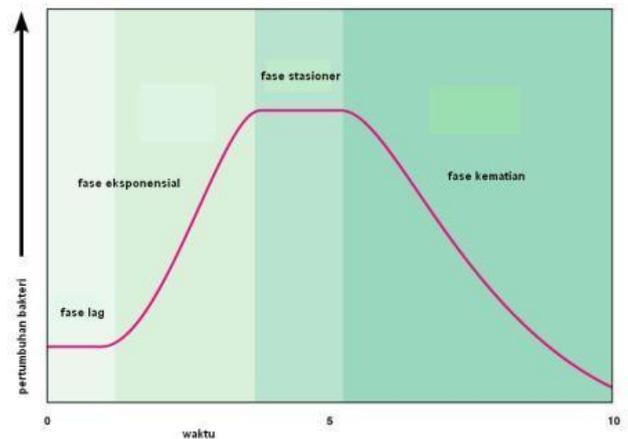


# PETUNJUK PRAKTIKUM

## MIKROBIOLOGI PANGAN



**LABORATORIUM MIKROBIOLOGI**  
**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN**  
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**

**2013**

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG

Visi

Menjadi pusat penyelenggaraan Catur Dharma Perguruan Tinggi dibidang pangan berbasis pangan fungsional yang profesional, berjiwa wirausaha dan berwawasan global yang Islami pada tahun 2032

Misi

1. Menyelenggarakan pendidikan bidang pangan yang didasarkan pada pemanfaatan teknologi informasi dan kewirausahaan berwawasan global.
2. Mengembangkan pengkajian pangan fungsional.
3. Profesionalisasi sivitas akademika Program Studi S1 Teknologi Pangan.
4. Meningkatkan kualitas dan kuantitas penelitian, pengabdian dan publikasi Ilmiah.
5. Menjalni kerjasama dengan pemerintah, institusi pendidikan, dan industri bidang pangan.
6. Mengembangkan kehidupan Islami di lingkungan kampus.

Tujuan

1. Menghasilkan sarjana bidang pangan yang memiliki:
  - a. Penguasaan Ilmu di bidang pangan.
  - b. Daya saing ditingkat nasional dan internasional
  - c. Mampu memanfaatkan teknologi informasi dalam mengembangkan teknologi pangan
  - d. Memiliki jiwa wirausaha
2. Dapat melaksanakan pengkajian pangan fungsional berdasarkan Ipteks terkini
3. Menghasilkan sumber daya manusia yang bercirikan :
  - a. Sesuai dengan standar kompetensi
  - b. Dapat melakukan tugas-tugas secara efektif dan efisien
  - c. Mampu mengidentifikasi permasalahan di masyarakat dan merumuskan alternatif dan strategi pemecahannya
  - d. Mampu berfikir kritis dan analitis dalam menyelesaikan permasalahan di masyarakat serta dapat menyesuaikan diri dalam situasi baru
4. Menghasilkan penelitian dengan memanfaatkan sumber daya alam bidang pertanian untuk menghasilkan produk pangan dan pangan fungsional dalam rangka mendukung kesehatan dan kesejahteraan masyarakat
5. Melaksanakan pengabdian pada masyarakat yang didasarkan pada hasil-hasil penelitian dan kebutuhan masyarakat
6. Menghasilkan publikasi ilmiah hasil-hasil penelitian dan pengabdian baik regional, nasional maupun internasional.
7. Terjalinnnya hubungan baik dengan pemerintah, institusi pendidikan, dan industri bidang pangan dalam rangka penyelenggaraan Catur Dharma Perguruan Tinggi
8. Memperluas jejaring marketing Program Studi Teknologi Pangan
9. Meningkatkan daya serap lulusan
10. Membentuk akhlaqul karimah pada seluruh sivitas akademika Program Studi Teknologi Pangan

## KATA PENGANTAR

Segala Puja dan Puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas segala hikmah dan karuniaNya yang telah diberikan kepada para penyusun buku petunjuk Praktikum Mikrobiologi Pangan, sehingga buku petunjuk praktikum ini dapat sampai kepada para pembaca dan pengguna. Melengkapi pustaka yang ada di Laboratorium Biologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, referensi yang ada dalam buku ini banyak mengacu kepada Panduan Praktikum Mikrobiologi Pangan dari Fakultas Ilmu Perikanan Unibraw Malang dengan penambahan beberapa referensi lainnya.

Semoga bermanfaat.

Penyusun

Februari 2013

## DAFTAR ISI

Visi dan Misi .....	i
Kata Pengantar .....	ii
Daftar Isi .....	iii
Tata Tertib .....	iv
1. Perhitungan Total Mikroba Halofilik dan Halotoleran.....	1
2. Perhitungan Bakteri Proteolitik .....	6
3. Perhitungan Total Mikroba Psikotrofik .....	11
4. Pengaruh Rempah-Rempah Terhadap Pertumbuhan Mikroba .....	16
5. Perhitungan Bakteri Lipolitik pada Produk Perikanan .....	24
6. Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Pertumbuhan .....	29
7. Perhitungan Total Bakteri Gram Positif dan Negatif .....	34

Lampiran

## TATA TERTIB LABORATORIUM MIKROBIOLOGI

### KEWAJIBAN

1. Memeriksa kelengkapan alat dan melaporkan setiap kerusakan alat pada laboran, staf / kepala laboratorium
2. Mengisi daftar hadir dan melaporkan kegiatan individual kepada kepala laboratorium.
3. Memahami dan mengikuti petunjuk penggunaan alat, dan mengisi daftar isian kartu alat.
4. Membersihkan sisa praktikum / penelitian pada setiap meja dan wastafel tempat anda bekerja.
5. Kegiatan mahasiswa dilaboratorium harus diketahui kepala laboratorium atau penanggung jawab praktikum, menggunakan jas lab dan mengisi kartu peminjaman alat.
6. Setiap pemakaian alat (elektrik, mekanik, optik, atau perpaduannya) wajib memahami petunjuk pemakaian dan mengisi format isian pada kartu alat.
7. Bila terjadi kerusakan terhadap alat, setiap pemakai wajib mengganti kerusakan komponen atau alat dengan spesifikasi yang setara.
8. Peralatan yang telah selesai digunakan dikembalikan kepada laboran dalam keadaan bersih dan kering.
9. Setelah melakukan kegiatan, ruangan laboratorium harus dalam keadaan bersih.

## TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Setiap praktikan wajib mengikuti praktikum yang ditentukan.
2. Lima belas menit sebelum acara praktikum dimulai praktikan harus berada di ruang praktikum.
3. Praktikan wajib menjaga ketenangan, kebersihan dan kesopanan di ruang praktikum.
4. Praktikan tidak diperkenankan makan, minum dan merokok di ruang praktikum.
5. Setiap praktikan wajib mengenakan jas laboratorium.
6. Sebelum acara praktikum dimulai praktikan harus sudah siap dengan acara praktikum yang akan dilaksanakan.
7. Sebelum diadakan praktikum selalu diawali dengan pre-test.
8. tidak diperkenankan membuat laporan praktikum tanpa mengikuti acara praktikum.
9. Praktikan yang tidak mengumpulkan laporan pada acara praktikum bersangkutan akan diberi nilai nol.
10. Laporan dikumpulkan pada acara praktikum berikutnya.
11. Praktikan yang tidak mengikuti acara praktikum tidak diperbolehkan praktikum susulan atau inhall.
12. Nilai praktikum diambil dari:
  - Pre-test, aktivitas, dan laporan.
  - Ujian praktikum.
13. Hal – hal yang belum diatur dalam tata tertib ini akan ditentukan kemudian.

# MATERI 1

## Perhitungan Total Mikroba Halofilik dan Halotoleran

### 1. PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Perairan laut merupakan tempat hidup berbagai mikroorganisme. Antara mikroorganisme dan makroorganisme yang lain akan terjadi interaksi seperti bakteri akan bersimbiosis dengan organisme yang hidup diperairan seperti plankton, zooplankton, ikan, udang, kerang, (Alcarno, 1995). Keadaan salinitas laut sangat memungkinkan bagi bakteri halofilik untuk hidup. Beberapa genus yang dapat ditemukan adalah *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* dan *Achromobacter* (Pelczar and Roger, 1965). Salah satu species *Vibrio* adalah terdapat di air laut adalah *Vibrio parahaemolyticus*, Marlina (2008).

Mekanisme pengawetan oleh garam adalah sebagai berikut: larutan garam mempunyai tekanan osmotik yang tinggi, dapat menyebabkan berkurangnya kadar  $a_w$ , sehingga air bebas yang dapat ditumbuhi mikroba menjadi terbatas. Ion-ion Cl yang terdisosiasi dari NaCl dapat meracuni mikroorganisme patogen. Garam dalam suatu substrat bahan pangan dapat menekan kegiatan pertumbuhan mikroba tertentu, yang berperan dalam membatasi air yang tersedia, mengeringkan protoplasma dan menyebabkan plasmolisis atau pengeluaran isi sel akibat dari pengeluaran air secara osmosis (Rosida<sup>1</sup> dan Enny, 2007).

Menurut Rochima (2005), Peranan garam untuk mengontrol fermentasi juga dinyatakan oleh Moeljanto (1982), yaitu bahwa ikan merupakan bahan pangan yang banyak mengandung air (sekitar 80%) sehingga pertumbuhan mikroba yang berperan dalam proses fermentasi (seperti jamur) terhambat oleh bakteri pembusuk. Garam pun akan meningkatkan tekanan osmotik substrat, sehingga terjadi penarikan air dari dalam bahan pangan keluar. Akibatnya, kadar air daging ikan menurun karena sel akan kehilangan air dan mengalami pengerutan sehingga mikroba yang tidak tahan garam tidak dapat tumbuh. Garam dapat mengganggu kerja enzim proteolitik karena dapat mengakibatkan denaturasi protein.

Bakteri halofilik membutuhkan konsentrasi NaCl minimal tertentu untuk pertumbuhan optimum bervariasi yaitu sekitar 5-20% untuk halofilik sedang dan 20-30% untuk bakteri halofilik ekstrem. Spesies yang tumbuh baik pada medium yang mengandung 2-5% garam disebut halofilik ringan. Beberapa bakteri disebut halotoleran yaitu bakteri yang dapat tumbuh pada makanan berkadar garam tinggi dan di dalam larutan garam (Fardiaz, 1992). Bakteri-bakteri tersebut diantaranya tergolong dalam jenis bakteri *Halobacterium*, *Halococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Pediococcus alcaegeus*.

