

**DEPARTEMEN PERTANIAN**  
**BADAN KARANTINA PERTANIAN**

Gedung E Lt. 1, 5, 7  
Kampus Deptan  
Jl. Harsono RM. No. 3 Ragunan  
Jakarta Selatan 12550

Telp./Fax. : (021) 7816484, 7816483  
7816482, 7816481  
Website : <http://karantina.deptan.go.id>  
Email : [infokarantina@deptan.go.id](mailto:infokarantina@deptan.go.id)

---

**KEPUTUSAN KEPALA BADAN KARANTINA PERTANIAN**  
**NOMOR : 355.a/Kpts/PD.670.320/L/ 9/2008**

**TENTANG**  
**PETUNJUK TEKNIS PEMERIKSAAN DAN PENGUJIAN HPHK**  
**PADA SUSU DAN HASIL OLAHANNYA**

**DENGAN RAHMAT TUHAN YANG MAHA ESA**

**KEPALA BADAN KARANTINA PERTANIAN,**

- Menimbang** : a. bahwa tugas dan fungsi karantina adalah mencegah masuk dan tersebarnya Hama Penyakit Hewan Karantina (HPHK) dari dan ke luar negeri dan antar area di dalam wilayah Republik Indonesia, serta sebagai pengawas dan pemeriksa terhadap lalulintas media pembawa baik sebagai komoditas perdagangan maupun sebagai barang bawaan, sehingga setiap media pembawa yang dilalulintaskan (ekspor/impor/ antar area atau antar pulau) harus aman terhadap kemungkinan tersebarnya HPHK;
- b. bahwa susu merupakan komoditi yang berpotensi membahayakan kesehatan hewan dan manusia sehingga perlu dilakukan pemeriksaan melalui tindakan karantina hewan;
- c. bahwa sehubungan dengan hal tersebut di atas maka perlu disusun Petunjuk Teknis Pemeriksaan Dan Pengujian HPHK pada Susu Dan Hasil Olahannya
- Mengingat** : 1. Undang-Undang Nomor 6 Tahun 1967 tentang Ketentuan-Ketentuan Pokok Peternakan dan Kesehatan Hewan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1967 Nomor 10, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 2824);

2. Undang-Undang Nomor 16 tahun 1992 tentang Karantina Hewan, Ikan dan Tumbuhan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1992 Nomor 56, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 3482);
3. Undang-Undang Nomor 7 Tahun 1996 tentang Pangan (Lembaran Negara Tahun 1996 Nomor 99, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3656);
4. Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 1983 tentang Kesehatan Masyarakat Veteriner (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1983 Nomor 28, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 3253);
5. Peraturan Pemerintah Nomor 82 tahun 2000 tentang Karantina Hewan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2000 Nomor 161, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 3482);
6. Peraturan Presiden Nomor 9 Tahun 2005 tentang Kedudukan, Tugas, Fungsi, Susunan Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Negara Republik Indonesia;
7. Peraturan Presiden Nomor 10 Tahun 2005 tentang Unit Organisasi dan Tugas Eselon I Kementerian Negara Republik Indonesia.

### **MEMUTUSKAN**

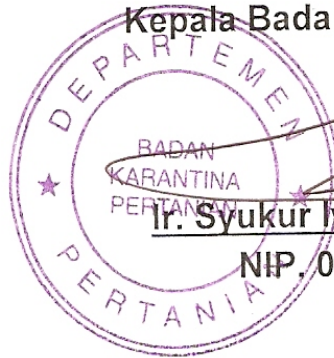
- MENETAPKAN :** KEPUTUSAN KEPALA BADAN KARANTINA PERTANIAN TENTANG PETUNJUK TEKNIS PEMERIKSAAN DAN PENGUJIAN HPHK PADA SUSU DAN HASIL OLAHANNYA
- KESATU :** Petunjuk Teknis Pemeriksaan Dan Pengujian HPHK pada Susu Dan Hasil Olahannya sebagaimana tersebut dalam lampiran surat keputusan ini;
- KEDUA :** Petunjuk teknis sebagaimana dimaksud dalam diktum KESATU merupakan pedoman bagi petugas laboratorium karantina hewan di Unit Pelaksana Teknis Karantina Pertanian dalam melakukan pemeriksaan dan pengujian susu terhadap HPHK;
- KETIGA :** Petunjuk teknis yang telah ada dan sepanjang tidak bertentangan dengan keputusan ini masih tetap berlaku;

KEEMPAT : Keputusan ini agar dilaksanakan sebaik-baiknya dengan penuh tanggungjawab.

Ditetapkan di : Jakarta

Pada tanggal : 8 September 2008

Kepala Badan Karantina Pertanian,



Ir. Syukur Iwantoro, MS, MBA

NIP. 080. 069. 615,-

Tembusan disampaikan kepada Yth,

1. Menteri Pertanian;
2. Para Pejabat Eselon I Departemen Pertanian;
3. Para Pejabat Eselon II Badan Karantina Pertanian;
4. Para Kepala Balai Besar/Balai/Stasiun Karantina Pertanian di seluruh Indonesia.

**Lampiran 1 : Keputusan Kepala Badan Karantina Pertanian**  
**Nomor** : 355.a/Kpts/PD.670.320/L/ 9/2008  
**Tanggal** : 8 September 2008  
**Tentang** : **Petunjuk Teknis Pemeriksaan dan Pengujian HPHK pada Susu dan Hasil Olahannya**

## **PETUNJUK TEKNIS PEMERIKSAAN DAN PENGUJIAN HPHK PADA SUSU DAN HASIL OLAHANNYA**

### **BAB I**

#### **PENDAHULUAN**

##### **A. LATAR BELAKANG**

Susu adalah susu sapi yang tidak dikurangi atau dibubuhi sesuatu apapun, yang diperoleh dari pemerahan sapi-sapi yang sehat secara teratur. Susu sapi merupakan bahan makanan yang sempurna, karena mengandung hampir semua gizi yang diperlukan oleh tubuh, mudah dicerna dan diresorpsi oleh darah. Susu mengandung protein dan lemak, juga karbohidrat dan mineral dengan perbandingan yang sempurna, sehingga cocok untuk memenuhi kebutuhan gizi manusia. Susu dikenal sebagai bahan pangan sumber protein hewani yang kaya akan zat-zat gizi seperti protein, lemak, laktosa, mineral, vitamin dan dapat memenuhi semua keperluan zat-zat gizi manusia, terutama untuk pertumbuhan anak-anak. Namun demikian nilai gizi bahan tersebut menyebabkan susu merupakan substrat yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme baik patogen maupun bukan patogen. Hal ini menyebabkan susu dan produk olahannya berpotensi sebagai media pembawa hama penyakit hewan karantina.

Untuk itu susu dan produk olahannya harus aman dikonsumsi dan bebas residu (*residu free*) baik terhadap bahan hayati, bahan kimia, pestisida, logam berat, antibiotika, hormon dan obat-obatan lainnya maupun terhadap cemaran mikroba yang dapat menularkan penyakit. Salah satu penyakit yang dapat ditularkan melalui susu dan produknya adalah penyakit mulut dan kuku (PMK) Daya tahan virus PMK pada dried skim milk dapat bertahan 2 tahun, milk dan butter (14 – 15hr)

Susu dapat menjadi media tumbuhnya mikroorganisme patogen sehingga, susu dapat menjadi transmisi penularan penyakit misalnya susu yang mengandung *Brucella melitensis*, dan *Corynebacterium tuberculosis* dapat menimbulkan penyakit tubercullosis, demam undulan(brucellosis), demam typhoid, gastroenteritis, dipteri dan lainnya

## **B. MAKSUD DAN TUJUAN**

Manual pemeriksaan dan pengujian hama penyakit hewan pada media pembawa susu dan olahannya ini dimaksudkan untuk memberi pedoman, acuan dan arahan bagi petugas karantina hewan dalam melaksanakan fungsi dalam mencegah masuk dan tersebarnya HPHK.

Tujuan dari manual Pemeriksaan dan Pengujian HPHK pada susu dan produk olahannya adalah menyeragamkan metoda pengujian terhadap kemungkinan adanya HPHK yang dapat ditularkan melalui susu dan produk olahannya.

## BAB II

### PENGOLONGAN SUSU DAN PRODUK SUSU OLAHANNYA

Susu dan produk olahan susu dapat digolongkan berdasarkan dengan proses pengolahannya yaitu sebagai berikut :

1. Susu murni adalah cairan yang diperoleh dari ternak perah sehat, dengan cara pemerahan yang benar, terus menerus dan tidak dikurangi sesuatu dan/atau ditambahkan ke dalamnya sesuatu bahan lain.
2. Susu segar adalah susu murni yang disebutkan diatas dan tidak mendapat perlakuan apaun kecuali proses pendinginan tanpa mempengaruhi kemurniannya.
3. Susu Pasteurisasi adalah susu yang telah mengalami pemanasan dibawah titik didih susu, dikenal ada tiga susu pemanasan pasteurisasi yaitu:
  - a. LTLT (Low temperature long time) : susu dipanaskan pada suhu 62 - 65°C selama 30 menit.
  - b. HTST (High temperature short time) ; susu dipanaskan pada suhu 71 - 74°C selama 40 detik atau suhu 85°C selama 8 detik.
  - c. UHT (Ultra High Temperature) : susu dipanaskan pada suhu 140 - 150°C selama 1 – 2 menit.
4. Susu sterilisasi adalah susu yang telah mengalami pemanasan diatas titik didih susu yaitu pada suhu susu 109 - 112°C selama 20 – 40 menit.
5. Yogurt adalah susu yang telah mengalami proses pengasaman dengan menggunakan bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *lacto bacillus bulgaris*.
6. Kefir adalah susu yang telah mengalami proses pengasaman dengan menggunakan bakteri asam susu (*Lactobacillus sp* dan *Streptococcus sp*) dan khamir atau ragi (*Saccharomyces kefir*, *Betabacterium caucasium* dan *Torula Kefir*) yang membentuk gugusan alkohol.
7. Butter milk adalah produk susu yang dihasilkan dari proses pembuatan mentega, yang disebut butter milk murni.
8. Susu Kental Manis (Susu Kondensasi) adalah susu yang diolah dengan cara mengentalkan susu dengan menguapkan sebagian kandungan airnya, lalu ditambahkan gula atau dekstrosa
9. Susu Evaporasi adalah susu yang diolah dengan cara mengentalkan susu dengan menguapkan sebagian kandungan airnya dari susu segar atau dengan merekonstitusi susu bubuk dengan atau tanpa penambahan lain yang diizinkan, dimana kadar airnya lebih tinggi dibandingkan dengan susu kondensasi.

