

**Buku Teks
Bahan Ajar Siswa**



Paket Keahlian: Kimia Analis

Mikrobiologi



Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan
Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan
Republik Indonesia



KATA PENGANTAR

Kurikulum 2013 dirancang untuk memperkuat kompetensi siswa dari sisi sikap, pengetahuan dan keterampilan secara utuh. Keutuhan tersebut menjadi dasar dalam perumusan kompetensi dasar tiap mata pelajaran mencakup kompetensi dasar kelompok sikap, kompetensi dasar kelompok pengetahuan, dan kompetensi dasar kelompok keterampilan. Semua mata pelajaran dirancang mengikuti rumusan tersebut.

Pembelajaran kelas X dan XI jenjang Pendidikan Menengah Kejuruan yang disajikan dalam buku ini juga tunduk pada ketentuan tersebut. Buku siswa ini berisi materi pembelajaran yang membekali peserta didik dengan pengetahuan, keterampilan dalam menyajikan pengetahuan yang dikuasai secara kongkrit dan abstrak, dan sikap sebagai makhluk yang mensyukuri anugerah alam semesta yang dikaruniakan kepadanya melalui pemanfaatan yang bertanggung jawab.

Buku ini menjabarkan usaha minimal yang harus dilakukan siswa untuk mencapai kompetensi yang diharuskan. Sesuai dengan pendekatan yang digunakan dalam kurikulum 2013, siswa diberanikan untuk mencari dari sumber belajar lain yang tersedia dan terbentang luas di sekitarnya. Peran guru sangat penting untuk meningkatkan dan menyesuaikan daya serap siswa dengan ketersediaan kegiatan buku ini. Guru dapat memperkayanya dengan kreasi dalam bentuk kegiatan-kegiatan lain yang sesuai dan relevan yang bersumber dari lingkungan sosial dan alam.

Buku ini sangat terbuka dan terus dilakukan perbaikan dan penyempurnaan. Untuk itu, kami mengundang para pembaca memberikan kritik, saran, dan masukan untuk perbaikan dan penyempurnaan. Atas kontribusi tersebut, kami ucapkan terima kasih. Mudah-mudahan kita dapat memberikan yang terbaik bagi kemajuan dunia pendidikan dalam rangka mempersiapkan generasi seratus tahun Indonesia Merdeka (2045)

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL	vii
PETA KEDUDUKAN BAHAN AJAR	viii
GLOSARIUM	ix
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Deskripsi	1
B. Prasarat	2
C. Petunjuk Penggunaan Buku.....	2
D. Tujuan Akhir	3
E. Kompetensi Inti dan Kompetensi Dasar (KI dan KD)	4
F. Cek Kemampuan Awal	6
II. PEMBELAJARAN	7
KEGIATAN PEMBELAJARAN 1 (KD 1- 18 JP)	7
A. Deskripsi	7
B. Kegiatan Belajar	7
1. Tujuan Pembelajaran.....	7
2. Uraian Materi	7
3. Refleksi.....	55
4. Tugas.....	55
5. Tes Formatif	55
C. Penilaian	55
KEGIATAN PEMBELAJARAN 2 (KD 2-18 JP)	65
A. Deskripsi	65
B. Kegiatan Belajar	65
1. Tujuan Pembelajaran.....	65

2. Uraian Materi	65
3. Refleksi.....	76
4. Tugas.....	76
5. Tes Formatif	76
C. Penilaian	76
KEGIATAN PEMBELAJARAN 3 (KD 3– 18 JP)	87
A. Deskripsi	87
B. Kegiatan Belajar	87
1. Tujuan Pembelajaran.....	87
2. Uraian Materi	87
3. Refleksi.....	107
4. Tugas.....	107
5. Tes Formatif	107
C. Penilaian	108
KEGIATAN PEMBELAJARAN 4 (KD 4- 18 JP)	118
A. Deskripsi.....	118
B. Kegiatan Belajar	118
1. Tujuan Pembelajaran.....	118
2. Uraian Materi	118
3. Refleksi.....	148
4. Tugas.....	149
5. Tes Formatif	149
C. Penilaian	149
KEGIATAN PEMBELAJARAN 5 (KD 5- 18 JP)	159
A. Deskripsi	159
B. Kegiatan Belajar	159
1. Tujuan Pembelajaran.....	159
2. Uraian Materi	160
3. Refleksi.....	238
b. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pembelajaran ini ?	238

c. Tuliskan secara ringkas apa yang anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!	238
4. Tugas.....	238
C. Penilaian	239
III. PENUTUP.....	252
DAFTAR PUSTAKA.....	253

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Escherichia coli</i> dilihat dengan mikroskop elektron (a) dan <i>Escherichia coli</i> dilihat dengan mikroskop cahaya (b).....	8
Gambar 2. Mikroskop cahaya dan bagian-bagiannya (a)	9
Gambar 3. Cara Menggunakan Mikroskop	11
Gambar 4. <i>Saccharomyces</i>	17
Gambar 5. <i>Kelompok Jamur</i>	26
Gambar 6. Tempe dan Jamur Tempe	28
Gambar 7. Jamur shitake, Jamur kuping, <i>Ganoderma</i> sp.	31
Gambar 8. Konidium <i>Aspergillus</i> sp	34
Gambar 9. Penampakan berbagai jenis bakteri	36
Gambar 10. Struktur Dasar Sel Bakteri.....	38
Gambar 11. Flagelum.....	38
Gambar 12. Pilus.....	39
Gambar 13. Jumlah dan posisi flagelum pada bakteri	42
Gambar 14. <i>Escherichia coli</i> di usus sapi.....	49
Gambar 15. Autoclave	96
Gambar 16. Oven sterilisasi alat-alat gelas	99
Gambar 17. Proses sterilisasi alat-alat gelas	100
Gambar 18. Sterilisasi alat- alat gelas.....	100
Gambar 19. Media dalam cawan petri.....	119
Gambar 20. Jarum ose	120
Gambar 21. Encast	120
Gambar 22. Inkubator	120
Gambar 23. A. Teknik gores dengan agar miring; b. Teknik tusuk	121
Gambar 24. Metode Cawan Gores	122
Gambar 25. Teknik Gores T	124
Gambar 26. Teknik Gores Sinambung	124

Gambar 27. Gores Kuadran.....	125
Gambar 28. Metode Cawan Tuang	126
Gambar 29. Metode <i>Swab</i>	127
Gambar 30. Ciri- ciri koloni	131
Gambar 31. Prosedur Pewarnaan Sederhana.....	135
Gambar 32. Proses Pewarnaan	137
Gambar 33. Gambar Prosedur Pewarnaan Gram.....	143
Gambar 34. Teknik Menggores	147
Gambar 35. Beragam Produk Fermentasi Susu Menggunakan BAL (Anonim, 2005) .	202
Gambar 36. Produksi Yoghurt Skala Industri	203
Gambar 37. Proses Malting pada Pembuatan Bir (Anonim, 2006)	211
Gambar 38. Diagram Alir Pembuatan Wine (Anonim, 2006)	214
Gambar 39. Produksi Wine Secara Komersial (Anonim, 2005)	215
Gambar 40. Bagan proses pembuatan kompos konvensional.....	230
Gambar 41. Bagan pembuatan kompos dengan starter	234

DAFTAR TABEL

Table 1. Bagian-Bagian Mikroskop dan Fungsinya	9
Table 2. Bakteri pembentu spora yang berperan dalam kerusakan makanan.....	18
Table 3. Mikroorganisme yang Berperan dalam Pembuatan Makanan dan Minuman	50
Table 4. Klasifikasi media pertumbuhan mikrobial.....	69
Table 5. Jumlah medium dan wadah yang digunakan	72
Table 6. Macam-Macam Fermentasi Karbohidrat (Anonim 2006)	191
Table 7. Jenis Khamir dan <i>Wine</i> yang Dihasilkan (Anonim, 2006).....	208
Table 8. Jenis khamir dalam fermentasi minuman beralkohol.	208
Table 9. Komposisi Berbagai Bahan Organik untuk Pembuatan Kompos (Dalzell et al. (1987 dan Gaur (1982).....	221

PETA KEDUDUKAN BAHAN AJAR

PAKET KEAHLIAN KIMIA ANALIS

C2 SEMESTER-1	C2 SEMESTER-2	C3 SEMESTER-3	C3 SEMESTER-4	C3 SEMESTER-5	C3 SEMESTER-6
TDPLK SEMESTER -1	TDPLK SEMESTER -2	ATG SEMESTER- 3	ATG SEMESTER- 4	MAN LAB SEMESTER- 5	MAN LAB SEMESTER- 6
AKD SEMESTER -1	AKD SEMESTER -2	KIM ANALITIK TERAPAN SEMESTER-	KIM ANALITIK TERAPAN SEMESTER-	KIM ANALITIK TERAPAN SEMESTER-	KIM ANALITIK TERAPAN SEMESTER-
KIM OR SEMESTER -1	KIM OR SEMESTER -2	ANALISIS INSTRUME N SEMESTER- 3	ANALISIS INSTRUME N SEMESTER- 4	ANALISIS INSTRUME N SEMESTER- 5	ANALISIS INSTRUME N SEMESTER- 6
MIKRO BIOLOGI SEMESTER -1	MIKRO BIOLOGI SEMESTE R-2			ANALISIS KITER SEMESTER- 5	ANALISIS KITER SEMESTER- 6



BUKU TEKS YANG SEDANG
DIPELAJARI

GLOSARIUM

- Agar : agensia pembentuk tekstur pada makanan (E 406), dihasilkan dari ekstraksi ganggang merah (*Rhodophyceae sp*). Agar terdiri dari dua polisakarida: agarosa (galaktosa dengan 3,6-anhidro-L-galaktosa) dan agaropektin (1,3-D galaktosa dengan gugus-gugus ester sulfat); BM = kurang lebih 100.000.
- Alkohol (*alkohol*) : komponen organik dengan rumus umum R -OH, di mana R adalah gugus alkil atau alkil tersubstitusi. Etanol yang diproduksi dengan cara fermentasi menggunakan yeast adalah alkohol yang umumnya terdapat dalam minuman beralkohol
- Bakteri : mikroba bersel tunggal yang memiliki dinding sel, berkembang biak dengan membelah diri dan mempunyai empat bentuk utama yaitu kokus (bulat), koma, spiral dan basil (seperi batang)
- Cat Gram (*Gram stain*) : suatu cat bakteriologis paling penting; ditemukan pertama kali pada tahun 1880 oleh Christian Gram. Bila bakteri dicat dengan kristal violet atau cat dasar lainnya, beberapa spesies tertentu (Gram negatif) akan dengan mudah dilunturkan warnanya dengan pelarut organik yaitu etanol atau aseton; sedangkan yang lainnya (Gram positif) tidak akan luntur. Cat Gram merefleksikan perbedaan dasar dinding sel dari dua golongan bakteri
- Enzim : suatu protein yang berperan sebagai katalis biologi (biokatalisator) yang akan mengkatalisis setiap reaksi di dalam sel hidup
- Escherichia coli* : spesies bakteri yang berasal dari saluran pencernaan

	manusia dan hewan berdarah panas
Esensial (<i>essential</i>)	: istilah untuk menerangkan sesuatu bahan yang tak dapat disintesis oleh tubuh, padahal bahan tersebut sangat diperlukan tubuh untuk menjaga agar fungsi organ baik. Oleh karenanya, zat esensial tersebut harus ada pada makanan yang dikonsumsi dalam jumlah cukup. Bila kekurangan zat ini akan menyebabkan penyakit atau mengurangi kecepatan dalam pertumbuhan dan perkembangan
Fermentasi (<i>fermentation</i>)	: Suatu reaksi metabolisme yang meliputi sederet reaksi oksidasi-reduksi, yang donor dan aseptor elektronnya adalah senyawa-senyawa organik, umumnya menghasilkan energi. Fermentasi dilakukan oleh bakteri, fungi dan <i>yeast</i> tertentu, baik fakultatif maupun obligat
Inkubasi (<i>incubation</i>)	: Proses untuk mengembangbiakan mikroba pada kondisi tertentu dalam lingkungan yang terkendali. Inkubasi dapat dilakukan dalam almari khusus atau dalam suatu penangas yang dinamakan inkubator
Inokulasi	: pekerjaan memindahkan mikroba dari medium yang lama ke medium yang baru dengan tingkat kesterilan yang sangat tinggi
Isolasi	: Prinsip dari isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkannya dalam media padat, sel-sel mikroba akan membentuk koloni sel yang tetap pada tempatnya (Nur, I. dan Asnani, 2007).
Jamur (<i>mushroom</i>)	: cendawan yang tubuh buahnya berukuran besar
Kapang (<i>moulds</i>)	: cendawan yang berukuran renik

Khamir (<i>yeast</i>)	: cendawan bersel tunggal
<i>Lactobacillus sp.</i>	: suatu genus bakteri Gram positif yang menghasilkan asam laktat dalam fermentasi karbohidrat. <i>Lactobacillus</i> tidak patogen, terdapat dalam mulut dan saluran pencernaan manusia. Bakteri tersebut penting dalam fermentasi bermacam-macam makanan, seperti keju, asinan, dan yoghurt
Limbah	: buangan yang dihasilkan dari suatu proses produksi baik industri maupun domestik (rumah tangga), yang kehadirannya pada suatu saat dan tempat tertentu tidak dikehendaki lingkungan karena tidak memiliki nilai ekonomis
Media	: suatu substrat untuk menumbuhkan bakteri yang menjadi padat dan tetap tembus pandang pada suhu inkubasi (Pelczareta, 1986). (mohon perbaiki kalimat ini)
Medium	: suatu bahan nutrisi tempat menumbuhkan bakteri di laboratorium
Mikrobiologi	: Ilmu yang mempelajari mikroba
<i>Saccharomyces (accharomyce)</i>	: yeast yang digunakan secara luas dalam industri pengolahan pangan seperti baking, peragian (<i>S. cereviceae</i>), dan pengolahan susu (<i>S. lactis</i>), untuk proses fermentasi dan untuk produksi yeast pangan. <i>Saccharomyces</i> kebanyakan memfermentasi heksosa
<i>Salmonella</i>	: genus bakteri Gram-negatif, bersifat aerob atau anaerob, kebanyakan merupakan spesies penyebab keracunan pangan seperti: <i>Salmonella typhi</i> (typhoid), <i>S. paratyphi</i> (paratipoid) dan <i>S. enteroidis</i> .
Sterilisasi	: suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau di dalam suatu benda

Yeast (*yeast*) : organisme bulat bersel tunggal berukuran 1-100 mikron, umumnya berkembang biak dengan proses pembentukan tonjolan (budding). Kebutuhan nutrien yeast sedikit yaitu nitrogen dalam bentuk sederhana, berbagai sumber karbon (heksosa, pentosa, disakarida, alkana) dan beberapa mineral kelumit. Pada kondisi anaerobik yeast mampu memetabolisme (memfermentasi) gula menjadi alkohol dan pada kondisi aerobik yeast menggunakan gula ini untuk pertumbuhan. Pada umumnya yeast tumbuh pada medium asam (pH 3,5-7) dan optimal pada suhu 20 sampai 30°C dan dalam kelembaban antara 60% dan 90%. Ada dua familia utama dari yeast yaitu (1) *Cryptococcaceae* yang terdiri dari *Torulopsis (Torah)* dan *Candida*, (2) *Ondom wetaceae vanc*, meliputi *Kluyveamyces*, *Schizosaccharom*, *Picia* dan *hansenula*. Beberapa yeast seperti *Candida spp* adalah pathogenik.

I. PENDAHULUAN

A. Deskripsi

Buku ini berisikan tentang identifikasi bakteri, khamir dan kapang; jenis – jenis bakteri, khamir dan kapang. Penggolongan bakteri, khamir dan kapang . Kondisi optimum berbagai bakteri, khamir dan kapang, dan cara mengidentifikasi/menggolongkan bakteri, khamir dan kapang.

Pembuatan Media Pertumbuhan (bahan dasar media, jenis- jenis media pertumbuhan berdasarkan sifat fisik, komposisi, tujuan (selektif, diperkaya) sifat- sifat media, komposisi media pertumbuhan, dan teknik pembuatan media).

Melakukan sterilisasi dan uji sterilitas (prinsip dan tujuan sterilisasi, pengoperasian neraca, inkubator dan autoclave, sterilisasi ruangan , sterilisasi peralatan , sterilisasi media, bahan kimia untuk sterilisasi ruangan (meja, inkas pekerja, dan lain - lain)

Inokulasi dan isolasi (peralatan untuk isolasi dan inokulasi , maca –macam teknik preparasi pengambilan sampel mikroba , ciri-ciri bakteri Gram negatif dan Gram positif, teknik pengecatan bakteri, macam–macam teknik penanaman, cara mendapatkan kultur murni (pengenceran bertingkat, goresan), menguji kultur murni.

Pembuatan produk dan atau pengolahan limbah dengan menggunakan jasa mikroba: bahan baku atau media untuk pembuatan produk makanan/minuman/bahan industri, jenis mikroba yang digunakan untuk proses fermentasi dalam pembuatan produk makanan/minuman/atau bahan industri, kondisi optimum proses fermentasi, pengendalian proses fermentasi pembuatan produk industri secara fermentasi, pemisahan produk

B. Prasarat

Sebelum mempelajari buku mikrobiologi ini siswa disyaratkan telah mempelajari materi biologi.

C. Petunjuk Penggunaan Buku

Penjelasan bagi Peserta Didik

1. Bacalah Buku ini secara berurutan dari Kata Pengantar sampai Daftar Cek Kemampuan, pahami dengan benar isi dari setiap babnya.
2. Setelah Anda mengisi Cek Kemampuan, apakah Anda termasuk kategori orang yang perlu mempelajari buku ini? Apabila Anda menjawab Ya, maka pelajari buku ini.
3. Laksanakan semua tugas yang ada dalam modul ini agar kompetensi Anda berkembang sesuai standar.
4. Lakukan kegiatan belajar untuk mendapatkan kompetensi sesuai dengan yang disetujui oleh Guru.
5. Setiap mempelajari satu sub kompetensi, Anda harus mulai dari memahami tujuan kegiatan pembelajarannya, menguasai pengetahuan pendukung (Uraian Materi), melaksanakan tugas-tugas dan mengerjakan soal latihan.
6. Setelah selesai mempelajari modul ini silahkan Anda mengerjakan latihan.
7. Laksanakan Lembar Kerja untuk pembentukan psikomotorik skills sampai Anda benar-benar terampil sesuai standar. Apabila Anda mengalami kesulitan dalam melaksanakan tugas ini, konsultasikan dengan guru.
8. Setelah Anda merasa benar-benar menguasai seluruh kegiatan belajar dalam modul ini, mintalah evaluasi dari guru.

Peran Guru

1. Membantu siswa dalam merencanakan proses belajar.
2. Membimbing siswa melalui tugas-tugas pelatihan yang dijelaskan dalam tahap belajar.

3. Membantu siswa dalam memahami konsep dan praktek baru serta menjawab pertanyaan siswa mengenai proses belajar siswa.
4. Membantu siswa untuk menentukan dan mengakses sumber tambahan lain yang diperlukan untuk belajar.
5. Mengorganisasikan kegiatan belajar kelompok jika diperlukan.
6. Melaksanakan penilaian.
7. Menjelaskan kepada siswa mengenai bagian yang perlu untuk dibenahi dan merundingkan rencana pembelajaran selanjutnya.
8. Mencatat pencapaian kemajuan siswa.

D. Tujuan Akhir

Setelah mempelajari buku ini siswa mampu :

1. Menganalisis ciri-ciri koloni dan sel jamur, bakteri, dan yeast secara mikroskopis
2. Melaksanakan identifikasi jamur, bakteri, dan yeast dengan mikroskop
3. Menerapkan pengetahuan faktual, konseptual dan prosedural dalam membuat media
4. Membuat media untuk pertumbuhan dan isolasi
5. Menerapkan konsep dan prinsip teknik sterilisasi dan uji sterilitas
6. Menerapkan konsep dan prinsip teknik isolasi dan inokulasi
7. Melaksanakan isolasi dan inokulasi
8. Menerapkan jenis dan sifat serta kondisi optimum pertumbuhan mikroba untuk proses pembuatan makanan/minuman/bahan bakar/pengolahan limbah
9. Melaksanakan pembuatan makanan/minuman/bahan bakar/pengolahan limbah

E. Kompetensi Inti dan Kompetensi Dasar (KI dan KD)

KOMPETENSI INTI DAN KOMPETENSI DASAR

SEKOLAH MENENGAH KEJURUAN (SMK) / MADRASAH ALIYAH KEJURUAN (MAK)

PROGRAM STUDI KEAHLIAN : TEKNIK KIMIA

PAKET KEAHLIAN : KIMIA INDUSTRI

MATA PELAJARAN : MIKROBIOLOGI

KELAS: X

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
<ul style="list-style-type: none">• Menghayati dan mengamalkan ajaran agama yang dianutnya	1.1 Meyakini anugerah Tuhan pada pembelajaran mikrobiologi sebagai amanat untuk kemaslahatan umat manusia.
2. Menghayati perilaku (jujur, disiplin, tanggungjawab, peduli, santun, ramah lingkungan, gotong royong, kerjasama, cinta damai, responsif dan pro-aktif) dan menunjukkan sikap sebagai bagian dari solusi atas berbagai permasalahan bangsa dalam berinteraksi secara efektif dengan lingkungan sosial dan alam serta dalam menempatkan diri sebagai cerminan bangsa dalam pergaulan dunia.	<p>2.1 Menghayati sikap cermat, teliti dan bertanggung jawab sebagai hasil dari pembelajaran teori dan praktik identifikasi jenis dan sifat Jamur, bakteri dan yeast untuk proses industri</p> <p>2.2 Menghayati pentingnya kerjasama sebagai hasil pembelajaran praktik identifikasi jenis dan sifat mikroba untuk proses industri</p> <p>2.3 Menghayati pentingnya kepedulian terhadap kebersihan lingkungan laboratorium kimia sebagai hasil dari pembelajaran praktik identifikasi identifikasi jenis dan sifat mikroba untuk proses industri dan menggunakan mikroba untuk proses pembuatan makanan/minuman/bahan bakar/pengolahan limbah</p> <p>2.4 Menghayati pentingnya bersikap jujur, disiplin serta bertanggung jawab sebagai hasil dari pembelajaran identifikasi jenis dan sifat mikroba untuk proses industri dan</p>

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
	menggunakan mikroba untuk proses pembuatan makanan/minuman/pengolahan limbah
<p>3 Memahami, menganalisis serta menerapkan pengetahuan faktual, konseptual, prosedural dalam ilmu pengetahuan, teknologi, seni, budaya dan humaniora dengan wawasan kemasyarakatan, kebangsaan, kenegaraan dan peradaban terkait penyebab fenomena dan kejadian dalam bidang kerja yang spesifik untuk memecahkan masalah</p>	<p>3.1 Menganalisis ciri-ciri koloni kapang, bakteri dan yeast secara mikroskopis dan pengamatan indrawi</p> <p>3.2 Menerapkan pengetahuan faktual, konseptual, prosedural dalam membuat media</p> <p>3.3 Menerapkan konsep dan prinsip teknik sterilisasi dan uji sterilitas</p> <p>3.4 Menerapkan konsep dan prinsip teknik isolasi dan inokulasi</p> <p>3.5 Menerapkan jenis dan sifat serta kondisi optimum pertumbuhan mikroba untuk proses pembuatan makanan/minuman/bahan bakar/pengolahan limbah</p> <p>3.6 Menerapkan konsep dan prinsip cara melakukan pemeriksaan kualitas air dan makanan metoda TPC</p> <p>3.7 Menerapkan konsep dan prinsip cara menentukan jumlah koloni jamur</p> <p>3.8 Menerapkan konsep dan prinsip cara teknik identifikasi bakteri menggunakan metode IMVIC (<i>Indole, Methyl Red, Voges-Prokauer Citrate</i>)</p> <p>3.9 Menerapkan konsep dan prinsip cara pemeriksaan <i>E. Coli</i> bahan pangan</p> <p>3.10 Menerapkan konsep dan prinsip cara pelaporan hasil pemeriksaan <i>Salmonella</i> bahan pangan</p>
<p>4 Mengolah, menalar, dan menyaji dalam ranah konkret dan ranah abstrak terkait dengan pengembangan dari yang dipelajarinya di sekolah secara mandiri, dan mampu melaksanakan tugas spesifik di bawah pengawasan langsung</p>	<p>4.1 Melaksanakan identifikasi jamur, bakteri, dan yeast dengan mikroskop</p> <p>4.2 Membuat media untuk pertumbuhan dan isolasi</p> <p>4.3 Melakukan sterilisasi dan uji sterilitas</p> <p>4.4 Melaksanakan isolasi dan inokulasi</p> <p>4.5 Melaksanakan pembuatan makanan/minuman/bahan bakar/pengolahan limbah</p> <p>4.6 Melakukan pemeriksaan kualitas air dan makanan dengan metoda TPC</p>

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
	4.7 Melaksanakan pengujian total kapang dalam sampel 4.8 Melakukan identifikasi bakteri menggunakan metode IMVIC (<i>Indole, Methyl Red, Voges-Prokauer Citrate</i>) 4.9 Melakukan pemeriksaan <i>E. Coli</i> bahan pangan 4.10 Melakukan pemeriksaan <i>Salmonella</i> pada bahan pangan

F. Cek Kemampuan Awal

Jawablah pertanyaan berikut ini !

No	Kompetensi	Ya	Tidak
1	Apakah anda mampu menganalisis ciri- ciri koloni dan sel jamur, bakteri, dan yeast secara mikroskopis ?		
2	Apakah anda mampu melaksanakan identifikasi jamur, bakteri, dan yeast dengan mikroskop ?		
3	Apakah anda mampu menerapkan pengetahuan faktual, konseptual, prosedural dalam membuat media ?		
4	Apakah anda mampu membuat media untuk pertumbuhan dan isolasi ?		
5	Apakah anda mampu menerapkan konsep dan prinsip teknik sterilisasi dan uji sterilitas ?		
6	Apakah anda mampu menerapkan konsep dan prinsip teknik isolasi dan inokulasi ?		
7	Apakah anda mampu melakukan isolasi dan inokulasi ?		
8	Apakah anda mampu menerapkan jenis dan sifat serta kondisi optimum pertumbuhan mikroba untuk proses pembuatan makanan/minuman/bahan bakar/pengolahan limbah ?		
9	Apakah anda mampu melaksanakan pembuatan makanan/minuman /bahan bakar /pengolahan limbah ?		

Apabila anda menjawab semua pertanyaan “ Ya” langsung anda minta tes kepada guru, dan apabila anda menjawab “ tidak “ maka anda harus mempelajari buku ini

II. PEMBELAJARAN

KEGIATAN PEMBELAJARAN 1 (KD 1- 18 JP)

Menganalisis ciri-ciri koloni kapang, bakteri, dan yeast secara mikroskopis dan pengamatan indrawi (3.1)

Melaksanakan identifikasi jamur, bakteri, dan yeast dengan mikroskop(4.1)

A. Deskripsi

Dalam Kegiatan Pembelajaran akan dipelajari tentang Identifikasi bakteri, khamir dan kapang, jenis- jenis bakteri, khamir dan kapang

Penggolongan bakteri khamir dan kapang, kondisi optimum berbagai bakteri, khamir dan kapang. Ciri- ciri koloni bakteri, khamir dan kapang. Penggunaan lup mikroskop. Cara mengidentifikasi bakteri, khamir dan kapang

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

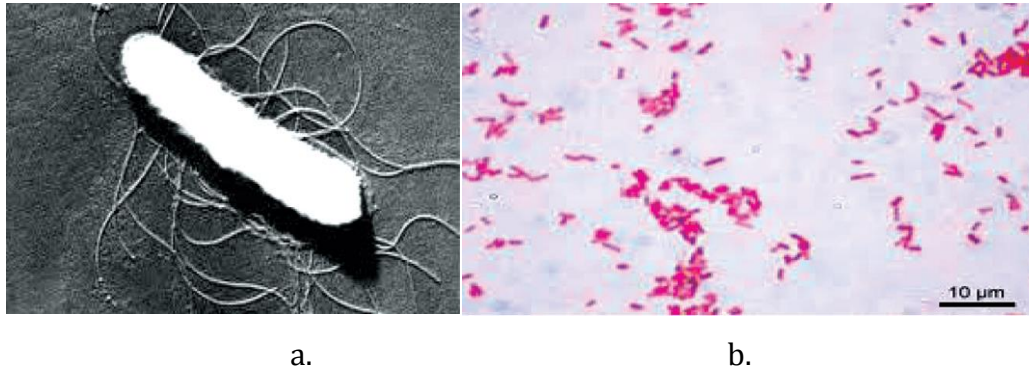
Setelah menyelesaikan pembelajaran ini siswa dapat :

- a. Menjelaskan jenis-jenis bakteri, khamir dan kapang
- b. Menggolongkan bakteri, khamir dan kapang
- c. Mengidentifikasi ciri-ciri koloni bakteri, khamir dan kapang
- d. Menggunakan lup atau mikroskop
- e. Menerapkan cara mengidentifikasi/menggolongkan bakteri, khamir dan kapang

2. Uraian Materi

Tahukah anda jasad hidup yang berukuran sangat kecil? Tempat hidupnya dimana-mana, misalnya di dalam tanah, dalam air, dalam sisa-sisa makhluk hidup dan dalam tubuh manusia, bahkan dalam sebutir debu. Pada Gambar 1

anda dapat melihat bakteri *Escherichia coli* yang dilihat dengan mikroskop elektron (a) dan dengan mikroskop cahaya menggunakan pewarnaan (b).



Gambar 1. *Escherichia coli* dilihat dengan mikroskop elektron (a) dan *Escherichia coli* dilihat dengan mikroskop cahaya (b)

Sumber:

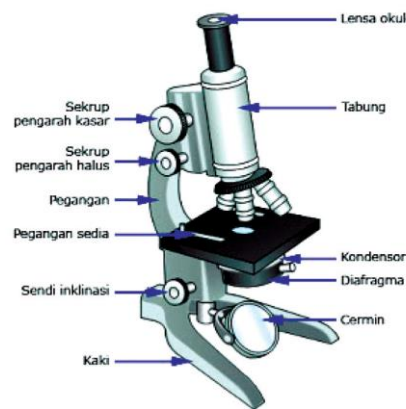
<http://www.pyroenergen.com/articles08/escherichia-coli-o157h7.htm> (a)

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Escherichia_coli_Gram.jpg (b)

Pada pengamatan makhluk hidup yang berukuran kecil, anda memerlukan alat bantu yang disebut mikroskop. Sebelum memulai kegiatan ini, sebaiknya anda mempelajari terlebih dahulu tentang mikroskop dan bagaimana cara menggunakan mikroskop tersebut. Perhatikan penjelasan berikut ini.

a. Bagian-Bagian Mikroskop

Pada Gambar 2 dan Tabel 1 anda dapat mempelajari mikroskop cahaya beserta bagian-bagian dan fungsinya, anda juga akan mengenal mikroskop elektron yang biasa digunakan untuk melihat mikroorganisme yang tidak dapat dilihat oleh mikroskop cahaya.



a.



b.

Gambar 2. Mikroskop cahaya dan bagian-bagiannya (a) dan mikroskop elektron (b)

Sumber:

<http://nabilasyalalala.blogspot.com/2012/02/bagian-bagian-mikroskop-dan-fungsinya.html> (a)

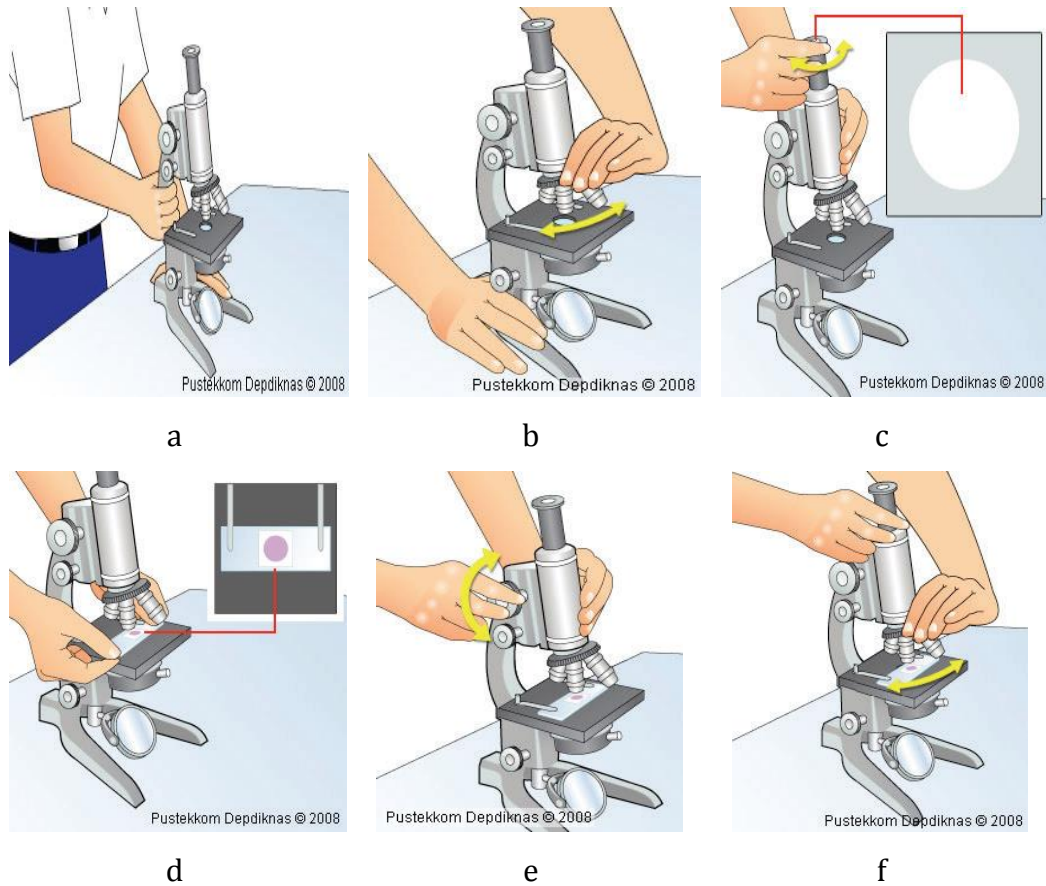
<http://www.biologi-sel.com/2013/03/mikroskop-elektron.html> (b)

Table 1. Bagian-Bagian Mikroskop dan Fungsinya

BAGIAN MIKROSKOP OPTIK	BAGIAN MIKROSKOP MEKANIK	FUNGSI
Lensa okuler		Lensa yang berhubungan dengan mata langsung, pengintai atau pengamat yang berfungsi untuk memperbesar bayangan objek. Ada 4 buah lensa, yaitu dengan perbesaran 5 x, 10 x, 12,5 x dan 15 x
Lensa objektif		Lensa yang berada di dekat objek/benda berfungsi untuk memperbesar bayangan benda. Susunan lensa biasanya terdiri atas 3 atau 4 buah dengan perbesaran masing-masing 10 x, 40 x, 45 x dan 100 x
Diafragma		Untuk mengatur intensitas cahaya yang masuk ke lensa objektif

BAGIAN MIKROSKOP OPTIK	BAGIAN MIKROSKOP MEKANIK	FUNGSI
Cermin ada dua, yaitu cermin datar dan cekung		Cermin berfungsi untuk mengarahkan cahaya pada objek. Cermin datar digunakan ketika cahaya yang dibutuhkan terpenuhi, sedangkan cermin cekung digunakan untuk mengumpulkan cahaya
	Tabung Mikroskop (Tubus)	Untuk menghubungkan lensa okuler dan lensa objektif
	Meja sediaan (meja preparat)	Sebagai tempat meletakkan objek atau preparat yang diamati. Bagian tengah meja terdapat lubang untuk melewati sinar.
	Klip (penjepit objek)	Untuk menjepit preparat agar kedudukannya tidak bergeser ketika sedang diamati.
	Lengan mikroskop	Untuk pegangan pada saat memindahkan atau membawa mikroskop
	Pemutar halus (mikrometer)	Untuk menggerakkan (menjauhkan/mendekatkan) lensa objektif terhadap preparat secara pelan/halus
	Pemutar kasar (makrometer)	Untuk menggerakkan tubus ke atas dan ke bawah secara cepat
Kondensor		Untuk mengumpulkan cahaya yang masuk, alat ini dapat diputar dan dinaik-turunkan
	Sekrup (engsel inklinasi)	Untuk mengatur sudut atau tegaknya mikroskop
	Kaki mikroskop	Untuk menyangga atau menopang mikroskop

b. Cara Menggunakan Mikroskop



Gambar 3. Cara Menggunakan Mikroskop

Sumber gb. Buku IPA SMP kelas 7

Keterangan Gambar Menggunakan Mikroskop :

- a. Ambil mikroskop dari kotak penyimpanannya, tangan kanan memegang bagian lengan mikroskop dan tangan kiri memegang alas mikroskop. Kemudian mikroskop diletakkan di tempat yang datar, kering, dan memiliki cahaya yang cukup.
- b. Pasang lensa okuler dengan lensa yang memiliki ukuran perbesaran sedang kemudian putar revolver sehingga lensa objektif dengan perbesaran lemah berada pada posisi satu poros dengan lensa okuler yang ditandai bunyi "klik" pada revolver.

c. Cahaya tampak terang berbentuk bulat (lapang pandang) seperti yang terlihat pada gambar, dapat diperoleh dengan cara berikut:

- Mengatur diafragma untuk mendapatkan cahaya yang terang
- Mengatur cermin untuk mendapatkan cahaya yang akan dipantulkan ke diafragma sesuai kondisi ruangan. Pengaturan dilakukan dengan cara melihat melalui lensa okuler (apakah lapang pandang sudah terang/jelas)

Catatan: beberapa mikroskop telah dilengkapi lampu sehingga tidak perlu mencari cahaya, cukup mengatur posisi diafragma yang sesuai dengan kebutuhan cahaya terang dan lurus dengan lensa okuler dan objektif

d. Siapkan preparat yang akan diamati, lalu letakkan di meja. Atur agar bagian yang akan diamati tepat di tengah lubang meja preparat kemudian, jepit preparat dengan penjepit objek.

e. Atur fokus untuk memperjelas gambar objek dengan cara:

- Putar pemutar kasar (makrometer) secara perlahan sambil dilihat dari lensa okuler. Pemutaran dengan makrometer dilakukan sampai lensa objektif berada pada posisi terdekat dengan meja preparat.

Catatan: Jangan memutar makrometer secara paksa karena akan menekan preparat dan menyebabkan preparat rusak/pecah/patah.

- Lanjutkan dengan memutar pemutar halus (mikrometer) untuk memperjelas bayangan objek.
- Jika letak preparat belum tepat, kaca objek dapat digeser dengan lengan yang berhubungan dengan penjepit. Jika tidak tersedia, preparat dapat digeser secara langsung.

f. Setelah preparat terlihat, untuk memperoleh perbesaran kuat gantilah lensa objektif dengan ukuran dari 10 x, 40 x atau 100 x dengan cara memutar revolver sampai berbunyi klik. Usahakan agar posisi

preparat tidak bergeser. Jika hal ini terjadi, anda harus mengulangi dari awal.

- g. Setelah selesai menggunakan mikroskop, bersihkan mikroskop dan simpan pada tempat penyimpanan.

c. Mikroorganisme

Mikroorganisme merupakan jasad hidup yang mempunyai ukuran sangat kecil (Kusnadi, dkk, 2003). Setiap sel tunggal mikroorganisme memiliki kemampuan untuk melaksanakan aktivitas kehidupan antara lain dapat mengalami pertumbuhan, menghasilkan energi dan bereproduksi dengan sendirinya. Mikroorganisme memiliki fleksibilitas metabolisme yang tinggi karena mikroorganisme ini harus mempunyai kemampuan menyesuaikan diri yang besar sehingga apabila ada interaksi yang tinggi dengan lingkungan menyebabkan terjadinya konversi zat yang tinggi pula. Akan tetapi karena ukurannya yang kecil, maka tidak ada tempat untuk menyimpan enzim-enzim yang telah dihasilkan. Dengan demikian enzim yang tidak diperlukan tidak akan disimpan dalam bentuk persediaan. Enzim-enzim tertentu yang diperlukan untuk pengolahan bahan makanan akan diproduksi bila bahan makanan tersebut sudah ada. Mikroorganisme ini juga tidak memerlukan tempat yang besar, mudah ditumbuhkan dalam media buatan dan tingkat pembiakannya relatif cepat (Darkuni, 2001). Oleh karena aktivitasnya tersebut, maka setiap mikroorganisme memiliki peranan dalam kehidupan, baik yang merugikan maupun yang menguntungkan.

Dunia mikroorganisme terdiri dari berbagai kelompok jasad renik (makhluk halus). Kebanyakan bersel satu atau uni seluler. Ciri utama yang membedakan kelompok organisme tertentu dari mikroba yang lain adalah organisasi bahan selulernya. Dunia mikroba terdiri dari *monera* (virus dan *sianobakteri*), *protista* dan *fungi*. Mikroorganisme tersebut diantaranya

adalah bakteri, jamur, dan virus. Secara umum, bakteri, jamur dan virus mempunyai morfologi dan struktur anatomi yang berbeda.

Dalam kehidupannya beberapa mikroorganisme seperti bakteri, jamur dan virus selalu dipengaruhi oleh lingkungannya dan untuk mempertahankan hidupnya mikroorganisme melakukan adaptasi dengan lingkungannya. Adaptasi ini dapat terjadi secara cepat serta bersifat sementara waktu dan dapat pula perubahan itu bersifat permanen sehingga mempengaruhi bentuk morfologi serta struktur anatomi dari bakteri, jamur dan virus. Untuk mengidentifikasi suatu mikroorganisme dapat dilakukan dengan mengetahui morfologi dan struktur anatominya. Oleh karena itu perlu diketahui bentuk morfologi dan struktur anatomi dari bakteri, jamur, dan virus.

Proses biologis (bio-proses) secara alamiah berlangsung setiap saat dan merupakan bagian dari siklus kehidupan. Efektif mikroorganisme merupakan sekelompok mikroba yang aktif dalam bio-proses. Pemanfaatan efektif mikroorganisme dalam proses sehari-hari sangat luas, meliputi dekomposisi bahan organik, proses fermentasi, pengendalian hama dan penyakit pada budi daya, industri farmasi, pengolahan limbah dan lain sebagainya.

Di alam terdapat berbagai jenis mikroba yang termasuk dalam kelompok bakteri, fungi, protozoa dan virus, masing-masing memiliki sifat-sifat spesifik dan dapat tumbuh pada media yang spesifik pula. Oleh sebab itu bio-proses dapat berlangsung bukan oleh satu jenis mikroba, melainkan oleh beberapa jenis mikroba yang berkerja secara *simbiosis*. Dalam produksi starter efektif mikroorganisme biasa ditempuh dengan memadukan beberapa jenis mikroba untuk menaikkan efektifitas kinerjanya, tentunya dengan melihat terlebih dahulu apakah mikroba-mikroba tersebut bersifat *sinergis* (saling memperkuat) atau bersifat *antagonis* (saling melemahkan).

Pemanfaatan mikroorganisme dalam proses sehari-hari sangat luas, meliputi dekomposisi bahan organik, proses fermentasi, pengendalian hama dan penyakit pada budidaya, industri farmasi, pengolahan limbah dan sebagainya.

1) **Jenis mikroba**

Secara umum jenis bakteri lebih cepat pertumbuhannya dibanding dengan jenis mikroba yang lain, namun bakteri bukan merupakan *pioneer* dalam dekomposisi bahan organik. Bakteri tidak dapat memecah senyawa kompleks, bakteri baru aktif jika senyawa kompleks telah terdekomposisi oleh jenis *fungi* menjadi bentuk yang lebih sederhana. Kelompok *fungi* yang terdiri dari *kapang* dan *khamir* (*yeast*) merupakan jenis dekomposer *pioneer* yang dapat memecah senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Jenis-jenis *fungi* bersel banyak (*mushroom*) termasuk jenis *pioneer* dalam proses dekomposisi bahan organik.

Berdasarkan proses dekomposisi, dekomposer dapat dibedakan menjadi 3 (tiga) kelompok mikroba. Pertama, mikroba *aerob* merupakan jenis yang membutuhkan oksigen untuk aktivitas hidupnya. Jenis-jenis ini akan berkembang dengan baik pada kondisi cukup tersedia oksigen. Kedua, kelompok mikroba yang dalam hidupnya tidak memerlukan oksigen disebut kelompok *anaerob*. Kelompok ini pertumbuhannya akan optimum pada kondisi tanpa oksigen. Ketiga, jenis kelompok di antara dua jenis tersebut yaitu jenis mikroba yang dalam perkembang-biakannya membutuhkan jumlah oksigen yang terbatas, jenis ini disebut *aerob fakultatif*.

a) Kapang

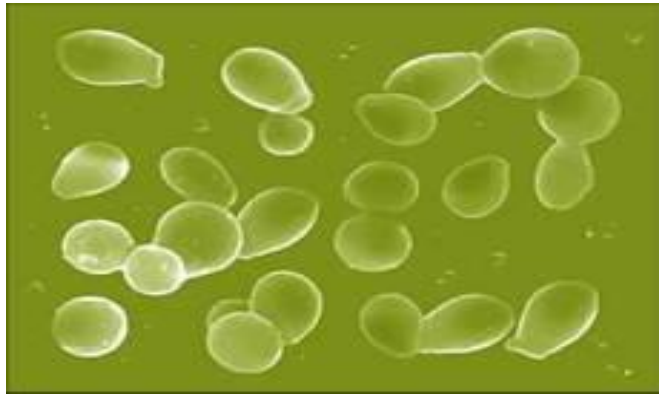
Kapang adalah mikroba bersel tunggal berupa benang- benang halus yang disebut hifa, kumpulan hifa disebut miselium, dan berkembang biak dengan spora atau membelah diri.

Kapang mempunyai kisaran pH pertumbuhan yang luas, yaitu 1,5-11,0. Sebagian besar kapang dapat hidup pada $a_w > 0.70$ serta tidak tahan panas, kapang memerlukan oksigen untuk tumbuh dan lebih tahan asam. Spora kapang dapat tahan sampai 92° C selama 1 menit dalam kondisi asam. Akan tetapi untuk mencapai konsistensi yang seperti itu, kapang tersebut memerlukan waktu untuk membentuk spora.

b) Khamir

Khamir disebut juga ragi adalah mikroba bersel tunggal berbentuk bulat lonjong dan memperbanyak diri melalui pembentukan tunas atau askospora, tetapi tidak membentuk benang-benang miselium. Khamir mempunyai kisaran pH pertumbuhan 1,5-8,5. Namun kebanyakan khamir lebih cocok tumbuh pada kondisi asam, yaitu pada pH 4-4,5, sehingga kerusakan oleh khamir lebih mungkin terjadi pada produk-produk asam. Kebanyakan khamir dapat hidup pada $a_w > 0.80$. Suhu lingkungan yang optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 25-30°C dan suhu maksimum 35-47°C. Beberapa khamir dapat tumbuh pada suhu 0°C atau lebih rendah. Khamir tumbuh baik pada kondisi aerobik, tetapi khamir fermentatif dapat tumbuh secara anaerobik meskipun lambat.

Khamir hanya sedikit resisten terhadap pemanasan, dimana kebanyakan khamir dapat terbunuh pada suhu 77°C. Oleh karena itu, khamir dapat dengan mudah dibunuh dengan suhu pasteurisasi. Pada umumnya pertumbuhan khamir ditandai dengan pembentukan alkohol dan gas CO₂. Seperti halnya kapang, khamir yang tumbuh pada makanan yang diolah dengan pemanasan tidak menyebabkan penyakit pada manusia.



Gambar 4. *Saccharomyces*
Sumber *gb.teknologi pangan untuk SMK Sri Rini Dwiari.dkk*
Tahun 2008

c) Bakteri

Bakteri adalah mikroba bersel tunggal yang memiliki dinding sel, berkembang biak dengan membelah diri dan mempunyai empat bentuk utama yaitu kokus (bulat), basil (seperi batang), koma dan spiral.

Kebanyakan bakteri dapat hidup pada $a_w > 0.90$, sehingga kerusakan oleh bakteri terutama terjadi pada produk-produk yang berkadar air tinggi. Beberapa bakteri memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya yang disebut bakteri aerobik. Untuk beberapa bakteri lainnya, oksigen bersifat racun. Bakteri ini dinamakan anaerob. Contoh bakteri yang bersifat anaerobik adalah *clostridium*. Ada juga bakteri yang dapat tumbuh pada kondisi tanpa dan dengan adanya oksigen. Kelompok ini disebut fakultatif anaerobik, contohnya *Bacillus*. **Tabel 2** memperlihatkan beberapa jenis bakteri pembentuk spora yang dapat menyebabkan kerusakan makanan berdasarkan suhu pertumbuhan dan tingkat keasaman bahan pangan.

