

KONTROL KUALITAS SIMPLISIA

2

UMG. 05.11.2022



OVERVIEW

ALT

Angka Lempeng Total



AKK

Angka Kapang Khamir



BAKTERI PATOGEN

Jenis dan kriteria



AFLATOKSIN

Jenis dan kriteria



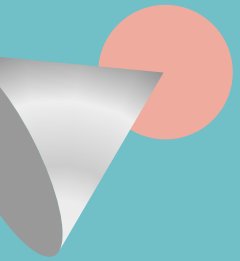
DEFINISI

ALT

Jumlah pertumbuhan bakteri aerob mesofil pada media agar setelah sampel diinokulasikan

AKK

Jumlah pertumbuhan kapang dan khamir pada media agar setelah sampel diinokulasikan



PERBEDAAN KAPANG KHAMIR

Kapang (*mold*) :

Fungi multiseluler, mempunyai filamen, mudah dilihat karena penampakan berserabut spt kapas. Mula-mula berwarna putih tetapi jika spora sudah terbentuk maka dapat berwarna sesuai dengan jenis kapang.

Kapang terdiri 1 thallus yang terusun dari filamen yang bercabang disebut hifa, kumpulan hifa disebut miselium.



Candida albicans in Sabouraud Dextrose Agar



Sporothrix schenckii in Sabouraud Dextrose Agar

Khamir (*yeast*) :

Fungi uniseluler, mikroskopik, beberapa ada yang membentuk miselium dengan percabangan. Regenerasi dilakukan secara pembelahan.

METODE

Plate count

Teknik enumerasi pada media padat.

Memisahkan setiap sel/kumpulan pembentuk koloni tetap pada tempatnya sehingga memungkinkan untuk dilakukan perhitungan jumlah koloni per satuan sampel atau perlakuan lain.

MPN

Most Probable Number

Teknik enumerasi pada media cair spesifik yang didasarkan pada data kualitatif untuk menghasilkan data kuantitatif.

Jenis :

- 3 tabung
- 5 tabung

PLATE COUNT

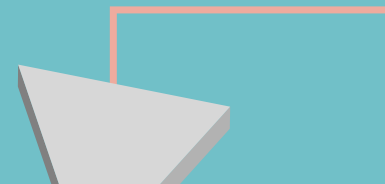
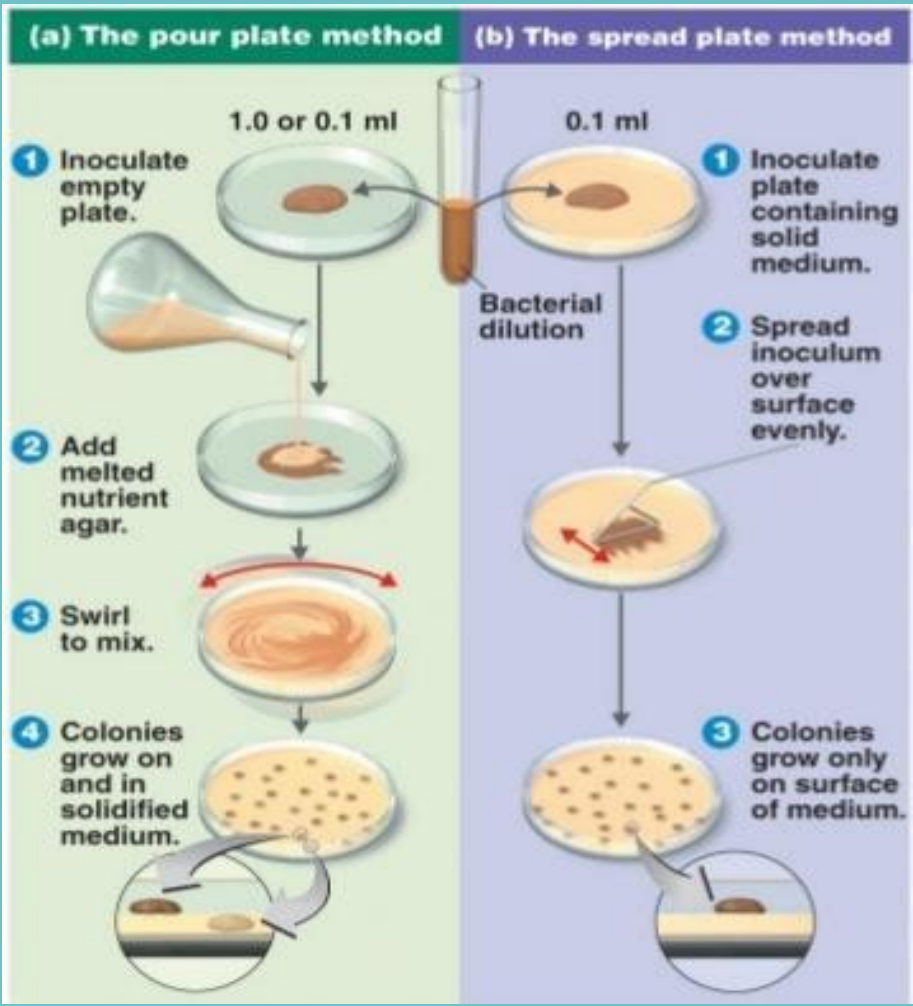