10. Susu bubuk adalah susu bubuk berlemak, rendah lemak dan tanpa lemak dengan atau tanpa penambahan vitamin, mineral dan bahan tambahan makanan yang diijinkan.
11. Mentega adalah salah satu produk olahan susu berbebtuk lunak yang dibuat dari lemak susu atau krim susu (kepala susu) atau campurannya, dengan atau tanpa penambahan garam atau bahan tambahan makanan yang diizinkan, yang diberikan (diinokulasi ) bakteri asam laktat.
12. Keju adalah hasil olahan susu yang mengalami fermentasi dengan menambahkan bakteri asam laktat dengan bantuan enzim tertentu dalam bentuk "rennet" dan penghilangan kelebihan kadar air sehingga kasein menggumpal.
13. Es krim adalah suatu produk olahan susu yang sangat kompleks, yang terdiri dari komponen susu, lemak yang telah diemulsi, protein dalam larutan koloid dan larutan laktosa dan garam, dengan penambahan gula, pengemulsi/bahan penstabil dan bahan pencitarasa yang dibuat dari susu segar yang telah dikentalkan atau dari susu bubuk.

## BAB III

### METODE PEMERIKSAAN DAN PENGUJIAN

#### A. METODA PEMERIKSAAN

##### a. PEMERIKSAAN ORGANOLEPTIK

- 1). Bau : aroma khas susu
- 2). Rasa : agak manis
- 3). Warna : putih/krem/putih kekuningan
- 4). pH : 6,5 – 6,75
- 5). Tekstur
  - Susu dan produk olahan bentuk cair : cair
  - Susu bubuk : lembut/tidak mengumpal
  - Keju/memtega : padat

##### b. Pemeriksaan Laboratorik

###### 1). Cara Pengambilan Sampel

Untuk pemeriksaan laboratorium, diperlukan pengambilan sampel yang akan digunakan sebagai bahan pengujian. Keakuratan hasil pengujian laboratorium ditentukan salah satunya oleh cara pengambilan sampel yang baik dan benar. Bentuk fisik serta kemasan susu dan produk susu yang beraneka ragam membuat perlunya pengetahuan petugas karantina terhadap cara pengambilan sampel, yang dapat dilakukan sebagai berikut :

###### **Bentuk cair**

###### Alat

Alat pengaduk yang digunakan untuk menghomogenkan/mencampur contoh disesuaikan dengan besar/kecilnya kemasan susu, steril, dari bahan yang ringan, bebas karat dan mudah dibersihkan. Demikian juga dengan wadah/tempat contoh yang diambil.

###### Cara pengambilan

Sebelum contoh diambil, susu harus dihomogenkan. Metode , menghomogenkan yang dipilih tergantung dari bentuk dan besarnya kemasan susu serta lamanya larutan berada dalam kemasan tersebut.

Jika kemasan besar, susu harus dihomogenkan lebih lama sehingga contoh susu yang diambil dari bagian permukaan dapat mewakili keseluruhan.



## **Bentuk cair kental**

### Cara Pengambilan

Contoh diambil dari kaleng yang utuh (tanpa cacat), tidak mengembung dan belum dibuka. Kaleng diletakkan dalam penangas air (40°C), kemudian kaleng dikocok agar contoh tercampur rata. Setelah beberapa saat baru tutup kaleng dibuka dan contoh susu di tuang ke dalam lain (Erlenmeyer yang dilengkapi dengan penutup). Sisanya yang berada dalam kaleng dihomogenkan kembali. Demikian juga contoh susu yang menempel pada penutup kaleng harus disertakan dalam pemeriksaan. Contoh susu yang telah diambil yang berada dalam Erlenmeyer, dipanaskan kembali sampai suhu 40°C dan secara hati-hati dihomogenkan, kemudian didinginkan kembali sampai suhu 20°C.

## **Bentuk bubuk/powder**

### Cara Pengambilan

#### Kemasan Besar

- Alat pengambilan contoh harus dapat mencapai bagian dalam (dasar) kemasan susu bubuk. Setelah tersebut mencapai dasar wadah, maka contoh susu segera diambil dan dimasukkan ke dalam wadah lain.
- Contoh susu tidak boleh tersentuh (terkena) oleh tangan pemeriksa. Dianjurkan menggunakan dua alat (bor) sekaligus.
- Jumlah contoh susu yang diambil antara 300 – 500 gram.
- Contoh susu harus dihindarkan dari kelembaban yang tinggi dengan cara wadah contoh susu harus tertutup rapat.

#### Kemasan kecil

- Biasanya susu dikemas dalam kaleng yang tertutup rapat atau dalam kemasan aluminium foil dan dikemas lagi dalam karton. Contoh diambil dari kemasan yang masih tertutup dan disimpan dalam kantong plastik steril, kering dan bersih.

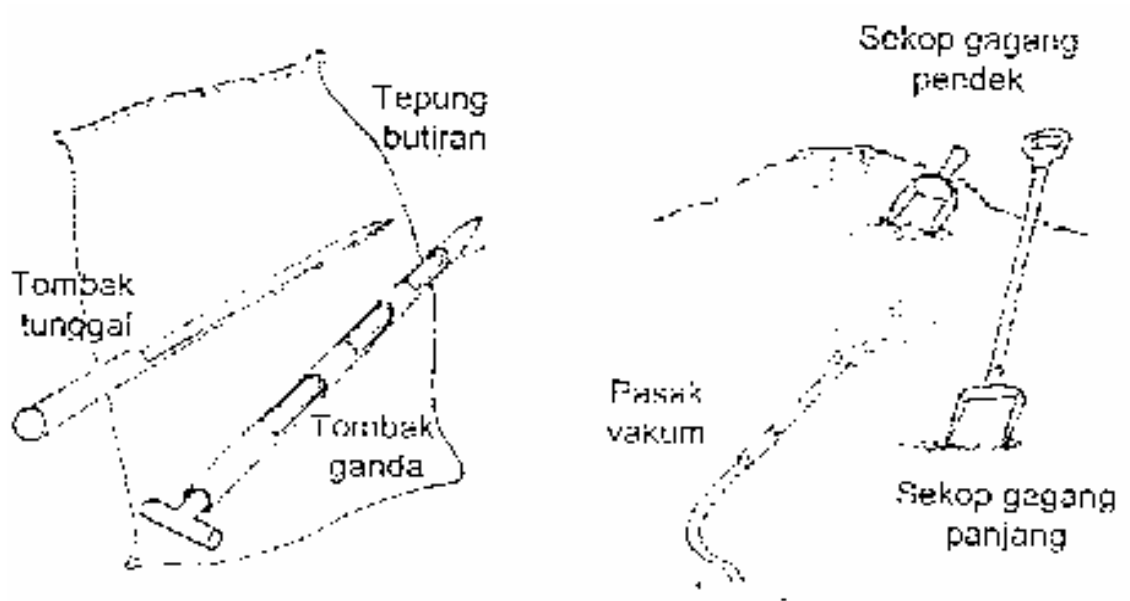
## **Bentuk padat**

### Cara Pengambilan

Untuk bentuk padat misalnya keju cara pengambilan contoh adalah sebagai berikut :

1. Pengambilan contoh dengan cara memotong/mengiris bagian tertentu dari keju.
2. Pengambilan contoh menggunakan alat seperti bor.
3. Menggunakan seluruh bagian keju sebagai contoh.

## Peralatan Pengambilan Contoh



## B. METODA PENGUJIAN

### 2.1. SUSU OLAHAN

#### A. SUSU PASTEURISASI

Pada susu pasteurisasi, telah dilakukan pemanasan baik secara Low Temperature Long Time (LTLT) atau pemanasan suhu rendah dengan waktu lama maupun High Temperature Short Time (HTST) atau pemanasan suhu tinggi dengan waktu singkat. Proses pemanasan ini, bila dilakukan dengan sempurna, menyebabkan enzim peroksidase dan enzim fosfatase pada susu mentah akan terurai, serta matinya agen penyebab penyakit yang terbawa pada susu tersebut. Berdasarkan penjelasan diatas, dapat disimpulkan bahwa bila susu yang di pasterurisasi secara sempurna, dapat dipastikan sudah bebas dari agen penyakit, sehingga pemeriksaan yang dilakukan adalah pengujian terhadap kesempurnaan pengolahan/pasteurisasi susu tersebut.

#### 1). PENGUJIAN KESEMPURNAAN PENGOLAHAN SUSU

##### a. Uji Storch

###### Prinsip

Di dalam susu mentah terdapat enzim peroksidase yang akan terurai atau musnah oleh pemanasan diatas 75 °C. Enzim ini

akan membebaskan oksigen dari larutan peroksida yang ditambahkan ke dalam susu. Oksigen akan mengoksidasikan zat pemulas sehingga warnanya berubah.

Reaksi Storch *akan positif* bila dalam campuran susu tersebut terdapat *lebih dari 5%* susu mentah.

#### Alat dan Bahan

- Tabung Reaksi
- Larutan HCL-parafenildiamin 2% dalam air dan larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,2 – 1%) dalam air.

#### Prosedur

1. Ke dalam tabung reaksi dimasukkan 5 ml contoh susu
2. Tambahkan 2 (dua) tetes larutan HCL-parafenildiamin
3. Tambahkan 1 – 4 tetes larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,5%
4. Susu mentah atau susu yang belum mengalami pemanasan akan berubah warnanya menjadi biru sedangkan susu yang telah dipanaskan pada suhu 77 – 80 °C akan tetap berwarna putih.

### **b. Uji Guayak dan Uji Traventol**

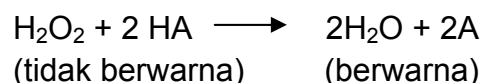
#### Prinsip

Sama dengan uji Storch yaitu untuk membuktikan adanya enzim peroksidase.

#### Prosedur

1. Ke dalam tabung reaksi dimasukkan 5 ml susu
2. Tambahkan 0,5 ml pereaksi Guayak atau larutan Traventol
3. Warna yang terbentuk disesuaikan dengan standar warna yang ada pada kemasan pereaksi tersebut

Reaksi Komia :



HA bertindak sebagai donatur H<sup>+</sup> dan bahan pengoksidasi.

### **c. Uji Heyl**

#### Prinsip

Membuktikan ada tidaknya enzim fosfatase yang akan rusak pada suhu 65 °C.

### Alat dan Bahan

1. Labu Erlenmeyer, tabung reaksi
2. Tablet laktognost (Dinatrium fenil fosfat), Laktognost I (bahan bersifat alkalis) dan Laktognost III (Dibrom-chinon-chloramid) dan contoh susu.

