



**BUKU PANDUAN PRAKTIKUM  
MIKROBIOLOGI PANGAN**

**DISUSUN OLEH :  
AFRINAI EKA SARI, S.Tp., M.Si**

**PROGRAM STUDI S1 GIZI  
STIKes MITRA KELUARGA  
JAKARTA**

**2019**

## DAFTAR ISI

TATA TERTIB PRAKTIKUM .....	3
PENGENALAN ALAT .....	4
PENGENALAN MIKROORGANISME.....	6
PEMBUATAN MEDIA TANAM BAKTERI.....	8
PENANAMAN BAKTERI PADA MEDIA NA .....	11
PEMBUATAN MEDIA PDA.....	13
PENGAMATAN KAPANG DAN KHAMIR .....	15
PEMBUATAN MEDIA SSA .....	18
PEMBUATAN MEDIA TSIA.....	20
UJI BAKTERI PADA AIR MINUM ISI ULANG.....	22

## **TATA TERTIB PRAKTIKUM**

1. Selama mengikuti praktikum, praktikan diwajibkan berpakaian rapi dan menggunakan jas laboratorium
2. Praktikan harus datang tepat pada waktunya, sehingga pada saat praktikum dimulai, semua sudah hadir dalam ruangan praktikum. Keterlambatan hanya diijinkan maksimal 15 menit dari jadwal yang telah ditetapkan.
3. Selama praktikum berlangsung, HP harus dalam keadaan silent.
4. Praktikan wajib hadir 100 persen dari jumlah pertemuan agar bisa mengikuti ujian akhir semester (UAS), kecuali ada alasan khusus.
5. Sebelum menjalankan praktikum, praktikan harus mempersiapkan diri dan mempelajari hal-hal yang berhubungan dengan materi yang akan dipraktikumkan.
6. Selama praktikum berlangsung, praktikan bertanggung jawab terhadap alat-alat yang digunakan, membersihkan dan meneliti kembali apakah ada kekurangan atau tidak.
7. Setiap praktikum, praktikan wajib membawa alat tulis dan buku penuntun praktikum.
8. Gambar dan hasil pengamatan dibuat di laporan
9. Praktikan diwajibkan membuat laporan praktikum yang berisi: Pendahuluan (Latar belakang, Tujuan dan Manfaat), Tinjauan Pustaka, Metode Praktikum (Alat dan Bahan, serta Cara Kerja), Hasil Pengamatan dan Pembahasan, Kesimpulan, Daftar Pustaka.
10. Laporan praktikum dikumpulkan selambat-lambatnya 7 hari setelah pelaksanaan praktikum.
11. Segala sesuatu ketentuan yang berkaitan dengan tata tertib ini dapat diubah oleh pengasuh praktikum berdasarkan kebijaksanaan demi kelancaran pelaksanaan praktikum.

# PERTEMUAN 1

## PENGENALAN ALAT

### I. Tujuan Praktikum

Untuk mengetahui nama dan fungsi alat-alat yang digunakan dalam laboratorium

### II. Dasar Teori

Secara umum laboratorium adalah tempat melakukan berbagai percobaan atau penelitian. Dalam melakukan percobaan di laboratorium digunakan peralatan dan bahan yang sifatnya belum kita pahami atau belum dikenal sama sekali. Pengenalan dan pengetahuan terhadap peralatan laboratorium merupakan kewajiban bagi setiap pengelola dan petugas laboratorium, alat yang akan dioperasikan mutlak harus dalam kondisi siap pakai, bersih, terkalibrasi, tidak rusak dan beroperasi dengan baik. Peralatan dan bahan laboratorium dikelompokkan menjadi peralatan gelas, bahan-bahan kimia dan alat-alat optik (Sitorus dan Sutiani, 2013)

