

Sains Malaysiana 41(3)(2012): 325–331

## Penilaian Kaedah Pengiraan *Escherichia coli* dalam Masakan Ayam (Evaluation of *Escherichia coli* Enumeration Methods in Poultry Dishes)

RATNA DEWI ABDUL RAHMAN, NORRAKIAH ABDULLAH SANI\*  
& ABDUL AZIZ JEMAIN

### ABSTRAK

Kajian ini bertujuan untuk memilih kaedah terbaik daripada sebelas kaedah pengiraan *Escherichia coli* dalam masakan ayam. Kaedah-kaedah tersebut adalah piring curahan, piring sebaran, piring titisan, Petrifilm™, tiga jenis pemiringan terus dan empat jenis kaedah bilangan paling mungkin (MPN). Perbandingan kaedah dijalankan mengikut prosedur ISO 16140. Setiap strain *E. coli* (ATCC 25922, IMR 1/3 107B dan IMR E243) telah diinokulasikan ke dalam lima jenis masakan ayam bagi mendapatkan kepekatan bakteria sehingga  $10^5$  cfu/g. Perlakuan haba dibuat pada 55°C selama 4-6 min bagi mewujudkan persekitaran yang seakan-akan sama seperti makanan tersebut dihidangkan sebaik sahaja selepas dimasak. Analisis statistik Regresi Kaedah Kuasa Dua Terkecil (KKDT) dijalankan bagi membandingkan sebelas kaedah pengiraan *E. coli*. Nilai kecerunan ( $m$ ) yang signifikan ( $p < 0.05$ ) pada kesemua Graf KKDT membawa maksud kesemua kaedah adalah serupa daripada segi kejituan, korelasi, dan ketepatan relatif. Oleh itu, penilaian praktikal turut dipertimbangkan bagi menentukan tiga kaedah terbaik bagi pengiraan *E. coli* dalam masakan ayam. Piring curahan, Petrifilm™ dan piring titisan adalah lebih praktikal berbanding lapan kaedah yang lain.

**Kata kunci:** *Escherichia coli*; kaedah ISO 16140; masakan ayam; regresi KKDT

### ABSTRACT

The purpose of this study was to select the best from eleven methods for *Escherichia coli* enumeration in poultry dishes. The methods were pour, spread and drop plating, Petrifilm™, three types of direct plating and four types of most probable number (MPN) methods. Method comparison was carried out based on ISO 16140 procedure. Each type of *E. coli* strains (ATCC 25922, IMR 1/3 107B and IMR E243) were inoculated into five types of poultry dishes to obtain  $10^5$  cfu/g bacterial concentration. Heat treatment was done at 55°C for 4-6 min to mimic the environment as these foods were served right after cooking. The Ordinary Least-Squares (OLS) Regression statistical analysis was carried out to compare eleven methods for *E. coli* enumeration. The significance ( $p < 0.05$ ) of gradient value ( $m$ ) for all OLS Graphs mean that all methods were similar in term of accuracy, correlation and relative accuracy. Thus, practical approaches were also considered in order to select the best from eleven methods for *E. coli* enumeration in poultry dishes. Pour plating, drop plating and Petrifilm™ methods were more practical than the other eight methods evaluated.

**Keywords:** *Escherichia coli*; ISO 16140 method; poultry dishes; OLS regression

### PENGENALAN

*Escherichia coli* merupakan bakteria enteron vegetatif, gram negatif, berbentuk rod, tidak berspora dan anaerob fakultatif. Bakteria ini lazimnya terdapat pada saluran usus haiwan dan manusia (Ramaswamy et al. 2003). Secara amnya, kehadiran bakteria ini dalam makanan dikaitkan dengan proses penyediaan makanan yang tidak bersih dan tidak sempurna (Perales et al. 2008).

Terdapat pelbagai jenis perlakuan yang menyebabkan sel bakteria berada dalam keadaan tertekan iaitu perlakuan haba, beku-cair, asid dan alkali (Murad et al. 2008). Dalam kajian ini, perlakuan haba digunakan bagi mewujudkan persekitaran yang seakan-akan sama sewaktu makanan tersebut dihidangkan sebaik sahaja selepas dimasak. Menurut Lim dan Flint (1995), perlakuan haba telah digunakan secara meluas bagi memusnahkan sel-sel

vegetatif. Pemanasan makanan pada suhu 55°C selama 4 hingga 6 min boleh menyebabkan pengurangan 1 log cfu/g *E. coli* (Mossel et al. 1995). Kecederaan yang dialami oleh *E. coli* semasa perlakuan haba menyebabkan masa pendam selnya meningkat dan dapat menghalangnya daripada dipencilkan pada kebanyakan media selektif. Kesannya, kehadiran *E. coli* pada makanan tidak dapat dicerap (Lim & Flint 1995). Oleh itu, pelbagai kaedah telah dibangunkan bagi memulih semula populasi *E. coli* yang tercedera supaya dapat dipencilkan dari makanan (Kang & Siragusa 2001). Analisis kehadiran bakteria pada makanan amat penting lebih-lebih lagi sekiranya terdapat kes-kes keracunan makanan (Kang & Siragusa 2001).

