

Akurasi Perhitungan Bakteri pada Daging Sapi Menggunakan Metode Hitung Cawan

(Calculation Accuracy of Bacterical in Beef Meat Using Total Plate Count Method)

Endang Soesetyaningsih, Azizah*)

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

Jl. Kalimantan 37 Jember 68121

*)Penulis Korespondensi E-mail: azizah.bafared@gmail.com

Abstrak

Daging sapi merupakan salah satu bahan makanan yang mengandung protein tinggi dan termasuk media yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah bakteri pada daging sapi yaitu metode hitung cawan. Beberapa cara yang dapat dilakukan pada metode hitung cawan yaitu metode *pour plate*, *spread plate*, dan *drop plate*. Penggunaan cara hitung cawan yang berbeda serta larutan pengencer yang berbeda menyebabkan hasil perhitungan yang berbeda juga. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui perbedaan cara preparasi sampel serta larutan pengencer yang digunakan terhadap hasil hitung cawan bakteri pada sampel daging sapi. Metode hitung cawan yang digunakan pada penelitian ini yaitu *pour plate*, *spread plate*, dan *drop plate* dengan 3 jenis pelarut yaitu akuades steril, garam fisiologis 0,85% dan larutan *Buffer Peptone Water* (BPW) yang ditambahkan 1,25% Na Sitrat. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa cara preparasi sampel daging sapi yang lebih efisien yaitu dengan cara dihaluskan ditunjukkan dengan hasil hitung cawan yaitu 10^6 CFU/gram dan hasil hitung tidak bervariasi dibandingkan daging sapi yang dipotong (10^5 CFU/gram) dengan hasil hitung yang bervariasi. Hasil analisis data menunjukkan bahwa penggunaan cara preparasi sampel yang berbeda berpengaruh pada hasil perhitungan jumlah koloni disetiap metode hitung cawan. Larutan *buffer peptone water* dan garam fisiologis 0,85% merupakan larutan pengencer yang lebih baik dibandingkan dengan larutan akuades. Hal ini ditunjukkan dengan hasil hitung yang tidak bervariasi disetiap metode hitung cawan yang digunakan. Berdasarkan hasil hitung yang didapatkan, larutan *buffer peptone water* menghasilkan hasil perhitungan jumlah koloni terbesar.

Kata Kunci: akurasi, metode hitung cawan, bakteri, daging sapi.

Abstract

Beef meat is one of the food that contain high protein and also good media for the growth of microorganism such as bacteria. One of the method that can be used to count the number of bacteria in beef meat is plate count method. Some ways that can be done on plate count method are pour plate, spread plate and drop plate methods. The use of different methods and diluent solutions can causes different calculation results. The aim of this research is to determine differences preparations sample as well as the diluent solutions used against the results of bacterial count plates in beef meat samples. The plate count methods used in this study were pour plate, spread plate and drop plate with 3 types of solvent namely aquades, physiological salt (NaCl) 0,85% and Buffer Peptone Water (BPW) solution added 1,25% Na citrate. Based on the results showed that an efficient preparation beef samples is by blending showed the result of calculation is 10^6 CFU/g and did not varied compared to beef cut (10^5 CFU/g) with count result varied. Data analysis showed that different preparations sample affected the results of the colonies calculation in each plate count method. Buffered peptone water solution and NaCl 0,85% is better diluent solutions than steril aquades. This indicated by count result that did not vary in each plate count method used. Buffered peptone water solution is the diluent that results largest colony calculation.

Keywords: accuracy, plate count method, bacteria, beef meat.

PENDAHULUAN

Bahan makanan terdiri dari protein, karbohidrat, lemak, vitamin, dan mineral. Salah satu bahan makanan yang mengandung protein tinggi yang yaitu daging [1]. Daging merupakan sumber protein, asam lemak esensial, mineral, dan vitamin yang baik namun mudah rusak. Hal ini dikarenakan daging juga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan beberapa jenis mikroba [2, 3, 4].

Mikroba yang terdapat pada daging dapat menguntungkan maupun merugikan bagi manusia. Beberapa mikroba pada daging dapat bersifat patogen dan menyebabkan penyakit bagi manusia. Beberapa bakteri

patogen penyebab penyakit yang adapada daging yaitu *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichiacoli*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringes*, *Yersinia enterocolitica* dan *Aeromonashydrophila* [5]. Pada penelitian Jarallah *et al.*, [6] ditemukan beberapa jenis bakteri patogen pada hasil isolasi sampel daging yang digunakan, yaitu 40 % bakteri *E. coli* dan 29 % *S. aureus*.

