

p-ISBN : 978-602-5791-57-4
e-ISBN : 978-602-5791-85-7

MIKROBIOLOGI IKAN

Romauli J Napitupulu



AMaFRaD  PRESS

MODUL PEMBELAJARAN **MIKROBIOLOGI IKAN**

**UNTUK
TARUNA/MAHASISWA POLITEKNIK KELAUTAN DAN
PERIKANAN**

Romauli Juliana Napitupulu

AMaFRaD  PRESS

MODUL PEMBELAJARAN
MIKROBIOLOGI IKAN

Penulis :
Romauli Juliana Napitupulu

Tim Validasi :
Dr. Ema Hastarini, M.P.
Yusma Yennie, S.Pi., M.Si.
Aris Sasono, S.St.Pi.

Perancang Sampul :
Abi Hanafi
Macrovector/Freeepik

Edisi/Cetakan :
Cetakan Pertama, Oktober 2019

Diterbitkan oleh :

AMAFRAD Press

Badan Riset dan Sumber Daya Manusia Kelautan dan Perikanan
Gedung Mina Bahari III, Lantai 6, Jl. Medan Merdeka Timur No.16,
Jakarta Pusat 10110

Telp. (021) 3513300 Fax: 3513287

Email : amafradpress@gmail.com

Nomor IKAPI: 501/DKI/2014

ISBN : 978-602-5791-57-4

e-ISBN : 978-602-5791-85-7

**MODUL PEMBELAJARAN
MIKROBIOLOGI IKAN**

Dilarang memproduksi atau memperbanyak seluruh atau sebagian dari modul dalam bentuk atau cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit

©Hak cipta dilindungi oleh Undang-undang No.28 Tahun 2014
All Rights Reserved

KATA PENGANTAR

Seiring dengan dinamika perubahan ilmu pengetahuan dan teknologi serta tantangan pembangunan kelautan dan perikanan, pendidikan tinggi vokasi kelautan dan perikanan dituntut untuk menghasilkan lulusan yang mampu berkompetisi dan beradaptasi terhadap “perubahan” pasar global. Kurikulum Politeknik Kelautan dan Perikanan Edisi 2016 memuat profil lulusan, capaian pembelajaran (*learning outcomes*), elemen kompetensi mata kuliah dan beban pembelajaran dengan mengacu pada Kerangka Kualifikasi Nasional Indonesia (KKNI) dan Standar Nasional Pendidikan Tinggi (SNPT). Pembelajaran jenjang Pendidikan Diploma III yang disajikan dalam modul pembelajaran ini juga tunduk pada ketentuan tersebut. Modul Pembelajaran ini berisi materi pembelajaran yang membekali peserta didik dengan pengetahuan, keterampilan dalam menyajikan pengetahuan yang dikuasai secara kongkrit dan abstrak, memiliki semangat terus berkembang, berdaya saing tinggi, bermoral, berjiwa kewirausahaan, dan berwawasan lingkungan serta unggul di bidang industri kelautan dan perikanan dengan pendekatan *teaching factory*.

Modul pembelajaran ini menjabarkan usaha minimal yang harus dilakukan taruna untuk mencapai kompetensi yang diharuskan. Sesuai dengan pendekatan yang digunakan dalam kurikulum berbasis kompetensi, taruna diberikan kesempatan untuk mencari dari sumber belajar lain yang tersedia dan terbentang luas di sekitarnya. Peran dosen tidak hanya sebagai pengajar tetapi juga sebagai fasilitator dalam proses pembelajaran, serta mampu meningkatkan daya serap taruna dengan ketersediaan kegiatan modul pembelajaran ini. Dosen dapat memperkayanya dengan kreasi dalam bentuk kegiatan-kegiatan lain yang sesuai dan relevan yang bersumber dari lingkungan sosial dan alam.

Modul pembelajaran 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 muda yang memiliki kompetensi sesuai dengan kebutuhan pasar kerja/usaha.

Karawang, 2019

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

Prof. Dr. Ketut Sugama, M.Sc., Prof. Dr. Ir. Sonny Koeshendrajana, Prof. Dr. Ir. Ngurah N. Wiadnyana, DEA., Dr. Singgih Wibowo, M.S, Dr. Ing Widodo S. Pranowo, M.Sc., dan Dr. Ir. I Nyoman Suyasa, M.S yang telah mengkoreksi dan memberikan masukan kepada Penulis sehingga modul Pembelajaran Mikrobiologi Ikan ini menjadi lebih sempurna dan penyajian materi modul yang lebih baik.

Ucapan terima kasih juga Penulis sampaikan kepada Kepala Pusat Pendidikan Kelautan dan Perikanan serta jajarannya atas bantuannya secara administratif dan teknis, Direktur Politeknik Kelautan dan Perikanan Karawang dan rekan-rekan dosen serta instruktur khususnya dari program studi Teknik Pengolahan Produk Perikanan serta kepada para pakar dan akademisi (Dr. Ema Hastarini, MP, Yusma Yennie, S.Pi., M.Si dan Aris Sasono, S.St.Pi) atas masukan yang berharga bagi penyempurnaan materi modul ini serta atas bantuan dan kerjasamanya dalam penyusunan modul ini.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
PETUNJUK PENGGUNAAN MODUL	xiii
PETA KEDUDUKAN MODUL PEMBELAJARAN	xv
GLOSARIUM	xvii
1. PENDAHULUAN	1
A. Deskripsi Singkat	1
B. Ruang Lingkup Materi	1
C. Tujuan Akhir Pembelajaran.....	2
D. Kompetensi Inti dan Kompetensi Dasar	2
2. PEMBELAJARAN	5
2.1 Kegiatan Pembelajaran 1	5
A. Judul	5
Sejarah Perkembangan Mikrobiologi	5
B. Indikator	5
C. Deskripsi	5
D. Uraian Materi	5
E. RANGKUMAN	13
F. PENUGASAN	14
G. TES FORMATIF 1	15
2.2 Kegiatan Pembelajaran 2	19
A. Judul	19
Mikroskop	19
B. Indikator.....	19

C.	Deskripsi	19
D.	Uraian Materi	19
E.	RANGKUMAN	30
F.	PENUGASAN PRAKTEK	31
G.	TES FORMATIF.....	33
2.3	Kegiatan Pembelajaran 3.	35
A.	Judul	35
	Sel prokariot dan eukariot.....	35
B.	Deskripsi	35
C.	Indikator	35
D.	Uraian Materi	35
E.	RANGKUMAN	58
F.	PENUGASAN	58
G.	TES FORMATIF 3.....	59
2.4	Kegiatan Pembelajaran 4	63
A.	Judul.....	63
	Pertumbuhan bakteri dan identifikasi faktor intrinsik dan ekstrinsik yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan.....	63
B.	Deskripsi.....	63
C.	Indikator	63
D.	Uraian Materi	63
E.	RANGKUMAN	79
F.	PENUGASAN	80
G.	PRAKTIKUM.....	80
	TES FORMATIF 4.1	81
	TES FORMATIF 4.2	85
2.5	Kegiatan Pembelajaran 5	87
A.	Judul.....	87

Mikroorganisme pada produk perikanan	87
B. Deskripsi.....	87
C. Indikator	87
D. Uraian Materi	87
E. RANGKUMAN	97
F. PENUGASAN	97
G. TES FORMATIF 5.	97
2.6 Kegiatan Pembelajaran 6.	99
A. Judul.....	99
Pewarnaan Gram (Pewarnaan Differensial).....	99
B. Deskripsi.....	99
C. Indikator	99
D. Uraian Materi	99
E. RANGKUMAN	106
F. PENUGASAN	107
G. PRAKTIKUM	107
H. TES FORMATIF 6.....	111
2.7 Kegiatan Pembelajaran 7.	113
A. Judul	113
Menghitung koloni bakteri berdasarkan Angka Lempeng Total (ALT)	113
B. Deskripsi.....	113
C. Indikator	113
D. Uraian Materi	113
E. RANGKUMAN	119
F. PENUGASAN	120
G. PRAKTIKUM.....	120
H. TES FORMATIF 7.....	122
2.8 Kegiatan Pembelajaran 8.	123

A. Judul	123
Menghitung koloni bakteri <i>Coliform</i> berdasarkan nilai Angka Paling Memungkinkan (APM)/ <i>Most Probable Number</i> (MPN)	123
B. Deskripsi	123
C. Indikator	123
D. Uraian Materi	123
E. RANGKUMAN	139
F. PENUGASAN	139
G. PRAKTIKUM	139
H. TES FORMATIF 8.	143
PENUTUP	145
TES SUMATIF	147
KUNCI JAWABAN	155
DAFTAR PUSTAKA	161

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbedaan berbagai jenis mikroskop	21
Tabel 2. Perbedaan sel prokariotik dan eukariotik.....	36
Tabel 3. Mikroorganisme yang umum terdapat pada produk perikanan	46
Tabel 4. Aktivitas air (a_w) dari beberapa kelompok mikroorganisme.....	69
Tabel 5. Kerusakan khas pada ikan segar dan olahan selama penyimpanan	88
Tabel 6. Tabel contoh pemilihan tabung positif berdasarkan syarat yang berlaku	133
Tabel 7. Tabel contoh pemilihan tabung positif pada beberapa kasus berdasarkan syarat yang berlaku (Angka APM diambil dari tabel APM 5 seri tabung)	134
Tabel 8. Tabel contoh pemilihan tabung positif berdasarkan syarat yang berlaku (Angka APM diambil dari tabel APM 3 seri tabung).....	135
Tabel 9. Indeks APM dengan tingkat kepercayaan 95% untuk berbagai kombinasi hasil positif dari 3 seri tabung pada pengenceran 10^1 , 10^2 dan 10^3 .	137
Tabel 10. Indeks APM dengan tingkat kepercayaan 95% untuk berbagai kombinasi hasil positif dari 5 seri tabung pada pengenceran	138

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Botol Pasteur Angsa tetap steril karena lengkung	8
Gambar 2. Air kaldu steril dalam ruangan inkubasi Tyndall yang bebas debu.....	9
Gambar 3. Ilustrasi langkah-langkah Postulat Koch.....	12
Gambar 4. Koloni-koloni mikroorganisme pada medium agar nutrien dalam cawan petri. Bentuk koloni dan warna yang berbeda menunjukkan jenis bakteri yang berbeda.....	13
Gambar 5. Bagian-bagian mikroskop sederhana	20
Gambar 6. Mikroskop Binokuler dan Monokuler	21
Gambar 7. Bagian-bagian mikroskop sederhana	22
Gambar 8. (a) Pengatur Kasar; (b) Lensa Okuler.....	24
Gambar 9. (a) Perbesaran kasar dan perbesaran halus dan (b) lensa objektif...	24
Gambar 10. Lensa okuler	25
Gambar 11. Lensa kondensor.....	26
Gambar 12. Mikroskop fluorescence.....	28
Gambar 13. Mikroskop elektron scanning.....	29
Gambar 14. Cara membawa mikroskop yang benar	31
Gambar 15. Klasifikasi sel berdasarkan struktur internal.....	36
Gambar 16. Sel bakteri	39
Gambar 17. Macam-macam bentuk bakteri kokus	40
Gambar 18. Macam-macam bentuk bakteri basil.....	41
Gambar 19. Macam-macam bentuk bakteri spiral.....	41
Gambar 20. Jenis-jenis bakteri berdasarkan jumlah flagel	42
Gambar 21. Proses rekombinasi genetik	44
Gambar 22. Proses pembelahan biner	45
Gambar 23. Anatomi Jamur	48
Gambar 24. Proses perkembangbiakan pada jamur (Zygomycota)	49
Gambar 25. Sel ragi yang membentuk tunas (budding)	49
Gambar 26. Morfologi Rhizopus	53
Gambar 27. Morfologi Aspergillus.....	54
Gambar 28. Morfologi Penicillium	54
Gambar 29. Morfologi Penicillium	55
Gambar 30. Struktur Anatomi Virus	57
Gambar 31. Reproduksi virus	57

Gambar 32. Kurva pertumbuhan kultur jasad renik.....	65
Gambar 33. Komposisi mikroba pada daging ikan yang disimpan pada	74
Gambar 34. Perbedaan Bakteri Gram positif (a)	103
Gambar 35. Kondisi sel bakteri saat pewarnaan Gram	105
Gambar 36. Prosedur pewarnaan Gram	110
Gambar 37. Teknik pengenceran dan inokulasi sampel pada	115
Gambar 38. Metode cawan tuang.....	117
Gambar 39. Pengujian coliform dengan metode APM	125
Gambar 40. E.coli dengan media EMB agar	126
Gambar 41. Lactose broth positif coliform (kiri) dan	126
Gambar 42. Media violet red bile agar	127
Gambar 43. MacConkey agar	128
Gambar 44. MacConkey broth (ungu) dan	129
Gambar 45. Media brilliant green lactose bile broth	129
Gambar 46. Metode APM seri pengenceran 5 tabung	131
Gambar 47. Ilustrasi peluang saat penanaman dan	132
Gambar 48. Bagan pemilihan tabung untuk kombinasi tabung 5-4-3-1-0.....	133
Gambar 49. Tabung-tabung LTB sebelum diinkubasi	140
Gambar 50. Tabung-tabung LTB positif	141
Gambar 51. Tabung-tabung BGLB positif	141
Gambar 52. Teknik pengenceran dan inokulasi sampel air minum pada medium kaldu laktose, BGLB dan Mac Conkey Agar	142

PETUNJUK PENGGUNAAN MODUL

Materi Pembelajaran “Mikrobiologi Ikan” merupakan salah satu matakuliah keterampilan awal yang dimaksudkan sebagai penuntun taruna yang baru pertama kali mempelajari mikrobiologi. Tujuan utamanya adalah untuk memperkenalkan konsep-konsep dasar mikrobiologi berikut teknik dan prosedur dasar laboratorium yang unik di bidang mikrobiologi. Setelah mengikuti pembelajaran ini, taruna diharapkan memiliki pengetahuan dan keterampilan mengenai dasar-dasar mikrobiologi yang akan sangat membantu pada saat mempelajari mikrobiologi pada tahap lebih lanjut di mata kuliah “Pengujian Mutu Hasil Perikanan”. Materi pembelajaran dalam modul ini didahului oleh pemaparan dasar teori setiap pokok bahasan secara lengkap dan terperinci. Disamping ini disertakan dengan banyak gambar terutama yang menyangkut teknik-teknik penting untuk membantu pemahaman taruna pada saat praktikum. Modul Pembelajaran Mikrobiologi Ikan akan dipergunakan untuk mengakomodir 2 (dua) matakuliah yaitu Mikrobiologi Ikan (Semester III) dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (Semester IV).

Petunjuk bagi taruna

- a. Baca dan pelajari tiap-tiap uraian materi dengan teliti dan seksama
- b. Mulailah belajar dengan kompetensi dasar yang pertama dan seterusnya
- c. Apabila telah selesai mempelajari uraian atau lembar informasi, kerjakanlah lembar penugasan dan pertanyaan yang ada pada tiap tahap uraian materi
- d. Apabila anda merasa belum berhasil dan atau hasil penilaian akhir semester masih kurang dari 80, pelajari kembali materi yang merasa masih kurang
- e. Jangan mempelajari tahapan kegiatan pembelajaran berikutnya sebelum menyelesaikan latihan pada tahapan pembelajaran sebelumnya
- f. Buatlah laporan akhir tentang materi keseluruhan berdasarkan hasil praktikum yang dilakukan.

Petunjuk bagi Dosen/Instruktur/Asisten Laboratorium

- a. Membantu taruna dalam merencanakan proses belajar
- b. Membimbing taruna dalam mengerjakan setiap tugas dan latihan yang ada dalam modul pembelajaran ini
- c. Membantu taruna dalam mengakses sumber belajar tambahan lain yang diperlukan untuk pendalaman penguasaan materi yang di bahas di dalam modul pembelajaran ini
- d. Mengorganisasikan kelompok belajar taruna bila diperlukan
- e. Melaksanakan penilaian terhadap semua kegiatan yang telah dilaksanakan taruna meliputi aspek pengetahuan, sikap dan keterampilan
- f. Mencatat pencapaian kemajuan belajar taruna.

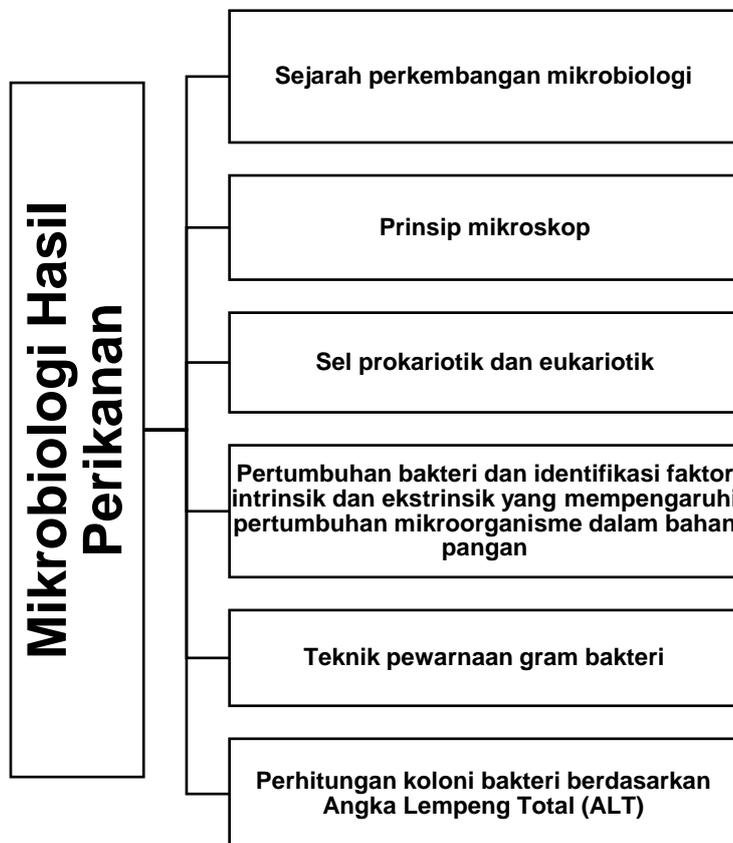
PETA KEDUDUKAN MODUL PEMBELAJARAN

Matakuliah ini mengenalkan dan mengajarkan taruna tentang mikroorganisme dan proses mikrobiologi yang terjadi pada hasil perikanan baik pada bahan mentahnya maupun produk-produk yang telah diproses. Oleh karena mikroorganisme dan proses mikrobiologi yang terjadi pada hasil-hasil perikanan mempunyai peran yang sangat penting dalam menentukan kualitas dan cara pengawetan hasil perikanan, maka akan sangat berguna bagi taruna untuk mengenal, mendalami, mengembangkan, serta menerapkan materi kuliah ini di sektor pengolahan hasil perikanan dan industri perikanan.

Matakuliah ini wajib ditempuh bagi taruna D3 pada program studi Teknik Pengolahan Produk Perikanan. Dengan berakhirnya perkuliahan ini, masing-masing mahasiswa akan mampu menjawab pertanyaan-pertanyaan sebagai berikut:

- a. Faktor-faktor apa saja (ekstrinsik dan intrinsik) yang berpengaruh pada pertumbuhan mikrobia pada produk hasil perikanan.
- b. Prosedur dan teknik-teknik apa saja yang dapat digunakan dalam isolasi dan enumerasi mikroorganisme pada produk hasil perikanan.
- c. Genus, Spesies, dan kelompok mikrobia apa saja yang penting pada industri hasil perikanan.
- d. Prosedur dan teknik-teknik apa saja yang dapat digunakan untuk mengendalikan kontaminasi mikrobia pada hasil perikanan dan alat- alat yang kontak dengan hasil perikanan.
- e. Metode-metode dan prinsip-prinsip apa saja yang dapat digunakan untuk mengendalikan kontaminasi mikroorganisme untuk mencegah pertumbuhan lebih lanjut mikroorganisme yang tidak diinginkan baik pada bahan mentah maupun hasil perikanan yang telah diproses.

Pembelajaran yang paling awal diberikan adalah ciri-ciri koloni sel dan bakteri, identifikasi jamur, bakteri dan yeast, pembuatan media, teknik sterilisasi dan uji sterilisasi, Teknik isolasi dan inokulasi, serta kondisi optimum pertumbuhan mikroba sebagai prasyarat dalam mempelajari pembelajaran pengujian mutu hasil perikanan secara mikrobiologi dengan prosedur pengujian ALT/TPC, *Coliform* dan identifikasi *E. coli*, pengujian *Salmonella* dan *Vibrio* pada produk hasil perikanan.



GLOSARIUM

Aerob: Kondisi tersedia oksigen.

Anaerob: Kondisi tanpa oksigen.

Badan golgi : organel dalam sel eukariotik yang tersusun atas tumpukan kantong bermembran pipih yang bermodifikasi, menyimpan dan mengarah produk-produk retikulum endoplasma dan menyintesis beberapa produk terutama karbohidran non-selulosa

Badan sel : bagian utama sel yang mengandung inti, seperti pada neuron, tidak termasuk tonjolan sel berupa dendrite atau neurit.

Bakteri : Jasad-jasad renik bersel tunggal, termasuk golongan prokariotik.

Bakteri aerob : bakteri yang memerlukan oksigen untuk memperoleh energi.

Bakteri anaerob fakultatif: bakteri yang dapat hidup jika ada oksigen maupun tidak ada oksigen

Bakteri kemoautotrof: Bakteri yang mendapatkan energi dari molekul anorganik seperti H_2S atau NH_4 melalui proses oksidasi untuk mereduksi CO_2 yang merupakan sumber energi satu-satunya.

Bakteri heterotrof: Bakteri yang menggunakan bahan organik sebagai sumber karbonnya.

Bakteriofag : virus yang menginfeksi bakteri

Biogenesis : Teori yang menyatakan bahwa makhluk hidup berasal dari makhluk hidup.

Diplkokokus : Sepasang kokus yang berdempetan.

Eubacteria : super kelas kelompok jenis bakteri kecuali archaeobacteria.

Eukariot : Organisme yang bermembran inti.

Eukariotik : Sel organisme yang bahan intinya diselubungi oleh membran inti.

Flagellata : Golongan hewan bersel satu yang bergerak dengan menggunakan bulu cambuk.

Fungi: Salah satu Kingdom organisme eukariot, bersifat hetrotrofik, fase asimilatif berupa miselium, mencerna makanan secara eksternal (di luar sel) dengan mengeluarkan enzim-enzim, cara makannya dengan mengabsorpsi nutrisi. Hidup sebagai saprob (hidup dari bahan organik mati) atau parasit.

Gram negatif: Hasil pewarnaan gram, bila zat warna violet kristal tidak melekat pada olesan bakteri setelah dibilas dengan alkohol, dan zat warna safranin yang melekat, sehingga olesan bakteri berwarna merah.

Gram positif: Hasil pewarnaan gram, bila zat warna violet kristal yang dioleskan tetap menempel ketika dibilas dengan alkohol, sedangkan zat warna safranin yang dioleskan tidak menempel, sehingga olesan berwarna violet.

Hifa: Salah satu dari filamen-filamen suatu miselium.

Inaktivasi: Membuat sesuatu menjadi tidak aktif.

Koloni : Suatu organisme hidup, baik uniseluler maupun multiseluler yang berada sebagai individu terpisah atau sebagian agregat (kumpul) bebas satu sama lain.

Membran sel : Juga dikenal sebagai membran plasma, lapisan luar sel membantu dalam pergerakan molekul dalam dan keluar sel memainkan kedua peran struktural dan pelindung.

Miselium: Kumpulan hifa.

Nukleus : Inti sel.

Organisme: Makhluk hidup.

Pembelahan biner : pembelahan secara langsung tanpa melalui tahapan pembelahan sel .

Peptidoglikan : Gabungan protein dan polisakarida yang menyusun dinding sel *Eubacteria*.

Sel: merupakan kesatuan struktural dan fungsional makhluk hidup

Sel prokariotik : sel yang hanya memiliki membran plasma, sedangkan inti sel dan organel tidak di batasi oleh membran sehingga materi inti tersebar dalam sitoplasma.

Spesies : pengelompokan makhluk hidup berdasarkan keturunan yang berkaitan secara fisiologis.

Termofilik : lingkungan bersuhu tinggi

1. PENDAHULUAN

A. Deskripsi Singkat

Mikrobiologi merupakan salah satu cabang ilmu biologi yang mempelajari organisme (makhluk) kecil yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang dan hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Organisme kecil itu kemudian disebut dengan mikroorganisme, mikroba, protista atau jasad renik. Sesuai namanya, bidang ilmu mikrobiologi (mikros = kecil/sangat kecil; bios = hidup/kehidupan) mempelajari tentang bentuk, kehidupan, sifat, dan penyebaran organisme yang termasuk golongan mikroba (jasad renik). Adapun organisme yang termasuk golongan mikroba mencakup virus, bakteri, archaea, protozoa, algae, dan jamur. Meskipun algae dan jamur ukurannya cukup besar untuk dapat dilihat dengan mata telanjang, namun kedua organisme tersebut masih dimasukkan dalam golongan mikroba karena untuk mengkajinya (seperti isolasi, sterilisasi dan kultivasi dalam media artifisial) sama seperti golongan mikroorganisme lainnya.

Mikroorganisme terdapat di berbagai tempat seperti tanah, debu, air, udara, kulit dan selaput lendir. Pengetahuan akan dunia mikroba kemudian dikembangkan dengan ditemukannya mikroskop pertama kali. Anthony Van Leeuwenhoek seorang yang pertama kali mengetahui adanya dunia mikroorganisme tersebut (Waluyo, 2011). Beberapa ilmu dasar yang diperlukan untuk mendukung pemahaman mikrobiologi, antara lain ilmu kimia, fisika, dan biokimia. Mikrobiologi juga sering disebut sebagai ilmu praktik dari biokimia.

B. Ruang Lingkup Materi

- Mengetahui sejarah perkembangan mikrobiologi
- Mengetahui prinsip mikroskop
- Mengenali sel prokariotik dan eukariotik
- Mengetahui pertumbuhan bakteri dan identifikasi faktor intrinsik dan ekstrinsik yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan
- Mengetahui teknik pewarnaan gram bakteri
- Menghitung koloni bakteri berdasarkan Angka Lempeng Total (ALT)
- Menghitung koloni bakteri *Coliform* berdasarkan nilai Angka Paling Memungkinkan (APM)/ *Most Probable Number* (MPN)

C. Tujuan Akhir Pembelajaran

Matakuliah Mikrobiologi Hasil Perikanan terdiri atas 1 (satu) SKS perkuliahan yang disertai dengan 2 (dua) SKS praktikum, oleh karenanya *outcome* yang diharapkan bagi mahasiswa yang menempuh matakuliah ini selain memahami seluk beluk mikrobiologi yang berkaitan dengan hasil perikanan, juga memiliki kemampuan mengisolasi, mengidentifikasi dan mengendalikan mikroorganisme yang terdapat pada produk-produk hasil perikanan baik pada skala laboratorium ataupun lapangan (*knowledge and understanding, skills and abilities*). Pengetahuan, keterampilan dan kemampuan ini akan sangat berguna untuk diaplikasikan di dunia kerja. Selanjutnya, taruna diharapkan mampu melakukan pengujian mutu hasil perikanan secara mikrobiologi sesuai dengan prosedur pengujian pada matakuliah Pengujian Mutu Hasil Perikanan Semester IV.

D. Kompetensi Inti dan Kompetensi Dasar

Kompetensi	Sub Kompetensi
1. Mengetahui sejarah perkembangan mikrobiologi	1.1 Mengetahui konflik <i>Generatio spontanea</i> 1.2 Mengetahui teori tentang fermentasi 1.3 Mengetahui penemuan bakteri berspora 1.4 Mengetahui peran mikroorganisme dalam transformasi bahan organik 1.5 Mengetahui penemuan kehidupan anaerob
2. Mengetahui prinsip mikroskop	2.1 Macam-macam mikroskop 2.2 Struktur mikroskop 2.3 Melakukan penanganan dan pemeliharaan mikroskop
3. Mengenal sel prokariotik dan eukariotik	3.1 Mengetahui perbedaan sel prokariotik dan eukariotik 3.2 Mengenal struktur bakteri dan cara hidup bakteri 3.3 Mengenal jamur (kapang dan khamir) 3.4 Mengenal virus dan system reproduksi virus
4. Mengetahui pertumbuhan bakteri dan identifikasi faktor intrinsik dan ekstrinsik yang mempengaruhi pertumbuhan	4.1 Mengidentifikasi media pembiakan bakteri 4.2 Membuat bermacam-macam media bakteri

mikroorganisme dalam bahan pangan	<p>4.3 Mengetahui pola pertumbuhan bakteri</p> <p>4.4 Mengidentifikasi faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri</p>
5. Mengenal mikroorganisme pada produk pangan	<p>5.1 Mengidentifikasi kerusakan mikrobiologis pada produk perikanan</p> <p>5.2 Mengetahui jenis mikroba patogen pada pangan</p>
6. Mengetahui teknik pewarnaan gram bakteri	<p>6.1 Mengetahui perbedaan bakteri gram positif dan negatif</p> <p>6.2 Melakukan prosedur pewarnaan gram bakteri (alami terdapat pada ikan dan akibat kontaminasi)</p>
7. Menghitung koloni bakteri berdasarkan Angka Lempeng Total (ALT)	<p>7.1 Melakukan teknik pengenceran</p> <p>7.2 Melakukan metode pengujian angka lempeng total</p>
8. Menghitung koloni bakteri <i>Coliform</i> berdasarkan nilai Angka Paling Memungkinkan (APM)/ <i>Most Probable Number</i> (MPN)	<p>8.1 Mengenal beberapa media untuk pengujian coliform</p> <p>8.2 Melakukan pengujian coliform</p> <p>8.3 Menghitung jumlah koloni bakteri berdasarkan APM</p>

2. PEMBELAJARAN

2.1 Kegiatan Pembelajaran 1.

A. Judul

Sejarah Perkembangan Mikrobiologi

B. Indikator

Setelah melakukan kegiatan perkuliahan ini, diharapkan taruna dapat menjelaskan ruang lingkup dan sejarah mikrobiologi, yang membahas tentang ruang lingkup dan awal mula ilmu mikrobiologi muncul serta mampu menjelaskan pentingnya mikroorganisme.

C. Deskripsi

Seperti ilmu pengetahuan lainnya, sejarah mempelajari mikrobiologi pun diawali dengan rasa ingin tahu manusia untuk mengenal sifat dan aktivitas mikroorganisme. Pada mulanya mikroorganisme tidak dianggap perlu untuk dipelajari, karena ukurannya yang sangat kecil dan tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, namun pada akhir abad ke-19, penemuan Pasteur, Koch, dan Lister mengubah pendapat tersebut. Pada masa itulah manusia baru menyadari betapa pentingnya pengetahuan tentang mikroorganisme, sehingga keuntungan dan kerugian yang ditimbulkan oleh mikroorganisme mulai banyak dipelajari.

Robert Koch dan beberapa ahli mikrobiologi lainnya mengembangkan banyak teknik dalam ilmu mikrobiologi yang berdampak sangat besar terhadap perkembangan mikrobiologi. Salah satu contoh teknik yang sampai saat ini masih banyak digunakan adalah teknik untuk menumbuhkan mikroorganisme sehingga dalam mempelajari mikrobiologi lebih ditekankan pada teknik-teknik yang digunakan daripada subjek yang ditelaahnya. Mikroskop merupakan peralatan yang mendukung pengembangan teknik tersebut.

D. Uraian Materi

Sejarah dunia mikroorganisme berawal dari ditemukannya mikroskop oleh **Anthony van Leeuwenhoek** (1633-1723). Pada mulanya, mikroskop temuan tersebut masih sangat sederhana, hanya dilengkapi satu lensa dengan jarak fokus yang sangat pendek, tetapi dapat menghasilkan bayangan jelas yang setara dengan perbesaran 50-300 kali. Pengamatan yang dilakukan oleh Leeuwenhoek di antaranya pengamatan terhadap struktur mikroskopis biji,

jaringan tumbuhan, dan invertebrata kecil. Penemuan terbesar pada zamannya dan diketahui sebagai dunia mikroorganisme, yang disebut sebagai **animalculus** atau **hewan kecil**. **Animalculus** adalah berbagai jenis mikroorganisme yang sekarang diketahui sebagai protozoa, algae, khamir, dan bakteri.

1.1 Konflik Generatio Spontanea

Penemuan Leewenhoek tentang **animalcules** menjadi perdebatan dari mana asal **animalcules** tersebut. Ada dua pendapat yang muncul, satu mengatakan animalcules ada karena proses pembusukan tanaman atau hewan, melalui fermentasi misalnya. Pendapat ini mendukung teori yang mengatakan bahwa **makhluk hidup berasal dari benda mati melalui proses abiogenesis. Konsep ini dikenal dengan *generatio spontanea***. Pendapat ini mengatakan bahwa **animalcules tadi berasal dari animalcules sebelumnya** seperti halnya organisma tingkat tinggi. Pendapat atau teori ini disebut dengan **biogenesis**. Mikrobiologi tidak berkembang sampai perdebatan tersebut terselesaikan dengan dibuktikannya kebenaran teori biogenesis. Pembuktian ini memerlukan berbagai macam eksperimen yang nampaknya sederhana dan perlu waktu lebih dari 100 tahun.

a. Pembuktian Ketidakbenaran Abiogenesis

Francesco Redi (1626-1697) dengan hasil eksperimennya membuktikan bahwa ulat yang terdapat pada daging busuk adalah larva yang berasal dari telur lalat, bukan berasal dari benda mati (teori *Generatio Spontanea*). Bagaimana dengan asal usul mikroorganisme yang hanya dapat dilihat dengan mikroskop? **John Needham** (1713-1781) melakukan eksperimen dengan cara memasak sepotong daging untuk menghilangkan organisme yang ada, kemudian menempatkannya dalam toples terbuka. Berdasarkan pengamatannya ditemukan adanya koloni pada permukaan daging tersebut, sehingga disimpulkan bahwa mikroorganisme terjadi secara spontan dari daging.

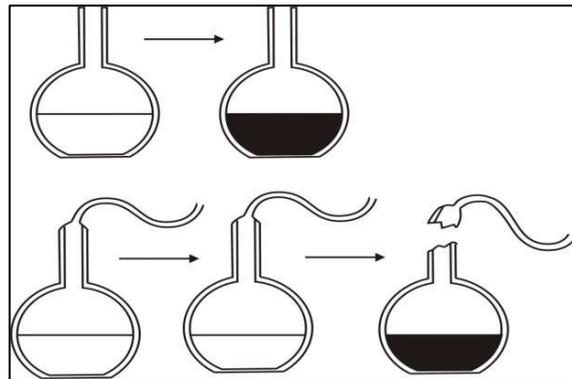
Pada tahun 1769, **Lazarro Spalanzani** (1729-1799) melakukan eksperimen dengan cara merebus kaldu daging selama 1 jam dan menempatkannya pada toples yang ditutup rapat, hasil percobaan menunjukkan tidak ditemukannya mikroorganisme dalam kaldu tersebut. Jadi eksperimen Lazarro Spalanzani menentang teori *Abiogenesis*. Sebaliknya, Needham mengatakan bahwa berdasarkan eksperimennya sumber makhluk hidup berasal dari udara

sementara pada percobaan Spalanzani tidak berinteraksi langsung dengan udara. Setelah hampir 100 tahun percobaan Needham berlangsung dan tidak ada kepastian kebenaran di antara kedua eksperimen tersebut, muncullah dua peneliti yang mencoba memecahkan kontroversi tentang peran udara tersebut. Pada tahun 1836, **Franz Schulze** melakukan eksperimen dengan cara melewati larutan asam kuat ke dalam tabung tertutup yang berisi daging yang telah dimasak. Pada tahun 1837, **Theodore Schwann** melakukan eksperimen dengan cara mengalirkan udara melalui pipa panas ke dalam tabung tertutup yang berisi kaldu. Keduanya tidak menemukan adanya mikroorganisme sebab mikroorganisme telah mati oleh adanya asam kuat maupun panas, tetapi para pendukung teori *Generatio Spontanea* berpendapat bahwa adanya asam kuat dan panas akan mengubah udara sehingga tidak mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Akhirnya pada tahun 1859 muncul peneliti yang menyelesaikan perdebatan tersebut, dengan melakukan percobaan menggunakan tabung tertutup berisi kaldu yang telah dipanaskan. Kemudian ke dalam tabung tersebut dimasukkan pipa yang pada bagiannya diisi dengan kapas dan ujungnya dibiarkan terbuka, dengan demikian mikroorganisme akan tersaring dan udara tetap bisa masuk. Hasilnya, tidak ditemukan mikroorganisme dalam kaldu daging tersebut, hal ini membuktikan bahwa teori *Generatio Spontanea* adalah **salah**.

b. Bukti Teori Biogenesis

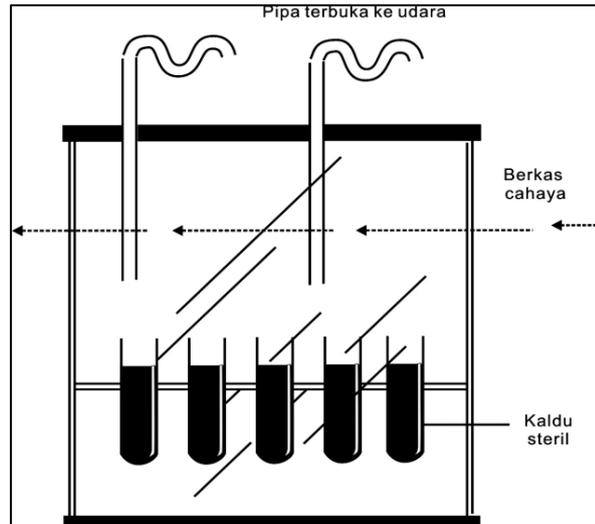
Pada periode yang sama muncul ilmuwan baru dari Perancis **Louis Pasteur** (1822–1895) seorang ahli kimia yang menaruh perhatian pada mikroorganisme. Pasteur tertarik untuk meneliti peran mikroorganisme dalam industri anggur, terutama dalam pembuatan alkohol. Salah satu pendukung teori *Generatio Spontanea* yang hidup pada masa Louis Pasteur adalah **Felix Archimede Pouchet** (1800-1872). Pada tahun 1859 Pouchet banyak mempublikasikan tulisan yang mendukung teori *Abiogenesis*, namun ia tidak dapat membantah penemuan-penemuan Pasteur. Pasteur sebagai ilmuwan, untuk memastikan pendapatnya, melakukan serangkaian eksperimen. Salah satu eksperimen Pasteur yaitu menggunakan bejana leher panjang yang dibengkokkan dan dikenal dengan leher angsa (Gambar 1). Bejana ini diisi dengan kaldu kemudian dipanaskan. Pada kondisi tersebut udara dapat dengan bebas melewati tabung atau pipa leher angsa tetapi di daerah kaldu tidak ditemukan adanya mikroorganisme. Hasil analisis menunjukkan bahwa mikroorganisme beserta

debu akan mengendap pada bagian tabung yang berbentuk **U** sehingga tidak dapat mencapai kaldu. Pasteur melalui eksperimen yang sama, membawa tabung tersebut ke pegunungan Pyrenes dan Alpen. Hasil pengamatan menemukan bahwa mikroorganisme terbawa debu oleh udara, sehingga Pasteur menyimpulkan bahwa semakin bersih/murni udara yang masuk ke dalam bejana, semakin sedikit kontaminasi yang terjadi.



Gambar 1. Botol Pasteur Angsa tetap steril karena lengkung pada leher menahan partikel debu

Salah satu argumen klasik untuk menentang teori *Biogenesis* adalah panas yang digunakan untuk mensterilkan udara atau bahan dianggap dapat merusak energi vital, karena tanpa adanya *vital force* tersebut mikroorganisme tidak dapat muncul serta spontan. **John Tyndall** merespon argumen tersebut dengan mengatakan bahwa udara dapat mudah dibebaskan dari mikroorganisme melalui serangkaian percobaan yaitu meletakkan tabung reaksi berisi kaldu steril ke dalam kotak tertutup. Udara dari luar masuk ke dalam kotak melalui pipa yang sudah dibengkokkan membentuk dasar U seperti spiral (Gambar 2). Terbukti bahwa meskipun udara luar dapat masuk ke dalam kotak yang berisi tabung dengan kaldu di dalamnya, namun tetap tidak ditemukan adanya mikroorganisme. Hasil percobaan Pasteur dan Tyndall memacu diterimanya konsep biogenesis. Selanjutnya Pasteur lebih memfokuskan penelitiannya pada peran mikroorganisme dalam pembuatan anggur dan mikroorganisme yang menyebabkan penyakit.