Table 2. Bakteri pembentu spora yang berperan dalam kerusakan makanan

Kelompok bakteri	Tingkat Keasamaan Pangan	
	Asam (3.7<pH<4.5)	Asam Rendah (pH≥4.5)
Termofilik (35-55°C)	<i>B. coagulans</i> <i>S. thermophilus</i>	<i>C. thermosaccharolyticum</i> <i>C. nigrificans</i> <i>B. stearothermophilus</i>
Mesofilik (10-40°C)	<i>L. bulgaricus</i> <i>C. butyricum</i> <i>C. pasteurianum</i> <i>B. mascerans</i>	<i>C. botulinum</i> (A dan B) <i>C. sporogenes</i> <i>C. licheniformis</i> <i>B. subtilis</i>
Psikrofilik (<5 – 35°C)	<i>B. polymixa</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Micrococcus</i>	<i>C. botulinum E</i> <i>S. aureus</i>

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan dan kehidupan bakteri. Berdasarkan suhu optimum pertumbuhannya, bakteri dapat dibedakan atas tiga grup, yaitu:

- **Psikrotropik:** suhu optimum 14-20°C, tetapi dapat tumbuh lambat pada suhu refrigerator (4°C). Kelompok bakteri psikotropik yang penting pada makanan kaleng adalah *Clostridium botulinum* tipe E dan strain non-proteolitik tipe B dan F.
- **Mesofilik:** suhu optimum 30-37°C. Suhu ini merupakan suhu normal gudang. *Clostridium botulinum* merupakan salah satu contoh mikroorganisme kelompok ini.
- **Termofilik:** suhu optimum kebanyakan termofilik adalah 45-60°C. Jika spora bakteri tidak dapat bergerminasi dan tidak tumbuh di bawah suhu 50°C, bakteri tersebut disebut obligat termofil. Jika tumbuh pada kisaran suhu 50-66°C atau pada suhu

yang lebih rendah (38°C), bakteri ini disebut fakultatif termofilik. Beberapa obligat termofil dapat tumbuh pada suhu 77°C dan bakteri ini sangat resisten terhadap pemanasan (121°C selama 60 menit). Bakteri termofilik tidak memproduksi toksin selama pertumbuhannya pada makanan. Contoh bakteri dari kelompok ini adalah *Bacillus stearothermophilus*. Pertumbuhan bakteri ditentukan oleh kondisi pH lingkungannya. Bakteri mempunyai kisaran pH pertumbuhan lebih sempit dibandingkan dengan kapang dan khamir, yaitu antara 4,0-8,0. Kebanyakan bakteri tidak dapat tumbuh pada pH di bawah 4,0 dan di atas 8,0. Makanan yang mempunyai pH <4.0 akan semakin awet karena praktis bakteri tidak dapat tumbuh.

Nilai pH atau keasaman makanan dipengaruhi oleh asam yang terdapat pada makanan tersebut. Keasaman ada dalam makanan dapat terjadi secara alamiah, misalnya pada buah-buahan asam; atau terbentuk selama fermentasi, misalnya yoghurt, pickel, sayur asin dan sebagainya. Nilai pH minimum untuk pertumbuhan mikroorganisme kadang-kadang dipengaruhi oleh jenis asam yang terdapat dalam makanan tersebut. Sebagai contoh, beberapa *Laktobasili* dapat tumbuh pada pH yang lebih rendah jika asam yang terdapat pada makanan tersebut berupa asam asetat atau asam laktat.

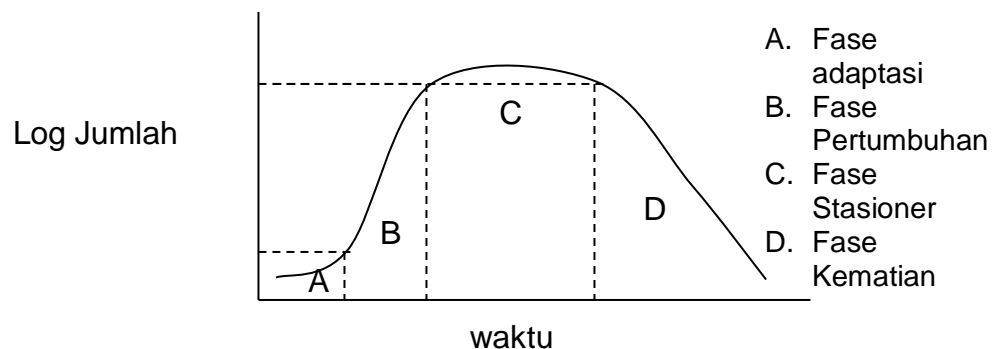
Bakteri dapat berbentuk sel vegetatif atau sel spora. Pada umumnya sel vegetatif bakteri lebih sensitif terhadap panas dibanding sel spora, sehingga sel vegetatif bakteri lebih mudah dihancurkan dibandingkan sel spora. Sel vegetatif bakteri dapat dihancurkan dengan proses pasteurisasi,

sedangkan sel spora umumnya dapat dihancurkan dengan proses sterilisasi.

Pembentukan spora bakteri adalah salah satu tahap istirahat dalam siklus kehidupan bakteri. Spora bakteri adalah struktur tahan terhadap keadaan lingkungan yang ekstrim, misalnya keadaan kering, pemanasan, keadaan asam dan sebagainya. Beberapa spora bakteri tahan pada suhu air mendidih (100°C) selama 16 jam. Spora yang tahan panas juga tahan terhadap perlakuan kimia. Beberapa spora bakteri tahan lebih dari tiga jam dalam larutan disinfektan yang biasa digunakan di industri pangan. Bakteri yang tidak membentuk spora atau sel vegetatif dengan mudah dapat di-inaktivasi dengan sanitiser.

2) Pertumbuhan mikroba

Jumlah mikroba per miligram bahan yang semakin besar akan mempercepat proses dekomposisi bahan organik, namun semua proses biologis memiliki kurun waktu minimal yang tidak dapat diperpendek lagi. Pertumbuhan mikroba selama proses dekomposisi mengikuti kurva pertumbuhan logaritmik mikroba sebagai berikut:



Pertumbuhan mikroba sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan hidupnya. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan diantaranya sebagai berikut:

a) Ketersediaan nutrisi

Bahan organik mengandung berbagai senyawa yang di antaranya terdapat senyawa-senyawa yang tergolong sulit untuk didegradasi bahkan mungkin terdapat senyawa yang tidak dapat didegradasi secara biologis. Senyawa-senyawa yang termasuk sukar didegradasi diantaranya: lignin, selulosa dan hemiselulosa untuk bahan nabati, sedangkan untuk bahan hewani kolagen dan kitin. Kandungan senyawa-senyawa tersebut semakin tinggi akan semakin lambat proses dekomposisinya.

Jumlah senyawa kompleks seperti karbohidrat, protein dan lemak yang terdapat di dalam bahan juga akan berpengaruh terhadap proses dekomposisi. Senyawa kompleks akan lebih lambat mengalami proses dekomposisi dibanding dengan senyawa yang lebih sederhana seperti glukosa, asam amino dan gliserin. Terdapatnya bahan yang bersifat desinfektan akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sebaliknya terdapatnya zat nutrisi akan memacu pertumbuhan mikroba dekomposer.

b) Keasaman atau pH

Mikroorganisme pada umumnya tumbuh dengan baik pada sekitar pH netral, hanya jenis-jenis *osmofilik* yang dapat tumbuh pada pH rendah (asam). Jenis *fungi* lebih toleran terhadap pH rendah dibanding dengan bakteri.

c) Kelembaban atau kadar air

Ketersediaan air menjadi syarat mutlak bagi pertumbuhan mikroorganisme, namun jumlah air yang berlebihan akan menghambat pertumbuhan bagi mikroba yang bersifat *aerob*. Jenis *fungi* lebih toleran terhadap kondisi kadar air rendah.

d) Suhu

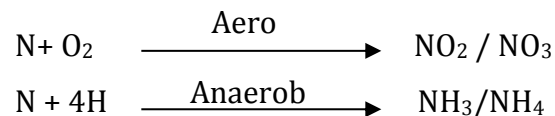
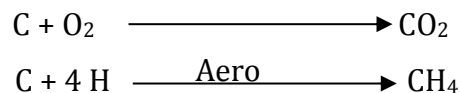
Secara umum mikroba tumbuh baik pada suhu di atas 20°C dan di bawah 60°C. Bakteri memiliki toleransi rendah terhadap suhu tinggi kecuali jenis *termofilic*, sedangkan kelompok *fungi* masih dapat bertahan pada temperatur di atas 70°C.

e) Penyinaran

Sinar ultra violet dapat menghambat pertumbuhan mikroba, bahkan pada intensitas tertentu dapat membunuh mikroba. Jenis bakteri memiliki toleransi lebih tinggi terhadap sinar. Sedangkan jenis jamur lebih peka terhadap sinar.

f) Ketersediaan Oksigen

Pada pembahasan jenis mikroba telah diuraikan 3 golongan mikroba yakni *aerob*, *anaerob* dan *aerob fakultatif*. Pada proses dekomposisi bahan organik ketersediaan oksigen akan mempengaruhi produk akhir yang diperoleh. Hal ini disebabkan oleh jenis mikroba yang dominan aktif pada proses tersebut.



d. Mengidentifikasi jamur (fungi/cendawan) dan khamir

Fungi dalam bahasa Indonesia disebut cendawan. Ciri-ciri cendawan secara umum ialah makhluk hidup eukariotik, heterotrofik (tidak memiliki klorofil), memperoleh nutrisi melalui absorpsi dan energi simpanannya berupa glikogen.

Cendawan mempunyai struktur somatik bersel satu atau banyak (multi seluler), kebanyakan berupa hifa dengan komponen utama dinding selnya

ialah zat kitin, serta berkembang biak secara seksual dan aseksual dengan membentuk spora.

Jamur (*mushroom*) ialah cendawan yang tubuh buahnya berukuran besar dan sebaliknya kapang (*moulds*) ialah cendawan yang berukuran renik.

Khamir (*yeast*) ialah cendawan bersel tunggal. Cendawan bukanlah tumbuhan atau hewan. Cendawan tidak memiliki klorofil seperti tumbuhan sehingga tidak dapat melakukan fotosintesis dan menyimpan karbohidratnya dalam bentuk glikogen bukan pati seperti pada tumbuhan. Cendawan tidak menelan dan mengunyah makanan seperti pada hewan, melainkan merombak makanannya di luar tubuh secara enzimatik dan diserap melalui hifa.

Cendawan termasuk makhluk hidup eukariotik karena sudah memiliki inti sel yang terbungkus membran. Hidupnya bersifat heterotrof dengan menggunakan bahan organik yang sudah tersedia. Bahan organik yang digunakan dapat berupa bahan organik mati (saprotrof) atau bahan organik hidup (simbiosis).

Cendawan yang melakukan simbioisis antagonistik dapat menyebabkan penyakit parasitik yang merugikan makhluk hidup inangnya. Sebaliknya, cendawan yang membentuk simbiosis mutualistik menguntungkan baik inang maupun cendawannya itu sendiri. Inang untuk cendawan ialah tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme termasuk cendawan.

Struktur somatik cendawan multi seluler tersusun atas benang-benang yang disebut hifa. Hifa merupakan tabung-tabung kecil berisi sitoplasma dan nukleus. Dinding sel hifa umumnya tersusun atas kitin.

Kumpulan hifa akan membentuk jalinan yang disebut miselium. Beberapa jenis cendawan memiliki hifa dengan sekat-sekat melintang yang dinamakan septa. Hifa yang memiliki sekat dinamakan hifa bersekat atau berseptata. Adapun hifa yang tidak memiliki sekat dinamakan aseptata atau senositik. Hifa senositik memiliki banyak inti. Pada cendawan yang hidup

sebagai parasit terdapat hifa yang mengalami modifikasi menjadi haustoria. Haustoria adalah hifa yang berfungsi sebagai organ penyerap makanan atau menempel pada inang. Selain menyerap makanan, hifa dapat berkembang membentuk struktur reproduksi.

Cendawan dapat berproduksi secara aseksual dan seksual dengan membentuk spora. Terdapat bermacam-macam spora aseksual yang dibentuk oleh cendawan, antara lain ialah *konidium* (jamak: konidia), *sporangiospora* (spora) dan *klamidospora*.

Pembentukan spora seksual melibatkan proses perkawinan, kariogami dan meiosis. Ciri-ciri dari spora seksual digunakan dalam pengelompokan cendawan ke tingkat filum.

Berdasarkan perkembangan sistematika cendawan terkini yang menggunakan ciri-ciri seperti evolusi, ultrastruktur, biokimia dan molekuler untuk kriteria pembentukan takson maka kingdom (dunia) fungi ditata ulang. Cendawan yang dahulunya menempati satu kingdom yaitu fungi sekarang terpisah menjadi 3 kingdom. Ketiga kingdom ini ialah *Chromista*, *Protoctista* dan *Fungi*.

Kingdom *chromista* disebut cendawan semu atau *pseudofungi*, kingdom *protoctista* disebut cendawan *protozoa* dan kingdom *fungi* disebut cendawan sejati atau *eufungi*.

Berdasarkan ciri reproduksi sebagai pembeda utama, kingdom *chromista* atau cendawan semu dan kingdom *fungi* atau cendawan sejati dibagi dalam beberapa filum. Kingdom *chromista* terdiri dari 2 filum yaitu *Hyphochytridiomycota* dan *Oomycota*. Cendawan sejati terdiri atas 5 filum yaitu *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota* dan *Deuteromycota*. Penjelasan masing-masing adalah sebagai berikut:

1) Kingdom *Chromista* (Cendawan semu) Filum *Oomycota*

Oomycota atau cendawan air dikatakan sebagai cendawan yang memiliki telur. *Oomycota* merupakan cendawan yang tersusun atas hifa

bercabang yang tidak bersekat. Polisakarida penyusun utama dinding selnya ialah selulosa, bukan kitin seperti pada cendawan sejati.

Oomycota berproduksi secara asexual dan seksual. Reproduksi secara asexual dilakukan dengan cara pembentukan *zoospore* berflagel 2 di dalam *zoosporangium* pada ujung hifa. *Zoospora* akan tumbuh membentuk hifa-hifa baru. Sementara itu, reproduksi seksual dilakukan dengan cara peleburan sel telur haploid dengan inti sel dari anteridium. Proses peleburan sel telur dan anteridium menghasilkan oospora yang diploid. Setelah mengalami masa dorman, oospora berkecambah membentuk *zoosporangium* yang menghasilkan *zoospora* diploid. Selanjutnya *zoospora* akan tumbuh menjadi hifa baru yang diploid sebagai parasit pada tanaman karet, *Phytophthora infestans* menyebabkan penyakit karat putih pada tanaman kentang dan *Phytophthora nicotinae* menyerang tanaman tembakau.

Anggota *oomycota* lainnya yang bersifat parasit pada tanaman ialah *Plasmopara viticola* menyebabkan penyakit pada tanaman anggur dan *Phythium* sebagai penyebab penyakit lapuk berbulu atau rebah semai.

2) Kingdom Fungi (Cendawan sejati)

Kelompok jamur (fungi), merupakan kelompok makhluk hidup yang memperoleh makanan dengan cara menguraikan sisa makhluk hidup lain.

Tidak berklorofil, berspora, tidak mempunyai akar, batang, dan daun. Jamur hidupnya di tempat yang lembab, bersifat saprofit (organisme yang hidup dan makan dari bahan organik yang sudah mati atau yang sudah busuk) dan parasit (organisme yang hidup dan mengisap makanan dari organisme lain yang ditempelinya). Tubuh jamur terdiri atas benang-benang halus yang disebut hifa. Hifa saling bersambungan membentuk *miselium*. Pada umumnya, jamur berkembang biak dengan spora yang dihasilkan oleh sporangium. Contoh jamur: jamur roti, ragi tape, jamur tiram putih, dan jamur kayu.

Jamur dibagi menjadi 6 divisi, yaitu *Myxomycotina* (jamur lendir), *Oomycotina*, *Zygomycotina*, *Ascomycotina*, *Basidiomycotina*, dan *Deuteromycotina*.



Gambar 5. Kelompok Jamur

Sumber gb. Buku IPA SMP kelas 7 kurikulum 2013

- Filum *Chytridiomycota*

Cendawan ini merupakan cendawan sejati yang paling sederhana dan sering disebut *kitrid*. Reproduksi aseksualnya dilakukan dengan cara membentuk zoospora berflagela tunggal berbentuk *whiplash*. Reproduksi seksual dilakukan dengan membentuk spora rehat. Filum ini merupakan nenek moyang dari cendawan sejati lainnya. Sebagian kitrid hidup di air tawar, air laut dan lingkungan yang lembab. Salah satu kitrid yang bersifat parasit pada tumbuhan ialah

genus *Synchytrium*. *Synchytrium endobioticum* dapat menyebabkan penyakit pada tanaman kentang.

- Filum *Zygomycota* / *Zygomycotiana*

Cendawan anggota filum *Zygomycota* banyak yang mempunyai nilai ekonomi penting. Cendawan ini ada yang digunakan untuk produksi makanan, industri asam organik dan bersifat parasitik pada tanaman. *Zygomycota* yang digunakan untuk produksi makanan dan umum dikenal ialah *Rhizopus oryzae* atau kapang tempe. Ciri-ciri *R. oryzae* secara umum, antara lain ialah hifa tidak bersekat (senositik), hidup sebagai saprotof, yaitu dengan menguraikan senyawa organik.

Reproduksi aseksual cendawan *R. oryzae* dilakukan dengan cara membentuk sporangium yang di dalamnya terdapat sporangiospora. Pada *R. oryzae* terdapat stolon, yaitu hifa yang terletak di antara dua kumpulan sporangiofor (tangkai sporangium). Reproduksi secara seksual dilakukan dengan fusi hifa (+) dan hifa (-) membentuk progamentangium. Progamentangium akan membentuk gametangium. Setelah terbentuk gametangium, akan terjadi penyatuan plasma yang disebut plasmogami. Hasil peleburan plasma akan membentuk cigit yang kemudian tumbuh menjadi zigospora.

Zigospora yang telah tumbuh akan melakukan penyatuan inti yang disebut kariogami dan akhirnya berkembang menjadi sporangium kecambah. Di dalam sporangium kecambah setelah meiosis akan terbentuk spora (+) dan spora (-) yang masing-masing akan tumbuh menjadi hifa (+) dan hifa (-).

Ambil tempe yang dibungkus dengan daun, ambil bagian yang berwarna hitam dengan menggunakan tusuk gigi. Amati bagian tersebut menggunakan mikroskop. Jelaskan hasil pengamatan anda!

Dalam pembuatan tempe kedelai, tempe yang belum jadi apabila dibuka cendawannya masih dapat melangsungkan fermentasi atau kedelai tersebut tetap menjadi tempe. Mengapa demikian? Bandingkan dengan proses pembuatan tape. Mengapa tape yang dibuka sebelum fermentasi selesai tidak akan terbentuk?

TUGAS !

Pernahkah anda melihat jamur tempe ?

Coba perhatikan bentuknya bagaimana? berwarna atau tidak ?



a . Jamur

b. Jamur Tempe

Gambar 6. Tempe dan Jamur Tempe

Sumber gb. Buku IPA SMP kelas 7 kurikulum 2013

Anggota cendawan zygomycota lainnya diantaranya ialah *Pilobolus* yang hidup pada kotoran ternak *Cunninghamella* serta sebagai parasit pada pohon pinus, *Choaneophora* parasit pada tanaman *Curcubitaceae*, *Glomus* dan *Gigaspora*. *Glomus* dan *Gigaspora* ialah cendawan yang membentuk simbiosis mutualistik mikoriza dengan berbagai macam tanaman termasuk tanaman pertanian yang mempunyai nilai ekonomi penting. Oleh karena itu kedua cendawan tersebut digunakan sebagai pupuk hayati.

- Filum *Ascomycota/Ascomycotiana*

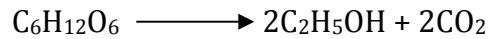
Anda pernah makan tape singkong atau tape ketan? Tape singkong atau tape ketan yang dibuat dari bahan dasar singkong atau beras ketan merupakan hasil fermentasi khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Cendawan *Ascomycota* hidup sebagai saprotof, simbiotik antagonistik, dan simbiotik mutualistik. Struktur somatik cendawan *Ascomycota* ada yang bersel satu misalnya *Saccharomyces sp.* yang disebut khamir, dan ada yang bersel banyak dengan hifa bersekat. Cendawan yang memiliki sel banyak yang bersekat ada yang membentuk tubuh buah mikroskopis misalnya *Talaromyce*, dan ada yang membentuk tubuh buah makroskopis misalnya *Morchella* dan *Nectria*. *Morchella* ialah cendawan pangan dari *Ascomycota*.

Cendawan kelompok ini melakukan reproduksi secara aseksual dengan cara membentuk konidium. Konidium ialah spora tunggal yang dihasilkan dalam kantung (sporangium). Selain itu, beberapa *Ascomycota* berkembang biak dengan tunas. Tunas terbentuk dari percabangan sel. Setelah semua bagian sel terbentuk, tunas melepaskan diri dari induknya.

Reproduksi secara seksual dilakukan dengan membentuk askokarp. Prosesnya diawali dengan plasmogami antara elemen jantan (antheridium) dengan gametangium betina (askogonium).

Setelah terjadi fertilisasi akan terbentuk askus yang mengandung inti diploid. Inti diploid pada askus muda akan mengalami meiosis membentuk 4 inti haploid yang setelahnya dapat mengalami proses mitosis berkali-kali. Inti tersebut akan diselubungi dinding dan berkembang menjadi askospora matang. Askus dapat dibentuk dalam suatu wadah yang disebut askokarp. Askospora yang matang akan keluar dari askus dan askokarp *Saccharomyces* (khamir) merupakan cendawan bersel satu yang tidak memiliki hifa dan tubuh buah makroskopis. Reproduksi khamir secara seksual

dilakukan dengan cara persatuan dua sel yang akan membentuk askus menjadi askospora. *Saccharomyces* dimanfaatkan untuk membuat tape, bir dan roti. Dalam proses pembuatan bir, khamir akan mengubah karbohidrat menjadi glukosa. Kemudian mengubah glukosa tersebut menjadi alkohol. Apabila ditulis dengan rumus kimia, reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut.



Saccharomyces juga dimanfaatkan untuk mengembangkan adonan roti, misalnya kue apem atau roti tawar. Adonan yang sudah jadi tidak langsung diolah, tetapi dibiarkan beberapa saat. Hal ini berfungsi untuk memberikan kesempatan pada khamir untuk melakukan proses fermentasi yang menghasilkan gas CO₂. Gas CO₂ yang terperangkap dalam adonan membuat teksturnya menjadi berongga dan mengembang. Khamir juga digunakan dalam industri alkohol. Proses akhir untuk mendapatkan alkohol ialah dengan cara penyulingan.

- **Filum Basidiomycota/Basidiomycotiana**

Pernahkah anda makan keripik jamur merang yang terkenal dari daerah Karawang atau jamur kancing yang berasal dari Dieng Wonosobo di Jawa Tengah? Keripik jamur merang ini dibuat dari bahan dasar jamur yang termasuk ke dalam filum *Basidiomycota*.

Selain kripik, pernahkah anda memakan jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*), jamur merang (*Volvariella volvacea*), jamur shiitake (*Lentinula edodes*), dan jamur kuping (*Auricularia auricula*). Jamur tersebut merupakan jamur pangan yang telah umum dibudidayakan.

Selain digunakan sebagai jamur pangan, *filum Basidiomycota* juga ada yang dimanfaatkan untuk pengobatan, contohnya di alam

ganoderma yang digunakan sebagai jamur obat, dapat juga bersifat parasit terutama pada tanaman kelapa sawit yang sulit dikendalikan.



a. Jamur Shitake



b. Jamur Kuping



c. Ganoderma sp.

Gambar 7. Jamur shitake, Jamur kuping, *Ganoderma* sp.

Sumber gbr. Buku Biologi SMK Pertanian , Amelia Z Siregar
dll. Depdikbud. 2008

Jamur tiram shitake dan jamur kuping ialah jamur kayu yang sering dijumpai tumbuh pada batang pohon yang sudah lapuk, sedangkan jamur merang tumbuh pada jerami padi.

Basidiomycota hidup sebagai saprotof, simbiotik antagonistik dan simbiotik mutualistik pada tumbuhan. Basidiomycota umumnya membentuk tubuh buah makroskopis yang disebut basidiokarp. Dalam basidiokarp terdapat basidium yang menyangga spora yang disebut basidiospora.

Reproduksi seksual dimulai setelah terjadinya peleburan 2 miselium haploid atau 2 basidiospora yang serasi ($n+n$). Sel hifa haploid yang berinti 2 yang serasi disebut hifa haploid dikariotik. Hifa haploid dikariotik ($n+n$) terus tumbuh membentuk basidiokarp. Beberapa sel yang terdapat pada bagian fertil dari basidiokarp berkembang membentuk basidium muda yang kemudian melakukan kariogami menghasilkan inti diploid ($2n$). Setiap inti diploid mengalami meiosis menghasilkan 4 inti haploid

yang kemudian berkembang menjadi basidiospora yang dibentuk di ujung basidium. Setiap basidium dewasa biasanya menyangga 4 basidiospora. Struktur yang menyangga basidiospora pada basidium disebut sterigma.

e. Cendawan Bermitospora

Kelompok cendawan ini memiliki hifa bersekat dan melakukan reproduksi secara aseksual dengan konidium. Spora aseksual lainnya dapat berupa blastospora (spora yang dibentuk secara bertunas) atau artrospora (spora yang dibentuk dari bagian-bagian hifa). Adapun reproduksi secara seksualnya belum diketahui. Bila cendawan ini membentuk reproduksi seksual maka akan berubah menjadi filum Ascomycota jika membentuk askospora dan filum Basidiomycota jika membentuk basidiospora. Beberapa anggota cendawan ini ada yang membentuk tubuh buah yang berisi spora aseksual yang disebut piknidium.

Jenis cendawan bermitospora banyak yang bermanfaat dan juga merugikan manusia. Cendawan ini banyak yang sudah digunakan untuk industri diantaranya ialah antibiotik, pangan, dan pupuk hayati. Contoh dari cendawan yang berperan dalam industri antibiotik dan pangan ialah *penicillium chrysogenum* dan *penicillium notatum* yang digunakan sebagai penghasil antibiotik penisilin.

Antibiotik penisilin pertama kali ditemukan oleh Alexander Fleming. *Penicillium roqueforti* dan *Penicillium camemberti* sering digunakan dalam pembuatan keju. Contoh lain cendawan bermitospora ialah *monilia sitophila* (cendawan oncom) yang memiliki konidia berwarna merah jingga.

Cendawan ini digunakan untuk pembuatan oncom merah. Di daerah Bandung, oncom merupakan makanan yang digemari. *Monilia sitophila*

membentuk reproduksi seksual dengan askospora sehingga cendawan seksualnya masuk ke dalam filum Ascomycota.

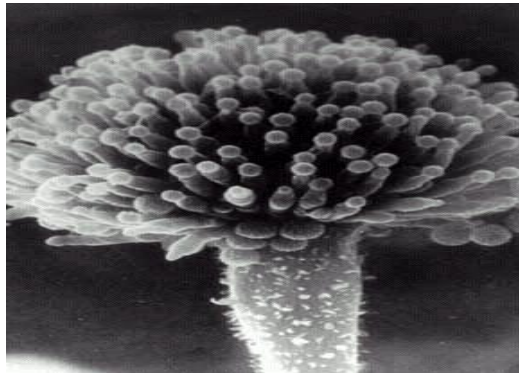
Kelompok cendawan bermitospora lainnya yang digunakan dalam industri ialah *Aspergillus niger* yang digunakan untuk produksi asam sitrat atau pupuk hayati. *Aspergillus wentii* dapat dimanfaatkan dalam pembuatan kecap, sake, tauco, asam sitrat dan asam oksalat.

Organisme lain yang berperan adalah *Saccharomyces cerevisiae* yang berperan dalam pembuatan roti. Khamir tersebut menghasilkan gas sehingga adonan mengembang dan menyebabkan tekstur roti lepas/lunak dan berpori.

Selain itu juga ada jenis bakteri asam laktat (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* *L. plantarum* dan *L. brevis*, serta roti regge dan roti pumpernickel dan roti asam yang termasuk jenis *L. mesenteroides*).

C. oryzae berperan dalam pembuatan kecap, dengan proses pembuatannya adalah: kedelai dicuci dan direbus, dikukus, dikeringkan, diinokulasi dengan *C. oryzae*. Selain itu *Rizopus oryzae*, *Oligosporus*, *A. oryzae* berperan dalam pembuatan tauco dan brem

Anggota genus *Aspergillus* juga ada yang bersifat merugikan. *Aspergillus flavus* menghasilkan mikotoksin yang disebut aflatoksin. *Aspergillus fumigatus* dapat menimbulkan penyakit paru-paru pada burung. *Aspergillus sp.* dapat hidup pada makanan, pakaian, buku dan kayu yang lembab. Cendawan bermitospora banyak yang menyebabkan penyakit pada tumbuhan diantaranya ialah *Fusarium*, *Curvularia*, dan *Cladosporium*.



Gambar 8. Konidium *Aspergillus* sp

Sumber Gbr. Biologi SMK Pertanian , Amelia Z Siregar dll, Depdikbud.2008

Peranan *Fungi* (Cendawan) Lainnya dalam Bidang Pertanian

Keberadaan *fungi* atau cendawan sangat berlimpah dan mempunyai peranan yang sangat penting di alam termasuk dalam bidang pertanian. Dalam bidang pertanian peranan cendawan dapat merugikan dan menguntungkan. Cendawan simbiotik antagonistik atau sering disebut cendawan parasit merugikan produksi pertanian, sedangkan cendawan simbiotik mutualistik sangat menguntungkan.

Simbiotik mutualistik cendawan yang mempunyai peran dalam pertanian diantaranya ialah mikoriza dan likenes.

TUGAS

Amatilah/silahkan anda mencari informasi tentang Jenis Bakteri, Khamir dan Kepang yang menguntungkan dan merugikan bagi manusia dan kondisi optimum pertumbuhannya, melalui sumber buku yang relevan, internet, gambar atau bagan.

Apabila kesulitan tanyakan kepada guru.

Buatlah rangkuman dari tugas secara jelas, kemudian presentasikan hasil pengamatan anda di depan kelas.

Apakah anda mengetahui mikoriza?

Mikoriza ialah simbiosis mutualistik antara cendawan dengan akar tumbuhan. Dalam simbiosis mikoriza, cendawan mendapatkan unsur karbon dari tumbuhan, sedangkan tumbuhan mendapatkan air dan mineral dari cendawan, terutama fosfat. Hampir semua tumbuhan di dunia bersimbiosis membentuk mikoriza. Cendawan yang membentuk simbiosis mikoriza disebut cendawan mikoriza. Cendawan mikoriza termasuk ke dalam filum Zigomycota, Ascomycota, dan Basidiomycota. Berdasarkan tipe kolonisasinya, Mikoriza dibedakan menjadi dua : ektomikoriza dan endomikoriza.

- **Ektomikoriza**

Salah satu contoh ektomikoriza ialah simbiosis mutualistik antara cendawan dengan akar pohon *Pinus* sp . Cendawan yang membentuk ektomikoriza ialah Ascomycota dan Basidiomycota.

Kolonisasi cendawan terbentuk secara interseluler dan membentuk hifa pada permukaan luar akar inangnya yang disebut mantel. Hifa cendawan mengkolonisasi akar sampai korteks dan tidak menembus endodermis. Selain tumbuh di dalam akar hifa cendawan juga tumbuh di dalam tanah yang berfungsi untuk menyerap air dan zat hara terutama fosfat sehingga mikoriza berfungsi untuk memperluas bidang penyerapan akar.

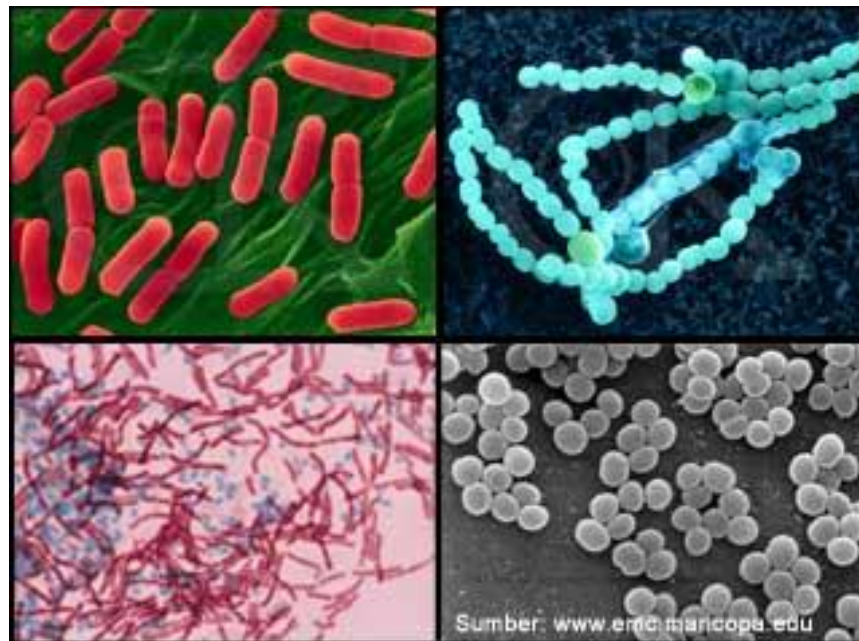
- **Endomikoriza**

Endomikoriza ialah mikoriza yang kolonisasi cendawannya terjadi secara intraseluler. Simbiosis mutualistik endomikoriza terbentuk antara cendawan dengan tanaman pertanian, perkebunan, tanaman hutan, tanaman industri dan tanaman hias. Anggrek, jagung, alpukat, melon, coklat, sengon dan kunyit merupakan contoh tanaman yang bersimbiosis membentuk endomikoriza. Seperti halnya pada ektomikoriza, pada endomikoriza kolonisasi cendawan hanyasampai pada korteks. Cendawan mikoriza tidak mengkolonisasi endodermis

akar seperti pada cendawan parasit. Cendawan yang membentuk endomikoriza termasuk ke dalam filum Zigomycota

f. Mengidentifikasi Bakteri Dan Peranannya Dalam Bidang Pertanian

Bakteri merupakan organisme yang paling banyak jumlahnya dan tersebar luas dibandingkan makhluk hidup yang lain. Bakteri memiliki ratusan ribu spesies yang hidup di darat hingga lautan dan pada tempat-tempat yang ekstrim. Bakteri ada yang menguntungkan tetapi ada pula yang merugikan. Bakteri memiliki ciri-ciri yang membedakannya dengan makhluk hidup yang lain. Bakteri adalah organisme uni seluler dan prokariot serta umumnya tidak memiliki klorofil dan berukuran renik (mikroskopis). Gambar bakteri dapat dilihat pada Gambar berikut



Gambar 9. Penampakan berbagai jenis bakteri

Sumber gbr. Buku Biologi SMK Pertanian , Amelia Z Siregar dkk.

Depdikbud.2008

Bakteri memiliki ciri-ciri yang membedakannya dengan makhluk hidup lain yaitu :

- Organisme uniseluler
- Prokariot (tidak memiliki membran inti sel)
- Umumnya tidak memiliki klorofil
- Memiliki ukuran sel yang bervariasi antara 0,12 s/d ratusan mikron umumnya memiliki ukuran rata-rata 1 s/d 5 mikron.
- Memiliki bentuk sel yang beraneka ragam
- Hidup bebas atau parasit
- Dapat hidup di lingkungan ekstrim seperti pada mata air panas, kawah atau gambut dimana dinding selnya tidak mengandung peptidoglikan.
- Jenis yang tempat hidupnya kosmopolit di berbagai lingkungan dinding selnya mengandung peptidoglikan

1) **Struktur bakteri**

Struktur bakteri terbagi menjadi dua yaitu:

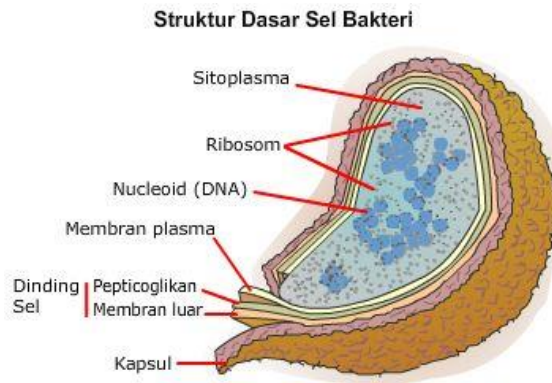
a) Struktur dasar

Struktur dasar dimiliki oleh hampir semua jenis bakteri. Bakteri mempunyai dinding sel, membran plasma, sitoplasma, ribosom, DNA dan granula penyimpanan.

Dinding sel tersusun dari *peptidoglikan* yaitu gabungan protein dan polisakarida (ketebalan peptidoglikan membagi bakteri menjadi bakteri gram positif jika peptidoglikannya tebal dan bakteri gram negatif jika peptidoglikannya tipis).

- *Membran* plasma adalah membran yang menyelubungi sitoplasma tersusun atas lapisan fosfolipid dan protein.
- *Sitoplasma* adalah cairan sel.
- *Ribosom* adalah organel yang tersebar dalam sitoplasma, tersusun atas protein dan RNA.

- *Granula* penyimpanan, karena bakteri menyimpan cadangan makanan yang dibutuhkan.



Gambar 10. Struktur Dasar Sel Bakteri

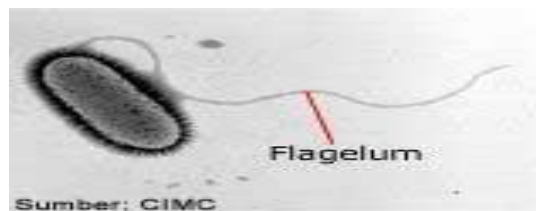
Sumber gbr. Biologi SMK Pertanian , Amelia Z Siregar.dkk

b) Struktur tambahan.

Struktur tambahan (dimiliki oleh jenis bakteri tertentu). Bakteri tertentu mempunyai kapsul, flagelum, pilus, fimbria, klorosom, vakuola gas dan endospora.

Struktur tambahan bakteri terdiri dari :

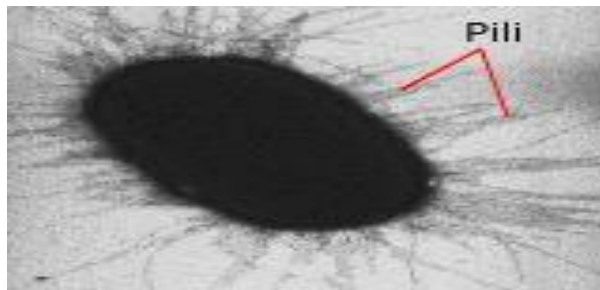
- *Kapsul* atau lapisan lendir adalah lapisan di luar dinding sel pada jenis bakteri tertentu, bila lapisannya tebal disebut kapsul dan bila lapisannya tipis disebut lapisan lendir. Kapsul dan lapisan lendir tersusun atas polisakarida dan air.
- *Flagelum* atau bulu cambuk adalah struktur berbentuk batang atau spiral yang menonjol dari dinding sel.



Gambar 11. Flagelum

Sumber gbr. Biologi SMK Pertanian , Amelia Z Siregar.dkk

- *Pilus* dan *fimbria* adalah struktur berbentuk seperti rambut halus yang menonjol dari dinding sel, pilus mirip dengan flagelum tetapi lebih pendek, kaku dan berdiameter lebih kecil dan tersusun dari protein dan hanya terdapat pada bakteri gram negatif. Fimbria adalah struktur sejenis pilus tetapi lebih pendek daripada pilus.



Gambar 12. Pilus

Sumber gbr. Biologi SMK Pertanian , Amelia Z Siregar.dkk

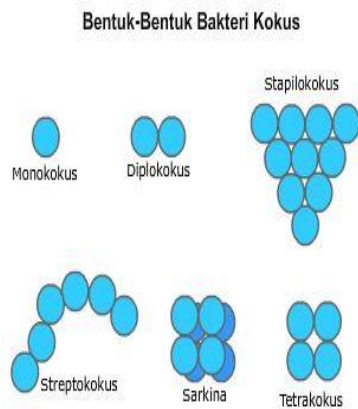
Klorosom adalah struktur yang berada tepat di bawah membran plasma dan mengandung pigmen klorofil dan pigmen lainnya untuk proses fotosintesis. Klorosom hanya terdapat pada bakteri yang melakukan fotosintesis.

- *Vakuola* gas terdapat pada bakteri yang hidup di air dan berfotosintesis.
- *Endospora* adalah bentuk istirahat (laten) dari beberapa jenis bakteri gram positif dan terbentuk di dalam sel bakteri jika kondisi tidak menguntungkan bagi kehidupan bakteri. Endospora mengandung sedikit sitoplasma, materi genetik dan ribosom. Dinding endospora yang tebal tersusun atas protein dan menyebabkan endospora tahan terhadap kekeringan, radiasi cahaya, suhu tinggi dan zat kimia. Jika kondisi lingkungan menguntungkan endospora akan tumbuh menjadi sel bakteri baru.

2) Bentuk Bakteri

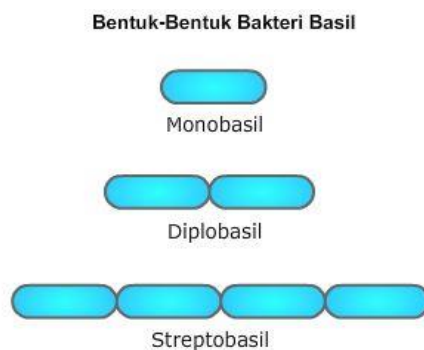
Bentuk dasar bakteri terdiri atas bentuk bulat (kokus), batang (basil) dan spiral (spirilia) serta terdapat bentuk antara kokus dan basil yang disebut kokobasil. Berbagai bentuk baketeri ditampilkan pada Gambar berikut:

a) Bakteri Kokus :



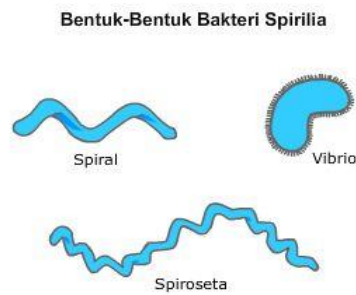
- Monokokus yaitu berupa sel bakteri kokus tunggal
- Diplokokus yaitu dua sel bakteri kokus berdempetan
- Tetrakokus yaitu empat sel bakteri kokus berdempetan berbentuk segi empat.
- Sarkina yaitu delapan sel bakteri kokus berdempetan membentuk kubus
- Streptokokus yaitu lebih dari empat sel bakteri kokus berdempetan membentuk rantai.
- Stafilokokus yaitu lebih dari empat sel bakteri kokus berdempetan seperti buah anggur

b) Bakteri Basil :



- Monobasil yaitu berupa sel bakteri basil tunggal
- Diplobasil yaitu berupa dua sel bakter basil berdempetan
- Streptobasil yaitu beberapa sel bakteri basil berdempetan membentuk rantai

c) Bakteri Spirilia :



- a. Spiral yaitu bentuk sel bergelombang
- b. Spiroseta yaitu bentuk sel seperti sekrup
- c. Vibrio yaitu bentuk sel seperti tanda baca koma

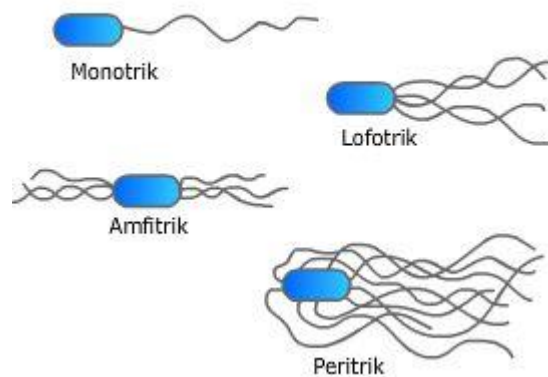
Sumber gbr, [www. Google.com/imgressa](http://www.Google.com/imgressa)

g. Alat Gerak Bakteri

Alat gerak pada bakteri berupa *flagellum* atau bulu cambuk adalah struktur berbentuk batang atau spiral yang menonjol dari dinding sel. Flagellum memungkinkan bakteri bergerak menuju kondisi lingkungan yang menguntungkan dan menghindari dari lingkungan yang merugikan bagi kehidupannya. Flagellum memiliki jumlah yang berbeda-beda pada bakteri dan letak yang berbeda-beda pula yaitu :

- Monotrik : bila hanya berjumlah satu
- Lofotrik : bila banyak flagellum disatu sisi
- Amfitrik : bila banyak flagellum dikedua ujung
- Peritrik : bila tersebar diseluruh permukaan sel bakteri

Jumlah dan Posisi Flagellum pada Bakteri



Gambar 13. Jumlah dan posisi flagelum pada bakteri

Sumber gbr. Biologi SMK Pertanian , Amelia Z Siregar.dkk

h. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan pada bakteri mempunyai arti perbanyakan sel dan peningkatan ukuran populasi. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri atau kondisi untuk pertumbuhan optimum adalah :

- Suhu
- Derajat keasaman atau pH
- Konsentrasi garam
- Sumber nutrisi
- Zat-zat sisa metabolisme
- Zat kimia
- Perkembangbiakan Bakteri

i. Cara Perkembangbiakan bakteri

Bakteri umumnya melakukan reproduksi atau berkembang biak secara asexual (vegetatif = tak kawin) dengan membelah diri. Pembelahan sel pada bakteri adalah pembelahan biner yaitu setiap sel membelah menjadi dua. Reproduksi bakteri secara seksual yaitu dengan pertukaran materi genetik dengan bakteri lainnya. Pertukaran materi genetik disebut rekombinasi genetik atau rekombinasi DNA.

Rekombinasi genetik dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu:

- Transformasi adalah pemindahan sedikit materi genetik, bahkan satu gen saja dari satu sel bakteri ke sel bakteri yang lainnya.
- Transduksi adalah pemindahan materi genetik satu sel bakteri ke sel bakteri lainnya dengan perantaraan organisme yang lain yaitu bakteriofage (virus bakteri).
- Konjugasi adalah pemindahan materi genetik berupa plasmid secara langsung melalui kontak sel dengan membentuk struktur seperti jembatan di antara dua sel bakteri yang berdekatan. Umumnya terjadi pada bakteri gram negatif.

Berdasarkan kebutuhannya akan oksigen

Berdasarkan kebutuhannya akan oksigen, bakteri dibedakan menjadi *bakteri aerob* dan *anaerob*.

- Bakteri aerob

Bakteri aerob ialah bakteri yang membutuhkan oksigen bebas untuk keperluan hidupnya, contohnya bakteri nitrat (*Nitrobacter*) dan bakteri nitrit (*Nitrosomonas*). Bakteri nitrat dan bakteri nitrit melakukan proses nitrifikasi yang membutuhkan oksigen untuk mengoksidasi amonia menjadi nitrat.



Amonia Oksigen Nitrosomonas Nitrit Oksigen Nitrobacter Nitrat

- Bakteri anaerob

Bakteri anaerob adalah bakteri yang mendapatkan energi tanpa menggunakan oksigen, contohnya bakteri *Micrococcus denitrificans*, *Clostridium desulfuricans*, dan *Clostridium tetani* (penyebab tetanus).

- Energi diperoleh dari penguraian senyawa-senyawa organik secara anaerob. Salah satu peranan bakteri anaerob adalah dalam peristiwa denitrifikasi yaitu proses penguraian nitrat/nitrit menjadi amonia.

Bakteri dapat dikelompokkan menjadi 12 filum. Berikut ini akan dibahas empat filum utama bakteri, yaitu *Spirochaeta*, *Bakteri Gram Positif*, *Proteobacteria* dan *Cyanobacteria (Cyanophyta)*.

1) Spirochaeta

Filum ini beranggotakan bakteri-bakteri Gram negatif yang berbentuk spiral. Bakteri Gram negatif merupakan bakteri yang memiliki lapisan lipopolisakarida tambahan di luar dinding selnya dan akan berwarna merah muda jika diberi pewarnaan gram. Anggota Spirochaeta ada yang hidup secara aerob dan ada yang secara anaerob. Mereka bergerak dengan menggunakan flagella yang tertanam di dalam dinding sel. Spirochaeta hidup secara bebas, bersimbiosis atau sebagai patogen, tetapi ada pula yang hidup sebagai dekomposer.

Filum ini dibagi menjadi tiga famili yang termasuk dalam satu ordo, Spirochaetales. Ketiga famili tersebut ialah:

- 2) Spirochaetaceae (contoh: *Borrelia burgdorferi*) penyebab Lyme.
- 3) Brachyspiraceae (contoh: *Brachyspira*).
- 4) Leptospiraceae (contoh: *Treponema pallidum*) penyebab sifilis.

j. Peranan Bakteri dalam bidang pertanian

Dalam kehidupan manusia bakteri mempunyai peranan yang menguntungkan maupun yang merugikan.