Spread plate :

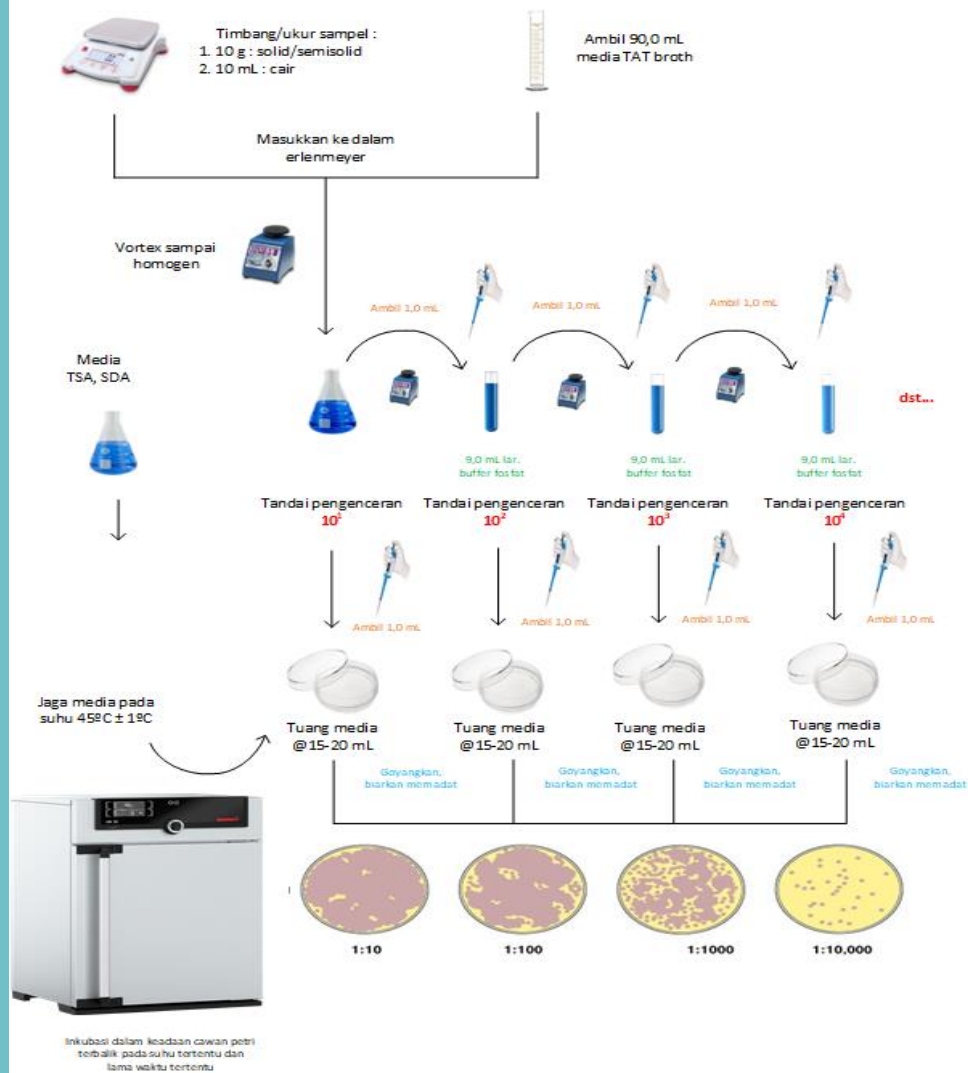
Menumbuhkan pada media agar yang telah memadat menggunakan *spreader* (*spreader spatula, L rod/drigasky spatula*).

Pour plate :

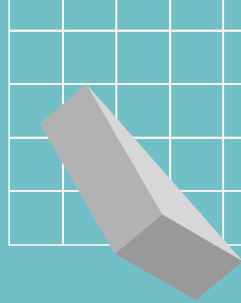
Teknik penanaman dengan cara mencampurkan sampel dengan media agar yang masih berbentuk cair sehingga didapatkan koloni yang tersebar merata di seluruh media.