Namun kepelbagaian kaedah yang digunakan untuk mengira *E. coli* boleh menyukarkan sistem pemantauan dan penguatkuasaan keselamatan dan kualiti makanan.

Adalah menjadi kebiasaan di makmal-makmal di negara membangun melakukan perbandingan kaedah bagi menentukan satu kaedah yang paling sesuai untuk sesuatu spesies bakteria dalam sampel makanan tempatan masing-masing (AOAC 2002) dan seterusnya kaedah tersebut akan dikuatkuasakan dan dijadikan sebagai kaedah rujukan negara. Misalnya, Britain telah mengadaptasikan kaedah ISO 16649-2 (2001) sebagai *British Standard* BS ISO 16649-2 (Roberts & Greenwood 2003).

Memandangkan Malaysia masih lagi perlu penyelarasan kaedah pengiraan *E. coli* pada makanan yang dimasak terutamanya kategori ayam, maka kajian ini dijalankan bagi membandingkan dan memilih kaedah terbaik di antara sebelas kaedah yang boleh diguna pakai. Keberkesanan beberapa kaedah tersebut dinilai berpandukan prosedur ISO 16140 (2003).

## BAHAN DAN KAEDAH

### KULTUR BAKTERIA

Kajian ini menggunakan tiga strain *E. coli* berkod ATCC 25922, *E. coli* IMR 1/3 107 B dan IMR E 243. Sebanyak 0.1 mL pencairan bersiri disebar ke atas agar kiraan piring (PCA) dan dieram pada suhu 37°C selama 24 jam. Kiraan yang dilakukan adalah berdasarkan bilangan koloni yang terbentuk (Sutton 2010).

### SAMPEL MAKANAN

Sebanyak lima jenis makanan iaitu kari ayam, ayam panggang, sup ayam, ayam percik dan puyuh goreng telah dianalisis. Sampel kari ayam, sup ayam dan ayam percik diperolehi dari gerai makanan yang berlainan di sekitar Seksyen 16 Bandar Baru Bangi. Semantara puyuh goreng diperolehi dari Pasar Malam Bandar Baru Bangi. Ayam panggang pula diperolehi dari kantin Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia. Sampel makanan yang diperolehi terdiri daripada pelbagai jenis masakan bagi mewakili kategori makanan yang dikaji iaitu ayam (poultry)

### PENYEDIAAN SAMPEL DAN INOKULASI *E. COLI* DALAM MAKANAN

Sampel kari ayam, sup ayam dan ayam percik yang diperolehi dimasak semula dengan mendidihkannya selama 3 minit sebaik sahaja tiba di makmal. Takat didih setiap makanan adalah berbeza-beza akibat kandungan matriks makanan yang berlainan. Manakala sampel puyuh goreng dan ayam panggang digoreng dan dipanggang semula sebelum di masukkan ke dalam plastik steril yang diperolehi dari makmal. Proses-proses ini dijalankan bagi mengelak kehadiran sel-sel bakteria yang mungkin wujud secara semula jadi akibat terdedah kepada persekitaran. Sampel kawalan dilakukan bagi setiap jenis masakan bagi memastikan proses ini berkesan.

Memandangkan kepekatan *E. coli* sehingga  $10^5$  cfu/g amat sukar diperolehi dalam makanan masak yang dijual

di gerai, maka proses inokulasi *E. coli* perlu dijalankan di makmal. Langkah ini turut dicadangkan dalam prosedur ISO 16140. Manakala kultur sel bakteria yang digunakan adalah dalam keadaan pegun (18 hingga 24 jam pengeraman), sepertimana yang telah dijalankan oleh Murad et al. (2008).

Kajian ini menggunakan 25 g sampel yang terdiri daripada campuran 2.5 mL inokulum dan 22.5 g makanan. Setiap kaldu strain *E. coli* dicairkan pada kepekatan  $10^3$  hingga  $10^7$  cfu/ml dan sebanyak 2.5 mL daripada setiap kepekatan tersebut diinokulasikan ke dalam 22.5 g sampel makanan steril yang telah ditimbang dalam beg *stomacher*. Sampel tersebut dihomogenkan dengan menggunakan alat pengaduk *Stomacher* 400 pada kelajuan normal selama 60 saat. Sebanyak 225 mL Pencair Pemulihan Maksimum (MRD) ditambah dan campuran sampel dihomogenkan sekali lagi. Campuran sampel ini kemudian direndam dalam air rendaman bersuhu 55°C selama 4 hingga 6 min untuk membenarkan penyebaran suhu sampel yang seragam. Menurut Mossel et al. (1995), pemanasan makanan pada suhu dan masa tersebut boleh menyebabkan pengurangan 1 log cfu/g *E. coli* dan ini merupakan aras minimum bagi menyebabkan sel bakteria berada dalam keadaan tertekan.