1) Bakteri yang menguntungkan adalah sebagai berikut :

- Pembusukan (penguraian sisa-sisa makhluk hidup contohnya *Escherichia coli*).
- Pembuatan makanan dan minuman hasil fermentasi contohnya *Acetobacter* pada pembuatan asam cuka, *Lactobacillus bulgaricus* pada pembuatan yoghurt, *Acetobacter xylinum* pada pembuatan nata de coco dan *Lactobacillus casei* pada pembuatan keju yoghurt.
- Berperan dalam siklus nitrogen sebagai bakteri pengikat nitrogen

yaitu *Rhizobium leguminosarum* yang hidup bersimbiosis dengan akar tanaman kacang-kacangan dan *Azotobacter chlorococcum*.

- Penyubur tanah contohnya *Nitrosococcus* dan *Nitrosomonas* yang berperan dalam proses nitrifikasi menghasilkan ion nitrat yang dibutuhkan tanaman.
- Penghasil antibiotik contohnya adalah *Bacillus polymyxa* (penghasil antibiotik polimiksin B untuk pengobatan infeksi bakteri gram negatif, *Bacillus subtilis* penghasil antibiotik untuk pengobatan infeksi bakteri gram positif, *Streptomyces griseus* penghasil antibiotik streptomisin untuk pengobatan bakteri gram negatif termasuk bakteri penyebab TBC dan *Streptomyces rimosus* penghasil antibiotik terasiklin untuk berbagai bakteri.
- Pembuatan zat kimia misalnya aseton dan butanol oleh *Clostridium acetobutylicum*
- Berperan dalam proses pembusukan sampah dan kotoran hewan sehingga menghasilkan energi alternatif metana berupa biogas. Contohnya *methanobacterium*
- Penelitian rekayasa genetika dalam berbagai bidang, sebagai contoh dalam bidang kedokteran dihasilkan obat-obatan dan produk kimia bermanfaat yang disintesis oleh bakteri, misalnya enzim, vitamin dan hormon.

2) Bakteri yang merugikan sebagai berikut :

- Pembusukan makanan contohnya *Clostridium botulinum*
- Penyebab penyakit pada manusia contohnya *Mycobacterium tuberculosis* (penyebab penyakit TBC), *Vibrio cholerae* (penyebab kolera atau muntaber), *Clostridium tetani* (penyebab penyakit tetanus) dan *Mycobacterium leprae* (penyebab penyakit lepra)
- Penyebab penyakit pada hewan contohnya *Bacillus anthracis*

(penyebab penyakit antraks pada sapi)

- Penyebab penyakit pada tanaman budidaya contohnya *Pseudomonas solanacearum* (penyebab penyakit pada tanaman tomat, lombok, terung dan tembakau) serta *Agrobacterium tumefaciens* (penyebab tumor pada tumbuhan)

3) Bakteri yang menguntungkan dalam pengolahan hasil pertanian, sebagai contoh dalam pembuatan nata de coco dan yoghurt.

a) Nata de Coco

Kata "nata" diambil dari bahasa Spanyol yang berasal dari kata Latin "natare" yang artinya "mengapung". Nata dapat dibuat dari bermacam-macam sari buah-buahan sebagai medianya seperti pisang, nanas, tomat, mangga, pepaya, air kelapa dan lain-lain.

Produknya diberi nama sesuai dengan jenis media yang digunakan. Pemberian nama jenis nata diawali dengan nata dan diikuti jenis bahan baku yang digunakan di belakang kata nata. Sebagai contoh nata de coco, berarti media yang digunakan adalah air kelapa. Nata de soya menggunakan sari kedelai, nata de pina menggunakan sari buah atau limbah nanas dan sebagainya.

Larutan yang akan dibuat nata harus mengandung gula sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme penghasil nata dengan proporsi dan keasaman larutan harus sesuai dengan persyaratan tumbuh bakteri yang digunakan dan diperlukan penambahan nutrisi seperti amonium sulfat, urea, dan amonium fosfat sebagai sumber nitrogen.

Terbentuknya nata karena adanya bakteri *Acetobacter xylinum* yang sengaja ditumbuhkan pada media seperti air kelapa. *A. xylinum* dapat hidup dan berkembang biak dalam larutan tertentu dengan suhu 28 °C, pH 3 – 5,5, tersedia sumber karbon dan nitrogen.

Jadi medium yang digunakan untuk pembuatan nata de coco harus kaya akan zat gizi sehingga memungkinkan bakteri *A.xylinum* penghasil nata melakukan metabolisme yang hasilnya berupa lapisan selulosa. Hasil metabolisme tersebut membentuk lapisan putih yang liat. Makin lama fermentasi maka lapisan sebagai hasil metabolisme bakteri *A.xylinum* makin tebal.

Proses fermentasi dalam pembuatan nata berlangsung antara 6 sampai 14 hari. Pembentukan lapisan selulosa akan terus berlangsung apabila mediumnya masih ada.

Fermentasi dalam pembuatan nata de coco termasuk ke dalam fermentasi tidak spontan karena membutuhkan kultur mikroorganisme atau starter yang ditambahkan ke dalam medium berupa air kelapa.

Untuk membuat nata de coco (salah satu contoh jenis nata yang terkenal) yaitu:

- Menyiapkan peralatan, seperti panci, kompor/pemanas, timbangan, gelas ukur, wadah plastik, saringan santan, koran dan karet (untuk penutup wadah fermentasi).
- Memilih bahan dan starter yang memenuhi kualitas yang diinginkan.
- Mengukur dan menimbang bahan sesuai dengan formulasi yang digunakan.
- Menyaring air kelapa kemudian direbus hingga mendidih. Apabila terbentuk buih pada permukaan air kelapa yang direbus maka buih tersebut diambil menggunakan saringan santan.
- Masukkan semua nutrisi, dilanjutkan dengan pemanasan hingga seluruh bahan larut.
- Dalam kondisi panas, larutan media air kelapa yang sudah

dipanaskan dimasukkan dalam wadah plastik yang bersih, kemudian langsung ditutup dengan kertas koran dan diikat rapat, kemudian didinginkan.

- Setelah dingin, diinokulasi (ditambahkan) dengan starter nata de coco secara aseptis.
- Kemudian dilakukan inkubasi selama 6-12 hari.
- Ciri-ciri nata de coco yang baik: tidak terkontaminasi (tidak ditumbuhi kapang), tidak berlubang, warna putih, tekstur liat, tebal sesuai dengan yang diinginkan.

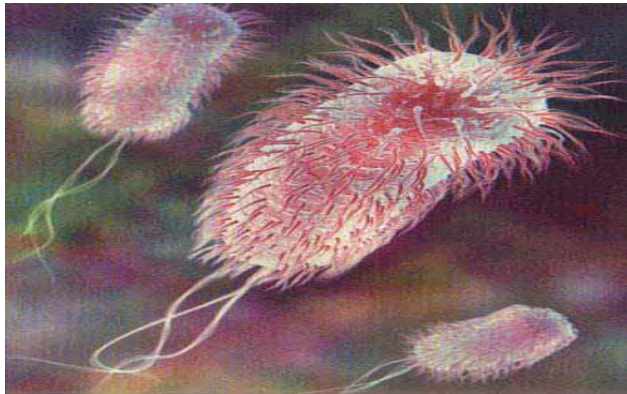
b) Yoghurt

Produk hasil fermentasi susu makin berkembang baik dengan beberapa jenis produk, contoh: yoghurt, kefir, dadih, “*yakult*” dan lain-lain. Konsumsi yoghurt dari hari ke hari juga meningkat, seiring dengan kebutuhan konsumen dan kesadaran akan pentingnya menjaga kesehatan. Di beberapa negara nama yoghurt biasa berbeda-beda, misal *mast* di Iran, *leben*, *laban* di Irak, Libanon dan Mesir, *zanady* di Mesir, *matzoon* atau *madzoondi* Armenia, *yaourt* di Rusia, Bulgaria, *naja* di Bulgaria.

Yoghurt merupakan produk fermentasi susu yang berasal dari Turkey dengan menggunakan campuran culture dari *Lactobacillus bulgaricus* (atau occasionally *L. acidophilus*) dan *Streptococcus thermophilus*, selanjutnya bakteri tersebut akan memproduksi asam laktat selama fermentasi lactose. Asam laktat akan menurunkan pH dan membentuk *curd* gumpalan sebagai akibat protein susu menggumpal (*causes the milk protein to thicken*). Dengan adanya bakteri yang memfermentasi susu maka yoghurt menjadi lebih mudah dicerna dibandingkan susu. Selain itu bakteri tersebut membantu memperbaiki sistem pencernaan

Yoghurt yang ditambahkan hancuran buah, diberi nama sesuai dengan jenis buah yang digunakan (*fruit yoghurt*), sedangkan yoghurt yang tidak ditambah buah atau essence disebut *plain yoghurt* atau yoghurt netral.

- 4) Beberapa bakteri juga mempunyai peranan pada pembuatan biogas dan sebagai bakteri pengurai, diantaranya:
- a) *Escherichia coli*, membantu proses pembusukan makanan dalam kolon manusia dan pembentuk vitamin K.



Gambar 14. *Escherichia coli* di usus sapi.

Sumber gbr. Biologi SMK Pertanian , Amelia Z Siregar.dkk

- b) *Methanobacterium omelianski* dan *Methanobacterium ruminatum*, menguraikan asam cuka (CH_3COOH) menjadi metana (CH_4) dan CO_2 .
- c) *Clostridium sporangeus*, menguraikan asam amino menjadi amonia.
- d) *Desulfovibrio desulfuricans*, menguraikan bangkai dan menguraikan sulfat di tempat becek dan menghasilkan H_2S .
- e) *Thiobacillus denitrificans*, menguraikan nitrit dan menghasilkan natau disebut denitrifikasi.

k. Bakteri penyebab penyakit pada hewan

- 1) *Campylobacter fetus* sp, penyebab keguguran pada sapi, kambing, serta radang usus manusia.
- 2) *Bacillus anthracis*, menyebabkan penyakit antraks pada temak.
- 3) *Tuberculosis*, Penyebabnya adalah *Micobacterium tuberculosis*. Penyakit ini selain menyerang sapi dapat juga menyerang manusia. Cara penularannya melalui air susu yang tercemar *Micobacterium tuberculosis* atau air susu sapi yang terserang penyakit TBC

Table 3. Mikroorganisme yang Berperan dalam Pembuatan Makanan dan Minuman

No.	Jenis Mikroorganisme	Bahan Baku	Nama Produk
1.	<i>Saccharomyces cereviceae</i>	Anggur	Alkohol/bir
2.	<i>Rhizopus oryzae</i>	Kedelai	Tempe
3.	<i>Neurospora stoiphila</i>	Kedelai/bungkil, kacang tanah	Oncom
4.	<i>Aspegillus wantii</i>	Kedelai/udang/ik	Kecap
5.	<i>Aspergillus oryzae</i>	Singkong/ketan	Tape
6.	<i>Lactobacillus lactis</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	Susu	Yoghurt
7.	<i>Penicillium camemberti</i> <i>Penicillium roquefortii</i>	Susu	Keju
8.	<i>Streptococcus lactis</i> <i>Leuconoscus cremoris</i>	Susu skim	Mentega
9.	<i>Lactobacillus xylinum</i>	Air kelapa	Nata de coco

l. Ciri-Ciri Umum Koloni Mikroba

Sifat-sifat yang perlu dipahami/diperhatikan pada koloni yang tumbuh pada medium adalah :

- 1) Besar kecilnya koloni, ada koloni yang hanya serupa satu titik, ada pula yang melebar sampai menutup permukaan medium
- 2) Bentuk, ada koloni yang berbentuk bulat, ada yang memanjang, ada yang tepinya rata, ada yang tepinya tidak rata

- 3) Kenaikan permukaan, ada koloni yang rata saja dengan permukaan medium, ada pula yang timbul, yaitu menjulang tebal di atas permukaan medium
- 4) Halus–kasarnya permukaan, ada koloni yang permukaannya halus saja, ada yang permukaannya kasar, tidak rata
- 5) Wajah permukaan, ada koloni yang permukaannya mengkilat, ada permukaannya yang suram
- 6) Warna, Kebanyakan koloni bakteri berwarna keputihan atau kekuning-kuningan, akan tetapi ada juga koloni yang kemerah-merahan, coklat, jingga, biru, hijau dan ungu
- 7) Kepekatan, ada koloni yang lunak seperti lendir, ada yang lunak seperti mentega, ada yang keras dan kering

m. Ciri- Ciri Khusus Suatu Koloni dalam Medium

Pada kesempatan ini yang anda pahami sifat- sifat koloni yang tumbuh pada agar – agar lempengan, pada agar– agar miring dan pada tusukan gelatin

- 1) Sifat- sifat koloni pada agar- agar lempengan mengenai bentuk , permukaan dan tepi.

Bentuk koloni dilukiskan sebagai titik–titik, bulat, berbenang, tidak teratur, serupa akar, serupa kumparan. Permukaan koloni dapat datar, timbul mendatar, timbul melengkung, timbul mencembung, timbul membukit, timbul berkawah.

Tepi koloni ada yang utuh, ada yang berombak, ada yang berbelah-belah, ada yang bergerigi, ada yang berbenang- benang, ada yang keriting

- 2) Sifat- sifat koloni pada agar- agar miring.

Sifat –sifat ini berkisar pada bentuk dan tepi koloni, sifat- sifat itu dinyatakan dengan kata-kata seperti: serupa pedang, serupa duri, serupa tasbih, serupa titik- titik, serupa batang dan serupa akar.

3) Sifat- sifat koloni tusukan dalam gelatin

Ada bakteri yang dapat mengencerkan gelatin , ada pula bakteri yang tidak mampu mengencerkan gelatin. Karena itu maka bentuk-bentuk koloninya juga berbeda- beda. Lagi pula bentuk koloni bakteri yang tidak dapat mengencerkan gelatin juga berbeda satu sama lain, demikian pula yang dapat mengencerkan gelatin. Bila dilihat dari samping, maka bentuk-bentuk koloni yang tidak mengencerkan gelatin, dapat berupa pedang, bertonjol-tonjol, serupa batang.

Jika bakteri yang mampu mengencerkan gelatin, bentuk koloninya dapat berupa kawah, serupa mangkuk, serupa corong, serupa pundi- pundi, berlapis

Lembar Kerja Praktik 1

Percobaan 1.1. Mengidentifikasi Jamur/Fungi

1. Tujuan: Mengamati struktur jamur
2. Alat dan Bahan:
 - a. Mikroskop
 - b. Pinset (Jarum)
 - c. Glas Obyek
 - d. Glas Penutup
 - e. Berbagai jenis jamur (Rhizopus, Mucor, Saccharomyces, dan lain - lain)
 - f. Air
 - g. Tissue gulung
 - h. Beker Glass
 - i. Pipet tetes
3. Cara Kerja:
 - a. Amatilah satu persatu struktur sel jamur yang telah anda sediakan , kemudian masukkan hasil pengamatanmu ke dalam tabel berikut

Tabel Hasil Pengamatan

No.	Bahan yang Diamati	Hasil Pengamatan/ Gambar	Keterangan
1.			Bagian Sel : Warna Koloni : Nama Jenis :
2.			Bagian Sel : Warna Koloni : Nama Jenis :
3.			Bagian Sel : Warna Koloni : Nama Jenis :
4.			Bagian Sel : Warna Koloni : Nama Jenis :

- b. Buatlah Laporan hasil pengamatan
- c. Presentasikan di depan kelas/teman-teman/kelompok lain

Lembar Kerja Praktik 2

Percobaan 1.2 Mengidentifikasi Bakteri

1. Tujuan : Mengamati struktur / koloni bakteri

2. Alat dan Bahan:

- | | |
|---|----------------------------|
| a. Mikroskop | g. Air |
| b. Pinset | h. Tisu gulung |
| c. Jarum Ose | i. Beker Glass |
| d. Glas Obyek | j. Pipet tetes |
| e. Glas Penutup | k. Minyak imersi |
| f. Berbagai jenis bakteri (<i>Acetobacter</i> ,
<i>Escherichia coli</i> ,) | l. Zat warna untuk bakteri |

3. Cara Kerja :

- a. Amatilah satu persatu struktur sel bakteri yang telah anda sediakan , kemudian masukkan hasil pengamatan anda dalam tabel berikut

Tabel Hasil Pengamatan

No.	Bakteri yang Diamati	Hasil Pengamatan/Gambar	Keterangan
1.			Bagian Sel : Nama Jenis :
2.			Bagian Sel : Nama Jenis :
3.			Bagian Sel : Nama Jenis :
4.			Bagian Sel : Nama Jenis :

- b. Buatlah Laporan hasil pengamatan
- c. Presentasikan di depan kelas/teman-teman/kelompok lain

3. Refleksi

Tuliskan jawaban pada lembar refleksi

- Bagaimana kesan anda selama mengikuti pembelajaran ini ?
- Apakah anda telah menguasai seluruh materi pelajaran ini ?
- Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pembelajaran ini ?
- Tuliskan secara ringkas apa yang anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini !

4. Tugas

Amati di sekitar rumah anda tentang jamur/ fungi/ cendawan , tuliskan ciri-ciri, tempat hidup, gambarlah dan beri keterangan bagian – bagiannya serta jelaskan peranannya dalam kehidupan! Hasilnya dikumpulkan kepada guru !

5. Tes Formatif

Jawablah pertanyaan berikut ini

- Jelaskan Pengertian dan jenis-jenis bakteri, khamir dan kapang !
- Jelaskan penggolongan bakteri, khamir dan kapang !
- Jelaskan identifikasi ciri-ciri koloni bakteri, khamir dan kapang!
- Jelaskan bagaimana cara penggunaan mikroskop!
- Jelaskan peranan bakteri, khamir dan kapang dalam bidang pertanian !

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

Indikator	Penilaian				
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen		
Sikap 2.1 • Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	1. Rubrik Penilaian Sikap		
			No	Aspek	Penilaian
					4 3 2 1
			1	Bertanya	
			2	Mengamati	

Indikator	Penilaian							
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen					
<ul style="list-style-type: none">Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasiMenampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi			3	Menalar				
			4	Mengolah data				
			5	Menyimpulkan				
			6	Menyajikan				
			Kriteria Terlampir					
2.2 <ul style="list-style-type: none">Mengkompromi kan hasil observasi kelompokMenampilkan hasil kerja kelompokMelaporkan hasil diskusi kelompok	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	2. Rubrik Penilaian Diskusi					
			N o	Aspek	Penilaian			
					4	3	2	1
			1	Terlibat penuh				
			2	Bertanya				
			3	Menjawab				
			4	Memberikan gagasan orisinil				
			5	Kerja sama				
			6	Tertib				
2.3 Menyumbang pendapat tentang Jelaskan Pengertian dan jenis-jenis bakteri, khamir dan kapang Penggolongan bakteri, khamir dan kapang	Non Tes	Lembar observasi penilaian sikap	3. Rubrik Penilaian Presentasi					
			No	Aspek	Penilaian			
					4	3	2	1
			1	Kejelasan Presentasi				
			2	Pengetahuan :				
			3	Penampilan :				
Pengetahuan	Tes	Uraian						
Keterampilan								
1. Merangkai alat-alat pembuatan	Tes Unjuk		4. Rubrik Penilaian Penggunaan alat dan bahan					

Indikator	Penilaian																													
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen																											
mengidentifikasi bakteri, khamir dan kapang 2. Menggunakan alat- alat untuk membuat mengidentifikasi bakteri, khamir dan kapang	Kerja		<table><tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr><tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr><tr><td>Cara merangkai alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>				Aspek	Penilaian				4	3	2	1	Cara merangkai alat					Cara menuliskan data hasil pengamatan					Kebersihan dan penataan alat				
Aspek	Penilaian																													
	4	3	2	1																										
Cara merangkai alat																														
Cara menuliskan data hasil pengamatan																														
Kebersihan dan penataan alat																														

Lampiran Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. Rubrik Sikap Ilmiah

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Bertanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek Bertanya :

Skor 4 Jika pertanyaan yang diajukan **sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 3 Jika pertanyaan yang diajukan **cukup** sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 2 Jika pertanyaan yang diajukan **kurang sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 1 Tidak Bertanya

2. Aspek Mengamati :

- Skor 4 Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat
- Skor 3 Terlibat dalam pengamatan
- Skor 2 Berusaha terlibat dalam pengamatan
- Skor 1 Diam tidak aktif

2. Aspek Menalar

- Skor 4 Jika nalaranya benar
- Skor 3 Jika nalaranya hanya sebagian yang benar
- Skor 2 Mencoba bernalar walau masih salah
- Skor 1 Diam tidak bernalar

3. Aspek Mengolah data :

- Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua
- Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar
- Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar
- Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

4. Aspek Menyimpulkan :

- Skor 4 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
- Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
- Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar
- Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

5. Aspek Menyajikan

- Skor 4 Jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawab semua pertanyaan dengan benar
- Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan

Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab

Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinil				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1. Aspek Terlibat Penuh :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat

Skor 1 Diam sama sekali tidak terlibat

2. Aspek Bertanya :

Skor 4 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan pertanyaan

Skor 1 Diam sama sekali tidak bertanya

3. Aspek Menjawab :

Skor 4 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya

Skor 1 Diam tidak pernah menjawab pertanyaan

4. Aspek Memberikan Gagasan Orisinal :

Skor 4 Memberikan gagasan/ide yang orisinal berdasarkan pemikiran sendiri

Skor 3 Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan

Skor 2 Kadang-kadang memberikan gagasan/ide

Skor 1 Diam tidak pernah memberikan gagasan

5. Aspek Kerjasama :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif

Skor 1 Diam tidak aktif

6. Aspek Tertib :

- Skor 4 Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya
- Skor 3 Dalam diskusi kelompok tampak aktif,tapi kurang santun
- Skor 2 Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain
- Skor 1 Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari

c. Rubrik Penilaian Penggunaan Alat / bahan

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara merangkai alat				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kriteria :

1. Cara merangkai alat :

- Skor 4 : jika seluruh peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur
- Skor 3 : jika sebagian besar peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur
- Skor 2 : jika sebagian kecil peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur
- Skor 1 : jika peralatan tidak dirangkai sesuai dengan prosedur

2. Cara menuliskan data hasil pengamatan :

- Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar
- Skor 3 : jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar
- Skor 2 : jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar
- Skor 1 : jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

3. Kebersihan dan penataan alat :

Skor 4 : jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

d. Rubrik Presentasi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Kejelasan Presentasi				
2	Pengetahuan				
3	Penampilan				

Kriteria

1. Kejelasan presentasi

Skor 4 Sistematika penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas

Skor 3 Sistematika penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas

Skor 2 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

Skor 1 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

2. Pengetahuan

Skor 4 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 3 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 2 Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik yang dibahas

Skor 1 Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

3. Penampilan

Skor 4 Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 3 Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu

Skor 2 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 1 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Laporan Observasi

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, , masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan Dan kesimpulan	Sistematika laporam hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, grafik	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table,	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table,	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
		dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengkap	gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan tetapi tidak relevan	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapi, mudah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan disertai dengan data kelompok

KEGIATAN PEMBELAJARAN 2 (KD 2-18 JP)

Menerapkan pengetahuan faktual, konseptual, prosedural dalam membuat media (KD 3.2)

Membuat media untuk pertumbuhan dan isolasi (KD 4.2)

A. Deskripsi

Dalam kegiatan pembelajaran ini berisikan tentang Pembuatan Media, Pertumbuhan yang Terinci dalam Materi Bahan Dasar Media, Jenis-Jenis Media, Pertumbuhan berdasarkan Sifat Fisik, Komposisi, Tujuan (selektif, diperkaya), Sifat- Sifat Media, Komposisi Media Pertumbuhan dan Teknik Pembuatan Media.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah menyelesaikan pembelajaran ini siswa dapat:

- a. Mengidentifikasi bahan dasar media
- b. Mengidentifikasi jenis-jenis media pertumbuhan berdasarkan sifat fisik, komposisi dan tujuan
- c. Mengidentifikasi sifat-sifat media
- d. Mengidentifikasi komposisi media pertumbuhan
- e. Membuat media

2. Uraian Materi

a. Medium Pertumbuhan Mikroorganisme

Pengertian dan Fungsi Media

Dasar makanan yang paling baik bagi pembiakkan bakteri ialah medium yang mengandung zat-zat organik seperti rebusan daging, sayur-sayuran, sisa-sisa makanan atau ramuan-ramuan yang dibuat oleh manusia. Medium yang banyak digunakan dalam pekerjaan rutin di laboratorium ialah kaldu cair dan kaldu agar. Medium ini tersusun dari :

kaldu bubuk 3 gram, pepton 5 gram, air suling 1000 mL (Dwidjoseputro, 2005).

Media adalah suatu substrat untuk menumbuhkan bakteri yang menjadi padat dan tetap tembus pandang pada suhu inkubasi (Pelczareta, 1986).

Medium adalah suatu bahan nutrisi tempat menumbuhkan bakteri di laboratorium (Tortora, 2007).

b. Macam – Macam Media

Menurut Dwidjoseputro (1964), media dibedakan menjadi :

1. Media cair misalnya kaldu
2. Media kental (padat) menggunakan kentang yang dipotong
3. Media yang diperkaya
4. Media yang sintetik berupa ramu–ramuan zat anorganik
5. Media kering berupa serbuk kering yang dilarutkan dalam air

Menurut Pelczareta (1986) media dibedakan menjadi:

1. Media yang diperkaya komponennya yaitu lumpur, ekstra serum dari tanaman atau hewan
2. Media selektif yaitu bagian kimiawi secara spesifik untuk dapat tumbuh bakteri tanpa adanya halangan dari apapun
3. Media yang berbeda yaitu menyatukan reagen atau zat kimia di media untuk menghasilkan pertumbuhan yang baik setelah diinkubasi dan diinokulasi dengan mengizinkan 2 pertumbuhan bakteri yang berbeda.

Menurut Hadioetomo (2010), media dibedakan menjadi 2 menurut komposisi kimiawinya yaitu medium sintetik dan medium non sintetik atau kompleks.

Medium sintetik dibuat dari bahan kimia yang kemurnian tinggi dan ditentukan dengan tepat, sedangkan medium non-sintetik tidak diketahui dengan pasti.

Media NA, PDA Beserta Komposisinya

Menurut Pelczar et. al. (1986), NA (Nutrient Agar) adalah padatan yang dimaksudkan untuk membuat media menjadi padat.

Komposisi NA :

- a. Ekstra Daging Sapi 3 gram.
- b. Pepton 5 gram
- c. Agar 15 gram
- d. Air 1000 ml. Menurut Fathir (2009),

Komposisi PDA:

- a. 400 gr kentang (kupas kulitnya)
- b. 15 gr dektrosa
- c. 15 gr agar- agar
- d. 1000 ml air (suling atau sumur)

Media NA (Nutrient Agar) digunakan untuk budidaya bakteri dan untuk pencegahan organisme dalam air, limbah, kotoran dan lainnya.

Komposisi: Beef extract, peptone, agar dan aquadest (Ruly, 2009).

Pemberdayaan mikoorganisme tidak dapat dilakukan secara sembarangan, karena dapat berakibat sangat merugikan. Oleh karena itu dalam pemberdayaan mikroorganisme tersebut harus dapat mengidentifikasi secara pasti jenis mikroorganisme yang akan digunakan. Untuk melakukan proses identifikasi harus dilakukan penyiapan medium yang meliputi kegiatan pembuatan medium dan sterilisasi terhadap bahan dan peralatan terkait.

TUGAS

Amatilah dengan mencari informasi tentang jenis-jenis media pertumbuhan dan tujuan penggunaannya

Diskusikan dengan kelompok anda dan tanyakan kepada guru apabila ada yang belum jelas, buat rangkuman dan presentasikan di depan kelas

c. Jenis-jenis medium

Medium adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di dalamnya. Meskipun mikroorganisme mempunyai persyaratan nutrien yang beragam, namun secara umum mereka mempunyai kebutuhan dasar yang sama yaitu meliputi air, karbon, energi, mineral, dan faktor tumbuh. Pengetahuan nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme sangat diperlukan di dalam mengkultivasi, mengisolasi dan mengidentifikasi mikroorganisme. Mikroorganisme memiliki karakteristik dan ciri yang berbeda-beda di dalam persyaratan pertumbuhannya. Karakteristik persyaratan pertumbuhan mikroorganisme inilah yang menyebabkan bermacam-macamnya media penunjang pertumbuhan mikroorganisme. Namun demikian, mikroorganisme sebagai makhluk hidup secara umum mempunyai kebutuhan dasar yang sama, yaitu air, karbon, energi, mineral, dan faktor tumbuh.

Air merupakan wahana masuknya nutrien ke dalam sel dan keluarnya sekresi ataupun ekskresi dari dalam sel. Air juga diperlukan untuk berlangsungnya reaksi-reaksi enzimatik di dalam sel. Air yang digunakan dalam pembuatan medium sebaiknya menggunakan air suling untuk menghindari banyaknya kandungan kadar ion kalsium dan magnesium yang dapat menyebabkan terjadinya endapan fosfat pada medium yang mengandung pepton dan ekstrak daging.

Anonim (2006) menyatakan klasifikasi media pertumbuhan mikrobila seperti pada tabel berikut:

Table 4. Klasifikasi media pertumbuhan mikrobia

KLASIFIKASI	NAMA/SEBUTAN	CONTOH
Sumber Nutrien	Alamiah	Susu, kaldu
	Buatan/Artifisial	Campuran zat kimia
Keadaan Fisik	Padat-Ireversibel	Serum darah terkoagulasi
	Padat-Reversibel	Agar nutrien
	Setengah padat	Agar lunak
	Cair	Kaldu nutrien
Komponen Kimiawi penyusun	Kompleks (komposisi "unknown")	Agar nutrien
	Kimiawi-Sintetik (komposisi "known")	Amonium sulfat, medium garam, glukosa.
Persyaratan nutrisi bakteri	<i>Enrichment Media</i> (media diperkaya)	Kaldu Infusi Jantung
	<i>Differential media</i> (Media diferensial)	Agar Eosin-biru metilen
	<i>Selected Media</i> (media terpilih)	Agar deoksikolat
	<i>Test Media</i> (media uji)	Media uji Vit B ₁₂

Keterangan :

1. Ireversibel = Sifat tidak dapat kembali lagi ke fase semula. Seperti darah yang telah berkoagulasi (menggumpal) tidak dapat lagi kembali menjadi darah cair.
2. Reversibel = Sifat yang dapat kembali ke fase semula setelah perubahannya. Seperti agar yang dapat memadat apabila didinginkan dan dapat mencair kembali apabila dipanaskan lagi.
3. *Enrichment Media* = Media yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri yang *rewel* yaitu bakteri yang memiliki persyaratan untuk tumbuh yang rumit. Bakteri ini tidak dapat tumbuh pada media biasa karena membutuhkan beberapa nutrisi pengaya yang dapat menyokong pertumbuhannya.

4. *Differential Media* = Media yang digunakan untuk membedakan bentuk dan karakter koloni bakteri yang tumbuh. Beberapa bakteri dapat tumbuh di dalam media ini, tetapi hanya beberapa jenis saja yang mempunyai penampilan pertumbuhan yang khas. Media ini berguna untuk isolasi dan identifikasi bakteri.
5. *Selected Media* = Media pertumbuhan yang terpilih dan khusus, maksudnya media ini dapat menghambat pertumbuhan tipe mikroorganisme lain namun membiarkan tipe mikroorganisme lain dapat tumbuh. Media ini sangat berguna untuk identifikasi.
6. *Test Media* = Media yang digunakan untuk mengukur secara kuantitatif suatu vitamin maupun antibiotik dengan bantuan mikroorganisme.
7. Berbagai contoh jenis media dan komposisi serta cara penyajiannya dapat dilihat pada lampiran yang terdapat pada bagian akhir modul ini.

d. Penyiapan Medium

Secara umum konsistensi medium dibuat berdasarkan kebutuhan. Medium dapat berbentuk cair, setengah padat dan padat. Medium cair (kaldu nutrisi atau kaldu glukosa) dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar, penelaahan fermentasi dan berbagai macam uji. Medium setengah padat digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi. Medium padat biasanya digunakan untuk mengamati penampilan atau morfologi koloni dan mengisolasi biakan murni. Untuk membuat medium padat, biasanya ditambahkan bahan pemat (gelatin atau agar-agar) ke dalam medium kaldu (cair). Sedangkan untuk membuat medium setengah padat dilakukan dengan menambahkan gelatin atau agar-agar dalam konsentrasi lebih kecil dibandingkan dapat pembuatan medium padat.

Agar-agar merupakan bahan yang kandungan utamanya adalah galaktan, yaitu suatu kompleks karbohidrat yang diekstraksi dari alga marin genus *Gelidium*, namun sebagian besar mikroorganisme tidak dapat menggunakannya sebagai makanan sehingga agar-agar dapat berlaku semata-mata sebagai bahan pematat. Agar-agar akan mencair bila dipanaskan pada suhu 100°C dan tetap berbentuk cair bila didinginkan sampai kurang lebih 43°C. Agar-agar dapat dicairkan kembali pada suhu 100°C, namun tidak dianjurkan untuk membiarkan medium agar menjadi padat lalu mencairkannya kembali lebih dari dua kali karena dapat memberikan hasil yang kurang baik. Air yang digunakan dalam pembuatan medium sebaiknya menggunakan air suling. Air merupakan wahana bagi masuknya nutrien ke dalam sel dan keluarnya sekresi maupun ekskresi dari dalam sel. Air juga diperlukan untuk berlangsungnya reaksi-reaksi enzimatik di dalam sel.

Penyiapan media komersial dalam bentuk bubuk, seperti PCA (Plate Count Agar), NA (Nutrient Agar), TSA (Trypticase Soy Agar) dan lain lain, pada umumnya mengikuti langkah-langkah sebagai berikut :

1. Setiap komponen atau medium terhidrasi (bubuk) dilarutkan ke dalam aquades atau air suling pada volume yang tepat dan sesuai.
2. pH media ditentukan dan disesuaikan dengan nilai optimum pertumbuhan mikroorganisme sebagaimana tertera pada kemasan media komersial.
3. Dituang ke dalam media yang sesuai, seperti erlenmeyer atau tabung labu dan disumbat dengan penutup yang kuat. Jumlah medium dan wadah yang digunakan dapat dilihat pada tabel berikut:

Table 5. Jumlah medium dan wadah yang digunakan

Medium	Jumlah	Wadah
Agar miring	4 ml	Tabung reaksi
Agar tusuk	6 ml	Tabung reaksi
Cawan tuang	12 ml	Tabung reaksi
(agar cawan)	100-200 ml (8-16 cawan)	Labu erlenmeyer
Kaldu	5-10 ml	Tabung reaksi
Kaldu dengan tabung fermentasi	5-7 ml	Tabung reaksi

1. Disterilisasi dengan suhu dan waktu yang memadai sesuai dengan yang tertera pada kemasan (umumnya pada suhu 121°C, tekanan 15 psi selama 15 menit).
2. Setelah dikeluarkan dari sterilisator, letakkan tabung yang telah berisi medium sesuai dengan tujuannya. Untuk agar miring, tempatkan pada wadah atau bantalan sampai kemiringan yang diinginkan hingga menjadi padat.
3. Berikan identitas pada media tersebut agar tidak tertukar dengan media lainnya, karena secara umum warna dan kondisi media relatif sama meskipun komposisinya berbeda.

Lembar Kerja Praktik 1

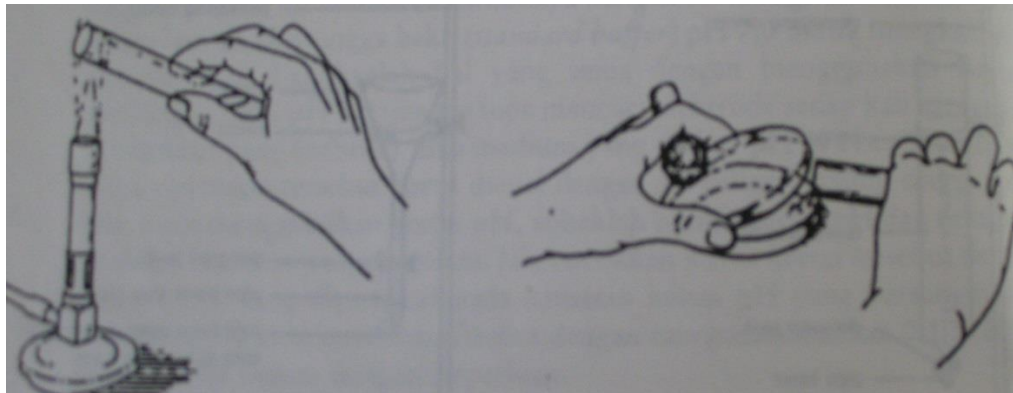
1. Judul : Pembuatan Medium Potato Dextrose Agar (PDA) secara sederhana
2. Tujuan : Setelah melakukan kegiatan ini siswa diharapkan mampu membuat medium PDA dengan cara yang benar
3. Alat:
 - a. Timbangan
 - b. Baskom plastik
 - c. Pisau
 - d. Talenan
 - e. Beaker glass
 - f. Saringan/kain saring
 - h. Pengaduk
 - i. Hot plate
 - j. Gelas ukur
 - k. Tabung reaksi/botol contoh
 - l. Cawan petri (petridish)
 - m. Autoclave
 - n. Labu erlenmeyer
 - o. Pipet ukur
 - p. Inkubator
2. Bahan:
 - a. Kentang (kupas) : 200 gram
 - b. Dekstrose/glukose: 20 gram
 - c. Agar-agar (putih) : 7 gram (1 bungkus)
 - d. Aquades : 1 liter
 - e. Kertas perkamen : 2 lembar
 - f. Kapas
 - g. Karet/benang kasur
3. Langkah Kerja:
 - a. Kupas kentang secukupnya, cuci hingga bersih dan potong kecil-kecil hingga berbentuk dadu.
 - b. Timbang potongan kentang sebanyak 200 gram.

- c. Masak dengan menggunakan air sebanyak 1 liter hingga cukup lunak, tetapi jangan terlalu masak/hancur, hingga diperoleh kaldu kentang yang berwarna kekuning-kuningan.
- d. Saring dengan menggunakan saringan/kain saring halus, jangan sampai hancuran kentang tercampur dalam kaldu kentang (larutan hasil penyaringan).
- e. Tambahkan tepung agar-agar dan dekstrose/glukose ke dalam kaldu kentang.
- f. Ukurlah jumlah larutan hasil saringan tersebut, dan tambahkan aquades sehingga diperoleh volume 1 liter.
- g. Didihkan kembali larutan tersebut hingga agar-agar dan dekstrose/glukose larut seluruhnya.
- h. Tuangkan medium tersebut ke dalam tabung reaksi sesuai kebutuhan, seperti terlihat pada tabel berikut:

Agar miring	4 ml	Tabung reaksi
Agar tusuk	6 ml	Tabung reaksi
Cawan tuang	12 ml	Tabung reaksi
(agar cawan)	100-200 ml	Labu erlenmeyer

- i. Tutuplah tabung reaksi/erlenmeyer dengan menggunakan kapas dan kertas perkamen, kemudian diikat dengan menggunakan karet/benang kasur.
- j. Siapkan tabung reaksi berisi aquades sebanyak 9 ml sebanyak 10 buah yang ditutup dengan kapas dan kertas perkamen untuk tiap kelompok.
- k. Sterilisasikan media ke dalam autoclave pada suhu 121°C, tekanan 15 psi selama 15-20 menit.
- l. Keluarkan semua bahan yang disterilisasi.
- m. Dinginkan dalam kondisi miring untuk tabung reaksi yang akan dibuat/dipersiapkan sebagai agar miring, dan kondisi tegak untuk agar tusuk hingga medium tersebut membeku.

- n. Untuk membuat medium dalam cawan petri, tabung yang berisi 12 ml medium dimasukkan ke dalam penangas air (waterbath) pada suhu $50^{\circ}\text{C} \pm 5$ menit. Tuangkan medium ke dalam cawan petri steril secara aseptik hingga merata ke seluruh permukaan cawan dan biarkan hingga dingin dan membeku.
- o. Simpan dalam lemari pendingin bila medium tersebut belum digunakan.



Gambar 15. Membuat medium agar dalam cawan
Sumber gbr. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktik, Ratna siri Hadioetomo,
lab. Mikrobiologi,IPB

Selanjutnya lakukan pekerjaan berikut :

Siapkan dua buah medium agar miring/tegak/cawan ke dalam tabung reaksi yang Anda buat. Bukalah tutup/sumbat kapas dan kertas perkamen pada salah satu medium dalam tabung reaksi dan biarkan minimal 10 menit pada beberapa tempat yang berbeda pada masing-masing kelompok, kemudian tutuplah kembali seperti semula. Berilah tanda pada tabung reaksi tersebut untuk membedakan dengan medium agar lain yang tidak dibuat. Simpan medium tersebut ke dalam inkubator pada suhu 30°C selama 2-3 hari. Amati dan gambar serta bahas apa yang terjadi dengan medium tersebut bersama kelompok Anda.

3. Refleksi

Tuliskan jawaban pada lembar refleksi

- Bagaimana kesan anda selama mengikuti pembelajaran ini?
- Apakah anda telah menguasai seluruh materi pelajaran ini?
- Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pembelajaran ini?
- Tuliskan secara ringkas apa yang anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!

4. Tugas

Buatlah rangkuman perbedaan media tumbuh antara jamur, ragi dan bakteri !
Kumpulkan hasil tugas anda ke pada guru !

5. Tes Formatif

Jawablah pertanyaan berikut ini:

- Jelaskan pengertian media pertumbuhan mikroba!
- Jelaskan jenis media pertumbuhan berdasarkan komposisinya!
- Jelaskan sifat- sifat media!
- Bagaimana anda membuat media pertumbuhan bakteri? Uraikan langkah-langkahnya secara runut!
- Mengapa jenis media untuk pertumbuhan bakteri tidak sama dengan khamir atau jamur? jelaskan!

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

Indikator	Penilaian		
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen
Sikap 2.1 • Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	1. Rubrik Penilaian Sikap

Indikator	Penilaian																																																			
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen																																																	
melakukan observasi <ul style="list-style-type: none">Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasiMenampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi			<table><tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr><tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr><tr><td>1</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> <p>Kriteria Terlampir</p>				No	Aspek	Penilaian				4	3	2	1	1	Bertanya					2	Mengamati					3	Menalar					4	Mengolah data					5	Menyimpulkan					6	Menyajikan				
No	Aspek	Penilaian																																																		
		4	3	2	1																																															
1	Bertanya																																																			
2	Mengamati																																																			
3	Menalar																																																			
4	Mengolah data																																																			
5	Menyimpulkan																																																			
6	Menyajikan																																																			
2.2 <ul style="list-style-type: none">Mengkompromika n hasil observasi kelompokMenampilkan hasil kerja kelompokMelaporkan hasil diskusi kelompok	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	<p>2. Rubrik Penilaian Diskusi</p> <table><tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr><tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr><tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>				No	Aspek	Penilaian				4	3	2	1	1	Terlibat penuh					2	Bertanya					3	Menjawab					4	Memberikan gagasan orisinil					5	Kerja sama					6	Tertib				
No	Aspek	Penilaian																																																		
		4	3	2	1																																															
1	Terlibat penuh																																																			
2	Bertanya																																																			
3	Menjawab																																																			
4	Memberikan gagasan orisinil																																																			
5	Kerja sama																																																			
6	Tertib																																																			
2.3 Menyumbang pendapat tentang bahan dasar, jenis – jenis media pertumbuhan, sifat media, komposisi media, teknik pembuatan media	Non Tes	Lembar observasi penilaian sikap	<p>3. Rubrik Penilaian Presentasi</p> <table><tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr><tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr><tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>2</td><td>Pengetahuan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>3</td><td>Penampilan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>				No	Aspek	Penilaian				4	3	2	1	1	Kejelasan Presentasi					2	Pengetahuan :					3	Penampilan :																						
No	Aspek	Penilaian																																																		
		4	3	2	1																																															
1	Kejelasan Presentasi																																																			
2	Pengetahuan :																																																			
3	Penampilan :																																																			
Pengetahuan	Tes	Uraian																																																		
Keterampilan 1. Merangkai alat-alat pembuatan media pertumbuhan	Tes Unjuk Kerja		4. Rubrik Penilaian Penggunaan alat dan bahan																																																	

Indikator	Penilaian							
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen					
2. Menggunakan alat-alat untuk membuat media pertumbuhan								
			Aspek		Penilaian			
					4	3	2	1
			Cara merangkai alat					
			Cara menuliskan data hasil pengamatan					
Kebersihan dan penataan alat								

Lampiran Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. Rubrik Sikap Ilmiah

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Bertanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek Bertanya :

Skor 4 Jika pertanyaan yang diajukan **sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 3 Jika pertanyaan yang diajukan **cukup** sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 2 Jika pertanyaan yang diajukan **kurang sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 1 Tidak Bertanya

2. Aspek Mengamati :

- Skor 4 Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat
- Skor 3 Terlibat dalam pengamatan
- Skor 2 Berusaha terlibat dalam pengamatan
- Skor 1 Diam tidak aktif

3. Aspek Menalar

- Skor 4 Jika nalarnya benar
- Skor 3 Jika nalarnya hanya sebagian yang benar
- Skor 2 Mencoba bernalar walau masih salah
- Skor 1 Diam tidak bernalar

4. Aspek Mengolah data :

- Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua
- Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar
- Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar
- Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

5. Aspek Menyimpulkan :

- Skor 4 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
- Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
- Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar
- Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

6. Aspek Menyajikan

- Skor 4 Jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawab semua pertanyaan dengan benar
- Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan

- Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab
- Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinal				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1. Aspek Terlibat Penuh :

- Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat
- Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat
- Skor 2 Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat
- Skor 1 Diam sama sekali tidak terlibat

2. Aspek Bertanya :

- Skor 4 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas
- Skor 3 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan pertanyaan

Skor 1 Diam sama sekali tidak bertanya

4. Aspek Menjawab :

Skor 4 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya

Skor 1 Diam tidak pernah menjawab pertanyaan

5. Aspek Memberikan Gagasan Orisinil :

Skor 4 Memberikan gagasan/ide yang orisinil berdasarkan pemikiran sendiri

Skor 3 Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan

Skor 2 Kadang-kadang memberikan gagasan/ide

Skor 1 Diam tidak pernah memberikan gagasan

6. Aspek Kerjasama :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif

Skor 1 Diam tidak aktif

7. Aspek Tertib :

- Skor 4 Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya
- Skor 3 Dalam diskusi kelompok tampak aktif,tapi kurang santun
- Skor 2 Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain
- Skor 1 Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari

c. Rubrik Penilaian Penggunaan Alat / bahan

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara merangkai alat				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kriteria :

1. Cara merangkai alat :

- Skor 4 : jika seluruh peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur
- Skor 3 : jika sebagian besar peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur
- Skor 2 : jika sebagian kecil peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur
- Skor 1 : jika peralatan tidak dirangkai sesuai dengan prosedur

2. Cara menuliskan data hasil pengamatan :

- Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar
- Skor 3 : jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

3. Kebersihan dan penataan alat :

Skor 4 : jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

d. Rubrik Presentasi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Kejelasan Presentasi				
2	Pengetahuan				
3	Penampilan				

Kriteria

1. Kejelasan presentasi

Skor 4 Sistematis penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas

Skor 3 Sistematis penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas

Skor 2 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

Skor 1 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

2. Pengetahuan

Skor 4 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 3 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 2 Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik yang dibahas

Skor 1 Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

3. Penampilan

Skor 4 Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 3 Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu

Skor 2 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 1 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Laporan Observasi

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, , masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporam hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, grafik dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan tetapi tidak relevan	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan	Laporan ditulis rapi, mudah dibaca dan	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
		disertai dengan data kelompok	tidak disertai dengan data kelompok	disertai dengan data kelompok	disertai dengan data kelompok

KEGIATAN PEMBELAJARAN 3 (KD 3– 18 JP)

Menerapkan konsep dan prinsip teknik sterilisasi dan uji sterilitas (KD 3.3)

Melakukan sterilisasi dan uji sterilitas (KD 4.3)

A. Deskripsi

Pada kegiatan pembelajaran ini akan disampaikan tentang melakukan sterilisasi dan uji sterilitas yang dirinci prinsip dan tujuan sterilisasi, pengoperasian neraca, incubator dan autoclaf, sterilisasi ruangan , sterilisasi peralatan, sterilisasi media, bahan kimia untuk sterilisasi ruangan, uji steriritas ruangan (meja,inkas pekerja)

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah menyelesaikan pembelajaran ini siswa dapat :

- a. Menjelaskan prinsip dan tujuan sterilisasi
- b. Melakukan pengoperasian neraca, inkubator dan autoclave
- c. Melakukan sterilisasi ruangan
- d. Melakukan sterilisasi peralatan
- e. Melakukan sterilisasi media
- f. Melakukan uji sterilisasi ruangan (meja, inkas pekerja)

2. Uraian Materi

a. Prinsip dan tujuan Sterilisasi

Apakah anda mengeahui prinsip dan tujuan sterilisasi?