SOP



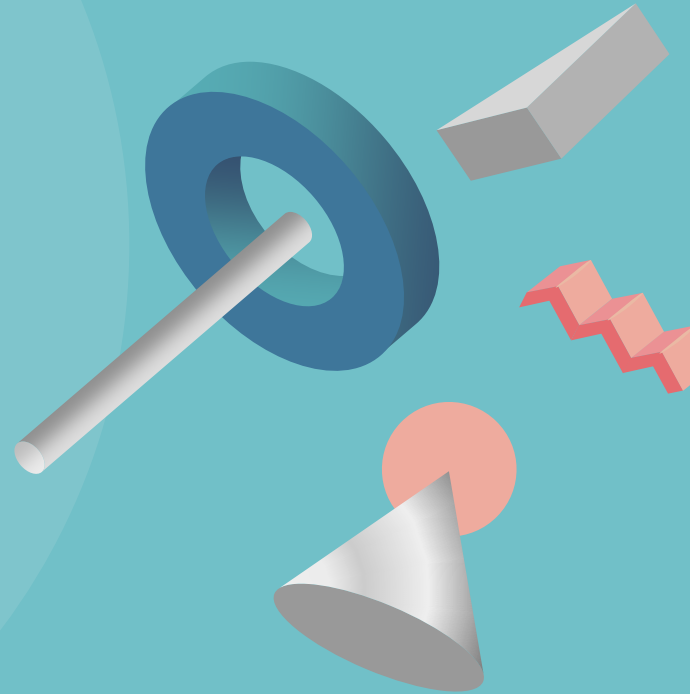
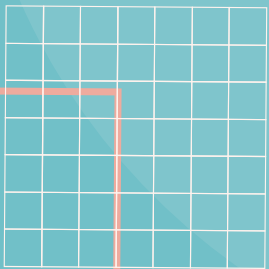
SUHU DAN LAMA INKUBASI



<i>USP</i>		
Parameter	ALT	AKK
Media	TSA	SDA
Suhu	30-35°C	20-25°C
Lama inkubasi	≤ 3 hari	≤ 5 hari



PEMBACAAN HASIL PENGUJIAN



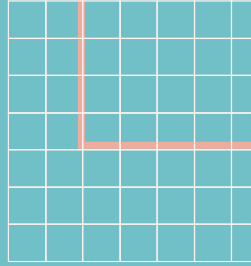
1. Jika koloni bergerombol dan memiliki batas yang jelas maka dapat dihitung berbeda, tetapi jika batas yang dimiliki tidak jelas maka dihitung 1 koloni.

2. Hasil ditulis dalam dua digit pertama. Angka berikutnya :
< 5 maka dibulatkan ke bawah
≥ 5 maka dibulatkan ke atas

Hasilnya : **248 x 10²** maka ditulis **2,5 x 10⁴**

624 x 10¹ maka ditulis **6,2 x 10³**

3. Pilih cawan petri yang mempunyai jumlah koloni
ALT : 25 – 250 koloni
AKK : 8 - 80 koloni

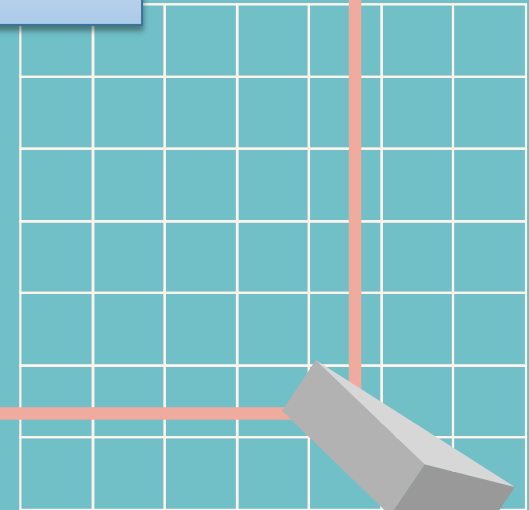


4. Jika hasil perhitungan koloni pada cawan lebih kecil dari batas bawah ketentuan, maka jumlah koloni rata-rata dari kedua cawan dihitung lalu dikalikan dengan faktor pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total/Angka Kapang Khamir dalam tiap gram atau ml sampel dengan penandaan * (nilai estimasi) atau bisa juga ditulis < batas terendah dikalikan pengenceran (nilai estimasi).

