



GRAHA ILMU

Buku Petunjuk
PRAKTIKUM DASAR
MIKROBIOLOGI
PANGAN

Lanny Sapei
Ahmad Robiul Aziz

Buku Petunjuk
PRAKTIKUM DASAR
MIKROBIOLOGI
PANGAN

Buku Petunjuk
PRAKTIKUM DASAR
MIKROBIOLOGI
PANGAN

Lanny Sapei
Ahmad Robiul Aziz



GRAHA ILMU

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM DASAR MIKROBIOLOGI PANGAN

oleh Lanny Sapei; Ahmad Robiul Aziz

Hak Cipta © 2021 pada penulis

Edisi Pertama: Cetakan I ~ 2021



GRAHA ILMU

Ruko Jambusari 7A Yogyakarta 55283

Telp: 0274-889398; 0274-882262; email: info@grahailmu.co.id

Hak Cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apa pun, secara elektronis maupun mekanis, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.

ISBN: 978-623-228-984-0

Buku ini tersedia sumber elektronisnya

DATA BUKU:

Format: 17 x 24 cm; Jml. Hal.: x + 90; Kertas Isi: HVS 70 gram; Tinta Isi: BW; Kertas Cover: Ivori 260 gram; Tinta Cover: Colour; Finishing: Perfect Binding; Laminasi Doff.

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM DASAR MIKROBIOLOGI PANGAN

oleh Lanny Sapei; Ahmad Robiul Aziz

Hak Cipta © 2021 pada penulis

Edisi Pertama: Cetakan I ~ 2021



GRAHA ILMU

Ruko Jambusari 7A Yogyakarta 55283

Telp: 0274-889398; 0274-882262; email: info@grahailmu.co.id

Hak Cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apa pun, secara elektronis maupun mekanis, termasuk memfotokopi, merekam, atau dengan teknik perekaman lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.

e-ISBN: 978-623-228-985-7

DATA BUKU:

Format: 17 x 24 cm; Jml. Hal.: x + 90; Kertas Isi: HVS 70 gram; Tinta Isi: BW; Kertas Cover: Ivori 260 gram; Tinta Cover: Colour; Finishing: Perfect Binding; Laminasi Doff.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karuniaNya penulisan Buku Petunjuk Praktikum Dasar Mikrobiologi Pangan ini dapat terselesaikan dengan baik. Tidak lupa kami ucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu terlaksananya penulisan buku ini sehingga buku ini dapat digunakan sebagai pedoman atau acuan dalam pelaksanaan praktikum dasar mata kuliah mikrobiologi pangan.

Buku ini berisi materi dasar mikrobiologi dan petunjuk teknik dasar dalam melakukan percobaan mikrobiologi, khususnya terkait teknik aseptis, transfer/ pemindahan mikroba, teknik isolasi mikroba, teknik pewarnaan mikroba, dan teknik penghitungan/ enumerasi mikroba. Semoga buku ini dapat membantu para mahasiswa, dosen, guru, atau teknisi dalam memahami mikrobiologi pangan serta menguasai keterampilan dasar dalam pelaksanaan praktikum mikrobiologi di laboratorium. Penulis menyadari bahwa penulisan buku ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kami mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun demi perbaikan buku ini di masa yang akan datang.

Surabaya, Agustus 2021

Tim Penyusun

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
BAB 1 PENGANTAR KESELAMATAN KERJA	1
BAB 2 PENGANTAR MIKROSKOP OPTIK	5
BAB 3 PENGANTAR MIKROBIOLOGI	9
BAB 4 PENGANTAR PERALATAN KERJA	17
 PRAKTIKUM 1:	
TEKNIK ASEPTIS DAN TRANSFER MIKROBA	25
1.1 Transfer mikroba (transfer dari tabung ke tabung)	33
1.2 Transfer mikroba (transfer dari cawan ke tabung)	35
1.3 Transfer mikroba (transfer dari tabung ke cawan)	35
1.4 Teknik isolasi mikroba (<i>streak plate</i>)	36
1.5 Diskusi dan Refleksi	43
 PRAKTIKUM 2:	
TEKNIK PEWARNAAN MIKROBA	45
2.1 Pembuatan <i>smear</i>	47
2.2 Pengamatan mikroba dengan pewarnaan sederhana	49
2.2.1 Pengamatan bakteri dengan pewarnaan sederhana	49
2.2.2 Pengamatan ragi dan kapang dengan pewarnaan sederhana	49
2.3 Pewarnaan spora kapang	49