Gambar 2. Air kaldu steril dalam ruangan inkubasi Tyndall yang bebas debu

1.2 Peran Mikroorganisme dalam transformasi bahan organik

Berbagai bahan yang ditumbuhi mikroorganisme akan mengalami perubahan susunan kimia. Perubahan susunan kimia yang terjadi dikenal sebagai fermentasi (pengkhamiran) dan pembusukan (*putrefaction*). **Fermentasi** merupakan proses pemecahan senyawa organik menjadi senyawa sederhana yang hasil akhirnya alkohol atau asam organik, misalnya terjadi pada bahan yang mengandung karbohidrat. **Pembusukan** merupakan proses peruraian yang menghasilkan bau busuk, seperti pada peruraian bahan yang mengandung protein. Pada tahun 1837, **C. Latour**, **Th. Schwann**, dan **F. Kützing** secara terpisah menemukan bahwa pada zat gula yang mengalami fermentasi alkohol selalu dijumpai adanya khamir, sehingga dapat disimpulkan bahwa perubahan gula menjadi alkohol dan CO_2 merupakan fungsi fisiologis dari sel khamir tersebut. Teori biologis ini ditentang oleh **J. Berzelius**, **J. Liebig**, dan **F. Wahler**. Mereka berpendapat bahwa fermentasi dan pembusukan merupakan reaksi kimia biasa. Hal ini dapat dibuktikan pada tahun 1812 telah berhasil disintesis senyawa organik urea dari senyawa anorganik. Pasteur banyak meneliti tentang proses fermentasi (1875-1876). Suatu saat perusahaan pembuat anggur dari gula bit, menghasilkan anggur yang masam. Berdasarkan pengamatannya secara mikroskopis, sebagian dari sel khamir diganti kedudukannya oleh sel lain yang berbentuk bulat dan batang dengan ukuran sel lebih kecil. Adanya sel-sel yang lebih kecil ini ternyata mengakibatkan sebagian besar proses fermentasi alkohol tersebut didesak oleh proses fermentasi lain, yaitu fermentasi asam

laktat. Berdasarkan kenyataan ini, selanjutnya dibuktikan bahwa setiap proses fermentasi tertentu disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme tertentu pula, yang spesifik untuk proses fermentasi tersebut. Sebagai contoh fermentasi alkohol oleh khamir, fermentasi asam laktat oleh bakteri *Lactobacillus*, dan fermentasi asam sitrat oleh jamur *Aspergillus*.

1.3 Penemuan Kehidupan Anaerob

Selama meneliti fermentasi asam butirat, Pasteur menemukan adanya proses kehidupan yang tidak membutuhkan udara. Pasteur menunjukkan bahwa jika udara dihembuskan ke dalam bejana fermentasi butirat, proses fermentasi menjadi terhambat, bahkan dapat terhenti sama sekali. Atas dasar pengamatan tersebut muncullah 2 istilah kehidupan mikroorganisme, yaitu (1) kehidupan **anaerob**, untuk mikroorganisme yang tidak memerlukan oksigen, dan (2) kehidupan **aerob**, untuk mikroorganisme yang memerlukan oksigen.

Secara fisiologis adanya fermentasi dapat digunakan untuk mengetahui beberapa hal. Oksigen umumnya diperlukan mikroorganisme sebagai agensia untuk mengoksidasi senyawa organik menjadi CO₂. Reaksi oksidasi tersebut dikenal sebagai “respirasi aerob”, yang menghasilkan tenaga untuk kehidupan jasad dan pertumbuhannya. Mikroorganisme lain dapat memperoleh tenaga dengan jalan memecahkan senyawa organik secara fermentasi **anaerob**, tanpa memerlukan oksigen. Beberapa jenis mikroorganisme bersifat **obligat anaerob** atau **anaerob sempurna**. Jenis lain bersifat **fakultatif anaerob**, yaitu mempunyai dua mekanisme untuk mendapatkan energi. Apabila ada oksigen, energi diperoleh secara respirasi aerob, apabila tidak ada oksigen energi diperoleh secara fermentasi anaerob. Pasteur mendapatkan bahwa respirasi aerob adalah proses yang efisien untuk menghasilkan energi.

1.4 Penemuan Enzim

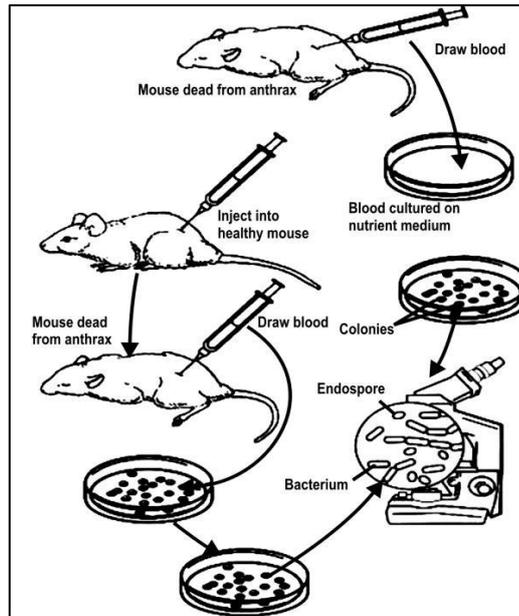
Menurut Pasteur, proses fermentasi merupakan proses vital bagi kehidupan mikroorganisme. Pendapat tersebut ditentang oleh **Bernard** (1875), bahwa khamir dapat memecah gula menjadi alkohol dan CO₂ karena mengandung katalisator biologis dalam selnya. Katalisator biologis tersebut dapat diekstrak sebagai larutan tetap yang dapat menunjukkan kemampuan fermentasi, sehingga fermentasi dapat dibuat sebagai proses yang tidak vital lagi (tanpa sel).

Pada tahun 1897, **Buchner** mampu membuktikan gagasan Bernard, yaitu pada saat menggerus sel khamir dengan pasir dan ditambahkan sejumlah besar gula, terlihat dari campuran tersebut dibebaskan CO₂ dan sedikit alkohol. Penemuan tersebut membuka jalan ke perkembangan biokimia modern. Pada akhirnya dapat diketahui bahwa pembentukan alkohol dari gula oleh khamir, merupakan hasil urutan beberapa reaksi kimia, yang masing-masing dikatalisir oleh biokatalisator spesifik atau dikenal sebagai **enzim**.

1.5 Mikroorganisme Penyebab Penyakit

Pasteur menggunakan istilah khusus untuk mengatakan kerusakan pada minuman anggur oleh mikroorganisme, disebutnya sebagai **penyakit Bir**. Pasteur juga menduga kuat tentang adanya peran mikroorganisme dalam penyebab timbulnya penyakit pada jasad tingkat tinggi. Hal ini terbukti dengan ditemukannya jamur penyebab penyakit pada tanaman gandum (1813), tanaman kentang (1845), penyakit pada ulat sutera, dan pada kulit manusia. Pada tahun 1850 diketahui bahwa dalam darah hewan yang terkena penyakit antraks terdapat bakteri berbentuk batang. **Davaine** (1863-1868) membuktikan bahwa bakteri tersebut hanya terdapat pada hewan sakit, melalui penularan buatan dengan menggunakan darah hewan sakit yang diinfeksi pada hewan sehat sehingga kemudian hewan sehat terjangkit penyakit yang sama. Pembuktian bahwa antraks disebabkan oleh bakteri juga dilakukan oleh **Robert Koch** (1876), sampai ditemukannya **postulat Koch** yang merupakan langkah-langkah untuk pembuktian bahwa suatu mikroorganisme merupakan penyebab penyakit (Gambar 3). **Postulat Koch** dalam bentuk umum adalah sebagai berikut.

- a. Suatu mikroorganisme yang diduga sebagai penyebab penyakit harus ada pada setiap tingkatan penyakit.
- b. Mikroorganisme tersebut dapat diisolasi dari jasad yang sakit dan ditumbuhkan dalam bentuk biakan murni.
- c. Apabila biakan murni tersebut disuntikkan pada hewan sehat dan peka, maka akan dapat menimbulkan penyakit yang sama.
- d. Mikroorganisme dapat diisolasi kembali dari jasad yang telah dijadikan sakit tersebut.



Gambar 3. Ilustrasi langkah-langkah Postulat Koch

1.6 Konsepsi Biakan Murni

Dalam penelitian tentang mikroorganisme yang mungkin menjadi penyebab berbagai penyakit, Koch dan rekan-rekannya mengembangkan beberapa prosedur laboratorium yang mempunyai dampak luar biasa terhadap perkembangan mikrobiologi. Hal ini mencakup prosedur untuk mewarnai bakteri agar mudah memeriksanya (mudah dapat diamati) dan teknik untuk *membiarkan* (menumbuhkan) mikroba di laboratorium. Media adalah substansi yang memenuhi kebutuhan nutrisi mikroorganisme, dan senyawa dari alga yang disebut **agar** dapat membuat media menjadi padat.

Richard J. Petri (1852 – 1921) membuat piringan kaca bertutup untuk menempatkan media agar alat tersebut selanjutnya disebut Petri dish yang masih digunakan sampai sekarang (Gambar 4). Pada tahun 1892, dengan menggunakan teknik biakan murni Koch dan anggotanya menemukan agen-agen penyebab typhus, dipteri, tetanus, pneumonia dan lain sebagainya. Koch mengenalkan penggunaan binatang model untuk penyakit manusia dengan cara menginjeksikan bakteri ke dalam menit, kelinci, babi atau domba. Ia bahkan menempelkan kamera pada mikroskopnya untuk mengambil gambar dan menggunakannya sebagai bukti untuk menghilangkan keraguan.



Gambar 4. Koloni-koloni mikroorganisme pada medium agar nutrisi dalam cawan petri. Bentuk koloni dan warna yang berbeda menunjukkan jenis bakteri yang berbeda.

1.7 Penemuan Virus

Iwanowsky melalui eksperimennya menemukan adanya kemampuan filtrat bebas bakteri (cairan yang telah disaring dengan saringan bakteri) berasal dari ekstrak tanaman tembakau terkena penyakit mozaik, ternyata masih tetap dapat menimbulkan infeksi pada tanaman tembakau yang sehat. Berdasarkan kenyataan tersebut dapat diketahui adanya jasad hidup yang memiliki ukuran jauh lebih kecil daripada bakteri (submikroskopik) karena mampu lolos dari saringan bakteri, dan jasad tersebut dikenal sebagai **virus**. Pembuktian penyakit yang disebabkan oleh virus, dapat digunakan **postulat River** (1937), sebagai berikut.

- a. Virus harus berada di dalam sel inang.
- b. Filtrat bahan yang terinfeksi tidak mengandung bakteri atau mikroorganisme lain yang dapat ditumbuhkan di dalam media buatan.
- c. Filtrat dapat menimbulkan penyakit pada jasad yang peka.
- d. Filtrat yang sama dan berasal dari hospes peka tersebut harus dapat menimbulkan kembali penyakit yang sama.

E. RANGKUMAN

Mikrobiologi merupakan cabang ilmu biologi yang mempelajari mikroorganisme dan untuk memahaminya perlu didukung beberapa ilmu dasar seperti ilmu fisika, kimia, dan biokimia. Mikrobiologi telah mengalami perkembangan yang pesat menjadi beragam ilmu, antara lain virologi,

bakteriologi, mikologi, mikrobiologi pangan, mikrobiologi tanah, dan mikrobiologi industri. Perkembangan mikrobiologi meliputi: Periode pertama, sekitar tahun 1675 dimulai dengan terbukanya rahasia suatu dunia mikroorganisme melalui pengamatan Leeuwenhoek. Periode ke dua, pertentangan atau konflik *generatio spontanea* sampai dipatahkannya konsep abiogenesis. Pada periode ke tiga, ditemukannya penyakit dan fermentasi sehingga dihasilkan postulat Koch dan postulat River, yang digunakan sampai sekarang. Konsep penting: Mikrobiologi mempelajari tentang mikroorganisme kecil yang tidak bisa dilihat dengan mata telanjang.

F. PENUGASAN

Latihan soal berikut dapat dijawab, apabila Anda baca kembali uraian tentang:

- 1) Ruang lingkup mikrobiologi.
- 2) Beberapa percobaan yang dilakukan oleh *Leeuwenhoek*, *F. Redi* serta *L. Spallanzani*.
- 3) Pendapat *Louis Pasteur*.
- 4) Konflik *Generatio Spontanea*
- 5) Teori Fermentasi
- 6) *Postulat Koch* dan *Postulat River*

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

1. Mengapa *Antonie van Leeuwenhoek* dianggap sebagai Bapak “Bakteriologi”?
2. Jelaskan tentang teori *Generatio Spontanea*!
3. Jelaskan sumbangan apa saja yang diberikan oleh *Louis Pasteur*!
4. Jelaskan bahwa konsep abiogenesis adalah tidak benar!
5. Jelaskan tentang fermentasi dan berikan contohnya!
6. Jelaskan tentang *postulat Koch* dan *postulat River*!

G. TES FORMATIF 1

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

1. Ilmu yang mempelajari tentang organisme yang berukuran mikroskopis disebut
 - a. virologi
 - b. bakteriologi
 - c. mikrobiologi
 - d. biologi
2. Konsep mengenai kehidupan yang berasal dari bahan mati, dikenal sebagai *Generatio Spontanea* atau
 - a. *Abiogenesis*
 - b. *Abiogenesis Spontanea*
 - c. *Biogenesis Spontanea*
 - d. *Spontanea*
3. Berdasarkan logika yang wajar, pada akhirnya kita memahami bahwa semua makhluk hidup berasal dari makhluk hidup juga. Lebih lanjut berdasarkan keyakinan kita, maka nenek moyang keragaman spesies awal makhluk hidup muncul dan ada karena
 - a. proses pembentukan sifat
 - b. alam berproses tiada henti
 - c. penciptaan oleh Allah yang maha kuasa
 - d. peristiwa spontan di alam
4. Menurut Schwann fermentasi oleh ragi akan berjalan lancar jika jumlah ragi yang digunakan cukup banyak. Ragi yang dimaksud adalah
 - a. *Saccharomyces cerevisae*
 - b. *Bacillus* sp.
 - c. *Candida* sp.
 - d. *Rhizopus oligosporus*
5. Seorang ahli fisika Inggris yang memberikan sanggahan akhir terhadap *Generatio Spontanea* adalah
 - a. John Tyndall
 - b. John Needham
 - c. Francesco Redi
 - d. Spallanzani
6. Salah satu pendukung teori *Generatio Spontanea* yang hidup pada masa Louis Pasteur yang banyak mempublikasikan tulisan yang mendukung teori *Abiogenesis* adalah
 - a. Felix Archimede Pouchet
 - c. Robert Koch

- b. John Needham
d. J. Liebig
7. Ilmuwan yang pertama kali mendeskripsikan mengenai bakteri adalah....
- a. Iwanowsky
c. Anthony van Leeuwenhoek
- b. F. Wahler
d. Felix Archimede Pouchet
8. Penggunaan utama dari **Postulat Koch** adalah untuk
- a. mengidentifikasi dan mengkarakterisasi mikroorganisme tertentu
- b. mengisolasi mikroorganisme dari hewan yang sakit
- c. mengembangkan vaksin untuk penyakit tertentu
- d. menunjukkan bahwa penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme

Pilihlah A jika 1 dan 2 benar

B jika 1 dan 3 benar

C jika 2 dan 3 benar

D jika 1, 2, dan 3 benar

9. Percobaan Tyndall ditemukan adanya fase
1. termolabil
2. termostabil
3. termoresisten
10. Proses utama pada bioremediasi adalah
1. biodegradasi
2. biotransformasi
3. biokatalis

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 1 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 1.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:

90 - 100% = baik sekali

80 - 89% = baik

70 - 79% = cukup

< 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Belajar 2. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda

harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 1, terutama bagian yang belum dikuasai.

2.2 Kegiatan Pembelajaran 2.

A. Judul

Mikroskop

B. Indikator

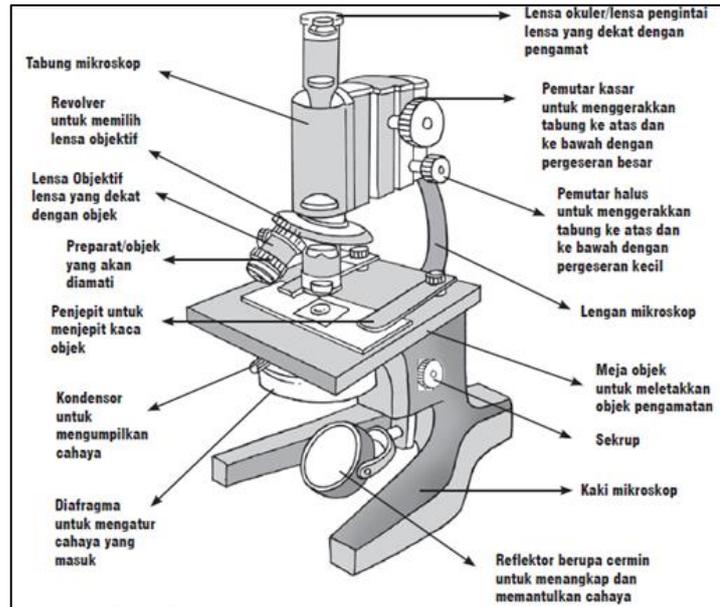
Setelah melakukan kegiatan perkuliahan ini, diharapkan taruna dapat menjelaskan perbedaan berbagai jenis mikroskop dan bagian-bagian dari mikroskop.

C. Deskripsi

Mikroskop merupakan alat yang paling sering dipakai dalam laboratorium mikrobiologi. **Mikroskop** (bahasa Yunani : *micros* = kecil dan *scopein* = melihat) adalah sebuah alat untuk melihat organisme yang sangat kecil (mikroorganisme) yang tidak dapat dilihat oleh mata telanjang. Ilmu yang mempelajari benda kecil dengan menggunakan alat ini disebut **Mikroskopi**, dan kata **Mikroskopik** berarti sangat kecil, tidak mudah terlihat oleh mata. *Daya pembesarannya* menyebabkan kita dapat melihat struktur mikroorganisme yang tidak dapat terlihat dengan mata telanjang. Pembesaran yang dapat dicapai mikroskop adalah sekitar 100x – 400.000x.

D. Uraian Materi

Salah satu penemu sejarah mikrobiologi dengan mikroskop adalah **Anton Van Leeuwenhoek** (1632-1723), tahun 1675 Antonie membuat mikroskop dengan kualitas lensa yang cukup baik, dengan menumpuk lebih banyak lensa sehingga dia bisa mengamati mikroorganisme yang terdapat pada air hujan yang menggenang dan air jambangan bunga, juga dari air laut dan bahan pengorekan gigi. Ia menyebut benda-benda bergerak tadi dengan '**animalcule**'. Mikroskop dapat dibedakan atas beberapa jenis, tetapi mekanisme bekerjanya pada prinsipnya sama, **yaitu** terdiri dari sistem **optik** atau sistem **pembesaran**, dan sistem **iluminasi** yang menyebabkan terlihatnya suatu objek. Bagian-bagian mikroskop sederhana dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Bagian-bagian mikroskop sederhana

2.1 Jenis-jenis Mikroskop

Berbagai jenis mikroskop dengan tingkat pembesaran maksimum dan ciri-ciri masing-masing dapat dilihat pada Tabel 1. Mikroskop terbagi dalam 2 jenis:

1. Mikroskop yang menggunakan sumber *cahaya*
2. Mikroskop yang menggunakan sumber *elektron*

Pada mikroskop cahaya digunakan sistem lensa dan sinar dengan panjang gelombang tertentu. Termasuk dalam jenis mikroskop ini ialah:

1. Mikroskop medan terang
2. Mikroskop medan gelap
3. Mikroskop kontras-fase
4. Mikroskop fluoresen

Mikroskop cahaya sendiri dibagi lagi menjadi dua kelompok besar, yaitu berdasarkan kegiatan pengamatan dan kerumitan kegiatan pengamatan yang dilakukan. Berdasarkan **kegiatan pengamatannya**, mikroskop cahaya dibedakan menjadi mikroskop diseksi untuk mengamati bagian permukaan dan mikroskop **monokuler** dan **binokuler** untuk mengamati bagian dalam sel (Gambar 6). Mikroskop monokuler merupakan mikroskop yang hanya memiliki 1 lensa okuler dan binokuler memiliki 2 lensa okuler. Berdasarkan **kerumitan kegiatan pengamatan** yang dilakukan, mikroskop dibagi menjadi 2 bagian, yaitu mikroskop sederhana (yang umumnya digunakan pelajar) dan mikroskop riset (mikroskop *dark-field*, fluoresens, fase kontras, *Nomarski DIC*, dan konfokal).



Gambar 6. Mikroskop Binokuler dan Monokuler

Termasuk dalam jenis mikroskop elektron ialah:

- a. Mikroskop Elektron Transmisi
- b. Mikroskop Elektron Skaning

Tabel 1. Perbedaan berbagai jenis mikroskop

<i>Jenis mikroskop</i>	<i>Pembesaran maksimum</i>	<i>Penampakan objek</i>	<i>Penggunaan</i>
Medan terang (bright-field)	1000-2000	Objek diwarnai atau tidak diwarnai	Melihat morfologi, bakteri, khamir, kapang, ganggang, dan protozoa
Kontras (phase contrast)	1000-2000	Berbagai tingkat penggelapan/kontras	Melihat struktur jasad renik yang berukuran relative besar (sel khamir, ganggang, protozoa, beberapa bakteri)
Medan gelap (dark field)	1000-2000	Objek terang atau bersinar dengan latar belakang	Melihat morfologi gelap jasad renik spesifik, misalnya spirokhita)
Ultraviolet	1000-2000	Biasanya tidak dilihat langsung, tetapi dipotret atau ditangkap pada layar TV	Membedakan struktur sel berdasarkan daya serapnya terhadap sinar UV
Fluoresen	1000-2000	Terang dan berwarna fluorezen	Teknik diagnosis untuk komponen fluorezen atau sel yang dapat dibuat menjadi fluorezen
Elektron	200.000 – 400.000	Dilihat pada lempeng fotografik	Mengamati virus dan struktur sel yang sangat kecil (pili, DNA, dinding sel, membrane, dsb)

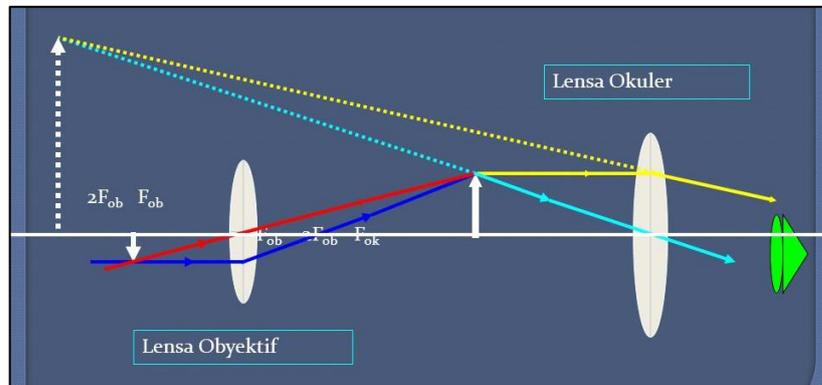
1. Struktur Mikroskop

Ada dua bagian utama yang umumnya menyusun mikroskop, yaitu:

- Bagian optik, yang terdiri dari kondensor, lensa objektif, dan lensa okuler.
- Bagian non-optik, yang terdiri dari kaki dan lengan mikroskop, diafragma, meja objek, pemutar halus dan kasar, penjepit kaca objek, dan sumber cahaya.

2. Pembesaran

Tujuan mikroskop cahaya dan elektron adalah menghasilkan bayangan dari benda yang di mikroskop lebih besar. Pembesaran ini tergantung pada berbagai faktor, diantaranya titik fokus kedua lensa (objektif f_1 dan okuler f_2 , panjang tubulus atau jarak (t) lensa objektif terhadap lensa okuler dan yang ketiga adalah jarak pandang mata normal (**sn**) (Gambar 7). Lensa objektif bekerja mengatur fokus sinar lampu pada objek yang ditempatkan dibelakang titik fokal F_1 dan memperbesar objek sehingga menghasilkan bayangan nyata yang diproyeksikan pada bidang fokal dari lensa okuler. Bayangan nyata yang terletak di depan titik fokal F_1 dari lensa okuler diperbesar oleh lensa okuler sehingga membentuk **bayangan maya**. Dengan demikian, total pembesaran merupakan hasil dari pembesaran lensa objektif dan lensa okuler. Lensa objektif terdiri dari kombinasi lensa konveks dan lensa konkaf.



Gambar 7. Bagian-bagian mikroskop sederhana

Untuk memperoleh berbagai tingkat pembesaran, setiap mikroskop pada umumnya dilengkapi dengan dengan tiga buah lensa objektif yang dipasang pada *nosepiece* yang dapat diputar, yaitu terdiri dari:

- Lensa objektif berkekuatan rendah (*low power*, 16 mm) yang ditandai dengan angka 10x pada bagian luarnya dan mempunyai jarak kerja 5-8.3 mm.

2. Lensa objektif berkekuatan tinggi (*high dry*, 4 mm) yang ditandai dengan angka 40x, 43x, 44x, atau 45x, dan mempunyai jarak kerja 0.46-0.72 mm.
3. Lensa objektif minyak imersi (*immersion oil*, 1.8 mm) yang ditandai dengan angka 95x, 97x atau 100x dan mempunyai jarak kerja 0.13-0.14 mm.

Untuk mengatur fokus sistem lensa pada objek, digunakan dua buah knop yang dapat diputar yaitu knop pengatur kasar yang mengatur jarak antara lensa dengan objek, dan knop pengatur halus yang menggerakkan tabung penyangga lensa secara halus sehingga menghasilkan fokus yang tepat.

2.2 Mikroskop Cahaya

Mikroskop cahaya atau dikenal juga dengan nama "*Compound light microscope*" adalah sebuah mikroskop yang menggunakan cahaya lampu sebagai pengganti cahaya matahari sebagaimana yang digunakan pada mikroskop konvensional. Pada mikroskop konvensional, sumber cahaya masih berasal dari sinar matahari yang dipantulkan dengan suatu cermin datar ataupun cekung yang terdapat dibawah kondensor. Cermin ini akan mengarahkan cahaya dari luar kedalam kondensor. Mikroskop cahaya mempunyai perbesaran maksimum 1000 kali. Mikroskop mempunyai kaki yang berat dan kokoh dengan tujuan agar dapat berdiri dengan stabil. Mikroskop cahaya memiliki tiga sistem lensa, yaitu lensa obyektif, lensa okuler, dan kondensor. Lensa obyektif dan lensa okuler terletak pada kedua ujung tabung mikroskop. Lensa okuler pada mikroskop bisa berbentuk lensa tunggal (*monokuler*) atau ganda (*binokuler*). Pada ujung bawah mikroskop terdapat tempat dudukan lensa obyektif yang bisa dipasang tiga lensa atau lebih. Di bawah tabung mikroskop terdapat meja mikroskop yang merupakan tempat preparat. Sistem lensa yang ketiga adalah kondensor. Kondensor berperan untuk menerangi obyek dan lensa-lensa mikroskop yang lain.

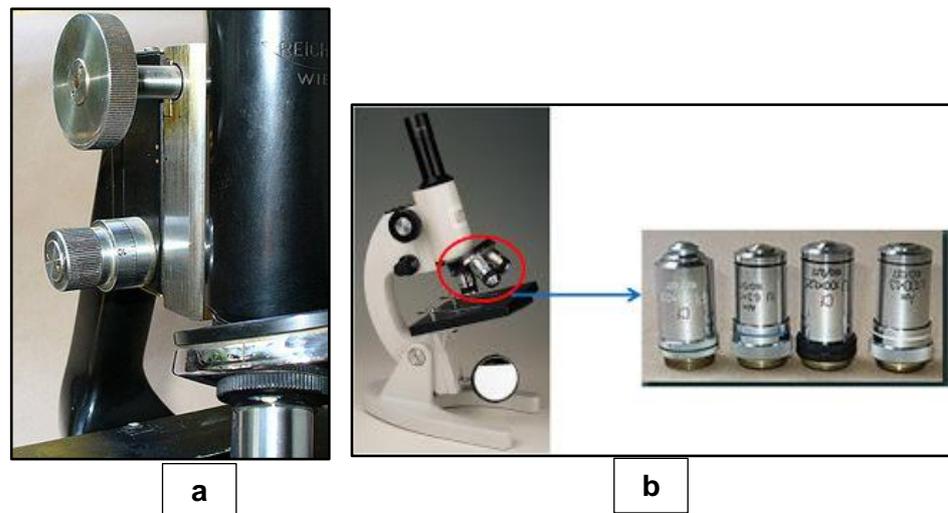
2.2.1 Jenis lensa

Mikroskop cahaya menggunakan tiga jenis lensa, yaitu lensa obyektif, lensa okuler, dan kondensor. Lensa obyektif dan lensa okuler terletak pada kedua ujung tabung mikroskop sedangkan penggunaan lensa okuler terletak pada mikroskop bisa berbentuk lensa tunggal (*monokuler*) atau ganda (*binokuler*). Pada ujung bawah mikroskop terdapat tempat dudukan lensa obyektif yang bisa

dipasang tiga lensa atau lebih. Di bawah tabung mikroskop terdapat meja mikroskop yang merupakan tempat preparat (Gambar 8).



Gambar 8. (a) Pengatur Kasar; (b) Lensa Okuler



Gambar 9. (a) Perbesaran kasar dan perbesaran halus dan (b) lensa objektif

Lensa obyektif berfungsi guna pembentukan bayangan pertama dan menentukan struktur serta bagian renik yang akan terlihat pada bayangan akhir serta berkemampuan untuk memperbesar bayangan obyek sehingga dapat memiliki nilai “apertura” yaitu suatu ukuran daya pisah suatu lensa obyektif yang akan menentukan daya pisah spesimen, sehingga mampu menunjukkan struktur renik yang berdekatan sebagai dua benda yang terpisah. Lensa obyektif bekerja

dalam pembentukan bayangan pertama. Lensa ini menentukan struktur dan bagian renik yang akan terlihat pada bayangan akhir. Ciri penting lensa obyektif adalah memperbesar bayangan obyek dan mempunyai *nilai apertura (NA)*. *Nilai apertura adalah* ukuran daya pisah suatu lensa obyektif yang akan menentukan daya pisah spesimen, sehingga mampu menunjukkan struktur renik yang berdekatan sebagai dua benda yang terpisah (Gambar 9).

Lensa obyektif dan lensa okuler terletak pada kedua ujung tabung mikroskop sedangkan penggunaan lensa okuler terletak pada mikroskop bisa berbentuk lensa tunggal (monokuler) atau ganda (binokuler). Pada ujung bawah mikroskop terdapat tempat kedudukan lensa obyektif yang bisa dipasang tiga lensa atau lebih. Di bawah tabung mikroskop terdapat meja mikroskop yang merupakan tempat preparat. **Lensa okuler**, adalah lensa mikroskop yang terdapat di bagian ujung atas tabung berdekatan dengan mata pengamat, dan berfungsi untuk memperbesar bayangan yang dihasilkan oleh lensa obyektif berkisar antara 4 hingga 25 kali (Gambar 10).



Gambar 10. Lensa okuler

Lensa kondensor, adalah lensa yang berfungsi guna mendukung terciptanya pencahayaan pada obyek yang akan dilihat sehingga dengan pengaturan yang tepat maka akan diperoleh daya pisah maksimal. Lensa kondensor, berfungsi juga untuk mendukung terciptanya pencahayaan pada obyek yang akan difokus, sehingga bila pengaturannya tepat akan diperoleh daya pisah maksimal (Gambar 11). Jika daya pisah kurang maksimal, dua benda akan tampak menjadi satu. Perbesaran akan kurang bermanfaat jika daya pisah

mikroskop kurang baik. Sistem lensa yang ketiga adalah kondensor. Kondensor berperan untuk menerangi obyek dan lensa-lensa mikroskop yang lain.



Gambar 11. Lensa kondensor

2.2.2 Preparasi sediaan

Persiapan preparat di dalam mikroskop cahaya terbagi menjadi dua jenis, yaitu: Preparat Non-permanen, yang dapat diperoleh dengan menambahkan air pada sel hidup di atas kaca objek, kemudian diamati di bawah mikroskop.

Preparat permanen, yang dapat diperoleh dengan melakukan fiksasi yang bertujuan untuk membuat sel dapat menyerap warna, membuat sel tidak bergerak, mematikan sel, dan mengawetkannya.

Tahap selanjutnya, yaitu pembuatan sayatan, yang bertujuan untuk memotong sayatan hingga setipis mungkin agar mudah diamati di bawah mikroskop. Preparat dilapisi dengan monomer resin melalui proses pemanasan karena pada umumnya jaringan memiliki tekstur yang lunak dan mudah pecah setelah mengalami fiksasi, kemudian dilanjutkan dengan pemotongan menggunakan mikrotom. Umumnya mata pisau mikrotom terbuat dari berlian karena berlian tersusun dari atom karbon yang padat. Oleh karena itu, sayatan yang terbentuk lebih rapi. Setelah dilakukan penyayatan, dilanjutkan dengan pewarnaan, yang bertujuan untuk memperbesar kontras antara preparat yang akan diamati dengan lingkungan sekitarnya. Setiap pewarna mengikat molekul yang memiliki kespesifikan tertentu, contohnya: *Hematoksilin*, yang mampu mengikat asam amino basa (lisin dan arginin) pada berbagai protein, dan eosin, yang mampu mengikat molekul asam (DNA dan rantai samping pada aspartat dan glutamat).

Pada mikroskop konvensional, sumber cahaya masih berasal dari sinar matahari yang dipantulkan dengan suatu cermin datar ataupun cekung yang terdapat dibawah kondensor. Cermin ini akan mengarahkan cahaya dari luar

kedalam kondensor. Pada mikroskop modern sudah dilengkapi lampu sebagai pengganti sumber cahaya matahari.

2.3 Mikroskop Medan Gelap

Dengan mikroskop ini latar belakang terlihat gelap sedangkan mikroorganisme terlihat terang. Hal ini disebabkan suatu kondensor khusus, sehingga sebagian besar cahaya tidak masuk ke lensa obyektif. Mikroorganisme terlihat terang karena sinar cahaya yang masuk dipantulkan.

Mikroskop ini biasanya digunakan untuk melihat:

- a. Preparat basah
- b. Preparat tetes bergantung

2.4 Mikroskop Fluorescence

Mikroskop *fluorescence* hampir sama dengan mikroskop cahaya biasa dengan tambahan fitur untuk meningkatkan kemampuannya. Pada mikroskop konvensional menggunakan cahaya tampak (400 - 700 nanometer) untuk iluminasi dan menghasilkan gambar sampel yang diperbesar. Sementara mikroskop *fluorescence*, sebaliknya, menggunakan intensitas cahaya yang lebih tinggi, yang mengeksitasi bagian berpendar pada sampel. Mikroskop *fluorescence* sering digunakan untuk menggambarkan fitur khusus dari spesimen kecil seperti mikroba. Juga digunakan untuk secara visual meningkatkan fitur 3-D pada skala kecil.

Mikroskop *fluorescence* digunakan untuk:

- Menampilkan komponen struktural suatu spesimen kecil, seperti sel.
- Melakukan studi viabilitas pada populasi sel (apakah mereka hidup atau mati?)
- Menampilkan materi genetik pada sel (DNA dan RNA)
- Melihat sel - sel spesifik dalam populasi yang lebih besar dengan teknik khusus seperti FISH

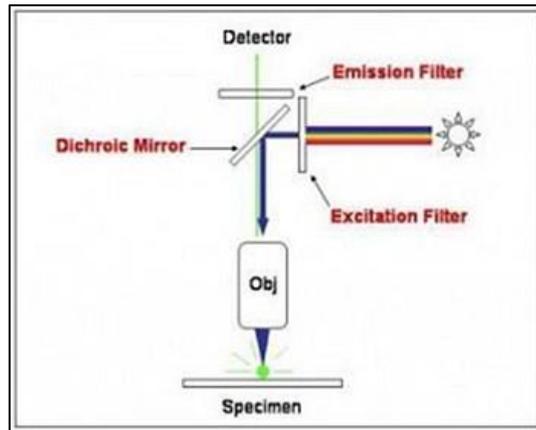
Pada mikroskop *fluorescence* (Gambar 12) terdapat beberapa filter yaitu:

1. Filter "exciter"

Memantulkan semua cahaya terkecuali cahaya biru

2. Filter "barrier"

Menahan cahaya biru, dan membolehkan cahaya hijau (atau cahaya lainnya yang dipantulkan zat warna) lalu. Barrier filter yang digunakan tergantung dari zat warna yang dipakai.



Gambar 12. Mikroskop *fluorescence*

2.5 Mikroskop Kotras-fase

Mikroskop kontras-fase sangat berguna untuk melihat preparat hidup. Jenis mikroskop ini dilengkapi oleh kondensor dan obyektif khusus. Penggunaan kedua macam perlengkapan ini menyebabkan kita dapat melihat preparat yang tidak diwarnai berdasarkan refraksi indeks atau ketebalannya. Jika terjadi perbedaan tebal struktur suatu sel maka akan terjadi perubahan indeks refraksi dan *perubahan fase*, sehingga struktur sel mikroorganisme terlihat dengan jelas.

2.6 Mikroskop elektron

Mikroskop elektron adalah sebuah mikroskop yang mampu untuk melakukan pembesaran objek sampai 2 juta kali, yang menggunakan elektro statik dan elektro magnetik untuk mengontrol pencahayaan dan tampilan gambar serta memiliki kemampuan pembesaran objek serta resolusi yang jauh lebih bagus daripada mikroskop cahaya. Mikroskop elektron ini menggunakan jauh lebih banyak energi dan radiasi elektromagnetik yang lebih pendek dibandingkan mikroskop cahaya. Mikroskop elektron mempunyai dua tipe, yaitu mikroskop elektron *scanning* (SEM) dan mikroskop elektron transmisi (TEM). SEM digunakan untuk studi detil arsitektur permukaan sel (atau struktur renik lainnya), dan obyek diamati secara tiga dimensi (Gambar 13). Obyek yang akan diamati mula-mula dilapisi dengan lapisan tipis logam berat seperti emas. Berkas elektron diarahkan pada objek dan ditatapkan (*scan*) bolak balik. Elektron yang disebarkan oleh logam berat tersebut dikumpulkan dan akan mengaktifkan layar untuk membentuk bayangan. Dengan alat SEM ini hanya permukaan objek yang akan dilihat, dan pembesarannya sangat bervariasi yaitu dari 15.000 sampai kira-

kira 100.000 kali. Sedangkan TEM digunakan untuk mengamati struktur detail internal sel.



Gambar 13. Mikroskop elektron *scanning*

Kelemahan Mikroskop Elektron

1. Spesimen harus dimasukkan dalam ruang hampa udara, sehingga sel tidak dapat diperiksa dalam keadaan hidup.
2. Sewaktu pengeringan dapat terjadi kerusakan morfologi.
3. Daya merasuk yang rendah, dari berkas elektron, sehingga specimen yang diperiksa harus merupakan sayatan yang sangat tipis.
4. Gambaran mengenai struktur internal sel disesuaikan dengan jenis mikroskop lainnya, oleh karena struktur internal yang diperlihatkan mikroskop elektron berbeda dengan mikroskop lainnya. Ini berarti bahwa untuk mengerti gambaran yang diberikan oleh mikroskop elektron, diperlukan pengalaman dan keahlian.

2.7 Mengatur Besarnya Obyek

Perbesaran bayangan dari suatu obyek dapat diketahui dari angka perbesaran lensa obyektif dan lensa okuler. Ukuran suatu benda dapat diketahui dengan membandingkan terhadap ukuran bidang pandang. Hal ini dapat dikerjakan dengan beberapa langkah berikut: letakkan penggaris plastik berskala mm diatas meja obyek dan perkirakan diameter bidang pandang tersebut, dan catat perbesaran lensa obyektifnya. Ubahlah lensa obyektif dengan lensa

obyektif perbesaran kuat dan tentukan diameter bidang pandangnya dengan rumus berikut:

$$\text{Ø ok} = \text{Ø ol} \times \text{pl/pk}$$

Keterangan :

Øok = diameter bidang pandang dengan obyektif perbesaran kuat.