Menurut Afrianto dan Liviawati (1989), bakteri halofilik dibagi menjadi dua yaitu:

1. Fakultatif halofilik : bakteri yang dapat hidup secara baik pada media dengan kandungan garam sebesar 2%.
2. Obligat halofilik : bakteri yang dapat hidup secara baik pada lingkungan yang mengandung garam dengan konsentrasi 72%.

## **1.2 Maksud dan Tujuan**

Maksud dari praktikum penghitungan total mikroba halofilik dan halotoleran adalah untuk mengetahui cara perhitungan total mikroba halofilik dan halotoleran pada ikan pada konsentrasi garam yang berbeda dengan larutan PCA.

Tujuan dari praktikum penghitungan total mikroba halofilik dan halotoleran adalah agar praktikan bisa membandingkan jumlah mikroba halofilik dan halotoleran dan dapat melakukan perhitungan total mikroba halofilik dan halotoleran pada produk perikanan

## 2. PROSEDUR KERJA

### MATERI 1. Perhitungan Total Bakteri Halofilik dan Halotoleran

Sampel	Perlakuan	Perlakuan	Perlakuan
Kuniran	Garam 3%	Garam 10%	Garam 20%
Udang vanamei	Garam 3%	Garam 10%	Garam 20%
Kembung	Garam 3%	Garam 10%	Garam 20%
Cumi-cumi	Garam 3%	Garam 10%	Garam 20%
Bandeng	Garam 3%	Garam 10%	Garam 20%
Tongkol	Garam 3%	Garam 10%	Garam 20%

Media : PCA (Plate Count Agar)

Larutan Pengencer : Larutan garam fisiologis 0.9%

## 3. METODOLOGI

### 3.1 Alat Praktikum

Alat praktikum yang digunakan: Erlenmeyer 250 ml, spatula, tabung reaksi, inkubator, bunsen, beaker glass 1000 ml, timbangan digital, crushable tang, autoklaf, baskom, cawan petri, waterbath, rak tabung reaksi, panci, pipet serologis, colony counter, mortar dan alu, pisau, gelas ukur 100 ml, talenan, kompor gas, nampan, sprayer, triangle.

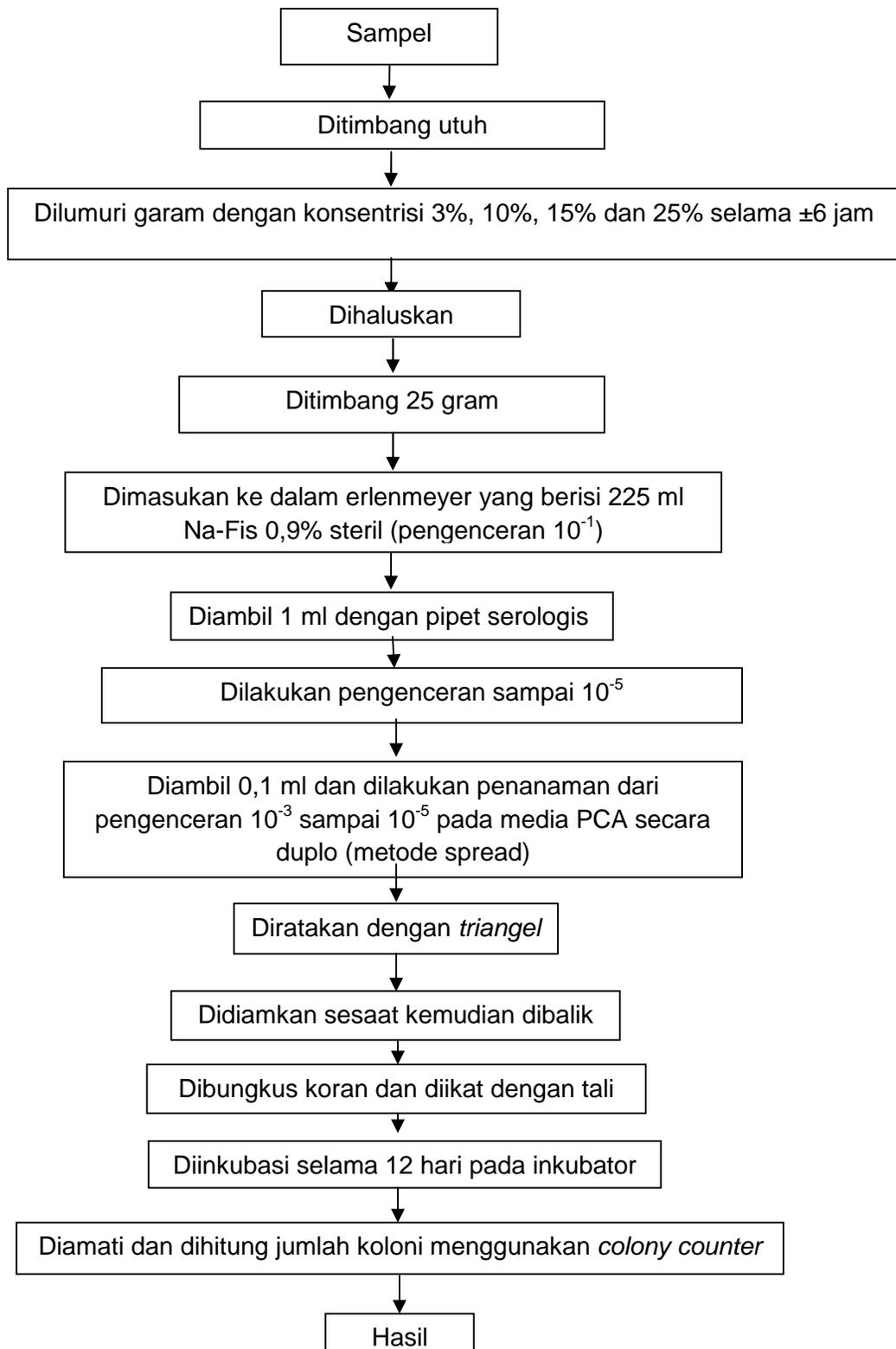
### 3.2 Bahan Praktikum

Bahan praktikum yang digunakan: Sampel (sesuai kelompok), PCA (*plate count agar*), Na fis 0,9%, alkohol 70%, kertas label, kertas koran, kapas, tissue, air, garam dapur, spirtus, aquades, NaCl, tali, plastik.

### 3.3 Cara Kerja Praktikum

- Sampel dilumuri garam dengan konsentrasi 3%, 10%, 15%, 25% dan dibiarkan selama 6 jam
- Sampel dihaluskan dan ditimbang 25 gram
- Sampel halus dimasukkan dalam erlenmayer 250 ml berisi 225 ml Nafis 0,9% sebagai pengenceran  $10^{-1}$
- Dilakukan pengenceran sampai  $10^{-5}$
- Penanaman dari  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  secara duplo pada media PCA sebanyak 0,1 ml dengan metode spread.
- Ditunggu hingga beku lalu dibalik
- Diinkubasi pada inkubator selama 12 hari
- Diamati dan dihitung jumlah koloni

➤ Skema Kerja Praktikum



## MATERI 2

### Perhitungan Bakteri Proteolitik

#### 1. PENDAHULUAN

##### 1.1 Latar Belakang

Ikan merupakan salah satu hasil perairan yang banyak dimanfaatkan oleh manusia karena beberapa kelebihanannya, antara lain merupakan sumber protein hewani yang sangat potensial karena pada daging ikan dapat dijumpai senyawa yang sangat penting bagi manusia yaitu karbohidrat, lemak, protein, garam-garam mineral dan vitamin (Rahayu, 1992).

Pembusukan merupakan penyebab utama dari penyiapan bahan pangan. Kebanyakan bahan pangan dalam kondisi penyimpanan normal akan mengalami reaksi-reaksi atau perubahan sehingga bahan pangan tersebut tidak dapat dipakai lagi. Pembusukan bahan pangan dapat diartikan sebagai setiap perubahan dari bahan pangan yang masih segar maupun setelah dimana perubahan sifat-sifat kimiawi, fisik atau organoleptik dari bahan pangan tersebut mengakibatkan ditolaknya bahan pangan ini oleh konsumen (Buckle *et al.*, 1987).

Bakteri berdasarkan media yang digunakan atau nutrisinya yang diurai dibagi menjadi 3, yaitu:

- Bakteri proteolitik

Bakteri yang tergolong proteolitik adalah bakteri yang memproduksi enzim proteinase ekstraseluler yaitu enzim pemecah protein yang diproduksi di dalam sel kemudian dilepaskan keluar dari sel. Bakteri proteolitik dapat dibedakan atas beberapa kelompok (Fardiaz, 1992): Beberapa bakteri proteolitik asam, misalnya: *Streptococcus faecalis*, *Var. Linguifaciens* dan *Micrococcus caseolyticus*. Beberapa bakteri putrefaktif misalnya kebanyakan spesies dari *Clostridium*, beberapa spesies *Proteus*, *Pseudomonas* dan bakteri tidak berspora lainnya (Fardiaz, 1993).

- Bakteri amilolitik

Hanya beberapa bakteri yang bersifat amilolitik yaitu memproduksi enzim amilase memecah pati diluar sel. Misalnya *Bacillus sp.* dan *Clostridium botulinum*

(Fardiaz, 1992). Pati dapat dipecah oleh berbagai mikroba amilolitik menjadi polimer yang lebih sederhana atau gula monosakarida dimana monosakarida selanjutnya akan dipecah lagi menjadi energi, contoh bakteri pemecah pati yaitu *Bacillus Subtilis* (Fardiaz, 1993).

- **Bakteri lipolitik**

Lipase merupakan enzim yang mampu merombak lemak menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Mikroba yang mampu menghasilkan adalah *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Staphylococcus*, *Rhizopus*, *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Candida*, *Rhodotorulla*, *Flansenulla*, (Hidayat et al., 2006).