Pengenceran	Cawan 1	Cawan 2	Keterangan
10^2	18	14	Dipilih pengenceran pertama
10^3	2	0	

Hasil ALT nya : $\frac{18 + 14}{2} \times 10^2 = 16 \times 10^2$ ditulis $1,6 \times 10^3$ (*)

(*) : estimated count



5. Jika hasil perhitungan koloni pada cawan lebih besar dari batas atas ketentuan, maka jumlah koloni rata-rata dari kedua cawan dihitung lalu dikalikan dengan faktor pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total/Angka Kapang Khamir dalam tiap gram atau ml sampel dengan penandaan * (nilai estimasi) atau bisa juga ditulis > batas tertinggi dikalikan nilai pengenceran (nilai estimasi).

Pengenceran	Cawan 1	Cawan 2	Keterangan
10^2	TNTC	TNTC	
10^3	350	400	Dipilih pengenceran kedua

Hasil ALT nya : $\frac{350 + 400}{2} \times 10^3 = 375 \times 10^3$ ditulis $3,8 \times 10^5$ (*)

(*) : estimated count

6. Jika perhitungan koloni pada cawan memenuhi ketentuan hanya pada salah satu pengenceran, maka hitung jumlah koloni rata-rata pada pengenceran yang memenuhi syarat saja. Jika perhitungan koloni pada cawan lebih dari ketentuan hanya pada salah satu pengenceran, maka hitung jumlah koloni rata-rata pada pengenceran yang memenuhi syarat saja. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total/Angka Kapang Khamir dalam tiap gram atau ml sampel.

Pengenceran	Cawan 1	Cawan 2	Keterangan
10^2	53	42	Dipilih pengenceran pertama
10^3	6	8	

Hasil ALT nya : $\frac{53 + 42}{2} \times 10^2 = 47,5 \times 10^2$ ditulis $4,8 \times 10^3$

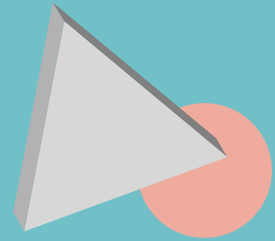
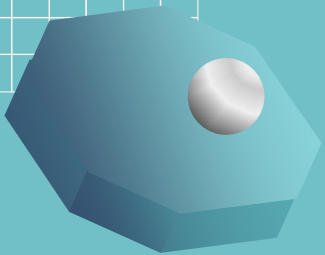
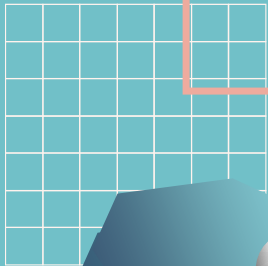
Pengenceran	Cawan 1	Cawan 2	Keterangan
10^2	316	286	
10^3	78	75	Dipilih pengenceran kedua

Hasil ALT nya : $\frac{78 + 75}{2} \times 10^3 = 76,5 \times 10^3$ ditulis $7,7 \times 10^4$

7. Jika terdapat cawan-cawan dari dua tingkat pengenceran yang berurutan menunjukkan jumlah koloni sesuai ketentuan, maka dihitung jumlah koloni rata-rata dari masing-masing tingkat pengenceran kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya. Apabila hasil perhitungan rata-rata pada tingkat yang lebih tinggi kurang dari 2 kalinya, maka Angka Lempeng Total/Angka Kapang Khamir dihitung dari rata-rata jumlah koloni kedua tingkat pengenceran tersebut.

Pengenceran	Cawan 1	Cawan 2	Rata-rata
10^2	195	185	190
10^3	25	30	27,5

Hasil ALT nya : $\frac{19 + 27,5}{2} \times 10^3 = 23,25 \times 10^3$ ditulis $2,3 \times 10^4$



8. Jika terdapat cawan-cawan dari dua tingkat pengenceran yang berurutan menunjukkan jumlah koloni sesuai ketentuan, maka dihitung jumlah koloni rata-rata dari masing-masing tingkat pengenceran kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya. Apabila hasil perhitungan rata-rata pada tingkat yang lebih tinggi lebih besar dari 2 kalinya, maka Angka Lempeng Total/Angka Kapang Khamir yang dipilih dari tingkat pengenceran yang terendah.

Pengenceran	Cawan 1	Cawan 2	Keterangan
10^2	220	245	Dipilih pengenceran 1
10^3	60	56	

Hasil ALT nya : $\frac{220 + 245}{2} \times 10^2 = 232,5 \times 10^2$ ditulis $2,3 \times 10^4$

9. Bila salah satu dari cawan petri menunjukkan jumlah koloni kurang atau lebih dari ketentuan, maka hitung jumlah rata-rata koloni dari semua cawan dikalikan faktor pengenceran masing-masing, baik yang memenuhi ketentuan atau tidak. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total/Angka Kapang Khamir dalam tiap gram atau ml sampel.