### III. Metode Kerja

#### a. Alat

*Biohazard Safety Cabinet*

Botol Reagen Kaca Coklat

Botol Spiritus

Bluetip

Buret

Cawan Petri

Centrifuge PLC 03

*Differential Blood Cell Counter*

Erlenmeyer

Gelas Arloji

Gelas Kimia

Gelas Ukur

Hot Plate

Inkubator

Kaca Pembesar

Kaki tiga

Labu Erlenmeyer

Labu ukur leher panjang

*Jarum ose*

Kaca objek

Kaca penutup

Mikropipet

Mikroskop Binokuler

Mikroskop Trinokuler

Mortal & Pestle

*Object Glass*

pH Meter Digital

Pinset

Pipet tetes

Pipet Ukur

Pipet Volume

Rak Mikropipet

Rak Tabung Reaksi Kayu

Rak Tabung Reaksi Plastik Hitam

Oven

Spatula Besi  
Autoklaf  
Tabung Falcon Kaca (Tanpa Tutup)

Tabung Reaksi  
Timer Mekanik  
Kapas penutup

### **Prosedur Kerja**

1. Catat alat yang tertulis pada bagian alat dan bahan yang ada pada laboratorium di kolom hasil
2. Tuliskan deskripsi singkat dan fungsi alat di kolom pembahasan
3. Mempelajari cara membuat penutup erlenmeyer

### **b. Diagram Alir**

## **IV. Hasil dan Pembahasan**

## **V. Kesimpulan dan Saran**

**Kesimpulan**

**Saran**

## **VI. Daftar Pustaka**

## **VII. Disetujui Oleh**

Dosen Pembimbing Praktikum	Mahasiswa
----------------------------	-----------

## **PERTEMUAN 2**

### **PENGENALAN MIKROORGANISME**

#### **I. Tujuan**

Mahasiswa mampu mengenali dan membedakan mikroorganisme

#### **II. Dasar Teori**

Mikroorganisme dan mikroba merupakan organisme yang berukuran sangat kecil (biasanya kurang dari 1 mm) sehingga diperlukan alat bantuan untuk mengamatnya. Mikroba dapat kita jumpai pada seluruh lingkungan normal maupun ekstrim. Setiap mikroba membutuhkan kondisi lingkungan tertentu terkait dengan karakter morfologi dan biokimia (metabolism) yang dimilikinya.

#### **III. Bahan dan Alat**

Alat

Mikroskop

Jarum ose

Kaca objek

Kaca penutup

Pipet tetes

Tabung reaksi

Bunsen

Cawan petri

Bahan:

1. Preparat awetan dan biakan murni bakteri : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aerus*, dan *Escherichia coli*.
2. Preparat awetan dan biakan murni jamur : *Aspergillus sp.* dan *Rhizopus sp.*
3. Preparat awetan dan biakan murni yeast : *Candida albicans*.
4. Mikroskop cahaya
5. Minyak imersi
6. Larutan xylol

#### **IV. Cara kerja**

1. Diamati bentuk – bentuk sel bakteri, kapang dan khamir pada preparat awetan yang telah disediakan dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 5 – 100 x.
2. Di amati kenampakan koloni pada biakan murni bakteri, kapang dan khamir.
3. Dibuat gambar sel dan dilengkapi dengan keterangan gambar yang diperlukan.
4. Dibersihkan minyak emersi pada lensa dengan menggunakan larutan xylol

#### **V. Hasil dan Pembahasan**

#### **VI. Kesimpulan dan Saran**

**Kesimpulan**

**Saran**

#### **VII. Daftar Pustaka**

#### **VIII. Disetujui Oleh**

Dosen Pembimbing Praktikum	Mahasiswa
----------------------------	-----------

# PERTEMUAN 3

## PEMBUATAN MEDIA TANAM BAKTERI

### I. Tujuan

Untuk mengetahui proses sterilisasi alat dan pembuatan media agar untuk pertumbuhan bakteri.

### II. Dasar Teori

Sterilisasi dalam mikrobiologi merupakan suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau di dalam suatu benda. Tiga cara utama yang umum dipakai dalam sterilisasi yaitu penggunaan panas, bahan kimia, dan penyaringan atau filtrasi (Hadioetomo 1985).