Bakteri proteolitik menimbulkan masalah pada produk bahan pangan atau makanan. Bakteri jenis *Clostridium* yang bersifat patogen dapat menyebabkan keracunan makanan. Jika tumbuh pada susu, spesies bakteri ini dapat membentuk asam dan gas sehingga menggumpalkan susu, disebut Stormyfermentation. *Bacillus* sering menyebabkan kerusakan pada makanan kaleng dengan memproduksi asam tanpa gas, sehingga kerusakannya disebut "Flat Sour". Beberapa bakteri bersifat yaitu memecah protein secara anaerobik dan memproduksi komponen-komponen yang berbau busuk seperti hydrogen sulfide, merkaptan, amin, idol dan asam-asam lemak.

## **1.2 Maksud dan Tujuan**

Maksud praktikum penghitungan bakteri proteolitik pada produk perikanan adalah untuk mengetahui adanya bakteri proteolitik yang terdapat dalam produk makanan.

Tujuan praktikum penghitungan bakteri proteolitik pada produk perikanan adalah agar praktikan dapat melakukan perhitungan dan membandingkan bakteri proteolitik pada produk perikanan.

## 2. PROSEDUR KERJA

### MATERI 2. Perhitungan Bakteri Proteolitik pada Produk Perikanan

Sampel	Media	Media
Udang windu	Media NA	Media SMA
Bawal	Media NA	Media SMA
Cumi-cumi	Media NA	Media SMA
Teri Nasi	Media NA	Media SMA
Patin	Media NA	Media SMA
Kerang darah	Media NA	Media SMA

## 3. METODOLOGI

### 3.1 Alat praktikum

Alat praktikum yang digunakan: Erlenmeyer 250 ml, spatula, tabung reaksi, etalase bakteri, bunsen, beaker glass 1000 ml, timbangan digital, crushable tang, autoklaf, baskom, cawan petri, waterbath, rak tabung reaksi, panci, pipet serologis, colony counter, mortar dan alu, pisau, gelas ukur 100 ml, talenan, kompor gas, nampan, sprayer, triangle, washing bottle.

### 3.2 Bahan Praktikum

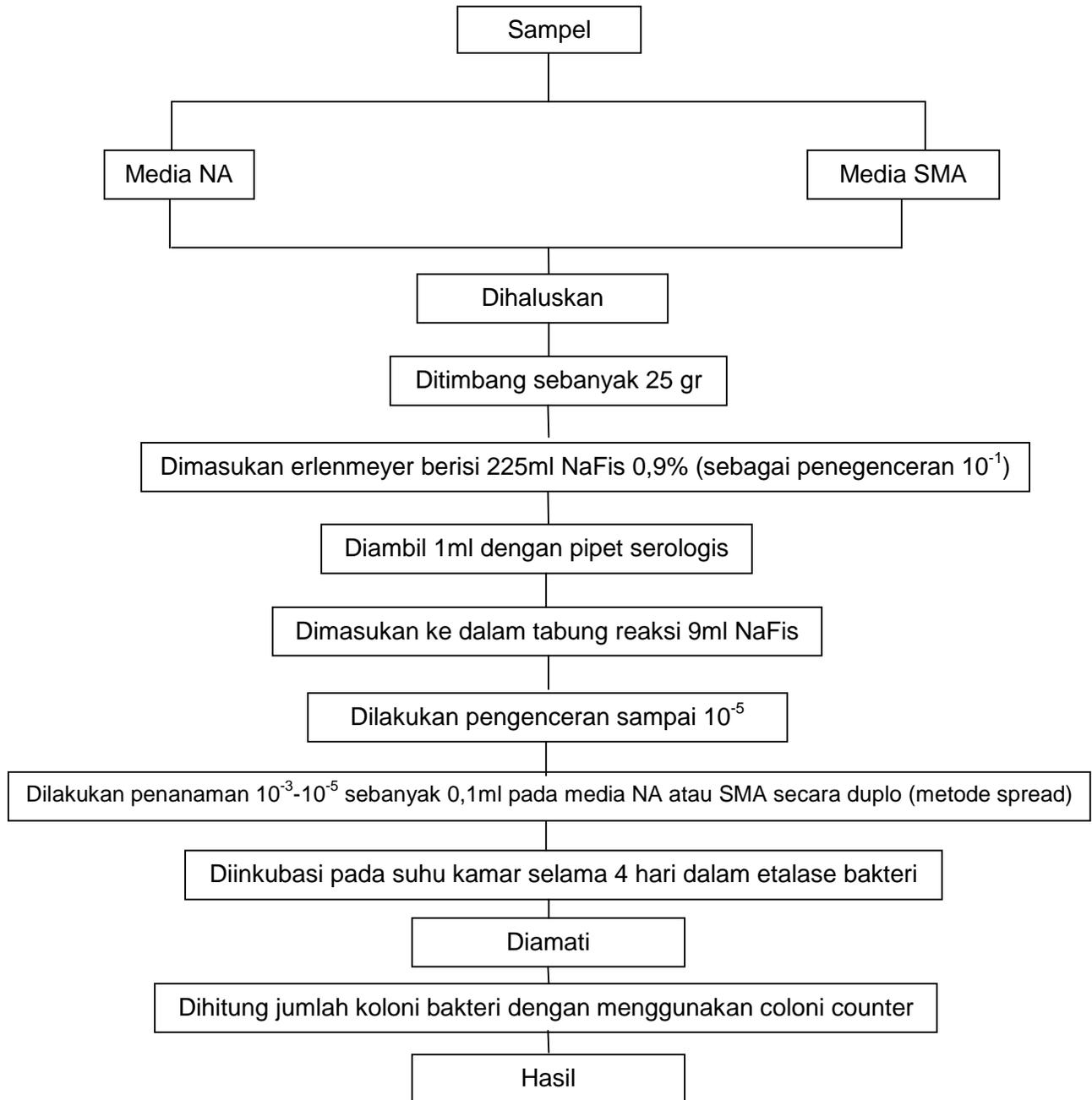
Bahan praktikum yang digunakan: Sampel (sesuai kelompok), media NA (*Nutrien agar*), SMA (*skim milk agar*), Na fis 0,9%, alkohol 70%, kertas label, kertas koran, kapas, tissue, air, spirtus, aquades, NaCl, tali, plastic.

### 3.3 Skema kerja praktikum

- sampel dihaluskan dan ditimbang 25 gram lalu dimasukkan dalam erlenmayer berisi 225 mL Na fis steril dan dicatat sebagai factor pengenceran  $10^{-1}$ .
- dilakukan pengenceran sampai  $10^{-5}$ .

- Dilakukan penanaman dari pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  sebanyak 0,1 ml pada media NA atau SMA (sesuai dengan perlakuan tiap kelompok) secara duplo dengan metode spread.
- setelah membeku, inkubasi pada suhu kamar selama 4 hari.
- amati dan hitung jumlah koloni yang tumbuh (koloni yang dikelilingi area bening)

➤ **Skema Kerja Praktikum**



## MATERI 3

### Perhitungan Total Mikroba Psikotrofik

#### 1. PENDAHULUAN

##### 1.1 Latar Belakang

Produk-produk perikanan segar merupakan bahan pangan yang sangat mudah mengalami kerusakan. Kerusakan ini dapat terjadi secara biokimiawi maupun secara mikrobiologis. Oleh karena itu perlu dilakukan usaha untuk meningkatkan daya simpan dan daya awet hasil perikanan melalui proses pengolahan dan pengawetan, salah satunya dengan penyimpanan dingin.

Penggunaan suhu rendah selain dapat menghambat aktivitas mikroba dan enzim juga dapat mempertahankan sifat ikan segar. Namun, penyimpanan dingin masih pendek. Penyebab utama kerusakan ikan selama penyimpanan dingin adalah adanya aktivitas dan pertumbuhan bakteri psikrotrofik. Adanya bakteri psikrotrofik dalam jumlah besar, dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam bau dan kerusakan fisik pangan

Mikroorganisme mempunyai batas suhu tertentu untuk kelangsungan hidupnya. Suhu tersebut meliputi suhu optimum, suhu minimum, dan suhu maksimum. Berdasarkan kisaran suhu untuk pertumbuhannya, koliform termasuk grup psikotrofik yaitu mengalami pertumbuhan minimum pada suhu  $-10^{\circ}\text{C}$ , optimum pada suhu  $20-30^{\circ}\text{C}$ , dan maksimum pada suhu  $24^{\circ}\text{C}$  (Garbutt 1997 dalam Sirindon 2008). Ditambahkan oleh Waluyo (2007), mikroba psikrofil (oligotropik) yakni golongan mikroba yang dapat tumbuh pada suhu  $0-30^{\circ}\text{C}$ , dengan temperatur optimum  $10-15^{\circ}\text{C}$ . Kebanyakan dari golongan ini tumbuh di tempat-tempat dingin, baik didaratan maupun lautan

Psikrotrof adalah mikroba yang sebenarnya bersifat mesofil, yaitu mempunyai suhu optimum pertumbuhan  $20-40^{\circ}\text{C}$ , tetapi masih dapat tumbuh pada suhu yang optimum untuk psikrofil. Untuk menghitung mikroba yang tergolong psikrotrof di

dalam makanan digunakan suhu inkubasi 5 °C selama 5 hari sampai 2 minggu (Fardiaz, 1993).

Bakteri psikrotropik terutama ditemukan di dalam jenis *Pseudomonas*, *Flavobacterium* dan *Alcaligenes*, meskipun jenis lainnya seperti *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Enterobacter* dan *Arthrobacter* mungkin juga mengandung spesies yang bersifat psikrotropik (Fardiaz, 1992).

Menurut Prescott *et al.*, (2005), mikroba berdasarkan temperatur dibedakan menjadi :

- Psychrophile  
Tumbuh baik pada 0°C dan suhu optimum pertumbuhannya pada 15°C atau kebawah.  
Contoh : *Bacillus psychrophilus*, *Chlamydomonas nivalis*.
- Psychrotroph  
Dapat tumbuh pada 0 - 7°C, suhu optimum antara 20 dan 30°C dan maksimum 35°C.  
Contoh : *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*.
- Mesofil  
Dapat tumbuh optimum pada rentang 20 - 45°C.  
Contoh : *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoeae*.
- Thermophile  
Dapat tumbuh pada 55°C atau keatas, sering optimum diantara 55°C dan 65°C.  
Contoh : *Bacillus stearcthermophilus*, *Thermosaquaticus*.
- Hyperthermophile  
Suhu optimumnya diantara 80 dan sekitar 113°C.  
Contoh : *Sulfolabus*, *Pyrococcus*, *Pyrodictium*.