Berdasarkan konsep pencairan  $M_1V_1=M_2V_2$ , maka sampel tersebut kini mengandungi  $10^1$  cfu/g hingga  $10^5$  cfu/g. Duplikasi dilakukan bagi setiap kepekatan, menjadikannya sebanyak 150 sampel yang dinilai. Kesemua 150 sampel dikulturkan mengikut 11 kaedah mikrobiologi, menjadikannya 1650 bacaan cfu/g yang dicerap bagi kesemua jenis makanan yang telah disenaraikan. Jumlah bacaan cfu/g ini akan bertambah sekiranya terdapat ralat pada kajian dan perlu diulang semula. Memandangkan terdapat banyak sampel yang perlu diproses, maka kajian ini dijalankan secara berperingkat bermula dengan sampel kari ayam, ayam panggang, sup ayam, ayam percik dan berakhir dengan sampel puyuh goreng.

## KAEDAH MIKROBIOLOGI

### KAEDAH 1: MPN AS 5013.15-2003 (3 TIUB X 3, LST 37°C)

Sebanyak 1 mL  $10^1$  cfu/g diinokulasikan ke dalam tiga tiub 10 mL yang mengandungi Kaldu Lauril Triptosa (LST) berjenama OXOID. Langkah ini diulang dengan menggunakan kepekatan  $10^2$  hingga  $10^5$  cfu/g. Tiub-tiub ini kemudiannya dieram pada suhu 37°C. Penghasilan gas diperhatikan setelah 24 dan 48 jam pengeraman. Tiub yang mengandungi gas dilaporkan sebagai positif koliform. Tiub positif dikulturkan ke dalam 10 mL kaldu *E. coli* (ECB) berjenama OXOID bagi ujian pengesahan dan dieram pada suhu 45°C dalam masa 48 jam. Tiub ECB yang mengandungi gas kemudiannya diinokulasi ke dalam 5 mL Air Tripton (OXOID) dan dieram pada suhu 45°C selama 24 jam. Setelah pengeraman, 0.5 mL Reagen Indol (Kovacs) ditambahkan dan sekiranya gelung merah hadir di permukaan tiub, positif *E. coli* dilaporkan.

## KAEDAH 2: MPN AS 5013.15-2003 (3 TIUB X 3, LST 35°C)

Kaedah ini sama seperti Kaedah 1 kecuali suhu pengeraman bagi LST adalah 35°C.

## KAEDAH 3: MPN AS 5013.15-2003 (5 TIUB X 3, LST 35°C)

Kaedah ini sama seperti Kaedah 1 kecuali bilangan tiub meningkat kepada 15 tiub dan suhu pengeraman bagi LST adalah 35°C

## KAEDAH 4: MPN AS 5013.15-2003 (5 TIUB X 3, LST 37°C)

Kaedah ini sama seperti Kaedah 1 kecuali bilangan tiub meningkat kepada 15 tiub dan suhu eraman adalah 37°C.

## KAEDAH 5: PIRING CURAHAN ISO 16649-2

Sebanyak 1 mL kepekatan  $10^1$  cfu/g diletakkan pada piring Petri dan dituangkan 15 mL Agar X-glukuronida Hempedu Tripton (TBX) berjenama OXOID pada suhu 45°C hingga 50°C dan dieram pada suhu 44°C selama 24 jam. Agar TBX merupakan agar kromogenik yang menggunakan substrat 5-bromo-4-kloro-3-indolil- $\beta$ -D-glukuronid untuk mengenalpasti enzim  $\beta$ -D-glukuronidase (GUD). Enzim GUD merupakan indikator untuk *E. coli* dan ia terdapat pada 94–96% strain *E. coli*. Semasa enzim GUD memotong substrat, kromofor akan dibebaskan dan menyebabkan koloni *E. coli* kelihatan berwarna biru hijau. Kesemua koloni biru hijau yang dikenalpasti sebagai *E. coli* dihitung. Langkah yang sama dilakukan bagi kepekatan inokulum  $10^2$  hingga  $10^5$  cfu/g.

## KAEDAH 6: PIRING SEBARAN MAKMAL KESIHATAN AWAM (PHLS) ENGLAND

Sebanyak 0.1 mL kepekatan  $10^1$  cfu/g kultur *E. coli* disebarkan keseluruh permukaan Agar TBX. Kultur dieram pada suhu 44°C selama 24 jam. Kesemua koloni biru hijau yang dikenalpasti sebagai *E. coli* dihitung. Langkah yang sama dilakukan pada kepekatan inokulum  $10^2$  hingga  $10^5$  cfu/g.