Dalam melakukan diagnosa Mikrobiologi sterilisasi sangat diutamakan baik alat maupun medianya. Suatu alat dikatakan steril apabila alat atau bahan bebas dari mikroba baik dalam bentuk vegetative maupun spora. Untuk itu sebagai pemula dalam Mikrobiologi sangat perlu mengenal teknik sterilisasi, pembuatan media serta teknik penanaman (Dwidjoseputro, 1994).

Medium merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran zat makanan (nutrient) yang berfungsi sebagai tempat tumbuh mikrobia. Selain untuk menumbuhkan mikrobia, medium dapat digunakan juga untuk isolasi, memperbanyak, pengujian sifat-sifat fisiologi, dan perhitungan jumlah mikrobia. Syarat-syarat suatu medium harus memenuhi hal-hal sebagai berikut: mengandung nutrisi yang diperlukan mikrobia, memiliki tekanan osmosis, pH, tegangan permukaan yang sesuai, tidak mengandung zat penghambat (inhibitor), dan steril.

### III. Bahan dan alat

Alat:

12 erlenmeyer 250 ml	autoklaf
10 erlenmeyer 500 ml	oven
3 batang pengaduk	hot plate stirer
20 tabung reaksi	3 pipet volumetrik
3 rak tabung reaksi	Bunsen
20 cawan petri	Botol semprot alcohol

Bahan:

NA (Nutrient agar)	alkohol
Akuades	spiritus
Kapas	
Kertas label	
Alumunium foil	
Plastic warp	

#### IV. Prosedur kerja

##### Sterilisasi alat:

1. Bungkus rapi alat gelas yang akan disterilkan dengan kertas pembungkus/alumunium foil
2. Sterilisasi dengan oven:
  - a. Buka pintu oven
  - b. Tempatkan alat ke dalam oven dengan susunan rapi
  - c. Tutup pintu oven
  - d. Setting suhu oven : 160 – 180 derajat celcius 1 – 3 jam
  - e. Setelah selesai matikan oven
  - f. Tunggu beberapa saat hingga suhu turun
  - g. Keluarkan alat dari oven

##### Pembuatan Media (Nutrient Agar)

1. Timbang 7 gram NA masukkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml
2. Tambahkan 250 ml akuades dan aduk sampai merata dengan batang pengaduk
3. Panaskan hati – hati dengan penangas/hot plate, jangan sampai terbentuk buih berlebihan sampai meluap.
4. Sterilkan media dalam Erlenmeyer tersebut dengan menggunakan autoklaf
  - a. Buka tutup autoklaf
  - b. Masukkan air ke dalam autoklaf hingga penanda batas air
  - c. Tempatkan bahan/medium kedalam autoklaf, susun rapi
  - d. Tutup autoklaf, putar kunci dengan kencang
  - e. Nyalakan autoklaf dan tunggu hingga mencapai suhu 12 derajat celcius dan tekanan sebesar 1 atm/15 lb, tutup katup autoklaf
  - f. Mulai sterilisasi selama 15 menit pada suhu 121 derajat celcius
  - g. Setelah selesai matikan autoklaf
  - h. Tunggu hingga tekanan turun hingga 0 atm
  - i. Buka hati – hati penutup autoklaf, keluarkan alat dan medium dari dalam autoklaf

- j. Media yang sudah disterilisasi sebaiknya dimasukkan ke dalam ruang pendingin dengan suhu 10 derajat celcius.

## **V. Hasil dan Pembahasan**

## **VI. Kesimpulan dan Saran**

### **Kesimpulan**

### **Saran**

## **VII. Daftar Pustaka**

## **VIII. Disetujui Oleh**

Dosen Pembimbing Praktikum	Mahasiswa
----------------------------	-----------

## PERTEMUAN 4

### PENANAMAN BAKTERI PADA MEDIA NA

#### I. Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan penanaman dan pengamatan bakteri pada media NA

#### II. Dasar teori

Nutrien agar adalah medium umum untuk uji air dan produk dairy. NA juga digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotrof. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. Na merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, sewage, produk pangan, untuk membawa stok kultur, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni.