Sterilisasi dalam mikrobiologi adalah suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau dalam suatu benda. Ketika anda pertama kalinya melakukan pemindahan biakan secara aseptik, sesungguhnya anda telah menggunakan salah satu cara sterilisasi , yaitu pembakaran. Namun kebanyakan peralatan dan media yang umum dipakai di dalam pekerjaan mikrobiologis akan menjadi rusak bila dibakar.

Tujuan dari sterilisasi adalah untuk mematikan semua organisme hingga sporanya pada suatu obyek, agar dalam penggunaan benda atau obyek pada kegiatan selanjutnya tidak terjadi kontaminasi atau kegagalan. Suatu tindakan untuk membunuh kuman patogen dan apatogen beserta sporanya pada peralatan perawatan dan kedokteran dengan cara merebus, stoom, panas tinggi atau menggunakan bahan kimia.

Tugas

***Amatilah dengan mencari informasi tentang jenis-jenis media pertumbuhan dan tujuan penggunaannya
Diskusikan dengan kelompok anda dan tanyakan kepada guru apabila ada yang belum jelas, buat rangkuman dan presentasikan di depan kelas***

b. Metode Sterilisasi

Saat ini informasi yang diperoleh dari bidang mikrobiologi memberikan sumbangan yang sangat besar, khususnya dalam mengawasi penyakit menular. Selain itu, mikroorganisme telah digunakan untuk mempelajari berbagai proses biokimia yang diketahui terjadi pula pada bentuk kehidupan yang lebih tinggi. Banyak fakta tentang metabolisme manusia yang diketahui sekarang mula-mula diketahui terjadi pada mikroorganisme. Demikian pula dengan teknologi yang sekarang sedang populer, misal rekayasa genetik yang tidak lain merupakan perkembangan genetika molekuler yang menjelaskan bagaimana gen mengatur aktivitas sel. Semua ini berasal dari studi tentang mikroorganisme. Jadi bidang mikrobiologi tidak hanya studi tentang penyebab penyakit tetapi merupakan studi tentang semua aktivitas hayati mikroorganisme.

Mikroorganisme banyak dipelajari di laboratorium untuk banyak tujuan. Derajat perinciannya untuk mempelajari itu tergantung kepada maksud

pemeriksaan laboratorium tersebut. Tersedianya pula teknik untuk menentukan ukuran, bentuk, dan struktur sel-sel individu serta beberapa prosedur untuk menumbuhkan (membiakkan) mikroorganisme di laboratorium.

Pada bahasan berikut ini dititikberatkan pada metode/prosedur untuk membebaskan suatu bahan atau benda dari semua bentuk kehidupan atau yang biasanya dikenal dengan istilah sterilisasi. Sterilisasi merupakan suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada suatu benda. Proses sterilisasi dapat dibedakan menjadi 3 macam, yaitu penggunaan panas (pemijaran dan udara panas); penyaringan; dan penggunaan bahan kimia seperti etilena oksida, asam perasetat, formaldehida dan glutaraldehida alkalin (Hadioetomo, 1993).

Pada prinsipnya sterilisasi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu secara mekanik, fisik dan kimiawi. Berikut penjelasan akan masing-masing cara:

1) **Sterilisai Secara Mekanik (filtrasi)**

Sterilisasi secara mekanik (filtrasi) menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0.22 mikron atau 0.45 mikron) sehingga mikroba tertahan pada saringan tersebut. Proses ini ditujukan untuk sterilisasi bahan yang peka panas, misalnya larutan enzim dan antibiotik.

Jika terdapat beberapa bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi akan mengalami perubahan atau penguraian, maka sterilisasi yang digunakan adalah dengan cara mekanik, misalnya dengan saringan. Dalam mikrobiologi, penyaringan secara fisik paling banyak digunakan adalah dalam penggunaan filter khusus misalnya *filter berkefeld*, *filter chamberlan*, dan *filter seitz*. Jenis filter yang dipakai tergantung pada tujuan penyaringan dan benda yang akan disaring.

Penyaringan dapat dilakukan dengan mengalirkan gas atau cairan melalui suatu bahan penyaring yang memiliki pori-pori cukup kecil

untuk menahan mikroorganisme dengan ukuran tertentu. Saringan akan tercemar sedangkan cairan atau gas yang melaluinya akan steril. Alat saring tertentu juga mempergunakan bahan yang dapat mengabsorpsi mikroorganisme. Saringan yang umum dipakai tidak dapat menahan virus. Oleh karena itu, sehabis penyaringan medium masih harus dipanaskan dalam autoclave. Penyaringan dilakukan untuk mensterilkan substansi yang peka terhadap panas seperti serum, enzim, toksin kuman, ekstrak sel dan lain-lain.

- Menyaring cairan

Hal ini dapat dilakukan dengan berbagai filter seperti saringan *seitz*, yang menggunakan saringan *asbestos* sebagai alat penyaringannya; saringan *berkefeld* yang mempergunakan filter yang terbuat dari tanah diatom; saringan *chamberland* yang mempergunakan filter yang terbuat dari porselen; dan *fritted glass filter* yang mempergunakan filter yang terbuat dari serbuk gelas. Saringan asbes lebih mudah dan lebih murah daripada saringan porselen. Saringan asbes dapat dibuang setelah dipakai, sedangkan saringan porselen terlalu mahal bila dibuang, tetapi terlalu sulit untuk dibersihkan.

- Menyaring udara

Untuk menjaga suatu alat yang sudah steril agar tidak tercemar oleh mikroba atau untuk menjaga agar suatu biakan kuman tidak tercemar oleh kuman yang lain, maka alat-alat tersebut harus ditutup dengan kapas, karena kapas mudah ditembus udara tetapi dapat menahan mikroorganisme. Harus dijaga agar kapas tidak menjadi basah, oleh karena kapas yang basah memungkinkan kuman menembus ke dalam. Untuk mencegah pencemaran oleh kuman-kuman udara pada waktu menuang pembenihan, dapat dipergunakan suatu alat yang disebut laminar flow bench dimana udara yang masuk ke dalamnya disaring terlebih dahulu dengan

suatu saringan khusus. Saringan ini ada batas waktu pemakaiannya dan harus diganti dengan yang baru apabila sudah tidak berfungsi lagi.

2) **Sterilisasi Secara Fisik**

Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan & penyinaran.

- **Pemanasan**

- Pemijaran (dengan api langsung): membakar alat pada api secara langsung, contoh alat : jarum inokulum, pinset, batang L dan lain-lain.
- Panas kering: sterilisasi dengan oven kira-kira 160-180°C. Sterilisasi panas kering cocok untuk alat yang terbuat dari kaca misalnya erlenmeyer, tabung reaksi dan lain-lain.
- Uap air panas: konsep ini mirip dengan mengukus. Bahan yang mengandung air lebih tepat menggunakan metode ini supaya tidak terjadi dehidrasi.
- Uap air panas bertekanan: menggunakan autoclave.

- **Penyinaran dengan UV**

Sinar Ultra Violet juga dapat digunakan untuk proses sterilisasi, misalnya untuk membunuh mikroba yang menempel pada permukaan interior *Safety Cabinet* dengan disinari lampu UV

3) **Sterilisasi Secara Kimiawi**

Biasanya sterilisasi secara kimiawi menggunakan senyawa desinfektan antara lain alkohol. Antiseptik kimia biasanya dipergunakan dan dibiarkan menguap seperti halnya alkohol. Umumnya isopropil alkohol 70-90% adalah yang termurah namun merupakan antiseptik yang sangat efisien dan efektif. Penambahan

yodium pada alkohol akan meningkatkan daya disinfeksinya. Dengan menggunakan iodium, isopropil tidak efektif terhadap spora. Solusi terbaik untuk membunuh spora adalah campuran formaldehid dengan alkohol, tetapi solusi ini terlalu toksik untuk dipakai sebagai antiseptik.

Pemilihan antiseptik terutama tergantung pada kebutuhan dari tujuan tertentu serta efek yang dikehendaki. Perlu juga diperhatikan bahwa beberapa senyawa bersifat iritatif dan kepekaan kulit sangat bervariasi. Zat-zat kimia yang dapat dipakai untuk sterilisasi antara lain yaitu halogen (senyawa klorin, iodium), alkohol, fenol, hidrogen peroksida, zat warna ungu kristal, derivat akridin, rosanalin, detergen, logam berat (Hg, Ag, As, Zn), aldehida dan lain-lain

c. Berbagai Prosedur Umum Kerja dalam Mikrobiologi yang Membutuhkan Teknik

1) Desinfeksi Meja Kerja/Sterilisasi Meja Kerja

- Singkirkan semua barang yang tidak diperlukan dari meja dan ruang kerja
- b) Semprot meja kerja dengan alkohol 70 % beberapa kali hingga merata
- Semprotkan juga alkohol pada telapak tangan
- Letakkan alat dan bahan-bahan yang diperlukan pada meja kerja dan semprotkan kembali alkohol pada semua peralatan.
- Diamkan beberapa saat dan semprotkan kembali alkohol ke seluruh permukaan tangan ketika hendak mulai bekerja.
- Letakkan pembakar spiritus lalu biarkan.

2) Memindahkan biakan secara aseptis

- Siapkan alat dan bahan seperti spirirtus, jarum inokulum (jarum ose), rak tabung dan dua buah tabung tertutup yang berisi biakan bakteri/virus.
- Bakar ujung hingga pangkal jarum inokulum dengan pembakar spirirtus.
- Buka tutup kedua tabung dan bakar mulut kedua buah tabung tersebut dengan pembakar spirirtus agar kontaminan mati.
- Ambil satu ulasan pada tabung pertama dengan jarum inokulum kemudian masukkan jarum tadi pada tabung kedua dengan teknik spread zig-zag.
- Bakar kembali mulut tabung agar kontaminasi pada proses transfer mati.
- Tutup kembali tabung tersebut dan bakar ujung jarum inokulum untuk membunuh sisa bakteri yang ada.

3) Memindahkan biakan dari cawan

- Persiapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- Bakar mulut cawan bagian tepi dengan memutarnya di atas api, serta pijarkan jarum inokulum dan dinginkan.
- Buka mulut cawan yang berisi biakan koloni dan ambil koloni tunggalnya dengan menempelkan jarum inokulum loop.
- Tanamkan kembali koloni yang sudah diambil tadi pada media yang baru dengan teknik spread kontinyu.
- Panaskan kembali mulut cawan dan tutup rapat serta panaskan jarum inokulum yang telah digunakan.

4) Memindahkan cairan dengan pipet

- Siapkan alat dan bahan-bahan yang akan digunakan.

- Lepaskan bungkus pipet dan panaskan ujung pipet pada pembakar spiritus (Usahakan daerah ujung pipet berdekatan dengan api).
- Ambil dua buah tabung dan buka tutupnya untuk dipanaskan bagian ujung mulut tabung.
- Pipet cairan pada tabung pertama dengan menekan tombol S pada filler dengan volume tertentu. Kemudian pindahkan ke tabung lainnya dan keluarkan cairan tersebut dengan menekan E pada filler.
- Bakar kedua mulut tabung tadi dan tutup kembali dengan rapat.

5) Menuangkan Media

- Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan.
- Panaskan mulut erlenmeyer yang berisi media pertumbuhan mikroorganisme.
- Tuangkan media dalam erlenmeyer ke cawan petri yang berisi biakan murni.
- Ratakan dengan menggoyangkan cawan.

Tugas

Pernahkah anda menggunakan alat autoclave?

Amati dan diskusikan dengan teman kelompok tentang pengoperasian autoclave untuk sterilisasi peralatan atau media, bagaimana cara kerja autoclave ? Teknik sterilisasi media, kelebihan dan kekurangannya, melalui berbagai sumber, langsung pada peralatan di laboratorium, buku atau internet . Tanyakan kepada guru apabila masih ada yang belum jelas. Buat kesimpulan dari hasil diskusi dan presentasikan di depan kelas

Autoclave merupakan alat serupa tangki minyak yang dapat diisi dengan uap. Media yang akan disterilkan ditempatkan dalam autoclave selama 15–20 menit, hal ini tergantung kepada sedikit banyaknya barang yang akan disterilkan. Media yang akan disterilkan itu lebih baik ditempatkan dalam beberapa botol yang kecil daripada dikumpul dalam satu botol yang besar. Setelah pintu autoclave ditutup rapat, barulah kran pada pipa uap dibuka dan temperatur akan terus- menerus naik. Biasanya autoclave sudah diatur sedemikian rupa, sehingga pada suhu 121 °C akan ada tekanan sebesar 15 lbs (pounds) per inch persegi yang berarti 1 atmosfer per 1 cm² . Perhitungan waktu 15 atau 20 menit itu dimulai sejak termometer pada autoclave menunjuk 121 °C.

Setelah cukup waktu maka kran uap ditutup dan dengan demikian akan terlihat bahwa suhu mulai turun sedikit demi sedikit, demikian pula manometer.

Autoclave tidak boleh dibuka secara tiba-tiba. Jika dilakukan demikian, maka isi botol yang ada di dalam autoclave akan meluap. Sangat disarankan menunggu sampai manometer menunjukkan 0 (nol), barulah autoclave dibuka. Pendinginan dilakukan sedikit demi sedikit . Jika medium mengandung vitamin, gelatin atau jenis gula, maka setelah dilakukan sterilisasi dalam autoclave, medium tersebut harus segera didinginkan setelah dikeluarkan dari autoclave. Hal ini dilakukan untuk menghindarkan terurainya zat- zat tersebut. Medium yang sudah steril dapat disimpan dalam lemari es.



Gambar 15. Autoclave

Sumber gbr, Organikganesha.com/bahan-alat.mini-lab

Cara Penggunaan autoclave model lain:

- 1) Sebelum melakukan sterilisasi cek terlebih dahulu banyaknya air dalam autoclave. Jika air kurang dari batas yang ditentukan, maka dapat ditambah air sampai batas tersebut. Gunakan air hasil destilasi untuk menghindari terbentuknya kerak dan karat.
- 2) Masukkan peralatan dan bahan. Jika mensterilisasi botol bertutup ulir, maka tutup harus dikendorkan.
- 3) Tutup autoclave dengan rapat lalu kencangkan baut pengaman agar tidak ada uap yang keluar dari bibir autoclave. Klep pengaman jangan dikencangkan terlebih dahulu.

- 4) Nyalakan autoclave, diatur *timer* dengan waktu minimal 15 menit pada suhu 121°C.
- 5) Tunggu sampai air mendidih sehingga uapnya memenuhi kompartemen autoclave dan terdesak keluar dari klep pengaman. Kemudian klep pengaman ditutup (dikencangkan) dan tunggu sampai selesai. Penghitungan waktu 15 menit dimulai sejak tekanan mencapai 2 atm.
- 6) Jika alarm tanda selesai berbunyi, maka tunggu tekanan dalam kompartemen turun hingga sama dengan tekanan udara di lingkungan (jarum pada *pressure gauge* menunjuk ke angka nol). Kemudian klep-klep pengaman dibuka dan keluarkan isi autoclave dengan hati-hati.

Suhu dan tekanan tinggi yang diberikan kepada alat dan media yang disterilisasi memberikan kekuatan yang lebih besar untuk membunuh sel dibanding dengan udara panas. Biasanya untuk mensterilkan media digunakan suhu 121°C dan tekanan 15 lb/in² (SI = 103,4 Kpa) selama 15 menit. alasan digunakan suhu 121°C atau 249,8 °F adalah karena air mendidih pada suhu tersebut jika digunakan tekanan 15 psi. Untuk tekanan 0 psi pada ketinggian di permukaan laut (*sea level*) air mendidih pada suhu 100°C, sedangkan untuk autoclave yang diletakkan di ketinggian sama, menggunakan tekanan 15 psi maka air akan mendidih pada suhu 121°C. Kejadian ini hanya berlaku untuk sea level, jika di laboratorium terletak pada ketinggian tertentu, maka pengaturan tekanan perlu disetting ulang. Misalnya autoclave diletakkan pada ketinggian 2700 kaki dpl, maka tekanan dinaikkan menjadi 20 psi supaya tercapai suhu 121°C untuk mendidihkan air. Semua bentuk kehidupan akan mati jika dididihkan pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

Pada saat sumber panas dinyalakan, air dalam autoclave lama kelamaan akan mendidih dan uap air yang terbentuk mendesak udara yang mengisi autoclave. Setelah semua udara dalam autoclave diganti dengan uap air, katup uap/udara ditutup sehingga tekanan udara dalam autoclave naik.

Pada saat tercapai tekanan dan suhu yang sesuai, maka proses sterilisasi dimulai dan *timer* mulai menghitung waktu mundur. Setelah proses sterilisasi selesai, sumber panas dimatikan dan tekanan dibiarkan turun perlahan hingga mencapai 0 psi. Autoclave tidak boleh dibuka sebelum tekanan mencapai 0 psi.

Untuk mendeteksi bahwa autoclave bekerja dengan sempurna dapat digunakan mikroba pengguji yang bersifat termofilik dan memiliki endospora yaitu *Bacillus stearothermophilus*, lazimnya mikroba ini tersedia secara komersial dalam bentuk *spore strip*. Kertas *spore strip* ini dimasukkan dalam autoclave dan disterilkan. Setelah proses sterilisasi lalu ditumbuhkan pada media. Jika media tetap bening maka menunjukkan autoclave telah bekerja dengan baik.

Beberapa media atau bahan yang tidak disterilkan dengan autoclave adalah

- a) Bahan tidak tahan panas seperti serum, vitamin, antibiotik dan enzim
- b) Pelarut organik, seperti fenol
- c) Buffer dengan kandungan detergen, seperti SDS

Untuk mencegah terjadinya presipitasi, pencoklatan (media menjadi coklat) dan hancurnya substrat dapat dilakukan pencegahan sebagai berikut :

- a) Glukosa disterilkan terpisah dengan asam amino (*peptone*) atau senyawa fosfat
- b) Senyawa fosfat disterilkan terpisah dengan asam amino (*peptone*) atau senyawa garam mineral lain.
- c) Senyawa garam mineral disterilkan terpisah dengan agar
- d) Media yang memiliki pH > 7,5 jangan disterilkan dengan autoclave
- e) Jangan mensterilisasi larutan agar dengan pH < 6,0

Erlenmeyer hanya boleh diisi media maksimum $\frac{3}{4}$ dari total volumenya, sisa ruang dibiarkan kosong. Jika mensterilkan media 1 liter yang

ditampung pada erlenmeyer 2 liter maka sterilisasi diatur dengan waktu 30 menit.

d. Sterilisasi Alat- Alat Gelas

Gelas, botol, pipa, pipet, tabung reaksi yang sudah bersih tidak disterilkan di dalam autoclave, karena barang-barang tersebut akan tetap basah sehabis disterilisasi. Alat-alat dari gelas dimasukkan dalam oven kering selama 2-3 jam pada temperatur 160°C -180°C, hal ini tergantung banyak sedikitnya muatan yang dimasukkan ke dalam oven. Kapas masih dapat bertahan dalam oven kering selama waktu dan pada temperatur tersebut. Alat - alat yang belum bersih dan belum kering tidak boleh dimasukkan dalam oven kering. Pensterilan alat- alat dapat pula dilakukan dengan gas etilen oksida. Hal ini harus dikerjakan dengan hati-hati, karena ada bahaya letusan .



Gambar 16. Oven sterilisasi alat-alat gelas
Sumber gbr, [Organikganesha.com/bahan- alat.mini-lab](http://Organikganesha.com/bahan-alat.mini-lab)



Gambar 17. Proses sterilisasi alat-alat gelas
 Sumber gbr, [Organikganesha.com/bahan- alat.mini-lab](http://Organikganesha.com/bahan-alat.mini-lab)



Gambar 18. Sterilisasi alat- alat gelas
 Sumber gbr, [Organikganesha.com/bahan- alat.mini-lab](http://Organikganesha.com/bahan-alat.mini-lab)

1) **Sterilisasi dengan penyaringan (filtrasi)**

Sterilisasi dengan penyaringan dilakukan untuk mensterilisasi cairan yang mudah rusak jika terkena panas atau mudah menguap (*volatile*). Cairan yang disterilisasi dilewatkan ke suatu saringan (ditekan dengan gaya sentrifugasi atau pompa vakum) yang berpori dengan diameter yang cukup kecil untuk menyaring bakteri. Virus tidak akan tersaring dengan metode ini.

2) Tyndalisasi

Konsep kerja metode ini mirip dengan mengukus. Bahan yang mengandung air dan tidak tahan tekanan atau suhu tinggi lebih tepat disterilkan dengan metode ini. Misalnya susu yang disterilkan dengan suhu tinggi akan mengalami koagulasi dan bahan yang berpati disterilkan pada suhu bertekanan pada kondisi pH asam akan terhidrolisis.

Cara kerja :

- Bahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer atau botol dan ditutup rapat dengan sumbat atau aluminium foil.
- Erlenmeyer/botol lalu dimasukkan kedalam alat sterilisasi (alat standar menggunakan *Arnold Steam Sterilizer* atau dandang).
- Nyalakan sumber panas dan tunggu hingga termometer menunjukkan suhu 100°C kemudian hitung waktu mundur hingga 30 menit (uap panas yang terbentuk akan mematikan mikroba).
- Setelah selesai alat sterilisasi dimatikan dan bahan yang steril dikeluarkan.
- Setelah 24 jam, bahan tersebut disterilkan lagi dengan cara yang sama, sedang waktu ini dimaksudkan untuk memberi kesempatan spora atau sel vegetatif yang belum mati untuk tumbuh sehingga mudah dibunuh.

3) Sterilisasi dengan udara panas (*dry heat sterilization*)

Sterilisasi dengan metode ini biasanya digunakan untuk peralatan gelas seperti cawan petri, pipet ukur dan labu erlenmyer. Alat gelas yang disterilisasi dengan udara panas tidak akan timbul kondensasi sehingga tidak ada tetes air (embun) dalam alat gelas. Metode yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- Bungkus alat-alat gelas dengan kertas payung atau aluminium foil
- Atur pengatur suhu oven menjadi 180°C dan alat disterilkan selama 2-3 jam.

a) Prinsip kerja *Biological Safety Cabinet (BSC)*

Biological Safety Cabinet merupakan kabinet kerja yang disterilkan untuk kerja mikrobiologi. BSC memiliki suatu pengatur aliran udara yang menciptakan aliran udara kotor (dimungkinkan ada kontaminan) untuk disaring dan diresirkulasi melalui filter.

BSC juga disebut *biosafety hood*, dan juga dikenal dengan *Laminar flowhood* atau *Class II vertical flow cabinet* yang menyediakan alat filtrasi dan aliran udara yang bersirkulasi didalam ruang kerja. Aliran udara diatur untuk menghambat udara luar masuk dan udara di dalam keluar, untuk mencegah kontaminasi dari luar dan pencemaran bakteri dari ruang BSC. Udara yang keluar disaring melewati penyaring sehingga sel-sel yang berbahaya tidak lepas keluar ke ruangan lain.

Berbagai kelas *Biological Safety Cabinet*.

BSC yang dimiliki Lab mikrobiologi merupakan BSC kelas II yang memiliki konfigurasi udara. Udara yang berasal dari luar kabinet akan langsung terserap masuk ke saluran bawah yang bergabung dengan udara dari meja kerja yang dimungkinkan mengandung bakteri yang digunakan untuk kerja. Udara dari meja kerja disedot dari depan meja kerja. Kemudian udara kotor ini disaring oleh penyaring HEPA dan disirkulasikan keluar kabinet atau kembali lagi ke meja kerja sebagai udara bersih.

Jenis peralatan yang dapat disterilkan

- Peralatan yang terbuat dari logam, misalnya pinset, gunting, speculum dan lain-lain.
- Peralatan yang terbuat dari kaca, misalnya sempit (sput), tabung kimia dan lain-lain.
- Peralatan yang terbuat dari karet, misalnya, kateter, sarung tangan, pipa penduga lambung, drain dan lain-lain.
- Peralatan yang terbuat dari ebonit, misalnya kanule rectum, kanule trachea dan lain-lain.
- Peralatan yang terbuat dari email, misalnya bengkok (nierbekken), baskom dan lain-lain.
- Peralatan yang terbuat dari porselin, misalnya mangkok, cangkir, piring dan lain-lain.
- Peralatan yang terbuat dari plastik, misalnya slang infus dan lain-lain.
- Peralatan yang terbuat dari tenunan, misalnya kain kasa, tampon, doek operasi, baju, sprei, sarung bantal dan lain-lain.

Pelaksanaan:

- Sterilisasi dengan cara rebus: mensterikan peralatan dengan cara merebus di dalam air sampai mendidih (100°C) dan ditunggu antara 15 sampai 20 menit. Misalnya peralatan dari logam, kaca dan karet.
- Sterilisasi dengan cara stoom: mensterikan peralatan dengan uap panas didalam autoclave dengan waktu, suhu dan tekanan tertentu. Misalnya alat tenun, obat-obatan dan lain-lain.
- Sterilisasi dengan cara panas kering: mensterikan peralatan dengan oven dengan uap panas tinggi. Misalnya peralatan logam yang tajam, peralatan dari kaca dan obat tertentu.

- Sterilisasi dengan cara menggunakan bahan kimia: Mensterilkan peralatan dengan menggunakan bahan kimia seperti alkohol, sublimat, uap formalin, khususnya untuk peralatan yang cepat rusak bila terkena panas, misalnya sarung tangan, kateter dan lain-lain.

Yang harus menjadi perhatian dalam melakukan sterilisasi adalah :

- Sterilisator harus dalam keadaan siap pakai.
- Peralatan harus bersih dan masih berfungsi.
- Peralatan yang dibungkus harus diberi label dengan jelas mencantumkan : nama, jenis peralatan, tanggal dan jam disterilkan.
- Menyusun peralatan di dalam sterilisator harus sedemikian rupa, sehingga seluruh bagian dapat disterilkan.
- Waktu yang diperlukan untuk mensterilkan setiap jenis peralatan harus tepat (dihitung sejak peralatan disterilkan).
- Dilarang memasukkan atau menambahkan peralatan lain ke dalam sterilisator, sebelum waktu untuk mensterilkan selesai.
- Memindahkan peralatan yang sudah steril ke tempatnya harus dengan korentang steril.
- Untuk mendinginkan peralatan steril dilarang membuka bungkus maupun tutupnya.
- Bila peralatan yang baru disterilkan terbuka, peralatan tersebut harus disterilkan kembali.

Lembar Kerja Praktik

1. Judul : Melakukan Sterilisasi Ruangan
2. Tujuan : Melakukan sterilisasi ruangan dengan bahan kimia, agar tempat inokulasi tidak terkontaminasi dengan lingkungan
3. Alat dan Bahan yang diperlukan :

a. Alat :

- Speyer
- Masker
- Alat kebersihan

b. Bahan :

Alkohol 70 % / Formalin 20%

Cara Kerja :

- Gunakan peralatan K3/Masker dalam kegiatan ini
- Bersihkan ruangan dengan alat kebersihan, lantai, meja, atap, dinding
- Semprot seluruh bagian ruangan dengan menggunakan alkohol atau formalin
- Tinggalkan ruangan dan tutup ruangan, agar tidak ada orang atau organisme masuk ruangan
- Tunggu sampai ruangan kering dan siap digunakan
- Buatlah laporan hasil kerja anda secara kelompok dan buatlah alasan mengapa harus menggunakan alkohol atau formalin?
- Presentasikan hasil diskusi kelompok anda di depan kelas!

Lembar Kerja Praktik.

1. Judul : Melakukan sterilisasi peralatan secara kering
2. Tujuan : Setelah melakukan kegiatan ini peserta diharapkan mampu melakukan sterilisasi peralatan dengan benar
3. Alat dan bahan :
 - a. Alat:
 - Oven
 - Cawan petri
 - Pipet ukur
 - b. Bahan:
 - Kapas
 - Karet/benang kasur
 - Kertas perkamen

Langkah Kerja:

- a. Cucilah semua alat yang akan disterilisasi hingga bersih dan keringkan.
- b. Nyalakan oven dan atur hingga suhu sesuai dengan kebutuhan waktu sterilisasi seperti terlihat pada tabel berikut:

Suhu (°C)	Waktu (Jam)
170	1,0
160	2,0
150	2,5
140	3,0

- c. Bungkuslah masing-masing alat atau beberapa alat yang akan disterilisasi dengan menggunakan kertas perkamen.
- d. Ikatlah peralatan tersebut agar tidak mudah lepas.
- e. Masukkan peralatan yang akan disterilisasi ke dalam oven sesuai suhu dan waktu yang telah ditentukan.

- f. Dinginkan dan simpan peralatan yang telah disterilisasi pada tempat yang bersih dan terhindar dari kontaminan.
- g. Buatlah laporan dari hasil praktik, mengapa peralatan yang disteril harus dibungkus kertas dahulu? Bagaimana kalau tidak dibungkus?
- h. Presentasikan hasil praktik anda di depan kelompok lain

3. Refleksi

Tuliskan jawaban pada lembar refleksi

- a. Bagaimana kesan anda selama mengikuti pembelajaran ini?
- b. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pelajaran ini?
- c. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pembelajaran ini?

Tuliskan secara ringkas apa yang anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!

4. Tugas

Amatilah kegiatan sehari-hari di rumah anda, Apakah di rumah anda pernah melakukan proses sterilisasi ! kegiatan apa dan coba ceritakan ! dan tuangkan dalam kertas tugas dan kumpulkan kepada guru

5. Tes Formatif

Jawablah pertanyaan berikut ini

- a. Jelaskan apa yang dimaksud sterilisasi!
- b. Jelaskan apa tujuan sterilisasi dan manfaatnya!
- c. Jelaskan macam-macam teknik sterilisasi!
- d. Buatlah langkah-langkah sterilisasi dengan menggunakan alat autoclave secara runut !

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

Indikator	Penilaian																																																
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen																																														
Sikap 2.1 <ul style="list-style-type: none">Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasiMenampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasiMenampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	<div>1. Rubrik Penilaian Sikap</div> <table><tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr><tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr><tr><td>1</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> <div>Kriteria Terlampir</div>	No	Aspek	Penilaian				4	3	2	1	1	Bertanya					2	Mengamati					3	Menalar					4	Mengolah data					5	Menyimpulkan					6	Menyajikan				
No	Aspek	Penilaian																																															
		4	3	2	1																																												
1	Bertanya																																																
2	Mengamati																																																
3	Menalar																																																
4	Mengolah data																																																
5	Menyimpulkan																																																
6	Menyajikan																																																
2.2 <ul style="list-style-type: none">Mengkompromika n hasil observasi kelompokMenampilkan hasil kerja kelompokMelaporkan hasil diskusi kelompok	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	<div>2. Rubrik Penilaian Diskusi</div> <table><tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr><tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr><tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>	No	Aspek	Penilaian				4	3	2	1	1	Terlibat penuh					2	Bertanya					3	Menjawab					4	Memberikan gagasan orisinil					5	Kerja sama					6	Tertib				
No	Aspek	Penilaian																																															
		4	3	2	1																																												
1	Terlibat penuh																																																
2	Bertanya																																																
3	Menjawab																																																
4	Memberikan gagasan orisinil																																																
5	Kerja sama																																																
6	Tertib																																																

Indikator	Penilaian																														
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen																												
2.3 Menyumbang pendapat tentang prinsip dan tujuan sterilisasi	Non Tes	Lembar observasi penilaian sikap	<div>3. Rubrik Penilaian Presentasi</div> <table><tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr><tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr><tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>2</td><td>Pengetahuan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>3</td><td>Penampilan :</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>	No	Aspek	Penilaian				4	3	2	1	1	Kejelasan Presentasi					2	Pengetahuan :					3	Penampilan :				
No	Aspek	Penilaian																													
		4	3	2	1																										
1	Kejelasan Presentasi																														
2	Pengetahuan :																														
3	Penampilan :																														
Pengetahuan	Tes	Uraian																													
<div>Keterampilan</div> <div>1. Merangkai alat / alat peraga/model sesuai susunan yang benar / alat sterilisasi alat dan bahan</div> <div>2. Menggunakan alat/ alat peraga/model untuk sterilisasi alat dan bahan</div>	Tes Unjuk Kerja		<div>4. Rubrik Penilaian Penggunaan alat dan bahan</div> <table><tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr><tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr><tr><td>Cara merangkai alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>	Aspek	Penilaian				4	3	2	1	Cara merangkai alat					Cara menuliskan data hasil pengamatan					Kebersihan dan penataan alat								
Aspek	Penilaian																														
	4	3	2	1																											
Cara merangkai alat																															
Cara menuliskan data hasil pengamatan																															
Kebersihan dan penataan alat																															

Lampiran Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. Rubrik Sikap Ilmiah

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Bertanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek Bertanya :

- Skor 4 Jika pertanyaan yang diajukan **sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas
- Skor 3 Jika pertanyaan yang diajukan **cukup** sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas
- Skor 2 Jika pertanyaan yang diajukan **kurang sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas
- Skor 1 Tidak Bertanya

2. Aspek Mengamati :

- Skor 4 Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat
- Skor 3 Terlibat dalam pengamatan
- Skor 2 Berusaha terlibat dalam pengamatan
- Skor 1 Diam tidak aktif

3. Aspek Menalar

- Skor 4 Jika nalarinya benar
- Skor 3 Jika nalarinya hanya sebagian yang benar
- Skor 2 Mencoba bernalar walau masih salah
- Skor 1 Diam tidak bernalar

4. Aspek Mengolah data :

- Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua
- Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar
- Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar
- Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

5. Aspek Menyimpulkan :

- Skor 4 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar
Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

6. Aspek Menyajikan

- Skor 4 Jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawab semua pertanyaan dengan benar
Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan
Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab
Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinil				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1. Aspek Terlibat Penuh :

- | | |
|--------|--|
| Skor 4 | Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat |
| Skor 3 | Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat |
| Skor 2 | Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat |
| Skor 1 | Diam sama sekali tidak terlibat |

2. Aspek Bertanya :

- | | |
|--------|--|
| Skor 4 | Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas |
| Skor 3 | Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas |
| Skor 2 | Kadang-kadang memberikan pertanyaan |
| Skor 1 | Diam sama sekali tidak bertanya |

3. Aspek Menjawab :

- | | |
|--------|---|
| Skor 4 | Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas |
| Skor 3 | Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas |
| Skor 2 | Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya |
| Skor 1 | Diam tidak pernah menjawab pertanyaan |

4. Aspek Memberikan Gagasan Orisinil :

- | | |
|--------|--|
| Skor 4 | Memberikan gagasan/ide yang orisinil berdasarkan pemikiran sendiri |
| Skor 3 | Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan |
| Skor 2 | Kadang-kadang memberikan gagasan/ide |
| Skor 1 | Diam tidak pernah memberikan gagasan |

5. Aspek Kerjasama :

- | | |
|--------|---|
| Skor 4 | Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya |
| Skor 3 | Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya |
| Skor 2 | Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif |
| Skor 1 | Diam tidak aktif |

6. Aspek Tertib :

- | | |
|--------|--|
| Skor 4 | Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya |
| Skor 3 | Dalam diskusi kelompok tampak aktif,tapi kurang santun |
| Skor 2 | Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain |
| Skor 1 | Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari |

c. Rubrik Penilaian Penggunaan Alat / bahan

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara merangkai alat				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kriteria :

1. Cara merangkai alat :

Skor 4 : jika seluruh peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 3 : jika sebagian besar peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 2 : jika sebagian kecil peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 1 : jika peralatan tidak dirangkai sesuai dengan prosedur

2. Cara menuliskan data hasil pengamatan :

Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 1: jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

3. Kebersihan dan penataan alat :

Skor 4 : jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

d. Rubrik Presentasi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Kejelasan Presentasi				
2	Pengetahuan				
3	Penampilan				

e. Kejelasan Presentasi

Kriteria

Skor 4 : Sistematika penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas

Skor 3 : Sistematika penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas

Skor 2 : Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

Skor 1 : Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

f. Pengetahuan

Skor 4 : Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 3 : Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 2 : Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik yang dibahas

Skor 1 : Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

g. Penampilan

Skor 4 : Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 3 : Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu

Skor 2 : Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 1 : Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Laporan observasi

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporam hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table,	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table,	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table,	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
		grafik dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengkap	gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan tetapi tidak relevan	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapi, mudah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan disertai dengan data kelompok

KEGIATAN PEMBELAJARAN 4 (KD 4- 18 JP)

Menerapkan Konsep dan Prinsip Teknik Isolasi dan Inokulasi serta (KD 3.4)

Melaksanakan Isolasi dan Inokulasi (KD 4.4)

A. Deskripsi

Pada kegiatan pembelajaran ini akan dijelaskan tentang inokulasi dan isolasi mikroba secara rinci yaitu meliputi: peralatan untuk isolasi dan inokulasi, macam-macam teknik preparasi pengambilan sampel mikroba (*swab, rinse, maserasi*), ciri-ciri bakteri gram positif dan gram negatif, teknik pengecatan bakteri, macam-macam teknik penanaman (*spread plate, pourplate, goresan*), cara mendapatkan kultur murni (pengenceran bertingkat, *goresan*), menguji kultur murni.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah menyelesaikan kegiatan pembelajaran ini siswa dapat :

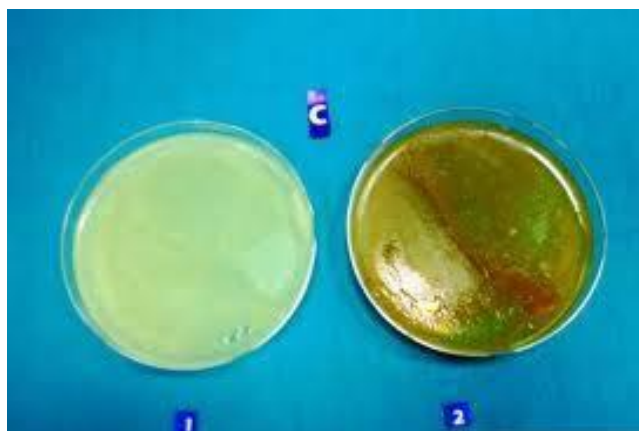
- a. Mengidentifikasi peralatan untuk isolasi atau inokulasi
- b. Memahami macam-macam teknik preparasi pengambilan sampel mikroba
- c. Mengidentifikasi ciri-ciri bakteri gram positif dan gram negatif
- d. Memahami teknik pengecatan bakteri
- e. Memahami macam-macam teknik penanaman
- f. Memahami cara mendapatkan kultur murni
- g. Melakukan pengujian kultur murni

2. Uraian Materi

Penanaman bakteri atau biasa disebut juga inokulasi adalah pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru dengan tingkat ketelitian dan kesterilan yang sangat tinggi. Untuk melakukan penanaman bakteri (inokulasi) terlebih dahulu diusakan agar semua alat yang ada dalam hubungannya dengan medium agar tetap steril, hal ini untuk menghindari terjadinya kontaminasi (Dwijoseputro, 1998). Ada beberapa

tahap yang harus dilakukan sebelum melakukan teknik penanaman bakteri (inokulasi) yaitu :

- Menyiapkan ruangan ruang tempat penanaman bakteri harus bersih dan keadannya harus steril agar tidak terjadi kesalahan dalam pengamatan atau percobaan di labotarium pembuatan serum vaksin dan sebagainya. Inokulasi dapat dilakukan dalam sebuah kotak kaca (encast) dimana udara dilewatkan dalam saringan melalui suatu jalan agar terkena sinar ultraviolet (Pelczar, 1986).
- Pemindahan dengan pipet. Cara ini dilakukan dalam penyelidikan air minum atau pada penyelidikan untuk diambil 1 ml contoh yang akan diencerkan oleh air sebanyak 99 ml murni (Pelczar, 1986).
- Pemindahan dengan kawat inokulasi Ujung kawat inokulasi sebaliknya dari platina atau nikel, ujungnya boleh lurus juga boleh berupa kolongan yang diameternya 1-3 mm. Dalam melakukuan penanaman bakteri kawat ini terlebih dahulu dipijarkan sedangkan sisanya berupa tungkai cukup dilewatkan nyala api saja setelah dingin kembali kawat itu disentuhkan lagi dalam nyala (Pelczar, 1986). Berikut gambar alat yang diperlukan dalam isolasi dan inokulasi:



Gambar 19. Media dalam cawan petri



Gambar 20. Jarum ose



Gambar 21. Encast



Gambar 22. Inkubator

Sumber gbr.www.google.com/imgressa

Ada beberapa metode untuk menginokulasi bakteri sesuai dengan jenis medium tujuannya. Pada medium agar tegak, dilakukan metode tusuk menggunakan jarum ose. Pada medium agar miring, dilakukan metode gores dengan menggunakan *loop* ose. Pada medium dalam cawan petri, dapat digunakan metode *streak plate* (metode gores), *pour plate* (metode tuang) atau *spread plate* (metode sebar). Setelah inokulasi, dilakukan proses inkubasi, yaitu menyimpan medium pada alat atau kontainer pada temperatur tertentu dan periode tertentu, sehingga tercipta lingkungan yang menyediakan kondisi cocok untuk pertumbuhan bakteri.



A

B

Gambar 23. A. Teknik gores dengan agar miring; b. Teknik tusuk
Sumber gbr.www.google.com/imgressa

a. Beberapa Metode Inokulasi pada Cawan Petri

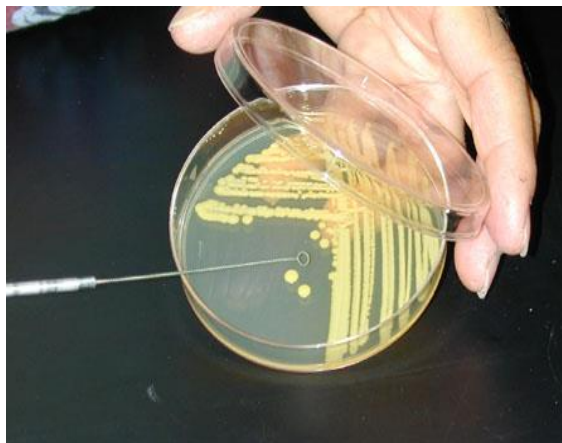
Terdapat beberapa cara atau metode untuk memperoleh biakan murni dari suatu biakan campuran. Termasuk dua diantaranya yang paling sering digunakan adalah metode cawan gores dan metode cawan tuang. Berdasarkan pada prinsip pengenceran dengan maksud untuk memperoleh spesies individu, melalui anggapan bahwa setiap koloni dapat terpisah dari satu jenis sel yang dapat diamati (Afrianto, 2004). Biakan murni diperlukan dalam berbagai metode mikrobiologis, antara

lain digunakan dalam mengidentifikasi mikroba. Untuk mengamati ciri-ciri kultural morfologi, fisiologi dan serologi dibutuhkan mikroba yang berasal dari satu spesies (Dwidjoseputro, 2005).

Menurut Hadioetomo (1993), terdapat dua metode yang dilakukan untuk memperoleh biakan murni yaitu :

1) Metode cawan gores

Metode ini mempunyai dua keuntungan, yaitu menghemat bahan dan waktu. Metode cawan gores yang dilaksanakan dengan baik kebanyakan akan menyebabkan terisolasinya mikroorganisme yang diinginkan.



Gambar 24. Metode Cawan Gores
Sumber gbr.www.google.com/imgressa

Metode gores atau *streak plate* menggunakan *loop* ose dan menggoreskannya ke permukaan medium agar dengan pola tertentu dengan harapan pada ujung goresan, hanya sel-sel bakteri tunggal yang terlepas dari ose dan menempel ke medium. Sel-sel bakteri tunggal ini akan membentuk koloni tunggal yang kemudian dapat dipindahkan ke medium selanjutnya agar didapatkan biakan murni. Prinsip metode ini yaitu mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni yang lain, sehingga mempermudah proses isolasi.

Cara ini dilakukan dengan membagi 3-4 cawan petri. Ose steril yang telah disiapkan diletakkan pada sumber isolat , kemudian menggoreskan ose tersebut pada cawan petri berisi media steril. Goresan dapat dilakukan 3-4 kali membentuk garis horisontal disatu cawan. Ose disterilkan lagi dengan api bunsen. Setelah kering, ose tersebut digunakan untuk menggores goresan sebelumnya pada sisi cawan ke dua. Langkah ini dilanjutkan hingga keempat sisi cawan tergores.

Teknik ini lebih menguntungkan jika ditinjau dari sudut ekonomi dan waktu, tetapi memerlukan keterampilan-keterampilan yang diperoleh dengan latihan. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah. Inokulum digoreskan di permukaan media agar nutrien dalam cawan petri dengan jarum pindah (lup inokulasi). Di antara garis-garis goresan akan terdapat sel-sel yang cukup terpisah sehingga dapat tumbuh menjadi koloni (Winarni, 1997).

Dua macam kesalahan yang umum sekali dilakukan oleh para siswa yang baru mulai mempelajari mikrobiologi ialah tidak memanfaatkan permukaan medium dengan sebaik-baiknya untuk digores sehingga pengenceran mikroorganisme menjadi kurang lanjut dan cenderung untuk menggunakan inokulum terlalu banyak sehingga menyulitkan pemisahan sel-sel yang digoreskan (Ratna, 1990).

Cara penggarisan dilakukan pada medium pembiakan padat bentuk lempeng. Bila dilakukan dengan baik teknik inilah yang paling praktis. Dalam pengerjaannya terkadang berbeda pada masing-masing laboratorium tapi tujuannya sama yaitu untuk membuat goresan sebanyak mungkin pada lempeng medium pembiakan (Kus Irianto, 2006).

Ada beberapa teknik dalam metode goresan, yakni:

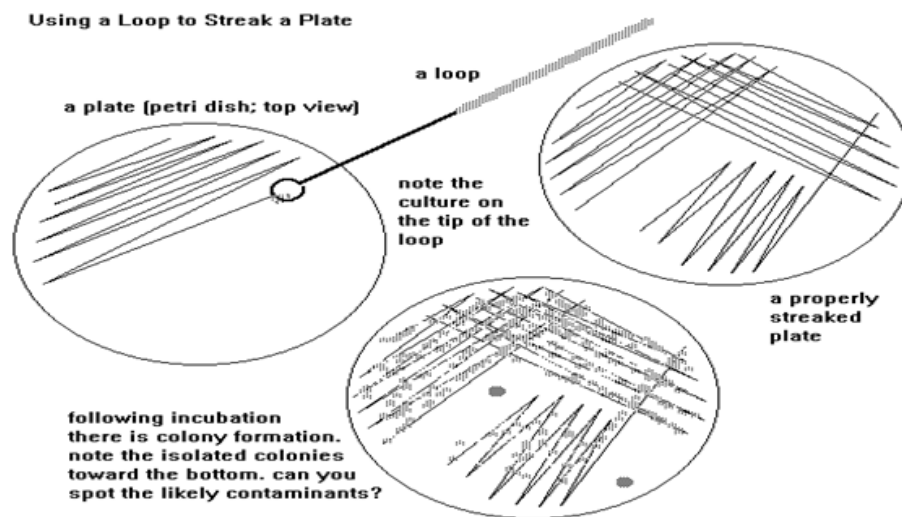
a. Teknik Gores T



Gambar 25. Teknik Gores T

Sumber Gambar, www.google.com/imgrassa

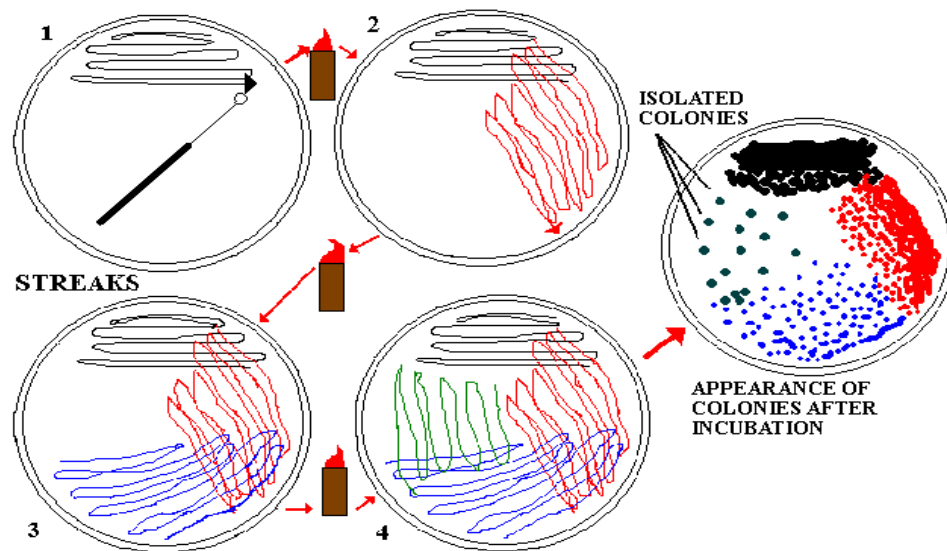
b. Teknik Gores Sinambung (gambar)



Gambar 26. Teknik Gores Sinambung

Sumber Gambar, www.google.com/imgrassa

b. Teknik Gores Kuadran



Gambar 27. Gores Kuadran
Sumber gbr.www.google.com/imgressa

c. Metode cawan tuang

Cara lain untuk memperoleh koloni murni dari populasi campuran mikroorganisme adalah dengan mengencerkan 125pecimen dalam medium agar yang telah dicairkan dan didinginkan ($\pm 50^{\circ}\text{C}$) yang kemudian dicawankan. Karena konsentrasi sel-sel mikroba dalam 125pecimen pada umumnya tidak diketahui sebelumnya, maka pengenceran perlu dilakukan beberapa tahap sehingga sekurang-kurangnya satu di antara cawan tersebut mengandung koloni terpisah di atas permukaan ataupun di dalam agar. Metode ini memboroskan bahan dan waktu, namun tidak memerlukan keterampilan yang tinggi.