## KAEDAH 7: PEMIRINGAN TERUS ISO 6391(1997)

Membran ester selulosa bersaiz liang 0.45  $\mu$ m diletakkan pada permukaan agar bukan selektif iaitu Agar Soya Triptik (TSA) berjenama OXOID. Sebanyak 1 mL kepekatan  $10^1$  cfu/g diletakkan di tengah-tengah membran dan kemudian disebarkan keseluruh permukaan. Pengeraman dilakukan pada suhu 37°C selama 4 jam. Kemudian, membran tersebut dipindahkan secara aseptik pada Agar Hempedu Tripton (TBA) berjenama OXOID dan dieram pada suhu 44°C selama 24 jam. Setelah dieram, membran diletakkan dengan 2 mL reagen indol *Vracko* dan *Sherris* dan dipancarkan dengan sinar ultraunggu selama 30 minit di dalam kabinet arus laminar. Koloni kemerahan dilaporkan sebagai positif *E. coli*. Langkah yang sama diulang bagi kepekatan inokulum  $10^2$  hingga  $10^5$  cfu/g

## KAEDAH 8: PEMIRINGAN TERUS ISO 16649-1

Kaedah ini seperti Kaedah 7 tetapi Agar Glutamat Mineral diubahsuai (MMGA) berjenama OXOID digunakan bagi menggantikan TSA. Manakala Agar TBX pula digunakan dalam kaedah ini bagi menggantikan TBA. Ujian ultraunggu tidak diperlukan. Kesemua koloni biru hijau yang dikenalpasti sebagai *E. coli* dihitung.

## KAEDAH 9: PEMIRINGAN TERUS AS 1766.2.12

Kaedah ini seperti Kaedah 7. Kaedah ini mengecualikan penggunaan TSA dan hanya TBA sahaja digunakan.

KAEDAH 10: PETRIFILM™ *E. COLI* AOAC 991.14

Sebanyak 1 mL kepekatan  $10^1$  cfu/g *E. coli* diletakkan di tengah-tengah petrifilm dan kemudian disebarkan keseluruh permukaan. Pengeraman dilakukan pada suhu 35°C selama 48 jam. Koloni berwarna biru dan mempunyai gelembung gas dikenalpasti sebagai *E. coli* dihitung. Langkah yang sama dilakukan pada kepekatan inokulum  $10^2$  hingga  $10^5$  cfu/g.

## KAEDAH 11: PIRING TITISAN PHLS ENGLAND

Sebanyak 20  $\mu$ L kepekatan  $10^1$  to  $10^5$  cfu/g dtitiskan pada permukaan piring agar TBX yang dibahagikan kepada empat sektor. Pengeraman dilakukan pada suhu 44°C selama 24 jam. Kesemua koloni biru hijau yang dikenalpasti sebagai *E. coli* dihitung.

## ANALISIS STATISTIK

Nombor cfu/g ditukar ke  $\log_{10}$  cfu/g untuk mendapatkan taburan yang simetri. Panduan ISO 16140 (2003) mencadangkan Regresi Kuasa Dua Terkecil digunakan untuk mendapatkan kejituan, korelasi dan ketepatan relatif di antara kaedah yang dibandingkan. Data 5 jenis masakan (kari ayam, ayam panggang, sup ayam, ayam percik dan puyuh goreng) yang mempunyai pelbagai kepekatan *E. coli* di satukan dalam satu Graf Regresi Kuasa Dua Terkecil. Graf-graf dikelompokkan mengikut strain-strain *E. coli* (ATCC 25922, *E. coli* IMR 1/3 107 B dan IMR E 243). Analisis dijalankan menggunakan perisian XLSTAT, Addinsoft™.

## HASIL DAN PERBINCANGAN

## KELINEARAN DAN PEKALI KORELASI

Tiada sebarang bakteria yang wujud pada sampel kawalan bagi kelima-lima jenis masakan. Perbandingan kaedah dianalisis dengan melakukan Graf Regresi. Darjah keserupaan antara kaedah yang dibandingkan tidak memadai hanya berdasarkan nilai pekali korelasi ( $r$ ). Malah penentuan nilai kecerunan dan pintasan juga diperlukan (ISO 16140:2003). Secara teori, persamaan garis linear pada Graf Regresi adalah  $Y = mX + c$  dengan  $m$  kecerunan

dan  $c$  nilai. Nilai kecerunan memberikan gambaran darjah padanan dua kaedah. Sekiranya dua kaedah yang dibandingkan mempunyai pemadanan yang baik bermakna kedua-dua kaedah mempunyai korelasi.