### Prosedur

1. Ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml aquades bersuhu 37 °C dimasukkan 1 tablet Laktognost I dan tablet Laktognost II kemudian dikocok sampai larut.
2. Tambahkan 1 ml contoh susu yang akan diperiksa
3. Inkubasikan pada suhu 37 °C selama 1 jam ± 10 menit
4. Tambahkan Laktognost III, diamkan 10 menit dan lakukan pengamatan
5. Hasil : susu akan berwarna biru bila masih mengandung enzim fosfatase dan akan berwarna coklat keabuan bila susu sudah dipanaskan.

#### **d. Uji Kekeruhan (*Trubungs test nach Aschaffenburg*)**

### Prinsip

Susu yang sudah disterilkan dengan sempurna (susu UHT) tidak mengandung albumin lagi didalamnya.

### Alat dan bahan

1. Labu erlenmeyer, corong, kertas saring
2. Sulfas amonium kristal

### Prosedur

1. Ke dalam labu erlenmeyer 50 ml masukkan 20 ml contoh susu dan 4 gr amonium sulfat kristal
2. Kocok sampai larut
3. Saring sedikit demi sedikit sampai didapatkan filtrat sebanyak 5 ml
4. Filtrat sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi dimasukkan kedalam penangas air mendidih selama 5 menit
5. Lihat hasilnya :
  - Bila filtrat jernih berarti albumin telah tidak ada lagi dalam susu dan sterilisasi telah dilakukan dengan sempurna
  - Bila filtrat keruh berarti albumin masih ada dalam contoh susu tersebut sehingga hasilnya adalah bahwa susu tersebut tidak disterilkan dengan baik

## 2.2. SUSU

Pengujian terhadap agen penyakit pada susu segar dilakukan sebagai surveilans yang dilakukan secara berkala dan bukan dilakukan setiap kali lalulintas susu segar, mengingat masa simpan susu segar sangat singkat sedangkan proses pengujian membutuhkan waktu relatif lama. Pengujian dilakukan terhadap deteksi penyakit sebagai berikut:

### A. PENYAKIT BRUCELLOSIS

#### 1). Brucella Milk Ring Test (BMRT).

Spesimen air susu yang diambil dapat berupa "bulk sample" atau dari tiap individu. Sebelum pengujian dahulu pada suhu 4°C selama 16 – 20 jam. Bila sampel susu dalam pengawet (formalin 10%) yang diterima setelah 48 jam dapat langsung dikerjakan. Hal-hal yang harus diperhatikan pada pengambilan sample. Pengambilan sample yang tidak benar menyebabkan tidak cukupnya kandungan krim (globulus lemak) dalam air susu, ini akan berpengaruh terhadap pembacaan hasil. Terlalu banyak goncangan akan menyebabkan.

Antigen BMRT adalah sel B. Abortus yang sudah mati diwarnai dengan hematoitxylin, yang ditambahkan 0,5% phenol sebagai B. abortus dalam air susu dank rim. Uji ini hanya dilakukan sebagai uji saring (screening test).

Pada uji ini reaksi positif tergantung pada :

"Fat globule agglutin" yang ada dalam air susu. Pada air susu normal sering ada pada bagian permukaan air susu membentuk lapisan krim. Antigen brucella akan beraglutinasi bila ada antibody dalam air susu. Sel antigen akan menempel pada permukaan globulus lemak (fat globule) dan membentuk lapisan krim yang berwarna biru.

Cara uji cincin susu :

- Isikan sample air susu ke dalam tabung reaksi berdiameter 10 mm agar supaya tinggi air susu 2 cm (isi 2 -3 ml air susu).
- Tambah antigen BMRT sebanyak 30 µl.
- Kocok isi tabung dengan hati-hati sampai tercampur, selama satu menit dan simpan dalam rak tabung.
- Inkubasikan selama satu jam pada suhu 37°C.

Pembacaan BMRT berdasarkan kriteria sebagai berikut :

Cincin krim (lap. Krim bagian atas)	Bagian a. Susu (bawah lap. Krim)	Kriteria reaksi	Adanya Aglutinin
Biru terang berbatas jelas dengan bagian susu	Putih	++++	Ada
Biru	Sedikit biru yang berbatasan dengan cincin krim	+++	Ada
Warna cincin dan a. Susu (lapisan dibawahnya sama)	Putih kebiru-biruan	++	Ada
Putih dan sedikit biru	Biru	-	Tidak ada

## 2). Pengujian Elisa

Sampel susu dapat berupa bulk milk, individu, skim milk. Teknik untuk sentrifus total lemak susu dengan kecepatan memungkinkan pemisahan antara lapisan lemak dan lactoserum.

Teknik untuk bagian lemak dengan menuang susu, menunggu secukupnya pemisahan lapisan lemak dan lactoserum.

Prosedur :

1. Tahapan Pendahuluan
2. Prosedur Pengujian

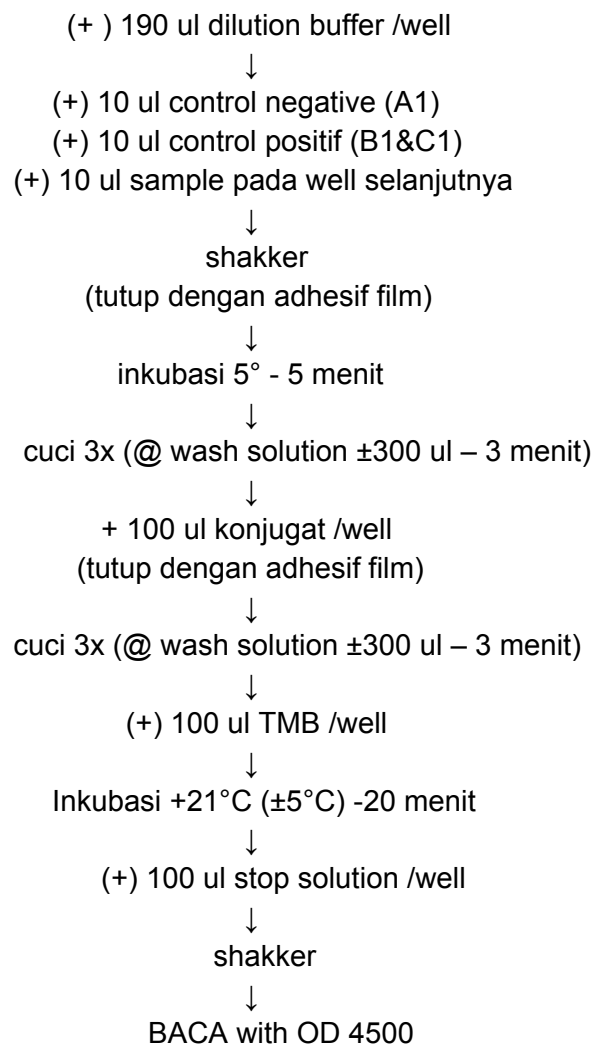
### Elisa Brucellosis Individual & Pool Serum Screening (P04130)

#### Komposisi Kit :

- Mono-well coated microplate (10)
- Wash solution (konsentrasi 20x) - 2x100ml
- Dilution buffer untuk sample – 2x120ml
- Dilution buffer untuk konjugat – 1x120ml
- Kontrol Positif – 1x1ml
- Kontrol Negatif – 1x1ml
- Konjugat Monoclonal anti-ruminant IgG/Peroxidase
- Revelation solution (TMB) – ready to use- 1x120ml
- Stop solution (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M solution) – 1x120ml

- ✚ Pengenceran sample :  
Sample : dilution buffer sample = 1 : 20
  
- ✚ Pengenceran wash solution :  
Wash solution : air destilata = 100 ml : 1900 ml
  
- ✚ Pengenceran konjugat :  
Konjugat : dilution buffer konjugat = 1 : 100

✚ **PROSEDUR :**



Tabel 1. Distribusi serum

N																A
P																B
P	...															C
1																D
2																E
3																F
4																G
5																H

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

✚ Nilai akan valid jika :

Rata-rata nilai OD kontrol positif minimal 0.600

✚ Nilai rata-rata ratio kontrol positif dan kontrol negatif  $\geq 3$

✚ Interpretasi hasil :

Presentasi sample (S/P) :

$$\text{S/P \%} = \frac{100 \times (\text{OD sample} - \text{OD kontrol negatif})}{(\text{OD kontrol positif} - \text{OD kontrol negatif})}$$

✚ Individu sample (serum /plasma) :

- ❖ Negatif : S/P%  $\leq 110\%$
- ❖ Positif : S/P%  $\geq 120\%$
- ❖ Dubius :  $110\% < \text{S/P\%} < 120\%$

✚ Pooled serum

- ❖ Negatif : S/P%  $\leq 20\%$
- ❖ Positif : S/P%  $> 20\%$

### Isolasi Bakteri

Prosedur Pengujian :

- 30 ml air susu dalam tabung sentrifuse diputar dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit
- Cairan yang diatas dibuang ketempat penampungan yang berisi desinfektan
- Krim dan sedimen ditanam pada media selektif ??? dalam cawan petri dengan menggunakan swab dari kapas.
- Kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>o</sup>C dengan penambahan 10% gas CO<sub>2</sub>, diperiksa setelah 4 hari.