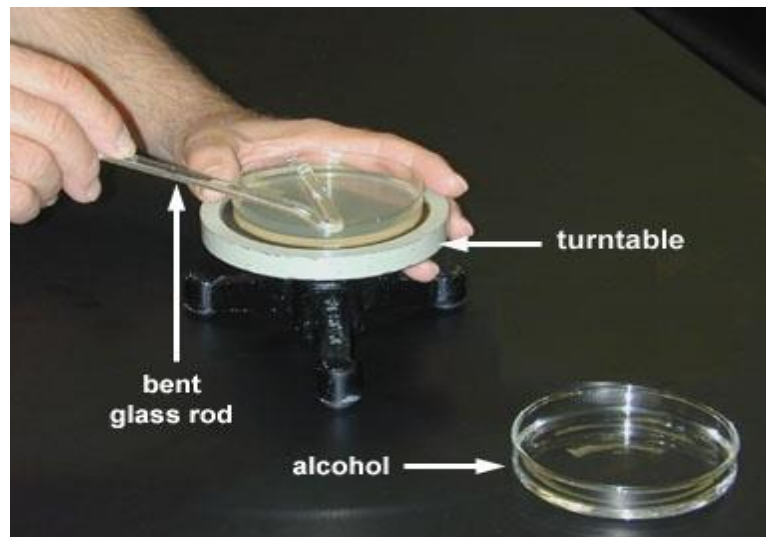
Metode tuang atau *pour plate* dilakukan dengan 2 cara, yaitu dengan mencampur suspensi bakteri dengan medium agar pada suhu 50°C kemudian menuangkannya pada cawan petri atau dengan menyemprotkan suspensi pada dasar cawan petri, kemudian menuang

medium agar dan diaduk. Setelah agar mengeras, bakteri akan berada pada tempatnya masing-masing dan diharapkan bakteri tidak mengelompok sehingga terbentuk koloni tunggal.



Gambar 28. Metode Cawan Tuang
Sumber gbr.www.google.com/imgressa

Selain kedua metode tersebut masih ada satu metode inokulasi dalam cawan petri yaitu metode sebar atau *spread plate*. Metode sebar atau *spread plate* dilakukan dengan menyemprotkan suspensi ke atas medium agar kemudian menyebarkannya secara merata dengan *trigalski*. Dengan ini diharapkan bakteri terpisah secara individual, kemudian dapat tumbuh menjadi koloni tunggal. Teknik *spread plate* (cawan sebar) adalah suatu teknik di dalam menumbuhkan mikroorganisme di dalam media agar dengan cara menuangkan stok kultur bakteri atau menghapuskannya di atas media agar yang telah memadat, sedangkan *pour plate* kultur dicampurkan ketika media masih cair (belum memadat). Kelebihan teknik ini adalah mikroorganisme yang tumbuh dapat tersebar merata pada bagian permukaan agar. Salah satu contoh metode cawan sebar adalah metode *swab* atau hapus.



Gambar 29. Metode Swab
Sumber gbr. www.google.com/imgressa

d. Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri adalah proses mengambil bakteri dari medium atau lingkungan asalnya dan menumbuhkannya di medium buatan sehingga diperoleh biakan yang murni. Bakteri dipindahkan dari satu tempat ke tempat lainnya harus menggunakan prosedur aseptik. Aseptik berarti bebas dari sepsis, yaitu kondisi terkontaminasi karena mikroorganisme lain. Teknik aseptik ini sangat penting bila bekerja dengan bakteri. Beberapa alat yang digunakan untuk menjalankan prosedur ini adalah bunsen dan *laminar air flow*. Bila tidak dijalankan dengan tepat, ada kemungkinan kontaminasi oleh mikroorganisme lain sehingga akan mengganggu hasil yang diharapkan. Teknik aseptik juga melindungi laboran dari kontaminasi bakteri (Singleton dan Sainsbury, 2006).

Prinsip dari isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkannya dalam media padat, sel-sel mikroba akan membentuk koloni yang tetap pada tempatnya (Nur; Asnani, 2007).

Bakteri di alam umumnya tumbuh dalam populasi yang terdiri dari berbagai spesies. Oleh karena itu, untuk mendapatkan biakan murni, sumber bakteri harus diperlakukan dengan pengenceran agar didapat hanya 100-200 bakteri yang ditransfer ke medium, sehingga dapat tumbuh menjadi koloni yang berasal dari bakteri tunggal.

Isolasi bakteri merupakan suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungan sehingga diperoleh kultur murni atau biakan murni. Ada beberapa cara yang dapat dilakukan yaitu dengan cara goresan (*streak plate*), cara tuang (*pour plate*), cara sebar (*spread plate*) dan mikromanipulator (Buckle, 1998).

Persyaratan utama bagi isolasi dan *kultivasi fage* adalah harus adanya kondisi optimum untuk pertumbuhan organisme inangnya. Sumber *bakteriofage* yang paling baik dan paling utama adalah habitat inang. Sebagai contoh *fage koli* yang dijumpai di dalam pencernaan dapat diisolasi dari limbah atau pupuk kandang. Hal ini dilakukan dengan sentrifugasi atau filtrasi bahan sumbernya dan penambahan kloroform untuk membunuh sel-sel bakterinya (Adams, 2000).

Metode pemaparan pada udara terbuka adalah metode untuk mengisolasi bakteri udara. Metode ini sangat simpel, yaitu dengan memaparkan medium pada udara terbuka, dengan harapan ada bakteri yang menempel dan kemudian akan tumbuh menjadi koloni.

Tugas :

Carilah informasi tentang jenis- jenis, proses inokulasi dan isolasi mikroba melalui pengamatan gambar, bagan, bahan asli atau dari berbagai sumber lainnya misalnya internet atau buku yang relevan. Tanyakan kepada guru apabila ada hal yang belum jelas, kemudian buatlah ringkasan dan presentasikan di depan teman/kelompok lain

e. Pengertian dan Tujuan Pengenceran

Pengenceran adalah melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air sehingga lebih mudah penanganannya. Tujuan pengenceran yaitu untuk mengurangi kepadatan bakteri yang ditanam (Fais, 2009).

Pengenceran merupakan proses yang dilakukan untuk menurunkan atau memperkecil konsentrasi larutan dengan menambah zat pelarut ke dalam larutan sehingga volume larutan menjadi berubah (Nurohaianah et al, 2007).

Teknik Dilusi (Pengenceran)

Tujuan dari teknik ini adalah melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air sehingga lebih mudah penanganannya. Sampel yang telah diambil kemudian disuspensikan dalam aquades steril. Teknik dilusi sangat penting dalam analisa mikrobiologi karena hampir semua metode penelitian dan perhitungan jumlah sel mikroba menggunakan teknik ini, seperti TPC (*Total Plate Count*).

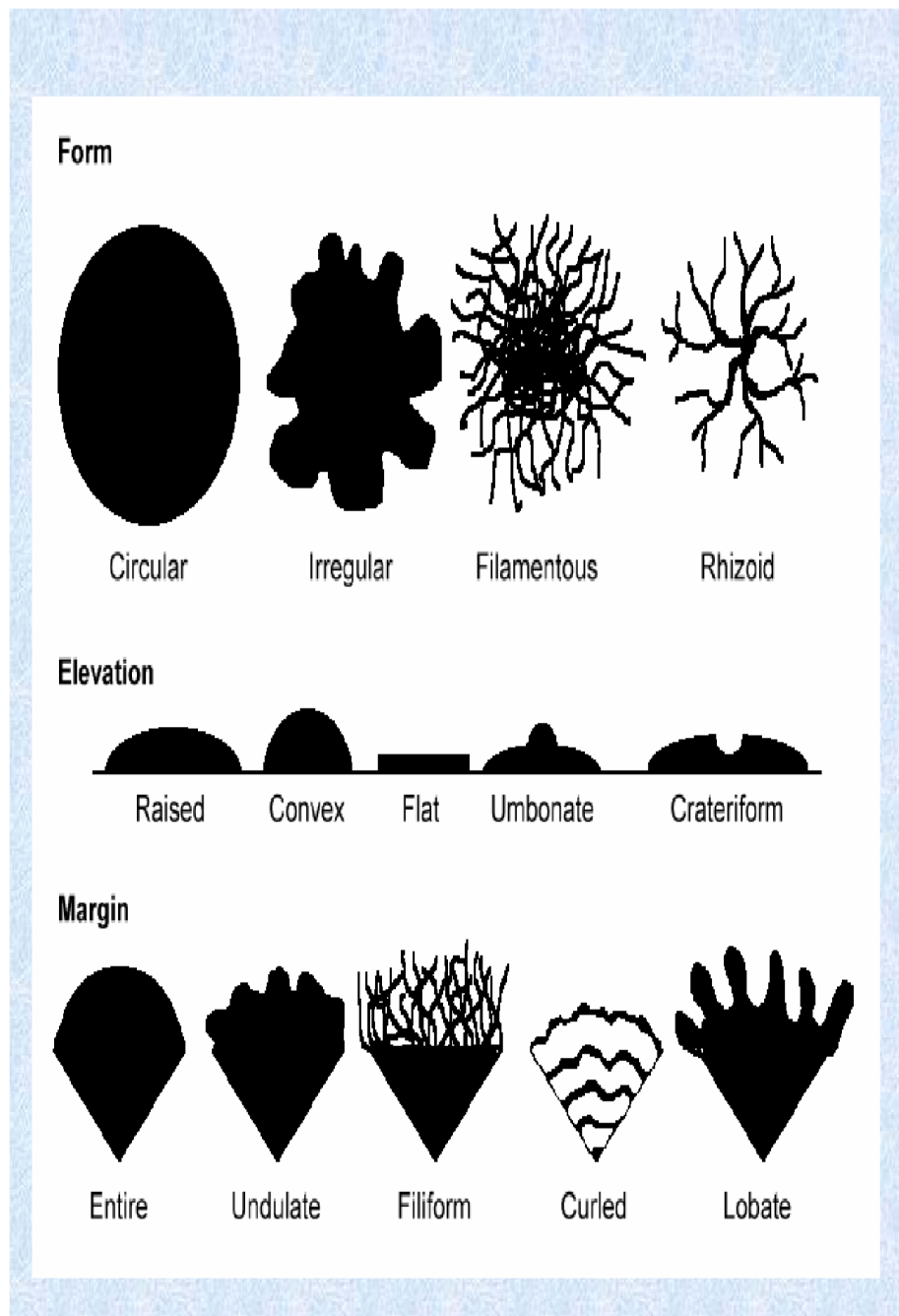
f. Pengamatan Terhadap Hasil Inokulasi dan Isolasi

Setelah mikroba ditumbuhkan pada media agar tabung maupun cawan dan setelah inkubasi akan terlihat pertumbuhan bakteri dengan berbagai macam bentuk, ukuran, sifat, dan berbagai ciri khas yang lain. Ciri-ciri ini akan mengarahkan ke sifat-sifat mikroba tersebut pada media pertumbuhan, sehingga pengamatan morfologi ini sangat penting untuk diperhatikan (Ratna,1990).

Bakteri yang memiliki flagella sering kali membentuk koloni yang menyebar terutama jika menggunakan lempengan agar basah, untuk mencegah menyebarnya koloni maka harus digunakan agar benar-benar kering (Djida, 2000).

Menurut Dwidjoseputro (1980), sifat-sifat koloni yang tumbuh pada agar-agar lempengan, pada agar-agar miring dan pada tusukan gelatin adalah sebagai berikut:

- Sifat-sifat koloni pada agar-agar lempengan mengenai bentuk, permukaan dan tepi. Bentuk koloni dilukiskan sebagai titik-titik, bulat berbenang, tak teratur, serupa akar, serum kumparan. Permukaan koloni dapat datar, timbul mendatar, timbul melengkung, timbul mencembung, timbul membukit dan timbul berkawah. Tepi koloni ada yang utuh, ada yang berombak, ada yang berbelah-belah, ada yang bergerigi, ada yang berbenang-benang dan ada yang keriting.
- Sifat-sifat koloni pada agar-agar miring. Sifat ini berkisar pada bentuk dan tepi koloni dan sifat itu dinyatakan dengan kata-kata seperti : serupa pedang, serupa duri, serupa tasbih, serupa titik-titik, serupa batang dan serupa akar.
- Sifat koloni tusukan dalam gelatin. Ada bakteri yang dapat mengencerkan gelatin. Karena itu, maka bentuk-bentuk koloninya juga berbeda-beda. Adapula bentuk koloni yang tidak dapat mengencerkan gelatin. Bila dilihat dari samping koloni yang tidak mengencerkan gelatin dapat serupa pedang, tasbih, bertonjol-tonjol dan berjonjot. Jika bakteri mampu mengencerkan gelatin, maka bentuk koloninya dapat serupa kawah, serupa mangkuk, serupa corong, pundi-pundi dan berlapis.



Gambar 30. Ciri- ciri koloni
 Sumber gambar, [www.google.com/ imgreesa](http://www.google.com/imgreesa)

Berikut gambar koloni hasil inokulasi



Gambar 28.b.koloni hasil isolasi
Sumber gambar, [www.google.com/ imgreesa](http://www.google.com/imgreesa)

Inkubasi merupakan suatu teknik perlakuan bagi mikroorganisme yang telah diinokulasikan pada media (padat atau cair) kemudian disimpan pada suhu tertentu untuk dapat melihat pertumbuhannya. Bila suhu inkubasi tidak sesuai dengan yang diperlukan, biasanya mikroorganisme tidak dapat tumbuh dengan baik. Media inkubasi digolongkan menjadi 2 jenis :

1. Pada lemari biasa atau suhu kamar,
2. Pada inkubator yang suhunya dapat di tentukan

Proses ini bertujuan agar dapat melihat pertumbuhan atau perkembangbiakan pada mikroorganisme.

Destruksi merupakan proses pemusnahan pada hasil pekerjaan mikrobiologi yang telah mengandung mikroorganisme sebelum dilakukan pencucian. Proses destruksi ini penting untuk dilakukan, hal ini bertujuan untuk membersihkan semua mikroorganisme yang terdapat pada alat-alat yang telah digunakan pada saat percobaan karena tidak dapat dipastikan

bahwa alat-alat itu bersih sebelum didestruksi, bisa saja terdapat bakteri atau mikroorganisme yang dapat membahayakan. Proses ini umumnya dilakukan dengan memasukkan semua wadah atau alat hasil percobaan (yang sudah dikontakan dengan mikroorganisme) ke dalam autoclave, kemudian diaktifkan pada suhu 121 derajat celcius selama 30 menit. Bila telah selesai, wadah yang mengandung media dan mikroba hasil percobaan (yang telah cair) dapat di buang ke pembuangan umum, kemudian alat dicuci bersih dengan air sabun.

Teknik Pengecatan / Pewarnaan Bakteri

1) Teknik Pengecatan Bakteri secara Sederhana

Sel-sel mikroorganisme yang tidak diwarnai umumnya tampak hampir tembus pandang (transparan) bila diamati dengan mikroskop cahaya biasa sehingga sukar dilihat karena sitoplasma selnya mempunyai indeks bias yang hampir sama dengan indeks bias lingkungannya yang bersifat cair. Kontras antar sel dan latar belakangnya dapat dipertajam dengan mewarnai sel-sel tersebut dengan zat- zat warna.

Pewarna yang paling umum digunakan adalah “pewarna sederhana“, disebut demikian karena hanya digunakan satu jenis zat warna untuk mewarnai organisme tersebut. Kebanyakan bakteri mudah bereaksi dengan pewarna- pewarna sederhana karena sitoplasmanya bersifat basofilik (suka akan basa). Zat- zat warna yang digunakan untuk pewarnaan sederhana umumnya bersifat alkalin (komponen kromoforiknya bermuatan positif).

Pewarnaan sederhana ini memungkinkan dibedakannya bakteri dengan bermacam-macam tipe morfologi (kokus, basilus, vibrio, spirillum, dan sebagainya) dari bahan – bahan lainya yang ada pada olesan yang diwarnai. Selain itu dapat pula diamati struktur-struktur tertentu seperti endospora. Berbeda dengan spesimen hidup, sel-sel yang

diwarnai terfiksasi pada kaca obyek sehingga dapat disimpan sebagai dokumentasi untuk jangka waktu lama.

Berikut akan disampaikan prosedur pewarnaan/pengecetan bakteri secara sederhana

a. Bahan yang dibutuhkan :

- Olesan – olesan mikroorganisme
- Laruran zat warna metilen blue
- Larutan zat warna karbol fuksin
- Bak warna
- Air suling dalam botol pijit/ botol cuci
- Kertas serap
- Mikroskop, minyak celup, kertas lensa

b) Prosedur/Cara melakukan:

- Gunakan olesan bakteri yang telah difiksasi, dengan menggunakan 2 olesan untuk masing – masing mikroorganisme. Olesan pertama akan diwarnai dengan metelin blue dan yang kedua akan diwarnai dengan karbol fuksin
- Dengan berpedoman gambar berikut, lakukan pewarnaan sederhana sebagai berikut :
 - Letakkan kaca – kaca obyek berisi olesan yang akan diwarnai di atas bak pewarna dan genangi olesan tersebut dengan zat warna yang dimaksud. Bila digunakan metilen blue biarkan olesan terwarnai selama 1-2 menit, bila digunakan karbol fuksin biarkan olesan terwarnai selama 15- 30 detik.
 - Peganglah kaca obyek dengan pinset atau penjepit lain dan miringkan. Bilaslah zat warna tersebut dengan air sampai

warna yang terkandung dalam air yang mengalir dari kaca obyek tersebut hanya tinggal sedikit sekali.

- Seraplah air yang tersisa pada permukaan spesimen dengan kertas serap.



Gambar 31. Prosedur Pewarnaan Sederhana
(Sumber : Mikrobiologi dalam praktik hal, 100)

2) Pengamatan

Amatilah masing-masing preparat di bawah mikroskop dengan obyektif celup minyak tanpa kaca tutup (mulailah dengan obyektif berkekuatan terendah dan berangsur-angsur diganti dengan yang berkekuatan tinggi). Pada setiap olesan amati morfologi spesimen anda (bentuk, susunan, macam-macam stadium, struktur khusus seperti endospora). Gambarkanlah sketsa pengamatan anda pada tiap-tiap olesan dengan skala dan warna yang sesuai, Cantumkan pula nama masing-masing mikroorganisme. Tanyakan kepada guru apabila ada yang belum jelas. Hasil pengamatan buatlah kesimpulan dan presentasikan di depan kelas.

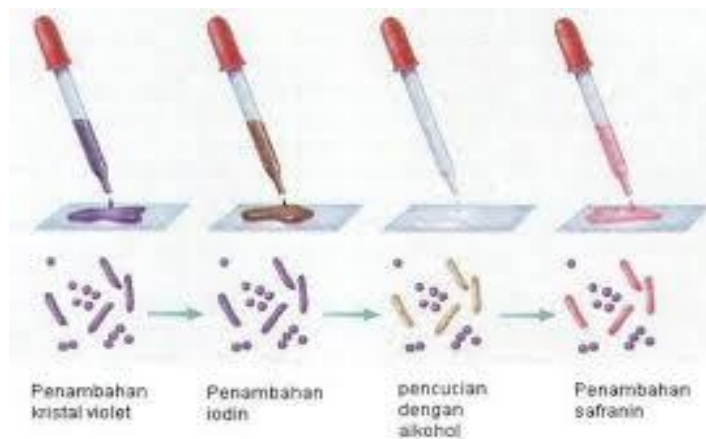
Secara umum proses pewarnaan bakteri bisa dilakukan sebagai berikut

- Bakteri haruslah diambil dari suatu biakan yang masih muda, kira-kira umur 24 jam, merupakan usia yang baik untuk memperlihatkan bentuk morfologinya. Jika ingin melihat bakteri yang sudah

membentuk spora, maka perlulah diambil bakteri yang sudah lebih tua, yaitu dari suatu biakan yang berumur 2 sampai 3 kali 24 jam.

- Bakteri diratakan di atas kaca obyek/glass obyek yang bersih, seluas kira-kira 1 cm^2 . Hindarilah pengambilan bakteri yang terlalu banyak. Jika tidak diratakan tipis-tipis, maka bakteri akan bertumpuk sehingga pemeriksaan bentuknya satu persatu tidak akan jelas.
- Jika sudah kering, sediaan perlu dilewatkan pada nyala api perlahan-lahan supaya bakteri melekat pada kaca obyek, sehingga tidak akan terhapus apabila sediaan dicuci. Jaga jangan sampai bidang yang mengandung bakteri terkena nyala api.
- Zat warna ditetaskan pada bidang yang mengandung bakteri. Juga mungkin seluruh kaca obyek tersebut direndam miring dalam zat warna, hal ini bergantung pada sifat khusus pewarnaan, dan kadang-kadang juga bergantung kepada banyak sedikitnya kaca obyek (preparat) yang harus dibuat. Zat warna diberi waktu beberapa lama supaya diserap oleh bakteri yang sudah kering, tergantung dari sifat khas zat warna yang digunakan.
- Sediaan dicuci dengan alkohol atau asam encer, untuk menghilangkan zat warna yang berlebihan. Alkohol yang digunakan untuk mencuci dapat berupa alkohol 15% sampai 95%, kadang juga diperlukan alkohol 100%. Cara mencucinya adalah dengan mencelupkan sediaan ke dalam alkohol atau ke dalam asam encer dengan tanpa dikocek. Ada pula zat warna yang dicuci dengan air murni ataupun air kran.
- Tunggu sediaan sampai kering lalu diperiksa dengan mikroskop, bila perlu dengan menggunakan minyak cedar (minyak imersi atau minyak celup). Jika dikehendaki, sediaan dapat ditutup dengan kaca penutup sebelum ditempatkan di atas piringan mikroskop. Sediaan

yang diinginkan untuk disimpan lama perlu perlakuan sebagai berikut: Permukaan yang mengandung bakteri ditetesi balsem kanada kemudian ditutup dengan kaca penutup yang bersih. Sebelum kering, sediaan tidak boleh diletakkan miring. Sesudah balsem kanada kering, baru sediaan dapat dimasukkan ke kotak penyimpanan sediaan, dalam posisi miring. Selanjutnya preparat disimpan dalam tempat gelap dan sejuk, agar supaya zat warna tidak lekas luntur dan pudar. Lebih jelas terlihat pada gambar berikut:



Gambar 32. Proses Pewarnaan

Sumber gbr. [www, google.com/imgressa](http://www.google.com/imgressa)

3) Pewarnaan Gram

Prosedur pewarnaan sederhana yang anda lakukan seperti pada penjelasan sebelumnya, memungkinkan untuk melihat bakteri dengan jelas, tetapi tidak dapat membedakan jenis- jenis bakteri yang berbeda dengan morfologi yang sama.

Pada tahun 1884, seorang ahli bakteriologi Denmark secara kebetulan menemukan prosedur pewarnaan Gram. Pewarnaan ini mungkin merupakan salah satu prosedur yang amat penting dan paling banyak digunakan dalam klasifikasi bakteri. Melalui metode ini , bakteri dapat dipisahkan secara umum menjadi dua kelompok besar yaitu:

- Organisme yang dapat menahan kompleks pewarna primer ungu kristal iodum sampai pada akhir prosedur (sel –sel tampak biru gelap atau ungu), disebut Gram positif
- Organisme yang kehilangan kompleks warna ungu kristal pada waktu pembilasan dengan alkohol namun kemudian diwarnai oleh pewarna tandingan safranin (sel- sel tampak merah muda) disebut Gram negatif.

Karena kemampuannya untuk membedakan satu kelompok bakteri tertentu dari kelompok lainnya, pewarnaan Gram disebut juga pewarnaan diferensial. Sekalipun mekanisme yang tepat dari pewarnaan Gram masih belum jelas , diketahui bahwa komposisi dinding sel bakteri Gram-positif berbeda dari bakteri Gram-negatif dan ini diduga berperan dalam terjadinya reaksi Gram yang berbeda-beda . Boleh jadi dinding sel yang lebih tebal pada bakteri Gram positif menyusut oleh perlakuan alkohol karena terjadinya dehidrasi, menyebabkan pori- pori dinding sel menutup sehingga mencegah larutnya kompleks ungu kristal iodum pada langkah pemucatan. Pada pihak lain, sel-sel Gram negatif mempunyai kandungan lipid yang lebih tinggi pada dinding selnya dan lipid pada umumnya larut dalam alkohol dan aseton. Larutnya lipid oleh pemucatan yang digunakan dalam pewarnaan Gram diduga memperbesar pori- pori dinding sel dan inilah yang menyebabkan proses pemucatan pada sel- sel Gram negatif berlangsung lebih cepat. Terdapat perbedaan yang nyata dalam laju pemucatan antara sel-sel Gram positif dan Gram negatif. Terlepas dari tepat atau tidaknya dugaan tersebut, yang jelas dinding sel itulah yang merupakan penghalang terhadap pemucatan pada sel – sel Gram positif. Pendapat ini di dukung oleh kenyataan bahwa berubahnya atau dibuangnya dinding sel bakteri Gram positif menyebabkan organisme tersebut berubah menjadi Gram negatif.

Perbedaan reaksi Gram bukanlah suatu fenomena yang mutlak dan kaku, melainkan merupakan perbedaan laju lepasnya kompleks ungu kristal-iodium dari sel pada langkah pemucatan. Organisme Gram positif sekalipun dapat memperlihatkan reaksi Gram negatif bila mengalami pemucatan yang berlebihan.

Faktor- faktor yang dapat menimbulkan keragaman dalam reaksi Gram ialah :

- Pelaksanaan fiksasi panas terhadap olesan
- Kerapatan sel pada olesan
- Konsentrasi dan umur reagen-reagen yang digunakan untuk pewarnaan Gram
- Sifat konsentrasi dan jumlah pemucat yang dipakai
- Sejarah biakan

Olesan bakteri yang dipanaskan secara berlebihan akan menyebabkan pecahnya dinding sel. Dalam keadaan demikian maka sel-sel Gram positif akan melepaskan warna primer dan menerima warna tandingan. Hal ini mendukung teori bahwa reaksi Gram tergantung pada struktur dinding sel.

Olesan yang baik hendaknya jangan terlalu tebal atau terlalu tipis. Pada pewarnaan Gram, olesan yang terlampau tebal tidak akan memucat secepat seperti olesan dengan kerapatan yang normal.

Sebagai pemucat, etanol 95 % bekerja paling lambat, sedangkan aseton paling cepat sehingga pemucat yang paling banyak digunakan adalah campuran etanol 95% dan aseton dengan perbandingan (1: 1), Namun untuk siswa yang masih belajar melakukan pewarnaan Gram sebaiknya menggunakan pemucat yang bekerja lambat yaitu dengan etanol 95 % untuk memperkecil kemungkinan terjadinya pemucatan yang berlebihan.

Sejarah biakan yang dimaksud tersebut adalah meliputi umur biakan serta keasaman atau alkalinitas (pH) medium tempat bakteri yang bersangkutan ditumbuhkan. Biakan organisme Gram positif yang lebih tua (terutama apabila memperlihatkan autolisis) dan yang ditumbuhkan dalam medium asam seringkali tampak gram negatif atau gram variabel (artinya biakan yang sama menampilkan sel-sel baik Gram positif maupun Gram negatif. Hal ini berkaitan dengan permeabilitas dinding sel pada biakan tua yang menyebabkan hilangnya sifat Gram positif. Tetapi organisme Gram negatif tidak menjadi Gram positif terlepas dari umur atau medium yang dipergunakan. Secara singkatnya, reaksi Gram hanya dapat dipercaya bagi biakan berumur 24 jam atau kurang, dan janganlah terlampaui mempersoalkan teramatinya beberapa sel Gram negatif di dalam suatu preparat yang sebagian besar menampilkan sel-sel Gram positif.

Apakah anda sudah pernah melakukan pewarnaan Gram?

Lakukan pewarnaan dengan mengikuti prosedur sebagai berikut:

a. Bahan

- Kaca obyek bersih
- Pensil lilin atau spidol
- Lup inokulasi
- Suspensi campuran sel-sel muda *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (berumur 15- 18 jam)
- Biakan murni *Serratia marsescens* yang telah di isolasi
- Biakan murni *Micrococcus luteus*
- Biakan *Bacillus subtilis* dan kaldu *nutrien*
- Seperangkat pewarna gram: ungu kristal, larutan iodium gram, alkohol 95%, safranin
- Bak warna

- Air suling dalam botol pijit
- Kertas serap
- Mikroskop
- Minyak celup dan kertas lensa

a) Prosedur

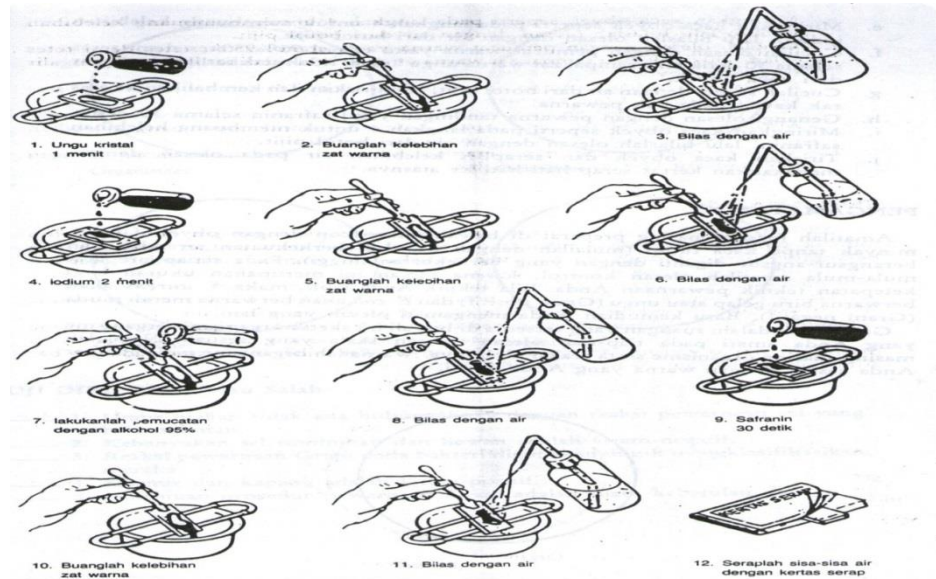
- Sediakan 4 buah kaca obyek yang bersih
- Dengan mengikuti cara- cara penyiapan olesan yang baik ,
Siapkan olesan bakteri pada keempat buah kaca obyek tersebut sebagai berikut:
 - Siapkanlah 2 olesan pada setiap kaca obyek. Jarak antara kedua olesan tersebut paling sedikit 2 cm
 - Salah satu dari kedua olesan itu sama bagi keempat kaca obyek, yaitu olesan disiapkan dari suspensi campuran sel-sel muda *E. coli* dan *S. aureus*, olesan ini berfungsi sebagai kontrol
 - Olesan kedua pada masing –masing kaca obyek adalah :
 - Olesan *S. marcescens* pada kaca obyek pertama
 - Olesan *M.luteus* pada kaca obyek kedua
 - Olesan *B.subtilis* berumur 18 jam pada obyek ketiga
 - Olesan *B. subtilis* berumur 72 jam pada kaca obyek keempat

Tandailah setiap olesan pada masing – masing kaca obyek supaya anda tahu apa yang akan anda amati nanti

- b) Setelah selesai difiksasi panas, letakkan kaca- kaca obyek tadi di atas rak kawat pada bak pewarna. Dengan berpedoman gambar berikut ini, lakukanlah pewarnaan Gram sebagai berikut :

- Genangi olesan bakteri dengan pewarna primer yaitu ungu kristal selama 1 menit
- Dengan menggunakan pinset atau penjepit lain, miringkanlah kaca obyek di atas bak pewarna untuk membuang kelebihan ungu kristal, lalu bilaslah olesan dengan air dari botol pijit/botol pembersih
- Tiriskan kaca obyek (dengan cara menegakkan sisi- sisi yang sempit kaca obyek tersebut di atas kertas serap) dan kembalikan ke atas rak kawat pada bak pewarna
- Genangi olesan dengan iodum gram selama 2 menit
- Miringkan kaca obyek untuk membuang kelebihan iodum lalu bilaslah olesan dengan air dari botol pijit
- Cucilah olesan dengan pemucat warna yaitu etanol 95 %, tetes demi tetes selama 30 detik atau sampai zat warna ungu kristal tidak terlihat lagi mengalir dari kaca obyek
- Cucilah segera dengan air dari botol pijit, lalu tiriskan dan kembalikan ke atas rak kawat pada bak pewarna
- Genangi olesan dengan pewarna tandingan yaitu safranin selama 30 detik,
- Miringkan kaca obyek ,untuk membuang kelebihan safranin, lalu bilaslah olesan dengan air dari botol pijit
- Tiriskan kaca obyek dan seraplah kelebihan air pada olesan dengan menekan kertas serap hati- hati keatasnya

Berikut gambar prosedur pewarnaan gram



Gambar 33. Gambar Prosedur Pewarnaan Gram
(Sumber : Mikrobiologi dalam praktik hal, 102)

c) Pengamatan

Amati masing-masing preparat di bawah mikroskop dengan obyektif celup minyak tanpa kaca tutup (mulailah dengan obyektif berkekuatan terendah dan berangsur-angsur diganti dengan yang berkekuatan tinggi) . Pada setiap preparat mula- mula amatilah olesan kontrol, karena olesan ini merupakan ukuran bagi ketepatan teknik pewarnaan anda. Bila teknik anda baik , maka *S.aureus* akan berwarna biru gelap atau ungu (Gram positif) dan *E. coli* akan berwarna merah muda (Gram negatif) . Baru kemudian anda mengamati olesan yang lain. Gambar dan beri keterangan dan warna yang sesuai gambar anda amati

Presentasikan laporan hasil pengamatan anda di depan kelas dan apabila ada yang belum jelas tanyakan kepada guru

Lembar Kerja Praktik

Judul : Melakukan Isolasi

Tujuan :

1. Melakukan cara isolasi mikroba (memisahkan mikroba dari campurannya)
2. Melakukan inokulasi (penanaman) mikroba
3. Mengenal bentuk-bentuk koloni bakteri (melakukan identifikasi mikroba)

a. Bahan

- Media PDA
- Media EMB
- Media SSA
- Media NB
- Daging
- Kapang
- Air Selokan
- *Lactobacillus*

b. Alat (Isilah Gambar Alat pada Tabel di Bawah ini!)

Gambar alat	Nama alat
	Mikroskop
	Jarum Ose
	Bunsen
	Kaca preparat

Gambar alat	Nama alat
	Tabung reaksi
	Cawan Petri
	Erlemneyer

c. Prosedur kerja

1. Cara Isolasi dengan Metode Penggoresan (*the streak plate technique*)

- Siapkan media yang sudah disterilkan dalam *petridish* yang steril, biarkan sampai dingin
- Ambillah 1 ose suspensi dari campuran dan goreslah kepermukaan media. Maksud dari goresan ini untuk mendapatkan deretan koloni yang dikehendaki dan memudahkan isolasi selanjutnya
- Inkubasi selama 24-28 jam, amati koloni yang terbentuk
- Isolasikan masing-masing koloni dengan menanamkannya pada masing-masing medianya
- Isolasi ini dikerjakan 2-3 kali, sampai diperoleh kultur murni

- Bila telah mendapatkan kultur murni, inokulasikan kedalam media agar dalam tabung reaksi

2. Cara Inokulasi dalam Nutrient Broth

- Ambilah koloni *B.subtilis*/*E.coli* dengan ose steril (sebelumnya dipijarkan pada burner dan didinginkan sebentar), masukkan kedalam nutrient broth.
- Sebaiknya inokulasi dilakukan dekat burner di dalam ruangan steril. Tangan kanan untuk memegang ose dan tangan kiri digunakan untuk memegang tabung reaksi steril yang berisi media nutrient broth steril. Sebelum dan setelah diinokulasi, bibir tabung reaksi dilewatkan diatas burner, (kapas penutup jangan diletakkan meja)
- Inkubasi selama 24-48 jam pada suhu kamar, amati gelembung/kekeruhan yang terjadi secara makroskopis dan secara mikroskopis

3. Cara Inokulasi dalam Nutrient Agar

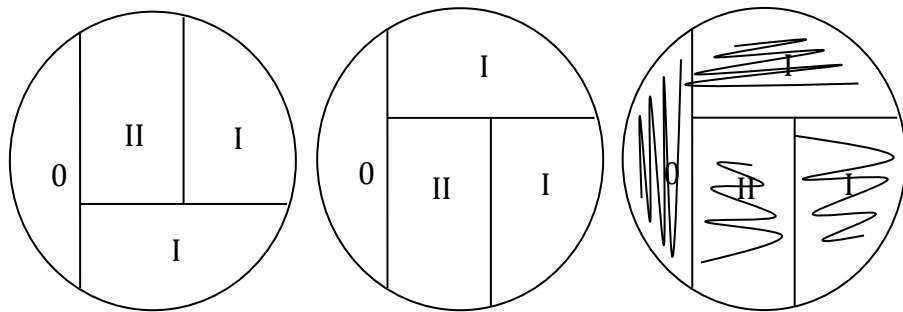
- Media nutrient agar tegak diinokulasi secara aseptik dengan biakan murni bakteri memakai jarum ose dengan cara menusuk kedalam nutrient agar
- Media nutrient agar miring diinokulasi secara aseptik dengan biakan murni bakteri memakai jarum ose dengan cara menggoreskan bagian atas nutrient agar (goresan lurus)
- Inokulasi dalam cawan petri steril dilakukan dengan metode penggoresan atau metode taburan
- Metode taburan dilakukan sebagai berikut: sebanyak ± 10 ml media nutrient agar dalam tabung reaksi (yang baru disterilkan / dicairkan), didinginkan hingga suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$, kemudian

diinokulasi secara aseptik dengan biakan murni bakteri, kemudian tabung digojog dan dituangkan dalam cawan petri secara aseptik. Cara ini biasanya digunakan untuk menghitung bakteri (metode pour plate)

- Inkubasikan selama 24-48 jam pada suhu kamar
- Amatilah koloni-koloni yang tumbuh secara makroskopis/mikroskopis.



Metode inokulasi mikroba pada cawan Petri



Gambar 34. Teknik Menggores

www.google.com/ imgressa

Hasil Pengamatan :

Gambar	Keterangan
	Inokulasi pada media EMB <ul style="list-style-type: none">• Bentuk:• Warna: hijau metalic• Pinggiran (tepi):• Permukaan (elevasi):• Struktur dalam:
	Inokulasi pada media NB <ul style="list-style-type: none">• Bentuk:• Warna:• Pinggiran (tepi):• Permukaan (elevasi):• Struktur dalam:
	Inokulasi pada media PDA <ul style="list-style-type: none">• Bentuk:• Warna:• Pinggiran (tepi):• Permukaan (elevasi):• Struktur dalam :
	Inokulasi pada media SSA <ul style="list-style-type: none">• Bentuk:• Warna:• Pinggiran (tepi):• Permukaan (elevasi):• Struktur dalam :

3. Refleksi

Tuliskan jawaban pada lembar refleksi

- Bagaimana kesan anda selama mengikuti pembelajaran ini?
- Apakah anda telah menguasai seluruh materi pelajaran ini?
- Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pembelajaran ini?
- Tuliskan secara ringkas apa yang anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!

4. Tugas

Berkunjunglah ke tempat pengusaha/ home industri pembuatan tempe. Melalui wawancara , tanyakan bagaimana cara melakukan isolasi jamur pada proses pembuatan tempe ! Buatlah laporan dan presentasikan di depan kelas

5. Tes Formatif

Jawablah pertanyaan berikut !

- Jelaskan peralatan untuk isolasi dan inokulasi mikroba!
- Jelaskan macam-macam teknik preparasi pengambilan sampel mikroba!
- Jelaskan ciri-ciri bakteri Gram negatif !
- Buatlah alur proses pengecatan bakteri !
- Jelaskan macam-macam teknik penanaman mikroba!
- Bagaimana cara mendapatkan kultur murni mikroba?

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

Indikator	Penilaian																																																
	Teknik	Bentuk Instrumen	Butir soal/ instrumen																																														
Sikap 2.1 <ul style="list-style-type: none">Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasiMenampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasiMenampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	<div>1. Rubrik Penilaian Sikap</div> <table><tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr><tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr><tr><td>1</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> <div>Kriteria Terlampir</div>	No	Aspek	Penilaian				4	3	2	1	1	Bertanya					2	Mengamati					3	Menalar					4	Mengolah data					5	Menyimpulkan					6	Menyajikan				
No	Aspek	Penilaian																																															
		4	3	2	1																																												
1	Bertanya																																																
2	Mengamati																																																
3	Menalar																																																
4	Mengolah data																																																
5	Menyimpulkan																																																
6	Menyajikan																																																

Indikator	Penilaian							
	Teknik	Bentuk Instrumen	Butir soal/ instrumen					
2.2 <ul style="list-style-type: none">Mengkompromikan hasil observasi kelompokMenampilkan hasil kerja kelompokMelaporkan hasil diskusi kelompok	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	2. Rubrik Penilaian Diskusi					
			No	Aspek	Penilaian			
					4	3	2	1
			1	Terlibat penuh				
			2	Bertanya				
			3	Menjawab				
			4	Memberikan gagasan orisinil				
			5	Kerja sama				
6	Tertib							
2.3 Menyumbang pendapat tentang peralatan untuk isolasi dan inokulasi, macam – macam teknik preparasi, ciri- ciri bakteri Gram positif dan Gram negatif , teknik pengecetan bakteri	Non Tes	Lembar observasi penilaian sikap	3. Rubrik Penilaian Presentasi					
			No	Aspek	Penilaian			
					4	3	2	1
			1	Kejelasan Presentasi				
			2	Pengetahuan :				
			3	Penampilan :				
Pengetahuan	Tes	Uraian						
Keterampilan 1. Merangkai alat / alat peraga/model sesuai susunan yang benar / alat inokulasi dan isolasi mikroba 2. Menggunakan alat/ alat peraga/model untuk isolasi mikroba	Tes Unjuk Kerja		4. Rubrik Penilaian Penggunaan alat dan bahan					
			Aspek	Penilaian				
				4	3	2	1	
			Cara merangkai alat					
			Cara menuliskan data hasil pengamatan					
Kebersihan dan penataan alat								

Lampiran Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. Rubrik Sikap Ilmiah

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Bertanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek Bertanya :

Skor 4 Jika pertanyaan yang diajukan **sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 3 Jika pertanyaan yang diajukan **cukup** sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 2 Jika pertanyaan yang diajukan **kurang sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 1 Tidak Bertanya

2. Aspek Mengamati :

Skor 4 Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat

Skor 3 Terlibat dalam pengamatan

Skor 2 Berusaha terlibat dalam pengamatan

Skor 1 Diam tidak aktif

3. Aspek Menalar

- Skor 4 Jika nalarnya benar
- Skor 3 Jika nalarnya hanya sebagian yang benar
- Skor 2 Mencoba bernalar walau masih salah
- Skor 1 Diam tidak bernalar

4. Aspek Mengolah data :

- Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua
- Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar
- Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar
- Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

5. Aspek Menyimpulkan :

- Skor 4 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
- Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
- Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar
- Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

6. Aspek Menyajikan

- Skor 4 Jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawab semua pertanyaan dengan benar
- Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan
- Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab
- Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinal				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1. Aspek Terlibat Penuh :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat

Skor 1 Diam sama sekali tidak terlibat

2. Aspek Bertanya :

Skor 4 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan pertanyaan

Skor 1 Diam sama sekali tidak bertanya

3. Aspek Menjawab :

Skor 4 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

- Skor 2 Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya
Skor 1 Diam tidak pernah menjawab pertanyaan

4. Aspek Memberikan Gagasan Orisinil :

- Skor 4 Memberikan gagasan/ide yang orisinil berdasarkan pemikiran sendiri
Skor 3 Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan
Skor 2 Kadang-kadang memberikan gagasan/ide
Skor 1 Diam tidak pernah memberikan gagasan

5. Aspek Kerjasama :

- Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya
Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya
Skor 2 Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif
Skor 1 Diam tidak aktif

6. Aspek Tertib :

- Skor 4 Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya
Skor 3 Dalam diskusi kelompok tampak aktif, tapi kurang santun
Skor 2 Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain
Skor 1 Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari

c. Rubrik Penilaian Penggunaan Alat / bahan

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara merangkai alat				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kriteria :

1. Cara merangkai alat :

Skor 4 : jika seluruh peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 3 : jika sebagian besar peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 2 : jika sebagian kecil peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 1 : jika peralatan tidak dirangkai sesuai dengan prosedur

2. Cara menuliskan data hasil pengamatan :

Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

3. Kebersihan dan penataan alat :

Skor 4 : jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

d. Rubrik Presentasi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Kejelasan Presentasi				
2	Pengetahuan				
3	Penampilan				

Kriteria

1. Kejelasan presentasi

Skor 4 Sistematika penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas

Skor 3 Sistematika penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas

Skor 2 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

Skor 1 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

2. Pengetahuan

Skor 4 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 3 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 2 Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik yang dibahas

Skor 1 Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

3. Penampilan

- Skor 4 Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu
- Skor 3 Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu
- Skor 2 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu
- Skor 1 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Laporan Observasi

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, , masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan Dan kesimpulan	Sistematika laporam hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, grafik dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan tetapi tidak relevan	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapi, mudah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan disertai dengan data kelompok

KEGIATAN PEMBELAJARAN 5 (KD 5- 18 JP)

Menerapkan jenis dan sifat serta kondisi optimum pertumbuhan mikroba untuk proses pembuatan makanan/minuman/bahan bakar/pengolahan limbah (KD 3.5)

Melaksanakan Pembuatan makanan/minuman/bahan bakar/pengolahan limbah (KD 4.5)

A. Deskripsi

Pada kegiatan pembelajaran ini akan diuraikan tentang pembuatan produk dan pengolahan limbah dengan menggunakan jasa mikroba, yang terinci sebagai berikut, bahan baku untuk pembuatan produk makanan/minuman/bahan industri, jenis mikroba yang digunakan untuk proses fermentasi dalam pembuatan produk makanan/minuman/bahan industri, kondisi optimum proses fermentasi, pengendalian proses fermentasi pembuatan produk industri secara fermentasi, pemisahan produk olahan hasil fermentasi, pengecekan kualitas produk

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah menyelesaikan kegiatan pembelajaran ini siswa mampu :

- Mengidentifikasi bahan baku untuk pembuatan produk makanan/minuman / bahan industri
- Memahami jenis mikroba yang digunakan untuk proses fermentasi dalam pembuatan produk makanan/minuman/bahan industri
- Memahami kondisi optimum proses fermentasi
- Memahami pengendalian proses fermentasi pembuatan produk industri secara fermentasi
- Memahami pemisahan produk olahan hasil fermentasi, pengecekan kualitas produk

2. Uraian Materi

Bahan Baku atau media untuk Pembuatan Produk makanan / minuman / bahan industri

a. Tepung terigu

Tepung terigu adalah bahan baku utama yang dipakai dalam pembuatan berbagai produk makanan, seperti: rerotian (*bakery*), mie (*noodle*), *spaghetti*, *piza*, dan lain-lain. Tepung terigu kaya akan kandungan karbohidrat, namun sangat sedikit kandungan vitamin dan mineralnya. Untuk memperkaya kandungan nutriennya, beberapa bahan tambahan pangan sering ditambahkan sebagai fortifikan tepung terigu.

Keputusan Menteri Kesehatan Rep. Indonesia No. 962/Menkes/SK/VII/2003 tentang Fortifikasi Tepung Terigu menyebutkan bahwa terigu yang diproduksi, diimpor atau diedarkan di Indonesia harus mengandung fortifikan, yang meliputi: zat besi (Fe), seng (Zn), vitamin B1, vitamin B2, serta asam folat.

Berdasarkan sisi kehalalannya, tepung terigu relatif tidak ada masalah. Akan tetapi, berbagai bahan dan *improving agents* yang ditambahkan rentan terhadap berbagai pencemaran bahan haram. Sebagai contoh, vitamin B1 (*thiamine*), vitamin B2 (*riboflavin*), dan asam folat (*folic acid*) yang bersumber dari tanaman halal dikonsumsi. Vitamin-vitamin tersebut berubah status menjadi tidak halal manakala diproduksi secara mikrobiologis menggunakan media yang tidak halal.