Seperti dalam Rajah 1, didapati kaedah 10 berkorelasi dengan kaedah 1 memandangkan nilai  $r \geq 0.9$  dan kecerunan graf berbeza secara signifikan dengan sifar (nilai- $p < 0.005$ ). Ini menyebabkan hipotesis nul (kecerunan=0) ditolak. Secara teori, hipotesis nul menyatakan bahawa tiada korelasi antara dua kaedah yang dibandingkan ( $H_0$ : kecerunan=0). Manakala hipotesis alternatif menyatakan sebaliknya ( $H_a$ : Kecerunan $\neq 0$ ). Jika diperhatikan, kepekatan *E. coli* ada yang mencapai sehingga  $10^5$  cfu/g walaupun telah ditindakkan dengan perlakuan haba pada suhu  $55^\circ\text{C}$  selama 4 hingga 6 min. Menurut Madigan et al. (2002) *E. coli* merupakan bakteria mesofil, yang mana ia boleh hidup dalam julat suhu optimum di antara  $25^\circ\text{C}$  hingga  $40^\circ\text{C}$ . Namun, apabila berada pada suhu  $55^\circ\text{C}$  selama 4 hingga 6 min, kehadiran *E. coli* boleh berkurangan sebanyak 1 log cfu/g (Mossel et al. 1995). Walau bagaimanapun, ia juga merupakan bakteria yang unik. Sweet (2001) juga menyatakan bahawa ada di antara sel *E. coli* yang masih berupaya untuk hidup walaupun telah dikenakan tindakan suhu setinggi  $100^\circ\text{C}$ . Oleh itu, *E. coli* juga dikategorikan sebagai mikroorganisma yang mempunyai ciri-ciri termofilik (Yoshinori et al. 2006)

Terdapat nilai kecerunan melebihi dan kurang dari 1.00. Contoh dapat diperhatikan dalam kaedah 4 melawan kaedah 1 dan kaedah 1 melawan kaedah 4 bagi strain *E. coli*

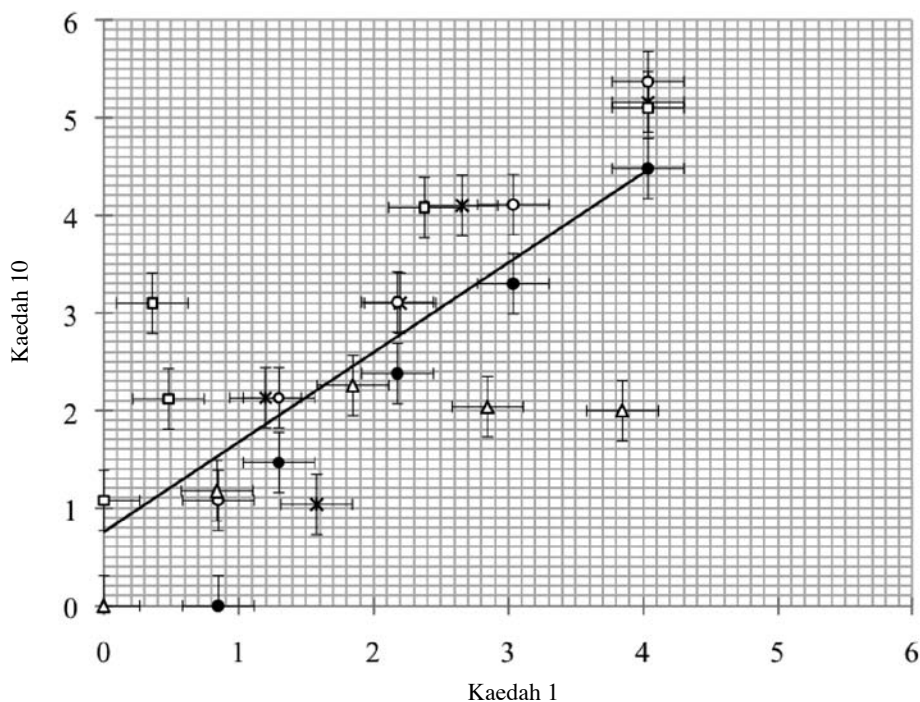
ATCC 25922 (Jadual 1). Semasa kaedah 1 berada dipaksi-X (pemalar) nilai kecerunan lebih daripada 1.00 manakala semasa kaedah 4 sebagai pemalar, nilai kecerunannya pula kurang daripada 1.00. Namun, memandangkan nilai  $r > 0.9$  dan kecerunan (nilai- $p < 0.005$ ), maka analisis ini tetap diterima (ISO 16140: 2003).