## 1.2 Maksud dan Tujuan

Maksud dari praktikum tentang total mikroba psikrotropik adalah agar praktikan mengetahui tentang perhitungan total mikroba psikrotopik di dalam produk

perikanan, mengetahui dan memahami pengaruh suhu pendinginan terhadap pertumbuhan mikroorganisme pada produk perikanan.

Tujuan praktikum ini adalah agar praktikan mampu melakukan perhitungan dan membandingkan mikroba psikrotropik yang terkandung dalam produk perikanan serta praktikan dapat mengetahui pengaruh suhu pendinginan terhadap pertumbuhan mikroorganisme pada produk perikanan.

## 2. PROSEDUR KERJA

### MATERI 3. Total Mikroba Psikotrofik

Kelompok	Shift	Sampel	Perlakuan
1	1	Mujair	Media PCA
2	1	Lele	Media PCA
3	1	Udang vannamei	Media PCA
4	1	Kepiting	Media PCA
5	1	Kuniran	Media PCA
6	1	Patin	Media PCA

## 3. METODOLOGI

### 3.1 Alat Praktikum

Alat praktikum yang digunakan antara lain: Erlenmeyer 250 ml, spatula, tabung reaksi, etalase bakteri, bunsen, beaker glass 1000 ml, timbangan digital, crushable tang, autoklaf, baskom, cawan petri, rak tabung reaksi, panci, pipet serologis 1ml, colony counter, mortar dan alu, pisau, gelas ukur 100 ml, talenan, kompor gas, nampan, sprayer, triangle, kulkas.

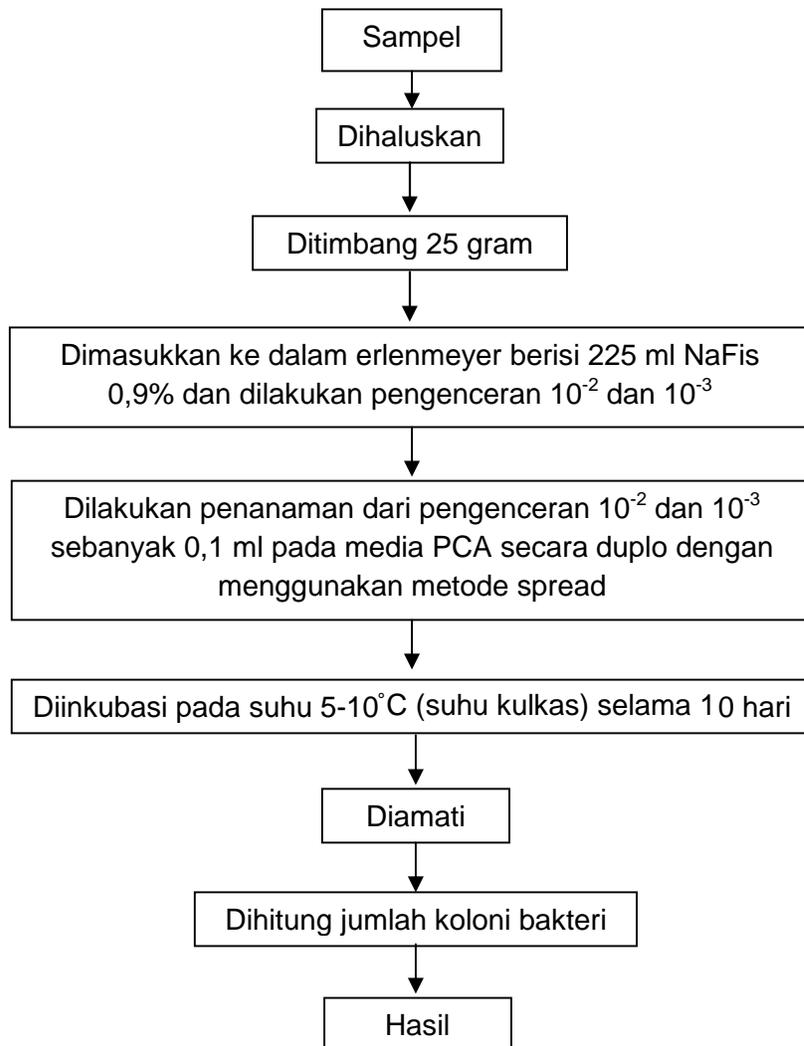
### 3.2 Bahan Praktikum

Bahan praktikum yang digunakan: sampel (sesuai kelompok), PCA, Na fis 0,9%, alkohol 70%, kertas label, kertas koran, kapas, tissue, air, spirtus, aquadest, NaCl, tali, plastik.

### 3.3 Prosedur Kerja Praktikum

- Sampel dihaluskan dan ditimbang 25 gram lalu dimasukkan dalam erlenmeyer berisi 225 ml Na fis 0,9% steril (dicatat sebagai faktor pengenceran  $10^{-1}$ )
- Dilakukan pengenceran sampai  $10^{-3}$
- Buatlah pemupukan dari pengenceran  $10^{-2}$  dan  $10^{-3}$  sebanyak 0,1 ml pada media PCA secara duplo (metode spread)
- Setelah membeku, inkubasi pada suhu  $5-10^{\circ}\text{C}$  selama 10 hari
- Amati dan hitung jumlah koloni

➤ **Prosedur Kerja Praktikum**



## MATERI 4

### Pengaruh Rempah-Rempah Terhadap Pertumbuhan Mikroba

#### I. PENDAHULUAN

##### 1.1 Latar Belakang

Penggunaan rempah-rempah dalam bentuk segar, kering maupun dalam bentuk minyak atsiri sudah sangat umum. Rempah-rempah tersebut secara luas digunakan sebagai pemberi rasa masakan. Nilai penting rempah-rempah tidak hanya pada segi pemberi cita saja tetapi juga sebagai pemberi rasa masakan. Nilai penting rempah-rempah tidak hanya pada segi pemberi cita rasa saja tetapi juga sebagai pengawet bahan makanan, karena sifat antimikrobia dan antioksidannya yang juga berperan dalam bidang obat-obatan dan kosmetika.

Kemampuan antimikroba rempah-rempah telah banyak diteliti Azzous, dkk (1982), menyatakan bahwa rempah mempunyai kemampuan mematikan dan menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri. Huhtanen (1980), meneliti bahwa rempah dapat menghambat pertumbuhan *Clostridium Botulinum*. Penelitian Darmadji *et al.*, (1994), menunjukkan bahwa rempah-rempah dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan pathogen dalam daging seperti *Bacillus Subtilis*, tetapi mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat *Lactobasillus Plantarum* dan *Pediococcus Pentosaceus* yang berperan dalam fermentasi daging.

Penentuan aktivitas antimikroba suatu ekstrak tanaman dapat dilakukan bila terpenuhi tiga syarat, yaitu (1) ekstrak tanaman harus bisa kontak dengan dinding sel mikroorganisme, (2) Kondisi pengujian diatur sedemikian rupa sehingga mikroorganisme dapat tumbuh saat tidak ada bahan antimikroba, dan (3) Ada parameter ukur tingkat pertumbuhan mikroorganisme (Hostettmann, 1991). Banyak metode yang dapat diterapkan untuk menentukan aktivitas antimikroba dimana masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan.

Beberapa bahan antimikroba tidak membunuh tetapi hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Bahan antimikroba bersifat menghambat apabila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila digunakan dalam konsentrasi tinggi

dapat mematikan mikroorganisme. Salah satu cara untuk menguji bahan antimikroba dapat dilakukan dengan uji cakram.

Uji cakram diperkenalkan oleh Willian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994).

## **1.2 Maksud dan Tujuan**

Maksud dari praktikum tentang pengaruh rempah-rempah terhadap pertumbuhan mikroba pada produk perikanan adalah agar praktikan dapat mengetahui pengaruh penambahan rempah-rempah yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan mikroba serta mengetahui keefektifan rempah-rempah dalam menghambat mikroba

Tujuan dari praktikum tentang pengaruh rempah-rempah terhadap pertumbuhan mikroba pada produk perikanan ini adalah agar praktikan dapat melakukan dan mempraktekkan metode cakram dengan benar.

## 2. PROSEDUR KERJA

### MATERI 4. Pengaruh Rempah-rempah Terhadap Pertumbuhan Mikroba

Sampel	Pelarut
Kunyit	Etanol
Bawang putih	Etanol
Pala	Etanol
Jahe	Etanol
Lengkuas	Etanol
Cabe rawit	Etanol

## 3. METODOLOGI

### 3.1 Alat praktikum

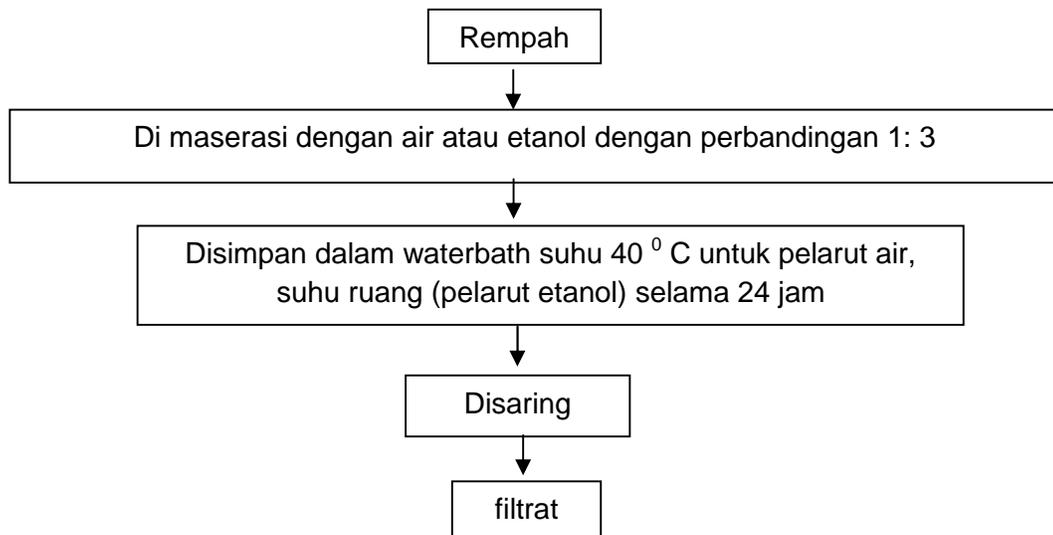
Alat praktikum yang digunakan: Autoklaf, baskom, beaker glass, bola hisap, Bunsen, cawan petri, crushable tang, Erlenmeyer 250 ml, Erlenmeyer 100 ml, etalase bakteri, gelas ukur 100 ml, jangka sorong, jarum loop, Mc Farland  $10^{-6}$ , kompor, nampan, pinset, pipet volume, pisau, rak tabung reaksi, sprayer, tabung reaksi, timbangan digital, jarum ose, vortex mixer.