- Koloni brucella muncul setelah tiga hari atau lebih, koloninya jernih berwarna madu pucat (kekuning-kuningan), kemudian koloni menjadi lebih besar dan berwarna kecoklatan dengan permukaan cembung.
- Koloni yang diduga kuman brucella


## B. PENYAKIT BOVINE LEUKOSIT VIRUS

### Pengujian Elisa

#### SERELISA BLV Ab MONO INDIRECT (ASBLV 3)

##### **Komposisi Kit :**

- Microplate (4)
- Konjugat Mab anti-bovine IgG/peroxidase (konsentrasi 10 x)
- Buffer Peroxidase Substrat (ready to use)
- Kontrol Negatif (ready to use)
- Kontrol Positif (ready to use)
- Sample diluent (ready to use)
- Wash solution (konsentrasi 10 x)
- Konjugat diluent (ready to use)
- Stop solution (ready to use)
- Adhesif film (12)

 Sample akan lebih baik jika di simpan pada suhu -20°C (freezer)

##### Pengenceran sample

1 : 10 → 10 ul sample + 90 ul sample diluent

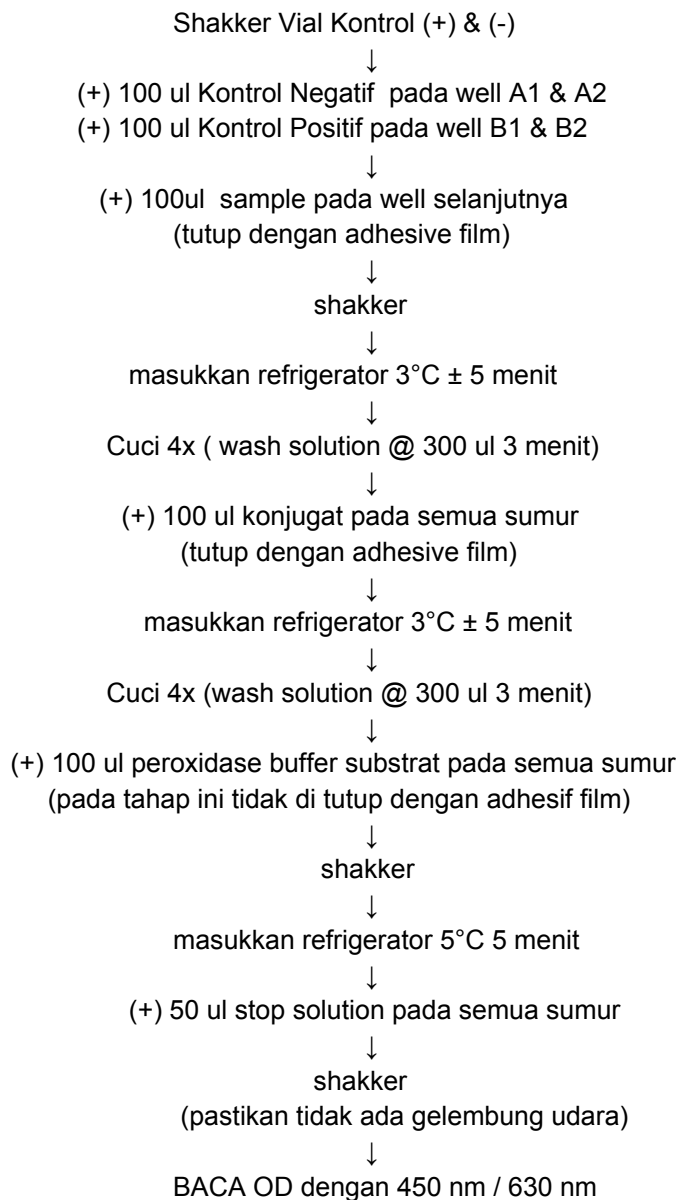
##### Pengenceran Wash Solution

Wash solution : destilate water = 1 : 10

##### Pengenceran Konjugat :

Konjugat : konjugat diluent = 1 : 10

## PROSEDUR :



## Nilai akan valid jika :

- OD Kontrol Positif (OD P) :  $\geq 0.300$
- OD Kontrol Negatif (OD N) :  $< 0.50 \times OD P$

## Interpretasi Hasil :

- Metode 1. Kalkulasi Index

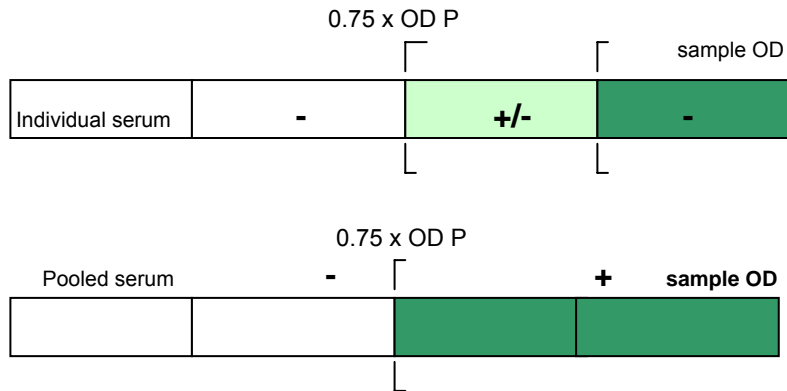
### Pooled Sera

- POSITIF : Index  $\geq -0.125 \times OD P$
- NEGATIF : Index  $< -0.125 \times OD P$

### Individual Sera

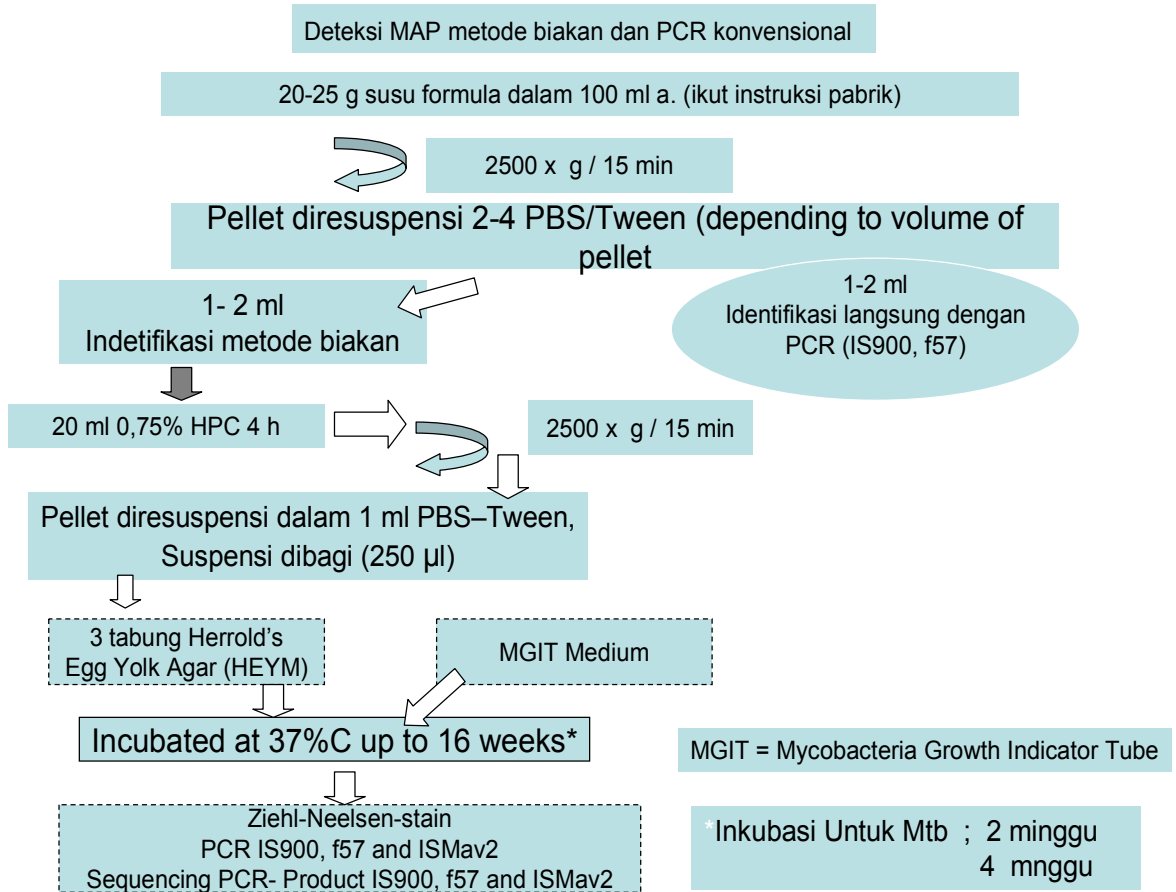
- POSITIF : Index  $\geq 0$
- NEGATIF : Index  $< -0.125 \times OD P$
- DUBIUS : Index antara  $-0.125 \times OD P$  sampai dengan 0

- Metode 2. Analisis OD
  - 0.72 x OD P (nilai ambang positif untuk pools dan nilai negatif untuk individu)
  - OD P (nilai ambang positif untuk individual)



### C. PEMERIKSAAN PARATUBERCULOSIS

Penanganan sampel *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP), dan *Coxiella burnetti* harus dilakukan sebaik dan seaman mungkin bagi petugas.



## Inokulasi dan inkubasi sampel susu untuk pemeriksaan Mycobacterium

1. Inkolasikan 250-300 µl sampel yang telah didekontaminasi dengan HPC pada tabung media isolasi.
2. Rakakan unukolat pada permukaan media tutup tabung tidak terlalu rapatakkkan tabung dan rapatkan tutup.
3. Inkubasi pada suhu 37oC dalam keadaan rebah dengan permukaan media di atas selama 1 minggu.
4. Tegakkan tabung dan rapatkan tutup, biarkan selama: 2-4 minggu untuk MTb dan hingga 24 minggu untuk MAP.
5. Biarkan yang tumbuh selanjutnya di warnai tahan asam dan Diidentifikasi biokimia/P:CR.

- Media isolasi Mycobactium pada umumnya:
- Semisolid (bahan dasar telur/agar)
- LÖ owenstein Jensen (LJ)
- Herrold's egg yolk medium (HEYM)
- Middlebrook 7H-10 dan 7H-11 inkubasi dengan 10%CO2
- Cair:
- MycobacLterium Growth Indicator Tube (MGIT)
- B

## Komposisi media berbahan dasar telur

Komponen	LJ	Ogawa
KH2PO4(potassium dihydrogen phosphate Anhydrous)	2.4 g	9 g
MgSO47H2O (magnesium suphate)	0,24 g	-
Mg. Sitrat	0,6 g	-
Asparagin	3.6 g	-
Na glutamat (sodium glutamat)	-	3 g
Gliserol ( reagen grade)	12 ml	18 ml
Malace green 2%	20 ml	18 ml
Telur bebek / ayam	1000 ml	600 ml

Untuk menekan kontaminasi bakteri dan fungsi ditambahkan antibiotika dan anti fungi seperti penicilin, nalidixic acid, vancomycin, lincomycin dan lain-lain.

