
- Swenson, V.A., Stacy, A.D., Gaylor, M. O., Ushijima, B., Philmus, B., Cozy, L.M., Videau, N.M., Videau, P. 2018. Assessment and verification of commercially available pressure cookers for laboratory sterilization. *PLoS ONE*, 13(12), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208769>
- Sygula, J., Tomasz, L., Szostak, J., Blykal, B., Sawoszczuk. 2014. ATP Bioluminescence Method in Surface Hygiene Monitoring. *Krakow*, 2(1), 12. https://www.researchgate.net/publication/270283798_ATP_BIOLUMINESCENCE_METHOD_IN_SURFACE_HYGIENE_MONITORING
- Tested, P. 2019. *CERTIFICATION Clean - Trace Hygiene Monitoring and Management System.*
- Zacharski, K.A., Southern, M., Ryan, A., Adley, C.C. 2018. Evaluation of an environmental monitoring program for the microbial safety of air and surfaces in a dairy plant environment. *Journal of Food Protection*, 81(7), 1108–1116. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-464>

AUTHOR GUIDELINES

Term and Condition

1. Types of paper are original research or review paper that relevant to our Focus and Scope and never or in the process of being published in any national or international journal
2. Paper is written in good Indonesian or English
3. Paper must be submitted to <http://journal.trunojoyo.ac.id/agrointek/index> and journal template could be download here.
4. Paper should not exceed 15 printed pages (1.5 spaces) including figure(s) and table(s)

Article Structure

1. Please ensure that the e-mail address is given, up to date and available for communication by the corresponding author
2. Article structure for original research contains

Title, The purpose of a title is to grab the attention of your readers and help them decide if your work is relevant to them. Title should be concise no more than 15 words. Indicate clearly the difference of your work with previous studies.

Abstract, The abstract is a condensed version of an article, and contains important points of introduction, methods, results, and conclusions. It should reflect clearly the content of the article. There is no reference permitted in the abstract, and abbreviation preferably be avoided. Should abbreviation is used, it has to be defined in its first appearance in the abstract.

Keywords, Keywords should contain minimum of 3 and maximum of 6 words, separated by semicolon. Keywords should be able to aid searching for the article.

Introduction, Introduction should include sufficient background, goals of the work, and statement on the unique contribution of the article in the field. Following questions should be addressed in the introduction: Why the topic is new and important? What has been done previously? How result of the research contribute to new understanding to the field? The introduction should be concise, no more than one or two pages, and written in present tense.

Material and methods, “This section mentions in detail material and methods used to solve the problem, or prove or disprove the hypothesis. It may contain all the terminology and the notations used, and develop the equations used for reaching a solution. It should allow a reader to replicate the work”

Result and discussion, “This section shows the facts collected from the work to show new solution to the problem. Tables and figures should be clear and concise to illustrate the findings. Discussion explains significance of the results.”

Conclusions, “Conclusion expresses summary of findings, and provides answer to the goals of the work. Conclusion should not repeat the discussion.”

Acknowledgment, Acknowledgement consists funding body, and list of people who help with language, proof reading, statistical processing, etc.

References, We suggest authors to use citation manager such as Mendeley to comply with Ecology style. References are at least 10 sources. Ratio of primary and secondary sources (definition of primary and secondary sources) should be minimum 80:20.

Journals

Adam, M., Corbeels, M., Leffelaar, P.A., Van Keulen, H., Wery, J., Ewert, F., 2012. Building crop models within different crop modelling frameworks. *Agric. Syst.* 113, 57–63. doi:10.1016/j.agsy.2012.07.010

Arifin, M.Z., Probawati, B.D., Hastuti, S., 2015. Applications of Queuing Theory in the Tobacco Supply. *Agric. Sci. Procedia* 3, 255–261. doi:10.1016/j.aaspro.2015.01.049

Books

Agrios, G., 2005. *Plant Pathology*, 5th ed. Academic Press, London.