Øol = diameter bidang pandang dengan obyektif perbesaran lemah

pk = perbesaran lensa obyektif kuat, pl = perbesaran lensa obyektif lemah

2.8 Mempersiapkan Preparat

Mikroskop merupakan alat optik yang dapat digunakan untuk mengamati benda-benda mikro (benda-benda yang sangat kecil) yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Obyek yang akan diamati atau diperbesar dengan mikroskop disebut **Spesimen**. Untuk membuat preparat non-permanen dilakukan beberapa langkah, yaitu letakkan medium (berupa setetes air) diatas gelas obyek, dan letakkan bahan yang akan diamati didalam medium. Selanjutnya tutuplah dengan kaca penutup. Usahakan agar tidak terdapat gelembung udara pada medium. Hal ini dapat diusahakan dengan beberapa langkah berikut: pegang kaca penutup dengan posisi 45° terhadap gelas obyek, sentuhkan tepi bawah kaca penutup pada permukaan medium dan perlahan-lahan rebahkan sehingga kaca penutup terletak di atas kaca obyek. Jika masih ada gelembung udara ulangi pekerjaan tersebut sampai tidak ada gelembung udara. Amati preparat yang anda buat dibawah mikroskop dengan terlebih dahulu menggunakan perbesaran lemah (10×10), kalau sudah diketahui obyek yang akan diamati kemudian memakai perbesaran kuat (10×20 atau 10×40).

E. RANGKUMAN

Mikroskop merupakan alat optik yang dapat digunakan untuk mengamati benda-benda mikro (benda-benda yang sangat kecil) yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Bagian mikroskop dikelompokkan menjadi tiga, yaitu: Bagian optik (lensa obyektif dan okuler), bagian mekanis dan bagian pencahayaan (iluminasi). Ada dua jenis mikroskop berdasarkan pada kenampakan objek yang diamati, yaitu mikroskop dua dimensi (mikroskop cahaya) dan mikroskop tiga dimensi (mikroskop stereo). Sedangkan berdasarkan sumber cahayanya, mikroskop dibedakan menjadi mikroskop cahaya dan mikroskop elektron. Total pembesaran mikroskop adalah hasil kali pembesaran

lensa okuler dan objektif. Resolving Power (RP) adalah kemampuan suatu lensa untuk melihat dua titik sebagai objek yang terpisah dengan jelas, sifat dari lensa ini tergantung pada panjang gelombang sinar dan *Numerical Aperature* (NA) dari lensa. Dalam pengamatan obyek dengan mikroskop, dapat dipersiapkan dua macam preparat, yaitu preparat yang bersifat basah (**wet mount preparation**) dan preparat yang bersifat kering (**preparat awetan**). Di samping lensa objektif dan okuler, dua elemen lainnya yang penting dalam mikroskop adalah lampu dan lensa kondensor. Adanya lampu dan kondensor akan mengatur dominasi dari spesimen secara tepat.

F. PENUGASAN PRAKTEK

1. Mikroskop majemuk medan terang

Prosedur

Penanganan dan Pemeliharaan Mikroskop

1. Sebelum membawa mikroskop yang ditentukan untuk Anda ke meja anda sendiri, bacalah peraturan-peraturan berikut mengenai cara menangani alat tersebut:
 - a. Bawalah mikroskop tersebut dalam posisi tegak dengan memegang tangkainya dengan salah satu tangan dan menyangga dasarnya dengan tangan yang lain (Gambar 14).



Gambar 14. Cara membawa mikroskop yang benar

- b. Jagalah supaya dasar dan tubuh mikroskop tersebut bebas dari debu dengan cara menutupinya bila sedang tidak digunakan.
- c. Hindarkan mikroskop dari benturan tiba-tiba.
- d. Dengan secarik kertas yang halus, bersihkan minyak celup (bila ada) dari pentas dan penjepit kaca obyek.

- e. Janganlah menyentuh lensa dengan tangan Anda. Bersihkan lensa obyektif celup minyak dan kondensor setelah digunakan.
 - f. Jangan melepaskan lensa obyektif dari tempatnya untuk membersihkannya. Untuk pembersihan rutin lensa obyektif celup minyak, cukup menyekanya dengan kertas lensa kering. Pembersihan lensa dengan *xylene* (xylol) hanya dilakukan oleh asisten untuk mencegah larutnya perekat lensa.
 - g. Jangan memiringkan mikroskop bila bekerja dengan obyektif celup minyak karena besar kemungkinan minyak tersebut mengalir pada tempat-tempat yang sukar dibersihkan dan mengering disitu.
 - h. Jangan melakukan penyetelan mikroskop dengan paksa (penyetelan diafragma iris, kondensor, tombol-tombol penyetel obyektif kasar dan halus). Bila anda menemui kesulitan dalam penyetelan, mintalah bantuan asisten anda.
 - i. Jangan menukarkan obyektif atau okular mikroskop anda dengan kepunyaan mikroskop lain.
 - j. Kecuali sedang menyetel penyinaran, biarkan okular pada tempatnya supaya debu tidak mengendap pada lensa obyektif bagian belakang. (Tergantung pada pabrik pembuatnya, ada mikroskop-mikroskop yang okularnya disekrup pada tabung tubuh mikroskop).
 - k. Lensa okular sangat peka terhadap pengetsaan (*etching*) oleh asam-asam yang ada pada keringat sehingga harus dibersihkan setiap setelah penggunaan. Caranya yaitu secara hati-hati menyeka okular dengan secarik kertas lensa yang dibasahi dengan setetes air suling, lalu keringkan dengan kertas lensa yang kering.
 - l. Pasanglah lensa obyektif berkekuatan rendah pada posisi kerja bisa mikroskop tidak digunakan.
 - m. Simpanlah mikroskop tersebut di dalam lemari dan/atau di bawah tutup plastik.
2. Di bawah Gambar 14, catatlah nomor mikroskop Anda. Dengan bantuan diagram tersebut, pelajari nama bagian-bagian mikroskop Anda sesuai dengan letaknya masing-masing.

G. TES FORMATIF (2)

Berilah tanda lingkaran (O) pada B bila **BENAR** dan S bila **SALAH**!

1. Pada pengamatan mikroskopis, yang Anda lihat sebenarnya adalah bayangan maya spesimen (B - S)
2. Apa yang Anda lihat pada pengamatan mikroskop yaitu suatu benda yang sesungguhnya adalah bayangan nyata benda tersebut (B - S)
3. Hanya kertas lensalah yang boleh digunakan untuk membersihkan lensa (B - S)
4. Angkatlah mikroskop dengan dua tangan (B - S)
5. Lensa obyektif terpendek harus terletak pada posisi kerja bila mikroskop ada dalam penyimpanan atau bila sedang tidak digunakan (B - S)
6. Makin pendek jarak fokus suatu lensa obyektif, makin panjang jarak kerjanya (B - S)
7. Resolusi dan daya pisah suatu mikroskop mempunyai hubungan terbalik (B - S)
8. Minyak celup berguna untuk meningkatkan besarnya NA (*numerical apperture*) melalui peningkatan nilai n dan besarnya sudut θ , sehingga resolusi lensa menjadi semakin baik (B - S)
9. Pada penggunaan mikroskop harus dijaga agar kondensor selalu terletak pada posisi terendah (B - S)
10. Indeks bias minyak celup lebih tinggi daripada indeks bias untuk kaca (B - S)

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 2 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 2.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan: 90 - 100% = baik sekali
 80 - 89% = baik
 70 - 79% = cukup
 < 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Belajar 3. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 2, terutama bagian yang belum dikuasai.

2.3 Kegiatan Pembelajaran 3.

A. Judul

Sel prokariot dan eukariot

B. Deskripsi

Dunia mikroba terdiri dari berbagai kelompok jasad renik. Kebanyakan bersel satu atau *uniseluler*. Ada yang mempunyai ciri-ciri sel tumbuhan, ada yang mempunyai ciri-ciri sel binatang, dan ada lagi yang mempunyai ciri-ciri keduanya. Secara kolektif, jasad renik dinamakan *Protista*. Ciri utama yang membedakan kelompok mikroba tertentu dari yang lain ialah organisasi bahan selulernya. Perbedaan tersebut yang memisahkan semua Protista menjadi dua kategori utama, yaitu *prokariota* dan *eukariota*.

C. Indikator

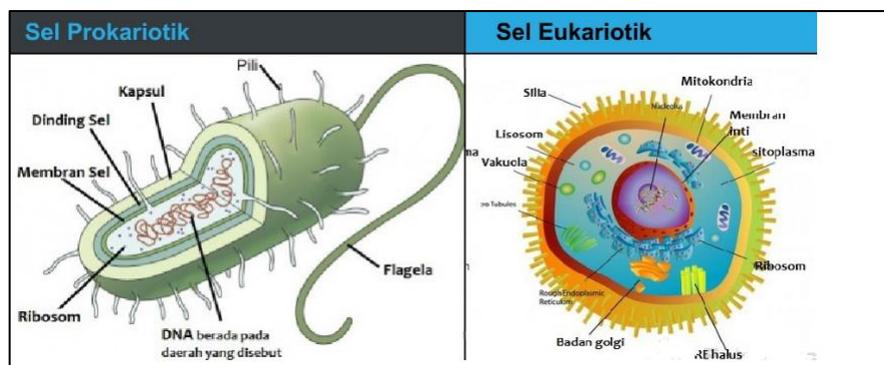
Setelah melakukan kegiatan perkuliahan ini, diharapkan taruna dapat menjelaskan perbedaan sel prokariot dan eukariot, ciri-ciri sel prokariot dan eukariot, serta macam-macam organel suseluler pada sel eukariot.

D. Uraian Materi

3.1 Perbedaan sel prokariot dan eukariot

Mikroorganisme merupakan jasad hidup yang mempunyai ukuran sangat kecil. Setiap sel tunggal mikroorganisme memiliki kemampuan untuk melangsungkan 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. Oleh karena aktivitasnya tersebut, maka setiap mikroorganisme memiliki peranan dalam kehidupan, baik yang merugikan maupun yang menguntungkan.

Sel merupakan satuan struktural yang fundamental dan fungsional bagi kehidupan. Bagi mikroorganisme uniselular, sel bukan saja merupakan satuan struktural, tetapi adalah organisme itu sendiri. Sebaliknya, organisme multiseluler merupakan sel-sel yang tersusun menjadi satuan-satuan yang terpadu ke dalam sistem atau berbagai sistem yang bersama-sama membentuk organisme hidup. Berdasarkan atas struktur selnya, secara garis besar organisme dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu prokariot dan eukariot (Gambar 15). Diantara kedua kelompok ini terdapat kelompok peralihan yang dinamakan **Archaeobacteria** atau *Archaea*.



Gambar 15. Klasifikasi sel berdasarkan struktur internal

Tabel 2. Perbedaan sel prokariotik dan eukariotik

Sel Prokariotik	Sel Eukariotik
<ol style="list-style-type: none"> 1. Uniseluler dan prokariotik 2. Ukurannya mikroskopis (1 hingga 10 μm) 3. Hidupnya ada yang soliter, koloni, parasit dan saprofit 4. Pada umumnya tidak mempunyai kloroplas, kecuali bakterioklorofil dan bakteriopurpurin 5. Hidupnya kosmopolit namun ada juga yang dapat hidup di tempat yang ekstrim 6. Mempunyai bentuk yang beraneka ragam 7. Ada yang memiliki flagel sebagai alat gerak 8. Reproduksi secara asexual dan seksual 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Organel-organel subseluler dengan fungsi-fungsi metabolisme yang telah terspesialisasi, dan terbungkus membrane 2. Diameternya berkisar dari 10 hingga 100 μm. 3. Multiseluler dengan kelompok-kelompok sel yang mengalami diferensiasi selama perkembangan individu. 4. Dikelompokkan menjadi empat kingdom, masing-masing hewan (animalia), tumbuhan (plantae), jamur (fungi), dan protista, yang terdiri atas alga dan protozoa.

Organel subseluler

Pada eukariot terdapat sejumlah organel subseluler seperti retikulum endoplasma, nukleus, alat golgi, mitokondria, kloroplas, vakuola, mikrotubul dan mikrofilamen, flagella dan silia, dinding sel.

Retikulum endoplasma, merupakan sistem membran sitoplasmik yang meluas dan menyambung dengan membrane nukleus. Fungsi yang dilakukan oleh retikulum endoplasma, antara lain sebagai penghalang diantara berbagai organel dan menjaganya dalam posisi yang relatif konstan. Juga menyediakan saluran-saluran yang mengatur arus bahan-bahan dalam sel. Selain itu merupakan sumber membrane internal tambahan, dan memberikan pula permukaan yang kokoh bagi penjajaran ribosom yang berfungsi dalam pembentukan protein baru (*biosintesis protein*).

Nukleus, berbentuk bulat dan dikelilingi oleh membran ganda yang dinamakan selaput nukleus (*envelop nukleus*) yang berfungsi sebagai pusat pengendalian sel. Membran ini berkelanjutan dengan membran plasma. Substansi nukleus terdiri dari DNA dalam bentuk *kromosom*, RNA, dan protein. Di dalam nukleus terdapat satu atau lebih tubuh yang disebut *nucleolus*. Tubuh-tubuh ini penuh berisi RNA dan diduga merupakan situs pembentukan RNA ribosom.

Alat golgi, juga dinamakan *kompleks Golgi*, organel membran yang terdiri dari sekelompok kantung pipih seperti cakram, tersusun dalam tumpukan dan dikelilingi oleh tubul dan gelembung kecil. Struktur ini terdapat dalam daerah retikulum endoplasma, mengemas dan mengangkut protein dan polisakarida ke luar sel, juga merupakan situs bagi sintesis bahan dinding sel yang baru.

Mitokondria, terselubung dalam membran ganda, berfungsi sebagai situs utama untuk produksi energi dalam proses selular.

Kloroplas, organel dalam sel tumbuhan yang mengandung pigmen hijau *klorofil* dan didalamnya berlangsung *fotosintesis*. Fotosintesis ialah proses diubahnya energi cahaya menjadi energi kimiawi oleh organisme yang mengandung klorofil.

Vakuola, ruang yang membatasi membran di dalam sitoplasma yang mengandung larutan encer berbagai substansi.

Mikrotubul dan mikrofilamen, merupakan batang-batang yang sangat tipis (*mikrotubul*, 250 nm; *mikrofilamen*, 40-80 nm) terdapat bebas dalam berkas di dalam sitoplasma atau di dalam struktur sitoplasma. Fungsinya menjaga bentuk sel dan meningkatkan gerak teratur komponen-komponen di dalam organel.

Flagela dan silia, merupakan tonjolan yang meluas di luar dinding sel berbagai bakteri, ganggang, cendawan, dan protozoa, yang berfungsi untuk menggerakkan organisme.

Dinding sel, merupakan penutup luar membran sitoplasma yang dimiliki oleh beberapa sel eukariota. Strukturnya terdiri dari dua macam komponen yang utama: jaringan *microfibril* yang memberikan sifat kaku pada dinding sel, dan substansi yang di dalamnya tertanam mikrofibril.

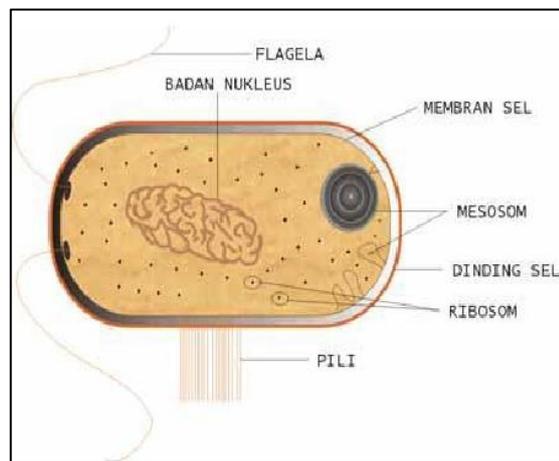
3.2 Berbagai kelompok utama mikroorganisme

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. Di 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 kita perlu mengetahui bentuk morfologi dan struktur anatomi dari bakteri, jamur, dan virus.

3.2.1 Bakteri

Bakteri, dari kata Latin *bacterium* (jamak, *bacteria*), adalah kelompok raksasa dari organisme hidup. Mereka sangatlah kecil (mikroskopik) dan kebanyakan uniselular (bersel tunggal), dengan struktur sel yang relatif

sederhana tanpa nukleus/inti sel, cytoskeleton, dan organel lain seperti mitokondria dan kloroplas (Gambar 16). Bakteri adalah yang paling berkelebihan dari semua organisme. Mereka tersebar (berada di mana-mana) di tanah, air, dan sebagai simbiosis dari organisme lain. Banyak patogen merupakan bakteri. Kebanyakan dari mereka kecil, biasanya hanya berukuran 0,5-5 μm , meski ada jenis dapat menjangkau 0,3 mm dalam diameter (*Thiomargarita*). Mereka umumnya memiliki dinding sel, seperti sel hewan dan jamur, tetapi dengan komposisi sangat berbeda (peptidoglikan). Banyak yang bergerak menggunakan flagela, yang berbeda dalam strukturnya dari flagela kelompok lain.



Gambar 16. Sel bakteri

Seperti prokariota (organisme yang tidak memiliki selaput inti) pada umumnya, semua bakteri memiliki struktur sel yang relatif sederhana. Struktur bakteri yang paling penting adalah dinding sel. Bakteri dapat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu **Gram positif** dan **Gram negatif** didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam *teichoic*. Sementara bakteri Gram negatif memiliki lapisan luar, lipopolisakarida - terdiri atas membran dan lapisan peptidoglikan yang tipis terletak pada periplasma (di antara lapisan luar dan membran sitoplasmik).

Banyak bakteri memiliki struktur di luar sel lainnya seperti flagela dan fimbria yang digunakan untuk bergerak, melekat dan konjugasi. Beberapa bakteri juga memiliki kapsul atau lapisan lendir yang membantu pelekatan bakteri pada suatu permukaan dan *biofilm formation*. Bakteri juga memiliki kromosom, ribosom dan beberapa spesies lainnya memiliki granula makanan, vakuola gas dan

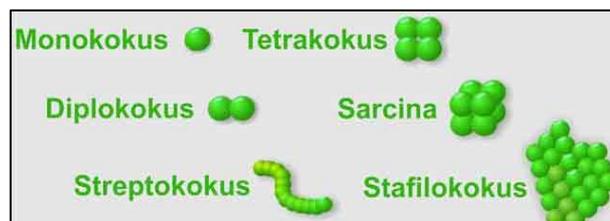
magnetosom. Beberapa bakteri mampu membentuk endospora yang membuat mereka mampu bertahan hidup pada lingkungan ekstrim.

a. Struktur tubuh bakteri secara umum

Bakteri merupakan organisme mikroskopis rata-rata berdiameter 1,25 mikrometer (μm). (mikrometer = $1/1000000$ meter). Bakteri yang terkecil adalah *Dialister pneumosintes* dengan panjang tubuh 0,15 – 0,30 μm , sedangkan bakteri terbesar adalah *Spirillum voluntans*, panjang tubuh 13 – 15 μm . Ukuran bakteri adalah mikroskopis artinya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Bakteri aktif bergerak pada kondisi lembab. Pada keadaan kekurangan air, bakteri akan tidak aktif bahkan dapat menyebabkan kematian.

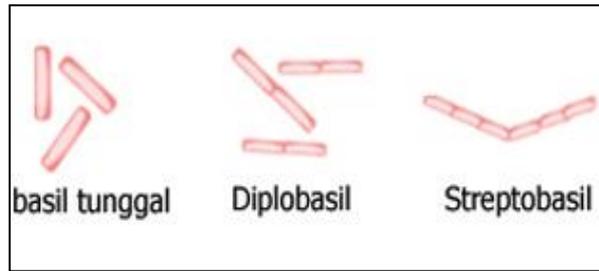
Berdasarkan bentuknya, bakteri dibagi menjadi tiga golongan besar, yaitu:

- a. Kokus (*Coccus*) adalah bakteri yang berbentuk bulat seperti bola, dan mempunyai beberapa variasi sebagai berikut (Gambar 17):
 1. *Monococcus*, jika kecil dan tunggal
 2. *Diplococcus*, jika bergandanya dua-dua
 3. *Tetracoccus*, jika bergandengan empat dan membentuk bujursangkar
 4. *Sarcina*, jika bergerombol membentuk kubus
 5. *Staphylococcus*, jika bergerombol, tersusun seperti buah anggur
 6. *Streptococcus*, jika bergandengan membentuk rantai



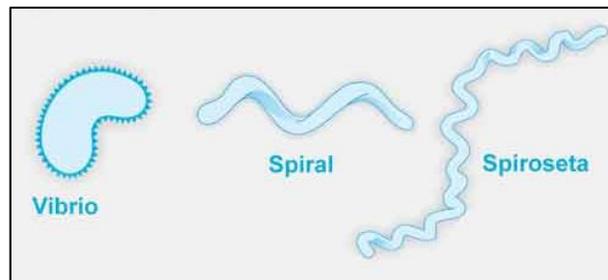
Gambar 17. Macam-macam bentuk bakteri kokus

- b. Basil (*Bacillus*) adalah kelompok bakteri yang berbentuk batang atau silinder, dan mempunyai variasi sebagai berikut (Gambar 18):
 - a. *Monobacillus*, Jika soliter/ sendiri-sendiri
 - b. *Diplobacillus*, jika bergandengan dua-dua
 - c. *Streptobacillus*, jika bergandengan membentuk rantai



Gambar 18. Macam-macam bentuk bakteri basil

- c. Spiral (*Spirillum*) adalah bakteri yang berbentuk lengkung dan mempunyai variasi sebagai berikut (Gambar 19):
- Vibrio*, (bentuk koma), jika lengkung kurang dari setengah lingkaran
 - Spiral*, jika lengkung lebih dari setengah lingkaran
 - Spiroseta*, bentuknya sama dengan *spiral* namun lebih berkelok



Gambar 19. Macam-macam bentuk bakteri spiral

Bentuk tubuh/morfologi bakteri dipengaruhi oleh keadaan lingkungan, medium dan usia. Oleh karena itu untuk membandingkan bentuk serta ukuran bakteri, kondisinya harus sama. Pada umumnya bakteri yang usianya lebih muda ukurannya relatif lebih besar daripada yang sudah tua.

Bagian-bagian dari struktur bakteri ini meliputi:

1) Dinding sel

Dinding sel ini tersusun atas mukopolisakarida dan peptidoglikan (murein) yaitu susunan yang terdiri dari polimer besar dan terbuat dari N – asetil glukosamin dan asam N – asetil muramat yang saling berikatan silang dengan ikatan kovalen.

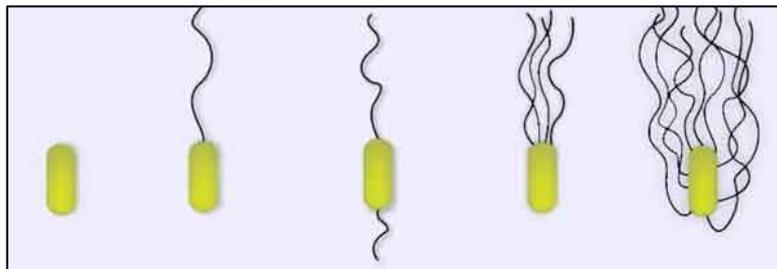
2) Kapsul

Merupakan selaput licin terdiri dari polisakarida terletak di luar dinding sel, bakteri yang patogen memiliki kapsul berfungsi mempertahankan diri dari antitoksin yang dihasilkan sel inang.

3) Flagel

Flagel merupakan cambuk getar yang berfungsi untuk bergerak, flagel melekat pada membran luar di dinding sel. Berdasarkan letak dan jumlah flagel yang dimiliki maka bakteri dibedakan menjadi (Gambar 20):

- a. Atrik, yaitu bakteri yang tidak memiliki flagel
- b. Monotrik, yaitu bakteri yang memiliki sebuah flagel pada satu ujungnya.
- c. Amfitrik, yaitu bakteri yang pada kedua ujungnya hanya terdapat satu buah flagel.
- d. Lofotrik, yaitu bakteri yang pada satu ujungnya memiliki lebih dari satu flagel.
- e. Peritrik, yaitu bakteri yang memiliki flagel pada seluruh permukaan tubuhnya.



Gambar 20. Jenis-jenis bakteri berdasarkan jumlah flagel

4) Membran sel

Tersusun atas lemak dan protein, bersifat semipermeable, berfungsi untuk mengatur keluar masuknya zat ke dalam sel.

5) Mesosom

Terbentuk dari membran sel yang tidak membentuk lipatan. Organel ini berfungsi sebagai tempat pemisahan dua molekul DNA dan berperan juga dalam pembentukan dinding sel baru antara kedua sel anak tersebut.

6) Sitoplasma

Sitoplasma merupakan tempat berlangsungnya reaksi metabolik.

7) DNA

DNA berfungsi untuk mengontrol sintesis protein dan pembawaan sifat.

8) Ribosom

Ribosom tersusun atas protein dan RNA, sebagai tempat sintesis protein.

b. Cara hidup bakteri

Bakteri pada umumnya bersifat heterotrof. Hidupnya sebagai saprofit atau sebagai parasit. Namun, demikian, ada pula beberapa jenis yang mampu mengadakan asimilasi, jadi bersifat autotrof. Berdasarkan asalnya energi yang digunakan dalam asimilasi, bakteri yang bersifat autotrof itu dibedakan dalam 2 golongan yaitu:

- a. Yang bersifat *Kemoautotrof*, bila energi untuk asimilasinya (kemosintesis) diperoleh dari reaksi-reaksi kimia, misalnya dari proses-proses oksidasi senyawa tertentu. Bakteri nitrit dengan mengoksidasi NH_3 , bakteri nitrat dengan mengoksidasi HNO_2 , bakteri belerang dengan mengoksidasikan berbagai senyawa belerang.
- b. Yang bersifat *Fotoautotrof*, bila energi untuk asimilasi (fotosintesis) diperoleh dari cahaya matahari. Seperti pada tumbuhan hijau, bakteri yang dapat mengadakan fotosintesis adalah bakteri-bakteri yang mempunyai zat warna, dari golongan *Thiothodaceae* (bakteri belerang berzat warna).

Bakteri yang hidup sebagai saprofit menggunakan sisa-sisa tumbuhan atau hewan substrat dan sumber kebutuhan hidupnya. Oleh kegiatan fisiologi bakteri yang menempatinnya, substrat itu akan mengalami proses penguraian yang biasanya disertai dengan timbulnya energi. Proses itu dinamakan pembusukan bila terjadinya menimbulkan zat-zat yang berbau tidak sedap (busuk), dan dinamakan fermentasi bila merupakan suatu pernafasan intrataolekular. Dengan demikian bakteri-bakteri saprofit melalui proses penguraian menjadi pembersih sisa-sisa makhluk hidup.

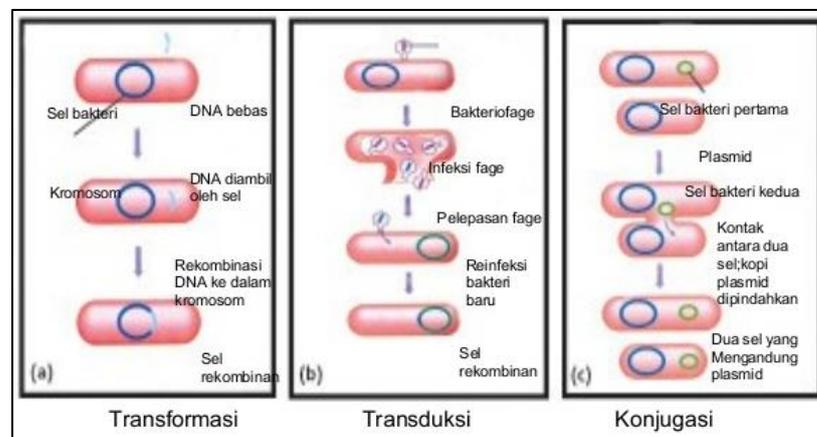
Dari segi kebutuhannya akan oksigen bakteri dapat dibedakan dalam dua golongan yaitu **bakteri aerob**, bila untuk hidupnya memerlukan oksigen bebas, dan **anaerob**, bila dapat hidup tanpa oksigen bebas. Bakteri anaerob masih dapat dibedakan lagi dalam yang aerob secara obligat, artinya untuk kebutuhan terhadap oksigen bebas tidak mutlak, artinya tidak dapat hidup pula tanpa adanya oksigen bebas, bakteri itu dikatakan bersifat anaerob fakultatif.

Dalam hubungan dengan cara hidupnya sebagai parasit, kita membedakan parasit obligat, bila bakteri itu hanya dapat hidup sebagai parasit saja, dan

parasit fakultatif, bila bakteri dapat hidup baik mengenai bakteri pathogen, yaitu bakteri yang hidup sebagai parasit dan menimbulkan penyakit bagi inangnya, baik yang berupa tumbuhan maupun hewan dan manusia.

c. Cara Perkembangbiakan Bakteri

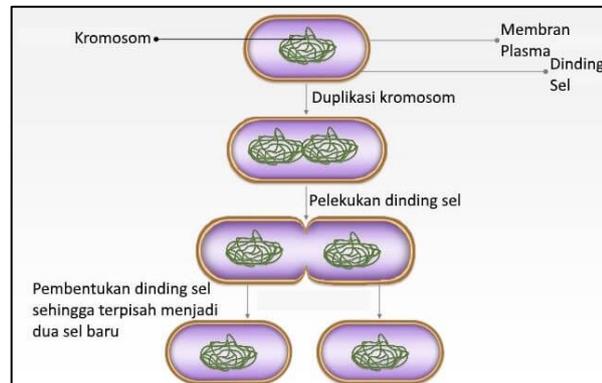
Bakteri berkembang biak dengan cara rekombinasi genetik dan membelah diri secara biner (langsung). Pada lingkungan yang baik bakteri dapat membelah diri tiap 20 menit. Pembuahan seksual tidak dijumpai pada bakteri, tetapi terjadi pemindahan materi genetik dari satu bakteri ke bakteri lain tanpa menghasilkan zigot. Peristiwa ini disebut proses paraseksual. Ada tiga proses paraseksual yang telah diketahui, yaitu **transformasi** (perpindahan materi genetik berupa DNA dari sel bakteri yang satu ke sel bakteri yang lain), **konjugasi** (bergabungnya dua bakteri ((+) dan (-) dengan membentuk jembatan untuk pemindahan materi genetik), dan **transduksi** (pemindahan materi genetik bakteri ke bakteri lain dengan perantaraan virus). Tujuan dari perkembangbiakan ini bukan untuk memperbanyak jumlah melainkan untuk membentuk variasi genetik atau pertukaran materi genetik yang disebut **rekombinasi** (Gambar 21).



Gambar 21. Proses rekombinasi genetik

Bakteri umumnya berkembangbiak secara *vegetative* atau aseksual dengan membelah diri (pembelahan biner) (Gambar 22). Setelah selesai pembelahan, sel-sel anakan dapat tetap bergandengan satu sama lain, dan dengan demikian terbentuklah koloni bakteri. Koloni mempunyai bentuk yang berbeda-beda, dan bentuk koloni itu dapat dijadikan salah satu tanda pengenal jenis bakteri yang bersangkutan. Ada koloni yang terdiri dari sepasang sel seperti terdapat pada marga *Diplococcus*, ada yang berbentuk kubus terdiri dari delapan sel (pada

marga *Sarcina*), ada yang berbentuk rantai (pada *Streptococcus*), ada yang seperti setandan buah anggur (pada *Staphylococcus*).



Gambar 22. Proses pembelahan biner

Jika keadaan lingkungan tidak menguntungkan seperti suhu tinggi, kekeringan atau zat-zat kimia tertentu, beberapa spesies dari *Bacillus* yang aerob dan beberapa spesies dari *Clostridium* yang anaerob dapat mempertahankan diri dengan spora. Spora tersebut dibentuk dalam sel yang disebut endospora. Endospora dibentuk oleh penggumpalan protoplasma yang sedikit sekali mengandung air. Oleh karena itu endospora lebih tahan terhadap keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan dibandingkan dengan bakteri aktif. Apabila keadaan lingkungan membaik kembali, endospora dapat tumbuh menjadi satu sel bakteri biasa. Letak endospora di tengah-tengah sel bakteri atau pada salah satu ujungnya.

Faktor implisit adalah parameter biotik yang mempengaruhi jumlah dan jenis mikroorganisme yang terdapat di dalam produk perikanan, dan meliputi antagonisme, sinergisme dan sintrofisme. Sinergisme dan antagonisme terjadi terutama melalui pembentukan senyawa perangsang (untuk sinergisme) atau penghambat (untuk antagonisme). Contoh senyawa penghambat yang terbentuk oleh mikroorganisme misalnya bakteriosin.

Sintrofisme adalah pertumbuhan antara dua mikroorganisme sehingga membentuk kondisi nutrisi yang memungkinkan mikroba untuk tumbuh. Meskipun mikroorganisma patogen atau pembusuk terdapat di dalam produk perikanan, tetapi kadang-kadang tidak terjadi keracunan atau kebusukan produk perikanan karena pertumbuhan dan metabolisme dari mikroorganisme patogen atau pembusuk tersebut dihambat melalui reaksi antagonistik oleh mikroorganisme

lainnya. Data Tabel 3 menunjukkan mikroorganisme yang umum terdapat pada produk perikanan dan bersifat antagonis terhadap mikroorganisme lainnya.

Tabel 3. Mikroorganisme yang umum terdapat pada produk perikanan

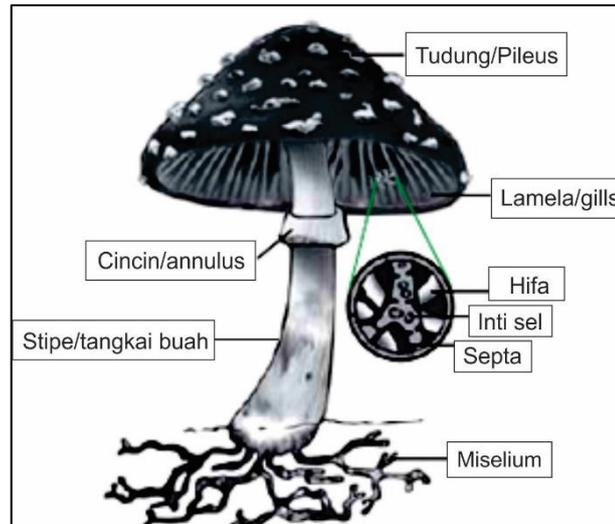
Mikroorganisme	Mikroorganisme yang mempunyai pengaruh antagonistik
<i>Bacillus cereus</i> <i>Clostridium botulinum</i>	<i>Streptokoki</i> grup D <i>Bacillus</i> spp <i>Brevibacterium linens</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>C. sporogenes</i> Koki <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Lactobacillaceae</i> <i>Moraxella</i> sp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>Flora saprofit</i> (belum diidentifikasi)
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>C. sporogenes</i> <i>Lactobacillaceae</i> <i>Streptokoki</i> grup D
<i>Escherichia coli</i>	<i>Lactobacillaceae</i> (termasuk enteropatogenik)
<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i> <i>Lactobacillaceae</i> <i>Pseudomonas</i> spp <i>Flora saprofit</i> (belum diidentifikasi)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Aeromonas</i> , <i>Bacillus</i> spp. <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Lactobacillaceae</i> <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Streptokoki</i> , <i>Flora saprofit</i> (belum diidentifikasi)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Psikrotrof
<i>Brochothrix</i>	<i>Betabacteriuw breve</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i>	<i>Lactobacillaceae</i>
<i>Khamir</i>	<i>Aeromonas</i> spp <i>Alcaligenes</i> spp <i>Flavobacterium</i> spp <i>Pseudomonas</i> spp <i>Vibrio</i> spp

3.2.2 Fungi (Jamur)

Fungi adalah organisme eukariot yang mempunyai dinding sel dan pada umumnya tidak motil. Karakteristik ini menyerupai karakteristik tumbuhan. Namun demikian fungi secara fundamental dapat dibedakan dari tumbuhan karena mereka tidak mempunyai klorofil. Dengan demikian mereka tidak mampu melakukan proses fotosintesis menghasilkan bahan organik dari karbondioksida dan air, sehingga mereka disebut organisme yang heterotrof. Sifat heterotrof ini menyerupai sifat sel hewan. Fungi merupakan kingdom yang cukup besar terdiri dari kurang lebih 50.000 species, dan bisa mempunyai karakteristik yang berbeda-beda baik secara struktur, fisiologi maupun reproduksinya. Fungi dapat ditemukan dalam bentuk kapang pada permukaan sayuran, busuk, sebagai ragi pada roti maupun sebagai cendawan (jamur berukuran besar yang tumbuh di tanah atau pada kayu-kayu lapuk. Jadi fungi mempunyai berbagai penampilan tergantung dari speciesnya. Telaah mengenai fungi disebut mikologi, yang berasal dari bahasa Yunani 'mykos' yang berarti cendawan (fungi berbentuk payung).

1) Anatomi pada fungi (jamur)

Jamur tidak memiliki klorofil, sel pada jamur ada yang uniseluler, ada pula yang multiseluler. Dinding sel pada jamur terdiri dari kitin. Jamur multiseluler terbentuk dari rangkaian sel membentuk benang seperti kapas, yang disebut benang hifa. Hifa memiliki sekat-sekat yang melintang, tiap-tiap sekat memiliki satu sel, dengan satu atau beberapa inti sel. Namun adapula hifa yang tidak memiliki sekat melintang, yang mengandung banyak inti dan disebut senositik. Ada tidaknya sekat pada hifa ini dijadikan dasar dalam penggolongan jamur. **Hifa** ada yang berfungsi sebagai pembentuk alat reproduksi. Misalnya, hifa yang tumbuh menjulang ke atas menjadi sporangiofor yang artinya pembawa sporangium. Sporangium artinya kotak spora. Didalam sporangium terisi spora. Ada pula hifa yang tumbuh menjadi konidiofor yang artinya pembawa konidia, yang dapat menghasilkan konidium. Kumpulan hifa membentuk jaringan benang yang dikenal sebagai miselium. Miselium inilah yang tumbuh menyebar diatas substrat dan berfungsi sebagai penyerap makanan dari lingkungannya (Gambar 23).

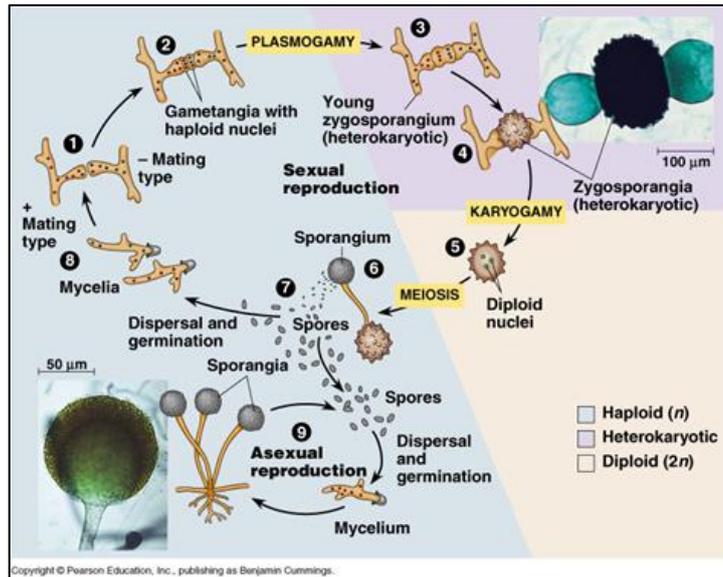


Gambar 23. Anatomi Jamur

2) Reproduksi pada jamur (fungi)

Jamur uniseluler berkembang biak dengan cara seksual dan dengan cara aseksual. Pada perkembangbiakannya yang secara seksual jamur membentuk tunas, sedangkan secara aseksual jamur membentuk spora askus. Jamur multiseluler berkembangbiak dengan cara aseksual, yaitu dengan cara memutuskan benang hifa (fragmentasi), membentuk spora aseksual yaitu zoospora, endospora dan konidia. Sedangkan perkembangbiakan secara seksual melalui peleburan antara inti jantan dan inti betina sehingga terbentuk spora askus atau spora basidium.