Untuk Isolasi *M. bovis* ditambahkan pyruvate sedang untuk MAP ditambahkan Mycobactin J

### **Uji identifikasi MTb**

LJ + asam para-nitrobensoat (PNB) : tidak tumbuh

Uji niasin : positif

Uji nitrat : positif

Uji katalase : negatif pada 68°C

Tidak berpigmen

### **Pewarnaan Tahan Asam Ziehl Neelsen**

Materi dan reagen untuk pewarnaan Ziehl Neelsen: (International Union Against Tuberculosis. Technical guide for sputum examination for tuberculosis by direct microscopy. Bull Int Union Tuberc 1978; (Suppl 2): 4-16)

Larutan A: fuchsin alcohol pekat

Basic fuchsin.....	3 g
Ethanol 96%.....	q.s. 100 mL

Larutan B: Phenol (5%)

Kristal Phenol.....	10 g
Air destilasi hingga volume.....	200 mL
Kemudian:	
Solution.....	10 mL
Solution.....	90 mL

Formula untuk pelarut zat warna

Air, destilasi.....	300 mL
Perlahan tambahkan asam sulfide, hingga volume	30 mL
Atau Ethanol 96%.....	970 mL
Asam hidroklorida.....	30 mL

Larutan pewarna (MB 0,3%)

Methylene blue.....	0.3 g
Air destilasi hingga volume.....	q.s. 100 mL

Fiksasi untuk preparat apus (sampel susu)

1. Contoh susu segar/pasturisasi/larutan susu formula diaduk rata
2. Teteskan larutan susu pada gelas obyek dan ulaskan membentuk luasan 2x3 cm
3. Keringkan preparat ulas pada suhu ruang

4. Setelah kering lakukan fiksasi panas dengan melewati preparat diatas api 2-3 kali (sample kering tetapi tidak gosong)
5. Preparat siap untuk diwarnai

Pewarnaan Preparat Apus:

1. Tutupi semua permukaan ulas sample dengan carbol fuchsin panaskan hingga berasap tetapi tidak sampai mendidih dan biarkan selama 5 menit
2. Cuci gelas obyek di bawah air mengalir. Lunturkan dengan peluntur warna asam alcohol (decolorizing) biarkan selama 3 menit
3. Cuci obyek di bawah air mengalir hingga warna karbol fuchsin hilang
4. teteskan methylene blue pada seluruh permukaan ulas sample selama 1 menit
5. Cuci gelas obyek di bawah air mengalir dan keringkan pada suhu udara

Pembacaan dan pencatatan preparat apus:

Hasil penghitungan	Penilaian/pencatatan
Tidak ditemukan per 100 lapang pandang (LP)	Negatif
1-9 acid-fast bacilli (AFB) per 100 LP	Tulis jumlah temuan
10-99 AFB per 100 LP	+
1-10 AFB per LP pada sedikitnya 50 LP	++
> 10 AFB per LP pada sedikitnya 20 LP	+++

Metode International Union Against Tuberculosis (IUAT)

## Protocol for DNA Extraction from Pure Culture

Dissolve Culture from HEYM with 1ml 0,05% PBS T 20, vortex vigorously



Centrifuge at 13300 rpm 30 min  
Discard 950 µl supernatant, 50 µl TE buffer [ (20mM.Tris. Cl, 2mM EDTA ;  
pH,8) + 1,2% Triton® 100 + lysozyme 20 mg/ml]



Incubation at 37°C 1 hours



Boil the suspension in 100 °C 10 min



+ 30 µl proteinase K (Roche product: 20 µl) directly into solution + 200 µl AL  
buffer (Qiagen Kit)



Incubation at 56 °C 2 hours



Add 200 µl ethanol 99% into the tube and shake for 1 min



Remove solution into the silica filter tube (Qiagen Kit)



Centrifuge at 8 000 rpm 1 min Replace collection tube with the new one and  
put 500 µl buffer AW1 on it



Centrifuge at 8 000 rpm 1 min Replace collection tube with the new one and  
put 500 µl buffer AW2 on it



Centrifuge at 14000 rpm 3 min Put the silica filter tube on the top of new  
collection tube



Fill the with 180 µl buffer AE and wait 2-3 min



Centrifuge at 13 000 rpm 1 min Take the collection tube and dischard the silica filter tube



Freeze Storage (-20°C)

### **Analisa PCR MAP**

1. Primer untuk *M. tuberculosis* : IS 6110
2. Primer untuk MAP : IS 900, F 57, IS Mav2
3. Kit enzyme taq polymerase : roche, applied biosystem, Qiagen, Invitrogen, Promega dll
4. Contoh kondisi PCR : Vansnick et al., (2004
5. Amplifikasi PCR F57 : 50 µl larutan reaksi terdiri: 1.5 µl masing-masing primers (10 pmol/ µl), 1.5 µl dNTP-mix (10 mmol), 5 µl GeneAmp 10x, PCR Gold Buffer (150 mM Tris-HCL, 500mM KCL, pH 8.0), 3.0 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0.35 µl AmpliTaq Gold® polymerase, 32.15 µl aquades steril, dan ditambahkan 5.0 µl DNA template.
6. Preheat : 1 siklus of 94 °C 10 min; 40 siklus [denaturasi: 94 °C 1 min, annealing 58 °C 1 min, extention: 72 °C 3 min], delay thermal 1 siklus pada 72 °C selama 7 min.

### **Elektroforosis**

1. Amplikon 13 µl + 2 µl loading dye solution
2. Separasi menggunakan : 2% gel agarose elektroforesis
3. Tegangan : 120 V selama 50 menit, gel agarose direndam dalam larutan pewarna ethidium bromide selama 5 menit, dicuci dalam aquades 30 menit
4. Gambar didokumentasikan dengan menggunakan UV (245 nm) trans-illuminator dan difoto

## **D. PENGUJIAN KUALITAS MIKROBIOLOGI**

### **Persiapan Larutan Sampel**

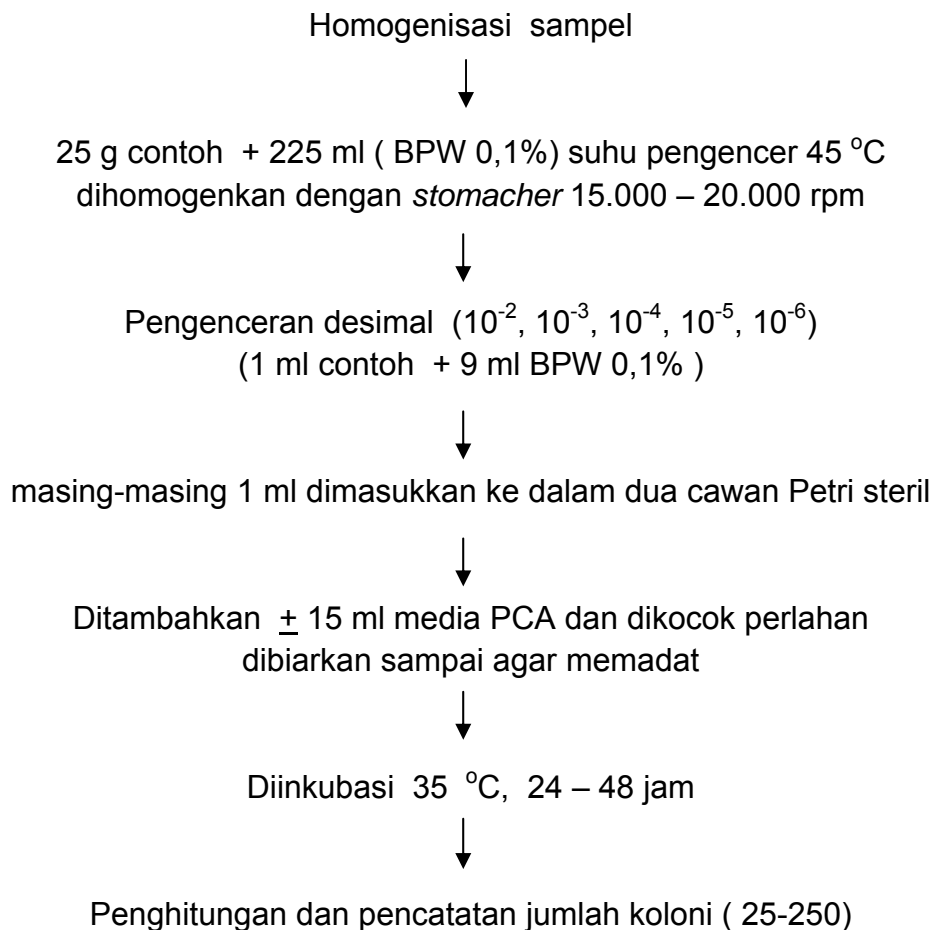
Penghitungan TPC dilakukan dengan menggunakan metode agar tuang (*pour plate*). Susu bubuk ditimbang sebanyak 25 gram, kemudian dilarutkan dengan larutan pengencer BPW 0,1% sebanyak 225 ml (1 : 10)/dianggap sudah 10<sup>-1</sup>, dihomogenkan dengan bantuan *stomacher* 15.000 – 20.000 rpm. . Untuk susu bubuk yang tidak mudah larut dicampur lebih dahulu dengan larutan 1,25% natrium sitrat. Untuk pengenceran awal suhu larutan pengencer 45 °C. Selanjutnya dibuat pengenceran dari 10<sup>-1</sup> menjadi 10<sup>-2</sup> dengan cara : 1 ml larutan sampel pengenceran 10<sup>-1</sup> dimasukkan ke dalam 9 ml BPW 0,1%, kemudian



dihomogenkan. Dengan cara yang sama dibuat pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$ .

### **Pengujian Jumlah Total Bakteri (TPC)**

Setelah diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , dan  $10^{-6}$ , selanjutnya sebanyak 1 ml dari setiap pengenceran masing-masing dimasukkan ke dalam dua cawan Petri (duplo). Ke dalam tiap cawan Petri ditambahkan 12 – 15 ml media *Plate Count Agar* (PCA) yang sudah didinginkan sampai temperatur 45 – 50 °C. Larutan sampel dan media PCA dihomogenkan dengan memutar cawan membentuk angka delapan dan dibiarkan sampai memadat. Kemudian diinkubasikan pada temperatur 35 °C selama 24 – 48 jam. Koloni yang tumbuh dihitung sebagai total mikroba dan jumlah koloni yang dihitung antara 25 – 250 (Gambar 1).