2.4	Pewarnaan diferensial bakteri (<i>Gram staining</i>)	50
2.5	Pewarnaan endospora dan sel vegetatif bakteri	51
2.6	Diskusi dan Refleksi	58
PRAKTIKUM 3:		
ENUMERASI MIKROBA		
	(Metode Angka Lempeng Total/ALT atau <i>Total Plate Count</i>/TPC)	61
3.1	Penyiapan dan pengenceran sampel secara bertingkat (<i>serial dilution</i>)	63
3.2	Angka Lempeng Total (ALT)/ <i>Total Plate Count</i> (<i>metode tuang/pour plate</i>)	64
3.3	Angka Lempeng Total (ALT)/ <i>Total Plate Count</i> (<i>metode sebar/spread plate</i>)	64
3.4	Identifikasi keberadaan bakteri <i>E.coli</i> pada bahan pangan	73
3.5	Identifikasi keberadaan bakteri <i>S.aureus</i> pada bahan pangan	73
3.6	Diskusi dan Refleksi	78
DAFTAR PUSTAKA		79
LAMPIRAN		81
GLOSARIUM		87

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Mikroskop	6
Gambar 2.	Mikroba-mikroba yang terlibat dalam dunia pangan a) <i>Staphylococcus aureus</i> ; b) <i>Escherichia coli</i> ; c) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , d) <i>Rhizopus</i> sp.	10
Gambar 3.	Media pertumbuhan mikroba (<i>broth</i> , agar miring, dan agar tegak)	13
Gambar 4.	(a) Media padat pada tabung (agar miring) (b) Media padat pada tabung (agar tegak)	14
Gambar 5.	Media padat pada cawan	14
Gambar 6.	Media cair (<i>broth</i>)	15
Gambar 7.	(a) Kawat inokulasi (<i>loop</i>) (b) Kawat inokulasi (<i>needle</i>)	18
Gambar 8.	Spreader	18
Gambar 9.	Tray	19
Gambar 10.	Mikropipet	19
Gambar 11.	Vortex shaker	20
Gambar 12.	Autoklaf	21
Gambar 13.	Inkubator	21
Gambar 14.	Penangas air	22
Gambar 15.	Laminar air flow (LAF)	22
Gambar 16.	(a) Counter pen (b) Colony counter	23
Gambar 1.1.	Bentuk morfologi koloni bakteri	26
Gambar 1.2.	Bentuk tepian koloni bakteri	27
Gambar 1.3.	Bentuk ketinggian pertumbuhan koloni bakteri	27

Gambar 1.4.	Karakteristik koloni bakteri pada media agar tegak	27
Gambar 1.5.	Karakteristik koloni bakteri pada media agar miring	28
Gambar 1.6.	Karakteristik koloni bakteri pada media broth	28
Gambar 1.7.	Pola goresan isolasi 4 kuadran	28
Gambar 1.8.	Desinfeksi meja kerja dan peralatan yang digunakan	29
Gambar 1.9.	Skema transfer mikroba dari tabung ke tabung	33
Gambar 2.1.	Contoh bakteri Gram positif dan Gram negatif setelah dilakukan pewarnaan diferensial	44
Gambar 2.2.	Area pembagian kaca preparat	46
Gambar 2.3.	Prosedur penyiapan <i>smear</i> mikroba dan <i>heat fixation</i>	46
Gambar 2.4.	Prosedur pewarnaan Gram (<i>Gram Staining</i>)	49
Gambar 2.5.	Prosedur pewarnaan endospora bakteri	50
Gambar 3.1.	Prosedur pengenceran sampel secara bertingkat untuk plating	63
Gambar 3.2.	Prosedur teknik plating sampel (<i>pour plate</i> dan <i>spread plate</i>)	64

PENGANTAR KESELAMATAN KERJA

Keselamatan kerja di dalam laboratorium merupakan hal yang penting bagi para peserta praktikum agar terhindar dari kecelakaan serta insiden yang tidak diinginkan. Pada praktikum mikrobiologi pangan, banyak prosedur kerja yang berhubungan langsung dengan mikroorganisme hidup. Mikroorganisme tersebut sangat berpotensi mengkontaminasi dan membahayakan peserta praktikum dan juga lingkungan sekitar. Oleh sebab itu, prosedur *safety* dasar serta prosedur aseptis wajib dipahami oleh para peserta praktikum. Selain itu, bekerja secara hati-hati dan aseptis juga dapat meminimalkan resiko kontaminasi terhadap objek yang sedang diteliti untuk memperoleh hasil pengujian mikrobiologis yang diharapkan.

Prosedur *safety* dasar :

1. Saat memasuki laboratorium letakkan tas, buku, dan semua barang yang tidak berhubungan dengan praktikum pada rak yang telah disediakan.
2. Sebelum memulai praktikum, bersihkan meja kerja dengan desinfektan yang telah disediakan.
3. Jangan meletakkan peralatan yang rentan terkontaminasi seperti *loop*, *needle*, dan pipet di atas meja kerja. Peralatan-peralatan tersebut wajib disterilkan terlebih dahulu sebelum dan sesudah digunakan.
4. Sedapat mungkin bekerja secara aseptis di ruang *laminar air flow* (LAF) selama melakukan percobaan menggunakan mikroba.
5. Pengambilan kultur cair atau suspensi dan bahan kimia harus menggunakan pipet dengan bantuan *filler* atau menggunakan mikropipet.