Zoospora atau spora kembara adalah spora yang dapat bergerak didalam air dengan menggunakan flagella. Jadi jamur penghasil zoospora biasanya hidup dilingkungan yang lembab atau berair. **Endospora** adalah spora yang dihasilkan oleh sel dan spora tetap tinggal didalam sel tersebut, hingga kondisi memungkinkan untuk tumbuh. Spora askus atau askospora adalah spora yang dihasilkan melalui perkawinan jamur *Ascomycota*. Askospora terdapat didalam askus, biasanya berjumlah 8 spora. Spora dari perkawinan kelompok jamur Basidiomycota disebut basidiospora. Basidiospora terdapat didalam basidium, dan biasanya berjumlah empat spora. Konidia adalah spora yang dihasilkan dengan jalan membentuk sekat melintang pada ujung hifa atau dengan diferensiasi hingga terbentuk banyak konidia. Jika telah masak konidia paling ujung dapat melepaskan diri. Proses perkembangbiakan pada jamur (*Zygomycota*) (Gambar 24).

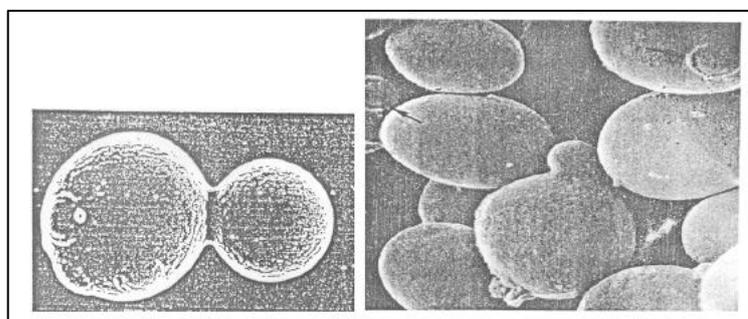


Gambar 24. Proses perkembangbiakan pada jamur (*Zygomycota*)

Pada umumnya jamur dibagi menjadi 2 yaitu: khamir (*Yeast*) dan kapang (*Mold*).

a. Khamir

Khamir adalah bentuk sel tunggal dengan pembelahan secara pertunas. Khamir mempunyai sel yang lebih besar daripada kebanyakan bakteri, tetapi khamir yang paling kecil tidak sebesar bakteri yang terbesar. Khamir sangat beragam ukurannya, berkisar antara 1-5 μm lebarnya dan panjangnya dari 5-30 μm atau lebih. Biasanya berbentuk telur, tetapi beberapa ada yang memanjang atau berbentuk bola. Setiap spesies mempunyai bentuk yang khas, namun sekalipun dalam biakan murni terdapat variasi yang luas dalam hal ukuran dan bentuk. Sel-sel individu, tergantung kepada umur dan lingkungannya. Khamir tidak dilengkapi flagellum atau organ-organ penggerak lainnya. Contoh khamir yang paling populer adalah dari genus *Saccharomyces*. Kebanyakan sel khamir memperbanyak diri dengan cara membentuk tunas (*budding*) (Gambar 25).



Gambar 25. Sel ragi yang membentuk tunas (*budding*)

Meskipun demikian ada sebagian kecil sel khamir yang dapat memperbanyak diri dengan membelah diri sama besar (*binary fission*). Dalam proses pertunasan, mula-mula diawali dengan lisisnya dinding sel pada daerah tertentu. Dengan tidak adanya dinding sel pada daerah tersebut, menyebabkan terjadinya tekanan dari isi sel keluar membentuk struktur seperti balon yang dikelilingi dinding sel induknya.

b. Kapang

Kapang adalah sekelompok mikroba yang tergolong dalam fungi dengan ciri khas memiliki filamen (miselium). Kapang termasuk mikroba yang penting dalam mikrobiologi pangan karena selain berperan penting dalam industri makanan, kapang juga banyak menjadi penyebab kerusakan pangan. Kapang adalah fungi multiseluler yang mempunyai filamen dan pertumbuhannya pada makanan mudah dilihat karena penampakkannya yang berserabut seperti kapas. Pertumbuhannya mula-mula akan berwarna putih, tetapi jika spora telah timbul akan terbentuk berbagai warna tergantung dari jenis kapang. Tubuh atau talus suatu kapang pada dasarnya terdiri dari 2 bagian miselium dan spora (sel resisten, istirahat atau dorman). Miselium merupakan kumpulan beberapa filamen yang dinamakan hifa. Setiap hifa lebarnya 5-10 μm , dibandingkan dengan sel bakteri yang biasanya berdiameter 1 μm . Disepanjang setiap hifa terdapat sitoplasma bersama. Berdasarkan ada tidaknya septa dibedakan beberapa kelas, yaitu : kapang tidak berseptum dan kapang berseptum.

Sifat Fisiologi Kapang

Kebutuhan air

Pada umumnya kebanyakan kapang membutuhkan a_w minimal untuk pertumbuhan lebih rendah dibandingkan dengan khamir dan bakteri. Kadar air bahan pangan kurang dari 14-15%, misalnya pada beras dan sereal, dapat menghambat atau memperlambat pertumbuhan kebanyakan khamir.

Suhu pertumbuhan

Kebanyakan kapang bersifat mesofilik yaitu tumbuh baik pada suhu kamar. Suhu optimum pertumbuhan untuk kebanyakan kapang adalah sekitar 25-30°C tetapi beberapa dapat tumbuh pada suhu 35-37°C atau lebih tinggi. Beberapa kapang bersifat psikrotrofik dan beberapa bersifat termofilik.

Kebutuhan oksigen dan pH

Semua kapang bersifat aerobik, yaitu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Kebanyakan kapang dapat hidup pada kisaran pH yang luas, yaitu 2-8,5 tetapi biasanya pertumbuhannya akan lebih baik pada kondisi asam atau pH rendah.

Makanan

Pada umumnya kapang dapat menggunakan berbagai komponen makanan, dari yang sederhana hingga kompleks. Kebanyakan kapang memproduksi enzim hidrolitik, misal amylase, pektinase, proteinase dan lipase, oleh karena itu dapat tumbuh pada makanan-makanan yang mengandung pati, pektin, protein atau lipid.

Komponen penghambat

Beberapa kapang mengeluarkan komponen yang dapat menghambat organisme lainnya. Komponen itu disebut antibiotik, misalnya penisilin yang diproduksi oleh *Penicillium chrysogenum* dan clavasin yang diproduksi oleh *Aspergillus clavatus*. Pertumbuhan kapang biasanya berjalan lambat bila dibandingkan dengan pertumbuhan khamir dan bakteri. Oleh karena itu jika kondisi pertumbuhan memungkinkan semua mikroorganisme untuk tumbuh, kapang biasanya kalah dalam kompetisi dengan khamir dan bakteri. Tetapi sekali kapang dapat mulai tumbuh, pertumbuhan yang ditandai dengan pembentukan miselium dapat berlangsung dengan cepat.

Morfologi Kapang

Kapang terdiri dari suatu *thallus* yang tersusun dari filamen yang bercabang yang disebut dengan hifa. Kumpulan dari hifa disebut dengan miselium. Hifa tumbuh dari spora yang melakukan germinasi membentuk suatu tuba germ, dimana tuba ini akan tumbuh terus membentuk filamen yang panjang dan bercabang yang disebut hifa, kemudian seterusnya akan membentuk suatu massa hifa yang disebut miselium. Pembentukan miselium merupakan sifat yang membedakan grup-grup didalam fungi. Hifa dapat dibedakan menjadi dua macam yaitu hifa vegetatif atau hifa tumbuh dan hifa fertil yang membentuk bagian reproduksi. Pada kebanyakan kapang hifa fertil tumbuh di atas

permukaan, tetapi pada beberapa kapang mungkin terendam. Penyerapan nutrisi terjadi pada permukaan miselium.

Sifat-sifat kapang baik penampakan makroskopik ataupun mikroskopik digunakan untuk identifikasi dan klasifikasi kapang. Kapang dapat dibedakan menjadi dua kelompok berdasarkan struktur hifa yaitu hifa tidak bersekat atau nonseptat dan hifa bersekat atau septat yang membagi hifa dalam ruangan-ruangan, dimana setiap ruangan mempunyai satu atau lebih inti sel (nukleus). Dinding penyekat yang disebut septum tidak tertutup rapat sehingga sitoplasma masih bebas bergerak dari suatu ruangan ke ruangan lainnya.

Penurunan a_w produk perikanan akan mengubah mikroba pada produk perikanan tersebut. Bahan pangan yang diturunkan a_w -nya sampai 0.95 dan dikombinasi dengan penurunan pH, penambahan bahan pengawet serta pengemasan hermetis, mempunyai daya tahan simpan beberapa minggu pada suhu di bawah 10°C. Mikroorganisme yang dominan pada produk perikanan semacam ini terutama adalah *Laktobasili*, *Streptokoki*, kapang dan khamir. Produk perikanan yang diturunkan a_w -nya sampai 0.85 pada umumnya tidak ditumbuhi bakteri, tetapi yang dominan terutama adalah kapang dan khamir. Jika a_w produk perikanan diturunkan lagi sampai 0.80, hanya kapang yang dapat tumbuh pada produk perikanan tersebut. Pada produk perikanan yang disterilisasi dengan cara pengalengan, hanya bakteri pembentuk spora yang masih mungkin tumbuh dan menyebabkan kebusukan.

Beberapa jenis kapang yang penting dalam mikrobiologi pangan

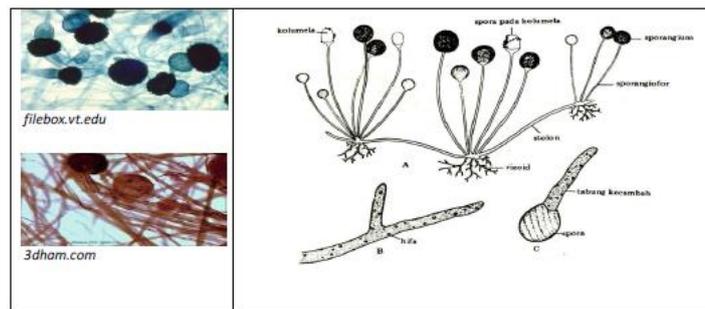
a. *Rhizopus*

Rhizopus sering disebut kapang roti karena sering tumbuh dan menyebabkan kerusakan pada roti. Selain itu kapang ini juga sering tumbuh pada sayuran dan buah-buahan. Spesies *Rhizopus* yang sering tumbuh pada roti adalah *R. stolonifer* dan *R. nigricans*. selain merusak makanan, beberapa spesies *Rhizopus* juga digunakan dalam pembuatan beberapa makanan fermentasi tradisional, misal *R. oligosporus* dan *R. oryzae* yang digunakan dalam fermentasi berbagai macam tempe dan oncom hitam (Gambar 26).

Ciri-ciri spesifik *Rhizopus* adalah :

- a. Hifa nonseptat
- b. Mempunyai stolon dan rhizoid yang warnanya gelap jika sudah tua
- c. Sporangiofora tumbuh pada noda dimana terbentuk juga rhizoid
- d. Sporangia biasanya besar dan berwarna hitam

- e. Kolumela agak bulat dan apofisis berbentuk seperti cangkir
- f. Tidak mempunyai sporangiola
- g. Membentuk hifa vegetatif yang melakukan penetrasi pada substrat dan hifa fertil yang memproduksi sporangia pada ujung sporangiofora
- h. Pertumbuhannya cepat membentuk miselium seperti kapas



Gambar 26. Morfologi *Rhizopus*

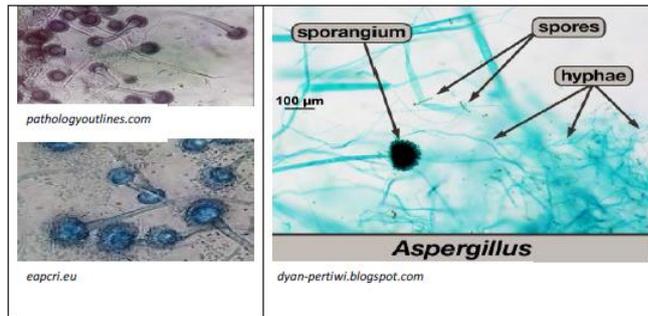
2. *Aspergillus*

Kapang ini tumbuh baik pada substrat dengan konsentrasi gula dan garam tinggi, oleh karena itu dapat tumbuh pada makanan dengan kadar air rendah. Grup ini mempunyai konidia berwarna hijau, dan membentuk askospora yang terdapat didalam aski perithesia berwarna kuning sampai merah. Grup *A. niger* mempunyai kepala pembawa konidia yang besar yang dipak secara padat, bulat dan berwarna hitam, coklat hitam atau ungu coklat. Konidianya kasar dan mengandung pigmen (Gambar 27). Grup *A. flavus-oryzae* termasuk spesies yang penting dalam fermentasi beberapa makanan tradisional dan untuk memproduksi enzim, tetapi kapang dalam grup ini sering menyebabkan kerusakan makanan. *A. oryzae* digunakan dalam fermentasi tahap pertama dalam pembuatan kecap dan tauco. Konidia dalam grup ini berwarna kuning sampai hijau, dan mungkin membentuk sclerotia.

Ciri-ciri spesifik *Aspergillus* adalah:

- a. Hifa septat dan miselium bercabang, biasanya tidak berwarna, yang terdapat dibawah permukaan merupakan hifa vegetatif sedangkan yang muncul diatas permukaan adalah hifa fertil.
- b. Koloni kelompok
- c. Konidiofora septat dan nonseptat, muncul dari "foot cell" (yaitu sel miselium yang bengkak dan berdinding tebal)

- d. Konidiofora membengkak menjadi vesikel pada ujungnya, membawa sterigmata dimana tumbuh konidia
- e. Sterigmata atau fialida biasanya sederhana berwarna atau tidak berwarna
- f. Konidia membentuk rantai yang berwarna hijau, coklat atau hitam
- g. Beberapa spesies tumbuh baik pada suhu 37° C atau lebih.



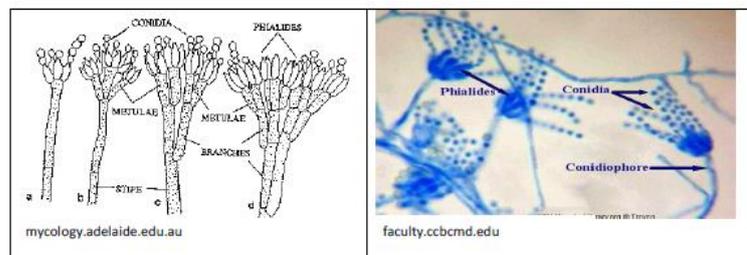
Gambar 27. Morfologi *Aspergillus*

3. *Penicillium*

Kapang ini sering menyebabkan kerusakan pada sayuran, buah-buahan dan serealia. *Penicillium* juga digunakan oleh dalam industri untuk memproduksi antibiotik (Gambar 28).

Beberapa ciri spesifik *Penicillium* adalah:

- a. Hifa septat, miselium bercabang, biasanya tidak berwarna
- b. Konidiofora septet dan muncul di atas permukaan, berasal dari hifa dibawah permukaan, bercabang atau tidak bercabang
- c. Kepala yang membawa spora berbentuk seperti sapu, dengan sterigmata atau fialida muncul dalam kelompok
- d. Konidia membentuk rantai karena muncul satu per satu dari sterigmata
- e. Konidia pada waktu masih muda berwarna hijau, kemudian berubah menjadi kebiruan atau kecoklatan.



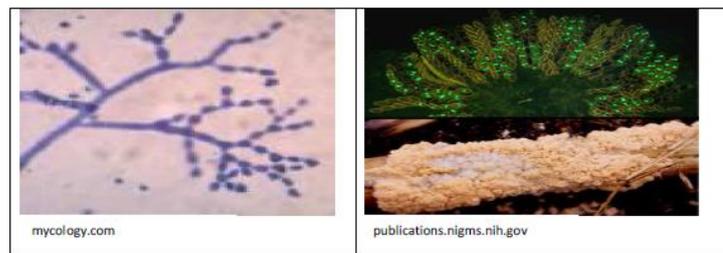
Gambar 28. Morfologi *Penicillium*

4. *Neurospora* (Monila)

Neurospora (*Monila*) *sitophila* dan *N. crassa* merupakan spesies yang umum dijumpai pada makanan dan disebut kapang roti merah atau kapang nasi merah karena pertumbuhannya yang cepat pada roti atau nasi dengan membentuk warna merah-oranye. *N. sitophila* juga digunakan dalam pembuatan oncom merah. Pembentukan askospora yang terdapat didalam perithesia jarang terlihat pada kapang ini (Gambar 29).

Ciri-ciri spesifik *Neurospora* adalah sebagai berikut:

- a. Miselium septat, kemudian dapat pecah menjadi sel-sel yang terpisah
- b. Miselium panjang dan bebas tumbuh diatas permukaan
- c. Hifa aerial membawa konidia yang bertunas, berbentuk oval dan berwarna merah jambu sampai oranye merah, serta membentuk rantai bercabang pada ujungnya.



Gambar 29. Morfologi *Penicillium*

3.3 Virus

Virus merupakan salah satu jenis mikroorganisme parasit. Virus ini mempunyai ciri-ciri tidak dimiliki oleh organisme lain. Virus hanya dapat berkembang biak di sel-sel hidup lain (sifat virus parasit obligat) karenanya, virus dapat dibiakkan pada telur ayam yang berisi embrio hidup. Untuk bereproduksi virus hanya memerlukan asam nukleat saja. Ciri lainnya, virus tidak dapat bergerak maupun melakukan aktivitas metabolisme sendiri. Selain itu virus tidak dapat membelah diri. Virus tidak dapat diendapkan dengan sentrifugasi biasa, tetapi dapat dikristalkan.

Morfologi virus

- 1) Virus berukuran aseluler (tidak mempunyai sel).
- 2) Virus berukuran amat kecil, jauh lebih kecil daripada bakteri.
- 3) Virus hanya memiliki satu macam asam nukleat (RNA atau DNA).

- 4) Virus umumnya berupa semacam hablur (kristal) dan bentuknya sangat bervariasi
- 5) Tubuh virus terdiri atas kepala, kulit (selubung atau kapsid), isi tubuh, dan serabut ekor.

Susunan tubuh virus

1. Kapsid

Kapsid adalah lapisan pembungkus tubuh virus yang tersusun atas protein. Kapsid terdiri dari sejumlah kapsomer yang terikat satu sama lain.

Fungsi :

- a. Memberi bentuk virus
- b. Pelindung dari kondisi lingkungan yang merugikan
- c. Mempermudah penempelan pada proses penembusan ke dalam sel

2. Isi

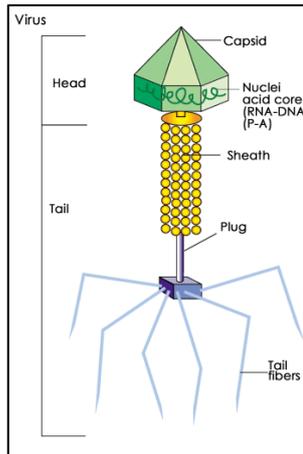
Terdapat di sebelah dalam kapsid berupa materi genetik/ molekul pembawa sifat keturunan yaitu DNA atau RNA. Virus hanya memiliki satu asam nukleat saja yaitu satu DNA/ satu RNA saja, tidak kedua-duanya. Asam nukleat sering bergabung dengan protein disebut nukleoprotein. Virus tanaman/ hewan berisi RNA/ DNA, virus fage berisi DNA.

3. Kepala

Kepala virus berisi DNA, RNA dan diselubungi oleh kapsid. Kapsid tersusun oleh satu unit protein yang disebut kapsomer.

4. Ekor

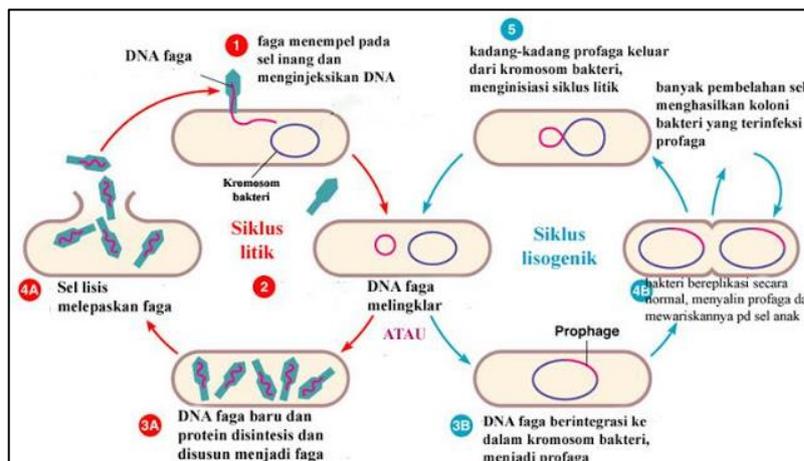
Serabut ekor adalah bagian yang berupa jarum dan berfungsi untuk menempelkan tubuh virus pada sel inang. Ekor ini melekat pada kepala kapsid. Struktur virus ada 2 macam yaitu virus telanjang dan virus terselubung (bila terdapat selubung luar (*envelope*) yang terdiri dari protein dan lipid). Ekor virus terdiri atas tabung bersumbat yang dilengkapi benang atau serabut. Khusus untuk virus yang menginfeksi sel eukariotik tidak memiliki ekor (Gambar 30).



Gambar 30. Struktur Anatomi Virus

Reproduksi virus

Untuk berkembang biak virus memerlukan tempat atau lingkungan yang hidup. Oleh karena itu, virus menginfeksi sel bakteri, sel hewan, atau sel tumbuhan untuk bereproduksi. Ada dua macam cara virus menginfeksi bakteri, yaitu secara **litik** dan **lisogeni**. Pada infeksi secara litik, virus akan menghancurkan sel induk setelah berhasil melakukan reproduksi, sedangkan pada infeksi secara lisogenik, virus tidak menghancurkan sel bakteri tetapi virus berintegrasi dengan DNA sel bakteri, sehingga jika bakteri membelah atau berkembang biak virus pun ikut membelah. Pada prinsipnya cara perkembangbiakan virus pada hewan maupun pada tumbuhan mirip dengan yang berlangsung pada **bakteriophage**, yaitu melalui fase adsorpsi, sintesis, dan lisis. Proses reproduksi virus dapat dilihat pada Gambar 31.



Gambar 31. Reproduksi virus

E. RANGKUMAN

Prokariot (bakteri) merupakan bentuk sel organisme yang paling sederhana dengan diameter dari 1 hingga 10 μm . Membran plasma terdiri dari struktur yang disusun fosfolipid bilayer dan protein yang tersusun mosaik. Bentuk umum bakteri yaitu: kokus, basili, filament, spirillum, spiroseta, vibrio. Bakteri dapat hidup di lingkungan yang sangat bervariasi. Secara taksonomi eukariot dikelompokkan menjadi empat kingdom, masing-masing **hewan (animalia)**, **tumbuhan (plantae)**, **jamur (fungi)**, dan **protista**, yang terdiri atas **alga** dan **protozoa**. Salah satu ciri sel eukariot adalah adanya organel-organel subseluler dengan fungsi-fungsi metabolisme yang telah terspesialisasi. Pada eukariot terdapat sejumlah organel subseluler seperti retikulum endoplasma, nukleus, alat golgi, mitokondria, kloroplas, vakuola, mikrotubul dan mikrofilamen, flagella dan silia, dinding sel. Dunia mikroba terdiri dari Monera (Virus dan sianobakteri), Protista, dan Fungi. Mikroorganisme tersebut diantaranya adalah bakteri, jamur, dan virus. Pada umumnya jamur dibagi menjadi 2 yaitu: khamir (*Yeast*) dan kapang (*Mold*). Khamir adalah bentuk sel tunggal dengan pembelahan secara pertunasan. Contoh khamir yang paling populer adalah dari genus *Saccharomyces*. Kebanyakan sel khamir memperbanyak diri dengan cara membentuk tunas (*budding*). Kapang adalah sekelompok mikroba yang tergolong dalam fungi dengan ciri khas memiliki filamen (miselium). Kapang terdiri dari suatu *thallus* yang tersusun dari filamen yang bercabang yang disebut dengan hifa. Kumpulan dari hifa disebut dengan miselium. Virus adalah parasite mikroskopik yang menginfeksi sel organisme biologis. Secara umum virus merupakan partikel tersusun atas elemen genetik (genom) yang mengandung salah satu asam nukleat yaitu asam deoksiribonukleat (DNA) atau asam ribonukleat (RNA) yang dapat berada dalam dua kondisi yang berbeda, yaitu secara intraseluler dalam tubuh inang dan ekstraseluler diluar tubuh inang.

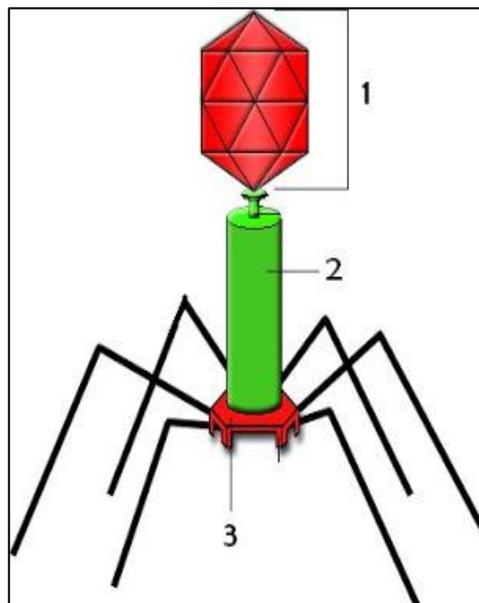
F. PENUGASAN

Latihan soal berikut dapat dijawab, apabila Anda baca kembali uraian tentang:

- 1) Ruang lingkup sel (prokariotik dan eukariotik).
- 2) Berbagai kelompok utama mikroorganisme (bakteri, jamur, virus)

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

1. Apa perbedaan ciri antara *Archaeobacteria* dan *Eubacteria*!
2. Buatlah gambar struktur sel bakteri, berilah keterangan bagian-bagian selnya!
3. Sebutkan bentuk-bentuk sel bakteri, berilah contoh bakterinya!
4. Jelaskan cara bakteri berkembangbiak secara vegetatif!
5. Jelaskan faktor-faktor yang mempengaruhi kehidupan bakteri!
6. Jelaskan perbedaan khamir dan kapang!
7. Berilah keterangan bagian-bagian virus berikut ini!



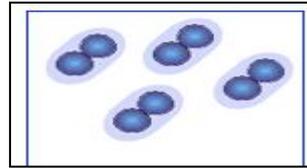
G. TES FORMATIF 3.

1. Bentuk dasar bakteri ditentukan oleh ...
 - a. kapsul
 - b. membran sel
 - c. flagela
 - d. dinding sel
2. Bakteri yang tumbuh baik pada suhu rendah dibawah 20°C ialah....
 - a. halofil
 - b. mesofil
 - c. psikrofil
 - d. termofil
3. Kandungan spesifik dinding sel bakteri ialah

- a. peptidoglikan
- b. pectin
- c. selulosa
- d. lignin

4. Perhatikan bentuk bakteri berikut ini! Nama bentuk koloni bakteri tersebut adalah ...

- a. Monobacil
- b. Diplococcus
- c. Sarcina
- d. Diplobasil



5. Untuk memperbanyak diri bakteri melakukan reproduksi dengan cara ...

- a. pembelahan biner
- b. transformasi
- c. transduksi
- d. konjugasi

6. Manakah dari pernyataan berikut ini yang tidak termasuk struktur dasar bakteri?

- a. DNA
- b. Ribosom
- c. Flagel
- d. Dinding sel

7. Suatu makhluk hidup eukariot yang mempunyai dinding sel, tidak memiliki klorofil, terbentuk dari rangkaian sel membentuk benang seperti kapas, yang sering disebut hifa. Berdasarkan atas ciri tersebut kita dapat menarik kesimpulan bahwa makhluk hidup tersebut adalah ...

- a. Virus
- b. Jamur
- c. Bakteri
- d. Protozoa

8. Mikroorganisme yang tidak dapat menggunakan oksigen bebas sebagai akseptor hydrogen adalah tergolong mikroorganisme?

- a. Aerob
- b. Heterotrof
- c. Trofik
- d. Anerob

9. Kebanyakan kapang dapat hidup pada kisaran pH optimum yaitu :

- a. 6,5-7,5
- b. 2-8,5
- c. 5-8,5
- d. 4-6,5

10. Yang bukan termasuk fase perkembangan virus pada hewan maupun tumbuhan adalah :

- a. Adsorpsi
- b. Sintesis
- c. Replikasi
- d. Lisis

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 3 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 3.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan: 90 - 100% = baik sekali
 80 - 89% = baik
 70 - 79% = cukup
 < 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Belajar 4. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 3, terutama bagian yang belum dikuasai.

2.4 Kegiatan Pembelajaran 4.

A. Judul

Pertumbuhan bakteri dan identifikasi faktor intrinsik dan ekstrinsik yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan.

B. Deskripsi

Pertumbuhan merupakan proses perubahan bentuk yang semula kecil kemudian menjadi besar. Pertumbuhan menyangkut penambahan volume dari individu itu sendiri. Pertumbuhan pada umumnya tergantung pada kondisi bahan makanan dan juga lingkungan. Apabila kondisi makanan dan lingkungan cocok untuk mikroorganisme tersebut, maka mikroorganisme akan tumbuh dengan waktu yang relatif singkat dan sempurna. Pada organisme bersel satu pertumbuhan lebih diartikan sebagai pertumbuhan koloni, yaitu penambahan jumlah koloni, ukuran koloni yang semakin besar atau substansi atau massa mikroba dalam koloni tersebut semakin banyak, pertumbuhan pada mikroba diartikan sebagai penambahan jumlah sel mikroba itu sendiri. Pertumbuhan mikroorganisme tergantung dari tersedianya air. Bahan-bahan yang terlarut dalam air, yang digunakan oleh mikroorganisme untuk membentuk bahan sel dan memperoleh energi, adalah bahan makanan. Tuntutan berbagai mikroorganisme yang menyangkut susunan larutan makanan dan persyaratan lingkungan tertentu, sangat berbeda-beda. Oleh karena itu diperkenalkan banyak resep untuk membuat media biak untuk mikroorganisme.

C. Indikator

Setelah melakukan kegiatan pembelajaran ini, diharapkan taruna dapat menjelaskan faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah dan jenis mikroorganisme pada produk perikanan dapat dibedakan atas empat faktor utama, yaitu faktor intrinsik, faktor ekstrinsik, faktor pengolahan, dan faktor implisit, mampu menumbuhkan mikroorganisme dengan medium yang sesuai dengan karakteristik mikroorganisme tersebut.

D. Uraian Materi

Mikroba merupakan mikroorganisme yang perlu diketahui kemampuannya untuk tumbuh dan hidup sebab beberapa diantaranya sering dimanfaatkan untuk keperluan penelitian. Sampai sekarang ini perkembangan ilmu pengetahuan

terus menggali potensi apa yang terdapat di dalam mikroba, oleh karena itu perlu diketahui seluk beluk dari mikroba itu sendiri. Salah satunya yaitu faktor- faktor apa saja yang dapat mempengaruhi pertumbuhannya. Setiap mikroba memiliki karakteristik kondisi pertumbuhan yang berbeda- beda. Pertumbuhan bakteri pada kondisi yang optimum lebih cepat jika dibandingkan dengan jamur dan kapang. Hal ini disebabkan karena bakteri memiliki struktur sel yang lebih sederhana, sehingga sebagian besar bakteri memiliki waktu generasi hanya sekitar 20 menit jika dibandingkan dengan khamir dan kapang yang struktur selnya lebih rumit dan waktu generasinya yang cukup lama.

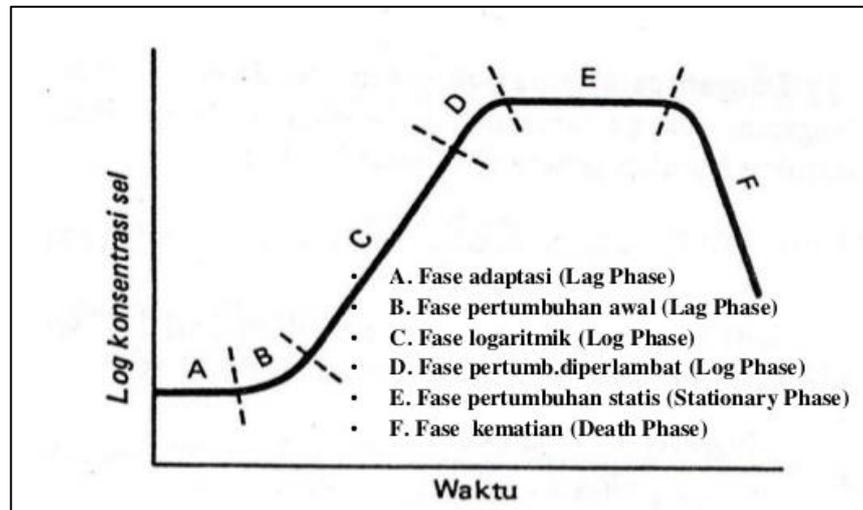
4.1 Pengertian Pertumbuhan Mikroorganisme

Pertumbuhan pada mikroorganisme diartikan sebagai penambahan jumlah atau total massa sel yang melebihi inokulum asalnya. Pertumbuhan merupakan suatu proses kehidupan yang *irreversible* artinya tidak dapat dibalik kejadiannya. Pertumbuhan didefinisikan sebagai pertambahan kuantitas konstituen seluler dan struktur organisme yang dapat dinyatakan dengan ukuran, diikuti pertambahan jumlah, pertambahan ukuran sel, pertambahan berat atau massa dan parameter lain. Sebagai hasil pertambahan ukuran dan pembelahan sel atau pertambahan jumlah sel maka terjadi pertumbuhan populasi mikroba. **Umur sel** ditentukan segera setelah proses pembelahan sel selesai, sedangkan **umur kultur** ditentukan dari waktu dan lamanya inkubasi. Ukuran sel tergantung dari kecepatan pertumbuhannya. Semakin baik zat nutrisi di dalam substrat tempat tumbuhnya, mengakibatkan pertumbuhan sel semakin cepat dan ukuran sel semakin besar.

4.2 Kurva Pertumbuhan Jasad Renik

Jika suatu bakteri mempunyai waktu generasi 20 menit berarti satu sel bakteri tersebut akan memperbanyak diri menjadi dua sel dalam waktu 20 menit. Jika sel tersebut diinkubasikan di dalam suatu medium pada kondisi yang optimum untuk pertumbuhannya, maka dalam waktu 48 jam sel tersebut akan mengalami pembelahan sebanyak $48 (60)/20$ kali atau 144 generasi. Jumlah sel setelah 48 jam secara teoritis akan mencapai 2^{144} sel. Jika setiap sel mempunyai berat 10^{-12} g, maka secara teoritis berat seluruh sel setelah 48 jam akan mencapai $2^{144} \times 10^{-12}$ g atau 2.2×10^{31} g, atau sama dengan 4000 kali berat bumi. Tetapi pada kenyataannya perkembangan jasad renik tidak terjadi demikian,

karena semua sel yang terbentuk akan terus hidup. Pertumbuhan jasad renik di dalam kultur statis digambarkan pada kurva yang terlihat pada Gambar 32.



Gambar 32. Kurva pertumbuhan kultur jasad renik

Pertumbuhan mikroba dalam suatu medium mengalami fase-fase yang berbeda, yang berturut-turut disebut dengan *fase adaptasi*, *fase pertumbuhan awal*, *fase logaritmik/fase eksponensial*, *fase stasioner* dan *fase kematian*. Pada fase kematian eksponensial tidak diamati pada kondisi umum pertumbuhan kultur bakteri, kecuali bila kematian dipercepat dengan penambahan zat kimia toksik, panas atau radiasi. Dalam pertumbuhannya setiap makhluk hidup membutuhkan nutrisi yang mencukupi serta kondisi lingkungan yang mendukung demi proses pertumbuhan tersebut, termasuk juga bakteri. Pertumbuhan bakteri pada umumnya akan dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Pengaruh faktor ini akan memberikan gambaran yang memperlihatkan peningkatan jumlah sel yang berbeda dan pada akhirnya memberikan gambaran pula terhadap kurva pertumbuhannya.

1) Fase Adaptasi

Jika jasad renik dipindahkan ke dalam suatu medium, mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan dengan substrat dan kondisi lingkungan di sekitarnya. Pada fase ini belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. Jumlah sel pada fase ini mungkin tetap, tapi kadang-kadang menurun. Lamanya fase ini bervariasi, dapat cepat atau lambat tergantung dari kecepatan penyesuaian dengan lingkungan di sekitarnya.

Lamanya fase adaptasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah:

- a) Medium dan lingkungan pertumbuhan. Sel yang ditempatkan dalam medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi. Tetapi jika nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru sangat berbeda dengan sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesis enzim-enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme.
- b) Jumlah *inoculum*. Jumlah awal sel yang semakin tinggi akan mempercepat fase adaptasi. Fase adaptasi mungkin berjalan lambat karena beberapa sebab, misalnya: (1) kultur dipindahkan dari medium yang kaya nutrisi ke medium yang kandungan nutrisinya terbatas, (2) mutant yang baru terbentuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya, (3) kultur yang dipindahkan dari fase statis ke medium baru dengan komposisi sama seperti sebelumnya.

2) Fase Pertumbuhan Awal

Setelah mengalami fase adaptasi, sel mulai membelah dengan kecepatan yang masih rendah karena baru selesai tahap penyesuaian diri.

3) Fase Pertumbuhan Logaritmik/eksponensial

Pada fase ini sel jasad renik membelah dengan cepat dan konstan, dimana penambahan jumlahnya mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini sel membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan fase lainnya selain itu sel paling sensitif terhadap lingkungannya.

4) Fase Pertumbuhan Lambat

Pada fase ini pertumbuhan populasi jasad renik diperlambat karena beberapa sebab, misalnya: (1) zat nutrisi di dalam medium sudah sangat berkurang, (2) adanya hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan jasad renik. Pada fase ini pertumbuhan sel tidak stabil, tetapi jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati.

5) Fase Pertumbuhan Tetap (Statis)

Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah mulai habis. Karena kekurangan zat nutrisi, kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Pada fase ini sel-sel menjadi tahan terhadap keadaan ekstrem seperti panas, dingin, radiasi, dan bahan kimia.

6) Fase menuju kematian dan Fase kematian

Pada fase ini sebagian populasi jasad renik mulai mengalami kematian karena beberapa sebab yaitu: (1) nutrient di dalam medium sudah habis, (2) energi cadangan di dalam sel habis. Jumlah sel yang mati semakin lama akan semakin banyak, dan kecepatan kematian dipengaruhi oleh kondisi nutrient, lingkungan, dan jasad renik.

4.3 Faktor- Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan jasad renik

Mikroorganisme yang terdapat pada produk perikanan dapat berasal dari berbagai sumber seperti tanah, air permukaan, debu, saluran pencernaan manusia dan hewan, saluran pernafasan manusia dan hewan, dan lingkungan tempat pemeliharaan/ budidaya, persiapan, penyimpanan atau pengolahan. Beberapa parameter yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme pada produk perikanan menentukan apakah suatu mikroorganisme dapat tetap dorman, mati, atau hidup subur sehingga menjadi dominan pada produk perikanan tersebut. Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah dan jenis mikroorganisme pada produk perikanan dapat dibedakan atas dua faktor utama, yaitu faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik.

4.3.1 Faktor Intrinsik

Sifat-sifat fisik, kimia dan struktur produk perikanan yang mempengaruhi populasi dan pertumbuhan mikroorganisme disebut faktor intrinsik. Faktor-faktor tersebut terdiri dari: pH, aktivitas air (aw), potensi oksidasi-reduksi (EM), kandungan nutrisi, senyawa antimikroba, dan struktur biologi.

- 1) Nilai pH

Kebanyakan mikroorganisme tumbuh baik pada pH sekitar 7.0 (6.6-7.5), dan hanya beberapa yang dapat tumbuh di bawah pH 4.0. Bakteri mempunyai kisaran pH pertumbuhan yang lebih sempit dibandingkan dengan kapang dan khamir. Sebagai contoh, kebanyakan bakteri tidak dapat tumbuh pada pH di bawah 4.0 dan di atas 8.0, sedangkan kapang mempunyai kisaran pH pertumbuhan 1.5-2.0 sampai 11.0, dan khamir mempunyai kisaran pH pertumbuhan 1.5 sampai 8.0-8.5. Oleh karena itu produk perikanan yang mempunyai pH lebih rendah akan semakin awet karena semakin sedikit jenis mikroorganisme yang dapat tumbuh.