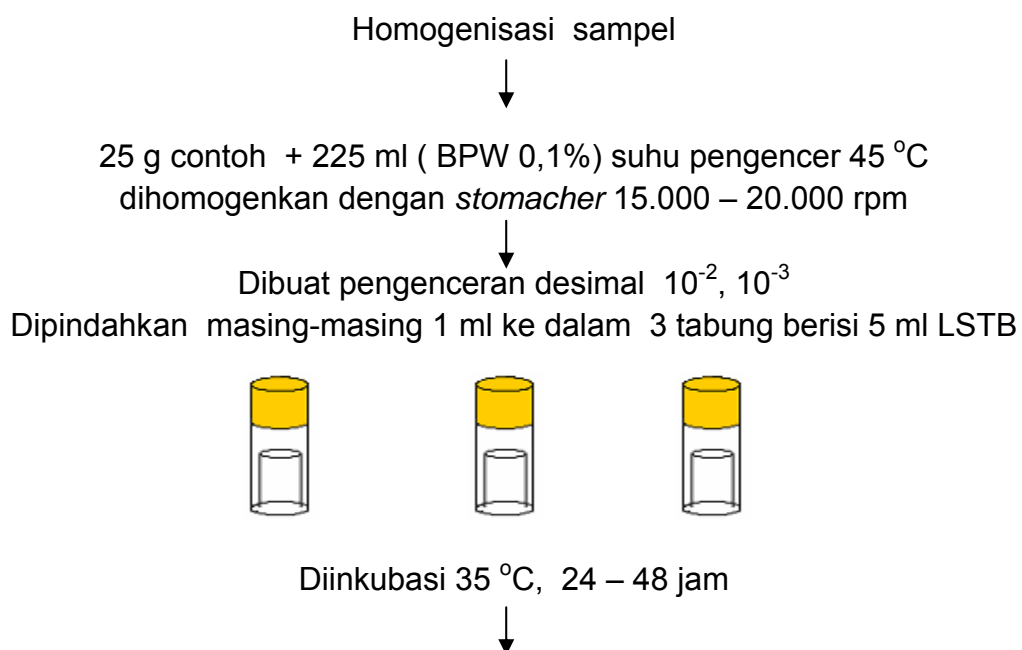
Gambar 1 Metoda pengujian jumlah total bakteri (TPC) [SNI 19-2897-1992]

### Pengujian Jumlah Bakteri *Coliform*

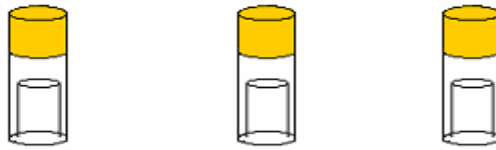
Pengujian jumlah *Coliform* dilakukan dengan dua tahap yaitu uji dugaan dan uji peneguhan. Uji dugaan dilakukan dengan memindahkan 1 ml larutan sampel pengenceran  $10^{-1}$  dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml BPW 0,1% untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$ , dengan cara yang sama seperti diatas dibuat pengenceran  $10^{-3}$ . Selanjutnya masing-masing 1 ml dari setiap pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$  dipipet dan dimasukkan ke dalam 3 tabung yang berisi 5 ml *Lauryl Sulphate Tryptose Broth* (LSTB) yang berisi tabung Durham terbalik.

Kemudian diinkubasikan selama 24 – 48 jam pada temperatur 35 °C. Gas yang terbentuk pada tabung–tabung tersebut adalah hasil positif untuk uji dugaan *Coliform*.

Uji peneguhan dilakukan dengan memindahkan biakan positif menggunakan jarum inokulasi sebanyak 1 ose (sengkelit) dari setiap tabung LSTB ke dalam 10 ml *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB) 2% yang berisi tabung Durham terbalik. Kemudian diinkubasikan ke dalam inkubator temperatur 35 °C selama 24 – 48 jam. Hasil positif uji peneguhan diperoleh apabila terbentuk gas dalam masing-masing tabung. Selanjutnya menggunakan tabel angka paling mungkin (APM)/*most probable number* (MPN) berdasarkan jumlah tabung BGLBB yang positif membentuk gas di dalam tabung Durham sebagai jumlah *Coliform* per gram (Gambar 2).



Dipindahkan 1 ose yang positif gas ke dalam 10 ml BGLBB 2%



Diinkubasi 35 °C, 24 – 48 jam

Tabung – tabung yang menghasilkan gas pada tabung Durham dicatat dan dirujuk ke tabel APM/MPN

Gambar 2 Metoda pengujian *Coliform* (SNI 19-2897-1992)

### **Pengujian Jumlah Bakteri *Escherichia coli***

Pengujian dilakukan dengan uji dugaan, uji peneguhan dan identifikasi melalui uji biokimiawi *Indol*, *Methyl Red* (MR), *Voges-Proskauer* (VP) dan *Citrate* (IMViC). Pengujian dugaan *E. coli* dilakukan sama dengan uji penduga pada *Coliform* dengan medium LSTB. Selanjutnya uji peneguhan dilakukan dengan memindahkan biakan positif dari tabung LSTB dengan menggunakan ose dari setiap tabung ke dalam *EC Broth* yang berisi tabung Durham terbalik. Kemudian diinkubasikan pada penangas air suhu 44 – 45 °C selama 24 – 48 jam. Gas yang terbentuk didalamnya dicatat dan dianggap positif. Hasil uji dinyatakan dengan terbentuk tidaknya gas dalam tabung Durham. Jika terbentuk gas dengan menunjuk pada tabel APM/MPN, dapat dinyatakan APM/MPN *E. coli*. Kemudian dari tabung yang membentuk gas digoreskan pada perbenihan *Violet Red Bile Agar* (VRBA) dalam cawan Petri dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 18 – 24 jam. Dari perbenihan VRBA dipilih koloni berwarna merah gelap yang berdiameter 0.5 mm atau lebih dan diinokulasikan pada *Nutrient Agar* miring dalam tabung, diinkubasi pada suhu 35 °C selama 18 – 24 jam. Dari biakan ini dilakukan pengujian IMViC. Sifat-sifat bakteri *Coliform* dengan uji IMViC dapat dilihat pada Tabel 6.

Uji *Indol* dilakukan dengan menginokulasikan 1 sengkeli dari biakan murni *Nutrient Agar* miring ke dalam *Tryptone Broth*, dan diinkubasikan pada suhu 35 °C selama 18 – 24 jam. Ke dalam tabung ditambahkan 0,2 – 0,3 ml pereaksi indol (reagen Kovac). Warna merah tua pada permukaan menunjukkan reaksi indol positif, warna jingga menunjukkan reaksi indol negatif.

Uji *Methyl Red* dilakukan dengan menginokulasikan 1 sengkeli dari biakan *Nutrient Agar* ke dalam media MR-VP dan

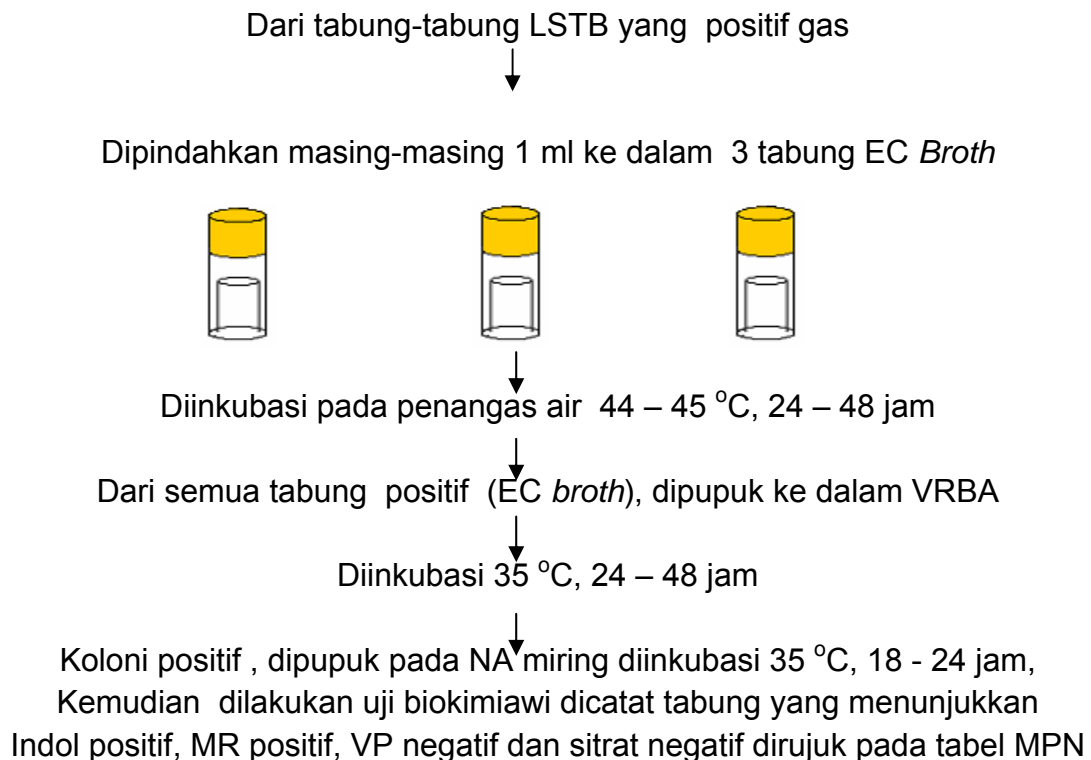
diinkubasikan pada suhu 35 °C selama 18 – 24 jam. Dengan menggunakan pipet, 5 ml dari larutan ini dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 tetes merah metil dan dikocok. Warna kuning menunjukkan reaksi negatif dan warna merah menunjukkan reaksi positif.

Uji *Voges Proskauer* (Uji VP) dilakukan dengan menginokulasikan 1 sengkeli dari biakan *Nutrient Agar* ke dalam MR-VP dan diinkubasikan pada suhu 35 °C selama 48 jam. Dengan menggunakan pipet, 1 ml dari larutan ini dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,6 ml larutan *alfa naftol* dan 0,2 ml larutan kalium hidroksida dan dikocok.

Didiamkan selama 2 – 4 jam. Warna merah muda hingga merah tua menunjukkan reaksi positif, warna tidak berubah menunjukkan reaksi negatif.

Uji Sitrat dilakukan dengan menginokulasikan 1 sengkeli dari biakan *Nutrient Agar* ke dalam perbenihan *Simmons citrate* dan diinkubasikan pada suhu 35 °C selama 48 – 96 jam. Warna biru menunjukkan reaksi positif, warna hijau menunjukkan reaksi negatif

Untuk uji penegasan dengan reaksi biokimiawi dengan menunjukkan uji Indol dan MR positif dan uji VP serta sitrat negatif, dapat dinyatakan penegasan adanya *E. coli* (Gambar 3).