Salah satu bahan makanan yang mudah terkontaminasi oleh mikroba adalah daging sapi. Adanya kontaminasi mikroba pada daging sapi dapat mengakibatkan penurunan kualitas daging tersebut [4]. Kualitas daging yang menurun

ditunjukkan dengan perubahan warna, kadar pH yang tidak normal, perubahan rasa dan aroma dari daging tersebut [7]. Keberadaan mikroba pada daging segar memiliki batasan maksimum tertentu yaitu untuk bakteri *E. coli* memiliki batasan sebesar 1×10^1 koloni/g, *Salmonella* sp. negatif/25 g, *S. aureus* 1×10^2 koloni/g, dan untuk *Campylobacter* sp. negatif/25 g [8]. Oleh karena itu keberadaan dan jumlah mikroba pada suatu bahan makanan perlu diketahui sehingga dapat diketahui pula kualitas dan taraf mutu bahan makanan tersebut.

Salah satu metode yang dapat dilakukan untuk menghitung jumlah mikrobadalam suatu bahan makan salah satunya yaitu dengan mengukur jumlah sel yang ada menggunakan metode hitung cawan (*Total Plate Count*) [9]. Metode hitung cawan merupakan metode enumerasi yang sudah lama dan banyak digunakan dalam bidang mikrobiologi pangan untuk memperkirakan jumlah mikroorganisme yang ada pada suatu sampel bahan makan dengan asumsi bahwa mikroorganisme yang ada terdistribusi secara homogen di dalam makan [10,11].

Metode hitung cawan memiliki beberapa kelebihan diantaranya yaitu kapasitas untuk menghitung jumlah bakteri jika terlalu banyak ataupun jika terlalu sedikit dapat menggunakan faktor pengenceran. Selain itu, metode hitung cawan ini hanya menghitung bakteri yang layak dihitung tidak termasuk bakteri mati ataupun puing-puing yang ada pada media pertumbuhan. Namun, metode ini juga memiliki kekurangan yaitu perhitungan kumpulan sel bakteri dapat salah dihitung sebagai koloni tunggal sehingga dilaporkan sebagai CFU/mL daripada sel/mL. Selain itu metode ini membutuhkan waktu yang lama karena hasil hitung cawan ini biasanya diperoleh setelah 1-3 hari [12].

Metode hitung cawan dibedakan menjadi beberapa cara yaitu metode tuang (*pour plate*), metode sebaran (*spread plate*), dan metode *drop plate*. Metode hitung cawan termasuk metode yang digunakan untuk penanaman bakteri dengan menggunakan media padat, yang prinsip kerjanya berdasarkan pembuatan seri pengenceran (homogenisasi) sampel dengan kelipatan 10 [13]. Hasil perhitungan dengan menggunakan hitung cawan ini dalam bentuk *Colony forming unit* (CFU). CFU ini menunjukkan jumlah koloni yang tumbuh tiap gram atau mililiter sampel yang dihitung dari jumlah cawan, faktor pengenceran, dan volume yang digunakan [10,11].

Penggunaan metode yang berbeda serta larutan dimungkinkan mempengaruhi hasil hitung cawan yang dilakukan. Selain itu, penggunaan larutan pengencer yang berbeda dimungkinkan juga dapat mempengaruhi hasil hitung cawan. Beberapa larutan pengencer yang umum digunakan dalam melakukan hitung cawan bakteri yaitu akuades, garam fisiologis 0,85% dan *Buffer Peptone Water* (BPW). Selain penggunaan larutan dan metode yang berbeda, cara preparasi sampel yang digunakan seperti diiris ataupun diblender dimungkinkan juga akan berpengaruh pada hasil hitung cawan.

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan metode hitung cawan dan larutan pengencer serta metode preparasi pada hasil hitung cawan bakteri pada sampel bahan makanan terutama daging sapi. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh

perbedaan cara preparasi sampel (dipotong dan diblender) serta larutan pengencer yang digunakan terhadap hasil hitung cawan bakteri pada sampel daging sapi.