Mikroorganisme yang sangat baik tumbuh pada medium NA diantaranya: *E. Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*

#### III. Bahan dan Alat

Alat

Cawan petri yang sudah berisi media NA 20 buah

Jarum ose

Bunsen

Bahan:

Gado – gado

Cendol

Rujak

Pepton water

Alkohol

#### **IV. Cara Kerja**

- a. Sampel dihancurkan/dihaluskan terlebih dahulu, kemudian ditimbang sebanyak 5 gram.
- b. Masukkan 5 gram sampel ke dalam botol yang telah berisi PW 45 ml yang telah disterilisasi. Tandai botol dengan pengenceran 10-1 .
- c. Letakkan botol diatas vortex agar PW dan sampel tercampur merata. Kemudian pipet 1 ml sampel dan masukkan ke dalam tabung reaksi 10-2 .
- d. Letakkan tabung reaksi 10-2 diatas vortex agar tercampur merata kemudian pipet 1 ml larutan dan masukkan ke dalam tabung reaksi 10-3 .
- e. Untuk uji penduga coliform, sebanyak 1 ml larutan dari pengenceran 10-1 sampai 10-3 diinokulasikan ke dalam cawan petri.
- f. Amati dan hitung jumlah bakteri per koloni

#### **V. Hasil dan Pembahasan**

#### **VI. Kesimpulan dan Saran**

**Kesimpulan**

**Saran**

#### **VII. Daftar Pustaka**

**Disetujui Oleh**

Dosen Pembimbing Praktikum	Mahasiswa
----------------------------	-----------

## **PERTEMUAN 5**

### **PEMBUATAN MEDIA PDA (POTATO DEXTROSE AGAR)**

#### **I. Tujuan**

Mahasiswa mampu membuat media potato dextrose agar (PDA)

#### **II. Dasar teori**

Potato dextrose agar (PDA) adalah medium yang digunakan untuk isolasi dan kultur jamur dan bakteri yang menyerang tanaman hidup atau materi tanaman mati membusuk.

Mikroorganisme umum yang dapat dibiakkan pada PDA adalah ragi, seperti *Candida albicans* dan *Saccharomyces cerevisiae* dan jamur seperti *Aspergillus niger* dan *Penicillium* sp.

#### **III. Bahan Dan Alat**

Alat

Erlenmeyer 500 ml

Gelas ukur

Hot Plate

Kapas

Beaker glass 500 ml

Bahan

PDA bubuk

Akuades

#### **IV. Cara kerja**

1. Ditimbang PDA bubuk sebanyak 10 gr
2. Dituang akuades sebanyak 500 ml ke dalam gelas ukur
3. Dipindahkan akuades tersebut ke dalam Erlenmeyer

4. Dimasukkan PDA ke dalam Erlenmeyer
5. Dimasukkan magnetic stirrer ke dalam Erlenmeyer
6. Ditaruh diatas hot plate
7. Di nyalakan , diatur suhunya dan kecepatannya
8. Ditunggu hingga mendidih dan homogen
9. Dibuat sumbat dari kapas
10. Disumbatkan pada beaker glass yang sudah berisi media PDA
11. Di sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 derajat celcius tekanan 1 – 2 atm

## **V. Hasil dan Pembahasan**

## **VI. Kesimpulan dan Saran**

### **Kesimpulan**

### **Saran**

## **VI. Daftar Pustaka**

### **Disetujui Oleh**

Dosen Pembimbing Praktikum	Mahasiswa
----------------------------	-----------

## PERTEMUAN 6

### PENGAMATAN KAPANG DAN KHAMIR

#### I. Tujuan

Mahasiswa dapat mengamati dan menghitung total kapang khamir yang terdapat pada bahan makanan.

#### II. Landasan Teori

Kapang adalah kelompok mikroba yang tergolong ke dalam fungi, selain itu terdapat khamir dan jamur. Fungi adalah suatu organisme eukariotik. Kapang adalah fungi yang mempunyai filamen (miselium), sedangkan khamir merupakan fungi sel tunggal tanpa filamen.