Gambar 3 Metoda pengujian *E. coli* (SNI 19-2897-1992)

Tabel 6 Sifat-sifat bakteri *Coliform* dengan uji IMViC

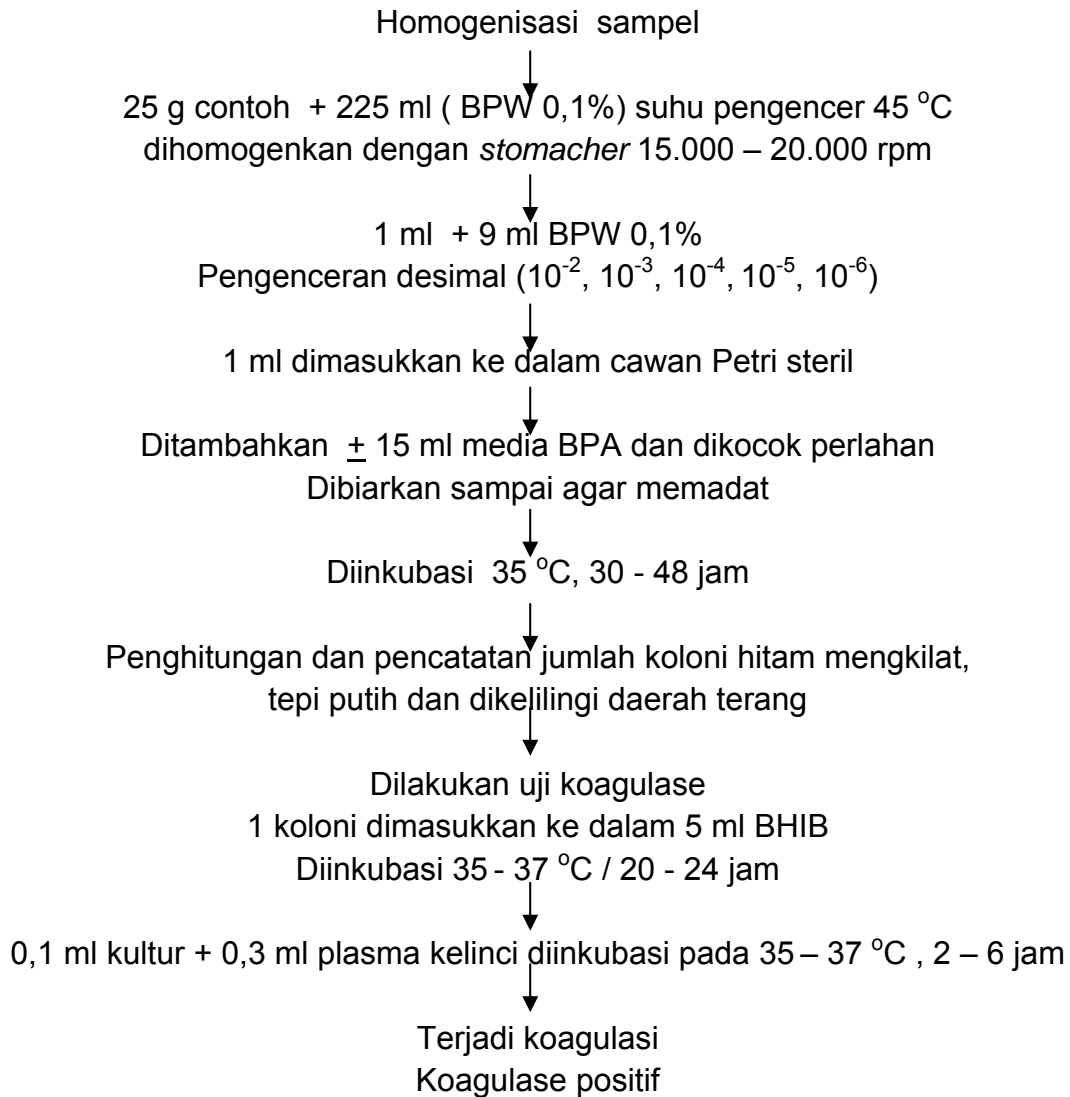
<i>Indol</i>	<i>Methyl Red</i>	<i>Voges Proskauer</i>	<i>Citrat</i>	<i>Type</i>
+	+	-	-	<i>Typical E. coli</i>
-	+	-	-	<i>Atypical E. coli</i>
+	+	-	+	<i>Typical Intermediate</i>
-	+	-	+	<i>Atypical Intermediate</i>
-	-	+	+	<i>Typical E. aerogenes</i>
+	-	+	+	<i>Atypical E. Aerogenes</i>

Sumber : SNI 01-2897-1992

### Pengujian Jumlah Bakteri *Staphylococcus aureus*

Diambil 1 ml larutan sampel pada pengenceran  $10^{-1}$  dengan pipet steril dimasukkan ke dalam 9 ml larutan BPW 0,1% untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Dengan cara yang sama dibuat pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ . Sebanyak 1 ml sampel dari masing-masing pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Ditambahkan 15 – 20 ml media *Baird-Parker Agar* (BPA) yang sudah ditambahkan dengan 5% *Egg Yolk Tellurite Emulsion* (5 ml ke dalam 95 ml medium BPA) pada masing-masing cawan yang sudah berisi larutan sampel. Supaya larutan sampel dan media BPA homogen dilakukan pemutaran cawan membentuk angka delapan. Diinkubasikan pada suhu 35 °C selama 24 – 48 jam dan cawan petri diletakkan terbalik. Dipilih cawan petri yang mengandung koloni 20 – 200. Koloni *S. aureus* berwarna hitam mengkilat, tepi koloni putih dan dikelilingi daerah yang terang.

Uji koagulase dilakukan dengan cara mengambil satu koloni tersangka dan dimasukkan ke dalam 5 ml *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) steril dan dihomogenkan. Diinkubasi pada suhu 35 °C selama 20 – 24 jam. Kemudian dari biakan ini diambil 0,1 ml dan ditambahkan ke dalam tabung steril yang berisi plasma darah kelinci 0,3 ml. Diinkubasi pada suhu 35 °C selama 2 – 6 jam. Jika terjadi koagulasi menunjukkan reaksi positif. Penghitungan jumlah *S. aureus* dalam 1 gram sampel adalah jumlah koloni dalam cawan yang memberikan reaksi koagulase positif dikalikan faktor pengenceran (Gambar 4).



Gambar 4 Metoda pengujian *S. aureus* (SNI 19-2897-1992)

### **Pengujian Bakteri *Salmonella***

Pengujian bakteri *Salmonella* dilakukan dengan cara penyiapan dan homogenisasi sampel, pra-pengkayaan, pengkayaan, penanaman pada media selektif, penegasan dengan uji biokimiawi dan dilanjutkan dengan uji serologis.

Pra-pengkayaan sampel dilakukan dengan menimbang 25 gram sampel ditambahkan 225 ml *Lactose Broth*, kemudian dihomogenkan dengan *stomacher*. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 16 – 20 jam. Dari biakan pra pengkayaan ini dipipet 10 ml, dimasukkan ke dalam 100 ml *Tetrathionate Brilliant Green Broth*, diinkubasi pada suhu 43 °C selama 24 jam (pengkayaan).

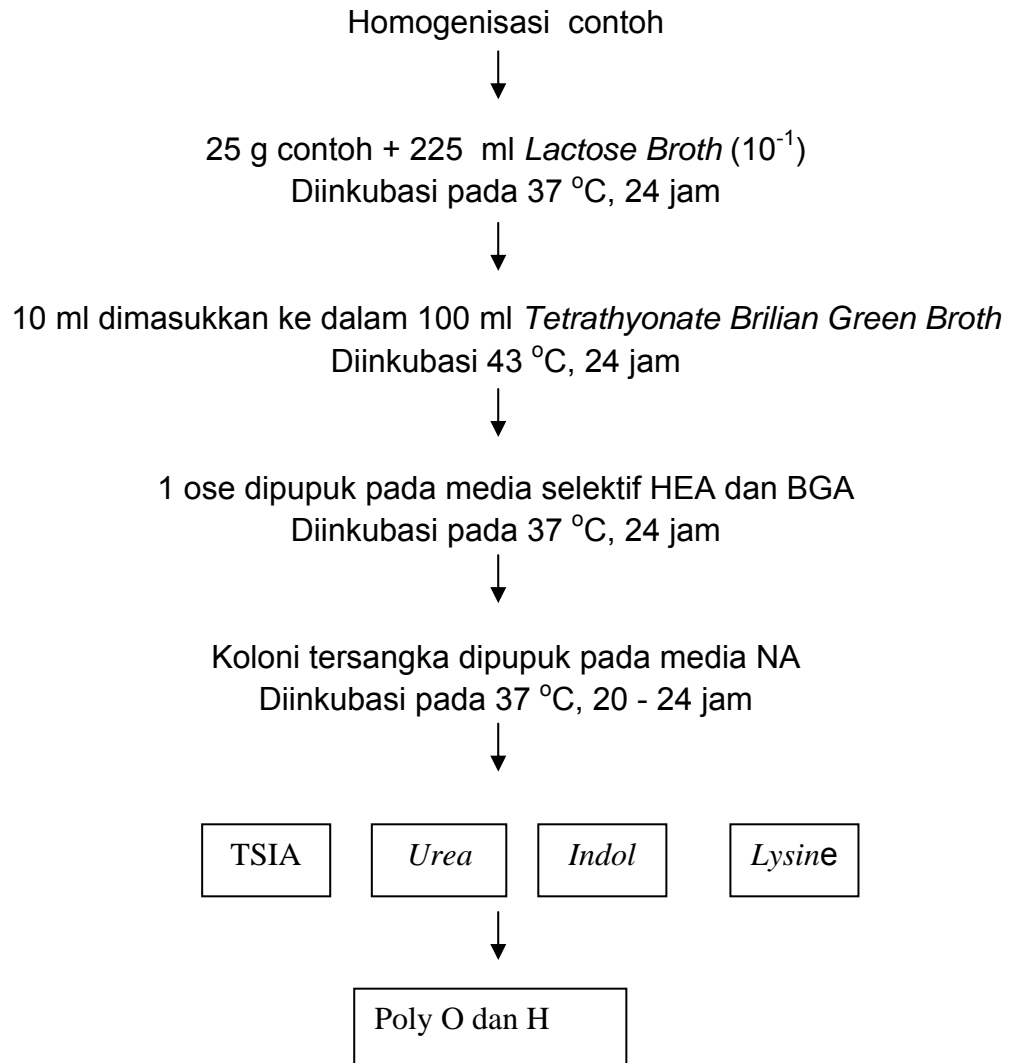
Dari biakan pengkayaan, diambil satu sengkeli kemudian digoreskan pada cawan Petri berisi media selektif *Hektoen Enteric Agar* (HEA) dan *Brilliant Green Agar* (BGA), kemudian

diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni tersangka pada media HEA jika koloni berwarna biru hijau dengan atau tanpa bintik hitam di tengah, sedangkan pada media BGA, jika koloni berwarna merah muda hingga merah atau bening hingga buram dengan lingkaran merah muda sampai merah.