Contoh fortifikan lain yang berstatus seperti pada penjelasan sebelumnya adalah asam amino **L-sistein** (*L-cysteine hydrochloride*). Bahan ini sering dipakai untuk melunakkan gluten gandum, sehingga dihasilkan produk tepung terigu yang lembut (halus) dan volumenya lebih besar. Ada 3 macam sumber L-sistein, yaitu: dari hasil ekstraksi rambut manusia, ekstraksi bulu binatang, dan dari produk mikrobial.

Fatwa ulama menyebutkan bahwa L-sistein yang diekstraksi dari rambut manusia hukumnya haram. Selanjutnya, L-sistein yang diekstraksi dari

bulu unggas dan produk mikrobial lainnya hukumnya syubhat. L-sistein yang diperoleh dari bulu unggas, seperti : bulu bebek (*duck feather*) dan bulu ayam (*chicken feather*) hukumnya haram jika diekstraksi dari bulu unggas yang tidak disembelih secara syar'i. L-sistein yang dihasilkan dari reaksi mikrobial juga berstatus haram jika mikrobianya ditumbuhkan pada media yang tidak halal.

b. Mentega

Mentega adalah produk olahan pangan yang dibuat dari bahan dasar krim susu. Bahan ini banyak dipakai untuk olesan roti dan biskuit, sebagai perantara lemak di beberapa produk roti dan masakan, serta kadang-kadang dipakai untuk menggoreng. Oleh karena merupakan produk olahan susu, maka mentega mengandung lemak dan kholesterol yang cukup tinggi.

Pada dasarnya, mentega adalah produk emulsi air dalam minyak yang diperkaya dengan berbagai bahan tambahan, seperti : flavor dan pewarna. Agar adonan mentega (terutama air dan minyak/lemaknya) dapat bercampur dengan baik (merata/homogen), maka dalam pembuatannya, mentega ditambahi dengan bahan pengemulsi (*emulsifier*). Bahan pengemulsi yang sering dipakai adalah senyawa mono- atau di-gliserida yang dihidrolisis dari senyawa lemak. Oleh karena berasal dari lemak, maka bisa saja berasal dari lemak nabati maupun lemak hewani. Apabila berasal dari lemak hewani, maka dapat saja berasal dari lemak babi atau lemak hewan halal yang tidak disembelih secara syar'i.

Emulsifier yang diproduksi dari lemak nabati dapat pula tercemar bahan haram. Pada saat hidrolisis lemak menjadi senyawa gliserida dapat saja digunakan enzim lipase yang diambil dari hewan haram, seperti : *porcine pancreatic lipase*, yaitu enzim pencernaan/penghidrolisis lemak yang dihasilkan oleh pankreas babi.

c. Margarin

Margarin berbeda dengan mentega. Apabila mentega dibuat dari bahan dasar susu, maka margarin dibuat dari bahan dasar lemak tumbuhan, seperti : lemak dari minyak kelapa dan minyak kelapa sawit.

Dalam proses pembuatan margarin (skala industri) seringkali ditambahkan bahan pengemulsi, bahan penstabil (*stabilizer*), bahan pewarna, serta penambah aroma (*flavor*). Apabila bahan-bahan yang dipakai tersebut berasal dari bahan halal tentu tidak masalah. Namun apabila berasal dari produk hewani, maka harus dipastikan dari hewan halal atau hewan haram.

Salah satu bahan pengemulsi yang sering dipakai adalah lesitin. Apabila menggunakan lesitin kedelai (*soy lechitin*) maka tentu tidak masalah. Namun apabila menggunakan lesitin babi, maka tentu membuat produk makanan tersebut menjadi haram.

d. Keju

Keju adalah salah satu jenis makanan olahan favorit yang berasal dari susu hewan, seperti: susu sapi, kambing, domba, dan unta. Meskipun berasal dari susu, namun dalam proses pembuatannya ditambahkan berbagai bahan yang dapat membuat produk olahan susu ini menjadi tidak halal.

Keju dibuat melalui berbagai tahapan proses, yang dimulai dari proses penambahan bakteri starter, penambahan enzim penggumpal protein, pembentukan curd, pencetakan dan pengepresan, penambahan garam, serta penyimpanan (pematangan).

Enzim pencerna protein (*protease*) penting dipakai untuk menggumpalkan keju dan memisahkannya dari whey. Enzim yang dipakai dalam pembuatan keju beraneka ragam, seperti: *enzim rennet*, *pepsin*, *renin (chemosin)*, renilase dan lain-lain.

Enzim *rennet* yang dipakai bisa saja berasal dari hasil fermentasi (*microbial rennet*) maupun dari lambung hewan, seperti lambung anak sapi maupun lambung babi. Jika berasal dari fermentasi mikroba (bakteri, kapang, khamir), maka harus dipastikan bahwa media yang dipakai untuk pertumbuhan mikroorganismenya bukan media yang diharamkan. Jika berasal dari hewan, maka harus dipastikan status kehalalan hewannya. Enzim *rennet* yang diambil dari lambung anak babi sudah tentu statusnya haram. Hati-hati dengan keju edam, karena masih banyak produsen edam yang menggunakan *rennet* babi. Sebaliknya, enzim *rennet* berstatus halal jika berasal dari hewan halal yang disembelih secara halal.

Enzim yang lain, seperti enzim *renin* (*chemosin*) umumnya berasal dari abomasum anak sapi, sedangkan enzim *renilasi* umumnya berasal dari jamur *Mucor miehei* dan *M. pusillus*.

e. Lemak

Lemak ditambahkan dalam produk untuk membuat agar produk tersebut menjadi lebih lembut, lebih renyah, lebih legit dan lain-lain. Lemak juga dipakai untuk mengikat berbagai nutrisi tertentu, seperti vitamin dan lain-lain. Lemak juga dipakai agar produk roti memiliki aroma yang lebih sedap.

Lemak yang ditambahkan pada berbagai produk pangan dapat berasal dari lemak tanaman maupun lemak hewan. Apabila tidak mendapatkan tambahan senyawa apapun, maka lemak tanaman (nabati) hukumnya halal dikonsumsi. Lemak hewan umumnya diperoleh dari lemak sapi (*tallow*), lemak babi (*lard*), maupun lemak susu (*cream*). Lemak yang berasal dari babi dan lemak hewan halal yang tidak disembelih secara syar'i hukumnya haram.

f. Cokelat

Cokelat snack maupun cokelat batangan (untuk industri makanan) dibuat dari biji buah cokelat pilihan. Agar awet dan bisa diolah lebih lanjut, maka dalam proses pembuatan cokelat seringkali ditambahkan bahan pengemulsi. Bahan pengemulsi ini dapat berasal dari bahan nabati (kedelai, bunga matahari, jagung dan lain-lain) maupun dari bahan hewani. Lesitin hewani umumnya dibuat secara enzimatis menggunakan enzim *Phospholipase A2*. Apabila enzim yang dipakai diambil dari pankreas babi, maka tentu status enzim ini adalah haram.

Titik kritis lain pada produk cokelat adalah penambahan khamr, seperti: alkohol, *ethanol (ethyl alcohol)*, *wine*, *brandy*, *whiskey*, *spirits* dan lain-lain. Berbagai cairan beralkohol ini ditambahkan untuk membuat adonan tercampur dengan baik serta memberi flavor tertentu. Oleh karena khamr diharamkan, maka penggunaan khamr pada produk cokelat diharamkan.

g. Gula pasir

Gula pasir dibuat dari nira yang dapat berasal dari berbagai sumber seperti: tebu, kelapa, siwalan, lontar, aren, dan sawit. Oleh karena berasal dari tanaman, sudah barang tentu bahan baku utama gula pasir tersebut halal. Proses pembuatan gula pasir terdiri dari beberapa tahapan, mulai dari proses ekstraksi, penjernihan, evaporasi, kristalisasi, hingga pengeringan. Dalam tahapan-tahapan proses ini bisa jadi bahan haram masuk dan mencemari gula pasir.

h. Kecap

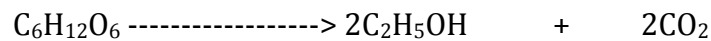
Kecap diperoleh dari hasil fermentasi kedelai (kedelai putih atau hitam) yang ditambahi dengan berbagai bahan, seperti: ragi (jamur tempe), daun salam, sereh, daun jeruk, laos, bunga pekak, gula merah, garam dapur dan air. Proses pembuatan kecap didahului dengan pencucian dan perendaman kedelai, yang dilanjutkan dengan proses perebusan,

fermentasi, pemasakan, penyaringan, dan diakhiri dengan proses pengemasan.

i. Cuka

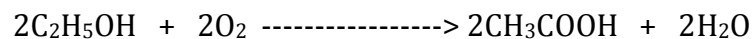
Cuka (vinegar) berasal dari bahan kaya gula, seperti: anggur, apel, nira kelapa, dan malt. Ada beberapa macam cuka di pasaran, seperti: cuka pada umumnya (*table vinegar*) dan cuka buah (cuka apel).

Proses pembuatan cuka melibatkan 2 tahapan fermentasi. Tahapan pertama adalah proses pengubahan gula yang ada pada bahan menjadi ethanol dengan menggunakan jamur *Saccharomyces* sp. yaitu :



Karbohidrat (gula) Ethyl alkohol (ethanol) Karbondioksida

Tahapan kedua adalah proses pengubahan ethanol menjadi asam cuka (asam asetat) dengan menggunakan acetobacter *Bacterium aceti* menjadi asam cuka, yaitu :



Ethanol Oksigen Asam asetat Air

j. Krimer

Creamer dibuat dari susu. Titik kritisnya terdapat pada bahan enzim yang dipakai untuk memisahkan keju dan *whey*.

k. Mayonais

Mayonais atau mayones (*mayonnaise*) adalah salah satu jenis saus yang dibuat dari bahan utama minyak nabati dan kuning telur ayam yang ditambahi sedikit garam dapur, minyak, cuka, dan mustard. Untuk meningkatkan cita rasa, ada pula mayonais yang menggunakan tambahan sari buah lemon, bawang putih, bawang bombay, acar, saus tomat, yoghurt, dll. Mayonais sering dipakai pada produk rerotian, seperti : sandwich, burger dan lain-lain.

l. Vitamin

Vitamin banyak tersedia di alam dalam berbagai produk alami, seperti : buah dan sayur. Secara komersial, vitamin sering ditambahkan sebagai fortifikan (senyawa yang memperkaya kandungan nutrisi suatu adonan produk makanan) pada berbagai produk susu formula, mentega dan lain-lain.

Vitamin yang dijual secara bebas di pasaran sebagian besar adalah vitamin sintetis atau hasil mikrobial. Vitamin-vitamin tersebut memiliki sifat mudah rusak oleh cahaya (*photolabile*), mudah rusak oleh suhu (*thermolabile*), dan mudah rusak oleh bahan kimia (*chemicolabile*). Untuk mempertahankan kualitasnya, vitamin dilapisi (disalut) dengan senyawa pelapis (*coating agent*), seperti: gelatin. Gelatin adalah senyawa protein yang diperoleh dari hidrolisis kolagen tulang atau kulit binatang. Secara komersial, umumnya gelatin yang terdapat di pasaran dibuat dari kulit atau tulang babi dan sapi, meskipun bisa pula dari ikan.

m. Gelatin

Umumnya, gelatin dipakai sebagai *gelling agent* (bahan pengental), bahan penegar (penguat), atau untuk *topping* kue atau es krim. Gelatin pasti berasal dari produk hewani (sapi, babi, dll). Sebagai pengganti, bahan lain yang dapat dipakai sebagai pengental adalah : rumput laut (agar-agar), karagenan, pati yang dimodifikasi, gom arab dan lain-lain.

n. BakersYeast Instant (Ragi)

Yeast banyak dipakai pada produk-produk bakery sebagai bahan pengembang (*bread improver*). Dalam pembuatannya, adakalanya juga ditambahkan bahan pengemulsi.

o. Bahan Baku Tambahan :

1) Pemanis

Terdapat 2 macam pemanis (*sweeteners*) yang sering dipakai dalam industri makanan, yaitu pemanis sintetis dan pemanis alami. Pemanis sintetis non-kalori, seperti: sodium **siklamat** (*Na-Cyclamate*), sodium **sakarin** (*Na-Saccharine*), dan **aspartame**, umumnya halal. Namun demikian, **sorbitol** bersifat syubhat karena produk ini dibuat dari glukosa yang berstatus syubhat. Dalam skala industri, glukosa dapat dibuat secara enzimatis menggunakan katalisator enzim alpha-amilase. Enzim ini dapat berasal dari mikroorganisme maupun dari saluran pencernaan hewan (saliva dan pankreas).

2) Pengemulsi

Bahan pengemulsi (*emulsifier*) adalah bahan yang ditambahkan pada adonan pangan yang ditujukan agar bahan baku yang berkadar lemak tinggi dapat bercampur dengan air secara merata (homogen) dan stabil dalam waktu lama. Oleh karena dapat berfungsi menstabilkan campuran, maka sering kali pula dipakai sebagai bahan penstabil.

Dalam skala industri, lesitin kedelai diekstrak menggunakan pelarut organik. Setelah bahan terekstrak, kemudian pelarutnya dihilangkan sehingga diperoleh ekstrak kasar lesitin. Agar diperoleh hasil lesitin yang lebih baik, maka dibuatlah turunan-turunan lesitin menggunakan proses enzimatis.

3) Pengembang

Pengembang (*bread improver*) dipakai untuk membuat adonan roti mengembang saat diolah menjadi roti. Ada beberapa istilah yang dikenal untuk menyebut bahan pengembang ini, seperti : **soda kue**,

baking powder, baking soda, atau **ragi** (yeast/ gist). Ragi sesungguhnya adalah mikroorganisme hidup jenis jamur (khamir) yang disebut *Saccaromyces cerevisiae*.

Apabila dalam adonan roti disediakan cukup air, gula, dan ragi, maka adonan akan mengembang. Apabila dicampur dengan air, protein glutelin dan gliadin yang ada pada tepung terigu akan membentuk adonan yang elastis dan ekstensibel (bisa mengembang) yang disebut sebagai gluten. Ragi yang ditambahkan dalam adonan akan mengkonsumsi atau memfermentasi gula menjadi gas karbondioksida yang akan mengembangkan adonan roti. Protein glutelin akan menguatkan struktur gluten dan protein gliadin membuat gluten bisa mengembang secara elastis. Selama proses fermentasi, gula akan diubah menjadi gas CO₂ dan senyawa ethanol (*ethyl alcohol*) yang berkontribusi membentuk aroma roti yang sedap. Apabila proses fermentasi terkendali dengan baik, maka akan dihasilkan produk bakery yang mempunyai volume dan tekstur yang baik serta cita rasa yang enak.

4) **Penyedap rasa**

Bumbu masak instant saat ini telah tersedia di pasaran dalam bentuk beraneka ragam, seperti : Monosodium Glutamat atau Mononatrium Glutamat (MSG) atau vetsin, kaldu, yeast extract, dll. MSG adalah salah satu bumbu instant yang paling favorit dipakai. Bahan ini diproduksi dalam skala industri secara mikrobial dengan media pertumbuhan (perkembangbiakan) bakteri yang beraneka macam.

5) **Perisa (flavor atau pemberi aroma)**

Flavor dipakai dalam industri makanan untuk memberi kesan aroma tertentu yang dikehendaki. Flavor dapat dibedakan menjadi 2

macam, yaitu flavor sintetis (buatan/artificial) dan flavor alami. Secara umum, flavor sintetis memang cenderung lebih aman karena dibuat di laboratorium dari berbagai senyawa kimia.

6) Pewarna

Bahan pewarna (*colorings*) yang biasa dipakai dalam makanan olahan terdiri dari 2 jenis, yaitu : pewarna sintetis (buatan/artificial) dan pewarna alami (natural).

- Pewarna sintetis adalah pewarna yang dibuat dari senyawa-senyawa kimia tertentu. Pewarna jenis ini sangat disukai produsen makanan karena memiliki tingkat kestabilan warna yang cukup baik (tidak mudah pudar saat pengolahan) serta harga yang relatif murah. Pewarna sintetis yang diijinkan dipakai adalah pewarna yang aman dipakai dalam makanan (*food-grade*), seperti : allura red (merah), tartrazin (kuning), dll.
- Pewarna alami adalah pewarna yang diperoleh secara ekstraksi dari alam (tumbuhan). Contoh pewarna alami yang banyak tersedia di pasaran adalah xanthaxanthine (merah). Pewarna ini sering dipakai pada industri pengalengan daging dan ikan. Pewarna organik ini dikenal memiliki tingkat kestabilan yang relatif rendah. Untuk menghindari kerusakan warna (pudar) dari pengaruh suhu, cahaya, serta pengaruh lingkungan lainnya pada saat penyimpanan maupun pengolahan, maka seringkali pada pewarna ini ditambahkan senyawa **pelapis** (*coating agent*) melalui proses *micro-encapsulation*.

7) Pelembut

Pelembut (*shortening*) adalah salah satu bahan standar yang sering dipakai pada industri roti. Para pengusaha makanan lebih familiar menyebut bahan pelembut roti ini dengan istilah **mentega putih**.

Selain memberi sensasi lembut, *shortening* ini juga disukai karena dapat memberikan sensasi renyah (*crispy*) pada produk. Pelembut umumnya dibuat dari lemak, bisa lemak hewan, lemak tanaman, maupun campuran dari keduanya.

8) **Anti gumpal**

BTP lain yang sering dipakai dalam industri pangan adalah bahan anti penggumpal (*anti-caking agent*). Bahan ini berfungsi mencegah terjadinya penggumpalan bahan selama masa penyimpanan. Bahan ini contohnya dipakai sebagai agen anti gumpal pada produk ragi kering, garam, dll. sehingga tidak mudah menggumpal saat disimpan sebelum dipergunakan

p. Jenis Mikroba yang digunakan untuk proses fermentasi dalam pembuatan produk makanan /minuman/ bahan industri

Mikroba yang ada di sekeliling kita mempunyai manfaat yang sangat besar, salah satunya untuk pengolahan makanan. Berikut ini akan dijelaskan beberapa jenis mikroba yang bermanfaat untuk pengolahan makanan, yaitu:

1) Mikroba jenis bakteri:

a) *Lactobacillus*

Bakteri ini dikenal juga dengan nama bakteri laktat terdiri dari delapan jenis yang mempunyai manfaat berbeda-beda. Di antara jenis bakteri *Lactobacillus* yang paling dikenal adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus sp.* *Lactobacillus bulgaricus* merupakan salah satu bakteri yang berperan penting dalam pembuatan yoghurt. Yoghurt merupakan hasil olahan fermentasi dari susu. Bakteri ini hidup di dalam susu dan mengeluarkan asam laktat yang dapat mengawetkan susu dan mengurai gula susu sehingga orang

yang tidak tahan dengan susu murni dapat mengonsumsi yoghurt tanpa khawatir akan menimbulkan masalah kesehatan.

Sedangkan *Lactobacillus sp.* biasanya digunakan untuk pembuatan terasi. Terasi biasanya terbuat dari udang kecil (rebon), ikan kecil ataupun teri. Proses pembuatan terasi dilakukan secara fermentasi. Rebon yang telah kering ditumbuk dan dicampur dengan bahan lain kemudian diperam selama 3-4 minggu. Selama fermentasi, protein diekstrak menjadi turunan-turunannya seperti pepton, peptida dan asam amino. Fermentasi juga menghasilkan amonia yang menyebabkan terasi berbau khas, seperti Terasi dan Kefir. Terdapat beberapa jenis *Lactobacillus* yang juga berperan dalam pembuatan kefir. Bakteri yang berperan antara lain: *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus parakefir*. Semua bakteri tadi merupakan bibit kefir dan berfungsi sebagai penghasil asam laktat dari laktosa. Sedangkan *Lactobacillus kefiranofaciens* berperan sebagai pembentuk lendir (matriks butiran kefir).

b) Streptococcus

Jenis bakteri *Streptococcus* yang biasanya digunakan dalam makanan adalah *Streptococcus lactis*. Bakteri ini berperan dalam pembuatan mentega, keju dan yoghurt. Pada pembuatan yoghurt, bakteri *Streptococcus* bekerjasama dengan bakteri *Lactobacillus*. Bakteri *Lactobacillus* berperan dalam pembentukan aroma yoghurt, sedangkan bakteri *Streptococcus lactis* berperan dalam pembentukan rasa yoghurt. Pada pembuatan mentega dan keju, bakteri *Streptococcus lactis* diperlukan untuk menghasilkan asam laktat. Pada pembuatan keju, asam laktat dapat menghasilkan gumpalan susu berbentuk seperti tahu. Gumpalan ini kemudian dipadatkan dan diberi garam. Garam berfungsi untuk mempercepat

proses pengeringan, penambah rasa dan pengawet. keju diperam untuk dimatangkan selama sekitar 4 minggu. Selama proses pemeraman inilah, cita rasa dan tekstur dari keju terbentuk.

c) *Pediococcus cerevisiae*

Bakteri *Pediococcus sp.* digunakan dalam pembuatan sosis. Tidak semua sosis dibuat melalui proses fermentasi. Sosis fermentasi dikenal dengan istilah dry sausage atau semi dry sausage. Contoh sosis jenis ini antara lain adalah Salami Sausage, Papperson Sausage, Genoa Sausage, Thurringer Sausage, Cervelat Sausage ChauzerSausage.

d) *Acetobacter*

Jenis acetobacter yang terkenal perannya dalam pengolahan makanan adalah *Acetobacter xylinum* yang berperan dalam pembuatan nata de coco. Bakteri ini disebut juga dengan bibit nata. Bakteri akan membentuk serat nata jika ditumbuhkan dalam air kelapa yang sudah asam. Dalam kondisi tersebut, bakteri akan menghasilkan enzim yang dapat membentuk zat gula menjadi serat atau selulosa. Dari jutaan bakteri yang tumbuh pada air kelapa tersebut akan dihasilkan jutaan benang-benang selulosa yang akan memadat dan menjadi lembaran-lembaran putih yang disebut nata (nata de coco). *Acetobacter xylinum* merupakan bakteri yang berperan aktif dalam mengubah fermentasi menjadi nata. Bakteri ini merupakan bakteri asam asetat. Sistematikanya adalah sebagai berikut :

Divisio : Prothophyta
Class : Schizomycetes
Ordo : Pseudomonadales
Famili : Pseudomonadaceae

Genus : *Acetobacter*

Species : *Acetobacter xylinum*

Bakteri pembentuk nata bila ditumbuhkan dalam medium yang mengandung gula, dapat mengubah gula menjadi selulosa. Selulosa yang terbentuk di dalam medium tersebut berupa benang-benang yang bersama-sama dengan polisakarida berlendir membentuk suatu jalinan seperti tekstil. Pada medium cair, bakteri ini membentuk suatu massa yang kokoh dan dapat mencapai ketebalan beberapa sentimeter. Bakteri itu sendiri terperangkap dalam massa fibriler yang terbentuk.

Sintesa polisakarida oleh bakteri ini, sangat dipengaruhi oleh tersedianya nutrisi dan ion-ion logam tertentu yang dapat mengkatalisasi atau menstimulasi aktivitas bakteri tersebut. Peningkatan konsentrasi nitrogen dalam substrat dapat meningkatkan jumlah polisakarida yang terbentuk, sedangkan ion-ion bivalen seperti Mg^{2+} , Ca^{2+} dan lainnya sangat diperlukan untuk mengontrol kerja enzim ekstraselluler dan membentuk ikatan dengan polisakarida tersebut.

Aktivasi pembentukan nata hanya terjadi pada klarisa pH 3,5-7,5. asam asetat glasial ditambahkan ke dalam medium untuk menurunkan pH medium yang optimum yaitu 4,0. sedangkan suhu yang optimum adalah pada suhu kamar antara 28-32° C.

Bakteri pembentukan nata termasuk golongan *Acetobacter* yang mempunyai ciri-ciri antara lain Gram negatif untuk kultur yang masih muda dan Gram positif untuk kultur yang sudah tua, obligat aerobik, dalam medium asam membentuk batang, sedangkan dalam medium alkali, berbentuk oval, bersifat non motil, dan tidak membentuk spora, tidak mampu mencairkan gelatin, tidak memproduksi H_2S , tidak mereduksi nitrat dan thermal death point

pada suhu 65-70°C *Bacillus sp.* bakteri ini merupakan genus dengan kemampuan yang paling luas. Pada mulanya hanya digunakan untuk menghasilkan enzim amilase. *Bividobacterium sp.* bakteri ini bersifat anaerob dan digunakan sebagai mikroba probiotik. Produk probiotik dari bakteri ini biasanya berbentuk padat. *Lactobacillus sp.* bakteri ini cukup populer karena selain dapat digunakan dalam produksi asam laktat juga banyak berperan dalam fermentasi pangan seperti yoghurt dan juga produk probiotik yang saat ini banyak diminati oleh masyarakat. Probiotik merupakan mikroba yang dikonsumsi untuk mengatur keseimbangan flora usus.

2) Mikroba jenis fungi

a) Jamur *Rhizopus oryzae*

Jamur ini sangat berperan dalam pembuatan tempe. Tempe sendiri dapat dibuat dari kacang kedelai maupun bahan nabati lain yang berprotein. Pada tempe berbahan kedelai, jamur selain berfungsi untuk mengikat atau menyatukan biji kedelai juga menghasilkan berbagai enzim yang dapat meningkatkan nilai cerna saat dikonsumsi.

b) *Neurospora sitophila*

Jamur ini berperan dalam pembuatan oncom. Oncom dapat dibuat dari kacang tanah yang ditambahkan dengan bahan makanan lain seperti bungkil tahu. Bahan-bahan tersebut dapat menjadi oncom dengan bantuan jamur oncom. Proses yang terjadi dalam pembuatan oncom hampir sama dengan pembuatan tempe.

c) *Aspergillus wentii* dan *Aspergillus oryzae*

Jamur-jamur ini berperan dalam pembuatan kecap dan tauco. Kecap atau tauco dibuat dari kacang kedelai. Proses pembuatannya mengalami dua tahap fermentasi. Proses fermentasi pertama, yaitu adanya peran jamur *Aspergillus wentii* dan *Aspergillus oryzae*.

Protein akan diubah menjadi bentuk protein terlarut, peptida, pepton dan asam-asam amino, sedangkan karbohidrat diubah oleh aktivitas enzim amilolitik menjadi gula reduksi. Proses fermentasi kedua menghasilkan kecap atau tauco yang merupakan aktivitas bakteri *Lactobacillus sp.* Gula yang dihasilkan pada Kecap proses fermentasi diubah menjadi komponen asam amino yang menghasilkan rasa dan aroma khas kecap.

d) *Saccharomyces cerevisiae*

Jamur ini dimanfaatkan untuk pembuatan tape, roti dan minuman beralkohol dengan cara fermentasi. Tape dibuat dari singkong atau beras ketan. Dalam pembuatan tape, mikroba berperan untuk mengubah pati menjadi gula sehingga pada awal fermentasi tape berasa manis. Selain *Saccharomyces cerevisiae*, dalam proses pembuatan tape ini terlibat pula mikroorganisme lainnya, yaitu *Mucor chlamidosporus* dan *Endomycopsis fibuligera*. Kedua mikroorganisme ini turut membantu dalam mengubah pati menjadi tape gula sederhana (glukosa). Adanya gula menyebabkan mikroba yang menggunakan sumber karbon gula mampu tumbuh dan menghasilkan alkohol. Keberadaan alkohol juga memacu tumbuhnya bakteri pengoksidasi alkohol yaitu *Acetobacter aceti* yang mengubah alkohol menjadi asam asetat dan menyebabkan rasa masam pada tape yang dihasilkan.

Pada pembuatan roti, fermentasi berfungsi menambah cita rasa, mengembangkan adonan roti dan membuat roti berpori. Hal ini disebabkan oleh gas CO₂ yang merupakan hasil fermentasi. Roti yang dibuat menggunakan ragi memerlukan waktu fermentasi sebelum dilakukan pemanggangan. Pembuat roti harus menyimpan adonan di tempat yang hangat dan agak lembab. Keadaan lingkungan tersebut dapat memungkinkan ragi untuk berkembang

biak, memproduksi karbon dioksida secara terus menerus selama proses fermentasi.

- **Khamir**

Istilah khamir umumnya digunakan untuk menyebut bentuk-bentuk yang menyerupai jamur dari kelompok *ascomycetes* yang tidak berfilamen tetapi uniseluler dengan bentuk ovoid atau spheroid. Khamir ada yang bermanfaat dan ada pula yang membahayakan manusia. Fermentasi khamir banyak digunakan dalam pembuatan roti, bir, wine. Khamir yang tidak diinginkan adalah yang ada pada makanan dan menyebabkan kerusakan pada uice buah, sirup, molase, madu, jelly, daging dan sebagainya. Ada berbagai khamir yang memiliki fungsi penting dalam fermentasi, di antaranya adalah: a. *Saccharomyces cerevisiae*, merupakan khamir yang paling populer dalam pengolahan makanan. Khamir ini telah lama digunakan dalam industri wine dan bir. Dalam bidang pangan, khamir digunakan dalam pengembangan adonan roti dan dikenal sebagai ragi roti. Khamir ini melakukan reproduksi vegetatif dengan membentuk tunas. Sel terbentuk ellipsoid atau silinder. Dapat membentuk pseudohifa tetapi hifa tidak bersepta. Khamir ini tidak mampu tumbuh pada nitrat sebagai satu-satunya sumber nitrogen. b. *Saccharomyces roxii*, adalah khamir yang digunakan dalam pembuatan kecap dan berkontribusi dalam pembentukan aroma.

- **Jamur**

Jamur merupakan mikroba multi seluler yang banyak dimanfaatkan manusia dalam fermentasi maupun budidaya. Dalam bidang fermentasi umumnya yang digunakan adalah jamur berbentuk hifa dan dikenal dengan sebutan jamur.

Contohnya pada pembuatan tempe dan kecap.

q. Ada beberapa jenis jamur yang memiliki kedudukan penting dalam fermentasi, antara lain adalah :

Aspergillus niger, jamur ini digunakan dalam pembuatan asam sitrat. Asam sitrat merupakan salah satu asam organik yang banyak digunakan dalam bidang pangan, misalnya pada pembuatan permen dan minuman kemasan. Jamur ini sering mengontaminasi makanan, misalnya roti tawar.

- ***Rhizopus oryzae***, jamur ini penting pada pembuatan tempe. Aktivitas jamur ini menjadikan nutrisi pada tempe siap dikonsumsi manusia. Aktivitas enzim yang dihasilkan menjadikan protein terlarut meningkat.
- ***Neurospora sitophila***, jamur ini merupakan sumber beta karoten pada fermentasi tradisional. Produk hasil fermentasi dari jamur ini adalah oncom
- ***Monascus purpureus***, jamur ini dikalangan mikrobiologi jarang dikenal karena produk yang dihasilkan. Jamur ini menghasilkan pewarna alami yang umumnya digunakan pada masakan cina.
- ***Penicillium sp.*** Jamur ini paling terkenal karena kemampuannya menghasilkan antibiotika. Selain untuk pembuatan antibiotika, spesies yang lain juga digunakan dalam pembuatan keju khusus.

r. Peranan Mikroba dalam Produksi Makanan

1) Buttermilk

Buttermilk dihasilkan dari susu skim atau susu rendah lemak dengan bantuan bakteri asam laktat. Buttermilk mempunyai karakteristik pada tekstur, rasa asam dan aroma. Tekstur dihasilkan dari pemecahan dadih. Aroma dan rasa disebabkan oleh diasetil, asetildehid dan produk metabolik lain dilepaskan oleh bakteri fermentasi. Kultur yang digunakan untuk membuat buttermilk

merupakan kultur asam laktat yang terdiri dari *Streptococcus cremoris*, *S.diacetylactis*, dan *Leuconostoc cremoris*. Jenis biakan bakteri pemula (starter culture) berbeda diantara pabrikan (manufaktur) dan beberapa menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* untuk membuat butter milk Bulgaria. Produksi asam dan pembentukan dadih dihasilkan oleh *Streptococcus cremoris* sedangkan aroma dan rasa dihasilkan dari metabolisme dan multifikasi oleh dua jenis bakteri yang lain yaitu: *S.diacetylacti* dan *Leuconostoccremoris*. Untuk membuat buttermilk, susu skim atau susu rendah lemak dihomogenisasi dan dipasteurisasi serta diinokulasi dengan 1 % biakan pemula / strater culture dan difermentasikan pada suhu 18-200°C selama 14 jam. Sesudah fermentasi, produk yang dihasilkan digoyang dengan kuat untuk memecahkan dadih, didinginkan pada suhu 40°C dan dipak dalam kontainer susu. Produk akhir akan menampakkan homogenous, cairan yang kental, dengan rasa asam dan aroma buttery.

2) *Yogurt*

Yogurt adalah susu yang difermentasikan dengan mikroba *Sterptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Secara tradisonal susu dipanaskan selama beberapa jam untuk menguapkan air dan menaikkan proporsi susu cair. Sesudah penguapan susu didinginkan pada suhu 40-42⁰C dan diinokulasikan dengan kultur yogurt yang terdahulu. Sesudah inkubasi semalaman pada tempat yang hangat, kemudian produk didinginkan. Bakteri menghasilkan diasetil, asetaldehida dan berbagai produk metabolik lain yang memberi aroma karakteristik pada yogurt. Saat ini susu yang digunakan dikentalkan dengan penambahan susu bubuk (susu padat) kemudian dipasteurisasi. Pengental seperti gelatin atau karagenen juga dapat dapat ditambahkan.

3) **Keju**

Keju dibuat dari susu dengan memisahkan dadih/curd dari whey air (air yang tinggal setelah susu dijadikan keju). Protein susu didenaturasi oleh asam laktat dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang ditambahkan pada susu sebagai kultur pemula/starter culture, atau dengan menambahkan protease renin. Metode pertama menghasilkan dadih asam, sedangkan dadih kedua menghasilkan dadih manis. Pembuatan keju merupakan proses yang dikontrol dimana dadih diperlukan dan dituangkan. Cara dadih diproses menentukan tipe keju yang dibuat.

Keju yang sederhana dapat dibuat dengan memanaskan susu sampai hampir mendidih secara cepat. Sehingga dapat membunuh sebagian besar mikroba perusak dan kemudian menambahkan kultur pemula pada susu yang sudah didinginkan. Kultur pemula yang selalu digunakan mengandung bakteri asam laktat seperti *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Leuconostoc citrovorum* dan *Leuconostoc dextranicum*. Susu yang sudah diberi kultur pemula (benih) difermentasi pada suhu 180°C selama 24 jam. Sehingga dihasilkan dadih. Whey (cairan) dapat dikeluarkan dengan menyaring dadih dalam penyaring keju. Dadih kemudian digarami untuk menghambat pertumbuhan mikroba selanjutnya. *Leuconostoc* mengeluarkan diasetil, suatu senyawa yang dibentuk dari asam sitrat yang bertanggung jawab pada aroma dan rasa keju. Keju dapat diinkubasi dalam waktu yang panjang untuk mematangkan dadih dan menumbuhkan mikroba untuk menambah rasa.

4) **Keju Swiss**

Keju lunak mengandung 50%-80% air, keju ini dikonsumsi segera sesudah mereka dibuat. Keju cottage adalah keju lunak yang tidak dimasak, sangat basah, tidak terlalu asin dan tidak sangat asam sejak pembuatannya mengandung renin. Karena mengandung asam yang

rendah, perusakan relatif cepat meskipun diletakkan dalam refrigerator. Camembert adalah susu lunak yang dimasak sehingga tidak cepat menjadi rusak. Jamur *Penicillium camemberti* tumbuh pada permukaan dadih yang menyebabkan karakteristik rasa dan aroma pada keju ini. Keju keras mengandung kurang dari 40 % air dan umumnya dimasak dengan bakteri atau jamur. Sebagai contoh keju Swiss di buat dengan bantuan bakteri *Streptococcus lactis*, *S.thermophilus*, *Propionibacterium shermanii*, *P.freudenrich*, *Lactobacillus helveticus*, *L.bulgaricus*. bakteri asam propionat memberikan keju swiss karakteristik rasa dan memproduksi pori-pori CO₂ pada dadih.

5) Tempe

Tempe adalah produk fermentasi yang amat dikenal oleh masyarakat Indonesia dan mulai digemari pula oleh berbagai kelompok masyarakat. Tempe dapat dibuat dari berbagai bahan. Namun demikian yang biasa dikenal sebagai tempe yang dikenal oleh masyarakat pada umumnya ialah tempe yang dibuat dari kedelai. Tempe merupakan makanan tradisional yang berpotensi sebagai makanan fungsional, beberapa khasiat tempe bagi kesehatan antara lain memberikan pengaruh hipokolesterolemik, antidiare khususnya karena bakteri *e.coli* enteropatogenik dan antioksidan. Nilai gizi protein tempe meningkat setelah proses fermentasi karena terjadinya pembebasan asam amino hasil aktivitas enzim proteolitik dari tempe. Tempe yang dibuat dari kedelai melalui tiga tahap yaitu (1) hidrasi dan pengasaman biji kedelai dengan perendaman beberapa lama, (2) Sterilisasi terhadap sebagian biji kedelai, (3) Fermentasi oleh jamur tempe yang diinokulasikan segera setelah sterilisasi. Jamur tempe yang biasa digunakan ialah *Rhizopus oligosporus*. Mekanisme pembentukan tempe ada 2 yaitu perkecambahan spora dan proses miselia menembus jaringan biji kedelai.

Perkembangan Spora

Perkecambahan *Rhizopus oligosporus* berlangsung melalui dua tahapan, yaitu pembengkakan dan penonjolan keluar tabung kecambah. Kondisi optimal perkecambahan adalah suhu 42°C dan pH 4,0. Beberapa senyawa karbohidrat tertentu diperlukan agar awal pembengkakan spora ini dapat terjadi. Pembengkakan tersebut akan diikuti dengan penonjolan keluar tabung kecambahnya, bila tersedia sumber-sumber karbon dan nitrogen dari luar. Senyawa-senyawa yang dapat menjadi pendorong terbaik agar terjadi proses perkecambahan

adalah asam amino prolin dan alanin, serta senyawa gula glukosa anosa dan xilosa.

Proses fermentasi hifa jamur tempe dengan menembus biji kedelai yang keras dan tumbuh dengan mengambil makanan dari biji kedelai. Karena penetrasi dinding sel biji tidak rusak meskipun isi selnya dirombak dan diambil. Rentang kedalaman penetrasi miselia ke dalam biji melalui sisi luar keeping biji yang cembung, dan hanya pada permukaannya saja dengan sedikit penetrasi miselia, menerobos ke dalam lapisan sel melalui sela-sela di bawahnya.

6) **Roti**

Roti merupakan salah satu makanan yang diproses secara awal oleh manusia. Di museum inggris ada contoh roti buatan Mesir yang dibuat 2000 tahun sebelum masehi. Roti dibuat dari campuran tepung, garam(kadang gula), air dan yeast untuk dijadikan adonan. Yeast yang umum digunakan adalah *Saccharomyces cereviseae*. *Saccharomyces* memfermentasikan karbohidrat dalam adonan dan memproduksi CO₂ dan etanol. Suhu optimum pertumbuhan dan fermentasi yeast adalah 28°C dan 32°C, dengan pH optimal antara 4 dan 5 (Sardjoko,1991). Dengan memurnikan tepung, gula juga harus ditambahkan sehingga yeast tidak mempunyai kemampuan mensintesa amilase untuk memecah butir-butir tepung untuk berlangsungnya fermentasi karbohidrat. CO₂ menyebabkan roti mengembang dan memberikan produk akhir yang ringan, tekstur porous yang karakteristik yang lambat laun mempengaruhi roti. Roti kemudian dipanggang dalam oven dan etanol menguap. Walaupun yeast mati selama pengovenan, produk metabolik tertinggal dalam roti dan menambah rasa pada roti.(Ristiati, 2008). Dalam kondisi anaerobik dalam adonan, khamir roti mengubah gula dalam adonan menjadi etanol dan karbondioksida. Gula yang defermentasikan

berupa monosakarida glukosa dan fruktosa serta disakarida sukrosa dan maltosa (Sardjoko, 1991).

7) **NatadeCoco**

Nata de coco adalah jenis komponen minuman yang merupakan senyawa selulosa yang dihasilkan dari air kelapa melalui proses fermentasi, yang melibatkan jasad renik yang dikenal dengan nama *Acetobacter xylinum*. Definisi nata adalah suatu zat yang menyerupai gel, tidak larut dalam air dan terbentuk pada media fermentasi air kelapa dan beberapa sari buah masam. Pembentukan nata terjadi karena proses pengambilan glukosa dari gula dalam air kelapa oleh sel-sel *Acetobater xylinum*. Kemudian glukosa tersebut digabungkan dengan asam lemak membentuk bahan lemak membentuk bahan pendahulu nata pada membran sel. Di bawah mikroskop nata nampak sebagai massa benang yang melilit yang sangat banyak seperti benang-benang kapas. Untuk fermentasi nata air kelapa yang masih segar disaring dengan beberapa lapis kain kemudian dipanaskan sampai mendidih dengan api besar sambil diaduk . Setelah mendidih ditambahkan asam asetat glacial. Larutan ini disebut dengan air kelapa asam bergula. Kemudian urea dilarutkan dengan sedikit air kelapa yang dimasak. Larutan ini dididihkan dan dituangkan kedalam air kelapa asam bergula. Larutan yang diperoleh disebut sebagai media nata. Media nata ditambah dengan starter kemudian dipindahkan ke dalam wadah fermentasi. Wadah berisi media ini disimpan di ruang fermentasi selama 12-15 hari sampai terbentuk lapisan nata yang cukup tebal.

8) **Tuak**

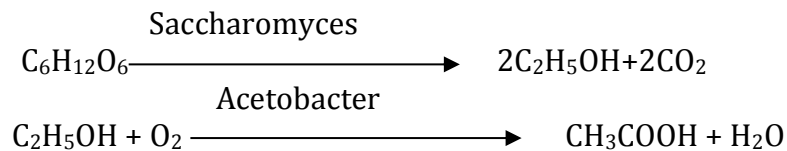
Tuak merupakan minuman tradisional yang mengandung alkohol (etil alkohol), sehingga apabila diminum terlalu banyak dapat

menyebabkan mabuk. Keberadaan Tuak di Bali selain sebagai minuman, tuak juga tidak terlepas dari upacara keagamaan. Tuak berbeda dengan arak, dimana tuak tidak tahan lama. Tuak paling enak diminum ketika baru diturunkan dari pohonnya. Tuak yang tersimpan lebih dari tiga hari akan menjadi cuka. Tuak yang baru turun dari pohonnya akan terasa manis. Maka untuk membuat rasanya lebih gurih, tuak dicampur dengan ramuan khusus yang disebut lau. Secara umum lau berpengaruh pada rasa dan kadar alkohol tuak. Lau yang digunakan sebagai campuran nira berbeda-beda di setiap daerah, dimana ada yang menggunakan sabut kelapa dan kulit tanaman cabai (Sunarta, 2008). Rasa manis pada tuak disebabkan karena adanya gula-gula reduksi seperti dextrose, fruktosa, dan sukrosa (Wahyu, 2006). Rasa manis dari tuak lama-kelamaan akan hilang atau akan berkurang karena gula yang terdapat dalam tuak akan segera difermentasi oleh mikroorganisme menjadi alkohol dan karbondioksida. Hal inilah yang menyebabkan rasa tuak menjadi keras, atau disebut dengan tuak wayah. Dengan berlangsungnya kegiatan fermentasi oleh mikroorganisme terhadap tuak maka akan terjadi perubahan kimiawi pada tuak.

Pembuatan tuak tidak terlepas dari proses fermentasi. Fermentasi adalah suatu proses penghasilan energi utama dari berbagai mikroorganisme yang hidup dalam keadaan anaerob (Campbell; Reece; Mitchell. 2003). Dalam keadaan anaerob asam piruvat tidak dirubah menjadi Asetil-KoA tetapi akan dirubah menjadi etanol (etil alkohol) dalam 2 langkah. Langkah pertama dengan melepaskan CO₂ dari piruvat, yang diubah menjadi senyawa asetal dehidra berkarbon 2. Dalam langkah kedua, asetal dehidra direduksi oleh NADH menjadi etanol. Hal ini bertujuan untuk meregenerasi pasokan NAD⁺ yang dibutuhkan untuk glikolisis. Enzim yang mengkatalisis adalah karboksilase dan dehidrogenase. Dalam fermentasi glukosa menjadi

alkohol hanya dihasilkan 2-ATP. Respirasi dilakukan secara anaerob yang secara umum dikatakan sebagai fermentasi seperti yang telah diungkap diatas bahwa kandungan tuak dan wujud dalam keadaan cair sangat baik untuk pertumbuhan mikroba. *Saccharomyces* dalam keadaan anaerob akan mengubah gula menjadi senyawa etanol dan karbondioksida. Oleh bakteri *Acetobacter* etanol akan dirubah menjadi asam cuka dan air dalam keadaan aerob.

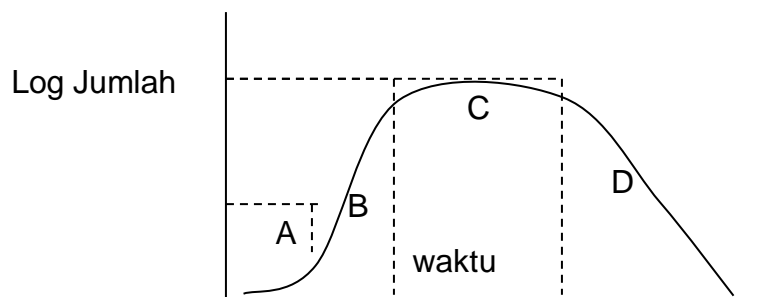
Adapun reaksi perubahan glukosa menjadi alkohol dan alkohol menjadi asam asetat sebagai berikut.



s. Kondisi Optimum Proses Fermentasi

Pertumbuhan Mikroba

Jumlah mikroba per miligram bahan yang semakin besar akan mempercepat proses dekomposisi bahan organik, namun semua proses biologis memiliki kurun waktu minimal yang tidak dapat diperpendek lagi. Pertumbuhan mikroba selama proses dekomposisi mengikuti kurva pertumbuhan logaritmik mikroba sebagai berikut :



A : Fase adaptasi

B : Fase pertumbuhan

C : Fase stasioner

D : Fase kematian

Pertumbuhan mikroba sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan hidupnya. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan diantaranya sebagai berikut:

1) **Ketersediaan nutrisi**

Bahan organik mengandung berbagai senyawa yang diantaranya terdapat senyawa-senyawa yang tergolong sulit untuk didegradasi, bahkan mungkin terdapat senyawa yang tidak dapat didegradasi secara biologis. Senyawa-senyawa yang termasuk sukar didegradasi diantaranya, lignin, selulosa dan hemiselulosa untuk bahan nabati, sedangkan untuk bahan hewani kolagen dan kitin. Kandungan senyawa-senyawa tersebut semakin tinggi akan semakin lambat proses dekomposisinya.

Jumlah senyawa kompleks seperti karbohidrat, protein dan lemak yang terdapat di dalam bahan juga akan berpengaruh terhadap proses dekomposisi. Senyawa kompleks akan lebih lambat mengalami proses dekomposisi dibanding dengan senyawa yang lebih sederhana seperti glukosa, asam amino dan gliserin. Terdapatnya bahan yang bersifat desinfektan akan menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sebaliknya terdapatnya zat nutrisi akan memacu pertumbuhan mikroba dekomposer.

2) **Keasaman atau pH**

Mikroorganisme pada umumnya tumbuh dengan baik pada sekitar pH netral, hanya jenis-jenis *osmofilik* yang dapat tumbuh pada pH rendah (asam). Jenis *fungi* lebih toleran terhadap pH rendah dibanding dengan bakteri.

3) **Kelembaban atau kadar air**

Ketersediaan air menjadi syarat mutlak bagi pertumbuhan mikroorganisme, namun jumlah air yang berlebihan akan menghambat pertumbuhan bagi mikroba yang bersifat *aerob*. Jenis *fungi* lebih toleran terhadap kondisi kadar air rendah

4) **Suhu**

Secara umum mikroba tumbuh baik pada suhu diatas 20°C di bawah 60°C. Bakteri memiliki toleransi rendah terhadap suhu tinggi kecuali jenis *termofilic*, sedangkan kelompok fungi masih dapat bertahan pada temperature diatas 70°C.

5) **Penyinaran**

Sinar ultra violet dapat menghambat pertumbuhan mikroba, bahkan pada intensitas tertentu dapat membunuh mikroba. Jenis bakteri memiliki toleransi lebih tinggi terhadap sinar. Sedangkan jenis jamur lebih peka terhadap sinar.

6) **Ketersediaan Oksigen**

Pada pembahasan jenis mikroba telah diuraikan 3 golongan mikroba yakni *aerob, anaerob* dan *aerob fakultatif*. Pada proses dekomposisi bahan organik ketersediaan oksigen akan mempengaruhi produk akhir yang diperoleh. Hal ini disebabkan oleh jenis mikroba yang dominan aktif pada proses tersebut.

t. **Pengendalian Proses Fermentasi Pembuatan Produk Industri Secara Fermentasi**

Proses Fermentasi

Fermentasi berasal dari bahasa latin yaitu *fervere* yang berarti mendidih (*to boil*) sebagai suatu kenyataan yang menunjukkan adanya aktifitas khamir pada ekstrak buah-buahan atau sereal, karena selama fermentasi dihasilkan CO₂ sehingga kondisinya menjadi anaerob. Proses fermentasi sering didefinisikan sebagai proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anaerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen.