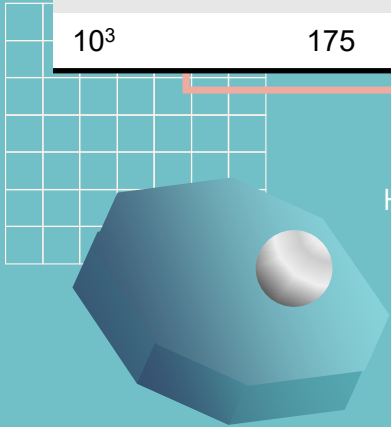
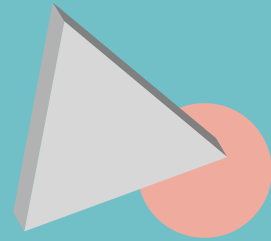
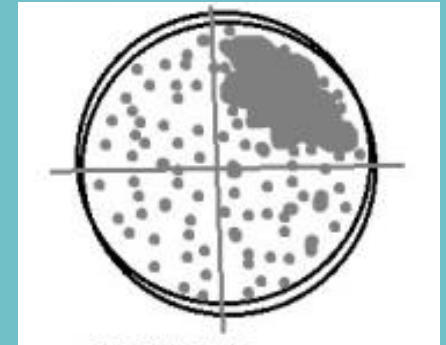
Pengenceran	Cawan 1	Cawan 2	Rata-rata
10^2	245	258	251,5
10^3	21	40	30,5

Hasil ALT nya : $\frac{25,15 + 30,5}{2} \times 10^3 = 27,8 \times 10^3$ ditulis $2,8 \times 10^4$

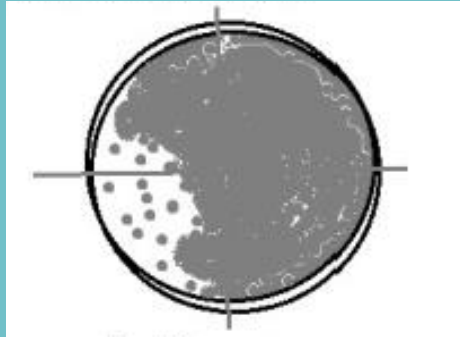
10. Jika seluruh cawan menunjukkan jumlah koloni lebih dari 400, dipilih salah satu cawan dari tingkat pengenceran tertinggi kemudian dibagi menjadi beberapa sektor (2, 4, atau 8) dan dihitung jumlah koloni dari satu sektor. Angka Lempeng Total dinyatakan dari jumlah koloni dari 1 sektor tersebut kemudian dikalikan dengan jumlah sektor, kemudian dihitung rata-rata dari kedua cawan dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Hasilnya ditulis dengan tanda (*) dan keterangan * : *estimated count*.

Pengenceran	Cawan 1 (1 sector)	Cawan 2 (1 sector)	Cawan 1 (4 sector)	Cawan 2 (4 sector)	Rata-rata
10^2	100	150	$100 \times 4 = 400$	$150 \times 4 = 600$	500×10^2
10^3	175	200	$175 \times 4 = 700$	$200 \times 4 = 800$	750×10^3

Hasil ALT nya : $500 \times 10^2 = 5,0 \times 10^4$



11. Jika dijumpai koloni “overspread” atau menyebar meliputi seperempat sampai setengah bagian cawan, maka dihitung koloni yang tumbuh di luar daerah spreader. Jika 75% dari seluruh cawan mempunyai koloni “overspread” atau menyebar, maka dicatat sebagai “OS”. Untuk keadaan ini harus dicari penyebabnya dan diperbaiki cara kerjanya (dilakukan pengujian ulang).

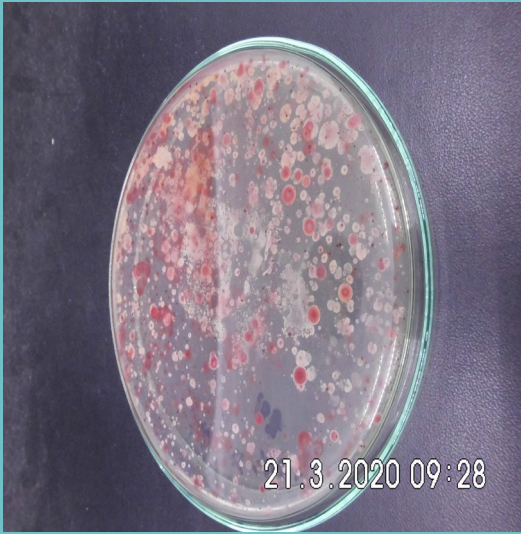


12. Jika hasil akhir penghitungan koloni mempunyai nilai $> 2,5 \times 10^8$ maka dapat ditulis **TNTC (Too Numerous Too Count)**.