Uji penegasan (uji biokimia) dilakukan dengan terlebih dahulu mengambil koloni tersangka dan digoreskan pada permukaan media *Nutrient Agar* dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 20 – 24 jam. Dari biakan ini diambil satu sengkeli, dipindahkan ke dalam media *Triple Sugar Iron (TSI) Agar*, *Urea Agar*, *Lysine Decarboxylase Medium* dan *Indol Medium*.

Reaksi biokimia *Salmonella* jika pada TSI Agar, bagian tegaknya berwarna kuning dengan atau tanpa warna hitam (H<sub>2</sub>S), bagian miring berwarna merah atau tidak berubah. Pada media Urea Agar, warna media tidak berubah (reaksi negatif), dan pada *Lysine Decarboxylase* berwarna ungu (reaksi positif). Untuk uji Indol, bereaksi negatif dengan warna jingga.

Uji serologi, jika reaksi biokimia menunjukkan ada *Salmonella*. Satu sengkeli dari biakan TSI Agar diambil dan dioleskan pada gelas sediaan. Kemudian antisera ditetaskan disamping biakan. Dengan menggunakan sengkeli, tetesan antisera dan biakan dicampur, bila terjadi penggumpalan menunjukkan uji positif. Jika reaksi biokimia menunjukkan adanya *Salmonella* dan uji serologi positif, maka *Salmonella* dinyatakan positif (Gambar 5)



Gambar 5 Metoda pengujian *Salmonella* (SNI 19-2897-1992)



## BAB IV

### PENUTUP

Demikian Penyusunan Petunjuk Teknis Pemeriksaan Dan Pengujian HPHK pada Susu dan Hasil Olahannya ini disusun untuk dijadikan pedoman dalam penyelenggaraan tindakan karantina terhadap hewan dan produk hewan. Untuk mencegah masuk/tersebar nya hama penyakit hewan karantina (HPHK) melalui media pembawa HPHK yang dilalulintaskan. Hal-hal teknis berkaitan dengan penyusunan pedoman ini yang belum diatur akan disesuaikan kemudian.

Kepala Badan Karantina Pertanian,



Ir. Syukur Iwantero, MS, MBA  
NIP. 080. 069. 615,-

## LAMPIRAN

**Tabel 1 Spesifikasi persyaratan mutu batas maksimum cemaran mikroba pada susu bubuk**

No	Jenis Cemaran Mikroba	Batas Maksimum Cemaran Mikroba (cfu/g atau cfu/ml)
1	Jumlah Total ( <i>Total Plate Count</i> )	$5 \times 10^4$
2	<i>Coliform</i>	0
3	<i>Escherichia coli</i> (pathogen) (*)	0
4	<i>Enterococci</i>	$1 \times 10^1$
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	$1 \times 10^1$
6	<i>Clostridium</i> sp.	0
7	<i>Salmonella</i> sp. (**)	Negatif
8	<i>Camphylobacter</i> sp.	0
9	<i>Listeria</i> sp.	0

Keterangan : \* : dalam satuan MPN/gram atau ml

\*\* : dalam satuan kualitatif

Sumber : SNI No. 01-6366-2000

**Tabel 2 Spesifikasi persyaratan mutu susu bubuk**

No.	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan		
			Susu bubuk berlemak	Susu bubuk rendah lemak	Susu bubuk tanpa lemak
1.	Keadaan - Bau - Rasa	- -	normal normal	normal normal	normal normal
2.	Air	b/b, %	maks 4,0	maks 4,0	maks 4,0
3.	Abu	b/b, %	maks 6,0	maks 9,0	maks 9,0
4.	Lemak	%	min 26,0	1,5 < 26,0	maks 1,5
5.	Protein	%	min 25,0	min 26,0	min 34,0
6.	Pati	%	tidak ternyata	tidak ternyata	tidak ternyata
7.	Cemaran logam - Tembaga (Cu) - Timbal (Pb) - Seng (Zn) - Timah (Sn) - Raksa (Hg)	mg/kg mg/kg mg/kg mg/kg mg/kg	maks 20,0 maks 0,3 maks 4,0 maks 40,0/250* maks 0,03	maks 20,0 maks 0,3 maks 4,0 maks 40,0/250* maks 0,03	maks 20,0 maks 0,3 maks 4,0 maks 40,0/250* maks 0,03
8	Arsen	mg/kg	maks 0,1	maks 0,1	maks 0,1
9	Cemaran Mikroba - Angka Lempeng Total - Bakteri <i>Coliform</i> - <i>E coli</i> - <i>Salmonella</i> - <i>S. aureus</i>	koloni/g APM koloni/g koloni/100 g koloni/g	maks 5 x 10 <sup>5</sup> maks 20 negatif negatif 1x 10 <sup>2</sup>	maks 5 x 10 <sup>5</sup> maks 20 negatif negatif 1x 10 <sup>2</sup>	maks 5 x 10 <sup>5</sup> maks 20 negatif negatif 1x 10 <sup>2</sup>

Keterangan \* : untuk kemasan kaleng

Sumber : SNI 01- 2970-1999

**Tabel 3 Syarat Mutu Susu Segar ( SNI 01-3141-1998, Badan Standardisasi Nasional)**

Karateristik	Syarat
1. Berat jenis (pada suhu 27,5° C) minimum. 2. Kadar lemak minimum 3. Kadar bahan kering tanpa lemak minimum 4. Kadar protein minimum 5. Warna, bau, rasa dan kekentalan 6. Derajat asam 7. Uji alkohol ( 70 % ) 8. Uji katalase maksimum 9. Angka refraksi 10. Angka reduktase 11. Cemaran mikroba maksimum <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Total kuman</li> <li>b. Salmonella</li> <li>c. <i>E.coli</i> (patogen)</li> <li>d. Coliform</li> <li>e. <i>Streptococcus</i> Group B</li> <li>f. <i>Staphylococcus aureus</i></li> </ul> 12. Jumlah sel radang maksimum 13. Cemaran logam berbahaya, maksimum : <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Timbal (Pb)</li> <li>b. Seng (Zn )</li> <li>c. Merkuri (Hg)</li> <li>d. Arsen ( As)</li> </ul> 14. Residu : <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Antibiotika</li> <li>b. Pestisida/ insektisida</li> </ul> 15. Kotoran dan benda asing 16. Uji pemalsuan 17. Titik beku 18. Uji peroxidase	1,0280 3,0 % 8,0 % 2,7 % Tidak ada perubahan. 6 – 7° SH Negatif 3 (CC) 36 – 38 2 – 5 (jam) <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 X 10<sup>6</sup> CFU/ml</li> <li>• Negatif</li> <li>• Negatif</li> <li>• 20/ml</li> <li>• Negatif</li> <li>• 1 X 10<sup>2</sup> /ml</li> </ul> 4 X 10 <sup>5</sup> /ml <ul style="list-style-type: none"> <li>• 0,3 ppm</li> <li>• 0,5 ppm</li> <li>• 0,5 ppm</li> <li>• 0,5 ppm</li> </ul> Sesuai dengan peraturan Keputusan bersama Menteri Kesehatan dan Menteri Pertanian yang berlaku Negatif Negatif 0,520 C s/d -5,60 C positif

**Tabel 4 Syarat Mutu Yogurt ( Berdasarkan SNI-2981-1992, Badan Standardisasi Nasional)**

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan a. penampakan b. bau c. rasa d. konsistensi		Cairan kental Sampai semi padat Normal/khas Asam/khas Homogen
2.	Lemak, %, b/b	%, b/b	Maks. 3,8
3.	Bahan kering tanpa lemak		Min 8,2
4.	Protein (N x 6,37), %, b/b		Min 3,5
5.	Abu	%, b/b	Maks 1,0
6.	Jumlah asam (dihitung sebagai laktat)		0,5 – 2,0
7.	Cemaran logam		
	a. Timbal (Pb)	Mg/kg	Maks. 0,3
	b. Tembaga (Cu)	Mg/kg	Maks. 20,0
	c. Seng (Zn)	Mg/kg	Maks. 40,0
	d. Timah (Sn)	Mg/kg	Maks. 40,0
	e. Raksa (hg)	Mg/kg	Maks. 0,03
	f. Arsen (As)	Mg/kg	Maks. 0,1
8.	Cemaran mikroba		
	a. Bakteri Coliform	APM/g	Maks. 10
	b. E. Coli	APM/g	< 3
	b. Salmonella		Negatif/100g

**Tabel 6 Spesifikasi Persyaratan Mutu Susu Kental Manis  
(Berdasarkan SNI 01-2971-1998, Badan Standardisasi Nasional)**

No	Jenis Uji	satuan	persyaratan	
			I	II
1.	Keadaan a. Bau b. Rasa c. warna  d. Konsistensi		Normal Normal Putih sampai kekuningan  Kental dan Homogen	Normal Normal Sesuai ganda yang ditambahkan dan Kental dan Homogen
2.	Air (b/b)	%	20 - 30	20 - 30
3.	Abu (b/b)	%	1,4 – 2,2	1,4 – 2,2
4.	Protein (NX 6.37), (b/b)	%	7 - 10	Min.6,5
5.	Lemak, (b/b)	%	Min.8,0	Min.8,0
6.	Laktosa (b/b)	%	Min.10	Min.10
7.	Sakarosa (b/b)	%	43 - 48	43 - 48
8.	Bahan Tambahan Makanan a. Pewarna  b. Pemanis buatan  c. Sakarin Siklamat		Sesuai SNI 01-0222-1995 Tidak boleh ada  Tidak boleh ada	Tidak boleh ada  Tidak boleh ada
9.	Cemaran logam : a. Timbal (Pb) b. Tembaga (Cu) c. Seng (Zn) d. Timah (Sn) e. Raksa (Hg)	mg/kg mg/kg mg/kg mg/kg mg/kg	maks. 0,3 maks. 20,0 maks. 40,0 maks. 40,0/250,0* maks. 0,03	maks. 0,3 maks. 20,0 Maks. 40,0 maks. 40,0/250,0* maks. 0,03
10.	Cemaran arsen (As)	mg/kg	maks. 0,1	maks. 0.1

11.	Cemaran mikroba			
	a. Angka lempeng total	koloni/g	maks. $1.0 \times 10^4$	maks. $1.0 \times 10^4$
	b. Bakteri Coliform	APM/g	maks. 10	maks. 10
	c. E. Coli	APM/g	< 3	< 3
	d. Salmonella	per - 100 g	negatif	negatif
	e. <i>Staphylo-coccus aureus</i>	koloni/g	maks. $1,0 \times 10^2$	maks. $1,0 \times 10^2$
	f. Kapang dan Khamir	koloni/g	maks. $1,0 \times 10^2$	maks. $1,0 \times 10^2$