Karbohidrat merupakan substrat utama yang dipecah dalam proses fermentasi. Bentuk polisakarida terlebih dahulu dipecah menjadi gula sederhana sebelum difermentasi, misalnya hidrolisis pati menjadi unit-unit glukosa. Selanjutnya glukosa dipecah menjadi senyawa-senyawa lain

tergantung dari jenis fermentasinya. Tahapan fermentasi meliputi pemilihan jenis mikroba dan kultur stok, menentukan media, persiapan/preparasi inokulum, proses fermentasi, mengendalikan/mengontrol proses dan pengunduhan hasil serta pemurnian hasil fermentasi (jika diperlukan).

Operasi fermentasi secara komersial dapat digolongkan menjadi tiga golongan yaitu fermentasi nonaseptis, semi aseptis dan aseptis. Fermentasi non aseptis biasanya terjadi secara spontan di alam. Contoh fermentasi non aseptis adalah produksi protein sel tunggal (PST) dari hidrokarbon. Fermentasi semi aseptis memerlukan kondisi (lingkungan dan media) yang agak spesifik dan sedikit terkontrol, contohnya fermentasi alkohol. Sedangkan fermentasi aseptis adalah fermentasi yang harus dilakukan secara penuh karena adanya kontaminasi mikroba lain dapat mengakibatkan kegagalan proses (fatal), contohnya fermentasi produksi antibiotik.

Fermentasi merupakan proses yang relatif murah dan pada hakekatnya telah lama dilakukan oleh nenek moyang kita secara tradisional dengan produk-produknya yang sudah biasa dimakan orang sampai sekarang seperti tempe, oncom, tape, dan lain sebagainya. Proses fermentasi dengan teknologi yang sesuai dapat menghasilkan produk yang mengandung protein lebih tinggi. Protein yang berasal dari mikroba sebagai sumber pangan manusia mulai dikembangkan pada awal tahun 1900. Protein mikroba ini kemudian dikenal dengan sebutan *Single Cell Protein* (SCP) atau Protein Sel Tunggal (PST). Menurut Tannembaum (1971), protein sel tunggal adalah istilah yang digunakan untuk protein kasar atau murni yang berasal dari mikroorganisme, seperti bakteri, khamir, kapang, ganggang dan protozoa.

Terdapat dua istilah yang sering digunakan untuk produk protein dari mikroba yaitu Protein Sel Tunggal (PST) dan *Microbial Biomass Product* (MBP) atau Produk Biomassa Mikrobial (PBM). Bila mikroba yang digunakan tetap berada dan bercampur dengan masa substratnya maka seluruhnya dinamakan PBM. Bila mikroba dipisahkan dari substratnya maka hasil panennya dinamakan PST. Kebanyakan produk berasal dari substrat yang mengandung karbon. Berbagai macam produk antara yang dihasilkan dari glukosa dan selanjutnya diubah menjadi asam piruvat. Dari asam piruvat akan direduksi menjadi asam laktat, asam butirat, asam propional, butanediol, etil alkohol dan sebagainya.

Produk yang dihasilkan tergantung pada ada dan tidaknya enzim mikroba. Sebagai contoh bakteri asam laktat tidak menghasilkan enzim piruvat dekarboksilase, tetapi mereduksi piruvat menjadi asam laktat, sedangkan khamir dapat menghasilkan piruvat dekarboksilase untuk mereduksi senyawa CO₂ menjadi etanol. Metabolisme glukosa dalam kondisi anaerob melalui jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP). Melalui reaksi *Entner Doudoroff* didegradasi menjadi etil alkohol, seperti yang dilakukan oleh *Pseudomonas*. Piruvat dapat diubah menjadi asam laktat, seperti yang dilakukan oleh *Leuconostoc mesenteroides*.

Beberapa jenis fermentasi yang dilakukan oleh mikroba mempunyai sifat karakteristik tersendiri antara lain:

- 1) **Tipe fermentasi yang dibedakan atas pertumbuhan mikroba dan produk.**
 - a) Sinonim : produksi protein sel tunggal
 - b) Asosiasi (*associated*) : fermentasi alkohol asam sitrat, dan asam laktat.
 - c) Nonasosiasi (*non associated*): fermentasi antibiotik.
 - d) *Stepwise*: fermentasi antibiotik

2) Jenis mikroba yang berperan dalam industri adalah bakteri, fungi, khamir, alge dan protozoa

- a) Bakteri contohnya: *Zymomonas mobilis*, *Clostridium acetobutylicum*, *Acetobacter aceti*.
- b) Fungi contohnya: *Aspergillus oryzae*, *Penicillium notatum*, *Rhizopus oligosporus*
- c) Khamir contohnya : *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Saccharomyces pombe*.
- d) Virus perlu dipelajari karena penyebab kontaminasi
- e) Protozoa penting dalam penanganan limbah
- f) Alge untuk produksi bahan makanan yaitu agar, protein sel tunggal.

3) Peranan mikroba dalam metabolismenya.

- a) Katabolisme : fermentasi alkohol, aseton, butanol dan asam organik
- b) Anabolisme : fermentasi polisakarida protein, asam nukleat, alkaloid.

4) Enzim yang berperan dalam fermentasi.

- a) Katalisator enzim dapat mempercepat reaksi kimia 10¹²–10²⁰ kali dibandingkan dengan katalisator anorganik.
- b) Reaksi dengan menggunakan enzim untuk mendapatkan produk melalui degradasi tahap demi tahap.
- c) Energi yang dihasilkan oleh enzim ditangkap lalu dilepas, tidak seperti katalisator anorganik.
- d) Enzim dapat menurunkan energi aktivasi reaksi.

- 5) Substrat dasar yang digunakan dapat dari karbohidrat dan senyawa nitrogen organik.

Table 6. Macam-Macam Fermentasi Karbohidrat (Anonim 2006)

NO	Macam	Glikolisis	Hasil Akhir Utama
1	Fermentasi alkohol - oleh khamir - oleh bakteri	HDP EDP	etanol, CO ₂ etanol, CO
2	Fermentasi asam laktat - homofermentasi (homolaktat) - heterofermentasi (heterolaktat)	HDP HMP	asam laktat, etanol asam asetat dan CO ₂
3	Fermentasi asam propionat	HDP	asam propionat, asam asetat, CO ₂
4	Fermentasi asam butiran	HDP	Isopropanol.
5	Fermentasi asam campur	HDP	etanol, asetat, format, H ₂ , CO ₂ , laktat, suksinat
6	Fermentasi butanediol	HDP	butanediol, etanol, laktat, suksinat, asetat, H ₂ , CO ₂ .

Tahapan fermentasi

a) Pemilihan mikroba

Mikroba yang dipakai dalam industri akan sangat bermanfaat bila disimpan untuk penggunaan lebih lanjut tanpa mengurangi kemampuan tumbuh dan produksinya. Ada dua macam kultur yaitu *primaryculture* dan *working culture*.

b) Media Fermentasi

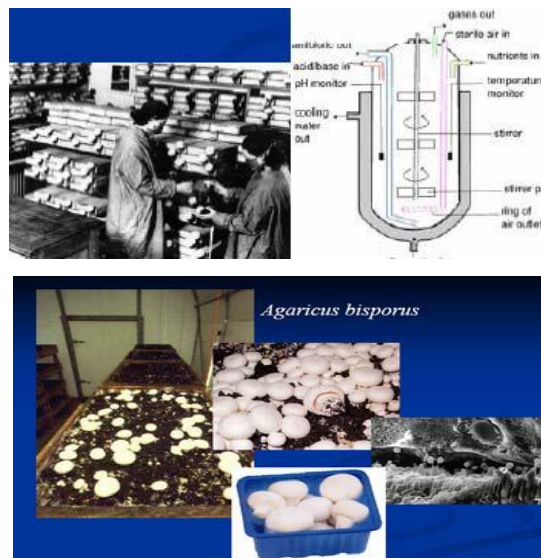
Media sangat penting dalam fermentasi karena mikrobia mampu tumbuh pada substrat tersebut. Media harus mengandung makro nutrien

Media fermentasi dapat digolongkan menjadi dua macam yaitu media sintetik dan kompleks.

c) Preparasi Inokulum

Media untuk penyiapan inokulum biasanya berbeda dengan media fermentasi. Media untuk inokulum untuk menghasilkan sel mikrobia dalam jumlah besar tanpa terjadi perubahan sifat genetik sel. Konsentrasi penggunaan 0,5 % sampai 5 % volume, kadang 10 % - 20 % inokulum yang terlalu sedikit mengakibatkan waktu fermentasi menjadi lama dan produktivitas menurun.

d) Kontrol proses fermentasi dan pengunduhan produk.



Gambar 34 Contoh Aplikasi Teknologi Fermentasi (Anonim, 2005)
Sumber gambar ,www.google.com/imgreessa

Fermentasi telah kita kenal dapat meningkatkan nilai gizi, daya cerna dan daya awet bahan pangan. Pada proses fermentasi terjadi penguraian dari senyawa kompleks menjadi senyawa lebih sederhana atau terjadi pembentukan zat baru.

Proses fermentasi mempunyai peranan penting dalam pengolahan hasil pertanian. Dengan proses fermentasi akan terjadi pemecahan senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana, sehingga dapat meningkatkan nilai gizi dan daya cerna serta daya awet produk.

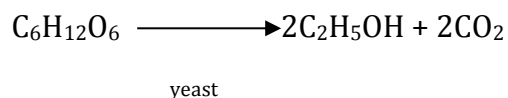
Pada dasarnya proses fermentasi dapat berlangsung dengan menggunakan enzim, baik yang sengaja ditambahkan maupun enzim yang dibentuk dengan memanfaatkan aktivitas mikroba. Pada umumnya industri fermentasi masih memanfaatkan mikroba dalam proses fermentasinya, karena cara ini disamping lebih mudah dan murah, juga pertimbangan sulitnya mengekstrak enzim. Mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi adalah bakteri, khamir (ragi/yeast) dan kapang (jamur).

- **Fermentasi dengan Khamir**

Proses fermentasi dengan khamir dapat dilakukan menggunakan satu spesies khamir maupun menggunakan gabungan beberapa jenis khamir. Pembuatan roti, anggur dan bir merupakan contoh pemanfaatan proses fermentasi menggunakan satu spesies khamir yaitu *Saccharomyces cereviceae*. Sedangkan pembuatan tape dan brem merupakan proses fermentasi menggunakan beberapa jenis khamir seperti *Endomycopsis*, *Candida*, *Hansenula*, dan *Saccharomyces*, disamping mikroba-mikroba lain yang turut berperan aktif seperti kapang dan bakteri.

Pada pembuatan roti, proses fermentasi akan mengubah gula menjadi gas CO₂ dan alkohol. Gas CO₂ yang diproduksi secara

cepat menyebabkan terbentuknya rongga-rongga di dalam adonan sehingga roti menjadi mengembang. Gula yang diubah oleh khamir adalah gula yang berasal dari tepung terigu atau dari gula yang sengaja ditambahkan. Prinsip reaksi fermentasi oleh khamir pada substrat gula dapat digambarkan sebagai berikut (Potter, N., 1986).



Jika ditinjau peran beberapa jenis khamir pada proses fermentasi tape dan brem pada prinsipnya sama dengan peran khamir pada pembuatan roti. Beberapa khamir tersebut juga berperan mengubah gula dari hasil degradasi pati oleh kapang menjadi alkohol. Sehingga dapat dikatakan fermentasi dengan menggunakan beberapa jenis khamir maupun fermentasi yang hanya memanfaatkan satu jenis khamir pada prinsipnya sama.

- **Pembuatan Roti**

Organisme yang berperan adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Khamir tersebut menghasilkan gas sehingga adonan mengembang dan menyebabkan tekstur roti lepas/lunak dan berpori. Adonan roti terdiri atas campuran tepung terigu, air, garam, khamir, gula, telur dan lain-lain.

Mekanisme fermentasi oleh khamir yaitu mula-mula gula yang terkandung di dalam tepung dan gula yang ditambahkan difermentasi oleh khamir. Karbohidrat tepung diubah menjadi maltosa oleh enzim amilase dalam tepung diubah menjadi glukosa. Selanjutnya glukosa tersebut oleh maltase dari khamir dipecah menjadi etanol, CO₂, komponen volatil, dan produk-produklainnya. CO₂ ditahan oleh gluten. Gluten merupakan

protein tepung terigu yang tidak larut dalam air. Gluten bersifat elastis dan dapat memanjang.

Adanya gluten dan CO₂ yang dihasilkan oleh khamir menyebabkan gluten mengembang selama fermentasi.

Pengaruh suhu: pada suhu rendah maka pembentukan gas terhambat; jika suhu terlalu tinggi maka gas yang dihasilkan terlalu banyak, volume adonan terlalu besar. Suhu yang terlalu tinggi menyebabkan fermentasi berjalan terlalu cepat, adonan memberikan rasa dan aroma lebih asam.

Untuk menghindari kenaikan suhu terlalu cepat, maka ditambahkan air dingin (air es) untuk membuat adonan.

Gula ditambahkan dalam adonan untuk memberikan rasa manis, sebagai sumber energi bagi khamir, memberikan warna kuning kecoklatan pada permukaan roti.

Garam ditambahkan dalam jumlah kecil. Garam dapat memantapkan rasa manis. Tujuan utama penambahan garam untuk mengendalikan proses fermentasi. Dalam membuat adonan roti perlu dihindari terjadinya kontak antara garam dengan khamir atau ragi roti secara langsung. Untuk menghindari kontak tersebut, maka khamir dicampur lebih dahulu dengan tepung terigu, kemudian dimasukkan bahan-bahan lain selain garam, terakhir baru ditambahkan garam.

Umumnya dalam resep-resep pembuatan roti sudah dituliskan cara pembuatan roti yang dimaksud.

- Suhu optimum 25 - 30°C, pH 6.
- Flavor roti asam (*souerdough*) tidak hanya mengandalkan kerja khamir, tetapi juga oleh bakteri asam laktat (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*) (*L. plantarum* dan *L. brevis*, roti regge dan roti pumpernickel adalah roti asam (*L. mesenteroides*)).

- Suhu pemanggangan roti berkisar antara 160 -200 °C, tergantung dari besar-kecilnya ukuran adonan bakal roti yang dibentuk.
- Secara umum proses pembuatan roti sebagai berikut: persiapan peralatan, penimbangan dan pengukuran bahan, pencampuran, fermentasi ke-1, pembagian menjadi ukuran-ukuran sesuai dengan berat yang diinginkan, *moulding* (pembulatan adonan), fermentasi ke-2, pengisian (untuk roti manis), fermentasi ke-3, pemanggangan dan pendinginan.

- **Kecap**

Kecap ada yang asin dan ada yang manis. Proses pembuatannya: kedelai dicuci dan direbus, dikukus, dikeringkan, diinokulasi dengan *A. oryzae*.

- Fermentasi I (3 – 5 hari) ditambahkan larutan garam 20%
- Fermentasi II (bakteri dan ragi, 3 – 4 minggu) direbus dengan air, disaring, filtrat (cake press untuk makanan ternak), pasteurisasi, ditambah caramel dan bumbu-bumbu kemudian disaring

- **Tauco**

Fermentasinya terdiri atas 2 tahap: 1) fermentasi kapang (*R. oryzae*, *oligosporus*, *A.oryzae*) dan 2) fermentasi larutan garam (bakteri asam laktat)

Pembuatan tauco:

- Pelepasan kulit ari dan pencucian kedelai
- Peredaman 24 jam
- Pengukusan 1 – 2 jam
- Penirisan dan pendinginan
- Inokulasi
- Inkubasi 2 – 5 hari pada suhu kamar

- Hancurkan atau tidak
- Beri larutan garam 25 – 50%
- Fermentasi 10–20 hari pada suhu kamar
- Penambahan gula merah
- Perebusan

- **Brem**

Berdasarkan cara pembuatannya dikenal dua jenis brem, yaitu brem padat dan brem cair. Brem padat berwarna putih sampai kecoklatan dengan rasa manis keasaman yang merupakan hasil pemasakan atau pengeringan sari tapai. Brem cair yang populer dengan sebutan brem bali merupakan jenis minuman yang rasanya manis, sedikit asam, dan berwarna merah dengan kandungan alkohol 3-10%. Fermentasi dalam pembuatan brem berlangsung dalam dua tahap, yaitu tahap fermentasi gula dan tahap fermentasi alkohol.

Pada fermentasi gula terjadi pemecahan zat pati dalam bahan oleh amilase, yaitu enzim pemecah pati yang diproduksi oleh mikroorganisme dalam ragi, membentuk gula-gula sederhana (glukosa). Dalam fermentasi alkohol, gula-gula sederhana tersebut dipecah menjadi alkohol dan gas karbondioksida. Agar fermentasi dapat berlangsung biasanya bahan ditutup supaya kedap udara karena proses ini harus dilakukan tanpa kontak dengan udara (oksigen).

Fermentasi berlangsung tidak spontan, artinya dapat berlangsung dengan penambahan ragi (starter) pada bahan baku.

6) **Fermentasi dengan Bakteri**

Menurut ilmu biokimia, fermentasi adalah perubahan kimia yang terjadi pada bahan organik (bahan pangan) oleh enzim. Enzim tersebut dapat

dihasilkan oleh mikroba atau oleh enzim yang ada pada bahan pangan tersebut. Sedangkan menurut ilmu teknologi pangan, fermentasi dapat diartikan sebagai suatu proses pengawetan bahan pangan, karena beberapa jenis fermentasi akan memproduksi alkohol dan asam yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis mikroba kontaminan (pencemar).

Bakteri merupakan mikroba yang sangat penting dalam industri pengolahan hasil pertanian. Proses fermentasi dengan bakteri dapat berlangsung secara spontan, artinya dalam proses tersebut tidak memerlukan penambahan kultur murni bakteri, tetapi bakteri yang diharapkan dapat melakukan aktivitas fermentasi, secara alami sudah ada pada bahan atau lingkungan di sekitarnya.

Pada prinsipnya semua proses fermentasi dengan bakteri adalah sama, yaitu proses perubahan/peruraian kimia yang terjadi pada bahan. Setiap jenis bakteri hanya dapat tumbuh pada media (bahan) tertentu saja dan hasil fermentasinya juga tertentu (spesifik).

Berikut beberapa proses dengan menggunakan fermentasi bakteri:

- Pembuatan makanan dan minuman hasil fermentasi contohnya *Acetobacter* pada pembuatan asam cuka, *Lactobacillus bulgaricus* pada pembuatan yoghurt, *Acetobacter xylinum* pada pembuatan nata de coco dan *Lactobacillus casei* pada pembuatan keju yoghurt.
- Penyubur tanah contohnya *Nitrosococcus* dan *Nitrosomonas* yang berperan dalam proses nitrifikasi menghasilkan ion nitrat yang dibutuhkan tanaman.
- Penghasil antibiotik contohnya adalah *Bacillus polymyxa* (penghasil antibiotik polimiksin B untuk pengobatan infeksi bakteri gram negatif, *Bacillus subtilis* penghasil antibiotik untuk pengobatan infeksi bakteri gram positif, *Streptomyces griseus* penghasil

antibiotik streptomisin untuk pengobatan bakteri gram negatif termasuk bakteri penyebab TBC dan *Streptomyces rimosus* penghasil antibiotik terasiklin untuk berbagai bakteri.

- Pembuatan zat kimia misalnya aseton dan butanol oleh *Clostridium acetobutylicum*
- Berperan dalam proses pembusukan sampah dan kotoran hewan sehingga menghasilkan energi alternatif metana berupa biogas. Contohnya *methanobacterium*
- Penelitian rekayasa genetika dalam berbagai bidang. sebagai contoh dalam bidang kedokteran dihasilkan obat-obatan dan produk kimia bermanfaat yang disintesis oleh bakteri, misalnya enzim, vitamin dan hormon.
- Pembuatan Nata de coco. Kata "nata" diambil dari bahasa Spanyol yang berasal dari kata Latin "natare" yang artinya "mengapung". Nata dapat dibuat dari bermacam-macam sari buah-buahan sebagai medianya seperti pisang, nanas, tomat, mangga, pepaya, air kelapa, dan lain-lain. Produknya diberi nama sesuai dengan jenis media yang digunakan. Pemberian nama jenis nata diawali dengan nata dan diikuti jenis bahan baku yang digunakan di belakang kata nata. Sebagai contoh nata de coco, berarti media yang digunakan adalah air kelapa. Nata de soya menggunakan sari kedelai, nata de pina menggunakan sari buah atau limbah nanas, dan sebagainya.

Larutan yang akan dibuat nata harus mengandung gula sebagai sumber karbon bagi mikroorganisme penghasil nata dengan proporsi dan keasaman larutan harus sesuai dengan persyaratan tumbuh bakteri yang digunakan, dan diperlukan penambahan nutrisi seperti amonium sulfat, urea, dan amonium fosfat sebagai sumber nitrogen.

Terbentuknya nata karena adanya bakteri *Acetobacter xylinum* yang sengaja ditumbuhkan pada media seperti air kelapa. *A. xylinum* dapat hidup dan berkembang biak dalam larutan tertentu dengan suhu 28 °C, pH 3 – 5,5, tersedia sumber karbon dan nitrogen.

Jadi, medium yang digunakan untuk pembuatan nata de coco harus kaya akan zat gizi sehingga memungkinkan bakteri *A. xylinum* penghasil nata melakukan metabolisme yang hasilnya berupa lapisan selulosa. Hasil metabolisme tersebut membentuk lapisan putih yang liat. Makin lama fermentasi maka lapisan sebagai hasil metabolisme bakteri *A. xylinum* makin tebal.

Proses fermentasi dalam pembuatan nata berlangsung antara 6 sampai 14 hari. Pembentukan lapisan selulosa akan terus berlangsung apabila mediumnya masih ada.

Fermentasi dalam pembuatan nata de coco termasuk ke dalam fermentasi tidak spontan karena membutuhkan kultur mikroorganisme atau starter yang ditambahkan ke dalam medium berupa air kelapa.

Untuk membuat nata de coco (salah satu contoh jenis nata yang terkenal) yaitu:

- Menyiapkan peralatan, seperti panci, kompor/pemanas, timbangan, gelas ukur, wadah plastik, saringan santan, koran dan karet (untuk penutup wadah fermentasi).
- Memilih bahan dan starter yang memenuhi kualitas yang diinginkan.
- Mengukur dan menimbang bahan sesuai dengan formulasi yang digunakan.
- Menyaring air kelapa kemudian direbus hingga mendidih. Apabila terbentuk buih pada permukaan air kelapa yang direbus maka buih tersebut diambil menggunakan saringan santan.

- Memasukkan semua nutrisi, dilanjutkan dengan pemanasan hingga seluruh bahan larut.
- Dalam kondisi panas, larutan media air kelapa yang sudah dipanaskan dimasukkan dalam wadah plastik yang bersih, kemudian langsung ditutup dengan kertas koran dan diikat rapat, kemudian didinginkan.
- Setelah dingin, diinokulasi (ditambahkan) dengan starter nata de coco secara aseptis.
- Kemudian dilakukan inkubasi selama 6-12 hari.
- Ciri-ciri nata de coco yang baik: tidak terkontaminasi (tidak ditumbuhi kapang), tidak berlubang, warna putih, tekstur liat, tebal sesuai dengan yang diinginkan.

a) Penggunaan BAL(Bakteri Asam Laktat) dalam Fermentasi Susu

Sifat yang terpenting dari bakteriasam laktat adalah kemampuannya untuk memfermentasi gula menjadi asam laktat. Sifat ini penting dalam pembuatan produk-produk fermentasi seperti fermentasi sayuran (sauerkraut, pickel dan sebagainya), fermentasi susu (keju, yoghurt, kefir dan sebagainya), fermentasi ikan dan daging. Produksi asam oleh bakteri asam laktat berlangsung secara cepat sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain yang tidak diinginkan. Genus yang banyak digunakan dalam fermentasi susu antara lain adalah *Streptococcus* dan *Lactobacillus* (Surono, 2004). *Streptococcus thermophilus* mempunyai bentuk bulat (kokus) dengan diameter sel 0,7-0,9 μm . Pada susu, bakteri ini membentuk rantai panjang yang terdiri atas 10- 20 sel. Berdasarkan aktivitas metabolisme karbohidrat, bakteri ini

bersifat homofermentatif yang mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk metabolit utamanya. Asam laktat yang terbentuk berupa L(+) asam laktat. Memiliki suhu optimum bagi pertumbuhannya yaitu 38°C dan akan terhenti pada suhu 100°C (Robinson, 1999; Wahyudi, 2006). *Lactobacillus delbrueckii* subspesies *bulgaricus* berbentuk batang dengan sel berukuran 0,5-0,8 µm x 2,0-9,0 µm. Pada susu, bakteri ini membentuk rantai pendek yang terdiri dari 3-4 sel. Memiliki suhu optimum pertumbuhannya yaitu 45°C. Bersifat homofermentatif dengan menghasilkan asam laktat yang berupa D(-) asam laktat sebesar 1,7-2,1 % pada susu (Robinson, 1999).



Gambar 35. Beragam Produk Fermentasi Susu Menggunakan BAL (Anonim, 2005)

Sumber : www.google.com/ imgreessa

b) Pembuatan Yoghurt

Produk hasil fermentasi susu makin berkembang baik dengan beberapa jenis produk, contoh : yoghurt, kefir, dadih, “yakult” dan lain-lain. Konsumsi yoghurt dari hari ke hari juga meningkat seiring dengan kebutuhan konsumen dan kesadaran akan pentingnya menjaga kesehatan. Pada beberapa negara nama yoghurt biasa berbeda-beda, misal *mast* di Iran, *leben*,

laban di Irak dan Libanon, *zanady* di Mesir, *matzoon*, *madzoon* di Armenia, *yaourt* di Rusia, *naja* di Bulgaria.

Yoghurt merupakan produk fermentasi susu yang berasal dari Turkey dengan menggunakan campuran culture dari *Lactobacillus bulgaricus* (or occasionally *L. acidophilus*) dan *Streptococcus thermophilus*, selanjutnya bakteri tersebut akan memproduksi asam laktat selama fermentasi lactose. Asam laktat akan menurunkan pH dan membentuk curd gumpalan) sebagai akibat protein susu menggumpal (*causes the milk protein to thicken*). Dengan adanya bakteri yang memfermentasi susu maka yoghurt menjadi lebih mudah dicerna dibandingkan susu. Selain itu bakteri tersebut membantu memperbaiki sistem pencernaan Sementara itu, yoghurt yang ditambahkan hancuran buah, diberi nama sesuai dengan jenis buah yang digunakan (*fruit yoghurt*), sedangkan yoghurt yang tidak ditambah buah atau essence disebut *plain yoghurt* atau yoghurt netral.



**Gambar 36. Produksi Yoghurt Skala Industri
(Anonim, 2005)**

Sumber : www.google.com/ imgreessa

c) Bakteri Asam Lactat (BAL) dalam Fermentasi Keju

Keju berasal dari kata Inggris kuno yaitu *cese* dan *chiese*, atau daribahasa latin *caseus*. Kata-kata yang sama dalam bahasa Jerman untuk keju adalah *kase*, sedangkan di Perancis *fromage* serta Spanyol dan Italia menamakan produk ini sebagai *queso* dan *formaggio*.

Keju terbuat dari bahan baku susu baik itu susu sapi, kambing, dan kerbau. Proses pembuatannya dilakukan dengan pembentukan dadih setelah terlebih dahulu melakukan pasteurisasi terhadap susu. Pasteurisasi ditujukan untuk menghilangkan bakteri pathogen sekaligus menghilangkan bakteri pengganggu dalam proses pembuatan dadih. Pembuatan dadih atau proses penggumpalan mulai terjadi saat ditambah starter kultur bakteri laktat, kultur bakteri. Ini menyebabkan terjadi fermentasi hingga pada pH tertentu. Enzim atau pun asam ditambahkan saat telah dicapai kondisi yang sesuai untuk enzim atau asam sehingga proses koagulasi tercapai. Penambahan enzim atau pun asam bertujuan untuk menurunkan pH hingga 4.5 dimana pH tersebut merupakan titik isoelektrik kasein.

Gumpalan susu yang terbentuk didasar alat, kemudian diambil dengan cara filtrasi. Gumpalan susu ini kemudian dipres untuk mengeluarkan wheynya. Penambahan garam pada hasil gumpalan yang di filtrasi akan menghasilkan keju *cottage*. Untuk menghasilkan keju jenis lainnya, gumpalan susu yang disaring ini kemudian di pres dengan waktu yang bervariasi tergantung jenis keju yang diinginkan. Pada proses penekanan ini terjadi pula proses pematangan. Biasanya di Inggris proses

pematangan memakan waktu lebih kurang 10 minggu sehingga menjadi keju yang dinamakan keju keras (*cheddar*) sedangkan di Amerika untuk menghasilkan keju keras (*cheddar*) dengan terlebih dahulu dicelupkan dalam parafin untuk mencegah kekeringan, serta dibiarkan mengeras sekitar enam bulan. Pada proses pematangan dapat ditambahkan mikroba-mikroba tertentu untuk menghasilkan keju yang diinginkan. Selama proses pematangan ini banyak senyawa-senyawa khas yang dihasilkan tergantung dari bakteri yang ditambahkan. Keju Swis yang khas dengan cita rasa asam propionatnya dihasilkan oleh bakteri *Propionibacterium shermani*. Selain itu lubang-lubang yang dihasilkanpun terjadi karena terbentuknya gas karbondioksida yang diproduksi selama fermentasi.

Ada lagi keju yang dinamakan keju *Roquefort*, yang berwarna biru khas. Keju ini berasal dari desa Roquefort di Perancis. Dalam prosesnya keju ini ditambahkan dengan jamur *Penicilin roqueforti*. Penambahan jamur selama proses pematangan ini mengakibatkan keju berurat dan warnanya menjadi biru yang khas. Adapun untuk keju *camemberti*, ditambahkan *penicilin camemberti* pada proses pematangannya yang juga memberikan efek warna biru dan cita rasa khas *camembert*. Adapun keju yang dikenal oleh para ibu yang sering membuat kastengel atau *cheese stick* adalah jenis keju *edam*. Keju ini berasal dari Belanda yang termasuk golongan keju keras (*hard cheese*) yang kadar airnya berkisar antara 20-42 persen.

Dadih/yoghurt Indonesia



Kefir Gambar 37 Contoh Jenis Keju (Anonim, 2005)

Sumber : www.google.com/ imgreessa

u. Pada bidang industri makanan terdapat beberapa bakteri yang menguntungkan dengan proses fermentasi, yaitu:

- *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*, digunakan untuk membuat yoghurt.
- *Acetobacter xylinum*, digunakan untuk membuat nata de coco.
- *Streptococcus lactis*, digunakan untuk membuat keju.
- *Acetobacter* sp, digunakan untuk membuat cuka.

Di bidang farmasi juga terdapat bakteri yang menguntungkan, diantaranya:

- *Streptomyces griseus*, menghasilkan antibiotik streptomisin (membunuh bakteri penyebab TBC).
- *Streptomyces aureofaciens*, menghasilkan antibiotik aureomisin.
- *Streptomyces olivaceus*, untuk menghasilkan sianokobalamin vitamin B12.
- *Streptomyces venezuelae*, menghasilkan antibiotik kloromisetin.
- *Bacillus brevis*, menghasilkan antibiotik tiromisin Bakteri *Bacillus brevis* (antibiotik).
- *Pseudomonas denitrificans* dan *Propioni bacterium*, menghasilkan vitamin B12
- *Clostridium acetobutylicum*, menghasilkan aseton dan butanol.
- *Xanthomonas campestris*, menghasilkan polisakarida.

- *Acetobacter aceti*, digunakan untuk membuat asam cuka.
- *Leucanostoc masenteroides*, menghasilkan dekstran.
- *Lactobacillus delbruecki*, penghasil asam laktat.

1) **Fermentasi Alkohol (*Wine*)**

Hampir sebagian besar industri minuman beralkohol menggunakan produk pertanian sebagai bahan mentah dan khamir yang mengkonversikan menjadi minuman melalui proses fermentasi. Pada fermentasi alkohol memerlukan substrat gula sedangkan pada fermentasi *wine* menggunakan sari buah anggur (*Vitis vinifera*). Buah tersebut merupakan medium yang baik karena :

- Kandungan nutrisi cukup tinggi
- Mempunyai keasaman yang tinggi sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikrobia yang tidak diinginkan.
- Kandungan gula cukup tinggi
- Mempunyai aroma yang sedap.

Fermentasi anggur dilakukan dengan penambahan SO₂ ke dalam jus/cairan buah anggur dengan tujuan untuk:

- Mencegah browning selama penghancuran buah dan
- Menghambat aktivitas khamir lain

Wine dibedakan menjadi dua yaitu:

- *Wine* merah (*red wine*): anggur yang dibuat dari keseluruhan buah anggur berwarna merah.
- *Wine* putih (*white wine*): anggur yang dibuat dari buah anggur berwarna hijau dan juga warna merah yang telah dikupas kulitnya

Table 7. Jenis Khamir dan Wine yang Dihasilkan (Anonim, 2006)

Jenis Khamir	Dapat ditemukan pada
<i>Candida pulcherima</i> (<i>Metschnikovia pulcherima</i>)	Ekstrak (hancuran buah anggur) dan wine
<i>Sccharomyces cerevisia</i>	Wine klasik
<i>Kloeckera africana</i> ; <i>K. apiculat</i>	Wine dan buah anggur
<i>S. carlsbergensis</i> ; <i>S. rouxii</i>	Wine dan buah anggur
<i>Torulopsis stelatta</i>	Wine

Proses akibat aktivitas khamir yang telah lama dikenal adalah fermentasi bir dan minuman anggur (*wine*). Proses tersebut melibatkan khamir yang secara alami banyak terdapat dalam buah-buahan atau biji-bijian yaitu genus *Saccharomyces*. Beberapa jenis khamir yang terlibat dalam fermentasi minuman beralkohol tercantum pada tabel berikut:

Table 8. Jenis khamir dalam fermentasi minuman beralkohol.

Produk Fermentasi	Mikrobia
<ul style="list-style-type: none"> • Bir • Anggur (<i>wine</i>) • <i>Cider</i> • Sake dari beras • Tuak • Madu difermentasikan • Tape • Kumiss dari susu (Rusia) • Kecap • Miso dari kedelai dan beras 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Saccharomyces carlbegensi</i> dan <i>S. cerevisiae</i> • <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>ellipsoides</i> • <i>Saccharomyces cerevisiae</i> var. <i>ellipsoides</i> • <i>Saccharomyces sake</i> dan <i>Aspergillus</i> • <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan <i>Schyzosacharomyces</i> • <i>Saccharomyces cerevisiae</i> • <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, <i>Candida tropicalis</i> dan <i>Pediococcus</i> • <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, <i>Lactobacillus</i> • <i>Saccharomyces</i> dan <i>Aspergillus oryzae</i>

	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Saccharomyces rouxii</i>, <i>Aspergillus oryzae</i>
--	--

Minuman fermentasi yang tertua adalah bir yang sudah diproduksi sejak tahun 4000 SM. Bir dibuat dari bahan baku antara lain:

- Gandum (barley), padi-padian atau bijian yang lain, yang diolah menjadi roti, kemudian dihancurkan disuspensikan dengan air dan difermentasikan.
- Rasanya ada yang manis dan ada yang masam.

Bir pada tahun 700 SM terbuat dari biji-bijian tanpa ditambah hop (bunga) sehingga rasanya berbeda dengan bir sekarang (lebih klasik) dengan ditambah rempah-rempah. Pada abad ke-15 M, bir telah divariasi aromanya dengan menggunakan hop. Bir pada masa sekarang terbuat dari perkecambahan gandum, tepung beras atau jagung, air serta hop yang selanjutnya difermentasikan dengan menggunakan khamir.

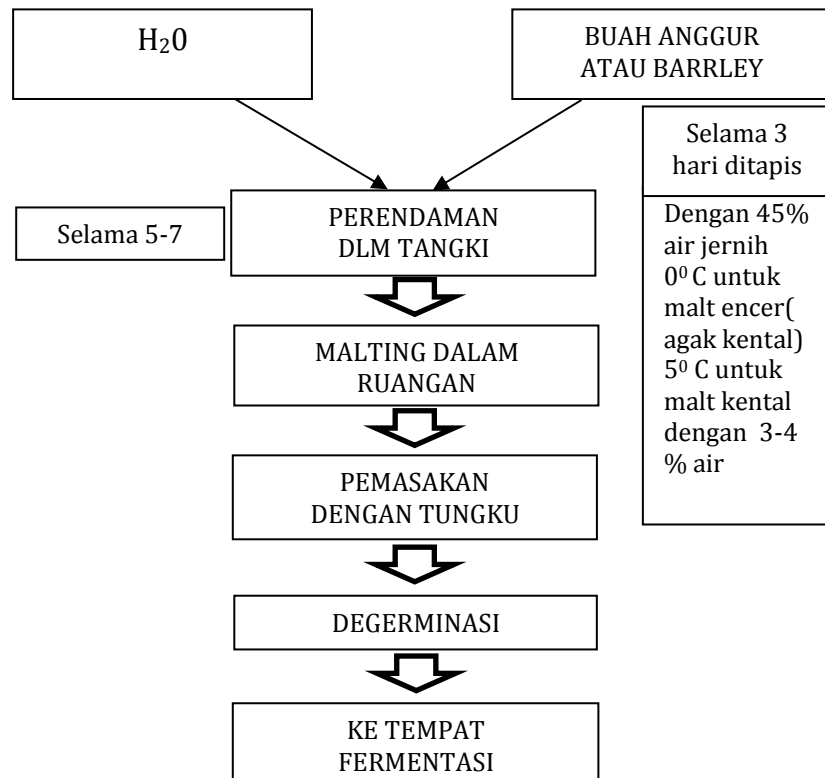
Adapun mekanisme proses fermentasi bir modern adalah:

- Pati dari kecambah gandum, beras atau jagung dikonversikan menjadi maltosa dan dekstrin yang dibantu oleh enzim yang terdapat dalam kecambah gandum.
- Campuran karbohidrat yang diperoleh tersebut dalam bentuk larutan yang disebut *wort*, direbus bersama-sama dengan *hop*, kemudian didinginkan
- Difermentasikan menjadi bir yang beralkohol, CO₂ dan sisasisa dekstrin.
- Bir yang telah jadi mengandung:
 - air, dekstrin, alkohol dan CO₂

- gula-gula yang tak dapat difermentasikan, protein dan senyawa aromatik
- yang berasal dari resin hop
- dan hasil samping minyak fusel

Beberapa proses penting yang dilakukan dalam pembuatan bir meliputi:

- Malting: perkecambahan barley di rumah kecambah gandum (Malthouse)
- Kecambah gandum berisi :
 - Enzim yang merombak pati dari malt itu sendiri dan pati-pati yang ditambahkan (beras atau jagung)
 - Sumber protein bir yang penting artinya untuk pembentukan buih
 - Memberikan aroma yang tipikal
- Proses perkecambahan barley
 - Barley dicuci, direndam air sehingga memungkinkan barley berkecambah
 - Air ditapis
 - Perkecambahan dilanjutkan sampai 5 atau 7 hari
 - Selama perkecambahan, β -amilase, dan terbentuk enzim baru yaitu α -amilase
 - α -amilase berperan menyerang pati hanya pada rantai karbon yang lurus dan tidak mampu menyerang rantai karbon yang bercabang (amilodekstrin). Sedangkan β -amilase berperan dalam pembentukan gula akhir.
 - Enzim lain yang berperan yaitu:
 - protease meningkatkankelarutan protein
 - sitase yang mendegradasibeberapa gum pentosan,dan
 - fitase yang melepaskangugus fosfat dan inositol



Gambar 37. Proses Malting pada Pembuatan Bir (Anonim, 2006)

Sumber : www.google.com/ imgreessa

- Pemasakan atau pemanasan
 - Selama pemanasan sering timbul reaksi pencoklatan (*browning*) karena melanoidin meningkat
 - Melanoidin sangat penting untuk memberi warna dan aroma yang khas.
- Komposisi bir : alkohol 3,8 % -5 % dekstrin 4,3 % protein 0,3% abu 0,3 % dan CO_2
- Mikrobiologi *brewing*
 - Khamir sangat menentukan kualitas bir: memberikan aroma dan sejumlah oligosakarida yang tidak terfermentasikan.

- Pada bir lager menggunakan *S.carlsbergensis* yang mampu memfermentasikan melibiosa dan gas; sedangkan *S.cerevisiae* tidak mampu memfermentasikan melibiosa.
- Selama proses fermentasi gula dikonversikan menjadi alkohol, CO₂ dan sedikit gliserol, serta asam asetat dari hasil fermentasi karbohidrat yang lain.
- Protein dan lipid yang terkandung di dalam wort sebagian difermentasikan menjadi alkohol, asam dan ester yang memberikan aroma yang khas. Bir yang dihasilkan berwarna hijau, maka perlu pemeraman lebih lanjut (*aging*)
- Selama *aging* protein, khamir dan resin di presipitasi sehingga bir menjadi masak dan jernih dengan aroma yang lembut. Bir tersebut diunduh dengan melalui penyaringan, kemudian diinjeksi dengan CO₂ agar terbentuk buih-buih (*sparkling*). Pada umumnya CO₂ yang terbentuk selama fermentasi ditampung ke dalam bejana yang kemudian diinjeksikan kembali setelah proses akhir. Kandungan CO₂ dalam bir sekitar 0,45%-0,5%. Beberapa industri bir sering menambah sedikit gula ke dalam masing-masing botol untuk mempertahankan proses fermentasi tetap berlangsung.
- Proses terakhir adalah bottling dan pasteurisasi sekitar 60-65°C kemudian disaring.
- Alasan mengapa tidak banyak mikrobia mengkontaminasi bir adalah karena:
 - Khamir menggunakan O₂ dengan cepat dan menghasilkan CO₂
 - Hop mengandung α -resin dan humulon yaitu senyawa antimikrobia khususnya terhadap bakteri gram positif
 - Bir mempunyai pH asam (3,7 – 4,5)
 - Alkohol yang dihasilkan juga mempengaruhi pertumbuhan mikrobia.
 - Bir disimpan pada suhu dingin.

- Kontaminan selama brewing bir: *Lactobacillus pastorianus* dan *Pediococcus cerevisiae*, *Flavobacterium proteus*.
- Fermentasi dilakukan pada suhu rendah, sekitar 2 minggu untuk produksi bir
- Produksi komersial bir dilakukan
 - dengan proses sekali unduh (*batch process*)
 - dengan proses kontinyu/berkesinambungan (*continue process*) yaitu dengan menambahkan substrat baru yang dilakukan secara terus menerus dan pemanenan

v. Macam-macam bir meliputi:

- 1) Bir Lager: fermentasi yang melibatkan *bottom yeasts* dan tak berspora: *S. carlsbergensis*.
- 2) Ale : fermentasi bir yang melibatkan *top yeasts* dan berspora : *S. cerevisiae* mempunyai kandungan alkohol cukup tinggi.
- 3) Bir Pilsener (dari Chekoslovakia) : warna jernih, kering (*dry*) karena mengandung gula yang difermentasikan rendah, mempunyai aroma hop tajam.
- 4) Minuman malt : kandungan alkohol lebih tinggi dari pada bir
- 5) Bir non karbohidrat: bir yang terbuat dari larutan karbohidrat yang semua dekstrinnya dihidrolisis oleh enzim menjadi maltosa dan glukosa.

Cara pembuatan *wine* dapat dijelaskan sebagai berikut:

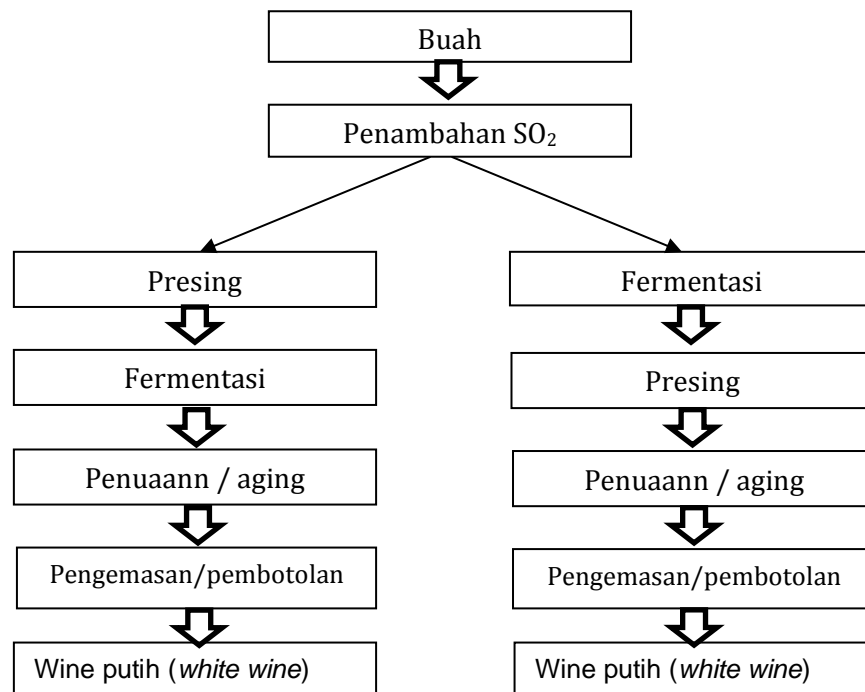
- 1) Buah anggur yang dipetik dari kebun dihancurkan menjadi bentuk cairan yang disebut must.
- 2) Khamir yang berasal dari permukaan kulit anggur sebagai inokulum dan kadang-kadang diinokulasi dengan *S. cerevisiae*.
- 3) Proses fermentasi dilakukan berdasarkan jenis wine yang dihasilkan yaitu pada:

4) Red Wine :

- warna merah terbentuk selama proses fermentasi karena terjadi ekstraksi warna kulit buah anggur oleh alkohol yang terbentuk.
- CO₂ terbentuk selama fermentasi sehingga sisa buahan dan kulit terangkat keatas
- lama fermentasi 3 – 5 hari pada 24 – 27°C

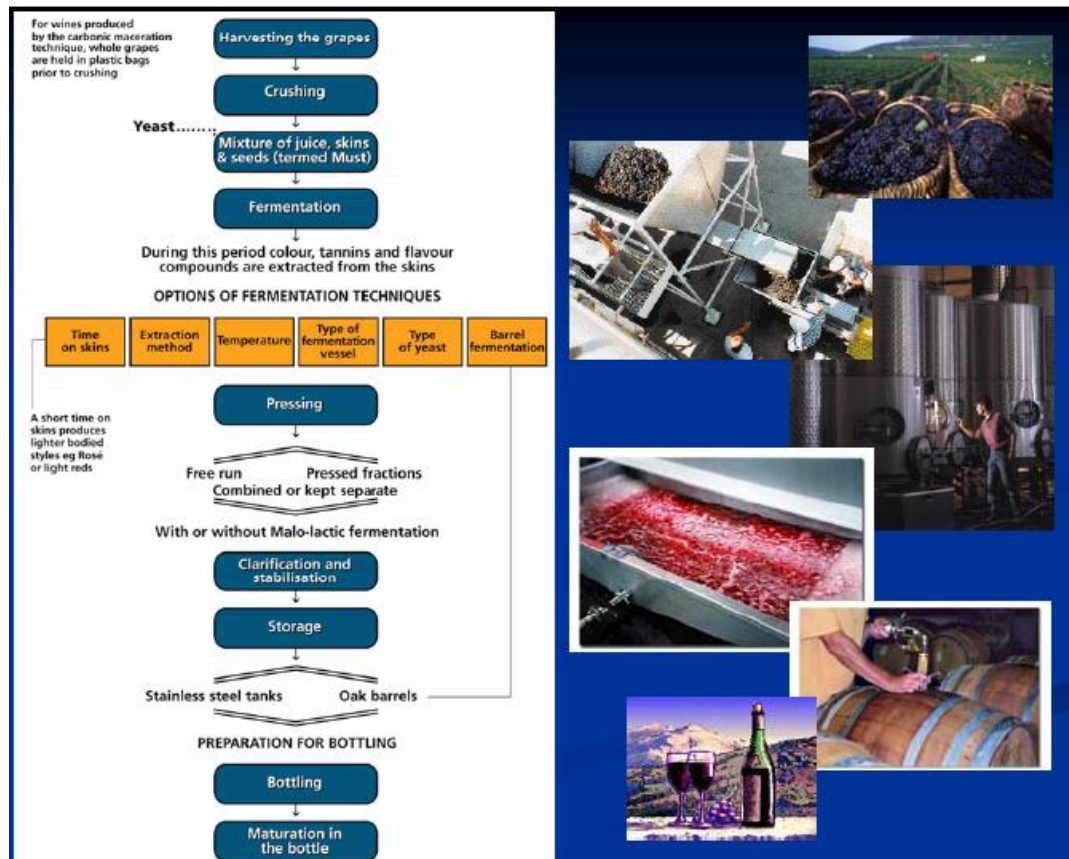
White Wine :

- proses hampir sama dengan *red wine* tetapi tidak terjadi warna
- lama fermentasi 7–14 hari pada 10–21°C
- kandungan alkohol 19–21 %.
- memerlukan karbonasi yang dilakukan dengan menginjeksikan CO₂ setelah proses fermentasi selesai



Gambar 38. Diagram Alir Pembuatan Wine (Anonim, 2006)

Sumber : www.google.com/ imgreessa



Gambar 39. Produksi Wine Secara Komersial (Anonim, 2005)

Sumber : www.google.com/ imgreessa

Beberapa bakteri juga mempunyai peranan pada pembuatan biogas dan sebagai bakteri pengurai, diantaranya:

- *Escherichia coli*, membantu proses pembusukan makanan dalam kolon manusia dan pembentuk vitamin K.
- *Methanobacterium omelianski* dan *Methanobacterium ruminatum*, menguraikan asam cuka (CH_3COOH) menjadi metana (CH_4) dan CO_2 .
- *Clostridium sporangeus*, menguraikan asam amino menjadi amonia.
- *Desulfovibrio desulfuricans*, menguraikan bangkai dan menguraikan sulfat di tempat becek dan menghasilkan H_2S .