METODE PENELITIAN

A. Preparasi sampel daging

Pada penelitian ini sampel daging yang digunakan yaitu daging sapi dengan dua cara preparasi yaitu dipotong dan dihaluskan

1. Sampel daging yang dipotong

Sampel daging 25 gr dipotong kecil-kecil berbentuk dadu dengan ukuran 1 cm^3 dan dilakukan secara aseptis. Setelah itu dimasukanlarutan pengencer yang digunakan sebanyak 225 ml pada Erlenmeyer 500 ml, kemudian dishaker kurang lebih 15 menit pada 100 rpm dan selanjutnya divortex. Lakukan seri pengenceran hingga 10^{-6} pada sampel tersebut dari setiap larutan pengencer yang digunakan;

2. Sampel daging yang dihaluskan

Sampel daging 25 gr diblender bersamaan dengan 225 ml larutan pengencer. Setelah itu dilakukan seri pengenceran hingga 10^{-6} pada sampel. Inokulasi sampel pada media pada setia metode hitung cawan dilakukan sama seperti pada sampel daging yang dipotong.

B. Uji *Total Plate Count* pada sampel daging

Pengujian sampel daging dilakukan berdasarkan uji *Total Plate Count* (TPC) dengan menggunakan tiga metode yaitu metode *pour plate*, *spread plate*, dan *drop plate*.

1. Pada metode hitung cawan menggunakan metode *pour plate* dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel (semua seri pengenceran) dan dituangkan ke dalam cawan petri steril. Kemudian tuangkan 10 ml media PCA ke dalam cawan petri tersebut. Setelah itu media diratakan dengan menggoyangkan cawan petri dan diinkubasi pada suhu 20°C selama 24 hingga 48 jam;

2. Metode *spread plate* dilakukan dengan menginokulasikan $100 \mu\text{l}$ sampel (semua seri pengenceran) pada 10 ml media PCA yang telah dituangkan pada cawan petri. Setelah itu diratakan dengan menggunakan batang kaca bengkok. Kemudian diinkubasi pada suhu 20°C selama 24 hingga 48 jam;

3. Metode *drop plate* dilakukan dengan menginokulasikan $10 \mu\text{l}$ sampel (semua seri pengenceran) ke dalam 10 ml media PCA pada cawan petri. Media PCA yang digunakan terlebih dahulu dibagi menjadi 6 bagian sehingga dalam satu media terdiri dari 6 seri pengenceran. Kemudian diinkubasi pada suhu 20°C selama 324 hingga 48 jam. Seluruh metode hitung cawan dilakukan dengan pengulangan sebanyak dua kali.

C. Perhitungan Hasil Uji TPC

Jumlah koloni bakteri dari sampel dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Koloni / gr} = \sum \text{koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Beberapa hal yang perlu diperhatikan ketika menghitung jumlah koloni bakteri dari sampel yaitu :

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 CFU/g [14]. Jika jumlah koloni tiap sampel lebih dari 300 CFU/g

dikategorikan sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) atau *too numerous to count* (TNTC) [15];

2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu atau satu deret rantai koloni yang terikat sebagai suatu garis dihitung sebagai satu koloni;

3. Koloni yang tumbuh menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri, tidak disebut sebagai koloni melainkan *spreader*;

4. Jika hasil perbandingan jumlah bakteri dari hasil pengenceran berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya adalah < 2 maka hasilnya dirata-rata. Namun jika hasilnya ≥ 2 , maka menggunakan jumlah mikroba dari hasil pengenceran sebelumnya (pengenceran terkecil).

D. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan cara deskriptif. Data ditampilkan dalam bentuk tabel sesuai dengan *Standard Plate Count* (SPC) untuk mempermudah pembacaan hasil. SPC merupakan metode yang digunakan untuk mendapatkan hasil hitung mikroba dengan batasan

jumlah mikroba yang dihitung yaitu 30-300 CFU/ml dari pengenceran yang digunakan [16].

Data juga dianalisis dengan menggunakan uji *General Linier Model-Multivariate Test* ($\alpha = 5\%$) dan analisis lanjutan menggunakan Uji LSD. Uji *GLM-Multivariate test* ini digunakan untuk mengetahui pengaruh penggunaan beberapa pelarut yang berbeda dan preparasi sampel daging yang berbeda pada hasil perhitungan 3 metode hitung cawan. Sedangkan uji lanjut LSD digunakan untuk mengetahui signifikansi dari setiap larutan yang digunakan pada hasil perhitungan koloni disetiap metode. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan *SPSS 15.0 Evaluation Version for Windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh, berdasarkan hasil uji TPC yang dilakukan, hanya dilakukan pada pengenceran dengan jumlah koloni antara 30-300. Hal ini dilakukan untuk mengurangi kemungkinan kesalahan pada perhitungan [17].