Secara keseluruhannya kajian ini mendapati kesemua nilai kecerunan pada ketiga-tiga *strain* bagi setiap jenis makanan adalah signifikan dengan nilai- $p < 0.005$  (Jadual 1). Maka kesemua kaedah kuantitatif *E. coli* adalah berkorelasi antara satu sama lain. Dengan erti kata lain kesemua kaedah mempunyai keserupaan yang baik, oleh itu boleh diterima pakai untuk analisis kuantitatif *E. coli* dalam masakan ayam. Walau bagaimanapun, sekurang-kurangnya tiga kaedah terbaik perlu dipilih daripada sebelas kaedah tersebut. Dalam hal ini, kaedah terbaik dipertimbangkan dari segi praktikal

#### PENILAIAN PRAKTIKAL

Beberapa penilaian daripada segi praktikal turut diperhatikan semasa mengendalikan kajian ini. Penilaian ini juga penting dalam memilih kaedah terbaik terutama sekiranya kesemua kaedah didapati berkorelasi antara satu sama lain (Corry et al. 2003). Daripada penilaian yang dilakukan terdapat beberapa kaedah yang sesuai, mudah dikendalikan serta menjimatkan tenaga kerja dan bahan (Jadual 2). Perkara-perkara ini juga turut diberi perhatian dalam kajian yang dijalankan oleh Hauge et al. (2010).

Regresi Kaedah 10 melawan Kaedah 1



RAJAH 1. Kaedah 10 melawan kaedah 1 bagi sampel kari ayam strain *E. coli* IMR E 243.

Persamaan garis lurus  $Y = mX + c$ , pintasan ( $c$ ) = 0.76, Kecerunan ( $m$ ) = 0.92  $p < 0.05$ ,  $r = 0.98$ ,  $r^2 = 0.96$ .

Sampel kari ayam ( $\Delta$ ), ayam panggang ( $\bullet$ ), sup ayam ( $\times$ ), ayam percik ( $\circ$ ) dan puyuh goreng ( $\square$ )

JADUAL 1. Nilai kecerunan dari graf regresi bagi makanan masak (ayam)

Strain	Paksi- X	Paksi-Y (Kaedah)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1		0.97	0.93	1.13	1.04	1.34	1.47	1.40	1.38	1.57	1.33
	2	0.92		0.90	1.09	1.00	1.20	1.25	1.30	1.24	1.35	1.20
	3	0.93	1.00		1.16	1.06	1.36	1.42	1.37	1.37	1.49	1.27
	4	0.83	0.84	0.81		0.88	1.15	1.27	1.18	1.21	1.30	1.08
	5	0.82	0.83	0.79	0.94		1.12	1.14	1.13	1.14	1.26	1.08
	6	0.67	0.63	0.64	0.78	0.71		1.09	0.96	1.02	1.12	0.92
	7	0.41	0.36	0.37	0.48	0.40	0.60		0.77	0.79	0.86	0.65
	8	0.56	0.55	0.52	0.65	0.58	0.77	1.11		0.95	1.06	0.87
	9	0.56	0.53	0.53	0.67	0.59	0.83	1.15	0.96		1.07	0.86
	10	0.51	0.46	0.46	0.57	0.51	0.72	1.00	0.85	0.85		0.83
	11	0.52	0.48	0.47	0.58	0.54	0.72	0.93	0.85	0.83	1.02	
<i>E. coli</i> IMR 1/3 107 B	1		0.69	0.34	0.86	0.87	0.98	0.97	0.93	0.91	0.77	1.02
	2	0.95		0.80	1.08	1.07	1.25	1.15	1.11	1.27	1.06	1.10
	3	0.41	0.69		0.74	0.71	0.85	0.72	0.74	0.61	0.82	0.49
	4	0.93	0.85	0.67		0.99	1.14	1.08	1.05	0.98	0.96	1.03
	5	0.90	0.81	0.62	0.95		1.12	1.05	1.03	0.97	0.95	1.00
	6	0.77	0.71	0.56	0.83	0.85		0.92	0.90	0.83	0.82	0.88
	7	0.86	0.74	0.54	0.89	0.90	1.05		0.97	0.90	0.86	0.97
	8	0.85	0.74	0.57	0.90	0.92	1.05	1.00		0.90	0.88	0.96
	9	0.95	0.79	0.53	0.95	0.97	1.09	1.05	1.02		0.90	1.03
	10	0.85	0.84	0.76	0.98	1.00	1.15	1.06	1.05	0.95		0.97
	11	0.88	0.69	0.35	0.82	0.83	0.96	0.94	0.90	0.86	0.76	
<i>E. coli</i> IMR E 243	1		0.71	0.79	0.74	0.93	0.96	0.92	0.88	0.85	0.92	0.96
	2	0.86		0.85	0.85	0.90	0.89	0.77	0.81	0.72	0.93	0.86
	3	0.89	0.91		0.90	0.91	0.88	0.62	0.82	0.76	0.82	0.66
	4	0.93	0.89	0.91		0.92	0.90	0.63	0.84	0.70	0.83	0.67
	5	0.74	0.68	0.67	0.60		0.98	1.02	0.93	0.99	1.00	1.07
	6	0.78	0.73	0.71	0.63	1.07		1.09	0.91	0.99	0.99	1.12
	7	0.80	0.74	0.72	0.64	1.09	1.01		0.71	0.82	0.78	1.00
	8	0.85	0.77	0.76	0.69	1.12	1.03	1.02		1.05	1.01	1.11
	9	0.79	0.72	0.71	0.63	1.06	0.98	0.98	0.92		0.89	1.02
	10	0.74	0.69	0.67	0.60	1.01	0.93	0.92	0.87	0.94		1.11
	11	0.66	0.62	0.60	0.53	0.91	0.85	0.84	0.77	0.86	0.90	