#### III. Bahan dan Alat

##### Alat

Tabung reaksi	autoklaf
Cawan petri	inkubator
Botol sampel	pipet volume
Bunsen	timbangan analitik
Colony counter	Vortex
Gelas ukur	

##### Bahan

Roti berjamur  
Tempe  
Pepton water (PW)  
Potato dextrose agar (PDA)  
Akuades

#### IV. Cara kerja

1. Masukkan PW sebanyak 45 ml ke dalam botol sampel kemudian di sterilisasi

2. Masukkan PW ke dalam 4 tabung reaksi ( 10-2, 10-2, 10-4, 10-5) masing – masing sebanyak 9 ml kemudian di sterilisasi
3. Sampel dihancurkan/ dihaluskan terlebih dahulu, kemudian ditimbang sebanyak 5 gram.
4. Masukkan 5 gram sampel ke dalam botol yang telah berisi PW 45 ml yang telah disterilisasi. Tandai botol dengan pengenceran 10-1.
5. Letakkan botol diatas vortex agar PW dan sampel tercampur merata. Kemudian pipet 1 ml sampel dan masukkan ke dalam cawan petri. Tandai cawan petri dengan 10-1. Setelah itu pipet 1 ml sampel dan masukkan ke tabung reaksi 10-2
6. Letakkan tabung reaksi 10-2 diatas vortex agar tercampur merata kemudian pipet 1 ml larutan dan masukkan ke dalam tabung reaksi 10-3.
7. Ulangi langkah no 4 sampai dengan pengenceran 10-5 dengan perlakuan yang sama.
8. Tambahkan 15 – 20 ml media PDA ke dalam masing – masing cawan petri kemudian putarlah cawan petri tersebut di atas meja membentuk angka 8 perlahan – lahan agar tercampur merata dengan medium (homogen)
9. Biarkan memadat kemudian diinkubasi dengan posisi cawan petri terbalik pada suhu 35 derajat celcius selama 24 – 48 jam
10. Hitung jumlah koloni yang terdapat dalam cawan petri tersebut

**V. Hasil dan Pembahasan**

**VI. Kesimpulan dan Saran**

**Kesimpulan**

**Saran**

**VII. Daftar Pustaka**

**Disetujui Oleh**

Dosen Pembimbing Praktikum	Mahasiswa
----------------------------	-----------

## PERTEMUAN 7

### PEMBUATAN MEDIA SSA (*SALMONELLA SHIGELLA AGAR*)

#### I. Tujuan

Mahasiswa mampu membuat media SSA

#### II. Landasan Teori

Salmonella Shigella Agar adalah medium padat untuk isolasi enterobacteria pathogen .  
Medium ini adalah medium selektif dan differensial yang banyak digunakan dalam bakteriologi sanitasi untuk mengisolasi salmonella dan shigella dari kotoran, urin, dan makanan.

#### III. Bahan dan Alat

Alat

Cawan petri

Hot plate

Timbangan analitik

Pengaduk

Botol sampel

Tabung reaksi

Pipet volumetric

Autoklaf

Bahan

Medium SSA

Akuades

Ikan segar

Telur mentah

#### IV. Cara kerja

1. Sebanyak 20 gram medium disuspensikan ke dalam 250 ml akuades

2. Dipanaskan sambal diaduk
3. Medium dipanaskan sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna selama 1 menit.
4. Masukkan ke dalam botol untuk disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 derajat celcius tekanan 1-2 atm
5. Tunggu hingga agak dingin sekitar suhu 45 derajat celcius
6. Tuangkan ke dalam cawan petri atau tabung reaksi untuk kultur agar miring
7. Inokulasi mikroorganisme ke dalam cawan dan inkubasi.

**V. Hasil dan Pembahasan**

**VI. Kesimpulan dan Saran**

**Kesimpulan**

**Saran**

**VII. Daftar Pustaka**

**Disetujui Oleh**

Dosen Pembimbing Praktikum	Mahasiswa
----------------------------	-----------

## **PERTEMUAN 8**

### **PEMBUATAN MEDIA TSIA (TRIPLE SUGAR IRON AGAR)**

#### **I. Tujuan**

Mahasiswa mampu membuat media TSIA dan melakukan pengamatan.