### 3.2 Bahan Praktikum

Bahan praktikum yang digunakan: rempah-rempah (sesuai kelompok), air, alcohol 70%, aquadest, cotton swap, cyarotube, *E. coli*, *S.aureus*, etanol, Koran, spirtus, tali, tissue, TSA (*tripton soya agar*), kertas label, kertas cakram, kertas saring, Na fis 0,9%, spirtus.

### 3.3 Skema Kerja

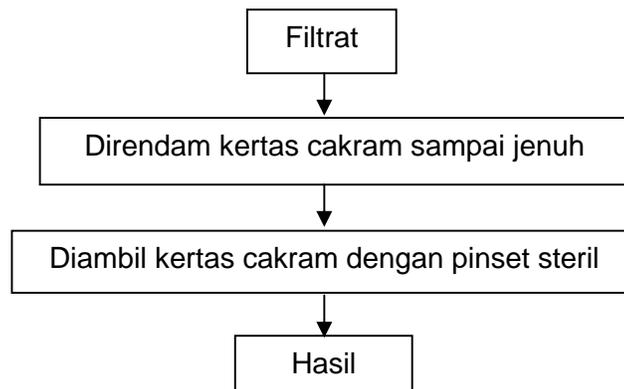
#### 3.3.1 Preparasi Rempah



### Cara Kerja :

#### ➤ Preparasi Rempah

- Siapkan rempah yang sudah dihaluskan
- Dimaserasi dengan menggunakan pelarut Etanol pada suhu ruang selama 24 jam, dengan perbandingan 1:3
- Setelah 24 jam, rempah disaring menggunakan kertas saring.



- Dihasilkan filtrat

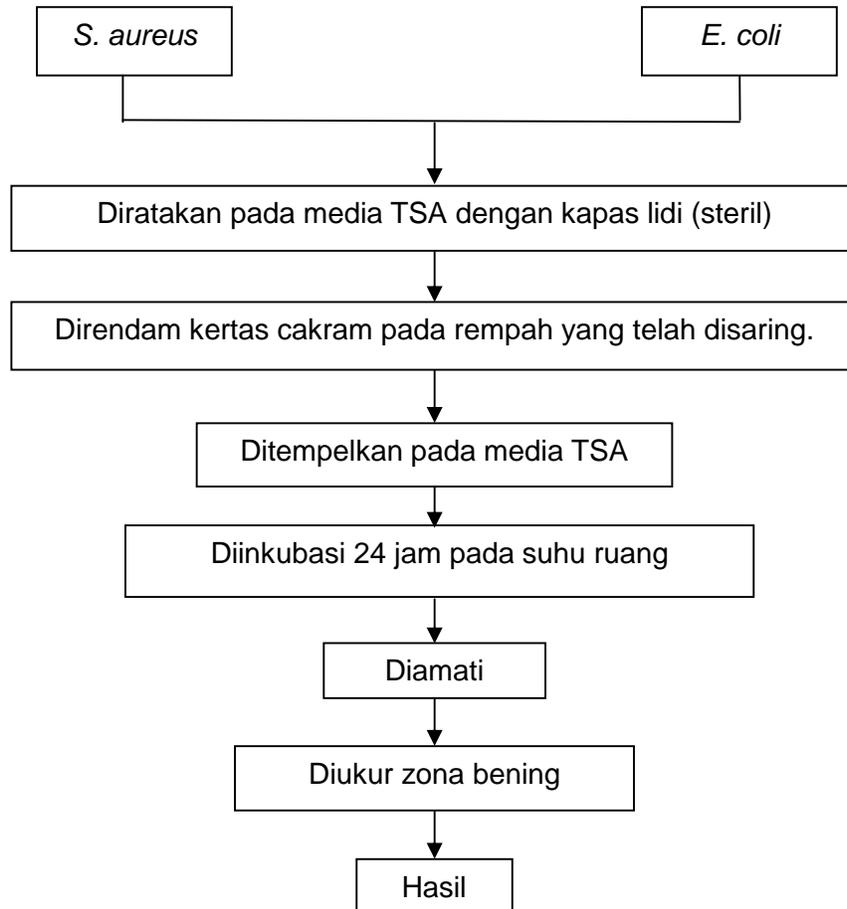
### 3.3.2 Preparasi Kertas Cakram

#### Cara Kerja :

#### ➤ Preparasi Kertas Cakram

- Filtrat yang telah disaring, kemudian direndam kertas cakram sampai jenuh
- Kertas cakram diambil menggunakan pinset
- Hasil

### 3.3.3 Uji Cakram

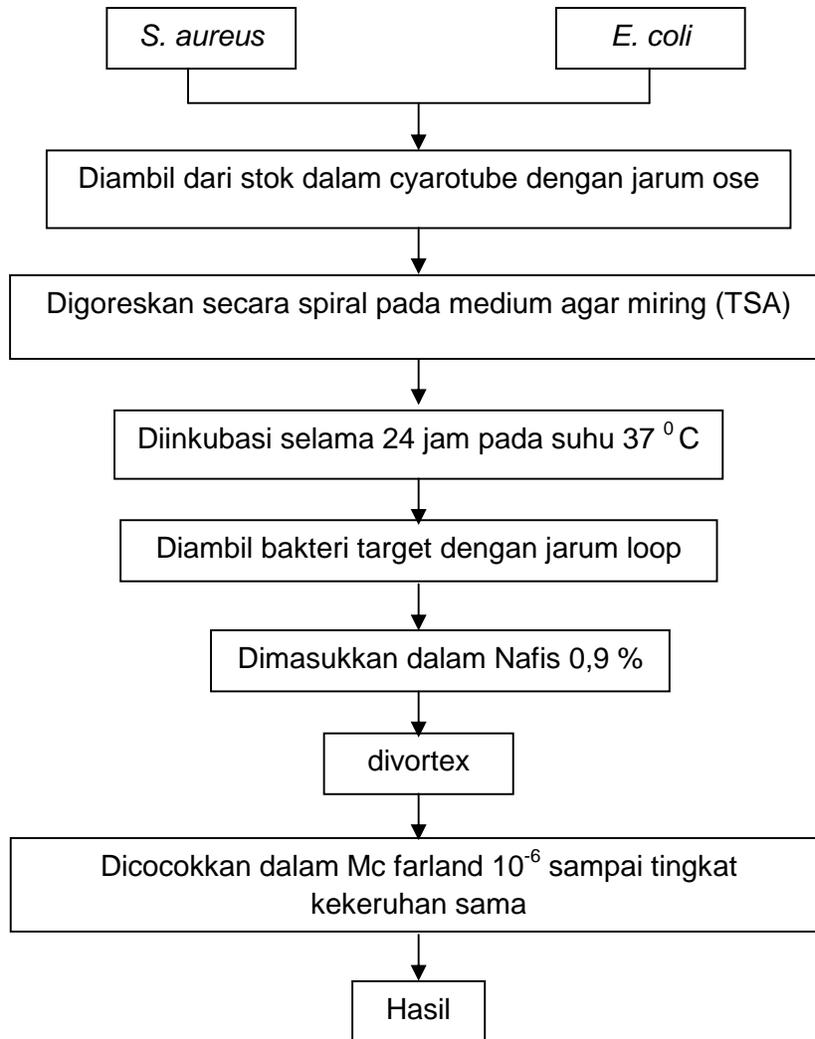


#### Cara Kerja :

##### ➤ Uji Cakram

- *S.aureus* dan *E.coli*, diambil menggunakan *Cotton Swab* (steril)
- Diratakan pada media TSA secara menyeluruh
- Direndam kertas cakram pada rempah yang telah disaring kemudian ditempelkan pada media TSA dengan menggunakan pinset,
- Diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam
- Diukur zona bening menggunakan jangka sorong
- Hasil

### 3.3.4 Bakteri Target



#### Cara Kerja :

##### ➤ Bakteri Target

- *S.aureus* dan *E.colil*, diambil dari stok dalam cyarotube dengan jarum ose
- Digoreskan secara spiral pada pada media agar miring (TSA) yang telah disiapkan. (setiap perlakuan harus dijaga keaseptisannya)
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C
- Diambil bakteri target dengan jarum loop, perlakuan harus didekatkan dengan Bunsen
- Dimasukkan dalam Na Fis 0,9%, kemudian di vortex

- Dicocokkan dengan Mc Farland  $10^6$  sampai tingkat kekeruhan sama
- Hasil

### 3.3.5 Media Agar Miring

TSA

- Ditimbang sesuai kebutuhan (gram)
- Dimasukkan kedalam Erlenmeyer 250 ml, ditambah aquades (ml)
- Dihomogenkan
- Direbus selama  $\pm 15$  menit]
- Dimasukkan dalam tabung reaksi @ 10 ml
- Disterilisasi
- Dimiringkan

Hasil

$$TSA = \frac{40}{1000} \times \text{jumlah tabung} \times 10 \text{ ml}$$

### 3.3.6 Media TSA

TSA

- Ditimbang sebanyak yang kebutuhan (...gram)
- Dimasukkan kedalam Erlenmeyer 250 ml
- Ditambah aquades (...ml)
- Dihomogenkan
- Direbus selama  $\pm 15$  menit]
- Disterilisasi
- Ditunggu sampai hangat kuku
- Dituang pada cawan petri
- Ditunggu hingga beku

Hasil

$$TSA = \frac{40}{1000} \times \text{jumlah cawan} \times 20 \text{ ml}$$

## MATERI 5

### Perhitungan Bakteri Lipolitik pada Produk Perikanan

#### 1. PENDAHULUAN

##### 1.1 Latar Belakang

Ikan merupakan bahan makanan yang banyak dikonsumsi masyarakat dalam bahkan luar negeri. Selain karena rasanya, ikan banyak disukai karena memberi manfaat untuk kesehatan tubuh yaitu mempunyai kandungan protein yang tinggi dan kandungan lemak yang lebih rendah dibanding sumber protein hewani lain. Namun, ikan cepat membusuk karena adanya bakteri dan enzim jika dibiarkan begitu saja tanpa proses pengawetan (Handoyo, 2008).