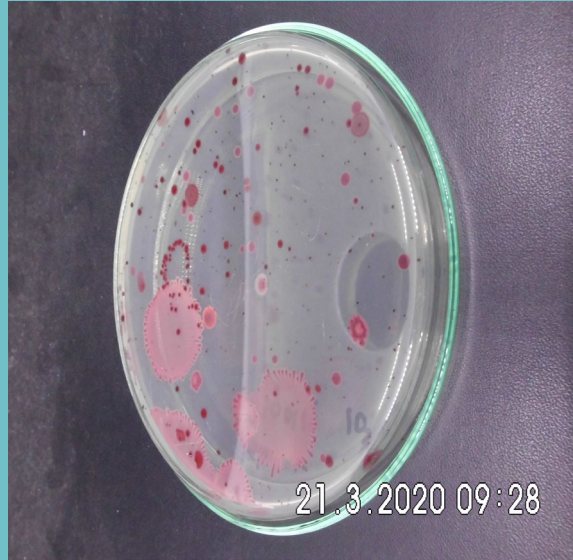
PERSYARATAN

Perka BPOM No. 32 tahun 2019

Item	ALT (cfu/g)	AKK (cfu/g)
Rajangan yang diseduh dengan air panas	$\leq 5,0 \times 10^7$	$\leq 5,0 \times 10^5$
Rajangan yang direbus		
Serbuk yang diseduh dengan air panas		



ALT simplisia jahe
Pengenceran 10^2



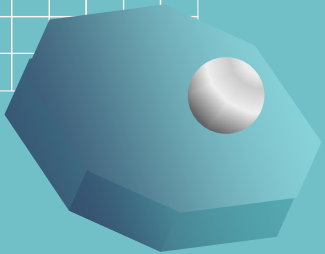
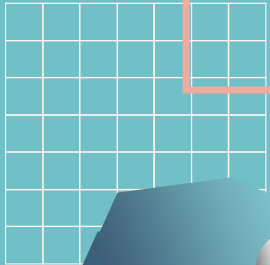
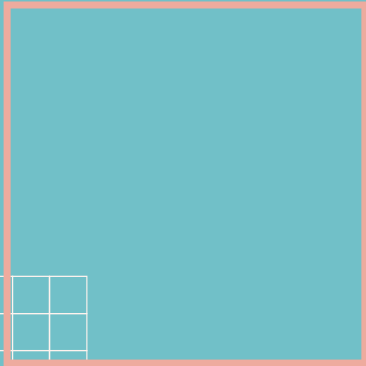
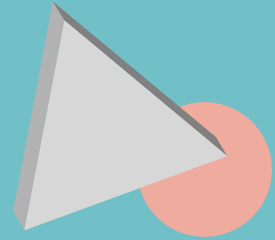
ALT simplisia jahe
Pengenceran 10^4



AKK simplisia sambiloto
Pengenceran 10^3

BAKTERI PATOGEN

Bakteri yang dapat menyebabkan penyakit baik invasi secara langsung maupun melalui kontaminasi



Bakteri patogen	Nilai
E. coli	< 10 cfu/g
Enterobacteriaceae	< 1,0 x 10 ³ cfu/g
Clostridium	Negatif
Salmonella	Negatif
Shigella	Negatif

Perka BPOM No. 32 tahun 2019



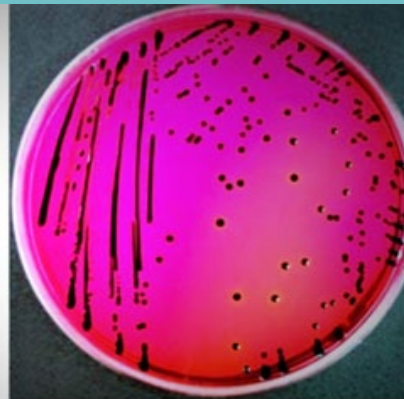
E. Coli pada media MCA



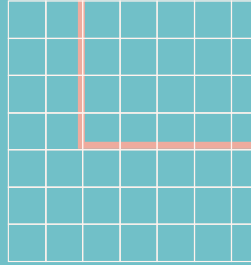
Enterobacteriaceae pada Violet
Red Bile Glucose Agar



Shigella on XLD.