Kesemua data mempunyai nilai  $r > 0.90$  dan nilai- $p < 0.05$

Kaedah 1 hingga 4 menggunakan teknik MPN. Menurut Blood dan Curtis (1995), kelemahan nyata teknik MPN ialah melibatkan jangka masa analisis yang panjang bagi mendapatkan hasil, sehingga boleh menjangkau selama

seminggu. Pasti kaedah yang memberikan hasil yang cepat dan memuaskan akan dipilih. Dalam hal ini penggunaan agar TBX sangat bersesuaian kerana tidak memerlukan ujian lanjutan seperti ujian biokimia dan hasil

JADUAL 2. Penilaian praktikal setiap kaedah

Kaedah	Kos		Keadaan untuk Anaerob fakultatif	Tempoh Pengeraman (hari)
	Tenaga Kerja	Bahan		
1. MPN AS 5013.15-2003 (3 × 3 tiub, LST 37°C)	Tinggi	Sederhana	Sesuai	5 - 7
2. MPN AS 5013.15-2003 (3 × 3 tiub, LST 35°C)	Tinggi	Sederhana	Sesuai	5 - 7
3. MPN AS 5013.15-2003 (5 × 3 tiub, LST 35°C)	Tinggi	Sederhana	Sesuai	5 - 7
4. MPN AS 5013.15-2003 (5 × 3 tiub, LST 37°C)	Tinggi	Sederhana	Sesuai	5 - 7
5. Piring Curahan ISO 16649-2	Tinggi	Sederhana	Paling sesuai	1-2
6. Piring Sebaran PHLS, UK	Tinggi	Sederhana	Sesuai	1-2
7. Pemiringan Terus ISO 6391	Tinggi	Sederhana	Sesuai	1-2
8. Pemiringan Terus ISO 16649-1	Tinggi	Sederhana	Sesuai	1-2
9. Pemiringan Terus AS 1766.2.12	Tinggi	Sederhana	Sesuai	1-2
10. Petrifilm™ E. coli	Rendah	Sederhana	Sesuai	1-2
11. Piring Titisian	Tinggi	Rendah	Sesuai	1-2

analisis boleh diperolehi dalam masa satu hari. Kaedah MPN juga susah dikendalikan berbanding kaedah-kaedah lain kerana ia melibatkan penggunaan tiub yang banyak. Tiub yang banyak menyebabkan ruang penggunaan autoklaf bertambah dan memerlukan tempat pengeraman yang besar. Keadaan ini tidak praktikal bagi makmal-makmal yang sentiasa memproses banyak sampel seperti makmal kesihatan awam dan makmal kerajaan yang lain.

Bagi penilaian praktikal kaedah 5 hingga 9 didapati kaedah 5 lebih sesuai bagi *E. coli* yang mempunyai ciri anaerob fakultatif. Kaedah 5 menggunakan teknik Piring Curahan dan kelebihan ia dapat mengenalpasti bakteria walaupun dalam kepekatan rendah berbanding kaedah pemiringan yang lain (Hugo et al. 2004).

Selain Kaedah 5, penggunaan Kaedah 10 didapati sangat praktikal kerana Petrifilm merupakan plat agar yang siap digunakan. Menurut *Association of Official Agricultural Chemist* (AOAC 2000), Petrifilm paling senang dikendalikan disamping penggunaan tenaga kerja yang rendah dan memperoleh hasil yang pantas. Selain itu, teknik kaedah 11 (Piring Titisian) juga amat mudah dan menjimatkan bahan media. Setiap piring Petri dibahagikan kepada empat sektor yang mana setiap sektor dapat diinokulkan dengan kepekatan sampel yang berlainan. Oleh yang demikian, banyak kepekatan sampel yang dapat dimuatkan dalam satu piring Petri. Hal yang sama juga telah dilaporkan oleh Corry et al. (2003).

#### KESIMPULAN

Semua kaedah yang dinyatakan boleh digunakan bagi menghitung ketiga-tiga strain *E. coli* dalam 5 jenis makanan masak (kari ayam, sup ayam, ayam percik, ayam panggang dan puyuh goreng) memandangkan ia berkorelasi antara satu sama lain. Namun, tiga kaedah yang didapati sangat praktikal untuk digunapakai adalah Kaedah Piring Curahan, Petrifilm™ dan Piring Titisian.

#### PENGHARGAAN

Kajian ini telah dibiayai oleh Kementerian Pengajian Tinggi dan UKM di bawah projek UKM-OUP-BTT-28/2007, UKM-OUP-NBT-27-131/2008 dan UKM-GUP-KRIB-14/2008.