Adanya lemak dalam bahan pangan mempunyai kesempatan bagi jenis-jenis bakteri lipolitik untuk tumbuh secara dominan. Keadaan ini mengakibatkan kerusakan lemak oleh organisme dan menghasilkan zat-zat yang disebut asam lemak dan mentega lipolitik yang tumbuh dipermukaan adalah *Candida* lipolitik (Buckle, *et al.*, 2007).

Bakteri yang terdapat pada ikan sebagian besar adalah bakteri lipolitik yang menguraikan lemak. Aktivitas bakteri ini dapat menyebabkan pembusukan pada ikan. Bakteri lipolitik memproduksi lipase, yaitu enzim yang mengkatalisis hidrolisa lemak menjadi asam-asam lemak dan gliserol. Banyak bakteri yang bersifat aerobik dan proteolitik aktif juga bersifat lipolitik. Jenis yang mempunyai spesies bersifat lipolitik, misalnya *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Serratia* dan *Micrococcus*. Salah satu contoh yang bersifat lipolitik kuat adalah *P. Flourecevis* (Fardiaz, 1992).

Bakteri yang mampu menghasilkan enzim lipase, menggunakan asam lemak dagliserol sebagai sumber energi untuk metabolismenya. Rasa tengik pada bahan makanan disebabkan oleh aktivitas bakteri lipolitik yang dapat menghidrolisis lemak menjadi asam lemak. Bila lemak dalam media biakan dihidrolisis oleh enzim lipase, maka wilayah di sekeliling pertumbuhan koloni menjadi asam disebabkan pembentukan asam lemak (Candra, 2006).

Bakteri lipolitik menghasilkan enzim lipase yang dapat menyebabkan ketengikan, timbul rasa asam, bersabun dan perubahan bau pada makanan yang mengandung lemak. Produk hewani berlemak mudah mengalami kerusakan. Pada lemak susu yang telah rusak akan timbul rasa asam. Hal ini disebabkan oleh bakteri penghasil lipase terutama oleh *Streptococcus lactis* (Winarno, 2002).

Adapun menurut Pelczar (1988), mikroorganisme yang mewakili bakteri lipolitik adalah *Pseudomonas spp*, *Archcomobacter lipolitikum*, *Candida lipolitik*, *Penicillium spp*.

Menurut Dwidjoseputro (1993), enzim-enzim yang memecah golongan ester disebut esteron, contoh-contohnya adalah :

- a) Lipase adalah enzim yang menguraikan lemak menjadi asam lemak dan gliserol.
- b) Fospase disebut enzim yang menguraikan suatu ester hingga terlepas menjadi asam pospat.

## **1.2 Maksud dan Tujuan**

Maksud dari praktikum penghitungan bakteri lipolitik pada produk perikanan adalah untuk mengetahui adanya bakteri lipolitik pada produk perikanan serta pengaruh suhu penyimpanan terhadap pertumbuhan mikroba pada ikan dan untuk membandingkan sampel dengan perlakuan pada suhu yang berbeda.

Tujuan dari praktikum penghitungan bakteri lipolitik pada produk perikanan adalah agar praktikan dapat mengetahui dan mampu menghitung jumlah bakteri lipolitik dalam produk perikanan serta mampu mengetahui pengaruh bakteri lipolitik pada produk perikanan

## 2. PROSEDUR KERJA

### MATERI 5. Perhitungan Bakteri Lipolitik pada Produk Perikanan

Sampel	Perlakuan	Perlakuan
Tempura	Media NA	Media NA + Margarin
Bakso ikan	Media NA	Media NA + Margarin
Crab Stick	Media NA	Media NA + Margarin
Tempura	Media NA	Media NA + Margarin
Bakso ikan	Media NA	Media NA + Margarin
Crab Stick	Media NA	Media NA + Margarin

## 3. METODOLOGI

### 3.1 Alat praktikum

Alat praktikum yang digunakan antara lain: Erlenmeyer 250 ml, spatula, tabung reaksi, etalase bakteri, bunsen, beaker glass 1000 ml, timbangan digital, crushable tang, autoklaf, baskom, cawan petri, waterbath, rak tabung reaksi, panci, pipet serologis 1 ml, colony counter, mortar dan alu, pisau, gelas ukur 100 ml, talenan, kompor gas, nampan, sprayer, triangle, washing bottle, spatula.

### 3.2 Bahan Praktikum

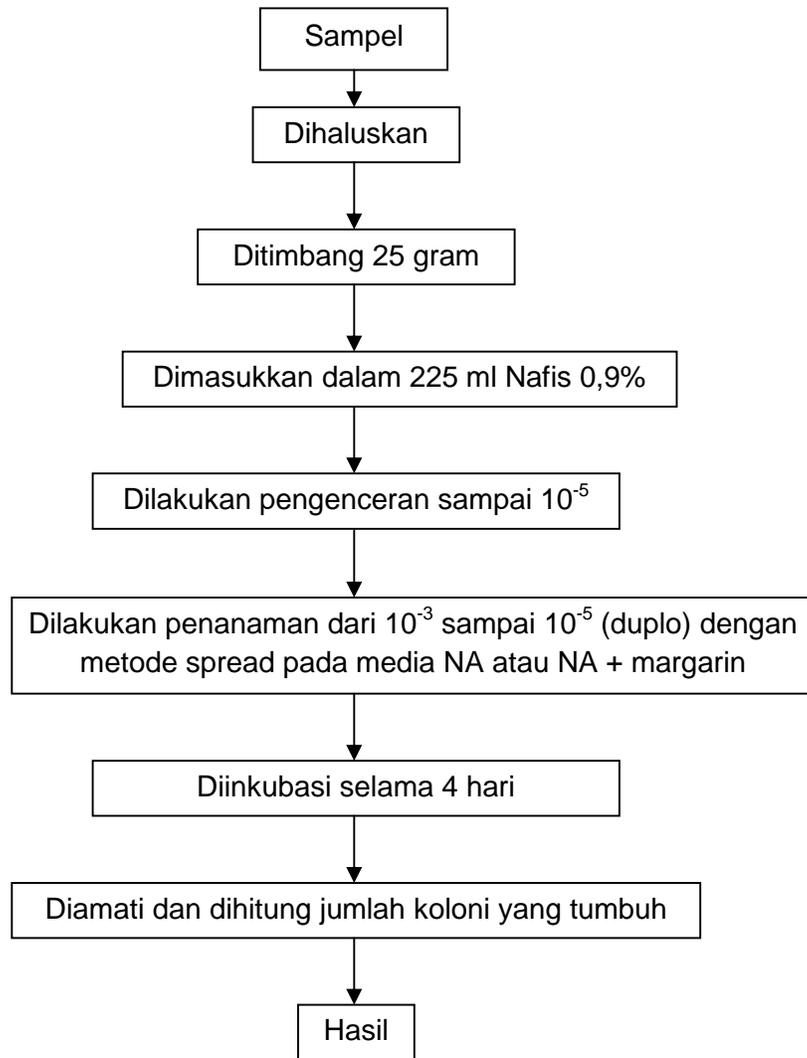
Bahan praktikum yang digunakan: Sampel (sesuai kelompok) , NA, 1 % margarin, Na fis 0,9%, alkohol 70%, kertas label, kertas koran, kapas, *tissue*, air, spirtus, *aquades*, NaCl, tali.

### 3.3 Prosedur Kerja Praktikum

- Sampel dihaluskan dan ditimbang 25 gram lalu dimasukkan dalam Erlenmeyer berisi 225 mL Na fis steril (dicatat sebagai faktor pengenceran  $10^{-1}$ )
- Diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml Na fis 0,9% ( $10^{-2}$ )

- Dilakukan pengenceran sampai  $10^{-5}$  dalam tabung reaksi.
- Buatlah pemnanaman dari pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  sebanyak 0,1 mL pada media sesuai perlakuan tiap kelompok secara duplo (metode *spread*)
- Setelah membeku, inkubasi pada suhu kamar selama 4 hari
- Amati dan hitung jumlah koloni

➤ **Skema Kerja Praktikum**



## MATERI 6

### Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Pertumbuhan

#### 1. PENDAHULUAN

##### 1.1 Latar Belakang

Suhu adalah salah satu faktor lingkungan terpenting yang mempengaruhi kehidupan dan pertumbuhan mikroorganisme. Apabila suhu naik, kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhan dipercepat. Sebaliknya apabila suhu naik turun, tingkat pertumbuhan mungkin terhenti, komponen sel menjadi tidak aktif dan sel-sel dapat mati. Suhu penyimpanan sangat besar pengaruhnya terhadap jasad renik yang dapat tumbuh serta kecepatan pertumbuhannya kapang dan khamir umumnya tergolong dalam jenis mesofil yaitu tumbuh dengan baik pada suhu 25-30°C.

Suhu penyimpanan sangat besar pengaruhnya terhadap jasad renik yang dapat tumbuh serta kecepatan pertumbuhannya, kapang dan khamir umumnya tergolong dalam jenis mesofil, yaitu tumbuh dengan baik pada suhu 25 – 30 °C. Oleh karena itu tumbuh dengan baik pada makanan yang disimpan pada suhu kamar, bahkan beberapa masih dapat tumbuh pada suhu pendinginan. Makanan yang disimpan dalam lemari es masih mungkin ditumbuhi oleh bakteri yaitu, yang tergolong psikrofil. Sedangkan makanan yang disimpan dalam keadaan panas ditumbuhi oleh bakteri termofil (Fardiaz, 1989).