Tabel 1. Hasil perhitungan jumlah koloni pada uji TPC (*Total Plate Count*)

Preparasi sampel daging	Larutan Pengencer	Hasil Perhitungan (CFU/gram) di tiap metode		
		<i>Pour plate</i>	<i>Spread plate</i>	<i>Drop plate</i>
Sampel dipotong kecil-kecil	Aquades	$9,4 \times 10^4$	$5,8 \times 10^4$	$1,2 \times 10^5$
	Garfis 0,85%	1×10^5	$2,2 \times 10^5$	$1,4 \times 10^5$
	BPW	$3,5 \times 10^5$	$4,2 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$
Sampel dipotong dan diblender	Aquades	$1,6 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$	$9,3 \times 10^5$
	Garfis 0,85%	$2,3 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$	$2,3 \times 10^6$
	BPW	$3,8 \times 10^6$	$3,5 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$

Preparasi sampel yang digunakan menyebabkan perbedaan hasil jumlah koloni yang tumbuh. Pada daging sapi yang hanya dipotong kecil menghasilkan jumlah koloni 10^5 CFU/gram dan menunjukkan hasil yang berbeda pada metode hitung serta larutan pengencer yang berbeda, sedangkan sampel yang dipotong dan diblender menghasilkan koloni 10^6 CFU/gram dan tidak bervariasi (Tabel 1). Hasil penelitian ini sesuai dengan beberapa penelitian yaitu pada penelitian Antwi-Agyei dan Maalekuu [18] hasil hitung bakteri pada daging dan ikan yang ada di Pasar Kumasi sebesar $1,62 \times 10^5$ CFU/g dalam 1ml/CFU, sedangkan pada penelitian Alamin dan Ahmed [19] menunjukkan rata-rata bakteri pada sosis daging sapi segar sebesar 2×10^6 CFU/g. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan jumlah bakteri dari daging yang telah dihaluskan seperti sosis dengan daging yang tidak dihaluskan. Perbedaan jumlah bakteri yang terhitung ini dikarenakan pada sampel daging yang dihaluskan sel-selnya akan dapat terpecah-pecah sehingga menghasilkan luas permukaan

daging menjadi lebih besar dibandingkan pada daging yang hanya dipotong kecil dan sel bakteri yang menempel pada daging akan terlepas dan dengan mudah tersebar pada larutan pengencer.

Larutan pengencer yang digunakan juga dapat mempengaruhi jumlah koloni yang tumbuh pada uji TPC. Larutan pengencer yang digunakan yaitu larutan akuades, larutan garam fisiologis 0,85% dan larutan *Buffer Peptone Water* + 1,25% Na Sitrat. Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa penggunaan larutan pengencer BPW dan garam fisiologis 0,85% lebih baik dibandingkan dengan akuades steril. Hal ini ditunjukkan dengan hasil hitung koloni pada setiap metode dengan larutan pengencer BPW dan garam fisiologis 0,85% tidak bervariasi, sedangkan pada metode dengan larutan pengencer akuades menghasilkan hasil hitung jumlah koloni yang bervariasi. Selain itu larutan BPW menghasilkan perhitungan jumlah koloni terbesar. Hal ini dikarenakan BPW berfungsi dalam mendukung pH pertumbuhan akibat adanya perubahan pH

yang disebabkan oleh pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme [20], serta menjaga agar mikroorganisme tidak rusak akibat perubahan pH tersebut. Kandungan pepton pada larutan BPW ini berfungsi sebagai sumber karbon, nitrogen, vitamin dan mineral bagi pertumbuhan bakteri [21]. Selain itu kandungan NaCl pada larutan BPW berfungsi dalam menjaga keseimbangan osmotik medium pertumbuhan. Larutan BPW ini memenuhi ISO 6887 dan 11290 sebagai larutan pengencer untuk perhitungan mikroorganisme [22].