- *Thiobacillus denitrificans*, menguraikan nitrit dan menghasilkan N₂ atau disebut denitrifikasi.

w. Mikroba dalam pengolahan limbah

1) Proses Dekomposisi

Pengomposan adalah suatu proses pengelolaan limbah padat, dengan cara bertahap komponen bahan padat diuraikan secara biologis di bawah keadaan terkendali sehingga menjadi bentuk yang dapat ditangani, disimpan atau digunakan untuk lahan pertanian tanpa pengaruh yang merugikan (Harada, 1990). Definisi lain dinyatakan oleh Haug (1980), bahwa pengomposan sebagai proses dekomposisi dan stabilisasi bahan secara biologis dengan produk akhir yang cukup stabil untuk digunakan di lahan pertanian tanpa pengaruh yang merugikan. Dalzell and K. Thuraiarajan (1987) dan Gaur (1980) mendefinisikan pengomposan sebagai proses perombakan bahan organik oleh sejumlah besar mikroorganisme dalam lingkungan yang lembab, panas, beraerasi dan humus sebagai hasil akhir.

Pengomposan bahan-bahan organik, terutama pada sisa-sisa tanaman dan kotoran hewan sering dilakukan oleh para petani, dengan tujuan untuk menambah tingkat kesuburan lahan pertanian yang dikelolanya. Tujuan dan sasaran pengomposan pada dasarnya untuk memantapkan bahan-bahan organik yang berasal dari bahan-bahan limbah, mengurangi bau, membunuh organisme patogen dan biji-biji gulma, pada akhirnya menghasilkan pupuk organik seragam dan sesuai untuk tanah (Haga and Kiyonori, 1990).

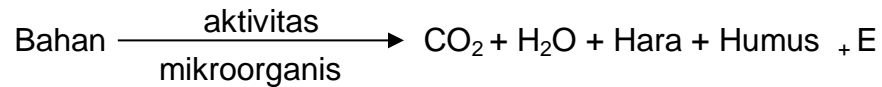
Menurut W.E. Splittstoesser (1984), dekomposisi bahan organik menjadi kompos bergantung pada kandungan air dan nitrogen yang cukup pada bahan serta temperatur yang sesuai. Kandungan air dan nitrogen dari protein merupakan sumber nutrisi yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme pengurai. Untuk penguraian bahan yang optimal, sangat diperlukan pengendalian suhu agar aktivitas dan pertumbuhan mikroorganisme dapat berlangsung dengan baik.

Aktivitas biologi merupakan faktor penting dalam pengomposan. Berbagai mikroorganisme terlibat dalam proses dekomposisi bahan organik, antara lain bakteri, fungi, aktinomycetes, ragi, mikrofauna protozoa, Jumlah bakteri lebih banyak dibandingkan dengan mikroorganisme lain, tetapi ukurannya lebih kecil, kemudian diikuti oleh Actinomycetes, Fungi dan Protozoa. Selain mikroorganisme, aktivitas biologi dalam pengomposan juga dilakukan oleh biota pengurai lainnya seperti cacing tanah.

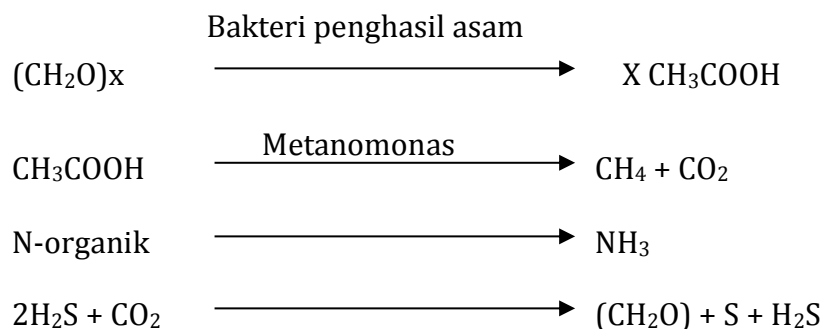
Galli, E., Tomati U. and A. Grappeli (1983), berpendapat bahwa cacing tanah dapat mempercepat perombakan bahan organik yang dilakukan oleh mikroorganisme, sehingga waktu pengomposan menjadi lebih pendek.. Penggunaan cacing tanah selain dapat memperpendek waktu pengomposan juga menghemat tenaga dalam pekerjaan membalikan bahan yang dikomposkan.

Proses pengomposan dapat berlangsung secara aerobik maupun anaerobik (Gaur, 1980). Pada proses dekomposisi secara aerobik, mikroorganisme menggunakan oksigen untuk menguraikan bahan organik dan mengasimilasi Karbon, Nitrogen, Fosfor, Sulfur dan

unsur-unsur lainnya untuk sintesis protoplasma. Reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Pada proses dekomposisi secara anaerobik, reaksi biokimia berlangsung melalui proses reduksi. Tahap awal pengomposan, kelompok bakteri penghasil asam, heterotrof fakultatif mendegradasi bahan organik menjadi asam-asam lemah, aldehid dan seterusnya. Kelompok bakteri yang lain, merubah produk antara menjadi metana, ammonia, karbon dioksida dan hidrogen. Reaksi kimia yang terjadi selama dekomposisi bahan organik secara anaerobik adalah sebagai berikut:



Kecepatan penguraian bahan organik menjadi kompos bergantung pada beberapa faktor yaitu: ukuran partikel, unsur hara, kandungan air, aerasi, keasaman (pH) dan suhu (Nurwachid Budi Santoso, 2001).

a) Ukuran Partikel

Ukuran partikel berpengaruh pada keberhasilan proses pengomposan. Ukuran yang baik antara 10 sampai 50 mm,

apabila terlalu kecil ruang-ruang antara partikel menjadi sempit sehingga dapat menghambat gerakan udara ke dalam tumpukan dan sirkulasi gas karbon dioksida keluar tumpukan. Apabila ukuran partikel sangat besar, luas permukaan kurang sehingga reaksi pengomposan akan berjalan lambat atau bahkan akan berhenti sama sekali (Dalzell, Gray KR., Tharairajan, 1991).

b) Unsur Hara

Aktivitas mikroorganisme dalam proses pengomposan memerlukan sumber energi dari unsur karbon dan nitrogen. Unsur-unsur tersebut biasanya telah tersedia cukup dalam bahan organik, bahkan kebanyakan unsur hara lainnya akan tersedia pula dalam jumlah yang cukup.

Untuk mempercepat proses pengomposan, dibutuhkan bahan organik yang memiliki rasio C/N relatif rendah yaitu berkisar antara 25 sampai 35/liter dalam campuran pertama. Apabila rasio C/N lebih besar, proses pengomposan akan memakan waktu lebih lama, hingga pembentukan karbon dioksida dari oksidasi unsur karbon berkurang. Sebaliknya apabila rasio C/N lebih kecil, nitrogen dalam bahan organik akan dibebaskan sebagai amoniak (Nurwachid Budi Santoso, 2001).

Cara paling sederhana untuk menyesuaikan rasio C/N ialah dengan mencampur berbagai bahan organik yang mempunyai rasio C/N tinggi dengan bahan yang mempunyai rasio C/N rendah. Hal ini dapat dilakukan misalnya bahan berjerami dicampur dengan tinja, kotoran hewan yang

mempunyai rasio C/N lebih rendah. Rasio C/N bahan-bahan organik yang sering digunakan sebagai bahan kompos dapat dilihat pada tabel 1.

Makin tinggi tingkat dekomposisi dari bahan organik, makin kecil rasio C/N. Pada rasio C/N rendah tidak ada persaingan antara akar tumbuhan dengan mikroorganisme dalam menggunakan unsur nitrogen dalam tanah (Joetono, 1998).

c) Kandungan Air

Kandungan air pada bahan organik sebaiknya antara 30–40%, hal ini ditandai dengan tidak menetesnya air apabila bahan digenggam dan akan mekar apabila genggamannya dilepaskan. Kandungan air bahan terlalu tinggi, ruang antar partikel dari bahan menjadi sempit karena terisi air, sehingga sirkulasi udara dalam tumpukan akan terhambat. Kondisi tersebut berakibat pada tumpukan bahan akan didominasi oleh mikroorganisme anaerob yang menghasilkan bau busuk tidak sedap.

d) Aerasi

Dalam proses pengomposan, mikroorganisme dalam bahan organik sangat memerlukan jumlah udara yang cukup, karena prosesnya berlangsung secara aerob. Aerasi dapat diperoleh melalui gerakan udara dari alam masuk ke dalam tumpukan dengan membolak-balik bahan secara berkala, baik menggunakan mesin maupun dengan tangan/cangkul.

e) Keasaman (pH)

Pada tahap awal pengomposan, akan terjadi perubahan pH yaitu bahan agak asam, karena terbentuk asam organik sederhana, selanjutnya pH berangsur naik, karena

terlepasnya ammonia (bersifat basa) dari hasil penguraian protein. Keadaan basa yang terlalu tinggi, menyebabkan selama proses pengomposan kehilangan nitrogen secara berlebihan (Nurwachid Budi Santoso, 2001).

f) Suhu

Dalam proses pengomposan, sebagian energi dibebaskan sebagai panas. Pada tahap awal suhu tumpukan bahan sekitar 40°C, mikroorganisme yang terlibat adalah bakteri dan fungi mesofilik. Selanjutnya suhu bahan naik hingga di atas 40°C, mikroorganisme yang berperan adalah mikroorganisme termofilik, actinomycetes dan fungi termofilik. Setelah suhu berangsur turun, maka mikroorganisme mesofilik muncul kembali, selanjutnya, gula dan pati mengalami perombakan, diikuti oleh perombakan hemiselulosa, selulosa dan akhirnya lignin.

Menurut L. Murbandono HS. (2000) dalam Nurwachid Budi Santoso (2001), suhu ideal dalam pengomposan antara 30°C sampai 45°C. Apabila suhunya terlalu tinggi maka mikroorganisme akan mati, sebaliknya apabila suhu pengomposan terlalu rendah, mikroorganisme belum dapat bekerja secara optimal (Yovita Hety Indriani, 1999).

Table 9. Komposisi Berbagai Bahan Organik untuk Pembuatan Kompos (Dalzell et al. (1987 dan Gaur (1982)

No.	Bahan Organik	Kadar Unsur Nitrogen (%) (bobot kering)	Rasio C/N
01.	Potongan rumput muda	2 – 2,4	TD
02.	Pupuk hijau tumbuh-	3 – 5	10-15
03.	tumbuhan	2 – 3	10-16
04.	Sampah kota/kandungan sayuran tinggi	1,9	13
05.	Kotoran Babi	1 – 1,8	19

No.	Bahan Organik	Kadar Unsur Nitrogen (%) (bobot kering)	Rasio C/N
06.	Kotoran Sapi	0,6 – 1,3	30–80
	Sampah kota/kandungan kertas tinggi	0,7	70
07.	Padi-padian dan batang kacang polong	0,6	80
08.	Jerami gandum	0,4 – 1,0	40–80
09.	Daun-daun segar yang gugur	0,3 0,1	150 500
10.	Sampah gula tebu	5,5 – 6,5	6–10
11.	Serbuk gergaji segar	4	TD
12.	Tinja	-	80–130
13.	Kotoran unggas	-	80–130
14.	Jerami padi	-	100–120
15.	Jerami barley	-	50–60
16.	Batang jagung	-	23
17.	Batang Kapas	-	20
18.	Kotoran biri-biri	-	35
19.	Kotoran kuda	-	13
20.	Sisa buah-buahan	1,0 – 2,3	8
21.	Hijauan gulma	15 – 18	0,8
22.	Ampas kopi/bubuk kopi		
23.	Urin hewan		

Keterangan: TD, tidak ditentukan

2) Pupuk Organik

a) Standar Pupuk Organik

Berdasarkan atas berbagai fakta yang dikemukakan oleh para pakar dan sumber informasi yang lain yang berkaitan dengan kelembagaan atau organisasi maka dari aspek administrasi yang perlu mendapatkan perhatian adalah spesifikasi produk akhir pupuk organik. Petani sebagai konsumen akan memperhatikan kandungan hara dan air. Spesifikasi produk sangat tergantung pada masing-masing negara sebagai contoh nilai minuman untuk NPK paling tidak 1.5 % - 3.0 % - 1.5 % - 3.0 % dan 1.0 % - 1.5 % beberapa negara seperti Filipina, hanya membuat spesifikasi

untuk kombinasi NPK secara total 4 % - 5 % dan 5 % - 6 % tanpa memisahkan secara spesifik untuk masing-masing hara. Kandungan lengas tidak boleh melampaui 15 % - 25 % pada kenyataannya makin rendah kandungan air, maka kualitas pupuk organik menjadi lebih baik akan tetapi tidak mudah untuk mengurangi atau menekan kandungan air produk akhir tanpa menggunakan peralatan khusus, dan diperlukan tenaga dan energi yang lebih besar.

Kandungan total bahan organik paling tidak 20% tetapi dapat lebih tinggi apabila produk organik tersebut tidak dijual sebagai bahan pupuk organik tetapi sebagai bahan pembenah tanah dan pemakai secara intensif menggunakan pupuk organik untuk meningkatkan kandungan bahan organik tanah. Kriteria kualitas bahan organik yang berkaitan dengan kandungan bahan organik adalah nisbah C/N. Bahan organik yang mengalami proses pengomposan baik dan menjadi pupuk organik yang stabil mempunyai nisbah C/N antara 10/1 seperti dalam definisi standar ISO cukup jelas, bahwa kandungan utama pupuk organik adalah karbon dalam bentuk senyawa organik, mikroorganisme memanfaatkan sebagai sumber energi kemudian bahan ternisbah C/N yang tinggi pada produk akhir menunjukkan mikroorganisme akan aktif memanfaatkan nitrogen untuk membentuk kafein. Apabila produk pupuk organik dengan nisbah C/N tinggi diaplikasikan kedalam tanah maka mikroorganisme akan tumbuh dengan memanfaatkan N-tersedia tanah, sehingga tanah terjadi imobilisasi N. Apabila nisbah C/N rendah pada awal proses pengomposan maka nitrogen akan hilang melalui proses penguapan amonium.

Keasaman (pH) harus masuk dalam kriteria kualitas pupuk organik, berkisar netral, pH 6.5 – 7.5 dalam kondisi normal tidak akan menimbulkan masalah, sejauh proses pengomposan yang dilakukan dapat mempertahankan pH pada kisaran netral.

Apabila produk pupuk organik mengandung satu atau lebih unsur mikro, maka hal ini harus dijelaskan dan dimasukkan dalam label. Spesifikasi lain yang perlu diperhatikan pada pupuk organik adalah warna, tekstur, bebas dari patogen, logam berat, atau unsur lain, partikel yang tidak dikehendaki. Tidak ada konsumen atau pemakai pupuk organik yang menghendaki terluka karena serpihan gelas atau logam atau tidak ingin dalam karung pupuk organik penuh dengan batu atau kerikil. Patogen dan logam berat biasanya berasal dari limbah cair dan sampah kota.

Mungkin perlu juga diinformasikan bahwa dalam standar baku, penggunaan bahan inokulan atau bahan lain yang bertujuan untuk mempercepat pengomposan. Pada umumnya yang banyak digunakan adalah mikroorganisme seperti *Trikhoderma spp.*

Karakteristik Umum Pupuk Organik

Karakteristik umum yang dimiliki pupuk organik sebagai berikut :

- Hara pupuk organik pada umumnya rendah tetapi bervariasi tergantung pada jenis bahan dasarnya. Kandungan hara yang rendah berarti biaya untuk setiap unit unsur hara yang digunakan rata-rata lebih mahal.
- Hara yang berasal dari bahan organik diperlukan untuk kegiatan mikrobial tanah untuk dialihurukan dari bentuk ikatan kompleks organik yang tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman menjadi bentuk senyawa organik dan anorganik sederhana yang dapat diserap oleh tanaman kebanyakan unsur di dalam tanah biasanya terdiri dalam bentuk unsur tersedia

dari dalam bentuk unsur tersedia dari hasil perombakan bahan organik.

- Penyediaan hara yang berasal dari pupuk organik biasanya terbatas dan tidak cukup dalam menyediakan hara yang diperlukan tanaman.

LEMBAR KERJA PRAKTIK

LEMBAR KERJA 1

Menyiapkan Biakan Massal Dekomposer

Pembuatan media biakan massal bahan dan alat yang diperlukan dalam pembuatan biakan massal :

A. Bahan dan Alat

- | | |
|----------------------------------|----------------|
| 1. Bekatul | 1. Botol selai |
| 2. Arang sekam | 2. Sekop |
| 3. Pupuk kandang yang sudah jadi | 3. Autoclave |
| 4. Kompos | 4. Timbangan |
| 5. Plastik | 5. Gelas ukur |
| 6. Karet gelang | 6. Erlenmayer |
| 7. Aquadest | |

B. Langkah kerja :

1. Timbang semua bahan dengan perbandingan Bekatul : Arang sekam :
2. Pupuk kandang yang sudah jadi : Kompos (9 : 9 : 4 : 4)
3. Semua bahan aduk sapai homogen
4. Tuangkan air sedikit demi sedikit sapai media menjadi lembab
5. 4. Masukkan media kedalam botol sebanyak 100 grm / botol lalu tutup dengan plastik dan ikat dengan karer gelang
6. Masukkan kedalam autoclave dan Sterisasikan media kedalam autoclave dengan suhu 121⁰ C tekanan 15 lbs /15 Psi / 1 Bar dan pertahankan selama 30 menit
7. Buka autoclave bila suhu sudah 30 ⁰ C (tidak membahayakan)
8. Angkat media dan dinginkan
9. Media siap digunakan
10. Inokulasikan biakan murni dari media agar kedalam media yang telah disiapkan (satu botol kultur untuk 10 botol biakan)

11. Inkubasikan di ruang inkubasi
12. Amati sampai media penuh dengan spora
13. Spora didalam media sudah penuh dan berwarna hijau tua siap di panen.
14. Lakukan perhitungan jumlah per mg

C. Perhitungan spora

Untuk perhitungan spora dihitung dilaboratorium dibawah microscup bertujuan untuk mengetahui berapa jumlah spora /ml yang terdapat dalam satu media biakan massal dihitung dengan menggunakan rumus:

$$S = t / n. 0,25 \times 10^6$$

Keterangan:

S = kerapatan spora / ml

t = banyaknya spora yang di hitung pada kotak perhitungan (a + b + c + d + e)

n = banyaknya kotak kecil yang diamaiti (80 kotok)

LEMBAR KERJA 2

Pengomposan Bahan Organik Secara Konvensional

A. Tujuan

Setelah melakukan praktek mengomposkan bahan organik secara konvensional, siswa diharapkan mampu :

- Menyiapkan bahan dari berbagai jenis bahan organik,
- Mencampur bahan organik secara homogen,
- Mengomposkan campuran bahan organik,
- Memelihara campuran bahan selama pengomposan,
- Menentukan waktu pengomposan,
- Memanen hasil pengomposan

B. Alat dan Bahan

Alat- alat yang digunakan

- | | |
|--------------------------------|----------------------------|
| 1 Karung goni/plastik | 7 Kantong pengemas plastik |
| 2 Golok/sabit/chooper | 8 Alat Sealer |
| 3 Cangkul | 9 Alas papan |
| 4 Garpu | 10 Thermometer |
| 5 Ember plastik | 11 Alat pengaduk kayu |
| 6 Gembor/alat penyiram tanaman | 12 Timbangan kasar |

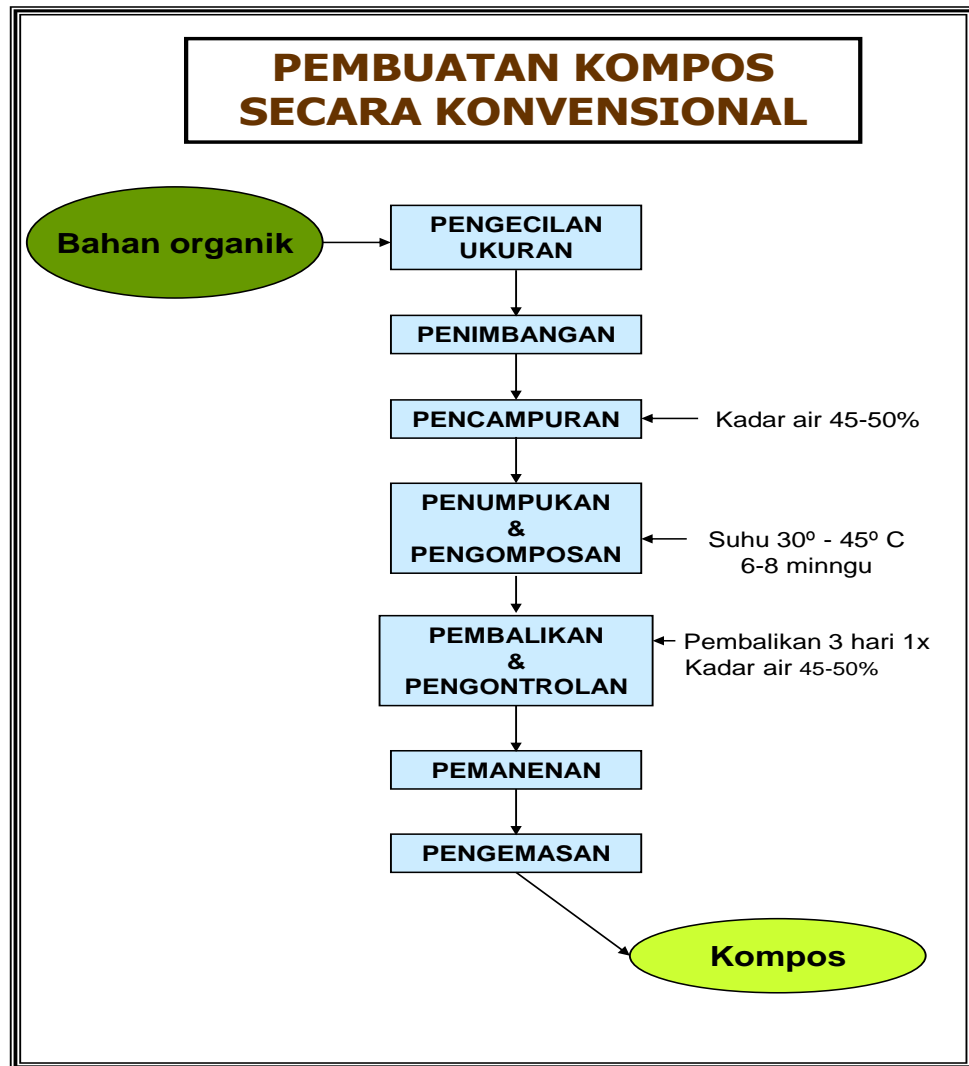
Bahan-bahan yang digunakan

- 1 Jerami padi
- 2 Serbuk gergaji
- 3 Alang-alang/rerumputan
- 4 Sisa sayuran/buah-buahan (misal: sesin, kangkung, buncis, kulit pisang, kubis)

- 5 Sisa tanaman lainnya (misal: : daun jagung, kacang-kacangan, daun semangka)
- 6 Kotoran ternak (misal: kotoran sapi, kerbau, kambing dan lain - lain)
- 7 Air untuk menaikkan kelembaban bahan

c. Langkah Kerja (LK 1.)

1. Kecilkan ukuran bahan yang masih panjang dengan dipotong-potong menjadi sekitar 3-5 cm, sehingga diperoleh ukuran bahan yang seragam.
2. Timbang semua bahan dengan berat masing-masing 1 bagian kecuali kotoran ternak 3 bagian.
3. Campurkan semua bahan dengan diaduk-aduk sampai homogen/merata sambil disiram air sehingga pada saat campuran dikepal mengeluarkan tetesan air.
4. Komposkan campuran bahan dengan cara menumpukan pada tanah/lantai setinggi kira-kira 1 m, selanjutnya ditutup karung goni/plastik pada seluruh permukaannya. Proses pengomposan dapat berlangsung 2 sampai 3 minggu, tergantung dari jenis bahan.
5. Amati dan catat setiap hari kenaikan suhu dan perubahan warna tumpukan bahan. Kegiatan ini untuk mengetahui apakah proses pengomposan dapat berlangsung baik atau tidak, yaitu dengan adanya kenaikan suhu dan perubahan warna selama proses.
6. Tumpukan bahan diaduk setiap tiga hari sekali secara merata dan ditutup kembali. Kegiatan ini untuk menghindari kelebihan suhu dan diharapkan proses penguraian dapat berlangsung pada seluruh permukaan bahan.
7. Akhiri proses pengomposan apabila telah memenuhi kriteria: suhu telah turun dan stabil, warna coklat kehitaman, sebagian besar bahan telah lapuk, bau khas kompos.
8. Kompos yang dihasilkan perlu diuraikan lebih lanjut dengan menambah waktu pengomposan secara alami atau menggunakan cacing tanah selama 2–3 minggu (akan dilakukan pada kegiatan praktek berikutnya).



Gambar 40. Bagan proses pembuatan kompos konvensional
Sumber gambar ,Pembuatan kompos ,Pengelolaan limbah wisnuwati

- d. Pengumpulan Data dan Pengamatan
(Pada lembar pengamatan)

e. Diskusi dan Pembahasan

Diskusikan hasil pengamatan dalam kelompok anda dan konsultasikan pada fasilitator, sehingga jika terjadi penyimpangan/tidak sesuai dengan yang diharapkan dapat ditemukan penyebabnya untuk langkah penyempurnaan proses.

LEMBAR PENGAMATAN (LK 1.)

PENGOMPOSAN BAHAN ORGANIK SECARA KONVENSIONAL

JENIS PENGAMATAN WAKTU	SUHU	WARNA	BAU	KONDISI LAIN
HARI KE 1				
HARI KE 3				
HARI KE 6				
HARI KE 9				
HARI KE 12				
HARI KE 15				
HARI KE 18				
HARI KE 21				
Panen Kompos $\frac{1}{2}$ matang (penguraian dilanjutkan oleh cacing tanah/konvensional/starter mikroba)				
HARI KE 24				
HARI KE 27				
HARI KE 30				
HARI KE 33				
HARI KE 36				
HARI KE 39				
HARI KE 42				
HARI KE 45				
Panen kompos matang (konvensional/pengurai cacing tanah/starter mikroba)				

LEMBAR KERJA 3

Pengomposan Bahan Organik Dengan Menggunakan Starter Mikroba Pengurai (Bio-komplek).

a. Tujuan

Setelah melakukan praktek mengomposkan bahan organik, peserta diklat diharapkan mampu :

1. Menyiapkan bahan dari berbagai jenis bahan organik,
2. Mencampur bahan organik secara homogen,
3. Menggunakan starter mikroba pengurai pada proses pengomposan
4. Mengomposkan campuran bahan organik,
5. Memelihara campuran bahan selama pengomposan,
6. Menentukan waktu pengomposan,
7. Memanen hasil pengomposan

b. Alat dan Bahan

Alat- alat yang digunakan

- | | |
|--------------------------------|----------------------------|
| 1 Karung goni/plastik | 7 Kantong pengemas plastik |
| 2 Golok/sabit/chooper | 8 Alat Sealer |
| 3 Cangkul | 9 Alas papan |
| 4 Garpu | 10 Thermometer |
| 5 Ember plastik | 11 Alat pengaduk kayu |
| 6 Gembor/alat penyiram tanaman | 12 Timbangan kasar |

Bahan-bahan yang digunakan

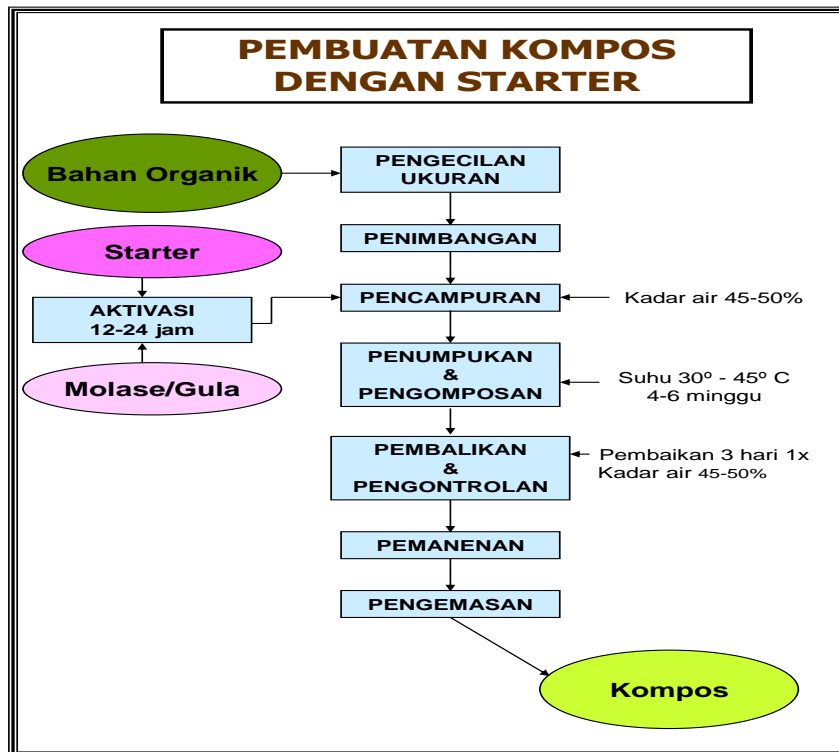
- 1 Jerami padi
- 2 Serbuk gergaji
- 3 Alang-alang/rerumputan
- 4 Sisa sayuran/buah-buahan (misal: sesin, kangkung, kulit pisang, kubis)

- 5 Sisa tanaman lainnya (misal: daun jagung, kacang-kacangan, daun semangka)
- 6 Kotoran ternak (misal: kotoran sapi, kerbau, kambing dll)
- 7 Air untuk menaikkan kelembaban bahan
- 8 Starter mikroba pengurai

c. Langkah Kerja (LK 3.)

1. Siapkan sediaan starter mikroba dengan cara melarutkan biakan mikroba (biokomplek) ke dalam air 4-5 gram/liter, selanjutnya inkubasi pada suhu kamar sekitar 24 jam (sehari sebelum proses pengomposan)
2. Kecilkan ukuran bahan yang masih panjang dengan dipotong-potong menjadi sekitar 3-5 cm, sehingga diperoleh ukuran bahan yang seragam!
3. Timbang semua bahan dengan berat masing-masing 1 bagian kecuali kotoran ternak 3 bagian!
4. Campurkan semua bahan dengan diaduk-aduk sampai homogen/merata sambil disiram air starter pada no 1 sebanyak 1 liter pada setiap 50 kg campuran bahan organik.
5. Tambahkan air pada saat mencampur, sehingga pada saat campuran dikepal mengeluarkan tetesan air,
6. Komposkan campuran bahan dengan cara menumpukan pada tanah/lantai setinggi kira-kira 1 m, selanjutnya ditutup karung goni/plastik pada seluruh permukaannya. Proses pengomposan dapat berlangsung 2 sampai 3 minggu, tergantung dari jenis bahan!
7. Amati dan catat setiap hari kenaikan suhu dan perubahan warna tumpukan bahan. Kegiatan ini untuk mengetahui apakah proses pengomposan dapat berlangsung baik atau tidak, yaitu dengan adanya kenaikan suhu dan perubahan warna selama proses!
8. Tumpukan bahan diaduk setiap tiga hari sekali secara merata dan ditutup kembali. Kegiatan ini untuk menghindari kelebihan suhu dan diharapkan proses penguraian dapat berlangsung pada seluruh permukaan bahan!

9. Akhiri proses pengomposan apabila telah memenuhi kriteria: suhu telah turun dan stabil, warna coklat kehitaman, sebagian besar bahan telah lapuk, bau khas kompos!



Gambar 41. Bagan pembuatan kompos dengan starter
Sumber gambar ,Pembuatan kompos ,Pengelolaan limbah wisnuwati

d. Pengumpulan Data dan Pengamatan

(Pada lembar pengamatan)

e. Diskusi dan Pembahasan

Diskusikan hasil pengamatan dalam kelompok anda dan konsultasikan pada fasilitator, sehingga jika terjadi penyimpangan/tidak sesuai dengan yang diharapkan dapat ditemukan penyebabnya untuk langkah penyempurnaan proses.

LEMBAR PENGAMATAN (LK 3.)**Pengomposan Bahan Organik Dengan Penggunaan Starter Mikroba Pengurai
(Bio-komplek)**

JENIS PENGAMATAN WAKTU	SUHU	WARNA	BAU	KONDISI LAIN
HARI KE 1				
HARI KE 3				
HARI KE 6				
HARI KE 9				
HARI KE 12				
HARI KE 15				
HARI KE 18				
HARI KE 21				
Panen Kompos $\frac{3}{4}$ matang (penguraian dilanjutkan oleh cacing tanah/konvensional/starter mikroba)				
HARI KE 24				
HARI KE 27				
HARI KE 30				
HARI KE 33				
HARI KE 36				
HARI KE 39				
HARI KE 42				
HARI KE 45				
Panen kompos matang (konvensional/pengurai cacing tanah/starter mikroba)				

Lembar Kerja Praktik

1. Judul :

Pemanfaatan mikroorganisme *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dalam Fermentasi pembuatan yoghurt

2. Tujuan :

Setelah melakukan kegiatan ini peserta mampu memanfaatkan mikroorganisme *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dalam pembuatan yoghurt

3. Alat dan Bahan :

- | | |
|---|-------------------------------------|
| a. Pemanas /kompor | a. Susu skim bubuk |
| b. Pengaduk kayu | b. Susu segar |
| c. Panci stainless steel | c. Buah (Strobery, nanas, anggur) |
| d. Stoples | d. Gula putih |
| e. Blender | e. Alkohol 96% (dalam hand sprayer) |
| f. Mixer | f. Lampu spirtus |
| g. Sendok | g. Korek api |
| h. Timbangan | h. Tissue |
| i. Wadah/ gelas | |
| j. Termometer 0-100°C | |
| k. Gelas ukur | |
| l. Yoghurt netral (Plain yoghurt/ Starter) | |

4. Langkah Kerja :

- a. Pembuatan media dan Fermentasi
 - Sebelum mulai bekerja, pastikan semua peralatan yang digunakan dalam kondisi bersih

- Panaskan 1 liter susu segar dan 50–100 gram susu skim dan panaskan sampai mencapai suhu sekitar 70°C . Untuk memastikan suhu dapat diukur dengan menggunakan termometer atau bila tidak memiliki termometer dapat dilihat pada bagian tepi panci, terbentuk gelembung- gelembung kecil dan halus diikuti suara lirih atau kremengseng. Selama pemanasan dilakukan pengadukan dengan pengaduk kayu secara perlahan –lahan
- Pindahkan susu panas ke dalam wadah/stoples yang bersih. Diamkan susu hasil pemanasan sampai mencapai suhu 45°C atau suam- suam kuku. Untuk pengujian dapat dilakukan dengan cara menempelkan punggung telapak tangan pada dinding stoples

b. Inokulasi

- Sebelum melakukan inokulasi (penambahan bibit ke dalam media), maka meja sekeliling tempat bekerja dan tangan disemprot dengan alkohol dan tunggu beberapa saat sampai mengering
- Nyalakan lampu spirtus atau lilin pada saat inokulasi
- Lakukan inokulasi starter terhadap susu hangat tadi, dengan cara menambahkan 50 ml starter yoghurt (plain yoghurt). Inokulasi dilakukan secara aseptis (cepat dan diusahakan untuk tidak terkontaminasi)
- Tutup wadah dengan tutup stoples atau plastik yang diikat dengan karet
- Simpan pada suhu kamar selama 12-16 jam, tahap ini disebut inkubasi/fermentasi

Setelah masa inkubasi selesai , amati hasil yoghurt, meliputi :

- Ada/ tidaknya kontaminan, ditandai adanya spot-spot kecil pada bagian permukaan yoghurt atau terbentuknya gelembung- gelembung kecil pada yoghurt dekat dinding wadah, terbentuk bau asam agak busuk. Apabila ada salah satu tanda tersebut berarti yoghurt yang dihasilkan terkontaminasi dan terhadap produk tersebut tidak boleh dikonsumsi atau harus dibuang

- Apabila tidak terdapat kontaminasi, dan dihasilkan yoghurt dengan konsistensi kompak (membentuk curd atau gumpalan) bau asam- segar, maka boleh dilakukan uji rasa. Biasanya rasa yoghurt agak asam
- Yoghurt yang tidak terkontaminasi dan belum ditambahkan gula/syrup gula, dan belum ditambahkan buah disebut yoghurt netral

3. Refleksi

Tuliskan jawaban pada lembar refleksi

- a. Bagaimana kesan anda selama mengikuti pembelajaran ini ?
- b. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pelajaran ini ?
- b. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pembelajaran ini ?
- c. Tuliskan secara ringkas apa yang anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!

4. Tugas

Kunjungilah tempat- tempat disekitar rumah/ tetangga anda yang membuat minuman youhurt/ membuat kompos/ membuat biogas ! Melalui wawancara , tanyakan bagaimana proses membuatnya, dan mikroba apa yang berperan dalam proses tersebut! Buatlah laporan dan presentasikan di depan kelas dan hasilnya dikumpulkan kepada guru !

5. Tes Formatif

- a. Jelaskan apa yang dimaksud dengan proses fermentasi!
- b. Sebutkan beberapa contoh fermentasi pembuatan makanan!
- c. Mengapa sari buah anggur merupakan medium fermentasi *wine* yang baik?
- d. Sebutkan beberapa bahan baku dalam pembuatan keju!
- e. Bagaimana langkah–langkah pengolahan limbah dan contohnya ?

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

Indikator	Penilaian						
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen				
Sikap 2.1 <ul style="list-style-type: none">• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	1. Rubrik Penilaian Sikap				
			Kriteria Terlampir				
2.2 <ul style="list-style-type: none">• Mengkompromikan hasil observasi kelompok• Menampilkan hasil kerja kelompok• Melaporkan hasil diskusi kelompok	Non Tes	Lembar Observasi Penilaian sikap	2. Rubrik Penilaian Diskusi				

Indikator	Penilaian							
	Teknik	Bentuk instrumen	Butir soal/ instrumen					
2.3 Menyumbang pendapat tentang bahan baku atau media untuk pembuatan produk makanan/ minuman/ bahan industri	Non Tes	Lembar observasi penilaian sikap	3. Rubrik Penilaian Presentasi					
			No	Aspek	Penilaian			
					4	3	2	1
			1	Kejelasan Presentasi				
			2	Pengetahuan :				
			3	Penampilan :				
Pengetahuan	Tes	Uraian						
Keterampilan 1. Merangkai alat / alat peraga/model sesuai susunan yang benar / alat fermentasi pembuatan produk makanan/ minuman atau bahan industri	Tes Unjuk Kerja		4. Rubrik Penilaian Penggunaan alat dan bahan					
			Aspek		Penilaian			
					4	3	2	1
			Cara merangkai alat					
			Cara menuliskan data hasil pengamatan					
			Kebersihan dan penataan alat					

Lampiran Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. Rubrik Sikap Ilmiah

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Bertanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek Bertanya :

- Skor 4 Jika pertanyaan yang diajukan **sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas
- Skor 3 Jika pertanyaan yang diajukan **cukup** sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas
- Skor 2 Jika pertanyaan yang diajukan **kurang sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas
- Skor 1 Tidak Bertanya

2. Aspek Mengamati :

- Skor 4 Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat
- Skor 3 Terlibat dalam pengamatan
- Skor 2 Berusaha terlibat dalam pengamatan
- Skor 1 Diam tidak aktif

3. Aspek Menalar

- Skor 4 Jika nalarinya benar
- Skor 3 Jika nalarinya hanya sebagian yang benar
- Skor 2 Mencoba bernalar walau masih salah
- Skor 1 Diam tidak bernalar

4. Aspek Mengolah data :

- Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua
- Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar
- Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar
- Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

5. Aspek Menyimpulkan :

- Skor 4 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar
Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar
Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

6. Aspek Menyajikan

- Skor 4 Jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawab semua pertanyaan dengan benar
Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan
Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab
Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinil				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1. Aspek Terlibat Penuh :

- Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat
- Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat
- Skor 2 Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat
- Skor 1 Diam sama sekali tidak terlibat

2. Aspek Bertanya :

- Skor 4 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas
- Skor 3 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas
- Skor 2 Kadang-kadang memberikan pertanyaan
- Skor 1 Diam sama sekali tidak bertanya

4. Aspek Menjawab :

- Skor 4 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas
- Skor 3 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas
- Skor 2 Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya
- Skor 1 Diam tidak pernah menjawab pertanyaan

5. Aspek Memberikan Gagasan Orisinal :

- Skor 4 Memberikan gagasan/ide yang orisinal berdasarkan pemikiran sendiri
- Skor 3 Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan

Skor 2 Kadang-kadang memberikan gagasan/ide

Skor 1 Diam tidak pernah memberikan gagasan

6. Aspek Kerjasama :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif

Skor 1 Diam tidak aktif

7. Aspek Tertib :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok tampak aktif,tapi kurang santun

Skor 2 Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain

Skor 1 Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari

c. Rubrik Penilaian Penggunaan Alat / bahan

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara merangkai alat				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kriteria :

1. Cara merangkai alat :

Skor 4 : jika seluruh peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 3 : jika sebagian besar peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 2 : jika sebagian kecil peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 1 : jika peralatan tidak dirangkai sesuai dengan prosedur

2. Cara menuliskan data hasil pengamatan :

Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

3. Kebersihan dan penataan alat :

Skor 4 : jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

d. Rubrik Presentasi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Kejelasan Presentasi				
2	Pengetahuan				
3	Penampilan				

Kriteria

1. Kejelasan presentasi

- Skor 4 Sistematika penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas
- Skor 3 Sistematika penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas
- Skor 2 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas
- Skor 1 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

2. Pengetahuan

- Skor 4 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas
- Skor 3 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas
- Skor 2 Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik yang dibahas
- Skor 1 Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

3. Penampilan

- Skor 4 Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu
- Skor 3 Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu
- Skor 2 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu
- Skor 1 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Laporan observasi

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, , masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan Dan kesimpulan	Sistematika laporam hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, grafik dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan tetapi tidak relevan	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapi, mudah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan disertai dengan data kelompok

II. EVALUASI / PENILAIAN

JAWABLAH PERTANYAAN BERIKUT INI !

Berilah tanda silang (x) pada huruf a, b, c, d, atau e untuk jawaban yang tepat!

- Berikut salah satu ciri cendawan yaitu memiliki hifa dengan sekat- sekat melintang yang dinamakan
 - Septa
 - Ruas
 - Buku
 - Sekat
 - Miselium
- Berikut merupakan cendawan yang digunakan sebagai pupuk hayati adalah....
 - Cunninghamella*
 - Choaneophora*
 - Curcubitaceae*

- d. *Gigaspora*
 - e. *Rhizopus*
 3. Cendawan berikut ini yang bisa dimanfaatkan dalam pembuatan tape, bir dan roti adalah....
 - a. *Rhizopus*
 - b. *Saccharomyces*
 - c. *Synchytrium*
 - d. *Phythium*
 - e. *Plasmopora*
 4. Mikoriza merupakan simbiosis mutualisme antara cendawan dengan akar tumbuhan , dalam simbiosis cendawan mendapatkan unsur karbon dari tumbuhan, sedangkan tumbuhan mendapatkan ... dari cendawan
 - a. nitrogen
 - b. pospor
 - c. fosfat
 - d. karbon
 - e. hydrogen
 5. Virus bisa dimasukkan ke dalam makhluk hidup karena mampu berkembang biak dan mempunyai asam nukleat, sedangkan dimasukkan ke dalam benda mati karena....
 - a. tidak ber dinding sel
 - b. tidak berinti
 - c. sebagai parasit
 - d. hanya bisa dilihat dengan mikroskop elektron
 - e. tidak berfotosintesis

6. Berikut ini virus yang bisa dimanfaatkan sebagai biopestisida adalah...
- a. Rhabdovirus
 - b. Baculovirus
 - c. Virus Cowpox
 - d. Virus Sarcoma
 - e. Virus Bovine
7. Bakteri melakukan reproduksi secara seksual yaitu dengan cara....
- a. rekombinasi DNA
 - b. kawin
 - c. membelah diri
 - d. pembelahan inti
 - e. replikasi kromosom
8. Berikut ini bakteri yang berperan dalam pembuatan makanan dan minuman hasil fermentasi pembuatan yoghurt adalah....
- a. *Bacillus polymyxa*
 - b. *Acetobacter chlorococcum*
 - c. *Acetobacter xylinum*
 - d. *Lactobacillus casei*
 - e. *Lactobacillus bulgaricus*
9. Berikut ini yang tergolong bakteri anaerob adalah....
- a. *Nitrobacter*
 - b. *Nitrosomonas*
 - c. *Micrococcus denitrificans*
 - d. *Spirochaetaceae*
 - e. *Leptospiraceae*

10. Berikut ini bakteri yang menyebabkan penyakit pada tanaman adalah....

- a. *Bacillus antrachis*
- b. *Agrobacterium tumafaciens*
- c. *Clostridium botulinum*
- d. *Methanobacterium*
- e. *Clostridium tetani*

Jawablah pertanyaan berikut

1. Jelaskan pengertian media pertumbuhan mikroba!
2. Jelaskan jenis media pertumbuhan berdasarkan komposisinya!
3. Jelaskan sifat- sifat media !
4. Bagaimana anda membuat media pertumbuhan bakteri , langkah- langkahnya secara runut !
5. Mengapa jenis media untuk pertumbuhan bakteri tidak sama dengan khamir atau jamur ? jelaskan !
6. Jelaskan apa yang dimaksud dengan proses fermentasi!
7. Sebutkan beberapa contoh fermentasi pembuatan makanan!
8. Mengapa sari buah anggur merupakan medium fermentasi *wine* yang baik?
9. Sebutkan beberapa bahan baku dalam pembuatan keju !
10. Bagaimana langkah–langkah pengolahan limbah dan contohnya ?

III. PENUTUP

Buku ini kami susun dengan tujuan agar bermanfaat dalam proses kegiatan pembelajaran dan sesuai yang diharapkan oleh guru dan peserta didik, namun disadari dalam penyusunan ini masih jauh dari sempurna. Oleh sebab itu, masukan, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat kami harapkan.

Akhirnya semoga buku ini dapat bermanfaat secara optimal, atas perhatian dan kerjasamanya kami sampaikan terima kasih.

Penyusun

DAFTAR PUSTAKA

- Ameilia et. al. 2008. *Biologi Pertanian*. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional
- Ari, Sri Rini Dwi. 2008. *Teknologi Pangan Untuk SMK*. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.
- Hadioetomo, Ratna Siri. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktik*. Jakarta: Gramedia.
- Pelczar, Michael J. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia,
- Radiopoetro. 1990. *Zoologi*. Penerbit Erlangga.
- Ray, Bibek. 1992. *Fundamental Food Microbiology* (Second Edition). New York: CRC Press.
- Robinson, RK. 1999. *Encyclopedia of Food Microbiology*. London: Academic Press.
- Sudjadi, Bagod dan Siti Laila. 2005. *Biologi, Sains dalam Kehidupan*. Yudhistira
- Suriawiria, Unus. 1986. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Sutarmi, Siti Tjitrosomo. et. al. *Biologi*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- SNI 19-2897-1992. *Cara Uji Cemarkan Mikroba*. BSN – Jakarta
- Wisnuwati. 2009. *Modul Berbasis ICT Biologi Terapan*. Cianjur : PPPPTK Pertanian
- [www, google.com/imgreessa](http://www.google.com/imgreessa)