Nilai pH atau keasaman produk perikanan dipengaruhi oleh asam yang terdapat pada produk perikanan tersebut. Asam di dalam produk perikanan mungkin terbentuk selama fermentasi, misalnya pada kecap ikan, dan sebagainya. Nilai pH minimum untuk pertumbuhan mikroorganisme kadang-kadang dipengaruhi oleh jenis asam yang terdapat pada produk perikanan tersebut. Sebagai contoh, beberapa *Laktobasili* dapat tumbuh pada pH yang lebih rendah jika asam yang terdapat pada produk perikanan tersebut berupa asam sitrat, HCl, asam fosforat atau asam tartarat, dibandingkan jika asam yang terdapat pada produk perikanan tersebut berupa asam asetat atau asam laktat.

2) Aktivitas air (a_w)

Semua mikroorganisme membutuhkan air untuk pertumbuhannya. Air berperan dalam reaksi metabolisme dalam sel dan merupakan alat pengangkut zat-zat gizi atau limbah ke dalam dan keluar sel. Semua kegiatan ini membutuhkan air dalam bentuk cair dan apabila air tersebut mengalami kristalisasi dan membentuk es atau terikat secara kimiawi dalam larutan gula atau garam, maka air tersebut tidak dapat digunakan oleh mikroorganisme. Jumlah air yang terdapat dalam bahan pangan atau larutan dikenal sebagai aktivitas air. Air murni mempunyai nilai a_w 1.0. Jenis mikroorganisme yang berbeda membutuhkan jumlah air yang berbeda pula untuk pertumbuhannya.

Nilai a_w kebanyakan produk perikanan segar adalah di atas 0.99. Kebanyakan bakteri, pembusuk tidak dapat tumbuh pada a_w di bawah 0.91, sedangkan kebanyakan khamir pembusuk tidak dapat tumbuh pada a_w di bawah 0.88, dan kebanyakan kapang pembusuk tidak dapat tumbuh pada a_w di bawah 0.80. Bakteri patogen yang dapat tumbuh pada a_w relatif rendah adalah *Staphylococcus aureus*, yang dapat tumbuh sampai a_w 0.86, sedangkan

Clostridium botulinum tidak dapat tumbuh pada a_w di bawah 0.95. Bakteri yang dapat tumbuh pada a_w paling rendah adalah bakteri halofilik, yaitu sampai a_w 0.75, sedangkan kapang xerofilik dapat tumbuh sampai a_w 0.65, dan khamir osmofilik dapat tumbuh sampai a_w 0.60. Minimum aktivitas air dari beberapa kelompok mikroorganisme dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas air (a_w) dari beberapa kelompok mikroorganisme

Kelompok mikroorganisme	a_w minimum
Kebanyakan bakteri gram negatif	0.97
Kebanyakan bakteri gram positif	0.90
Kebanyakan khamir	0.88
Kebanyakan jamur berfilamen	0.80
Bakteri halofilik	0.75
Bakteri xerofilik	0.61

Larutan garam dan gula yang pekat dapat mengakibatkan tekanan osmotik pada sel mikroorganisme dengan menyerap keluar air dari dalam sel dan menyebabkan sel kekurangan air dan mati. Beberapa jenis mikroorganisme dapat menyesuaikan diri dengan keadaan tersebut yaitu dengan adanya tekanan osmotik eksternal yang tinggi dalam beberapa hal tertentu, dan keadaan semacam itu yang diinginkan. Beberapa jenis bakteris, khamir dan kapang dapat tahan serta tumbuh pada larutan gula yang sangat pekat dan umumnya dikenal sebagai organisme osmofilik. Keadaan yang sama pada beberapa jenis mikroorganisme yang tahan dalam lingkungan berkadar garam cukup tinggi yang disebut dengan organisme halofilik. Jenis-jenis yang tahan tekanan osmotik ini dapat berperan secara nyata dalam pembusukan bahan pangan.

3) Potensi Oksidasi-Reduksi (O/R, Eh)

Potensi redoks dari suatu sistem biologis adalah suatu indeks dari tingkat oksidasinya. Potensial redoks ini berhubungan dengan: a) komposisi kimia dari bahan pangan (konsentrasi dari zat pereduksi seperti kelompok sulfhidril dalam protein, asam askorbat, gula pereduksi, oksidasi, tingkat kation dan sebagainya; b) tekanan parsial oksigen yang terjadi selama penyimpanan.

Mikroorganisme berbeda dalam sensitivitasnya terhadap potensi oksidasi reduksi dari medium pertumbuhannya. Potensi O/R dari substrat menunjukkan

kemampuan substrat untuk melepaskan elektron (teroksidasi) atau menerima elektron (tereduksi). Potensi O/R suatu sistem diberi simbol **Eh**. Mikroorganisme aerobik memerlukan nilai, Eh positif (teroksidasi), dengan dugaan bahwa pengaruh kecil terhadap komposisi bahan pangan, permukaan bahan pangan tersebut akan membantu pertumbuhan spesies gram negatif berbentuk batang yang bersifat aerobik seperti *Pseudomonas* pada permukaan ikan dan daging. Mikroorganisme anaerobik memerlukan nilai Eh negatif (tereduksi). Komponen-komponen yang menyebabkan kondisi, tereduksi (keadaan anaerobik) pada produk perikanan terutama adalah grup sulfhidril (-SH) di dalam daging ikan seperti jenis-jenis dari *Enterobacteriaceae* atau *Clostridium sp.* Selain itu tekanan oksigen di atmosfer yang terdapat di sekitar produk perikanan juga mempengaruhi potensi O/R. Kemasan bahan pangan secara vakum juga akan membantu perkembangan mikroorganisme anaerobik dan fakultatif anaerobik, walaupun karbohidrat yang dibebaskan oleh pertumbuhan awal mikroorganisme dalam bahan pangan tersebut dapat mempunyai pengaruh tertentu pada perkembangan spesies.

Beberapa bakteri aerobik tumbuh lebih baik pada kondisi tereduksi, dan bakteri semacam ini disebut bakteri mikroaerofilik. Beberapa contoh bakteri mikroaerofilik misalnya *Laktobasili* dan *Streptokoki*. Beberapa bakteri mempunyai kemampuan untuk tumbuh pada keadaan aerobik maupun anaerobik dan disebut anaerob fakultatif. Kebanyakan kapang dan khamir yang tumbuh pada produk perikanan bersifat aerobik, dan hanya beberapa yang bersifat anaerobik fakultatif.

4) Kandungan Nutrisi

Untuk dapat tumbuh dan berfungsi secara normal, mikroorganisme membutuhkan suplai makanan yang akan menjadi sumber energi dan menyediakan unsur-unsur kimia dasar untuk pertumbuhan sel (seperti: karbon, hydrogen, oksigen, sulfur, fosfor, magnesium, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya). Karbon dan sumber energi untuk hampir semua mikroorganisme yang berhubungan dengan bahan pangan dapat diperoleh dari jenis gula karohidrat sederhana seperti glukosa. Komponen-komponen lain yang dibutuhkan mikroorganisme adalah: air, sumber energi, sumber nitrogen, vitamin dan faktor pertumbuhan lainnya, serta mineral.

Dari kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan, kapang mempunyai kebutuhan nutrisi yang paling minimal, diikuti dengan khamir, kemudian bakteri gram negatif, sedangkan bakteri gram positif mempunyai kebutuhan nutrisi yang paling tinggi. Sebagai sumber energi, mikroorganisme yang ada di produk perikanan dapat menggunakan berbagai gula, alkohol, dan asam amino. Beberapa mikroorganisme dapat menggunakan sumber karbohidrat yang lebih kompleks seperti pati dan selulosa, dengan terlebih dahulu memecahnya menjadi unit-unit gula sederhana. Lemak juga dapat digunakan oleh beberapa mikroorganisme tertentu sebagai sumber energi.

Sumber nitrogen utama bagi mikroorganisme heterotrofik adalah asam amino. Sebagai senyawa sumber nitrogen juga dapat digunakan oleh berbagai mikroorganisme. Beberapa mikroorganisme dapat menggunakan nukleotida dan asam amino bebas, sedangkan mikroorganisme lainnya dapat menggunakan peptida dan protein. Pada umumnya mikroorganisma akan menggunakan senyawa yang paling sederhana terlebih dahulu, yaitu asam amino, sebelum menggunakan senyawa yang lebih kompleks seperti protein.

Mikroorganisme mungkin membutuhkan vitamin B dalam jumlah kecil. Pada umumnya bakteri gram positif mempunyai kemampuan paling rendah dalam mensintesa vitamin, sedangkan bakteri gram negatif dan kapang dapat mensintesa hampir semua faktor pertumbuhan yang dibutuhkan, oleh karena itu kedua grup mikroorganisme tersebut sering ditemukan tumbuh pada produk-produk perikanan yang mempunyai kandungan vitamin B rendah.

5) Senyawa Antimikroba

Ketahanan produk perikanan terhadap serangan mikroorganisme juga dipengaruhi oleh adanya senyawa-senyawa antimikroba yang terdapat secara alamiah di dalam produk perikanan tersebut. Komponen antimikroba tersebut terdapat di dalam makanan melalui salah satu dari beberapa cara yaitu:

- 1) Terdapat secara alamiah di dalam bahan pangan
- 2) Ditambahkan dengan sengaja ke dalam makanan
- 3) Terbentuk selama pengolahan atau oleh jasad renik yang tumbuh selama fermentasi makanan

Beberapa kapang dan bakteri dapat merusak komponen fenol yang terbentuk dalam pengasapan daging atau ikan, atau merusak asam benzoat

yang ditambahkan ke dalam makanan. Sulfur dioksida yang bersifat antimikroba dapat dirusak oleh beberapa khamir yang tahan dan bakteri yang tergolong laktobasili dapat mengakibatkan inaktivasi nisin. Pemanasan makanan dapat mengakibatkan terbentuknya komponen antimikroba, misalnya pemanasan lipid mengakibatkan ootooksidasi sehingga terbentuk komponen yang mempunyai sifat antimikroba. Secara rinci masih belum terungkap senyawa antimikroba yang secara alamiah didapat dalam produk perikanan.

6) Struktur Biologi

Beberapa produk perikanan mempunyai struktur spesifik yang melindunginya terhadap masuknya organisme pembusuk dan proses pembusukan selanjutnya. Contoh struktur tersebut misalnya kulit pada ikan dan hewan, dan sebagainya. Selain itu tekstur produk perikanan juga mempengaruhi kecepatan pembusukan oleh organisme pembusuk. Sebagai contoh, ikan lebih cepat mengalami kerusakan dan kebusukan dibandingkan dengan daging sapi karena ikan mempunyai struktur yang lebih lembut dan lunak dibandingkan dengan daging sapi. Lapisan kitin dari udang memiliki senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai bahan fungsional.

4.3.2 Faktor Intrinsik

Faktor ekstrinsik adalah kondisi lingkungan penyimpanan yang mempengaruhi produk perikanan dan mikroorganisme. Faktor ekstrinsik yang mempengaruhi jumlah dan jenis mikroorganisme pada produk perikanan terutama adalah suhu penyimpanan, kelembaban relatif lingkungan, dan susunan gas di lingkungan tempat penyimpanan.

1) Suhu

Berdasarkan suhu optimum pertumbuhannya, mikroorganisme dapat dibedakan atas tiga kelompok, yaitu:

- a. Bakteri **psikrofil**, yaitu bakteri yang hidup pada daerah suhu antara 0°–30°C, dengan suhu optimum 15°C.

Beberapa bakteri yang memiliki sifat psikrofilik seperti bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Clostridium botulinum* tipe E, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, dan beberapa Enteropatogen seperti *E.coli*.

- b. Bakteri **mesofil**, yaitu bakteri yang hidup di daerah suhu antara 15° – 55°C, dengan suhu optimum 25° – 40°C.

- c. Bakteri **termofil**, yaitu bakteri yang dapat hidup di daerah suhu tinggi antara 40° – 75°C, dengan suhu optimum 25° – 40°C. Pada tahun 1967 di *Yellow Stone Park* ditemukan bakteri yang hidup dalam sumber air panas bersuhu 93° – 94°C.

2) Kelembaban Relatif

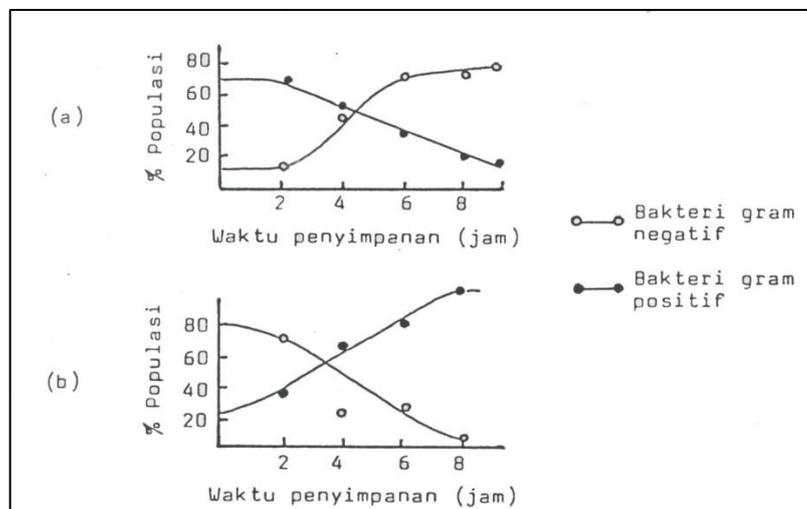
Pada umumnya bakteri memerlukan kelembaban yang cukup tinggi, kira-kira 85%. Pengurangan kadar air dari protoplasma menyebabkan kegiatan metabolisme terhenti, misalnya pada proses pembekuan dan pengeringan. Kelembaban relatif (RH) lingkungan tempat penyimpanan mempengaruhi a_w di dalam produk perikanan dan pertumbuhan mikroorganisme pada permukaan produk perikanan. Produk perikanan dengan a_w rendah akan menyerap air jika disimpan di dalam lingkungan dengan RH tinggi. Demikian juga sebaliknya, produk perikanan dengan a_w tinggi akan kehilangan air jika disimpan di dalam ruangan dengan RH rendah.

Penyimpanan produk perikanan di dalam ruangan dengan RH rendah dapat mencegah kebusukan oleh mikroorganisme, akan tetapi pada RH yang rendah produk perikanan juga akan kehilangan sebagian airnya sehingga mengerut dan menurunkan mutu produk perikanan. Dalam memilih RH lingkungan yang tepat, perlu diperhatikan kemungkinan pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dengan tetap mempertahankan mutu produk perikanan yang disimpan.

3) Susunan Gas Atmosfer

Penyimpanan produk perikanan di dalam ruangan dengan konsentrasi CO₂ dinaikkan ternyata dapat mencegah pertumbuhan mikroba. Cara penyimpanan ini disebut "*controlled atmosphere storage (CA storage)*", dimana CO₂ ditambahkan ke dalam ruangan dari sumber mekanis atau menggunakan es kering (CO₂ padat). Selain CO₂, ozon (O₃) juga mempunyai efek mengawetkan terhadap beberapa produk perikanan. Dengan konsentrasi beberapa ppm, ozon terbukti dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembusuk. Karena ozon merupakan suatu senyawa pengoksidasi kuat, maka ozon tidak dapat digunakan untuk mengawetkan produk perikanan yang mempunyai kandungan lipid tinggi karena akan menyebabkan ketengikan pada produk perikanan tersebut.

Jumlah dan jenis mikroorganisme yang tumbuh pada produk perikanan sangat dipengaruhi oleh ada tidaknya oksigen di sekelilingnya. Salah satu contoh pengaruh oksigen terhadap pertumbuhan mikroorganisme pada produk perikanan dapat dilihat pada Gambar 33 yang menunjukkan kelompok bakteri yang tumbuh pada karkas daging yang disimpan pada suhu rendah dalam kondisi aerobik dan anaerobik. Daging ikan yang disimpan pada suhu rendah biasanya banyak terkontaminasi oleh bakteri gram negatif yang bersifat psikrofil. Pada kondisi penyimpanan aerobik, bakteri predominan pada karkas daging yang disimpan pada suhu rendah (lemari es) adalah bakteri gram negatif berbentuk batang dan pembentuk lendir, sedangkan persentase bakteri gram positif menurun selama beberapa jam penyimpanan. Sebaliknya, pada daging yang dipak secara vakum (kondisi anaerobik) dan disimpan pada suhu penyimpanan yang sama, bakteri yang predominan adalah bakteri gram positif yang bersifat anaerobik fakultatif dan menyebabkan keasaman atau penurunan pH daging ikan. Selama penyimpanan vakum jumlah bakteri gram negatif pada daging ikan menurun.



Gambar 33. Komposisi mikroba pada daging ikan yang disimpan pada suhu rendah dalam keadaan (a) aerobik, dan (b) anaerobik

4) Cahaya

Cahaya sangat berpengaruh pada proses pertumbuhan bakteri. Umumnya cahaya merusak sel mikroorganisme yang tidak berklorofil. Sinar ultraviolet dapat menyebabkan terjadinya ionisasi komponen sel yang berakibat

menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian. Pengaruh cahaya terhadap bakteri dapat digunakan sebagai dasar sterilisasi atau pengawetan bahan makanan.

4.4 Media Biak dan Persyaratan bagi Pertumbuhan

Sejumlah besar mikroorganisme yang tidak banyak tuntutan, misalnya banyak *Pseudomonas* dalam tanah dan air, dan juga *Escherichia coli* tumbuh subur dalam larutan biak sesuai susunannya. Meskipun persyaratan nutrient mikroorganisme amat beragam, namun sebagai makhluk hidup mereka mempunyai kebutuhan dasar yang sama, yaitu meliputi karbon, energi, mineral, dan faktor tumbuh. Selain susunan pertumbuhannya banyak mikroorganisme masih memerlukan unsur-unsur lain yakni unsur pelengkap, vitamin-vitamin dan unsur senyawa tambahan lain.

Bagi organisme bersel tunggal, air amat penting artinya karena antara lain merupakan komponen utama protoplasma (70-85% protoplasma terdiri dari air serta wahana bagi masuknya nutrien ke dalam sel dan keluarnya sekresi ataupun ekskresi dari dalam sel). Di samping itu air juga diperlukan untuk berlangsungnya reaksi-reaksi enzimatik di dalam sel. Di dalam pembuatan medium sebaiknya digunakan air suling. Air sadah pada umumnya mengandung kadar ion kalsium dan magnesium yang tinggi. Pada medium yang mengandung pepton dan ekstrak daging, air dengan kualitas semacam ini dapat menyebabkan terbentuknya endapan fosfat dan magnesium fosfat.

Berdasarkan zat hara yang diperlukan bakteri dibagi menjadi fototrof, kemotrof, ototrof atau heterotrof.

1) Sumber energi

Bila energi berasal dari bahan kimia maka organisme bersifat *kemotrofik*, sedangkan bila energi berasal dari sinar cahaya disebut *fototrofik*.

2) Sumber elektron

Bila senyawa inorganik digunakan sebagai sumber elektron, maka organisme disebut *lithotrofik*; bila sumber elektron berupa senyawa organik disebut organotrofik.

3) Sumber karbon

Bila CO₂ digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon maka organisme disebut *ototrofik*. Bila sumber karbon adalah senyawa organik disebut *heterotrofik*.

4.5 Teknik Biakan Murni

Salah satu teknik yang dikembangkan Koch adalah metode agar tuang untuk mendapatkan koloni yang terpisah. Kesulitan dalam penggunaan teknik ini yaitu bila jumlah kandungan bakteri sangat tinggi dalam bahan yang akan diperiksa diperlukan pengenceran, selain itu agak sulit mengambil koloni yang tumbuh dibawah permukaan agar. Untuk dapat memperoleh biakan murni digunakan beberapa teknik biakan yaitu:

- Metode agar tuang – *Koch*

Pada metode ini bakteri disebarkan di atas permukaan lempengan agar

- Metode penggoresan lempengan agar

Metode ini dikembangkan oleh *Loeffler* dan *Gaffky* dari laboratorium *Koch* menggunakan jarum ose. Tujuan dari penggoresan lempengan agar adalah memperoleh pertumbuhan koloni yang terpisah oleh karena pengenceran dari populasi bakteri. Koloni adalah masa sel yang berasal dari satu bakteri. Bila kita kemudian memindahkan sebagian dari koloni dengan nose atau jarum ke media yang lain maka kita seharusnya memperoleh biakan murni dari 1 bakteri.

4.6 Pemiakan Bakteri dalam Laboratorium

Sesuatu larutan biak yang dapat dibuat dari senyawa-senyawa kimia tertentu, disebut **media biak sintetik**. Harus diusahakan agar untuk setiap mikroorganisme dapat ditetapkan kebutuhan bahan makanan minuman dan mengembangkan medium minimum yang tidak mengandung lebih banyak komponen daripada yang diperlukan untuk pertumbuhan. Jenis-jenis yang mempunyai tuntutan tinggi memerlukan sejumlah besar zat pelengkap. Untuk *Leuconostoc mesenteroides* telah mengembangkan suatu medium sintetik yang mengandung lebih dari 40 komponen.

Media biak kompleks. Untuk banyak mikroorganisme bertuntutan tinggi belum dikenal benar bahan-bahan makanan yang diperlukan. Orang membiakkannya dalam larutan biak yang mengandung ekstrak ragi, otolizat ragi,

pepton atau ekstrak daging. Mengingat biaya, larutan-larutan biak tidak dibentuk dari senyawa-senyawa murni tetapi lebih disukai untuk menggunakan zat-zat kompleks, seperti air dadih, melase, air rendaman jagung atau ekstrak kedele, yang sebagai produk sisa tersedia dengan harga murah. Media biak seperti ini disebut media biak kompleks.

Media biak padat, untuk membuat biak padat pada larutan biak cair ditambahkan bahan pematat yang memberi konsistensi seperti selai pada larutan air. Hanya untuk keperluan tertentu masih digunakan gelatin, karena sudah mencair pada suhu 26-30 °C dan banyak mikroorganisme mampu mencairkan gelatin. Bahan pematat yang hampir ideal adalah agar.

Agar adalah polisakarida dengan susunan kompleks dan terajut kuat berasal dari ganggang laut. Agar hanya dipengaruhi oleh sejumlah kecil bakteri. Bila diperlukan media biak padat tanpa komponen-komponen organik, maka dipakai silikagel sebagai bahan pematat. Pemiakan mikroba dalam laboratorium memerlukan medium yang berisi zat hara serta lingkungan pertumbuhan yang sesuai dengan mikroorganisme. Zat hara digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme, dan pergerakan. Lazimnya, medium biakan berisi air, sumber energi, zat hara sebagai sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, oksigen, hidrogen serta unsur-unsur sekelumit (*trace elements*). Media terbagi menjadi 2 golongan besar, yakni:

a. Media hidup

Media hidup umumnya dipakai dalam laboratorium virologi untuk pembiakan berbagai virus, sedangkan dalam bakteriologi hanya beberapa jenis kuman tertentu saja dan terutama hewan percobaan. Contoh media hidup antara lain: hewan percobaan (termasuk manusia), telur berembrio, biakan jaringan, dan sel-sel biakan bakteri tertentu untuk bakteriofaga.

b. Media mati

1) Berdasarkan konsistensinya

- **Media padat**, terbagi media agar miring, agar *deep*, misalnya: agar buylon, agar endo, agar ss, dan sebagainya.
- **Media setengah padat**: agar buylon setengah padat (buylon=kaldu).
- **Media cair** : air buylon, air pepton, deret gula- gula.

Media padat diperoleh dengan menambahkan agar. Agar berasal dari ganggang digunakan sebagai bahan pematat karena tidak diuraikan oleh mikroba, dan membeku pada suhu di atas 45 °C. Agar-agar menjadi larut atau cair bila dipanaskan pada suhu hampir 100 °C dan tetap berbentuk cair bila diinginkan sampai $\pm 43^{\circ}\text{C}$. Berbeda dengan gelatin, sekali menjadi padat, agar-agar harus dipanaskan lagi sampai 100 °C untuk mencairkannya kembali. Media setengah padat digunakan untuk melihat gerak kuman secara mikroskopik. Medium cair dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar, penelaahan fermentasi, dan berbagai macam uji. Namun tidak dianjurkan untuk membiarkan medium agar menjadi padat lalu mencairkannya kembali lebih dari dua kali karena dapat memberikan hasil yang kurang baik. Sampai dengan tahun 1930, penyiapan medium sangat memakan waktu karena harus dibuat dari berbagai bahan mentah. Dewasa ini dengan tersedianya medium dalam bentuk terdehidrasi (bentuk bubuk), penyiapan medium menjadi sangat dipermudah dan pada umumnya anda tinggal menimbanginya, melarutkannya dalam air, menyesuaikan pH-nya bila perlu, menempatkannya dalam wadah-wadah yang sesuai dan mensterilkannya. Namun, di Indonesia medium semacam ini masih diimpor dari negara-negara maju sehingga harganya pada umumnya amat tinggi.

2) Berdasar komposisi atau susunan bahannya

(a) Media sintesis

Media sintesis adalah media yang mempunyai kandungan dan isi bahan yang telah diketahui secara terperinci. Media sintetik sering digunakan untuk mempelajari sifat faal dan genetika mikroorganisme. Senyawa anorganik dan organik ditambahkan dalam media sintetik harus murni, sehingga harganya mahal. Medium semacam ini dapat diulangi pembuatannya kapan saja dan diperoleh hasil yang sama.

Contoh: cairan Hanks, Locke, Thyrode, Eagle; Dalam (laboratorium virologi).

(b) Media non-sintesis

Merupakan media yang mengandung bahan-bahan yang tidak diketahui secara pasti baik kadar maupun susunannya. Contohnya: ekstrak daging, pepton, ekstrak ragi, kaldu daging. Seringkali dalam media ini ditambahkan darah, serum, vitamin, asam amino, atau nukleosida.

(c) Media semi-sintesis

Misalnya, cairan Hanks yang ditambahkan serum (laboratorium virologi).

3) Berdasar sifat fisiologik dan biologik kuman dan untuk tujuan isolasi

(a) Media persemaian (*nutrient media*), merupakan media yang sangat kaya akan zat makanan dan mempunyai susunan bahan sedemikian rupa sehingga hanya menyuburkan satu jenis kuman yang dicari saja. Contoh: perbenihan Kauffmann untuk persemaian *Salmonella typhi*.

(b) Media eksklusif adalah media yang hanya memungkinkan tumbuhnya satu jenis kuman saja, sedangkan yang lainnya dihambat atau dimatikan.

Contoh: perbenihan Dieudoune atau air pepton alkalis yang mempunyai pH yang tinggi sehingga kuman lain tidak dapat tumbuh, kecuali *Vibrio*.

(c) Media selektif yakni media yang mempunyai susunan bahan sedemikian rupa sehingga kuman tertentu dapat tumbuh tetapi dengan masing-masing koloni yang sangat khas. Contoh: agar endo, untuk kuman golongan *coli* (*coliform*) akan berwarna merah, sedangkan *Salmonella* koloninya tidak berwarna.

E. RANGKUMAN

Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dibedakan atas 2 golongan yaitu: faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik meliputi pH, a_w , potensial oksidasi – reduksi, kandungan nutrisi, kandungan antimikroba, struktur biologi, dll. Faktor ekstrinsik meliputi temperatur, kelembaban relatif lingkungan, konsentrasi gas di lingkungan, dll. Mikroba biasanya tumbuh baik pada rentang pH tertentu. Bakteri tumbuh baik pada rentang pH 4-8. Nilai pH yang berbeda dapat disebabkan oleh karena proses metabolisme yang terjadi di dalam sel, misalnya akumulasi produk metabolisme yang asam atau basa, sesuai kebutuhan pertumbuhannya. Pertumbuhan mikroba dalam suatu medium mengalami fase-fase yang berbeda, yang berturut-turut disebut dengan *fase adaptasi*, *fase pertumbuhan awal*, *fase logaritmik/fase eksponensial*, *fase stasioner* dan *fase kematian*. Perlakuan panas, iradiasi dan penggunaan senyawa pensteril seperti etilen oksida pada umumnya dapat membunuh semua atau sebagian mikroorganisme pembusuk. Disamping itu, beberapa tahap pangan yang paling mudah rusak selama penyimpanan, sedangkan kelas yang tertinggi, yaitu kelompok delapan merupakan kelompok produk perikanan yang paling awet karena telah mengalami pengawetan dengan sterilisasi.

F. PENUGASAN

Latihan soal berikut dapat dijawab, apabila Anda baca kembali uraian tentang:

1. Ruang lingkup pertumbuhan mikroorganisme dan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme
 2. Medium yang cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme
 3. Jenis mikroorganisme pada produk perikanan
-
1. Syarat-syarat apa sajakah yang harus dipenuhi agar suatu medium dapat digunakan? Jelaskan!
 2. Mengapa medium yang aru disterilisasikan sebaiknya dibiarkan selama 1 x 24 jam lebih dahulu sebelum digunakan?
 3. Apa fungsi *agar powder* dalam medium *Nutrient Agar*?
 4. Sebutkan dan jelaskan fase pertumbuhan mikroorganisme!

G. PRAKTIKUM

1. Penyiapan dan penempatan medium untuk disterilkan

Medium merupakan substrat atau dasar makanan yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang akan kita pelajari. Komponen dasar medium biasanya telah disesuaikan dengan jenis nutrisi yang diperlukan oleh mikroba tersebut. Medium padat mengandung serbuk agar yang berfungsi sebagai bahan pengental, di samping komponen nutrisi lainnya.

PROSEDUR :

1. Menyiapkan Medium

- a. Buatlah medium *Nutrient Agar* (NA)

Formula medium *Nutrient Agar* (NA)

- Beef extract 3 g
- Bacto pepton 5 g
- Agar powder 15 g
- Aquadest 1000 ml

(*Catatan:* perhitungkan terlebih dahulu dengan seksama medium sebanyak yang diperlukan dengan berdasarkan perbandingan formula tersebut di atas)

- b. Masukkan bahan-bahan medium tersebut ke dalam *beaker glass* 500 ml, lalu panaskan di atas api kompor gas/*hotplate* sampai larutan menjadi homogen.

(*Catatan:* Ingatlah bahwa medium harus terus-menerus diaduk secara otomatis menggunakan alat pemusing magnetik)

- c. Siapkan 5 cawan petri dan 3 tabung reaksi untuk tiap kelompok kerja.
- d. Tuangkan 10 ml medium ke dalam tiap cawan petri dan 5 ml medium ke dalam tiap tabung reaksi. Lakukan hal ini sebelum medium menjadi dingin dan mengental.

(*Catatan:* Penuangan medium agar-agar dengan suhu yang masih terlalu tinggi akan menyebabkan kondensasi air yang berlebihan pada tutup cawan petri. Hal ini tidak dikehendaki karena air tersebut akan kembali menitik pada permukaan agar bila sudah menjadi padat. Bila dikehendaki medium yang lebih teal, dapat pula dituangkan 20-25 ml medium per cawan).

- e. Siapkan juga aquades sebanyak 9 ml untuk tiap tabung reaksi 90 ml air pepton 0,1% dalam labu Erlenmeyer.
- f. Tutuplah semua cawan petri dan sumbatlah semua tabung reaksi itu dengan kapas penyumbat, lalu sterilisasikan dengan menggunakan *autoclave*.

TES FORMATIF 4.1

Berilah tanda lingkaran (O) pada B bila **BENAR** dan S bila **SALAH**!

- | | |
|--|---------|
| 1. Dua puluh persen dari organisme bersel tunggal terdiri dari air | (B - S) |
| 2. Bakteri tergolong ke dalam kelompok heterotrof | (B - S) |
| 3. Fotoautotrof dan fotoheterotrof dapat memanfaatkan energi cahaya matahari karena mempunyai pigmen-pigmen fotosintetik | (B - S) |
| 4. Ekstrak daging dan pepton merupakan sumber nitrogen dalam kaldu nutrien | (B - S) |
| 5. Pada umumnya bakteri patogen tumbuh paling baik pada pH alkalin | (B - S) |
| 6. Kaldu nutrien merupakan medium non-sintetik karena komposisi Kimiawinya tidak diketahui dengan pasti | (B - S) |
| 7. Agar-agar mempunyai dwifungsi, yaitu sebagai bahan pematat medium dan sebagai makanan mikroba | (B - S) |
| 8. Untuk menyiapkan 1 liter agar nutrien, anda harus menimbang 23 gr medium kering. Bila anda memerlukan hanya 250 ml agar nutrien, maka hanya perlu menimbang sebanyak 5.75 g | (B - S) |
| 9. Agar-agar mencair pada suhu 100 °C | (B - S) |

- | | |
|---|---------|
| 10. Labu tidak boleh diisi lebih dari 2.5 cm dari mulutnya selama proses sterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit | (B - S) |
| 11. Medium steril harus disimpan dalam lemari es sampai saat diperlukan | (B - S) |
| 12. Untuk menimbang medium mikrobiologis biasanya digunakan neraca analitik | (B - S) |
| 13. Kertas timbang digunakan untuk menimbang jumlah di atas 15 g | (B - S) |
| 14. Untuk membuat agar miring biasanya digunakan 12 ml medium dalam tabung reaksi | (B - S) |
| 15. Kaldu biasanya ditempatkan dalam tabung, masing-masing berisi 5-10 ml | (B - S) |

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 4.1 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 4.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:

- 90 - 100% = baik sekali
- 80 - 89% = baik
- 70 - 79% = cukup
- < 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Belajar 5. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 4, terutama bagian yang belum dikuasai.

2. Penyetrilan Medium

Yang dimaksud dengan *sterilisasi* dalam mikrobiologi ialah suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau di dalam suatu benda. Sterilisasi basah biasanya dilakukan di dalam *autoclave* atau sterilisator uap yang mudah diangkat (*portable*) dengan menggunakan uap air jenuh bertekanan pada suhu 121 °C selama 15 menit. Karena naiknya titik didih air menjadi 121 °C itu disebabkan oleh tekanan atmosfer (atm) pada ketinggian permukaan laut, maka daur sterilisasi seringkali juga dinyatakan sebagai: 1 atm selama 15 menit.

Panas lembab sangat efektif meskipun pada suhu yang tidak begitu tinggi, karena ketika uap air berkondensasi pada bahan-bahan yang disterilkan, dilepaskan panas sebanyak 686 kalori per gram uap air pada suhu 121 °C. Panas ini mendenaturasikan atau mengkoagulasikan protein pada organisme hidup dan dengan memamatkannya. Bahan-bahan yang biasa disterilkan dengan cara ini antara lain medium biakan yang umum, misalnya: *aquadest*, peralatan laboratorium, biakan yang akan dibuang, medium tercemar, dan bahan-bahan dari karet. Terdapat 4 hal utama yang harus diingat bila melakukan sterilisasi basah yaitu: (1) sterilisasi bergantung pada uap, karena itu udara harus dikosongkan betul-betul dari ruang sterilisator; (2) semua bagian bahan yang disterilkan harus terkena uap karena itu tabung dan labu kosong harus diletakkan dalam posisi tidur agar udara tidak terperangkap di dasarnya; (3) bahan-bahan yang berpori atau yang berbentuk cair harus permeabel terhadap uap; (4) suhu sebagaimana yang terukur oleh termometer harus mencapai 121 °C dan dipertahankan setinggi itu selama 15 menit.

Dibandingkan dengan panas lembab, panas kering kurang efisien dan membutuhkan suhu lebih tinggi serta waktu yang lebih lama untuk sterilisasi. Hal ini disebabkan karena tanpa kelembaban tidak ada panas laten. Pemanasan kering menjamin bahwa suhu pada benda-benda yang dipanaskan dalam oven akan mencapai 160-175 °C selama sekurang-kurangnya 10 menit. Bahan-bahan yang biasa disterilkan dengan cara ini antara lain pecah belah seperti pipet, tabung reaksi, cawan petri dari kaca, botol sampel, dan bahan-bahan yang tidak tembus uap seperti gliserin, minyak, vaselin, dan bahan-bahan berupa bubuk. Bahan-bahan yang disterilkan harus dilindungi dengan cara membungkus, menyumbat atau menaruhnya dalam suatu wadah tertutup untuk mencegah

kontaminasi setelah dikeluarkan dari oven. Pipet misalnya disterilkan dalam bumbung pipet.

Pada oven udara panas biasanya terdapat suatu termostat yang mengaktivasi elemen pemanas yang menjaga suhu tetap konstan. Muatan dalam oven harus diatur sedemikian rupa untuk menjamin efektivitas aliran konveksi. Cara untuk memeriksa efektivitas oven ialah dengan cara menyapukan pasta spora bakteri pada salah satu bahan yang disterilkan yang kemudian di taruh di tengah-tengah oven. Setelah periode pemanasan berakhir, bahan yang dicemari tadi dicuci dengan air steril, yang kemudian ditaruh dalam kaldu nutrisi dan diinkubasikan untuk melihat apakah terjadi pertumbuhan. Bila suhu pada bahan yang dicemari tadi benar-benar mencapai suhu 160-170 °C selama sekurang-kurangnya 10 menit maka tidak akan terlihat adanya pertumbuhan bakteri.

Proses sterilisasi lain yang juga digunakan pada suhu kamar ialah penyaringan. Dengan cara ini larutan atau suspensi dibebaskan dari semua organisme hidup dengan cara melewatkan larutan melalui saringan dengan ukuran pori yang kecil (0,45 atau 0,22 µm) sehingga bakteri dan sel-sel yang lebih besar tertahan di atasnya, sedangkan filtratnya di tampung di dalam wadah yang steril.

PROSEDUR :

- a. Isilah *autoclave* dengan air kran setinggi batas sarangan
- b. Oleskan vaselin secara tipis dan merata pada tepi *autoclave* bagian tempat dan tutup
- c. Masukkan semua bahan dan alat yang akan disterilisasikan ke dalam *autoclave*, lalu tutuplah *autoclave* tersebut.
- d. Siapkan kompor gas, lalu letakkan *autoclave* di atasnya. Aturlah posisi katup air pada tutup *autoclave*, sehingga posisinya tegak. Nyalakan api kompor gas itu.
- e. Tunggulah sampai ada uap air keluar melalui celah katup, kemudian lipatlah katup tersebut, sehingga posisinya mendarat.
- f. Tunggulah sampai jarum monometer menunjukkan angka 15, yang berarti tekanan angka *autoclave* telah mencapai 15 lbs. Aturlah api kompor agar tetap kecil, lalu pertahankan tekanan agar tetap sebesar 15 lbs selama 15 menit.

- g. Setelah 15 menit, matikan kompor gas, lalu biarkan sampai tekanan yang ditunjukkan oleh monometer menjadi 0 lbs.
- h. Tegakkan posisi katup uap air sehingga uap air keluar, kemudian bukalah tutup *autoclave* dan keluarkan bahan dan alat yang telah disterilkan itu. Letakkan benda-benda di atas nampan (baki) kayu. Medium dalam cawan petri akan digunakan sebagai medium lempeng, letakkan dengan posisi mendatar. Medium dalam tabung reaksi akan dipakai sebagai medium miring, letakkan dengan posisi agak miring dengan menyandarkannya pada tepi nampan.
- i. Tunggulah selama 1 x 24 jam, apabila medium tetap bersih dan tidak ditumbuhi bakteri atau jamur, berarti medium ini dapat dipakai. Medium yang tidak segera dipakai dapat disimpan dalam lemari es.

TES FORMATIF 4.2

Berilah tanda lingkaran (O) pada B bila **BENAR** dan S bila **SALAH!**

- | | |
|--|---------|
| 1. Cawan petri dari kaca harus disterilkan terlebih dahulu sebelum dituangi medium untuk membiakkan bakteri | (B - S) |
| 2. Udara harus sepenuhnya terusir dari ruangan sterilisator uap untuk mencapai suhu dan tekanan yang dibutuhkan untuk sterilisasi | (B - S) |
| 3. Pada sterilisasi basah tekanan lebih penting artinya daripada suhu | (B - S) |
| 4. Wadah-wadah kosong dari kaca paling baik disterilkan di dalam oven pada suhu 160 °C selama 2 jam | (B - S) |
| 5. Pada ketinggian yang lebih tinggi dari permukaan laut diperlukan suhu dan tekanan yang lebih rendah untuk proses sterilisasi basah | (B - S) |
| 6. Semua medium yang dipergunakan di laboratorium mikrobiologi harus disterilkan terlebih dahulu dalam sterilisator uap pada suhu 121 °C selama 15 menit | (B - S) |
| 7. Pada metode penyaringan, setelah suatu suspensi selesai dilakukan lewat saringan bakteriologis maka filtrat akan tertahan pada filter | (B - S) |
| 8. Efektivitas penggunaan oven untuk sterilisasi dapat diperiksa dengan menyapukan pasta spora bakteri pada benda yang | |

diletakkan di tengah-tengah oven pada akhir proses sterilisasi, spora tersebut diinkubasikan dalam medium yang sesuai untuk melihat daya tumbuhnya

(B - S)

9. Minyak dan bahan berupa serbuk bersifat tidak tembus uap, karena itu biasanya disterilkan dengan panas kering
10. Dibandingkan dengan panas lembab, panas kering lebih efisien dan membutuhkan suhu lebih rendah serta waktu lebih singkat untuk sterilisasi

(B - S)

(B - S)

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 4.2 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 4.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan: 90 - 100% = baik sekali
 80 - 89% = baik
 70 - 79% = cukup
 < 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Belajar 5. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 4, terutama bagian yang belum dikuasai.