#### RUJUKAN

- AOAC (Association of Official Agricultural Chemist). 2000. Coliforms and *Escherichia coli* Count in Foods, Dry Rehydratable Film Methods. *AOAC International*. Maryland: USA
- AOAC (Association of Official Agricultural Chemist). 2002. AOAC International method committee guidelines for validation of qualitative and quantitative food microbiological official method of analysis. *Microbiology Guidelines, AOAC International Approved 4/2002, revised 5/2002*. *AOAC International*. Maryland: USA
- Blood, R.M. & Curtis, G.D.W. 1995. Media for 'total' Enterobacteriaceae, coliform and *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology* 26: 93-115.
- Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W., Baird, R.M. & Weenk, G.H. 2003. Microbiological Assessment of Culture Media: Comparison and Statistical Evaluation Methods. *Handbook of Culture Media For Food Microbiology* 37: 1-24
- Hauge, S.J., Nesbakken, T., Skjerve E., Dommarsnes, K. & Østensvik, Ø. 2010. Evaluation of the SimPlate method for enumeration of *Escherichia coli* in swab samples from beef and lamb carcasses. *International Journal of Food Microbiology* 142: 229-233.
- Hugo, W.B., Denyer, S.P., Hodges, N.A. & Russel, A.D. 2004. *Pharmaceutical Microbiology*. 7<sup>th</sup> Edition. New York: Blackwell Publishing.
- ISO (International Organization for Standardization). 2003. *Microbiology of food and animal feeding stuffs. Protocol for the validation of alternative methods*. Geneva: ISO.
- ISO (International Organization for Standardization). 2001. *Microbiology of Food Animal Feeding Stuff-Horizontal Method for the Enumeration of β-glucuronidase Positive Escherichia coli. Part 1: Coloni Count Technique at 44°C*

- Using Membranes and 5-bromo-4-chloro-3-indolyl\beta*-D-glucuronide. Geneva: ISO.
- Kang, D.H. & Siragusa, G.R. 2001. A rapid twofold dilution method for microbial enumeration and resuscitation of uninjured and sublethally injured bacteria. *Letter in Applied Microbiology* 33: 232-236.
- Lim, C.H. & Flint, K.P. 1995. The recovery of heat-stressed *Escherichia coli* in lake water microcosms. *Letters in Applied Microbiology*. 21: 364-367.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. & Parker, J. 2002. *Brock Biology of Microorganisms*. 10<sup>th</sup> Edition. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice-Hall.
- Mossel, D.A.A., Corry, J.E.L., Struijk, C.B. & Baird, R.M. 1995. *Essentials of the Microbiology of Foods – A Textbook for Advanced Studies*. UK Chichester: John Wiley & Sons.
- Murad, A.A., Linb, M., Hamzah, M.A. & Barbara, A.R. 2008. A comparative study between overlay method and selective-differential media for recovery of stressed *Enterobacter sakazakii* cells from infant formula. *Food Microbiology* 25: 22-28.
- Perales, I., Ramos F. & Audicana, A. 2008. Evaluation of chromogenic media for the detection and enumeration of *Escherichia coli* in food, <http://www.univie.ac.at/chromogenic/>. [7/3/2008].
- Ramaswamy, H.S., Riahi, E. & Idziak, E. 2003. High-pressure destruction kinetics of *E. coli* in apple juice. *Journal of Food Science* 68: 1750-1756
- Roberts, D. & Greenwood, M. 2003. *Practical Food Microbiology*. 3<sup>rd</sup> Edition. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
- Sutton, S. 2010. The most probable number method and its uses in enumeration, qualification, and validation. *Journal of Validation Technology* 6(3): 35-38.
- Sweet S. 2001. *E.coli as a Uropathogen, and its Adaptation and Mutation Capabilities*. <http://www.usingdmannose.co.uk/HealthArticles/knowledge-base/ecoli-superbug.htm>. [8 October 2009]
- Yoshinori M., Takayuki H., Emiko K., Yuko M., Masanori S.S., Mine O., Hisayo S., Mika H.M., Rena M. & Satomi M. 2006. "Genome-wide expression analysis of yeast response during exposure to 4C," *Extremophiles* 10: 117-128.
- Ratna Dewi Abdul Rahman & Norrakiah Abdullah Sani\*  
Program Sains Makanan  
Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan  
Fakulti Sains dan Teknologi  
Universiti Kebangsaan Malaysia  
43600 Bangi, Selangor D.E.  
Malaysia
- Abdul Aziz Jemain  
Program Statistik  
Pusat Pengajian Sains Matematik  
Fakulti Sains dan Teknologi  
Universiti Kebangsaan Malaysia  
43600 Bangi, Selangor D.E.  
Malaysia

\*Pengarang untuk surat-menyurat; email: norrra@ukm.my

Diserahkan: 21 Julai 2011

Diterima: 19 September 2011