#### **II. Landasan teori**

TSIA digunakan untuk mengetahui kemampuan kuman untuk memfermentasi karbohidrat. Pada media TSIA berisi 3 macam karbohidrat yaitu glukosa, laktosa dan sukrosa. Indikatornya adalah phenol red yang menyebabkan perubahan warna dari merah orange menjadi kuning dalam suasana asam. Media TSIA juga dapat digunakan untuk mengetahui pembentukan H<sub>2</sub>S untuk mengetahui kuman memfermentasi metionin dan sistein.

#### **III. Bahan dan Alat**

Alat

Erlenmeyer

Tabung reaksi

Timbangan analitik

Autoklaf

Hot plate

Beaker glass

Pengaduk

Bahan

Media TSIA

Akuades

Yoghurt

#### IV. Cara kerja

1. Sebanyak 20 gram medium disuspensikan ke dalam 250 ml akuades
2. Medium dipanaskan sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna selama 1 menit
3. Masukkan ke dalam tabung reaksi untuk membuat agar miring
4. Di sterilisasi didalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121 derajat celcius tekanan 1 – 2 atm
5. Tunggu hingga agak dingin sekitar suhu 40 – 45 derajat celcius
6. Inokulasikan mikroorganismenya dan inkubasi.

#### V. Hasil dan Pembahasan

#### VI. Kesimpulan dan Saran

##### **Kesimpulan**

##### **Saran**

#### VII. Daftar Pustaka

#### **Disetujui Oleh**

Dosen Pembimbing Praktikum	Mahasiswa
----------------------------	-----------

## PERTEMUAN 9

### UJI BAKTERI PADA AIR MINUM ISI ULANG

#### Tujuan

Mahasiswa mampu melakukan pengamatan mikroorganisme yang terdapat air kemasan isi ulang

#### II. Dasar teori

Air minum isi ulang adalah jenis air minum yang diolah dengan cara disaring atau dengan proses dimeralisasi. Pada masa sekarang ini banyak sekali usaha rumahan yang menjual air minum isi ulang dengan harga yang relative murah sehingga masyarakat banyak yang tertarik menjadi konsumen. Dari segi keamanan pangan belum banyak penelitian yang menganalisa perkembangan mikroorganisme yang terdapat pada air kemasan isi ulang. Padahal seperti kita ketahui air merupakan media yang baik untuk perkembangan mikroorganisme.

Mikroorganisme yang sangat baik tumbuh pada air diantaranya: *E. Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus sp.*

#### III. Bahan dan Alat

Alat

Cawan petri yang sudah berisi media NA 20 buah

Jarum ose

Bunsen

Bahan:

Air merk aqua

Air isi ulang berbagai merk (min 3 merk)

Pepton water

Alkohol

#### **IV. Cara Kerja**

- a. Ukur sampel sebanyak 5 mL.
- b. Masukkan sampel ke dalam botol yang telah berisi PW 45 ml yang telah disterilisasi. Tandai botol dengan pengenceran 10-1 .
- c. Letakkan botol diatas vortex agar PW dan sampel tercampur merata. Kemudian pipet 1 ml sampel dan masukkan ke dalam tabung reaksi 10-2 .
- d. Letakkan tabung reaksi 10-2 diatas vortex agar tercampur merata kemudian pipet 1 ml larutan dan masukkan ke dalam tabung reaksi 10-3 .
- e. Untuk uji penduga coliform, sebanyak 1 ml larutan dari pengenceran 10-1 sampai 10-3 diinokulasikan ke dalam cawan petri.
- f. Amati dan hitung jumlah bakteri per koloni

#### **VIII. Hasil dan Pembahasan**

#### **IX. Kesimpulan dan Saran**

##### **Kesimpulan**

##### **Saran**

#### **X. Daftar Pustaka**

##### **Disetujui Oleh**

Dosen Pembimbing Praktikum	Mahasiswa
----------------------------	-----------