Kebutuhan Alat, Media, Reagen, Baku dan Sampel
Bimtek Mikrobiologi BBPOM Samarinda
4 - 7 Mei 2026

VERIFIKASI METODE ANALISIS ANGKA LEMPENG TOTAL DAN DETEKSI CLOSTRIDIA sp. PADA OBAT BAHAN ALAM

Sediaan Obat Dalam (Karena alt &clostridia dipersyaratkan di obat dalam)
Sampel (pilih salah satu): ± 300 g atau mL

- Serbuk Instan (Jamu Buyung Upik / Jamu Kunyit Asam Sido Muncul Serbuk) → pelarutnya TSB tanpa penetral, keuntungan lebih murah karena tidak pakai Tween 80
- Tolak Angin Cair Sidomuncul → pelarutnya TSB+Tween 80

Nomor Metode Analisa :

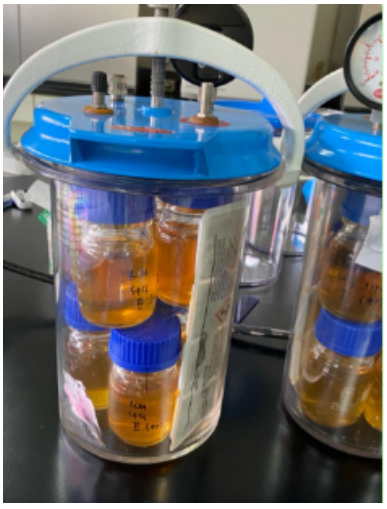
1. Angka Lempeng Total (26/MBM/MA-PPPOMN/23)
2. Deteksi Clostridia
   (13/MBM/MA-PPPOMN/25 → BP) atau
   (142/MBM/MA-PPPOMN/20 → WHO)

MIKROBA BAKU :

1. *Escherichia coli* (ATCC 8739 atau WDCM 00012) → u/ suitability & verifikasi ALT
2. Bacillus subtilis (ATCC 6633 atau WDCM 00003) → u/ suitability ALT
3. S.aureus (ATCC 6538 atau WDCM 00032) → u/ suitability ALT
4. Candida albicans (ATCC 10231 atau WDCM 00054) → u/ suitability ALT
5. Clostridia sporogenes (ATCC 19404 atau WDCM 00008) → u/ suitability & verifikasi Deteksi *Clostridia*

PERALATAN :

1. Anaerobic Jar
2. Anaerocult A
3. Anaerobic indicator test
4. Botol ulir pendek ukuran ±100 mL untuk inkubasi pengkayaan di anaerobic jar (cttn : boleh pakai botol kaca apa saja asal bisa disteril, misal botol bekas egg yolk emulsion)



5. Inkubator 30-35℃ dan 37℃
6. Waterbath suhu 80℃
7. Mikroskop
8. Alat gelas (cawan petri, tabung reaksi ulir, pipet, gelas ukur, dll)

<u>MEDIA DAN PERAKSI</u> :

Media

1. Phosphate buffer solution pH 7,2 atau Buffered Sodium Chloride-Peptone Solution pH 7,0
2. TSB
3. TSA
4. Reinforced medium for Clostridia (RCM) → BP
   Cooked Meat medium → WHO
5. Columbia Agar
6. TSCA (Tryptose Sulfite Cycloserin Agar)
7. Casein-soybean digest agar (SCDA)/ Tryptic Soy Agar (TSA) + 5% defibrinated sheep blood.

Pereaksi

1. Larutan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3%
2. paraffin oil steril → clostri WHO
3. Seperangkat larutan pewarnaan Gram
4. Pewarna spora (malachite green)
5. Reagen API 20 A : XYL, EHR dan BCP
6. Kit API 20 A

Kebutuhan Media

1. TSB atau TSB + 30 g/L Tween 80 = 2 L
2. RCM atau Cooked meat = 30 botol ulir @ 100 mL
3. RCM atau FTM tabung ulir = 10 tabung @ 10 mL
4. Columbia Agar atau TSA Blood = 2 erlenmeyer x 250 mL
5. Phosphate buffer solution pH 7,2/Buffered Sodium Chloride-Peptone Solution pH 7,0 = 1 L
6. TSA (u/ suitability + alt pendahuluan + verifikasi ALT) = 2.500 mL
7. SDA = 250 mL
8. TSCA = 100 mL (u/working culture)
9. Defibrinated sheep blood = 5 mL untuk 100 mL TSA → (jika WHO)

JADWAL TENTATIF
BIMTEK PENGUJIAN MIKROBIOLOGI
BBPOM di Samarinda
4 - 7 Mei 2026

Hari/Tgl	Waktu	Kegiatan
Rabu, 29 April 2026	-	Tanam biakan bakteri *Clostridium sporogenes* dalam TSCA tegak ke tabung ulir berisi 10 mL RCM/FTM segar yang sudah di aerasi sebanyak minimal 2 buah.
Kamis, 30 April 2026	atau dihari lain yang senggang	Uji ALT pendahuluan mikroba 1 Mc Farland *E.coli, S.areus, B.subtilis* (TSA), *C.albicans* (SDA), *C.sporogenes* (TSCA layer/TSA layer/Columbia Agar layer kondisi anaerob)
Kamis 30 April 2026	-	Persiapan Alat dan pembuatan Media
Senin, 4 Mei 2026	07.30 – 08.00	Apel Nasional
	08.00 – 09.00	Pembukaan & Pre-Test
	09.00 – 10.00	Presentasi materi dan Responsi Praktikum
	10.00 – 12.00	Uji suitability ALT dan Verifikasi ALT Obat Bahan Alam
	12.00 – 13.00	ISHOMA
	13.00 – 15.45	Uji Suitability dan Verifikasi Deteksi Clostridia
	15.45 - 16.00	Gores biakan baku *Clostridium sporogenes* dalam RCM ke Columbia Agar / Blood agar
Selasa, 5 Mei 2026	07.30 – 12.00	Uji lanjut suitability *Clostridia* dari pengkaya ke media agar isolasi
	12.00 – 13.00	ISHOMA
	13.00 – 15.00	Pengamatan dan perhitungan koloni uji suitability ALT
	15.00 – 16.00	Diskusi
Rabu, 6 Mei 2026	07.30 – 12.00	Uji lanjut verifikas*i Clostridia* dari pengkaya ke media agar isolasi
	12.00 – 13.00	ISHOMA
	13.00 – 15.30	Uji konfirmasi baku *Clostridium sporogenes* pada Columbia Agar/Blood Agar ke kit biokimia API 20 A, Uji oksidase, Pewarnaan Gram dan Spora
	15.30 - 16.00	Post Test
Kamis, 7 Mei 2026	07.30 – 09.00	Uji lanjut suitability *Clostridia* (konfirmasi: oksidase, pewarnaan mikroskopik dan API 20 A)
	09.00 – 09.30	Pengamatan API 20 A (baku Clostridium sporogenes)
	09.00 – 09.30	Pengamatan jumlah koloni dan perhitungan verifikasi ALT
	12.00 - 13.00	ISHOMA
	13.00 - 16.00	Diskusi dan Pembahasan (Presentasi Hasil oleh Peserta)

Lanjut sendiri:
Jumat 8 Mei 2026 :

- Pengamatan API 20 A suitability
- Uji lanjut verifikasi *Clostridia* dari Columbia Agar / Blood Agar ke uji konfirmasi (Oksidase, Pewarnaan Gram & Spora, API 20 A)

Sabtu 9 Mei 2026

- Pengamatan API 20 A verifikasi