2.5 Kegiatan Pembelajaran 5

A. Judul

Mikroorganisme pada produk perikanan

B. Deskripsi

Produk hasil perikanan termasuk bahan pangan yang mudah rusak karena pertumbuhan mikroba sehingga membutuhkan teknologi penanganan yang baik. Tanda-tanda produk perikanan yang telah rusak biasanya mudah diidentifikasi secara fisik seperti pembentukan lendir, perubahan warna, pelunakan struktur yang disertai dengan timbulnya bau busuk. Kerusakan-kerusakan tersebut merupakan kombinasi dari efek mikrobiologis, kimia dan fisik selama penanganan atau penyimpanan. Diantara ketiga cemaran ini yang paling mengkhawatirkan adalah cemaran mikrobiologi. Cemaran mikrobiologi dapat menyebabkan berbagai potensi penyakit, karena faktor yang bias menjadi penyebabnya seperti peralatan, kemasan, dan bahan lain (kontaminasi silang). Berbagai mikroflora banyak terdapat pada ikan seperti bakteri, kapang dan khamir. Kasus infeksi dan keracunan produk perikanan sering terjadi akibat mengkonsumsi makanan yang telah terkontaminasi, baik oleh mikroba patogen penyebab infeksi maupun mikroba penghasil toksin (intoksikasi). Beberapa bakteri seperti *Salmonella* sp., *Shigella*, *Eschericia coli*, *Enterococci*, dan *Clostridium* yang sering mengkontaminasi ikan segar.

C. Indikator

Setelah melakukan kegiatan pembelajaran ini, diharapkan taruna dapat menjelaskan kerusakan mikrobiologis pada produk perikanan dan olahannya.

D. Uraian Materi

5.1 Kerusakan mikrobiologis pada produk perikanan

Mikroba perusak pada produk perikanan biasanya sama untuk jenis-jenis produk yang berbeda, tetapi mengalami perlakuan yang sama. Sebagai contoh, produk perikanan pada kondisi dingin (5 °C), mikroba perusak spesifiknya (*Specific Spoilage Organisms/SSOs*) sering merupakan mikroba yang tahan kondisi dingin atau kelompok psikotropik. SSOs mampu memproduksi metabolit-metabolit yang menyebabkan bau busuk dan rasa yang tidak diinginkan yang menandakan produk tersebut telah rusak. Faktor yang mempengaruhi

tumbuhnya mikroba perusak ditentukan oleh kemampuan hidup bersimbiosis antarmikroba perusak tersebut dan kondisi penyimpanan (waktu dan suhu) produk. Beberapa jenis mikroba perusak produk perikanan adalah *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Moraxella*, *Acinetobacter* (*Achromobacter*), dan *Flavobacterium*, *Shewanella putrefaciens* biasanya akan memproduksi trimetilamina (TMA), H₂S, dan senyawa volatile jenis sulfida yang dapat menimbulkan bau busuk pada ikan. Sementara itu, kerusakan yang terjadi pada ikan segar dan olahan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kerusakan khas pada ikan segar dan olahan selama penyimpanan

Mikroba	Senyawa yang dihasilkan	Contoh produk
<i>S. putrefaciens</i>	TMA, H ₂ S, (CH ₃) ₂ S, Hiposaktin, Asam	Ikan laut beku
<i>Pseudomonas</i> spp.	CH ₃ SH, (CH ₃) ₂ S, Keton, Ester, Aldehida, NH ₃ , Hipoksantin	Ikan tawar beku
<i>P. phosphoreum</i>	TMA, hipoksantin	Ikan kemasan (diisi dengan gas CO ₂)
<i>Vibrionaceae</i>	TMA, H ₂ S	Ikan segar
<i>Enterobacteriaceae</i>	TMA, H ₂ S, CH ₃ SH, (CH ₃) ₂ S, Keton, Ester, Aldehida, NH ₃ , Hipoksantin, Asam	Ikan dengan pengawetan minimal
BAL (bakteri asam laktat)	H ₂ S, Keton, Ester, Aldehida, NH ₃ , Asam	Ikan dengan pengawetan minimal
Kamir	Keton, Ester, Aldehida, NH ₃ , Asam	Ikan yang diawetkan dengan gula dan garam
Bakteri basil anaerobik	Keton, Ester, Aldehida, NH ₃	Ikan yang dikemas vakum

Sumber : Lund (2000)

Penggaraman merupakan proses pengolahan yang paling banyak diaplikasikan untuk produk perikanan. Produk penggaraman dibuat dengan cara merendam bahan pangan dalam larutan garam atau ikan dilumuri garam sebelum diproses lebih lanjut. Kadar garam produk yang diasinkan biasanya lebih dari 6% (b/b). Pada produk hasil penggaraman ini, mikroba yang dominan bersifat suka garam atau tahan garam. Mikroba tersebut berjenis bakteri mikrokokus gram-positif yang halofilik atau haloteran jenis kamir, dan kapang yang juga bersifat halofilik.

Bakteri halofilik yang sering merusak produk penggaraman berasal dari genus *Halococcus* dan *Halobacterium*. Kedua bakteri ini bersifat ekstrem halofilik

dan dapat menyebabkan perubahan warna menjadi merah muda pada ikan asin. Mikroba lain dari jenis kapang adalah *Sporendonema (Wallemia)* dan *Ospora*. Kedua kapang ini juga bersifat halofilik dan diklasifikasikan sebagai SSOs pada ikan asin. Keduanya tidak memproduksi metabolit yang menyebabkan bau busuk, tetapi mengurangi kualitas produk secara visual. Produk hasil perikanan yang telah kering dan diasap biasanya memiliki kadar garam yang sangat tinggi atau A_w yang sangat rendah. Masa simpan dari produk ini cukup lama pada suhu ruang (28-30 °C). Karena kadar garam yang tinggi, kerusakan produk biasanya disebabkan oleh kapang halofilik seperti *Penicillium*, *Aspergillus*, dan *Polypaecilum pisce*.

Selain dengan penggaraman, pengawetan yang banyak diaplikasikan pada produk perikanan adalah dengan cara *gravalax*. *Gravalax* adalah produk pangan yang diproses dengan menggunakan campuran garam dan gula. Proses ini dikombinasikan dengan perlakuan pengemasan vakum atau atmosfer termodifikasi. Kerusakan pada produk *gravalax* meliputi timbulnya rasa asam, bau busuk, rasa yang tidak enak, dan ketengikan pada ikan. Mikroba yang dominan menyebabkan kerusakan tersebut adalah berbagai bakteri asam laktat, bakteri halofilik anaerobik, dan kamir tahan garam yang memproduksi indol, H_2S , dan komponen asam yang volatil.

Produk fermentasi hasil perikanan merupakan produk hasil perikanan yang mengalami proses fermentasi oleh bakteri asam laktat dan memiliki pH kurang dari 5. Mikroba perusak yang mendominasi produk ini berasal dari bakteri Gram-positif pementuk spora, bakteri asam laktat, kamir dan kapang.

5.2 Mikroba patogen pada pangan

Patogenisitas adalah kemampuan organisme untuk menimbulkan penyakit. Jika mikroba menyerang tubuh, tubuh akan merespon serangan mikroba tersebut dan timbul gejala gangguan kesehatan atau yang dinamakan penyakit. Jadi, yang dimaksud dengan mikroba patogen adalah mikroba yang mampu menimbulkan penyakit. Kemampuan mikroba patogen untuk menyebabkan penyakit dipengaruhi oleh beberapa hal, yaitu sifat mikroba patogen dan kemampuan tubuh untuk menahan serangan mikroba.

Mikroba patogen yang berasal dari pangan akan bekerja dalam tiga mekanisme, yaitu secara infeksi, intoksikasi, dan toksikoinfeksi. **Pertama** infeksi terjadi bila mikroba patogen masuk ke dalam tubuh akan membentuk koloni

dengan menggunakan fimbri atau faktor adheren lainnya dan dapat menembus (invasi) bagian organ dalam atau jaringan tubuh menggunakan toksin atau enzim yang dihasilkan dan dampaknya bersifat lambat. Contoh mikroba yang mengakibatkan infeksi adalah *Salmonella* penyebab penyakit *salmonellosis*. **Kedua**, intoksikasi disebabkan oleh terkonsumsinya toksin ekstraseluler yang dihasilkan oleh mikroba yang mencemari pangan. Intoksikasi tidak memerlukan adanya mikroba hidup pada pangan yang dikonsumsi karena umumnya toksin mikroba telah dieksresikan ke medium di sekitarnya (ke dalam pangan) pada saat mikroba tumbuh dan mencemari pangan. Dampak yang ditimbulkan relatif cepat karena toksin telah tersedia. Contoh mikroba yang dapat menyebabkan intoksikasi adalah *S. aureus* karena penghasil toksin. **Ketiga**, toksikoinfeksi adalah terjadinya sekresi racun bila sel mikroba telah berada dalam tubuh. Contoh mikroba yang mengakibatkan toksikoinfeksi adalah *Bacillus cereus* dan *Clostridium perfringens*.

Jenis-jenis mikroba patogen yang sering ditemukan pada ikan dan produk perikanan, antara lain *Aeromonas* spp., *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, dan *Bacillus cereus*. Sementara itu, yang tergolong dalam *emerging pathogens*, antara lain *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter fetus* subsp. *fetus*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora cayentanensis*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Norwalk-like virus*, *Nitzschia pungens* (*amnesic shellfish poisoning*), *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhirium DT 104, *Vibrio cholerae* 01, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio parahaemolyticus* dan jenis *Vibrio* lainnya, dan *Yersinia enterocolitica*.

Kasus infeksi/keracunan produk perikanan sering terjadi akibat mengkonsumsi makanan yang telah terkontaminasi, baik oleh mikroba patogen penyebab infeksi maupun mikroba penghasil toksin (intoksikasi). *Foodborne diseases* yang disebabkan oleh organisme dapat dibagi menjadi dua kelompok besar, yaitu infeksi makanan dan keracunan makanan. Infeksi makanan terjadi karena konsumsi makanan mengandung organisme hidup yang mampu bersporulasi di dalam usus, yang menimbulkan penyakit. WHO mendefinisikan *foodborne diseases* sebagai penyakit yang umumnya bersifat infeksi atau racun yang masuk ke dalam tubuh melalui makanan yang dicerna. Sejumlah salmon beku juga pernah ditarik dari pasaran di Kanada dan New York karena terindikasi tercemar *Listeria monocytogenes*. Namun demikian, catatan frekuensi kejadian

keracunan makanan sulit ditelusuri karena kasusnya banyak yang tidak dilaporkan, kecuali terhadap kasus-kasus yang luar biasa. Hal ini karena kebanyakan kasus keracunan berupa gangguan pencernaan dengan gejala yang tidak berlangsung lama, bahkan sering tidak terlihat pada individu dengan kondisi kekebalan/imunitas yang baik.

Adapun beberapa jenis bakteri tertentu berperan sebagai pemicu pembentukan toksin pada produk perikanan misalnya histamin pada ikan-ikan scombroid seperti tuna (*Thunnus* sp.), mahi-mahi (*Coryphaena hippurus*), sardine (*Sardinella pilchardus*) dan makarel (*Scomber scombrus*). Jenis bakteri pemicu pembentuk histamin antara lain: *Proteus* spp., *Morganella morganii*, *Clostridium* spp., *Escherichia* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., dan *Vibrio harveyi*.

5.2.1 Bakteri patogen asli (alami terdapat pada ikan)

1) *Clostridium botulinum* (botulism)

Clostridium botulinum merupakan bahaya utama pada makanan kaleng karena dapat menyebabkan keracunan *botulinin*. Tanda-tanda keberadaan bakteri maupun toksin (*botulin*) pada makanan kaleng antara lain adanya cairan jernih agak keputihan, kemasan yang retak, tutup dan sambungan kaleng yang kendor, atau timbulnya bau menyimpang. *Botulinin* merupakan sebuah molekul protein dengan daya keracunan yang sangat kuat. Satu mikrogram *botulinin* sudah cukup mematikan manusia. Untungnya karena merupakan protein, *botulinin* bersifat termolabil dan dapat diinaktifkan dengan pemanasan pada suhu 80 °C selama 30 menit. Garam dengan konsentrasi 8% atau lebih serta pH 4,5 atau kurang dapat menghambat pertumbuhan *C. botulinum*, sehingga produksi *botulinin* dapat dicegah.

Tanda-tanda keracunan *botulinin* antara lain tenggorokan kaku, mata berkunang-kunang, dan kejang-kejang yang menyebabkan kematian karena sukar bernapas. Biasanya bakteri ini tumbuh pada makanan kaleng yang tidak sempurna pengolahannya atau pada kaleng yang bocor, sehingga makanan di dalamnya terkontaminasi udara dari luar. Tindakan pencegahannya antara lain dengan mengamati secara cermat produk pangan yang di proses dalam kemasan kaleng atau kemasan vakum dan tidak mengonsumsi produk dengan kemasan yang rusak.

2) *Vibrio* sp.

Vibrio sp. mempunyai sifat-sifat umum yaitu berbentuk batang yang bengkok, mempunyai satu batang cambuk yang terletak pada salah satu ujung batangnya. Kontaminasi bakteri ini pada manusia dapat terjadi bila mengkontaminasi makanan dan hasil-hasil laut, akibat penanganan dan perlakuan yang keliru. *Vibrio* sp. tersebar di laut dan membutuhkan Na^+ untuk pertumbuhannya. Terdiri dari sejumlah spesies yang patogen bagi manusia. Penyakit yang ditimbulkan gastro-enteritik yang bervariasi, dari diare ringan sampai diare berair yang berlebihan (parah). Kebanyakan *vibrio* menghasilkan enterotoksin yang kuat. Selain racun kolera, racun lainnya yang diproduksi oleh *V. cholera* adalah hemolisin yang mirip dengan *tetrodotoksin* dan satunya lagi mirip *shiga*-toksin. *V. cholera* yang berasal dari darat atau air tawar, sudah dikenal sebagai penyebab penyakit muntah berak di Indonesia. Bahan mentah (sebelum atau yang tidak dimasak), atau kerang yang telah dimasak tetapi terkontaminasi silang, merupakan pembawa utama *V. cholerae*. Untuk *V. parahaemolyticus* paling sering dikaitkan dengan kontaminasi silang atau kesalahan waktu/suhu dalam mengolah *seafood*. Untuk *vibrio* yang lain, konsumsi kerang mentah, terutama tiram, adalah penyebab utama infeksi. *Vibrio* mudah dihancurkan oleh panas. Jadi dengan cara memasak yang tepat dapat menghilangkan sebagian besar *vibrio*. Jenis *vibrio* yang bersifat pada ikan dan invertebrata laut adalah *Vibrio alginolyticus*, *V. damsela*, *V. charchariae*, *V. anguillarum*, *V. ordalli*, *V. cholerae*, *V. salmonicida*, *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. pelagia*, *V. splendida*, *V. fischeri* dan *V. harveyii*.

3) *Aeromonas hydrophila*

Aeromonas hydrophila adalah bakteri berbentuk akar, motil, dengan diameter 0,3–1 μm dan panjang 1–3,5 μm , tanpa fase spora, biasanya tidak mempunyai kapsul, tumbuh optimum pada 28°C tetapi dapat tumbuh pada suhu ekstrim (4°C dan 37°C). Sifatnya yang metropolitan di lingkungan perairan memungkinkan terjadinya kontak pada ikan dan amfibi, dan bahkan memasuki hewan tersebut. Kontak tersebut dapat menyebabkan infeksi tergantung pada spesiesnya dan tingkat virulennya. *Aeromonas hydrophila* telah ditemukan pada berbagai jenis ikan air tawar di seluruh dunia, dan adakalanya pada ikan laut. Terdapat pandangan yang berbeda tentang peran yang tepat dari *Aeromonas hydrophila* sebagai ikan patogen. Beberapa peneliti menetapkan bahwa

organisme ini hanya sebagai penyerang sekunder pada inang yang lemah, sedang yang lain menyatakan bahwa *Aeromonas hydrophila* adalah suatu patogen utama ikan air tawar. Bakteraemia (bakteria di darah) adalah wujud patogenik paling umum *Aeromonas* pada manusia. Gejala ringan berupa demam dan kedinginan, tapi pada pasien yang sudah terinfeksi berat (infeksi bakteri yang berlebihan) sering menampakkan gejala sakit perut, mual, muntah-muntah, dan diare. Tidak seperti gastroenteritis, infeksi *Aeromonas* bisa bersifat fatal atau berakibat kelemahan yang serius, seperti amputasi.

4) *Listeria sp.*

Bakteri ini umumnya ditemukan di alam, lingkungan pengolahan pangan, dan saluran pencernaan manusia dan hewan. *Listeria sp* sering terdapat pada *seafood*, seperti *L. monocytogenes* pada salmon asap yang didinginkan (+4°C). *Listeriosis* adalah infeksi dengan usus sebagai titik masuk. Masa inkubasi bervariasi dari satu hari sampai beberapa minggu dan gejala pada orang dewasa adalah demam, menggigil, kembung seperti gejala flu. Pada anak kecil atau bayi dapat timbul gejala muntah dan kesulitan bernafas. *Strain virulen* mampu menggandakan diri menyebabkan *septicemia* diikuti oleh infeksi organ lain seperti sistem saraf pusat, jantung, mata dan dapat menyerang janin ibu hamil. Pada orang dewasa yang sehat, *listeriosis* biasanya tidak pernah berkembang, namun mempunyai risiko tertentu dan dapat mematikan bagi janin, wanita hamil, dan orang dengan kekebalan rendah. Cara pengolahan untuk mencegah *Listericidal* terutama adalah dengan perlakuan panas.

5.2.2 Bakteri patogen tidak asli (akibat kontaminasi)

1) *Escherichia coli*

E. coli merupakan mikroflora alami aerobik dan hewan berdarah panas yang terdapat pada saluran pencernaan manusia dan hewan. Beberapa galur *E. coli* yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia adalah *enterotoksigenik*, *enterohaemorrhagik*, *enteropatogenik*, *enteroinvasif*, dan *enteroagregatif*. *Enterotoksigenik E. coli* merupakan penyebab diare pada wisatawan yang mengunjungi negara yang standar higienitas makanan dan air minum berbeda dari negara asalnya. *Enterohaemorrhagic E. coli* 0157:H7 banyak menyebar melalui konsumsi air yang telah tercemar limbah pembuangan, dan dijumpai pada daging mentah atau susu nonpasteurisasi. Kontaminasi

enterohaemorrhagic E. coli 0157:H7 yang banyak ditemukan pada sayuran dapat terjadi akibat penggunaan kotoran sapi sebagai pupuk. Masa inkubasinya selama 3-4 hari dan gejala yang ditimbulkan antara lain kram perut yang akut disertai diare (terkadang terjadi pendarahan), mual, muntah, dan demam selama 10 hari. Pada kasus yang berat, dapat timbul komplikasi *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS) atau infeksi pada saluran urin yang dapat menyebabkan gagal ginjal pada anak-anak dan orang tua. Langkah pencegahannya antara lain dengan tidak mengonsumsi air yang belum di proses atau susu nonpasteurisasi, memasak makanan dengan benar dan jika dipanaskan ulang setidaknya hingga suhu internal mencapai 74 °C. Selain itu, juga tidak menyimpan makanan yang mudah rusak lebih dari 2 jam pada suhu ruang (28-30 °C).

2) *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus termasuk bakteri yang tidak mampu berkompetensi dengan mikroba lain. Hal ini disebabkan beberapa faktor, antara lain penggunaan oksigen oleh bakteri lain, penggunaan sejumlah asam amino oleh *Pseudomonas aeruginosa*, serta penggunaan sejumlah vitamin (seperti niasin dan biotin) oleh *Streptococci*. Bakteri *S.aureus* yang berpindah ke dalam pangan olahan (biasanya perpindahan tersebut melalui pekerja pengolah pangan) dalam beberapa waktu akan tumbuh. Hal ini disebabkan sedikitnya atau mungkin tidak adanya kompetitor dari bakteri lain, sehingga *S.aureus* dapat tumbuh dengan cepat. Bilamana *S.aureus* tumbuh dalam kondisi suhu yang sesuai dan dalam jangka waktu yang cukup, bakteri tersebut mampu menghasilkan enterotoksin. Bakteri *S.aureus* dapat memproduksi toksin pada suhu hangat, dengan masa inkubasi selama 1-8 jam dan gejala yang timbul antara lain mual, muntah, diare, dan kram pada perut yang berlangsung 1-2 hari, tetapi jarang berakibat fatal.

S.aureus terdapat pada rongga hidung, kulit, tenggorokan, dan saluran pencernaan manusia dan hewan. Bahan makanan yang disiapkan menggunakan tangan, seperti penyiapan sayuran mentah untuk salad, berpotensi terkontaminasi *S. aureus*. Jenis makanan lain yang sering terkontaminasi oleh *S. aureus* adalah daging dan produk daging, ayam, telur, salad (telur, tuna, ayam, kentang, dan makaroni), produk bakeri, pastri, pai, *sandwich*, serta susu dan produk susu. Proses pemasakan tidak akan menghancurkan toksin dari bakteri *S. aureus*. Oleh karena itu, praktik sanitasi dan higienitas sangat dianjurkan pada proses pengolahan pangan.

3) *Salmonella* sp. (*Salmonellosis*)

Salmonella bersifat patogen pada manusia dan hewan lainnya, dan dapat menyebabkan demam enterik dan gastroenteritis. Diketahui terdapat 200 jenis dari 2.300 serotip *Salmonella* yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. *Salmonella* sp. distribusinya di seluruh dunia, terutama dalam usus manusia dan hewan serta lingkungan yang tercemar kotoran manusia atau hewan. Gejala utama *salmonellosis* adalah diare tidak berdarah, sakit perut, demam, mual, muntah yang umumnya muncul 12-36 jam setelah konsumsi. Namun, gejala dapat bervariasi dari tanpa gejala sampai seperti tifus parah. Penyakit ini juga dapat berlanjut menjadi komplikasi yang lebih serius.

Kontaminasi *Salmonella* pada kerang yang tumbuh di perairan tercemar telah menjadi masalah di banyak bagian dunia. Udang tropis hasil budidaya juga sering mengandung *Salmonella* sebagai akibat dari rendahnya standar kebersihan, dan penggunaan kotoran unggas sebagai pupuk/pakan. Kebanyakan udang dimasak sebelum dikonsumsi, oleh karena itu produk ini risikonya minimal, kecuali bila terjadi kontaminasi silang di tempat pengolahan. Langkah pencegahannya adalah dengan memisahkan pangan mentah dari makanan yang telah dimasak. Selain itu, sebaiknya tidak meninggalkan makanan pada suhu ruang (28-30 °C) selama lebih dari 2 jam serta diusahakan untuk menyimpan di lemari es dengan suhu kurang dari 4 °C.

4) *Shigella* sp. (*Shigellosis*)

Shigella sp. adalah host khusus yang beradaptasi pada manusia dan primata tingkat tinggi, dan kehadirannya di lingkungan dikaitkan dengan kontaminasi tinja. *Shigella* merupakan bakteri patogen di usus manusia dan primata penyebab *shigellosis* (disentri basiler) yang merupakan infeksi usus. Makanan yang sering terkontaminasi *Shigella* adalah salad, sayuran segar (mentah), susu dan produk susu, serta air yang terkontaminasi. Sayuran segar yang tumbuh pada tanah terpolusi dapat menjadi faktor penyebab penyakit, seperti disentri basiler atau *shigellosis* yang disebabkan oleh *Shigella*. Menurut USFDA (1999), diperkirakan 300.000 kasus *shigellosis* terjadi di Amerika Serikat setiap tahun. Penyebaran *Shigella* dapat melalui orang yang memiliki kebiasaan kebersihan yang buruk, misalnya orang tersebut menangani pangan cair atau pangan basah yang tidak dimasak dengan benar. Gejalanya bervariasi dari tanpa gejala atau

diare ringan untuk disentri, ditandai dengan tinja berdarah, sekresi lendir, dehidrasi, demam tinggi, dan kram perut yang parah. Masa inkubasi 1-7 hari dan gejala dapat bertahan selama 10-14 hari atau lebih. Kematian pada orang dewasa jarang terjadi, tetapi pada anak-anak dapat menjadi fatal. Sebagian besar kasus shigellosis disebabkan penularan langsung dari orang ke orang melalui rute *oral-faecal* dan air, terutama di lingkungan dengan standar kebersihan rendah. Namun makanan, termasuk *seafood* (*cocktail* udang, salad tuna), juga dapat menjadi penyebab *shigellosis* karena kontaminasi pada bahan mentah, atau pada olahan yang terinfeksi dan tidak disadari akibat kebersihan pribadi yang buruk.

5.2.3 Berbagai jenis kapang patogen penyebab *foodborne disease*

Kapang dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai macam makanan dalam kondisi aw, pH, dan suhu rendah. Jenis kapang yang dapat merusak makanan di antaranya *Aspergillus*, *Penicillium*, *Botrytis*, *Alternaria*, dan *Mucor*. Senyawa beracun yang diproduksi oleh kapang disebut mikotoksin. Pembentukan mikotoksin dapat terjadi selama pangan berada di lading atau selama penyimpanan dan merupakan hasil metabolit sekunder dari proses metabolisme kapang. Pada umumnya, mikotoksin sangat tahan panas dan intoksikasi mikotoksin dapat bersifat akut atau kronis dan disebut dengan mikotoksikosis.

Khamir umumnya diklasifikasi berdasarkan sifat-sifat fisiologisnya, dan tidak ada perbedaan morfologi seperti halnya pada kapang. Buah-buahan dan sayuran segar mengandung bermacam-macam flora mikroorganisme, di antaranya kapang dan khamir (oksidatif, fermentatif, dan nonfermentatif). Kapang dan khamir dapat terbawa melalui tanah, permukaan tanaman, permukaan daun, hujan, insekta, dan lain-lain. Khamir selain menguntungkan juga menyebabkan kerusakan pada makanan, yaitu pada *sauerkraut*.

Salah satu senyawa kimia berbahaya yang dihasilkan oleh fungi adalah aflatoksin. *Aflatoksin* merupakan salah satu jenis dari mikotoksin yang dihasilkan oleh fungi spesies *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* (Hudler, 1998). *Aspergillus flavus* menghasilkan aflatoksin B1 and B2 dan asam siklopiazonat sedangkan *Aspergillus parasiticus* menghasilkan aflatoksin B1, B2, G1 dan G2. *Aflatoksin* bersifat toksik dan merupakan substansi yang sangat karsinogenik. Setelah masuk kedalam tubuh, *aflatoksin* dapat di metabolisme oleh hati menjadi

senyawa reaktif atau mengalami dihidroksilasi menjadi senyawa yang kurang berbahaya (Aflatoksin M_{1v}). Tetapi jika paparan aflatoksin berlangsung beberapa minggu hingga beberapa bulan maka akan muncul gejala disfungsi hati seperti nyeri ulu hati, *jaundice* dan jika diperiksa lebih lanjut, akan didapati abnormalitas nilai enzim hati seperti SGOT dan SGPT. Pemanasan merupakan salah satu cara untuk memengaruhi pertumbuhan kapang, sehingga dapat mengurangi aktivitas kapang dalam pembentukan toksin.

E. RANGKUMAN

Keracunan pangan atau *foodborne disease* (penyakit bawaan makanan), terutama yang disebabkan oleh bakteri patogen masih menjadi masalah yang serius di berbagai negara termasuk Indonesia. Terdapat tiga faktor kunci yang umumnya menimbulkan kejadian luar biasa (KLB) keracunan pangan akibat bakteri, yaitu **kontaminasi** – bakteri patogen harus ada dalam pangan; **pertumbuhan** – dalam beberapa kasus, bakteri patogen harus memiliki kesempatan untuk berkembang biak dalam pangan untuk menghasilkan toksin atau dosis infeksi yang cukup untuk menimbulkan penyakit; **daya hidup** (*survival*) – jika berada pada kadar yang membahayakan, bakteri patogen harus dapat bertahan hidup dalam pangan selama penyimpanan dan pengolahannya. Bakteri dapat menyebabkan keracunan pangan melalui dua mekanisme, yaitu intoksikasi dan infeksi.

F. PENUGASAN

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

1. Jelaskan beberapa jenis bakteri yang secara alami terdapat pada ikan dan produk perikanan!
2. Jelaskan yang dimaksud dengan *foodborne disease*!
3. Jelaskan kenapa *Clostridium botulinum* sangat berbahaya jika tidak sengaja dikonsumsi oleh manusia?

G. TES FORMATIF 5.

Jawablah pertanyaan dibawah ini dengan singkat dan tepat!

1. Bakteri yang tahan kondisi dingin termasuk dalam kelompok bakteri ...
2. Genus *Halococcus* dan *Halobacterium* merupakan contoh bakteri yang

- | | |
|---|----|
| termasuk dalam golongan bakteri ... | 2. |
| 3. Kemampuan organisme untuk menimbulkan penyakit disebut ... | 3. |
| 4. Terkonsumsinya toksin ekstraseluler yang dihasilkan oleh mikroba yang mencemari pangan disebut dengan ... | 4. |
| 5. Bakteri yang berbahaya dan terdapat pada makanan kaleng karena dapat menyebabkan keracunan <i>botulinin</i> adalah ... | 5. |
| 6. Bakteri yang tidak mampu berkompetensi dengan mikroba lain yang terdapat pada pangan olahan melalui pekerja pengolah pangan adalah ... | 6. |
| 7. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri <i>Salmonella</i> disebut ... | 7. |
| 8. Senyawa beracun yang diproduksi oleh kapang disebut ... | 8. |

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 5 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 5.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan:

- 90 - 100% = baik sekali
- 80 - 89% = baik
- 70 - 79% = cukup
- < 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Belajar 6. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 5, terutama bagian yang belum dikuasai.

2.6 Kegiatan Pembelajaran 6.

A. Judul

Pewarnaan Gram (Pewarnaan Differensial)

B. Deskripsi

Pewarnaan Gram merupakan salah satu teknik pengecatan yang dikerjakan di laboratorium mikrobiologi untuk kepentingan identifikasi mikroorganisme. Morfologi mikroskopik mikroorganisme yang diperiksa dan sifatnya yang khas terhadap pengecatan tertentu (pewarnaan Gram) dapat digunakan untuk identifikasi awal. Metode pewarnaan tersebut pertama kali ditemukan oleh Christian Gram pada tahun 1884 (bakteriologiwian Denmark). Dengan metode pewarnaan Gram, bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu bakteri *Gram positif* dan *Gram negatif* berdasarkan reaksi atau sifat bakteri terhadap cat tersebut. Reaksi atau sifat bakteri tersebut ditentukan oleh komposisi dinding selnya. Oleh karena itu, pewarnaan Gram tidak bisa dilakukan pada mikroorganisme yang tidak mempunyai dinding sel seperti *Mycoplasma sp.*

C. Indikator

Setelah melakukan kegiatan pembelajaran ini, diharapkan taruna dapat mengetahui bahwa bakteri dapat dilihat dengan pewarnaan, mengenal bakteri gram positif dan gram negative serta morfologinya, dan menjelaskan prosedur perwarnaan Gram, memahami pentingnya setiap langkah dalam prosedur tersebut, dan memahami reaksi-reaksi kimiawi yang terlibat di dalam prosedur tersebut.

D. Uraian Materi

Bakteri berukuran sangat kecil dan tipis sehingga sukar dilihat struktur tubuhnya walaupun dengan bantuan mikroskop. Untuk melihat morfologi bakteri secara lebih jelas dikembangkan teknik pewarnaan bakteri. Prinsip pewarnaan bakteri adalah pertukaran antara ion zat warna dengan ion protoplasma sel. Terdapat dua kelompok zat pewarna bakteri, yaitu: (1) bersifat **Asam**, berupa anion dan umum digunakan dalam bentuk garam natrium. (2) bersifat **Alkali**, berupa kation dan umum digunakan dalam bentuk klorida. Selain zat warna diperlukan zat tambahan yang berfungsi untuk mengendapkan hasil reaksi zat

warna dengan komponen dinding sel bakteri. Zat tersebut dikenal dengan istilah zat pematek yang akan melekatkan zat warna pada plasma sel.

Teknik pewarnaan bakteri dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu:

1. **Pewarnaan Sederhana atau Tunggal**, dengan menggunakan satu macam zat warna seperti: Metilen Blue, Karbol Violet dan Air Fucshin.

Pemberian warna pada bakteri atau jasad renik lain dengan menggunakan larutan tunggal suatu pewarna pada lapisan tipis atau olesan yang sudah di fiksasi, dinamakan pewarnaan sederhana. Lapisan tadi dimasukkan dalam larutan pewarna selama jangka waktu tertentu, kemudian larutan itu dicuci dengan air dan kaca objeknya dikeringkan dengan kertas penghisap. Sel akan terwarnai merata, kecuali bagian-bagian tertentu akan tampak terwarnai lebih gelap.

2. **Pewarnaan Differensial** dengan menggunakan dua atau lebih zat warna.

Prosedur pewarnaan yang dapat menghasilkan perbedaan di antara sel-sel mikroorganisme atau bagian-bagian sel mikroorganisme disebut teknik pewarnaan diferensial. Teknik ini menggunakan lebih dari satu larutan zat pewarna.

3. **Pewarnaan Gram** . Salah satu teknik pewarnaan diferensial yang penting dan paling luas digunakan untuk bakteri ialah pewarnaan Gram. Dalam proses ini olesan bakteri yang terfiksasi dikenai larutan-larutan ungu kristal, larutan yodium, alkohol (sebagai bahan pemucat), dan safranin atau beberapa pewarna tandingan lain yang sesuai. Hasil pewarnaan bakteri dengan metode Gram ini menghasilkan dua kelompok bakteri yaitu: Bakteri Gram positif yaitu bakteri yang mempertahankan zat pewarna ungu kristal dan karenanya tampak ungu tua. Kelompok yang lain adalah bakteri Gram negatif, yaitu bakteri yang akan kehilangan ungu kristal ketika dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi pewarna tandingan dengan warna merah safranin, tampak berwarna merah. Perbedaan warna bakteri menjadi ungu dan merah disebabkan oleh perbedaan struktur kimiawi bakteri tersebut. Teknik pewarnaan Gram ini pertama kali dipublikasikan pada tahun 1884 oleh seorang ahli Bakteriologi Denmark, Christian Gram. Pengamatan morfologi bakteri hasil pewarnaan dilakukan di bawah pengamatan mikroskop.

6.1 Persiapan dan Fiksasi

Sebelum dilakukan pewarnaan maka sel-sel bakteri harus terlebih dahulu difiksasi pada gelas objek. Jika sel-sel tidak difiksasi pada gelas objek maka lapisan sel yang akan diwarnai dapat tercuci selama prosedur pewarnaan. Yang dimaksud dengan fiksasi adalah membunuh bakteri dan membuat sel-sel bakteri tersebut melekat pada gelas objek. Untuk tujuan ini, biasanya digunakan panas. Prosedur yang sering dilakukan terdiri dari penyebaran kultur mikroba pada gelas objek sehingga terbentuk lapisan sel yang tipis, pengeringan di udara terbuka, dan fiksasi secara singkat di atas nyala api. Jika kultur diambil dari medium cair maka penyebaran dapat langsung dilakukan di atas gelas objek yang bersih menggunakan loop. Tetapi, jika kultur diambil dari agar padat maka sebelumnya di atas gelas objek harus diberi setetes air, kemudian kultur diambil sedikit dengan ujung loop yang telah dipijarkan, dan diratakan di atas gelas objek sehingga terbentuk lapisan tipis. Kesalahan yang sering dilakukan adalah pengambilan kultur yang terlalu banyak dari agar padat, sehingga akan terbentuk lapisan sel yang terlalu tebal pada gelas objek. Keadaan ini akan menghasilkan pewarnaan yang kurang baik, terutama jika di dalam prosedurnya diperlukan tahap pencucian zat warna (*destaining/decolorizing*). Dengan adanya sel-sel bakteri yang tebal dan bertumpuk-tumpuk, sebagian zat warna akan sukar dicuci, dan tetap tertinggal di antara atau pada sel-sel sehingga hal ini dapat menghasilkan analisa pengamatan yang salah.

6.2 Pewarnaan Gram

Dalam pewarnaan gram diperlukan empat jenis larutan, yaitu larutan zat warna basa, mordant, pencuci zat warna, dan satu zat warna lainnya (*counterstain*) yang berbeda dari zat warna yang pertama. Mordant adalah suatu zat yang dapat menaikkan afinitas atau pengikatan antara sel dengan zat warna. Beberapa contoh mordant misalnya asam, basa, garam metal, dan yodium. Dengan adanya mordant, zat warna akan lebih sukar tercuci. Pencuci warna digunakan untuk menghilangkan zat warna dari sel bakteri. Beberapa sel bakteri lebih mudah melepaskan zat warna daripada sel-sel lainnya. Dalam pewarnaan gram dan pewarnaan diferensial lainnya, perbedaan dari bakteri disebabkan oleh perbedaan dalam kecepatan melepaskan zat warna oleh sel. Zat warna kedua yang digunakan setelah sel dicuci dengan larutan pencuci disebut “counterstain” yang berbeda warnanya dari zat warna pertama. Sel-sel yang tidak dapat segera

melepaskan zat warna setelah pencucian akan tetap berwarna seperti zat warna pertama, sedangkan sel-sel yang dapat segera melepaskan zat warna setelah pencucian akan mengikat zat warna kedua. Dalam perwarnaan gram, mula-mula sel bakteri diwarnai dengan zat warna basa yaitu violet kristal, diikuti perlakuan menggunakan suatu mordant yaitu larutan yodium (lugol). Sel kemudian dicuci dengan alkohol untuk menghilangkan violet kristal. Setelah dicuci dengan air, kemudian diwarnai dengan “counterstain” yaitu safranin. Sel-sel yang tidak dapat melepaskan warna dan akan tetap berwarna seperti warna kristal violet, yaitu biru-ungu disebut bakteri gram-positif sedang sel-sel yang dapat melepaskan violet kristal dan mengikat safranin sehingga berwarna merah-merah muda disebut bakteri gram-negatif.

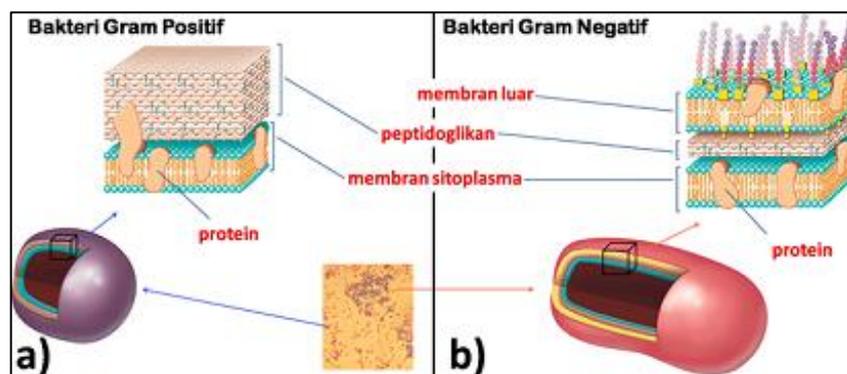
6.3 Pewarnaan Endospora

Spesies bakteri yang termasuk dalam genera *Clostridium* dan *Bacillus* memproduksi suatu struktur di dalam selnya yang disebut endospora. Jika sel semakin tua maka sel vegetatif akan pecah sehingga endospora akan terlepas menjadi spora bebas. Berbeda dengan sel vegetatif maka spora akan lebih tahan lama dalam keadaan lingkungan yang ekstrem, misalnya dalam keadaan kering, panas, atau adanya bahan kimia yang beracun. Spora juga lebih tahan terhadap pewarnaan, dan sekali berhasil diwarnai, spora sangat sukar untuk melepaskan zat warna sehingga tidak dapat mengikat zat warna lainnya yang diberikan kemudian (*counterstain*). Prinsip pewarnaan ini digunakan untuk membedakan spora dari sel vegetatif. Zat warna yang paling sering digunakan untuk mewarnai spora adalah *malachite green* (Schaeffer dan Fulton) yang akan tetap diikat oleh spora setelah pencucian dengan air, dan sebagai *counterstain* digunakan safranin. Dengan cara ini, endospora yang masih terdapat di dalam sel vegetatif maupun spora bebas akan berwarna hijau-biru, sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah sampai merah muda.