Berdasarkan data pada Tabel 1. dapat diketahui bahwa perbedaan metode hitung cawan yang digunakan memiliki hasil hitung yang sama pada kedua sampel daging dengan larutan pengencer garam fisiologis dan BPW. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah inokulasi yang berbeda pada setiap metode yaitu *pour plate* 1 mL, *spread plate* 0,1 mL, dan *drop plate* 0,01 mL tidak mempengaruhi hasil hitung pada sampel daging yang dipotong maupun diblender dengan menggunakan larutan pengencer garam fisiologis dan larutan BPW. Namun hasil ini berbeda apabila larutan pengencer yang digunakan berupa akuades.

Hasil analisis data menggunakan uji GLM-*Multivariate Test* ($\alpha = 5\%$) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh dari cara melarutkan sampel daging yang berbeda pada hasil perhitungan jumlah koloni disetiap metode yang digunakan ($P = 0,000$). Selain itu hanya terdapat pengaruh perbedaan larutan pengencer yang digunakan pada hasil perhitungan jumlah koloni di metode *pour plate* saja ($P(0,00) < 0,05$). Hasil uji pengaruh interaksi antara cara melarutkan sampel dan larutan pengencer yang digunakan pada hasil jumlah koloni juga hanya berpengaruh pada metode *pour plate* ($P(0,00) < 0,05$) dan *drop plate* ($P(0,043) < 0,05$).

Hasil uji lanjut LSD menunjukkan bahwa pada metode *pour plate* larutan pengencer Aquades berbeda nyata dengan larutan garam fisiologis dan *pepton water* ($p < 0,05$), sedangkan larutan garam fisiologis dan *pepton water* tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Pada metode *drop plate* ketiga larutan pengencer yang digunakan tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hasil penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Oblinger dan Kennedy [23], yang menunjukkan bahwa hasil hitung koloni bakteri pada kebanyakan sampel daging yang digunakan lebih tinggi pada sampel dengan pelarut pepton 0,1 % dan 0,5 % dibandingkan dengan pelarut 0,85% NaCl dan akuades steril. Namun hasil statistik menunjukkan bahwa penggunaan pelarut yang berbeda tidak berbeda nyata (tidak signifikan) diantara satu sama lain.

Penggunaan metode hitung cawan dalam perhitungan mikroorganisme memiliki beberapa kelemahan. Kelemahan tersebut diantaranya yaitu hasil perhitungan tidak menunjukkan jumlah sel yang sebenarnya, medium dan kondisi inkubasi yang berbeda dapat menghasilkan jumlah yang berbeda pula, serta memerlukan persiapan dan waktu inkubasi relatif lama [14].

KESIMPULAN

Hasil Total plate count pada daging sapi yang dilakukan, diketahui bahwa cara melarutkan sampel daging sapi yang baik yaitu dengan cara dihaluskan (diblender). Hasil analisis data penggunaan cara melarutkan sampel

yang berbeda berpengaruh pada hasil perhitungan jumlah koloni pada setiap metode hitung cawan. Larutan pengencer *buffer peptone water* merupakan pengencer yang menghasilkan hasil perhitungan koloni terbesar. Berdasarkan hasil analisis data penggunaan pengencer yang berbeda hanya berpengaruh pada metode *pour plate*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DIPA Universitas Jember yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] S. Nakai. dan W. H. Modler, *Food Protein*, (Wiley-VHC Inc., USA), 2000.
- [2] P. Williams, Nutritional Composition of Red Meat, *Nutrition & Dietetics* Vol. 64 (Suppl. 4), pp. S113-S119, 2007.
- [3] E. V. G. Komba, E. V. Komba, Ee. M. Mkupasi, A. O. Mbyuzi, S. Mshamu, D. Luwumba, Z. Busagwe dan A. Mzula, Sanitary Practices and Occurrence of Zoonotic Condition in Cattle at Slaughter in Morogoro Municipality, Tanzania: Implications for Public Health, *Tanzania Journal of Health Research* Vol. 14 (2), pp 1-12, 2012.
- [4] Sukmawati, Total Microbial Plates on Beef and Beef Offal, *Bioscience* Vol. 2(1), pp. 22-28, 2018.
- [5] S. G. Bhamdare, A. T. Sherikar, A. M. Patukar, V. S. Waskar dan R. J. Zende, A Comparison of Microbial Contamination on Sheep/Goat Carcasses in A Modern Indian Abattoir and Traditional Meat Shops, *Food Control*, Vol. 18 (7), pp 854-868, 2007
- [6] E. M. Jarallah, S. I. Sahib dan K. Yassen, Isolation and Identification of Some Pathogenic Bacterial Species Contaminated from Meats in Butchers Shops and Kebab Restaurant in Al-Kut City, *Euphrates Journal of Agriculture Science*, Vol. 6 (4), pp. 30-37, 2014.
- [7] B. Kuntoro, R. R. A. Maheswari dan H. Nuraini, Hubungan Penerapan *Standard Sanitation Operasional Procedure* (SSOP) Terhadap Mutu Daging Ditinjau dari Tingkat Cemar Mikroba, *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan* Vol. 15 (2), pp. 70-80, 2012.
- [8] [BSN] Badan Standarisasi Nasional, *Batasan Maksimum Cemar Mikroba dalam Pangan*, SNI 7388, 2009.
- [9] J. G. Barus, P. E. Santosa dan D. Septianova. Pengaruh Lama Perendaman Daging dengan Menggunakan Daun Salam (*Syzygium polynathum*) sebagai Pengawet Terhadap *Total Plate Count* dan *Salmonella* Daging Broiler, *Jurnal Riset dan Inovasi Peternakan* Vol. 1(3), pp. 42-47, Desember 2017.
- [10] Jongenburger, Reij, Boer, Gorris, dan Zwietering, Factors Influencing The Accuracy of The Plating Method Used to Enumerate Low Numbers of Viable Microorganism in Food, *International Journal of Food Microbiology* Vol. 143, pp. 32-40, 2010.
- [11] D. Amenu, Factors Influencing The Enumerate Numbers of Viable Microorganisms in Foods,