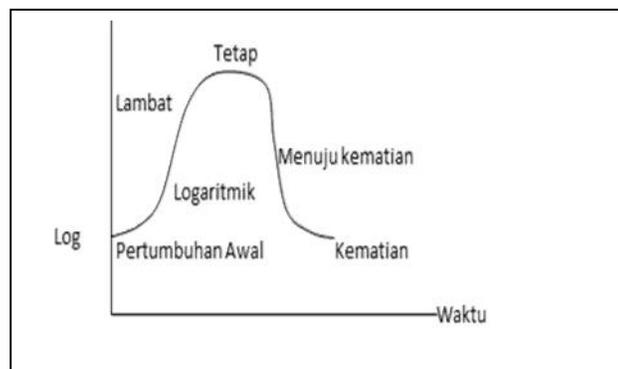
Teknik penanganan dengan menurunkan suhu ikan banyak dilakukan pada ikan-ikan hasil tangkapan laut. Usaha untuk mempertahankan kesegaran ikan dengan teknik ini tergantung pada media pendinginan yang digunakan untuk menurunkan suhu ikan. Selain itu, keberhasilan teknik ini juga tergantung pada stabilitas suhu ikan selama penanganan. Semakin rendah suhu ikan dapat diturunkan dan semakin stabil suhu tersebut dipertahankan selama penanganan maka mutu ikan atau kualitas, ikan akan semakin baik.

Jika suhu diturunkan dari suhu optimum pertumbuhan mikroba akan berlangsung lebih lambat, hal tersebut merupakan akibat dari lambatnya reaksi enzimatik yang berlangsung dalam sel. Pengawetan pangan dengan menggunakan

suhu rendah akan menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk. Bakteri pembusuk hidup pada suhu antara 0-30<sup>0</sup>C, bila suhu diturunkan dengan cepat sampai dibawah 0<sup>0</sup>C, maka proses pembusukan akan terhambat. Karena pada suhu ini kegiatan bakteri akan terhenti sama sekali. Sedangkan kegiatan enzim-enzim perusak telah lebih dulu terhambat.

➤ **Pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi beberapa fase antara lain:**

- Fase I : Fase adaptasi (Fase Log)
- Fase II : Fase pertumbuhan awal
- Fase III : Fase pertumbuhan logaritmik
- Fase IV : Fase pertumbuhan lambat
- Fase V : Fase pertumbuhan tetap
- Fase VI : Fase menuju kematian dan
- Fase VII : Fase kematian



## 1.2 Maksud dan Tujuan

Maksud dari praktikum pengaruh suhu penyimpanan terhadap pertumbuhan mikroba pada ikan adalah agar praktikan dapat memahami dan mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap pertumbuhan mikroba pada ikan dan untuk membandingkan sampel dengan perlakuan pada suhu yang berbeda.

Tujuan dari praktikum pengaruh suhu penyimpanan terhadap pertumbuhan mikroba pada ikan adalah agar praktikan dapat membedakan dan menentukan suhu yang terbaik untuk penyimpanan produk, serta agar praktikan mampu melakukan perhitungan terhadap jumlah mikroba.

## 2. PROSEDUR KERJA

### MATERI 6. Pengaruh Suhu Penyimpanan Terhadap Pertumbuhan Mikroba

Kelompok	Shift	Sampel	Perlakuan
1	1	Nila	Kontrol/segar
2	1	Gurame	Suhu ruang 24 jam
3	1	Lele	Kulkas 24 jam
4	1	Bandeng	Freezer 24 jam
5	1	Mujaer	Kontrol/segar
6	1	Mujaer	Suhu ruang 24 jam

Media : PCA (Plate Count Agar)

Larutan Pengencer : Larutan garam fisiologis 0.9%

## 3. METODOLOGI

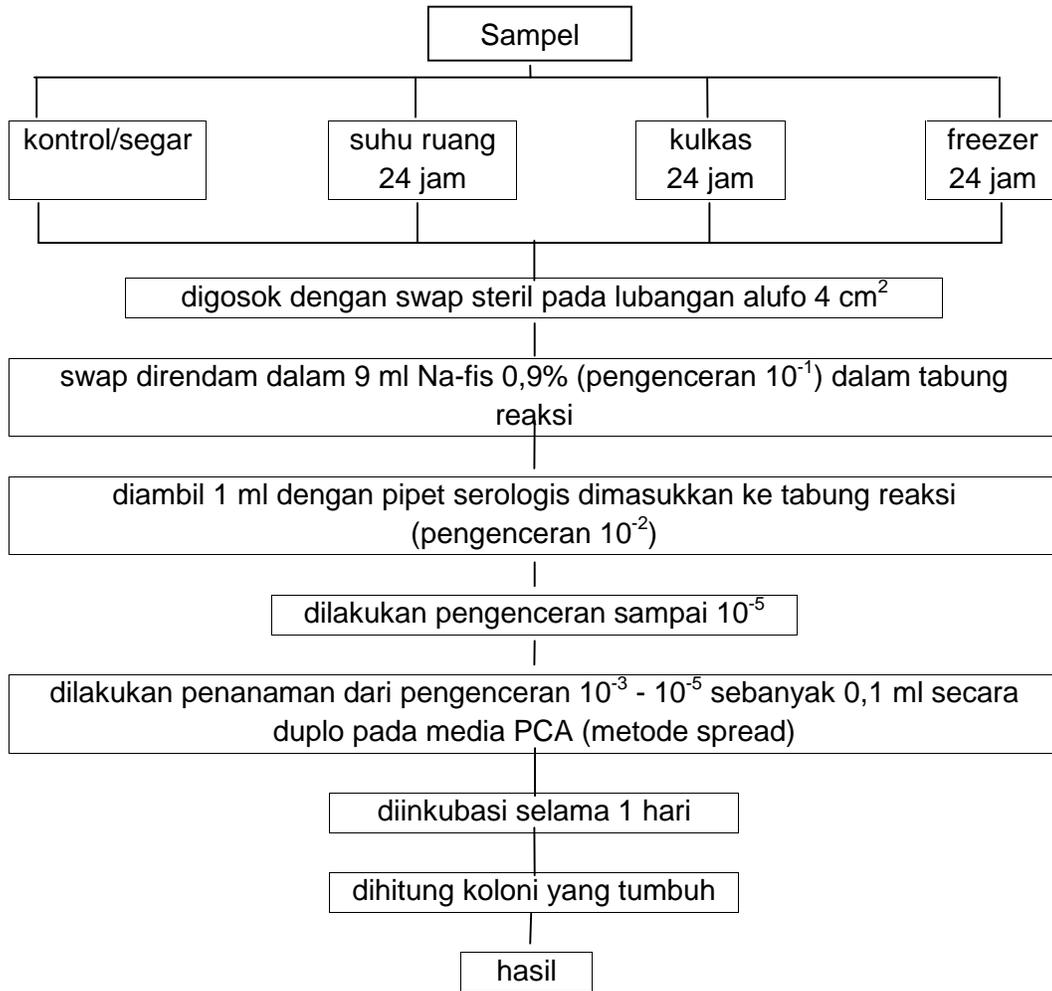
### 3.1 Alat praktikum

Alat praktikum yang digunakan: pipet serologis 1mL, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bunsen, sprayer, pisau, nampan, etalase bakteri, spatula, kompor, panci, triangle, washing bottle, Erlenmeyer 250 ml, colony counter, kulkas, freezer, crushable tang, autoklaf, gelas ukur 100 ml, baskom, timbangan digital, sendok media.

### 3.2 Bahan Praktikum

Bahan praktikum yang digunakan: Sampel ikan (sesuai kelompok), aluminium foil, swap steril, larutan Nafis 0,9%, PCA (*plate count agar*), kapas, alcohol 70%, plastik, air, aquadest, koran, tali, kertas label, tissue, korek api, spiritus, NaCl.

### 3.3 Skema kerja praktikum



#### ➤ Cara Kerja :

- Masing-masing kelompok menyiapkan 5 tabung reaksi berisi 9 ml larutan pengencer steril, pipet steril, swap dari kapas steril, dan 6 cawan petri steril.
- Siapkan lubangan seluas 4 cm<sup>2</sup> (2 cm x 2 cm atau 4 cm x 1 cm) dari aluminium foil. Pada saat akan digunakan Aluminium foil tersebut di Sterilisasi atau diaseptiskan dengan menggunakan Alkohol.
- Setelah itu letakkan lubangan tersebut pada permukaan ikan dan kemudian gosok-gosoklah lubangan seluas 4 cm<sup>2</sup> tersebut dengan swap steril.

- Selanjutnya rendam swap tersebut dalam 9 ml larutan pengencer steril pada Tabung  $10^{-1}$  dan diputar-putar pada dinding tabung untuk melepaskan mikroba yang melekat pada swap.
- Dari contoh hasil swap tersebut buatlah pengenceran seperti yang telah ditetapkan dalam percobaan hingga  $10^{-5}$
- Buatlah penanaman dengan media PCA dari pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  sebanyak 0,1 ml secara duplo dengan metode Spread, Setelah beku inkubasikan pada suhu kamar selama 1 hari.
- Hitung Koloni Mikroba

# MATERI 7

## Perhitungan Total Bakteri Gram Positif dan Negatif

### 1. PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Pewarnaan Gram atau metode Gram adalah suatu metode untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni gram-positif dan gram-negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel mereka. Metode ini diberi nama berdasarkan penemunya, ilmuwan Denmark Hans Christian Gram (1853–1938) yang mengembangkan teknik ini pada tahun 1884 untuk membedakan antara *Pneumokokus* dan bakteri *Klebsiella pneumonia*. Dengan metode pewarnaan Gram, bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif berdasarkan reaksi atau sifat bakteri terhadap cat tersebut. Reaksi atau sifat bakteri tersebut ditentukan oleh komposisi dinding selnya. Oleh karena itu, pengecatan Gram tidak bisa dilakukan pada mikroorganisme yang tidak mempunyai dinding sel seperti *Mycoplasma sp*. Contoh bakteri yang tergolong bakteri tahan asam, yaitu dari genus *Mycobacterium* dan beberapa spesies tertentu dari genus *Nocardia*.