6.4 Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif

Berdasarkan Pewarnaan Gram, bakteri diklasifikasikan ke dalam 2 (dua) kelompok besar yaitu: **Bakteri Gram Positif** dan **Gram Negatif** (Gambar 34). Perbedaan utama di antara keduanya adalah struktur dan komposisi dinding selnya. **Bakteri Gram Positif** mampu mempertahankan zat warna utama dalam pewarnaan Gram, yaitu Gentian Violet (ungu kristal iodium), sehingga nampak

berwarna ungu saat pengamatan dikarenakan dinding sel kelompok bakteri ini tersusun oleh sebagian besar Peptidoglikan, yang mampu mengikat zat warna dan tidak rusak saat dicuci dengan alkohol. Sementara itu, **bakteri Gram negatif** memiliki komposisi dinding sel yang sebagian besar tersusun dari lapisan lipid, sehingga pada saat pewarnaan kurang dapat mempertahankan zat warna utama terutama saat dicuci dengan alkohol (lipid rusak saat dicuci dengan alkohol), akibatnya kelompok bakteri ini memberikan kenampakan warna merah (warna dari zat warna ke dua: safranin atau air fuchsin) di akhir kegiatan pewarnaan Gram. Contoh dari bakteri gram positif ialah *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis* sedangkan bakteri gram negatif misalnya adalah *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Beberapa bakteri tidak terwarnai dengan pewarnaan gram, misalnya *Mycobacterium sp*, karena dinding selnya mengandung banyak lipid, sehingga digunakan pewarnaan tahan asam untuk mengidentifikasinya. Pada pewarnaan tersebut sel bakteri akan berwarna merah tetapi sel jaringan akan berwarna hijau.



Gambar 34. Perbedaan Bakteri Gram positif (a) dan Bakteri Gram negatif (b)

Adapun perbedaan bakteri gram positif dan negatif lebih jelasnya bisa kita simpulkan berikut ini:

a. Berdasarkan ciri-ciri

Bakteri Gram Negatif mempunyai sistem membran yang ganda dengan membran plasma bakteri dilindungi membran luar permeabel, bakteri negatif juga memiliki dinding sel peptidoglikan di antara membran luar dan membran dalam. Sementara bakteri gram positif hanya memiliki membran plasma yang tunggal

dengan dikelilingi oleh dinding sel yang tebal dari peptidoglikan. Hampir 90% dinding sel bakteri gram positif ini tersusun dari peptidoglikan.

b. Komposisi dinding sel

Komposisi dinding sel gram negatif terdiri dari kandungan lipid yang tinggi, berbeda dengan komposisi dinding sel bakteri gram positif yang mengandung lipid rendah.

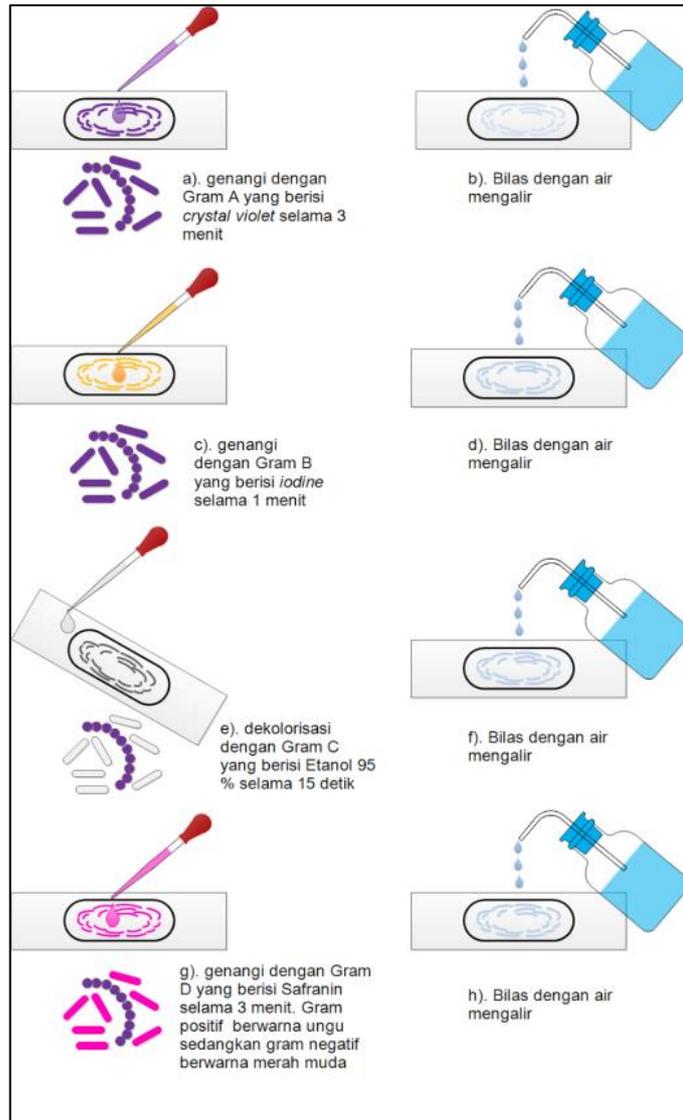
c. Ketahanan terhadap antibiotik

Sifat ketahanan terhadap antibiotik untuk bakteri gram negatif sendiri lebih kuat atau tahan, berbeda dengan ketahanan bakteri gram positif yang rentan terhadap penisilin atau antibiotik.

d. Ketahanan terhadap perlakuan fisik

Bakteri gram negatif memiliki sifat yang kurang tahan terhadap perlakuan fisik, berbeda dengan bakteri gram positif yang lebih tahan terhadap perlakuan fisik.

Zat warna yang digunakan dalam pewarnaan bersifat basa dan asam. Pada zat warna basa bagian yang berperan dalam memberikan warna disebut disebut kromofor dan memiliki muatan positif. Sebaliknya, pada zat warna asam bagian yang berperan memberikan zat warna mempunyai muatan negatif zat warna basa lebih banyak digunakan karena muatan negatif banyak ditemukan di dinding sel, membran sel dan sitoplasma, sewaktu proses pewarnaan muatan positif pada zat warna basa akan berkaitan dengan muatan negatif dalam sel, sehingga mikroorganisme lebih jelas terlihat. Zat warna asam yang bermuatan negatif lazimnya tidak digunakan untuk mewarnai mikroorganisme, namun biasanya dimanfaatkan untuk mewarnai latar belakang sediaan pewarnaan. Zat warna asam yang bermuatan negatif ini tidak dapat berkaitan dengan muatan negatif yang terdapat pada struktur sel. Kadangkala zat warna negatif digunakan untuk mewarnai bagian sel yang bermuatan positif, perlu diperhatikan bahwa muatan dan daya ikat zat warna terhadap struktur sel dapat berubah bergantung pada pH sekitarnya sewaktu proses pewarnaan. Seri reagen yang digunakan dalam Teknik Pewarnaan Gram meliputi: Zat Warna I (Gentian/Crystal Violet), Larutan Iodine, Alkohol, dan Zat Warna II (Safranin/ Air Fuchsin). Adapun ilustrasi kondisi sel bakteri saat pewarnaan Gram tampak seperti pada Gambar 35.



Gambar 35. Kondisi sel bakteri saat pewarnaan Gram

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-iodium pada langkah pemucatan. Di 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 pemucat 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. Jadi, 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 didukung oleh kenyataan bahwa berubahnya atau dibuangnya dinding sel bakteri Gram positif menyebabkan organisme tersebut berubah menjadi Gram negatif.

Organisme Gram positif dapat memperlihatkan reaksi Gram negatif bila mengalami pemucatan yang berlebihan. Faktor-faktor lain yang juga dapat menimbulkan keragaman dalam reaksi Gram ialah: (a) pelaksanaan fiksasi panas terhadap olesan; (b) kerapatan sel pada olesan; (c) sifat, konsentrasi, dan jumlah pemucat yang dipakai; dan (e) 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 pewarna tandingan. Sebagai pemucat, alkohol 95% bekerja paling lambat, sedangkan aseton paling cepat sehingga pemucat yang paling banyak digunakan ialah campuran alkohol 95% dan aseton (1:1). Namun, bagi taruna yang baru belajar melakukan perwarnaan Gram sebaiknya digunakan pemucat yang bekerja lambat yaitu alkohol 95% untuk memperkecil kemungkinan terjadinya pemucatan yang berlebihan.

Langkah-langkah utama dalam teknik pewarnaan ialah:

- 1) penempatan olesan atau lapisan tipis spesimen, pada kaca objek;
- 2) fiksasi olesan pada kaca objek tersebut dengan pemanasan, yaitu dengan cara melewati di atas api beberapa kali, agar mikroorganisme tersebut dapat melekat pada kaca objek;
- 3) diwarnai dengan pewarna tunggal (pewarnaan sederhana) atau serangkaian larutan pewarna (pewarnaan diferensial).

E. RANGKUMAN

Faktor-faktor penentu keberhasilan pewarnaan meliputi : peralatan gelas alas harus bersih dan bebas lemak, umur biakan (optimal) berkisar antara 18-24 jam kecuali bakteri tahan asam (*M. tuberculosis*), kualitas zat warna, dan tebal tipisnya sediaan. Hasil pewarnaan bakteri akan menunjukkan jenis bakterinya. Dalam pewarnaan mikroba, dapat digunakan satu jenis zat warna. Cara ini disebut pewarnaan sederhana, zat-zat warna yang bisa digunakan untuk pewarnaan sederhana misalnya bila metilen, fueksen basa, atau violet kristal.

Zat-zat warna tersebut bekerja dengan baik dalam mewarnai bakteri karena zat-zat tersebut mengandung gugusan fungsional yang dapat membentuk warna (khromofor) dan bermuatan positif, zat-zat warna demikian disebut zat warna basa, zat-zat warna yang mengandung khromofor yang bermuatan negatif (anion), disebut zat warna asam, dan tidak dapat digunakan untuk mewarnai bakteri karena tidak dapat diikat oleh sel bakteri. Bakteri Gram positif yaitu bakteri yang mempertahankan zat pewarna ungu kristal dan karenanya tampak ungu tua. Kelompok yang lain adalah bakteri Gram negatif, yaitu bakteri yang akan kehilangan ungu kristal ketika dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi pewarna tandingan dengan warna merah safranin, tampak berwarna merah. Perbedaan warna bakteri menjadi ungu dan merah disebabkan oleh perbedaan struktur kimiawi bakteri tersebut

F. PENUGASAN

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

1. Jelaskan cara mewarnai mikroorganisme sehingga mudah dilihat dengan mikroskop!
2. Sebutkan dan jelaskan ada berapa macam pewarnaan!

G. PRAKTIKUM

Prosedur Kerja

H. Alat

Mikroskop, kaca benda, mangkuk pewarna, kawat penyangga, pipet, pinset, lampu spiritus, dan botol penyemprot.

I. Bahan

- Aquadest steril
- Biakan murni bakteri umur 1 x 24 jam
- Larutan Amonium Oksalat Kristal Violet
- Kertas penghisap
- Korek api
- Alkohol 70%
- Lisol

- Sabun cuci
- Alkohol 95%
- Larutan safranin
- Larutan iodium

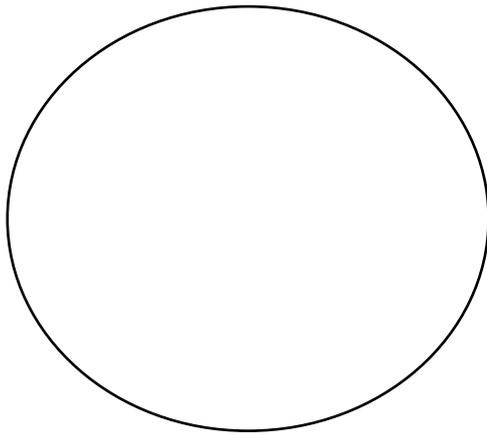
- **Cara Kerja**

1. Sediakan kaca benda yang bersih, lalu lewatkan di atas nyala lampu spiritus
2. Teteskan setetes aquades steril di atas kaca benda tersebut.
3. Secara aseptik ambillah inoculum bakteri yang akan diperiksa, lalu letakkan di atas tetesan aquades itu. Kemudian ratakan perlahan-lahan dan tunggulah sampai mengering.
4. Lakukan fiksasi dengan cara melewatkan sediaan tersebut di atas nyala api lampu spiritus dengan cepat.
5. Letakkan sediaan di atas kawat penyangga yang berada di atas mangkuk pewarna. Lalu teteskan larutan Amonium Oksalat Kristal Violet di atas sediaan tersebut. Tunggulah selama 1 menit.
6. Buanglah kelebihan zat warna tersebut ke dalam mangkuk dan bilaslah sediaan dengan air kran.
7. Teteskan larutan iodium diatas sediaan itu, lalu tunggulah selama 2 menit.
8. Buanglah kelebihan larutan iodium ke dalam mangkuk dan bilaslah sediaan dengan air kran.
9. Teteskan alkohol 95% di atas sediaan, biarkan selama 1 menit.
10. Buanglah sisa alkohol itu ke dalam mangkuk dan bilaslah sediaan dengan air kran.
11. Teteskan larutan safranin itu ke dalam mangkuk, lalu bilaslah dengan air kran.
12. Buanglah kelebihan larutan safranin itu ke dalam mangkuk, lalu bilaslah dengan air kran.
13. Keringkan sediaan secara hati-hati dengan kertas pengisap, lalu periksalah di bawah mikroskop. Jika teknik pewarnaan anda berhasil dengan baik, maka sel-sel bakteri yang bersifat gram **positif** akan berwarna **ungu**, sedangkan sel-sel bakteri yang bersifat gram **negatif** akan berwarna **merah muda** atau **merah**.

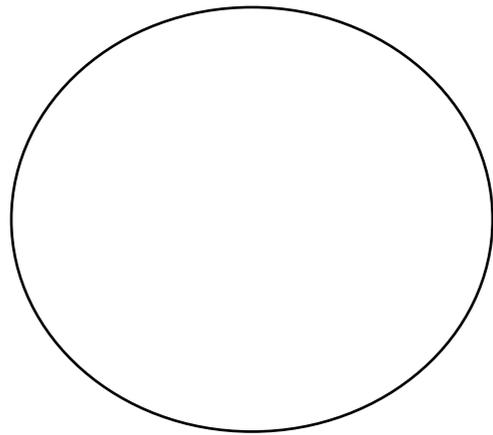
Catatan: Dalam kegiatan ini saudara dapat menggunakan sebagai pembanding:

- Bakteri *Staphylococcus aureus*, yang bersifat gram positif
- Bakteri *Escherichia coli*, yang bersifat gram negatif.

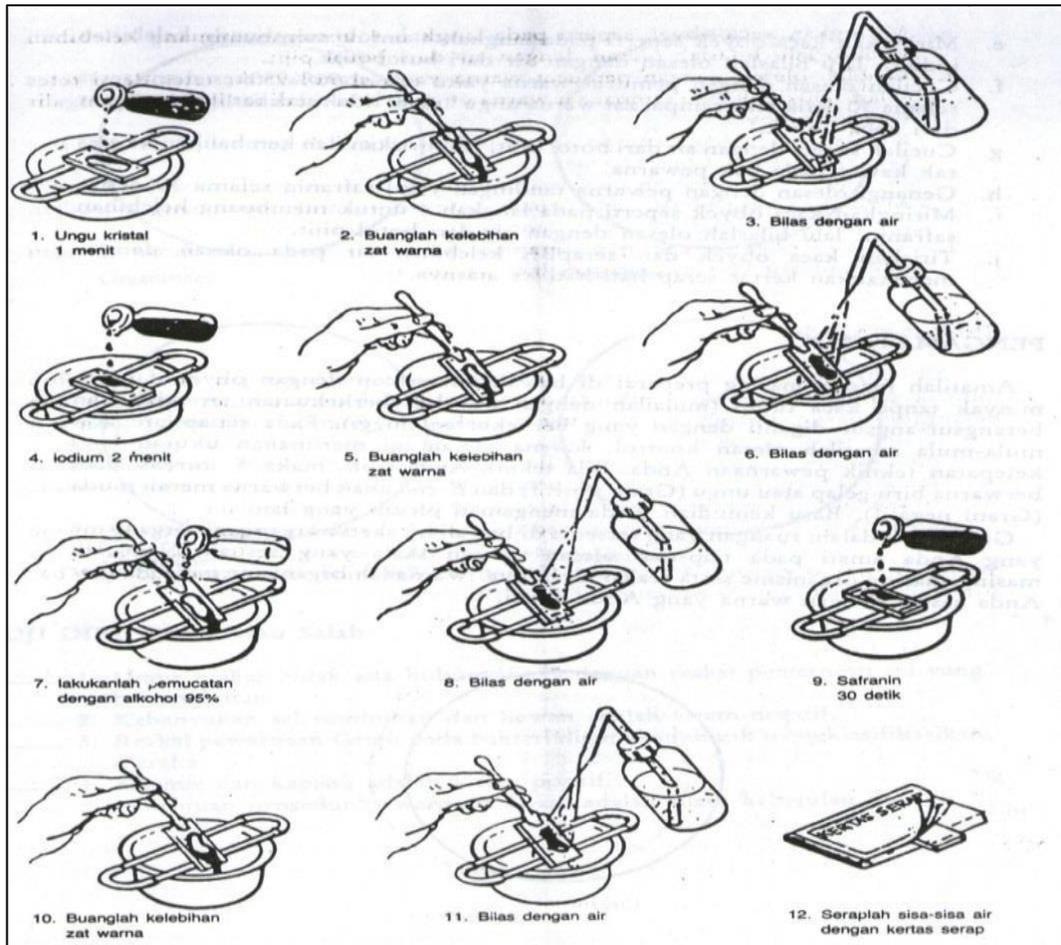
Gambarlah dalam ruangan yang tersedia di bawah ini sketsa organisme-organisme yang anda amati pada tiap-tiap olesan dengan skala yang sesuai. Namailah masing-masing organisme serta reaksi Gram-nya. Warnailah organisme pada gambar anda dengan warna yang anda amati.



Organisme :
(kontrol)



Organisme :



Gambar 36. Prosedur pewarnaan Gram

Uji morfologi sel bakteri	Hasil Pengamatan	Kesimpulan
Pengecatan Gram		

H. TES FORMATIF 6.

Berilah tanda lingkaran (O) pada B bila **BENAR** dan S bila **SALAH**!

1. Umur biakan tidak ada hubungannya dengan reaksi pewarnaan sel yang bersangkutan (B - S)
2. Bakteri gram positif memiliki sifat yang kurang tahan terhadap perlakuan fisik (B - S)
3. Reaksi pewarnaan Gram pada bakteri digunakan untuk mengklasifikasikan mereka (B - S)
4. *Staphylococcus aureas*, *Vibrio cholerae* dan *Bacillus subtilis* adalah bakteri Gram-positif (B - S)
5. Penemuan prosedur pewarnaan Gram adalah suatu kebetulan (B - S)
6. Sebelum dilakukan pewarnaan maka sel-sel bakteri harus terlebih dahulu difiksasi pada gelas objek (B - S)
7. Yang dimaksud dengan fiksasi adalah membunuh bakteri dan membuat sel bakteri tersebut melekat pada gelas objek (B - S)
8. Dalam pewarnaan gram diperlukan empat jenis larutan salah satunya adalah spiritus (B - S)
9. Pada pewarnaan Gram, bakteri Gram positif akan kehilangan ungu kristal ketika dicuci dengan alkohol (B - S)
10. Salah satu metode pewarnaan bakteri adalah pewarnaan sederhana (B - S)

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 6 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 6.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan: 90 - 100% = baik sekali
 80 - 89% = baik
 70 - 79% = cukup
 < 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Belajar 7. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 6, terutama bagian yang belum dikuasai.

2.7 Kegiatan Pembelajaran 7.

A. Judul

Menghitung koloni bakteri berdasarkan Angka Lempeng Total (ALT)

B. Deskripsi

Cepat lambatnya kerusakan hasil perikanan secara mikrobiologi tergantung pada kecepatan pertumbuhan mikrobial yang ada terutama bakteri pembusuk. Untuk memberikan gambaran yang jelas tentang pertumbuhan bakteri akan diuraikan di bawah ini. Ada dua cara yaitu pengujian bakteri secara tepat dan cara pengujian secara praduga (pendugaan). Pengujian bakteri secara tepat dapat dilakukan dengan metode penaburan seperti yang umum dikerjakan untuk bahan-bahan lain. Daging ikan secara aseptis dihancurkan dan dibuat suspensi dengan berbagai pengenceran. Pertumbuhan bakteri (dan juga *yeast*) pada umumnya dapat diartikan sebagai kenaikan jumlah konstituen dalam sel atau massanya, kemudian diikuti oleh perbanyakan sel sehingga jumlah sel menjadi bertambah banyak. Pertumbuhan bakteri dan *yeast* dapat diikuti paling mudah dengan menumbuhkannya pada media pertumbuhan yang sesuai (cocok), kemudian menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media tersebut. Metode hitungan ini didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang dapat hidup akan berkembang menjadi satu koloni.

C. Indikator

Setelah melakukan kegiatan pembelajaran ini, diharapkan taruna dapat melakukan penentuan angka lempeng total dan menentukan jumlah total mikroorganisme aerob dan anaerob (psikrofilik, mesofilik dan termofilik).

D. Uraian Materi

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) dimaksudkan untuk menunjukkan jumlah mikroorganisme dalam suatu produk yang menunjukkan pertumbuhan bakteri mesofil aerob setelah sampel diinkubasi dalam perbenihan yang cocok selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Prinsip dari ALT yaitu metode hitungan cawan adalah jika sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat langsung dilihat mata setelah cuplikan diinokulasikan pada lempeng agar dengan cara tuang dan diinkubasi pada suhu yang sesuai. Pengujian dilakukan secara duplo. Setelah diinkubasi, dipilih cawan petri dari satu

pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 30-300 koloni. Jumlah koloni rata-rata dari kedua cawan dihitung lalu dikalikan dengan faktor pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total (ALT) dalam tiap gram contoh bahan. Metode hitungan cawan merupakan cara yang paling sensitif untuk menentukan jumlah jasad renik karena beberapa hal yaitu:

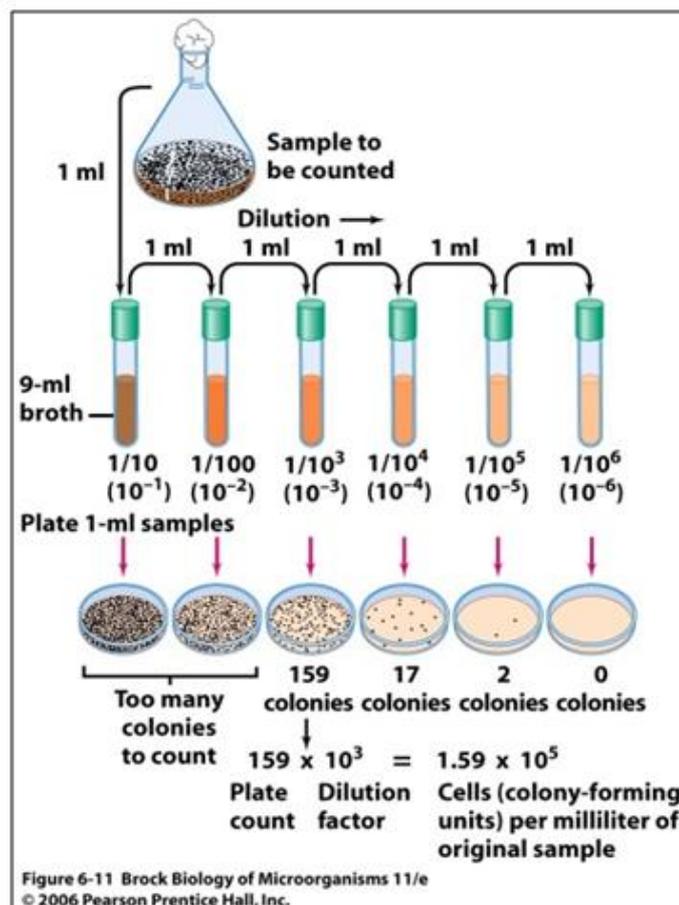
1. Hanya sel yang masih hidup yang dihitung.
2. Beberapa jenis jasad renik dapat dihitung sekaligus.
3. Dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi jasad renik karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari suatu jasad renik yang mempunyai penampakan pertumbuhan spesifik.

Adapun kelemahan dari metode ini adalah:

1. Memungkinkan terjadinya koloni yang berasal lebih dari satu sel mikroba, seperti pada mikroba yang berpasangan, rantai atau kelompok sel.
2. Memungkinkan ini akan memperkecil jumlah sel mikroba yang sebenarnya. Kemungkinan adanya jenis mikroba yang tidak dapat tumbuh karena penggunaan jenis media agar, suhu, pH, atau kandungan oksigen selama masa inkubasi.
3. Memungkinkan ada jenis mikroba tertentu yang tumbuh menyebar di seluruh permukaan media, sehingga menghalangi mikroba lain. Hal ini akan mengakibatkan mikroba lain tersebut tidak terhitung.
4. Penghitungan dilakukan pada media agar yang jumlah populasi mikrobaanya antara 25 – 250 koloni. Bila jumlah populasi kurang dari 25 koloni akan menghasilkan penghitungan yang kurang teliti secara statistik, namun bila lebih dari 250 koloni akan menghasilkan hal yang sama karena terjadi persaingan diantara koloni.
5. Penghitungan populasi mikroba dapat dilakukan setelah masa inkubasi yang umumnya membutuhkan waktu 24 jam atau lebih.

Teknik yang harus dikuasai oleh dalam metode ini ialah **mengencerkan** sampel dan **mencawakan** hasil pengenceran tersebut. Sebelum mikroorganisme ditumbuhkan dalam media, terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel menggunakan larutan fisiologis. Tujuan dari pengenceran sampel yaitu untuk mengurangi jumlah kandungan mikroba dalam sampel sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara

spesifik sehingga didapatkan perhitungan yang tepat. Pengenceran memudahkan dalam perhitungan koloni. Setelah diinkubasi, jumlah koloni masing-masing cawan diamati. Untuk memenuhi persyaratan statistik, cawan yang dipilih untuk perhitungan koloni ialah yang mengandung antara 25 sampai 250 koloni. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1:100, 1:1000 dan seterusnya, atau 1:100; 1:10000, 1: 1000.000 dan seterusnya. Tahapan pengenceran dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 ml (campuran 1 ml/1gr sampel dengan 9 ml larutan fisiologis sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2} . Dari pengenceran 10^{-2} diambil lagi 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan fisiologis sehingga didapatkan pengenceran 10^{-3} , begitu seterusnya sampai mencapai pengenceran yang kita harapkan. Jumlah organisme yang terdapat dalam sampel asal ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni yang terbentuk dengan faktor pengenceran pada cawan yang bersangkutan. Secara keseluruhan, tahap pengenceran dijelaskan dalam Gambar 37.



Gambar 37. Teknik pengenceran dan inokulasi sampel pada medium Plate Count Agar (Sumber: Pearson, 2016)

Setelah dilakukan pengenceran, kemudian dilakukan penanaman pada media lempeng agar. Setelah diinkubasi, jumlah koloni masing-masing cawan diamati dan dihitung. Koloni merupakan sekumpulan mikroorganisme yang memiliki kesamaan sifat seperti bentuk, susunan, permukaan, dan sebagainya. Sifat-sifat yang perlu diperhatikan pada koloni yang tumbuh di permukaan medium adalah sebagai berikut:

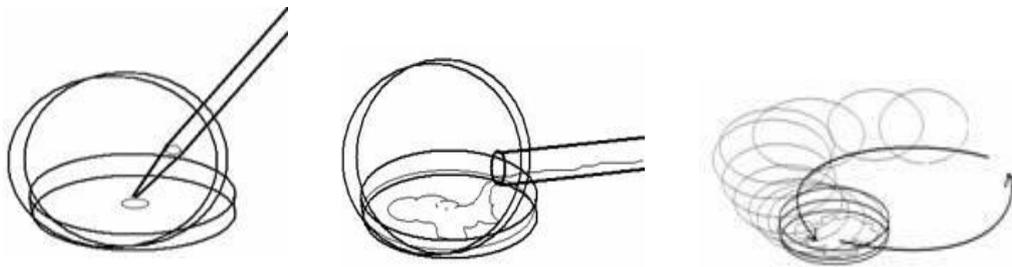
1. Besar kecilnya koloni. Ada koloni yang hanya berupa satu titik, namun ada pula yang melebar sampai menutup permukaan medium.
2. Bentuk. Ada koloni yang bulat dan memanjang. Ada yang tepinya rata dan tidak rata.
3. Kenaikan permukaan. Ada koloni yang rata dengan permukaan medium, ada pula yang timbul diatas permukaan medium.
4. Halus kasarnya permukaan. Ada koloni yang permukaannya halus, ada yang permukaannya kasar dan tidak rata.
5. Wajah permukaan. Ada koloni yang permukaannya mengkilat dan ada yang permukaannya suram.
6. Warna. Kebanyakan koloni bakteri berwarna keputihan atau kekuningan.
7. Kepekatan. Ada koloni yang lunak seperti lender, ada yang keras dan kering.

7.1 Metode Pengujian Angka Lempeng Total

Metode yang biasa digunakan untuk pengujian angka lempeng total adalah **metode tuang (*pour plate*)**. *Pour Plate Method* (Cara Tabur) dilakukan dengan cara menanamkan contoh ke dalam cawan petri terlebih dahulu kemudian ditambahkan media pemupukan. Media dan reagensia yang digunakan adalah *Plate Count Agar* (PCA), larutan *Butterfields Phosphate Buffered*. Teknik ini memerlukan agar yang belum padat (>45 °C) untuk dituang bersama suspensi bakteri ke dalam cawan petri lalu kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Hal ini akan menyebarkan sel-sel bakteri tidak hanya pada permukaan agar saja melainkan sel terendam agar (di dalam agar) sehingga terdapat sel yang tumbuh dipermukaan agar yang kaya O₂ dan ada yang tumbuh di dalam agar yang tidak begitu banyak mengandung oksigen. Secara keseluruhan tahap dalam metode cawan tuang (*pour plate*) ini dijelaskan pada Gambar 38. Adapun prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- Siapkan cawan petri steril, tabung pengenceran yang akan ditanam dan media padat yang masih cair (>45 °C).
- Teteskan 1 ml atau 0.1 ml secara aseptis dari pengenceran yang dikehendaki ke dalam cawan petri.
- Tuangkan media cair steril ke dalam cawan sebanyak 15-20 ml dan digoyangkan supaya menyebarkan rata, kemudian diinkubasi.
- Jumlah koloni dalam sampel dapat dihitung sebagai berikut:

$$\text{Koloni per ml/gr} = \text{jumlah koloni/cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$



Gambar 38. Metode cawan tuang

7.2 Perhitungan Koloni Bakteri

Untuk melaporkan hasil analisis mikrobiologi dengan cara hitungan cawan digunakan suatu standar yang disebut *Standard Plate Counts* (SPC) sebagai berikut:

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 25 sampai 250.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Dalam SPC ditentukan cara pelaporan dan perhitungan koloni sebagai berikut:

1. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yaitu angka pertama (satuan) dan angka kedua (desimal). Jika angka yang ketiga sama dengan atau lebih besar dari 5, harus dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka kedua. Sebagai contoh, 1.7×10^3 unit koloni/ml atau 2.0×10^6 unit koloni/gr.

2. Jika pada semua pengenceran dihasilkan kurang dari 25 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan tinggi. Oleh karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 25 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.

Pengenceran	Cawan I	Cawan II	Keterangan
10^{-2}	150	350	Yang memenuhi syarat perhitungan adalah cawan I
10^{-3}	20	35	Yang memenuhi syarat perhitungan adalah cawan II

Jumlah koloni rata-rata → jumlah kedua cawan yang memenuhi syarat dikalikan dengan faktor pengencerannya.

Perhitungan ALT adalah:

$$\frac{(150 \times 1/10^{-2}) + (25 \times 1/10^{-3})}{2} = \frac{(150 \times 10^2) + (25 \times 10^3)}{2}$$

$$= \frac{15.000 + 25.000}{2} = 20.000$$

Maka, jumlah koloni dalam 1 ml adalah 20.000 cfu/ml

3. Jika pada semua pengenceran dihasilkan lebih dari 250 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu rendah. Kemudian dipilih cawan dari tingkat pengenceran tertinggi kemudian dibagi menjadi beberapa bagian atau sektor (2,4, atau 8) dan dihitung jumlah koloni dari satu sektor. Oleh karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 250 dikalikan dengan faktor pengenceran.

Contoh:

Pengenceran	Cawan I (1 sektor)	Cawan II (1 sektor)
10^{-2}	100	150
10^{-3}	175	200

Selanjutnya ALT didapatkan dari hasil jumlah koloni dikalikan dengan jumlah sektor, kemudian dihitung rata-rata dari kedua cawan dan dikalikan dengan faktor pengenceran.

Contoh:

Jumlah sektor 4:

Pengenceran	Cawan I	Cawan II	Jumlah Koloni Rata-rata
10^{-2}	Jumlah koloni → $100 \times 4 = 400$	Jumlah koloni → $150 \times 4 = 600$	500×10^2
10^{-3}	Jumlah koloni → $175 \times 4 = 700$	Jumlah koloni → $200 \times 4 = 800$	750×10^3

Perhitungan ALT adalah:

$$\frac{(500 \times 1/10^{-2}) + (750 \times 1/10^{-3})}{2} = \frac{(500 \times 10^2) + (750 \times 10^3)}{2}$$
$$= \frac{50.000 + 750.000}{2} = 400.000 = 40 \times 10^4$$

Maka, jumlah koloni dalam 1 ml adalah 40×10^4 cfu/ml

4. *Spreaders*, bila cawan yang disiapkan untuk sampel lebih banyak ditumbuhi oleh spreader maka laporkan cawan spreaders. Bila ada satu atau lebih rantai yang terlihat dari sumber lain, hitung tiap-tiap sumber itu sebagai koloni yang terpisah. Gabungkan perhitungan koloni dan spreader untuk menghitung ALT.
5. Cawan tanpa koloni. Laporkan ALT sebagai kurang dari satu kali pengenceran terendah yang digunakan.
6. Cawan duplo satu dengan 25-250 koloni dan yang lainnya lebih dari 250 koloni. Hitung kedua cawan termasuk yang lebih dari 250 koloni dalam perhitungan ALT.
7. Cawan duplo satu cawan dari tiap pengenceran dengan 25-250 koloni. Hitung keempat cawan termasuk cawan yang lebih dari 250 koloni atau kurang dari 25 koloni dalam penghitungan ALT.

E. RANGKUMAN

Angka lempeng total adalah angka yang menunjukkan jumlah bakteri mesofil dalam tiap-tiap 1 ml atau 1 gram sampel makanan yang diperiksa. Prinsip dari ALT adalah menghitung pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah sampel makanan ditanam pada lempeng media yang sesuai dengan cara tuang

kemudian dieramkan selama 24-48 jam pada suhu 35-37°C. Uji angka lempeng total dapat dilakukan dengan dua teknik, yaitu teknik cawan tuang (*pour plate*) dan teknik sebaran (*spread plate*). Pada prinsipnya dilakukan pengenceran terhadap sediaan yang diperiksa kemudian dilakukan penanaman pada media lempeng agar. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada lempeng agar dihitung setelah inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai. Perhitungan dilakukan terhadap petri dengan jumlah koloni bakteri antara 25-250. Angka lempeng total dinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri hasil perhitungan dikalikan faktor pengenceran.

F. PENUGASAN

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

- 1) Jelaskan prinsip pengujian Angka Lempeng Total!
- 2) Sebutkan dan jelaskan metode pengujian Angka Lempeng Total!
- 3) Jelaskan apa yang dimaksud dengan perhitungan mikroba dengan metode ALT!
- 4) Jelaskan bagaimana hubungan antara jumlah mikroorganisme dalam suatu bahan dengan kualitas produk!
- 5) Jelaskan teknik pengenceran bertingkat!
- 6) Jelaskan keuntungan dan kelemahan metode ALT!

G. PRAKTIKUM

Prosedur Kerja

- Alat: *Shaker*, lampu spiritus, pipet steril, *Laminar Air Flow*, Labu Erlenmeyer 100 ml, tabung reaksi, mortar dan pistle, blender.
- Bahan:
 - a) Sampel bahan makanan padat 10 gram
 - b) Sampel bahan makanan cair 10 ml
 - c) Medium lempeng *Plate Count Agar* (PCA) 6 buah
 - d) Larutan air pepton 0,1% sebanyak 90 ml
 - e) 5 tabung reaksi berisi larutan air pepton 0,1% @ 9 ml
 - f) Alkohol
 - g) Lisol
 - h) Sabun cuci

i) Korek api

Cara Kerja:

1. Timbang secara aseptik sebanyak 25 gram contoh kemudian masukan dalam wadah blender steril atau *stomacher*. Tambahkan 225 ml larutan *butterfields phosphate buffered* steril dan blender selama 1-2 menit.
2. Dengan menggunakan pipet serologis steril, pindahkan 1 ml suspensi di atas dan masukan ke dalam larutan buffer (9 ml) untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Dengan cara yang sama lakukan pengenceran sesuai dengan kebutuhan contoh.
3. Pipet sebanyak 1 ml dari setiap pengenceran di atas dan masukan ke dalam cawan Petri steril serta lakukan duplo untuk tiap-tiap pengenceran.
4. Tambahkan 12-15 ml PCA yang sudah didinginkan sampai suhu 44-46°C, ke masing-masing cawan yang sudah berisi larutan contoh, supaya larutan contoh dan media PCA tercampur seluruhnya lakukan pemutaran cawan ke depan dan ke belakang.
5. Inkubasikan biakan pada medium lempeng tersebut pada suhu 37°C setelah 1 x 24 jam amati dan hitunglah jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada medium lempeng itu.
6. Kemudian hitung cawan-cawan yang mempunyai jumlah koloni 25-250 dengan penghitung *colony counter*, dengan rumus:

$$\text{ALT koloni bakteri} = \text{jumlah koloni bakteri} \times \frac{1}{\text{tingkat pengenceran}} \times \text{Volume suspensi yang ditumbuhkan}$$

H. TES FORMATIF 7.

Berilah tanda lingkaran (O) pada B bila **BENAR** dan S bila **SALAH**!

1. Bila anda mempunyai suspensi mikroorganisme yang populasinya rendah, maka cara paling tepat untuk menentukan jumlah organisme tersebut ialah metode hitungan cawan (B-S)
2. Andaikan anda mempunyai suspensi bakteri yang telah diencerkan 10.000 kali. Bila anda mencawakan 0,1 ml suspensi tersebut, maka pengenceran tersebut dinaikkan sepuluh kali (B-S)
3. Setiap cawan petri dengan diameter 100mm biasanya dituangi 50 ml agar (B-S)
4. Pengenceran serial 1:10, 1:100, 1:1000 memberikan pengenceran total 1:1.000.000 (B-S)
5. Bila anda mencawakan 0,4 ml dari pengenceran 1:10.000, artinya Biakan asli anda telah diencerkan 25.000 kali (B-S)

Cocokkanlah jawaban Anda dengan Kunci Jawaban Tes Formatif 7 yang terdapat di bagian akhir modul ini. Hitunglah jawaban yang benar. Kemudian, gunakan rumus berikut untuk mengetahui tingkat penguasaan Anda terhadap materi Kegiatan Belajar 7.

$$\text{Tingkat penguasaan} = \frac{\text{Jumlah jawaban yang Benar}}{\text{Jumlah Soal}} \times 100\%$$

Arti tingkat penguasaan: 90 - 100% = baik sekali
 80 - 89% = baik
 70 - 79% = cukup
 < 70% = kurang

Apabila mencapai tingkat penguasaan 80% atau lebih, Anda dapat meneruskan dengan Kegiatan Belajar 8. **Bagus!** Jika masih di bawah 80%, Anda harus mengulangi materi Kegiatan Belajar 7, terutama bagian yang belum dikuasai.