6. Jika menggunakan jarum inokulum (*loop/ose*), ujung jarum harus dibakar sampai memijar sebelum dan sesudah bekerja menggunakan alat ini.
7. Setelah praktikum selesai, letakkan kultur mikroba dan sampel yang mengandung mikroba di tempat khusus pembuangan mikroba yang telah disediakan.

Pencegahan cedera dan kecelakaan kerja :

1. Sebelum masuk dan meninggalkan laboratorium, cuci tangan dengan sabun antiseptik, kemudian keringkan dengan tisu yang telah disediakan. Gunakan sarung tangan dan semprotkan alkohol 95% pada sarung tangan sebelum memulai percobaan.
2. Rapihan rambut dan gunakan ikat rambut jika diperlukan untuk mencegah terbakarinya rambut.
3. Gunakan jas lab selama berada di dalam laboratorium.
4. Gunakan sepatu yang menutupi kaki secara keseluruhan.
5. Jangan menggunakan kosmetik atau lensa kontak selama berada di dalam laboratorium.
6. Jangan makan dan minum selama berada di dalam laboratorium.
7. Jangan membawa kultur mikroba yang masih hidup keluar dari laboratorium.
8. Bila kultur tumpah, gunakan sarung tangan dan segera usap dengan tisu pada tumpahan dan beri larutan desinfektan, kemudian setelah 15–30 menit, buang tisu di tempat pembuangan mikroorganisme yang telah disediakan.
9. Bila ada alat gelas berisi kultur yang pecah, bersihkan tumpahan dan buang pecahan kaca pada tempat pembuangan yang telah disediakan.
10. Apabila kultur tertumpah ke jaslab, segera semprot dengan desinfektan dan segera mencuci tangan dengan sabun/air hangat apabila kulit terkena kultur mikroba.
11. Segera lapor kepada instruktur praktikum (dosen, laboran, atau asisten dosen) bila terjadi kecelakaan kerja seperti terbakar atau tersayat benda tajam.
12. Selalu gunakan sarung tangan dan masker bila bekerja dengan kultur mikroba.
13. Gunakan *googles* bila diperlukan.

14. Jangan gaduh atau bercanda selama berada di dalam laboratorium.
15. Bila ragu-ragu terhadap prosedur kerja, tanyakan pada instruktur praktikum (dosen, laboran, atau asisten dosen).

-oo0oo-

Buku Petunjuk PRAKTIKUM DASAR MIKROBIOLOGI PANGAN

Mikroorganisme sangat erat kaitannya dengan dunia pangan karena dapat membantu proses fermentasi, namun terlibat pula dalam kerusakan dan pembusukan makanan yang dapat mempengaruhi mutu produk pangan. Beberapa mikroba patogen yang seringkali mengkontaminasi bahan pangan seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria spp.*, dan *Salmonella spp.* bahkan dapat menyebabkan penyakit (*food borne diseases*) yang perlu diantisipasi dalam kaitannya dengan aspek keamanan pangan. Untuk itu, penting sekali untuk memiliki pemahaman yang cukup baik terkait karakteristik mikroba seperti bakteri, ragi (khamir), dan kapang yang banyak berperan dalam dunia pangan. Pembelajaran di bidang mikrobiologi ini akan jauh lebih efektif apabila ditunjang oleh pengalaman 'hands on' di laboratorium.

Buku petunjuk praktikum ini memberikan gambaran dasar terkait pengantar mikrobiologi dan pengenalan mikroskop disertai dengan penguasaan teknik-teknik dasar untuk melakukan percobaan mikrobiologi secara aman dan efektif. Praktikum terkait teknik aseptis, transfer/ pemindahan mikroba, teknik isolasi mikroba, teknik pewarnaan mikroba, dan teknik penghitungan/ enumerasi mikroba menggunakan metoda *Total Plate Count* (TPC) dipandu secara sistematis dan terstruktur.



Dr.rer.nat. Lanny Sapei, S.T., M.Sc. Lulus S-1 di Program Studi Teknik Kimia ITB tahun 2000, lulus S-2 di bidang Biobased Materials dari Universitas Reutlingen, Jerman tahun 2004, dan lulus S-3 di bidang Kimia Inorganik dari Universitas Potsdam, Jerman tahun 2007. Melakukan riset di bidang emulsi pangan di Universitas Ryerson, Toronto, Kanada hingga 2010. Sejak tahun 2012 aktif sebagai dosen tetap di Program Studi Teknik Kimia Universitas Surabaya.



Ahmad Robiul Aziz, S.T. Lulus S-1 di Program Studi Teknik Kimia bidang peminatan Teknologi Proses Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Surabaya tahun 2020. Pernah menjadi asisten mata kuliah pengantar teknologi bioproses, mikrobiologi pangan, dan mikrobiologi lingkungan. Mendampingi mahasiswa selama melakukan praktikum dasar mikrobiologi seperti teknik aseptis, transfer mikroba, pewarnaan mikroba, enumerasi mikroba, dan analisa pertumbuhan mikroba



GRAHA ILMU

ISBN: 978-623-228-984-0



9 786232 289840