Bakteri gram positif akan mempertahankan zat pewarna kristal violet dan karenanya akan tampak berwarna ungu tua di bawah mikroskop. Adapun bakteri gram negatif akan kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi zat pewarna tandingannya yaitu dengan zat pewarna air fuchsin atau safranin akan tampak berwarna merah. Perbedaan warna ini disebabkan oleh perbedaan dalam struktur kimiawi dinding selnya (Rahman, 2010).

Menurut Nikaido (1996) dan Hernandez *et al.*, (1998) dalam Nofiani dan Gusrizal (2004), bakteri gram negatif lebih resisten terhadap obat-obatan dibandingkan dengan bakteri gram positif. Perbedaan klasifikasi antara kedua jenis bakteri ini terutama didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel bakteri. Pada bakteri gram positif susunan lebih sederhana terdiri atas 2 lapis namun memiliki

lapisan peptidoglikan yang tebal sementara pada dinding sel bakteri lebih kompleks terdiri atas 3 lapis namun lapisan peptidoglikan tipis (Juliantina *et al.*, 2011).

Adapun keuntungan dan kerugian bakteri gram positif dan negatif menurut Fardiaz (1992), adalah sebagai berikut:

❖ Keuntungan:

- *Glunobacter* dan *Acetobacter* berperan dalam industri asam asetat (cuka).
- *Xylinum* berperan dalam pengawetan makanan dengan memproduksi kapsul.
- *Leucobactus aremaris* berperan dalam pembuatab keju dengan meningkatkan cita rasa dengan memfermentasikan asam nitrat jadi diasetin.
- *Streptococcus* berperan dalam pengawetan makanan dengan menghambat pertumbuhan bakteri pangan dan pembentuk racun.
- *Pediococcus rewevisiae* (bakteri kaki gram (+)) berperan sebagai kultur stater dalam pembuatan daging (sosis).

❖ Kerugian:

- *Pseudomonas fluoriscens*: memproduksi senyawa yang menimbulkan bau busuk dan lendi pada makanan.
- *Serratia*: penyebab timbulnya warna pada makanan.
- *Erwinia caratovora*: penyebab timbulnya warna pada makanan.
- *Leunostoc*: memproduksi gas O<sub>2</sub> dari gula dalam jumlah tinggi, sehingga jika mengkontaminasi makanan membuat hal-hal yang tidak diinginkan.
- *Glurobacter oxydans*: membentuk lendir pada industri bir.

Hijau malasit (*malachite green*) adalah salah satu komponen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positive kedalam medium. Hijau malasite ditambahkan untuk menghitung jumlah bakteri gram negative. Selain hijau malasit, bakteri gram positive pada umumnya juga ditambahkan oleh zat-zat pewarna trifenilmetanol misalnya: violet kristal, fueshin basa hijau brilian pada konsentrasi yang lebih rendah menghitung jumlah total bakteri gram negative dapat digunakan PCA yang ditumbuhkan (0,25 ppm)

## 1.2 Maksud dan Tujuan

Maksud dari praktikum penghitungan total bakteri gram negatif dan bakteri gram positif pada produk perikanan adalah untuk mengetahui adanya bakteri gram positif dan bakteri gram negatif pada produk perikanan.

Tujuan dari praktikum penghitungan total bakteri gram negatif dan bakteri gram positif pada produk perikanan agar praktikan dapat melakukan perhitungan total bakteri gram positif dan bakteri gram negatif pada produk perikanan serta dapat membandingkan jumlah bakteri gram positif dan gram negatifnya.

## PROSEDUR KERJA

### MATERI 7. Perhitungan Total Bakteri Gram Positif dan Negatif

Sampel	Perlakuan	Perlakuan
Kuniran	Media NA	Media NA + MG
Wader	Media NA	Media NA + MG
Selar	Media NA	Media NA + MG
Kerang Darah	Media NA	Media NA + MG
Cumi-cumi	Media NA	Media NA + MG
Bawal	Media NA	Media NA + MG

## 3. METODOLOGI

### 3.1 Alat Praktikum

Alat - alat yang digunakan antara lain: erlenmeyer 250 ml, spatula, tabung reaksi, etalase bakteri, bunsen, beaker glass, timbangan digital, crushable tang, autoklaf, baskom, cawan petri, waterbath, rak tabung reaksi, panci, pipet serologis, colony counter, mortar dan alu, pisau, gelas ukur, talenan, kompor gas, nampan, sprayer, triangle.

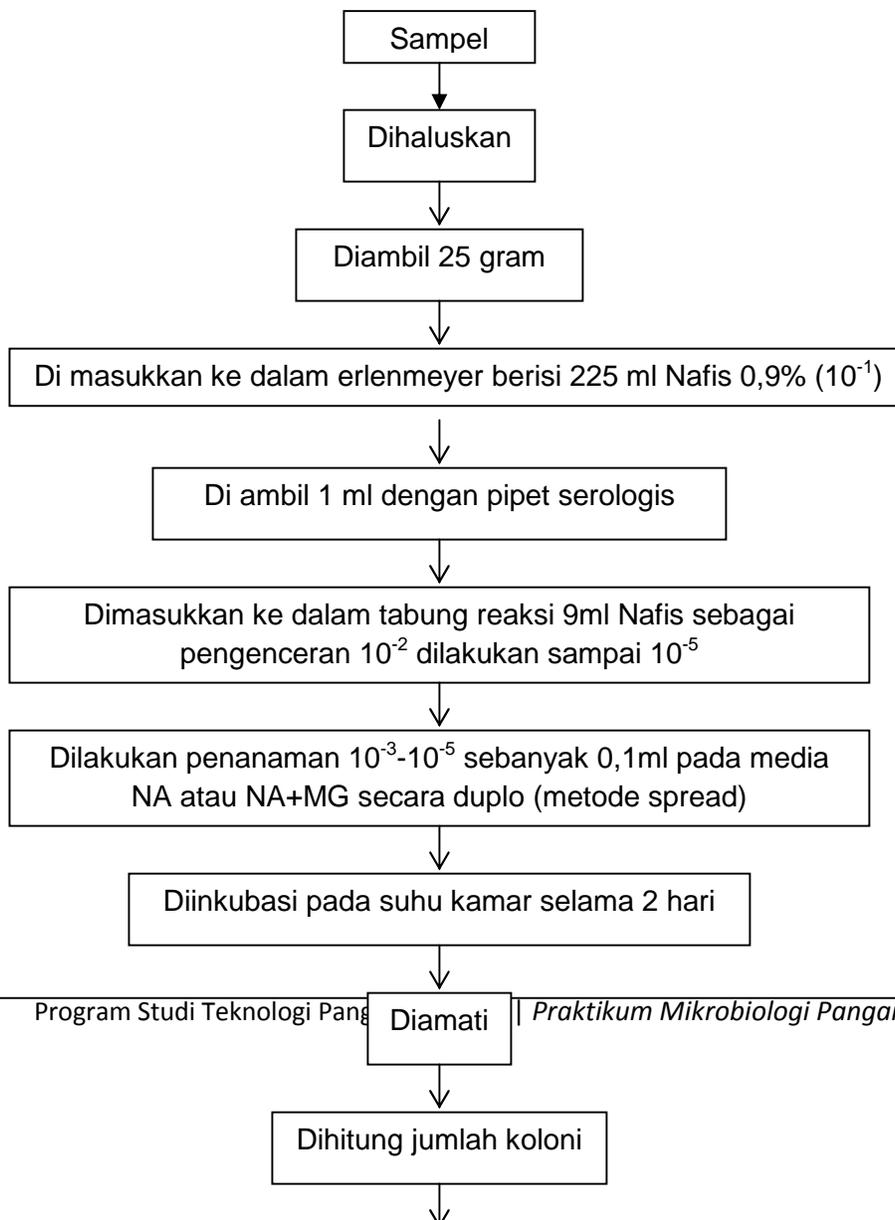
### 3.2 Bahan Praktikum

Bahan-bahan yang digunakan antara lain: Sampel Ikan (sesuai kelompok), NA (*Nutrient agar*), MG (*Malachite Green*), alcohol 70%, spirtus, kapas, kertas Label, NaCl, aquades, Nafis 0,9%, kertas Koran, tali, air, tissue, plastik.

### 3.3 Prosedur Kerja Praktikum

- Sampel dihaluskan dan ditimbang 25 gram lalu dimasukkan dalam Erlenmeyer berisi 225 ml Na-fis 0,9% steril ( dicatat sebagai factor pengenceran  $10^{-1}$ )
- Dilakukan pengenceran sampai  $10^{-5}$  dalam tabung reaksi.
- Buatlah penanaman dari pengenceran  $10^{-3}$  sampai  $10^{-5}$  sebanyak 0,1 ml pada media NA dan NA+Malachite Green (sesuai dengan perlakuan masing-masing kelompok) secara duplo (metode spread)
- Setelah membeku, inkubasi pada suhu kamar selama 2 hari
- Amati dan hitung jumlah koloni yang tumbuh dengan rumus:  
Gram negatif = total koloni media NA + Malachite Green  
Gram positif = total koloni pada media NA - ( total koloni pada media NA + Malachite Green

#### ➤ Skema Kerja Praktikum



**CONTOH COVER**  
**PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PANGAN**  
(Arial 14)

Judul Materi (Arial 12)

Nama :  
Nim :  
Kelompok :  
Shift :  
Asisten :

} Arial 12



} 6 X 6 cm

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN**  
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**  
**2013**

} Arial 12

➤ **FORMAT LAPORAN TULIS (DIBUAT PERMATERI)**

**1. PENDAHULUAN**

1.1 Latar Belakang

1.2 Maksud dan Tujuan

1.3 Waktu dan Tempat ( praktikum, preparasi dan pengamatan )

**2. METODOLOGI**

2.1 Alat dan Fungsi

2.2 Bahan dan fungsi

2.3 Skema Kerja

**3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

3.1 Data Pengamatan

3.2 Analisa Prosedur

3.3 Analisa Hasil

**4. PENUTUP**

4.1 Kesimpulan

4.2 Saran

**DAFTAR PUSTAKA**

**Lembar catatan :**