Salmonella on XLD.



AFLATOKSIN

01

Salah satu jenis mikotoksin hasil metabolisme kapang

02

Diproduksi pada lingkungan dengan suhu 27-40°C dan RH 85%

03

Tidak bersifat akut tetapi kronis mematikan

04

Terdapat 6 macam :
B1, B2, G1, G2, M1, M2

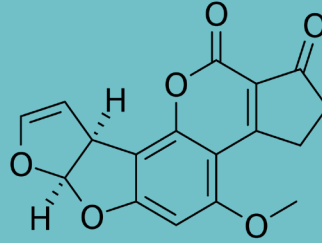


Jenis jamur yang memproduksi aflatoksin :

1. *A. Bombycis*
2. *A. Ochraceoroseus*
3. *A. pseudotamari*
4. *A. tamarii*
5. *Emericella astellata*
6. *Emericella venezuelensis*
7. *A. flavus*

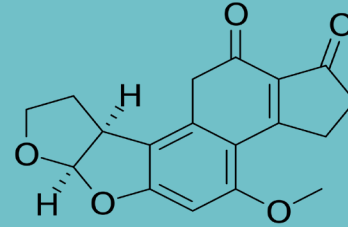
Aflatoksin B1

Racun yang sangat toksik.
Memberikan fluoresensi warna
biru pada sinar UV λ 365 nm



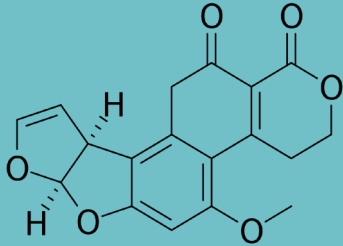
Aflatoxin B2

Merupakan turunan dari aflatoxin
B1. Memberikan fluoresensi warna
biru pada sinar UV λ 365 nm



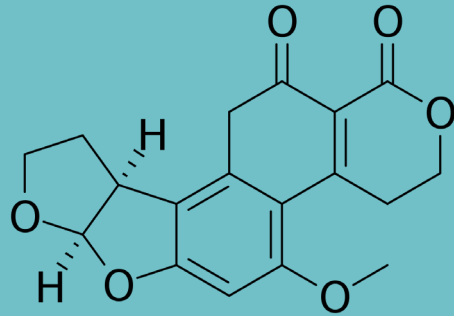
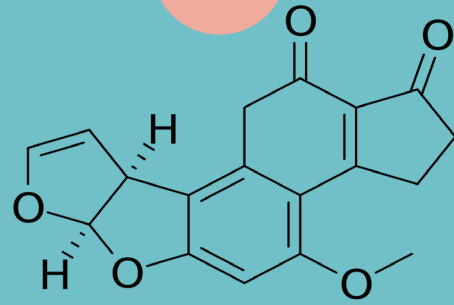
Aflatoxin G1

Diproduksi oleh *A. parasiticus*.
Memberikan fluoresensi warna
hijau pada sinar UV λ 365 nm



Aflatoksin G2

Diproduksi oleh *A. parasiticus*. Memberikan fluoresensi warna hijau pada sinar UV λ 365 nm

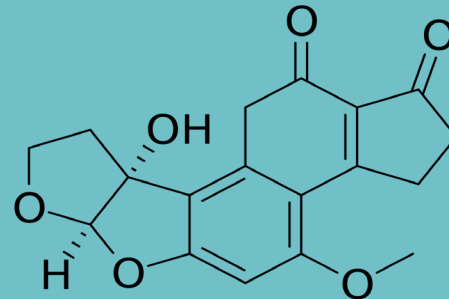


Aflatoxin M1

Metabolit aflatoxin B1. Terdapat pada olahan susu dan turunannya. Terbentuk pada hewan ruminansia, e.g : sapi

Aflatoxin M2

Metabolit aflatoxin B2. Terdapat pada olahan susu dan turunannya. Terbentuk pada hewan ruminansia, e.g : sapi



BAHAYA AFLATOKSIN

Karsinogenik

Memnyebabkan kanker terutama kanker hati
Aflatoksin B1

Genotoksik

Mutasi DNS, kerusakan rantai DNA, kerusakan kromosom DNA yang dituju
Aflatoksin B1 & G1

Hepatotoksik

Berpotensi menjadi hepatitis akut letal dengan mual, sakit di bagian perut, dan dapat menimbulkan kematian