- Landmark Research Journals of Agriculture and Soil Sciences (LRJASS)* Vol. 1(1), pp. 001-002, 2014.
- [12] R. Hazan, Y.A. Que, D. Maura dan L. G. Rahme, A Method for High Throughput Determination of Viable Bacteria Cell Counts in 96-well Plates, *BMC Microbiology* vol. 12(1), pp 1-7, 2012.
- [13] [BSN] Badan Satandarisasi Nasional, *Cara Uji Cemaran Mikroba*, SNI 01-2879, 1992.
- [14] S. Sutton, Accuracy of Plate Counts, *Journal of Validation Technology* Vol. 17(3), pp. 42-46, 2011.
- [15] Sukmawati dan F. Hardianti, Analisis *Total Plate Count* (TPC) Mikroba Pada Ikan Asin Kakap Di Kota Sorong Papua Barat, *Jurnal Biodjati* Vol. 3(1), pp. 72-78, 2018.
- [16] M. Yunita, Y. Hendrawan dan R. Yulianingsih, Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) dengan Metode *Pour Plate*, *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem* Vol. 3 (3), pp. 237-248, 2015.
- [17] Mailoa, Tapotubun, dan Matrutty, Analysis Total Plate Count (TPC) on Fresh Steak Tuna Application Edible Coating *Caulerpa* sp. During Storage at Chilling Temperature, *IOP Conference Science: Earth and Environmental Science* Vol. 89, pp. 1-6, 2017.
- [18] P. Antwi-Agyei dan B. K. Maalekuu, Determination of Microbial Contamination in Meat and Fish Products Sold in The Kumasi Metropolis (A Case Study of Kumasi Central Market and the Bantama Market), *Meri Research Journal of Agricultural Science and Soil Sciences* Vol. 2(3), pp. 038-046, 2014.
- [19] S. A. Alamin dan D. A. Ahmed, A study of Total Bacterial Count and Organoleptic Examination of Different Types of Sausages in The Sudan, *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)* Vol. 8 (1), pp. 18-23, 2015.
- [20] C.L. Baylis, S. MacPhee dan R.P. Betts. Comparison of two commercial preparations of buffered peptone water for the recovery and growth of *Salmonella* bacteria from foods. *Journal of Applied Microbiology* vol 89 (3), pp. 501-510, Mei 2000.
- [21] Himedia. *Buffered Peptone Water*. (HiMedia Laboratories Pvt, India), Mei 2019.
- [22] Liofilchem. *Buffered Peptone Water*. (Liofilchem® s.r.l, Italy), pp 1-2, Mei 2019.
- [23] J. L. Oblinger dan J. E. Jr. Kennedy, Evaluation of Diluents Used for Total Counts. *Journal of Milk and Technology* Vol. 39(2), pp. 114-116, 1976.