Nefrotoksik

dapat menginduksi dan mempengaruhi tubulusinterstisial serta ukuran glomerulus secara histologis dan ultrastruktural

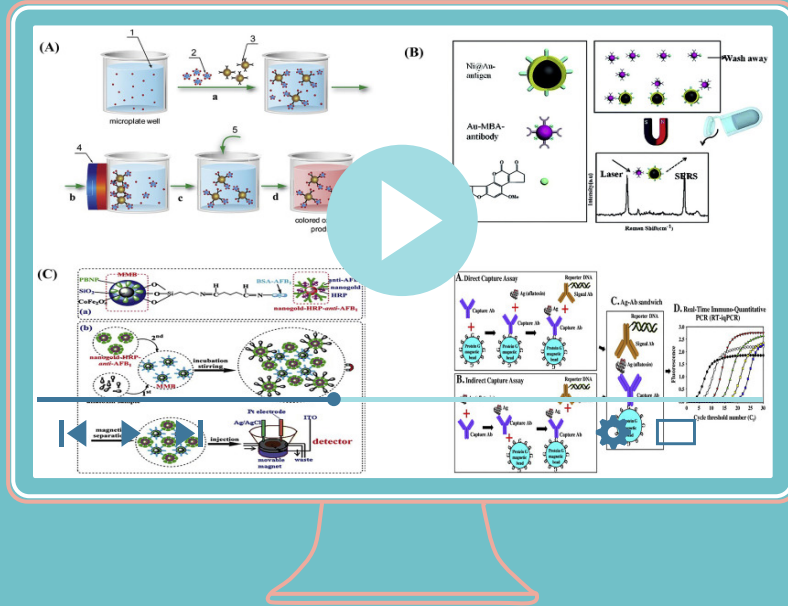
Imunosupresif

menyebabkan imunosuspresi, yang dapat menambah agen infeksi seperti pada penyakit *HIV (Human Immunodeficiency Virus)* dan tuberklosis

Kwa rshiorkor

Malnutrisi pada anak karena kekurangan energi protein, ditandai dengan tumbuhnya rambut jagung

METODE ANALISA



KLT densitometri

λ eksitasi max 354 nm & 400 nm

HPLC

λ eksitasi max 365 nm & 455 nm

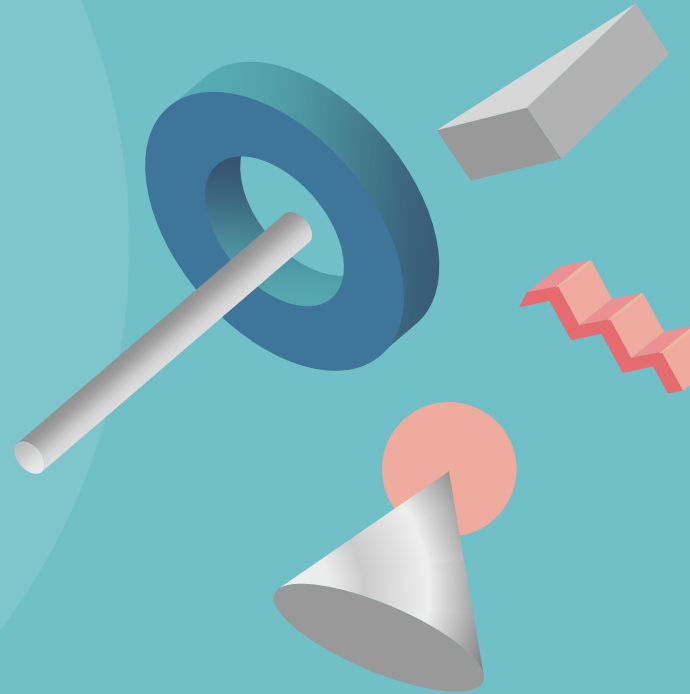
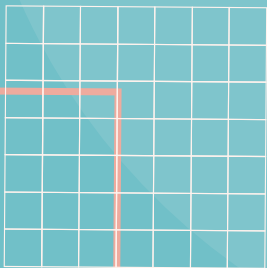
ELISA

ELISA plate reader & spektrofotometer kanal ganda.
Reaksi antara enzim & substrat/antigen-antibodi

PERSYARATAN

Kadar aflatoksin total (aflatoksin B1, B2, G1 dan G2) $\leq 20 \mu\text{g}/\text{kg}$
dengan syarat aflatoksin B1 $\leq 5 \mu\text{g}/\text{kg}$

Perka BPOM No. 32
tahun 2019



**THANK
YOU**