2.8 Kegiatan Pembelajaran 8.

A. Judul

Menghitung koloni bakteri *Coliform* berdasarkan nilai Angka Paling Memungkinkan (APM)/ *Most Probable Number* (MPN)

B. Deskripsi

Metode untuk menduga jumlah bakteri dalam suatu produk, dapat menggunakan metode hitungan mikroskopis, metode hitungan cawan dan penentuan angka paling memungkinkan (APM). Organisme yang mati maupun hidup dapat dihitung dengan metode hitungan mikroskopis, akan tetapi pada APM hanya organisme hidup yang dapat dihitung. Metode APM digunakan untuk menduga organisme dalam jumlah sedikit (kurang dari 100/g) terutama susu, air dan makanan yang mempunyai partikel-partikel lain yang mungkin mengganggu keakurasian perhitungan. Kombinasi tabung-tabung positif yang diperoleh cukup untuk memberikan hasil yang signifikan dan umumnya terdapat dalam Tabel APM, sedangkan kombinasi yang tidak mungkin diabaikan. Tabel APM mempunyai tingkat kepercayaan 95 %. Jika kombinasi tabung-tabung positif yang diperoleh tidak termasuk dalam table APM maka contoh yang asli harus dilakukan pengujian kembali. Dan jika ini tidak dapat dilakukan, maka analisis harus membandingkan dengan tabel APM yang lain untuk menghitung nilai APM berdasarkan hasil yang diperoleh. Sampai sekarang metode MPN telah menjadi salah satu metode standard untuk menghitung jenis *Coliform*, *Escherichia coli* dan *S. aureus*.

C. Indikator

Setelah melakukan kegiatan pembelajaran ini, diharapkan taruna dapat mengetahui penentuan nilai APM *coliform* sampel air minum dan menentukan kualitas mikrobiologi air minum berdasarkan nilai APM *coliform*.

D. Uraian Materi

8.1 Dasar Teori

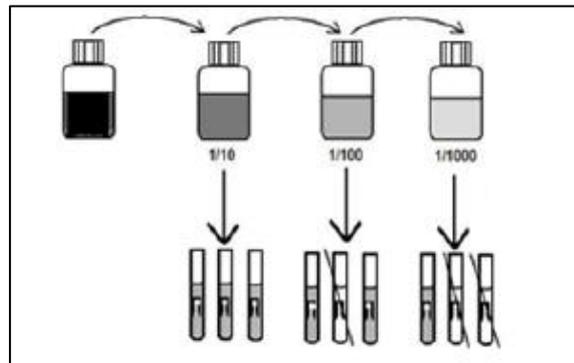
Berbeda dengan hitungan cawan dimana digunakan medium padat, dalam metode APM digunakan medium cair di dalam tabung reaksi, dimana perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung yang positif yaitu yang ditumbuhi oleh jasad renik setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu

(APM/ml (g)). Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan, atau terbentuknya gas di dalam tabung kecil (tabung Durham) yang diletakkan pada posisi terbalik, yaitu untuk jasad renik pembentuk gas. Untuk setiap pengenceran pada umumnya digunakan tiga atau lima seri tabung dan perhitungan yang dilakukan merupakan tahap pendekatan secara statistik. Lebih banyak tabung yang digunakan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi, tetapi alat gelas yang digunakan juga lebih banyak. Nilai APM ini diperoleh dengan anggapan sebagai berikut:

1. Bakteri dalam contoh menyebar secara random;
2. Bakteri dalam contoh tidak berkelompok atau cluster, tetapi saling terpisah (bakteri *Coliform* termasuk *E.coli* terpisah sempurna tiap selnya dan tidak membentuk rantai);
3. Organisme yang terdapat dalam contoh dapat tumbuh dalam medium selama inkubasi;
4. Kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan, seperti media dan waktu inkubasi sehingga sel yang terluka dan tidak mampu menghasilkan tabung positif tidak akan terdeteksi;
5. Setiap individu taung memiliki datan yang berdiri sendiri (independen).

Dalam metode APM, pengenceran harus dilakukan lebih tinggi daripada pengenceran dalam hitungan cawan, sehingga beberapa tabung yang berisi medium cair yang diinokulasikan dengan larutan hasil pengenceran tersebut mengandung satu sel jasad renik, beberapa tabung mungkin mengandung lebih dari satu sel, sedangkan tabung lainnya tidak mengandung sel. Dengan demikian, setelah inkubasi diharapkan terjadi pertumbuhan pada beberapa tabung, yang dinyatakan sebagai tabung positif, sedangkan tabung lainnya negatif. Kombinasi tabung-tabung positif yang diperoleh cukup untuk memberikan hasil yang signifikan dan umumnya terdapat dalam tabel APM, sedangkan kombinasi yang tidak mungkin diabaikan. Tabel APM mempunyai tingkat kepercayaan 95 % (Tabel 9 dan 10). Jika kombinasi tabung-tabung positif yang diperoleh tidak termasuk dalam tabel APM maka contoh yang asli harus dilakukan pengujian kembali. Dan jika ini tidak dapat dilakukan, maka analisis harus membandingkan dengan tabel APM yang lain untuk menghitung nilai APM berdasarkan hasil yang diperoleh. Metode APM biasanya digunakan untuk menghitung jumlah jasad renik di dalam contoh yang berbentuk cair, meskipun

dapat pula digunakan untuk contoh berbentuk padat dengan terlebih dahulu membuat suspensi 1:10 dari contoh tersebut. Secara keseluruhan, uji coliform dapat digambarkan seperti pada Gambar 48. Setelah melakukan identifikasi bakteri tersebut, selanjutnya kita dapat melakukan perhitungan jumlah bakteri dengan metode APM.



Gambar 39. Pengujian coliform dengan metode APM

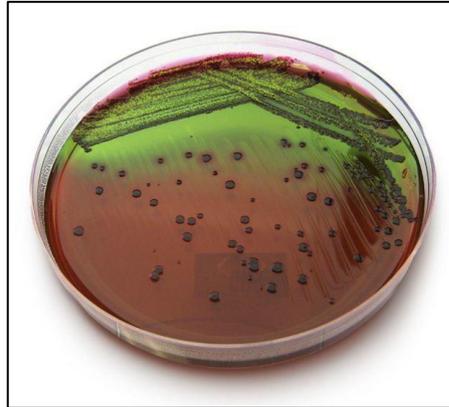
Pemilihan media sangat berpengaruh terhadap metode MPN yang dilakukan. Umumnya media yang digunakan mengandung bahan nutrisi khusus untuk pertumbuhan bakteri tertentu. Misalnya dalam mendeteksi kelompok *Coliform* dapat menggunakan media *Brilliant Green Lactose Bile 2% (BGLB) broth*. Di dalam media ini mengandung *lactose* dan garam empedu (*bile salt*) yang hanya mengizinkan untuk tumbuh. Jika terdapat ketidaksesuaian jenis media dan bakteri yang diinginkan maka metode ini akan menghitung bukan bakteri yang dituju. Untuk menghitung *Coliform* pada tahap pendugaan umumnya menggunakan *Lauryl Sulphate Tryptose (LST) broth*, sedangkan untuk menghitung *E.coli* pada tahap konfirmasi diperlukan media EC (*Escherichia coli*) *broth*.

8.2 Media yang digunakan dalam analisa *coliform*

1) *Eosin Methylen Blue Agar (EMB Agar)*

Eosin methylene blue agar merupakan salah satu media selektif yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif. *Eosin* dan pewarna biru metilen menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan mendukung pertumbuhan bakteri gram negatif. Media ini mengandung laktosa dan sukrosa. Mikroba yang dapat memfermentasi laktosa akan menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dan kilap logam, sedangkan mikroba yang tidak dapat

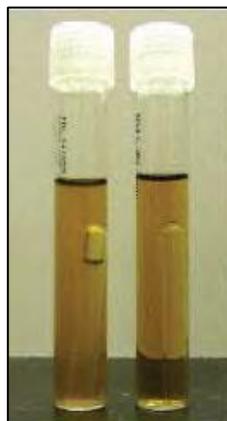
memfermentasi laktosa, koloninya tidak berwarna. Adanya eosin dan metilen blue membantu mempertajam perbedaan tersebut. Media ini cocok untuk mengkonfirmasi bahwa kontaminan tersebut adalah *E coli*. Pada media ini, *E coli* yang tumbuh akan memberikan warna khas kemilau hijau metalik (Gambar 40).



Gambar 40. *E.coli* dengan media EMB agar

2) *Lactose Broth*

Lactose broth digunakan sebagai media untuk mendeteksi kehadiran koliform dalam air, makanan, dan produk susu. Pepton dan ekstrak *beef* menyediakan nutrisi penting untuk metabolisme bakteri. Laktosa menyediakan sumber karbohidrat yang dapat difermentasi untuk organisme *coliform*. Media ini biasanya digunakan dalam *presumptive test* atau uji penduga untuk bakteri *coliform*. Kehadiran *coliform* ditandai dengan munculnya gas pada tabung Durham. *Lactose broth* dibuat dengan komposisi 0,3% ekstrak *beef*; 0,5% pepton; dan 0,5% laktosa (Gambar 41).



Gambar 41. *Lactose broth* positif *coliform* (kiri) dan *lactose broth* negatif *coliform* (kanan)

3) Nutrient Agar (NA)

Nutrient agar adalah medium umum untuk uji air dan produk *dairy*. NA juga digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotrof. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. NA merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, sewage, produk pangan, untuk membawa stok kultur, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni. Untuk komposisi nutrisi adar adalah ekstrak *beef* 10 g, pepton 10 g, NaCl 5 g, air desitilat 1.000 ml dan 15 g agar/L. Agar dilarutkan dengan komposisi lain dan disterilisasi dengan *autoclave* pada 121°C selama 15 menit. Kemudian siapkan wadah sesuai yang dibutuhkan. Dalam identifikasi *E. coli* ini, media NA berperan sebagai media untuk menumbuhkan kultur murni dari *E. coli*.

3) Violet Red Bile Agar (VRBA)

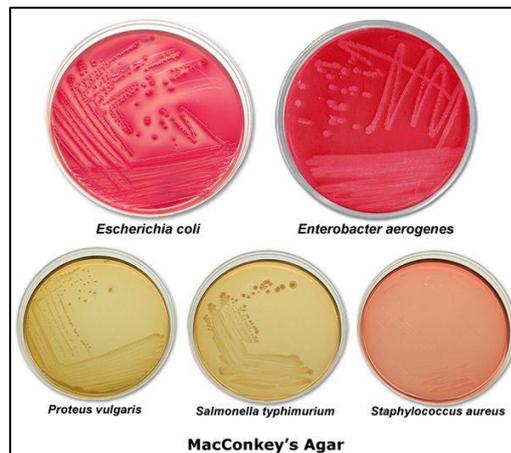
VRBA dapat digunakan untuk perhitungan kelompok bakteri *Enterobacteriaceae*. Agar VRBA mengandung kristal violet yang bersifat basa, sedangkan sel mikroba bersifat asam. Bila kondisi terlalu basa maka sel akan mati. Media ini mengandung ekstrak *yeast*, pepton, *salt*, *bile*, glukosa, kristal violet, *neutral red*, dan agar. *Yeast* ekstrak menyediakan vitamin B-kompleks yang mendukung pertumbuhan bakteri. Laktosa merupakan sumber karbohidrat. *Neutral red* sebagai indikator pH. Agar merupakan agen pematat. Campuran *bile*, *salt* dan kristal violet menghambat bakteri gram positif. Degradasi laktosa menjadi asam diindikasikan oleh pH indikator *neutral red* yang mengubah warna menjadi merah dan mengendapkan asam *bile* (Gambar 42).



Gambar 42. Media *violet red bile agar*

4) MacConkey Agar

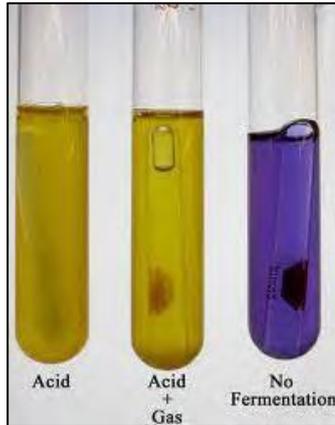
Media *MacConkey Agar* mempunyai keistimewaan memilah bakteri *enteric* gram negatif yang memfermentasi laktosa karena media ini mengandung laktosa, *crystal violet* dan *neutral red bile salt* (Gambar 43). Penggabungan *crystal violet* dan *neutral red bile salt* akan menghambat pertumbuhan mikroba gram positif, sedangkan laktosa merupakan satu satunya sumber karbohidrat. Kemampuan *E.coli* memfermentasi laktosa menyebabkan penurunan pH, sehingga mempermudah absorpsi *neutral red* untuk mengubah koloni menjadi merah bata dan mengendapkan *bile* empedu. Koloni lain (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *Salmonella*), bila tumbuh tidak akan berwarna karena tidak mampu memfermentasi laktosa. Mikroba lain yang dapat tumbuh di media ini antara lain *Enterobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Aerobacter*, *Enterococcus*.



Gambar 43. MacConkey agar

5) MacConkey Broth

MacCONKEY broth terdiri dari 3 unsur penting yang saling menunjang, yaitu laktosa, garam dan indikator. Laktosa, berfungsi sebagai agent yang bila terdegradasi akan memproduksi gas. Gas tersebut menunjukkan pertumbuhan *E. coli*, gas yang terbentuk ditampung dalam tabung durham (Gambar 44). Garam, dalam hal ini digunakan "*ox bile*" berfungsi sebagai *selective agent*. Garam menghambat pertumbuhan beberapa organisme pencernaan, tetapi tidak untuk *E. coli*. Sedangkan *bromocresol purple* bertindak sebagai indikator. *E. coli* yang hidup akan memproduksi asam. Keberadaan asam tersebut akan mengubah warna *bromocresol purple* dari ungu ke kuning.

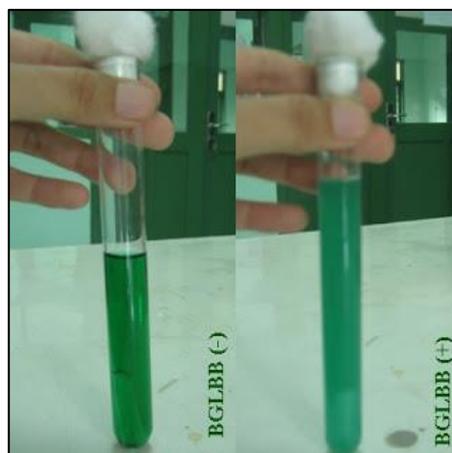


Gambar 44. MacConkey broth (ungu) dan MacConkey broth yang ditumbuhi bakteri

6) Brilliant Green Lactose Bile Broth

Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* merupakan generasi penerus dari Media *MacConkey broth*. Pada tahun 1920-an, media BGLBB mulai dikenalkan sebagai media deteksi dan konfirmasi anggota grup *aerogenes*. Berbeda dengan *MacConkey Broth*, *Brilliant Green Lactose Bile Broth* tidak menggunakan indikator. Komponen utamanya adalah laktosa (*fermenting agent*), garam (*selective agent*), dan *brilliant green* (*completely selective agent*).

Keunikan dari media ini terdapat pada keseimbangan penghambatan *brilliant green* dan garam. Garam dan *brilliant green* sangat sempurna menghambat pertumbuhan organisme *clostridia* yang mendegradasi laktosa (*lactose-degrading clostridia*) seperti *Clostridium perfringens*. *Cl. perfringens* sering menyebabkan kesalahan hasil positif pada tabung durham, karena dapat memfermentasi laktosa dan menghasilkan gas.



Gambar 45. Media *brilliant green lactose bile broth*

Beberapa kelebihan metode MPN yang diambil berdasarkan Oblinger dan Korbinger (1975:541) adalah :

- 1) Akurasi dapat ditingkatkan dengan memperbanyak tabung yang digunakan setiap pengencerannya.
- 2) Ukuran (volume) sampel yang cukup besar (dibanding *plate count*).
- 3) Sensitivitas umumnya cenderung lebih baik pada konsentrasi mikroorganisme yang sedikit daripada *plate count*.
- 4) *Recovery* umumnya lebih baik karena menggunakan media cair, tetapi tetap tergantung partikel sampel yang mungkin dapat mengganggu.
- 5) Jika medium spesifik yang sesuai dengan pertumbuhan bakteri target dapat dibuat maka perkiraan perhitungan MPN dapat dilakukan berdasarkan medium tersebut.

8.3 Cara Pemilihan Kombinasi Tabung Positif pada 3 dan 5 seri Tabung Pengenceran dalam Tabel APM

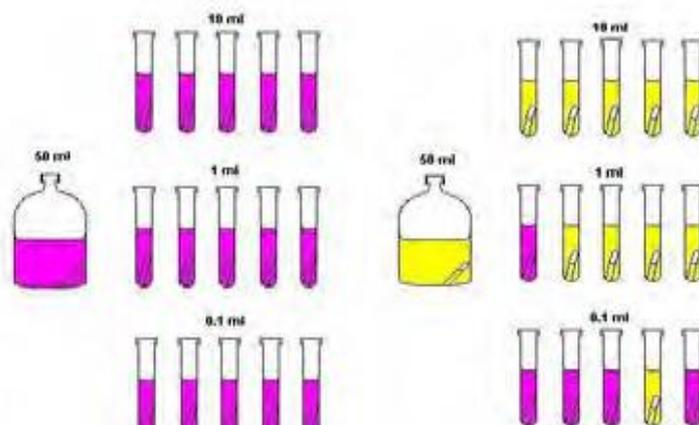
Metode penentuan APM merupakan metode yang memperkirakan jumlah mikroba pada sampel secara tidak langsung. APM umumnya dilakukan tidak hanya sampai menghasilkan tabung-tabung positif saja, melainkan dilanjutkan dengan berbagai macam uji untuk mengkonfirmasi tabung positif. Prosedur konfirmasi tersebut bertujuan untuk meyakinkan bahwa data positif tersebut memang ditimbulkan oleh mikroorganisme target. Meskipun media awal yang dipakai di dalam tabung sudah berfungsi sebagai media selektif. Terdapat tiga tahap dalam prosedur lengkap metode APM yaitu uji penduga (*presumptive test*), uji penegasan (*confirmed test*) dan uji pelengkap (*completed test*). Uji penduga dilakukan untuk memperoleh kombinasi tabung positif awal, kemudian uji penegasan digunakan untuk memastikannya. Nilai akhir yang diambil adalah dari hasil uji penegasan dan pelengkap sehingga dimungkinkan mengubah kombinasi tabung yang diperoleh pada uji penduga. Umumnya hanya uji *E.coli* saja yang sampai tahap uji pelengkap. Uji *E.coli* yang sesuai standar harus dilakukan sampai tahap akhir yang memerlukan waktu sehari-hari. Jika analisa tidak dilakukan sampai akhir maka belum dapat dinyatakan pasti bahwa tabung positif tersebut mengandung *E. coli*.

Penentuan APM dihitung berdasarkan jumlah seri tabung positif pada beberapa pengenceran yang digunakan yang didasarkan pada 3 atau 5 seri tabung pengenceran yang digunakan. Pengamatan tabung yang positif dapat

dilihat dari timbulnya kekeruhan atau timbulnya gas pada tabung durham yang diletakkan pada posisi terbalik. Dari setiap pengenceran, masing-masing dimasukkan 1 ml masing-masing ke dalam tabung yang berisi medium, dimana untuk setiap pengenceran digunakan 3 atau 5 seri tabung. Setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu, dihitung jumlah tabung yang positif. Misalnya, pada pengenceran pertama 3 tabung menghasilkan pertumbuhan positif, pada pengenceran kedua menghasilkan 2 tabung yang positif, pada pengenceran ketiga menghasilkan 1 tabung positif, dan pada pengenceran terakhir tidak ada tabung yang positif. Dari hasil tersebut didapatkan kombinasinya menjadi 3,2,1,0 dan jika diambil 3 pengenceran pertama kombinasinya menjadi 3,2,1. Angka kombinasi ini kemudian dicocokkan dengan tabel APM. Kemudian nilai APM tersebut dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Nilai APM Coliform} = \text{Nilai APM tabel} \times \frac{1}{\text{tingkat pengenceran tengah}}$$

Tabel yang digunakan untuk menentukan nilai APM dari 3 seri tabung berbeda dengan tabel untuk 5 seri tabung.



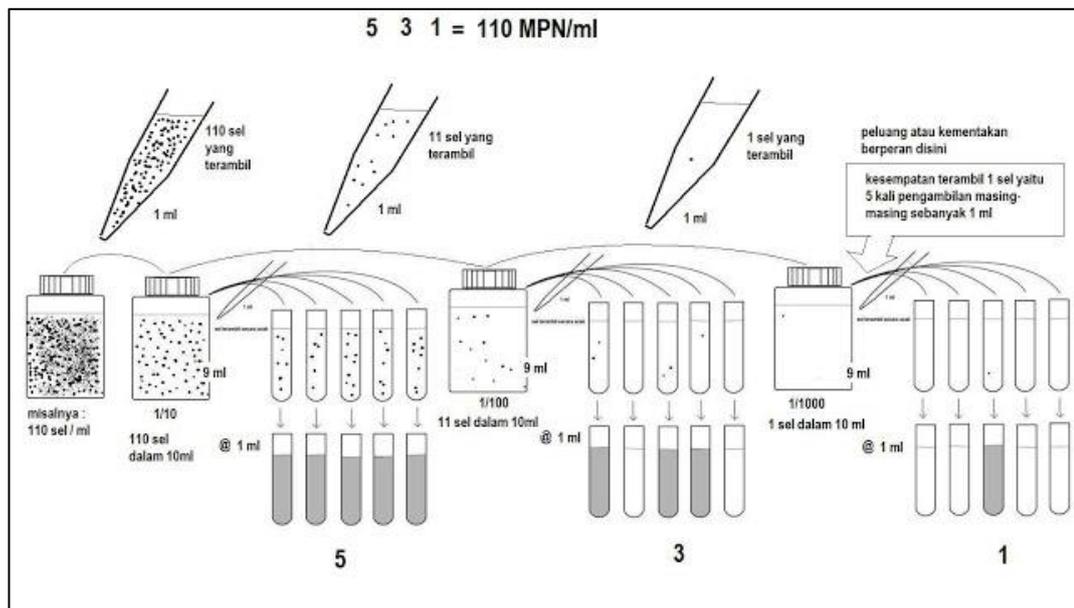
Gambar 46. Metode APM seri pengenceran 5 tabung

(ungu : media-tidak terkontaminasi *E.coli*; kuning : media -terkontaminasi *E.coli*)

Output metode APM adalah nilai APM. Nilai APM adalah perkiraan jumlah unit tumbuh (*growth unit*) atau unit pembentuk-koloni (*colony-forming unit*) dalam sampel. Namun, pada umumnya, nilai APM juga diartikan sebagai perkiraan

jumlah individu bakteri. Satuan yang digunakan, umumnya per 100 mL atau per gram. Jadi misalnya terdapat nilai APM 10/g dalam sebuah sampel air, artinya dalam sampel air tersebut diperkirakan setidaknya mengandung 10 *coliform* pada setiap gramnya. Makin kecil nilai MPN, maka air tersebut makin tinggi kualitasnya, dan makin layak minum. Metode MPN memiliki limit kepercayaan 95 persen sehingga pada setiap nilai MPN, terdapat jangkauan nilai MPN terendah dan nilai MPN tertinggi (FDA, 1989).

Contoh:



Gambar 47. Ilustrasi peluang saat penanaman dan pengenceran pada metode APM

Dari Gambar diatas, berapakah nilai APM *Coliform*/100 ml?

1. Kombinasi atau jumlah tabung yang positif adalah 5-3-1. Berapakah jumlah coliform dalam 100 ml sampel?

Jawab: Nilai dalam Tabel APM (Tabel 5) untuk kombinasi 5-3-1 adalah 110

$$\begin{aligned} \text{Nilai APM} &= \text{Nilai APM dari tabel} \times 1/\text{pengenceran tabung tengah} \\ &= 110 \times 1/10^{-3} \\ &= 110000 \end{aligned}$$

Maka nilai APM *Coliform*/100 ml adalah 110000 APM/ml

8.4 Persyaratan pemilihan kombinasi tabung positif dan pelaporannya

Seperti metode hitungan cawan, di dalam APM juga memiliki konsep pemilihan jumlah yang masuk dalam 'kisaran hitung' yaitu berdasarkan frekuensi

kemunculan tabung positif yang sebaiknya kadang-kadang tapi tidak selalu. Kombinasi tersebut dipilih dari tiga tingkat pengenceran tertentu yang disebut tiga tingkat pengenceran yang signifikan. Syarat umum yang dipakai dalam pemilihan tabung positif adalah:

Pilih pengenceran yang memiliki kombinasi tabung kategori 1, jika tidak ada maka pilih kombinasi dari kategori berikutnya yang lebih rendah berturut-turut (2 dan 3) (Tabel 4).

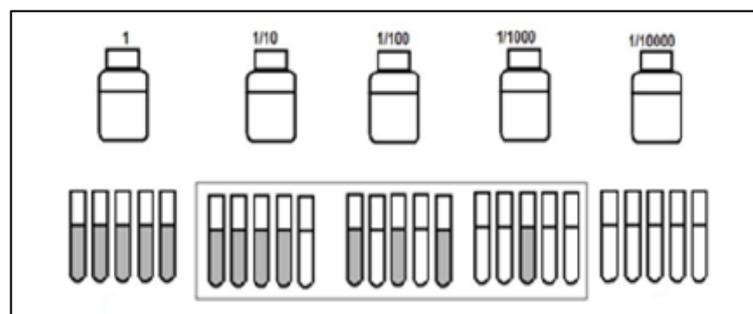
Atau dengan ketentuan:

- Pilih pengenceran terendah yang tidak semua tabung menghasilkan tabung positif.
- Pilih pengenceran tertinggi yang paling tidak memiliki satu tabung positif.
- Pilih semua pengenceran diantaranya.
- Kalikan setiap seri tabung yang dipilih dengan pengenceran yang diambil.

Misalnya: dari inokulum 1; 0,1; 0,01; 0,001 dan 0,0001 menghasilkan kombinasi tabung positif 5-4-3-1-0 maka dipilih 5-4-3-1-0 bukan 5-4-3-1-0 atau bukan 5-4-3-1-0 sehingga didapat nilai APM 33/g (Gambar 57).

Tabel 6. Tabel contoh pemilihan tabung positif berdasarkan syarat yang berlaku

1 g	0.1 g	0.01 g	0.001 g	0.0001 g	Kombinasi tabung positif	Nilai APM/g
5	4	3	1	0	4-3-1	33



Gambar 48. Bagan pemilihan tabung untuk kombinasi tabung 5-4-3-1-0

Tidak semua keadaan menggambarkan kondisi seperti diatas. Dimungkinkan juga mendapatkan semua seri tabung menghasilkan tabung positif dan tidak semua pengenceran menghasilkan tabung positif. Berikut contoh penentuan tabung positif pada beberapa kasus tertentu dari kombinasi yang diambil adalah 3 tingkat pengenceran dengan kaidah sebagai berikut:

Kasus 1: Seluruh tabung pada seri tabung pengenceran (10^{-1} , 10^{-2} , dst) menunjukkan reaksi positif

- 1) Pilih tingkat pengenceran tertinggi yang menghasilkan seluruh tabung positif dan 2 pengenceran berikutnya, seperti contoh a dan b (Tabel 4).

Contoh **a:** 5-5-1-0-0

b: 4-5-1-0-0 (bukan diambil 4-5-1, karena pada pengenceran $1/1$ tidak semua tabung positif)

- 2) Jika pada tingkat pengenceran yang lebih tinggi masih menghasilkan tabung positif (tingkat pengenceran 10^3 menghasilkan 1 tabung positif) maka tingkat pengenceran tersebut tingkat pengenceran tertinggi yang dipilih, seperti pada contoh c (Tabel 4).

Contoh **c:** 5-4-4-1-0 (bukan dipilih 4-1-0 karena pada $1/10^1$ tidak seluruh tabung positif. Bukan dipilih 5-4-4 karena pada $1/10^3$ masih terdapat satu tabung positif)

- 3) Jika pada tingkat pengenceran tertentu menghasilkan tabung negatif (tingkat) pengenceran 10^3) tetapi tingkat pengenceran berikutnya menghasilkan tabung positif (tingkat pengenceran 10^4 menghasilkan 1 tabung positif) maka yang dinyatakan tabung positif adalah tingkat pengenceran sebelumnya seperti pada contoh d (Tabel 4).

Contoh **d:** 5-4-4-0-1

- 4) Jika pada tingkat pengenceran tertinggi (10^4) masih terdapat tabung positif, maka pilih tingkat pengenceran sebelumnya seperti pada contoh e (Tabel 4).

Contoh **e:** 5-5-5-5-2

Tabel 7. Tabel contoh pemilihan tabung positif pada beberapa kasus berdasarkan syarat yang berlaku (Angka APM diambil dari tabel APM 5 seri tabung)

Contoh	Tingkat pengenceran					Kombinasi Tabung Positif	APM/g
	10^0	10^1	10^2	10^3	10^4		
a	5	5	1	0	0	5-1-0	33
b	4	5	1	0	0	5-1-0	33
c	5	4	4	1	0	4-4-1	40
d	5	4	4	0	1	4-4-1	40
e	5	5	5	5	2	5-5-2	5400
f	0	0	1	0	0	0-0-1	0,18
g	4	4	1	1	0	4-4-2	4,7

Kasus 2: Tidak ada satupun dari seri pengenceran yang menghasilkan seluruh tabung positif

- 1) Lihat pada contoh f (Tabel 4), jika tingkat pengenceran tertentu menghasilkan tabung positif (10^2) maka pilih 2 tingkat pengenceran sebelumnya.

Contoh f: **0-0-1-0-0**

- 2) Jika pada pengenceran yang lebih tinggi masih menghasilkan tabung positif (pengenceran 10^3 menghasilkan 1 tabung positif) maka tambahkan tabung positif tersebut ke tingkat pengenceran sebelumnya seperti pada Tabel 3 (contoh g).

Contoh g: 4-4-1-1-0 dipilih menjadi **4-4-2**

Pelaporan APM/g didapat dari angka indeks APM yang harus disesuaikan dengan seri tabung dari mana tingkat pengenceran tersebut diambil. Misalnya pada contoh e angka indeks APM untuk kombinasi 5-5-2 (inokulum 0,1; 0,01 dan 0,001) adalah 540 tetapi karena diambil pengenceran signifikan 0,01; 0,001 dan 0,0001 maka nilai harus dikalikan 10. Begitu pula sebaliknya untuk contoh g yang diambil dari pengenceran signifikan 1; 0,1 dan 0,01 maka nilai 47 harus dibagi 10 menjadi 4,7. Sedangkan contoh pemilihan tabung positif untuk seri 3 tabung dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Tabel contoh pemilihan tabung positif berdasarkan syarat yang berlaku (Angka APM diambil dari tabel APM 3 seri tabung)

Contoh	Tingkat pengenceran					Kombinasi Tabung Positif	Angka indeks APM	APM/g
	10^0	10^1	10^2	10^3	10^4			
a	3	3	2	1	0	3-3-2	110	110
b	3	3	3	0	-	3-3-0	24	240
c	2	2	1	1	0	1-1-0	0.74	74
d	3	3	0	0	0	3-3-0	24	24
e	2	2	0	1	0	2-2-0	2.1	2.1

Batas-batas perhitungan APM ditentukan untuk menghasilkan data yang dapat dipercaya dan presisi. Presisi dari metode APM dipengaruhi oleh jumlah

tabung paralel tiap pengenceran dan koefisien pengencerannya. Batas praktik bawah dan atas dari prosedur APM adalah jika hanya satu tabung dalam set deteksi (jumlah seri tabung, jumlah tabung, pengencerannya dll.) adalah **positif** atau **negatif**. Kisaran nyata dari 3 x 5 seri tabung adalah 1,8 sampai 1600 partikel/unit volume (dengan inokulum 0,1 g, 0,01 g, dan 0,001 g). Pada konsentrasi partikel yang sangat rendah suatu metode kuantitatif akan menjadi seperti metode *presence/absence* yang menghasilkan data ya atau tidak saja ISO 1348 (2011:25).

Batas atas metode APM dilampaui jika semua tabung dari semua pengenceran, misalnya 3-3-3 menghasilkan >1100 (Tabel 5). Namun ini tidak menggambarkan batas atas dari metode itu sendiri karena hanya kesalahan tingkat pengenceran yang dilakukan. Pengenceran yang cocok dapat disesuaikan (digeser). Oleh karena itu tidak ada batas atas yang dapat diatur karena alasan statistik sebab presisi tidak tergantung pada jumlah partikel (sel) yang dimasukkan ke dalam set deteksi. Hal ini merupakan karakteristik prosedur APM yaitu presisinya dapat ditingkatkan dengan mengubah konfigurasi set deteksi.

Tabel 9. Indeks APM dengan tingkat kepercayaan 95% untuk berbagai kombinasi hasil positif dari 3 seri tabung pada pengenceran 10^1 , 10^2 dan 10^3

Tab Positif			APM/g	Tk Kepercayaan		Tab Positif			APM/g	Tk Kepercayaan	
10^1	10^2	10^3		Bawah	Atas	10^1	10^2	10^3		Bawah	Atas
0	0	0	<3,0	-	9,5	2	2	0	21	4,5	42
0	0	1	3,0	0,15	9,6	2	2	1	28	8,7	94
0	1	0	3,0	0,15	11	2	2	2	35	8,7	94
0	1	1	6,1	1,2	18	2	3	0	29	8,7	94
0	2	0	6,2	3,6	18	2	3	1	36	8,7	94
0	3	0	9,4	3,6	38	2	0	0	23	4,6	94
1	0	0	3,6	0,17	18	3	0	1	38	8,7	110
1	0	1	7,2	1,3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3,6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7,4	1,3	20	3	1	1	74	17	200
1	1	1	11	3,6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3,6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4,5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4,5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9,2	1,4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3,6	42	3	2	3	290	90	1000
2	0	2	20	4,5	42	3	3	0	240	42	1000
2	1	0	15	3,7	42	3	3	1	460	90	2000
2	1	1	20	4,5	42	3	3	2	1100	180	4100
2	1	2	27	8,7	94	3	3	3	>1100	420	-

Sumber : Food and Drug Administration Bacteriological Analytical Manual 8th edition, 1998

Tabel 10. Indeks APM dengan tingkat kepercayaan 95% untuk berbagai kombinasi hasil positif dari 5 seri tabung pada pengenceran

Kombinasi/Jumlah tabung positif	MPN/100 ml	Kombinasi/Jumlah tabung positif	MPN/100 ml
0-0-0	< 2	4-2-0	22
0-0-1	2	4-2-1	26
0-1-0	2	4-3-0	27
0-2-0	4	4-3-1	33
		4-4-0	34
1-0-0	2		
1-0-1	4	5-0-0	23
1-1-0	4	5-0-1	30
1-1-1	6	5-0-2	40
1-2-0	6	5-1-0	30
		5-1-1	50
2-0-0	4	5-1-2	60
2-0-1	7		
2-1-0	7	5-2-0	50
2-1-1	9	5-2-1	70
2-2-0	9	5-2-2	90
2-3-0	12	5-3-0	80
		5-3-1	110
3-0-0	8	5-3-2	140
3-0-1	11		
3-1-0	11	5-3-3	170
3-1-1	14	5-4-0	130
3-2-0	14	5-4-1	170
3-2-1	17	5-4-2	220
		5-4-3	280
4-0-0	13	5-4-4	350
4-0-1	17		
4-1-0	17	5-5-0	240
4-1-1	21	5-5-1	300
4-1-2	26	5-5-2	500
		5-5-3	900
		5-5-4	1600
		5-5-5	1600

E. RANGKUMAN

Metode *Most Probable Number* (MPN)/ Angka Paling Memungkinkan (APM) menggunakan medium cair didalam tabung reaksi dimana perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung yang positif yaitu yang ditumbuhi jasad renik setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan atau terbentuknya gas didalam tabung durham yang diletakkan pada posisi terbalik yaitu untuk jasad renik pembentuk gas. Untuk setiap pengenceran pada umumnya digunakan tiga atau lima seri tabung. Lebih banyak tabung yang digunakan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi tetapi alas gelas yang digunakan juga lebih banyak. Perhitungan koloni mikroba pada metode APM menggunakan medium LB yang didasari dengan adanya gelembung gas pada dalam tabung durham dan perubahan warna dari hijau ke kuning dimana terjadi pada medium LB karena laktosa menjadi asam piruvat dan berubah menjadi asam piruvat dan asetil ko-A. Dimana asetil ko-A akan menghasilkan etil alkohol dan asam formiat yang akan menghasilkan CO₂ dan H₂O.

F. PENUGASAN

Untuk memperdalam pemahaman Anda mengenai materi di atas, kerjakanlah latihan berikut!

1. Mengapa digunakan medium *MacConkey Agar* dalam uji kepastian?
2. Mengapa digunakan medium BGLB dalam uji penegasan?
3. Jelaskan tahapan-tahapan identifikasi bakteri dengan metode MPN!
4. Jelaskan kelebihan dan kelemahan dari metode APM!

G. PRAKTIKUM

Prosedur Kerja:

Keberadaan *coliform* dalam air minum dijadikan indikator terjadinya pencemaran pada air minum tersebut. Penentuan kualitas mikrobiologi air minum dapat dilakukan berdasarkan nilai APM *Coliform*.

Alat: Botol dengan volume 100 ml; *Laminar air flow*; tabung reaksi tertutup; tabung durham; tabung fermentasi; gelas ukur 10 ml; pipet steril; labu takar 500 ml; lampu spiritus; inkubator.

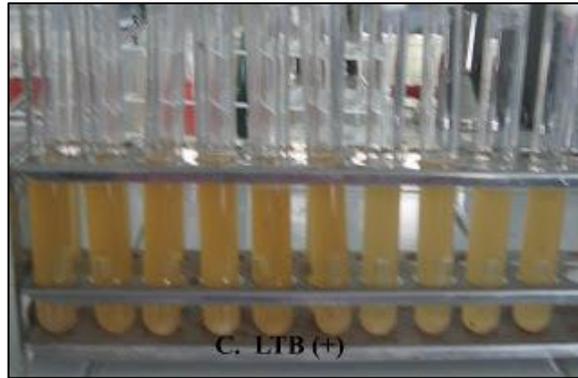
Bahan: sampel air minum; akuades steril; medium kaldu *lactose*; medium *Brilliant Green Lactose Bile Broth*.

Cara Kerja:

1. Tes Pendugaan *Coliform* (*Presumptive coliform*)
 - a. Sediakan 100 ml sampel air minum yang akan diperiksa. Siapkan juga 3 buah tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril dan 9 buah tabung reaksi berisi tabung durham yang telah diisi 3 ml medium kaldu *lactose*.
 - b. Secara aseptik inokulasikan 1 ml sampel air minum ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril lalu kocoklah taung tersebut, sehingga diperoleh pengenceran sebesar 10^{-1} .
 - c. Lakukan pengenceran dengan cara yang sama sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} .
 - d. Siapkan 9 tabung reaksi berisi medium kaldu *lactose*, beri kode A₁, A₂, A₃, B₁, B₂, B₃, C₁, C₂, dan C₃. Masukkan 1 ml sampel dengan pengenceran 10^{-1} ke dalam tabung A₁, A₂, A₃. Masukkan 1 ml sampel dengan pengenceran 10^{-2} ke dalam tabung B₁, B₂, B₃. Masukkan 1 ml sampel dengan pengenceran 10^{-3} ke dalam tabung C₁, C₂, dan C₃.
 - e. Inkubasikan semua tabung reaksi pada suhu 37 °C selama 1x24 jam. Jika timbul gas dalam tabung durham pada bagian dasar, lakukan Tes Penegasan. Jika tidak ada gas, maka sampel air minum tersebut tidak perlu diperiksa lebih lanjut.
 - f. Tentukan nilai APM *coliform*.



Gambar 49. Tabung-tabung LTB sebelum diinkubasi



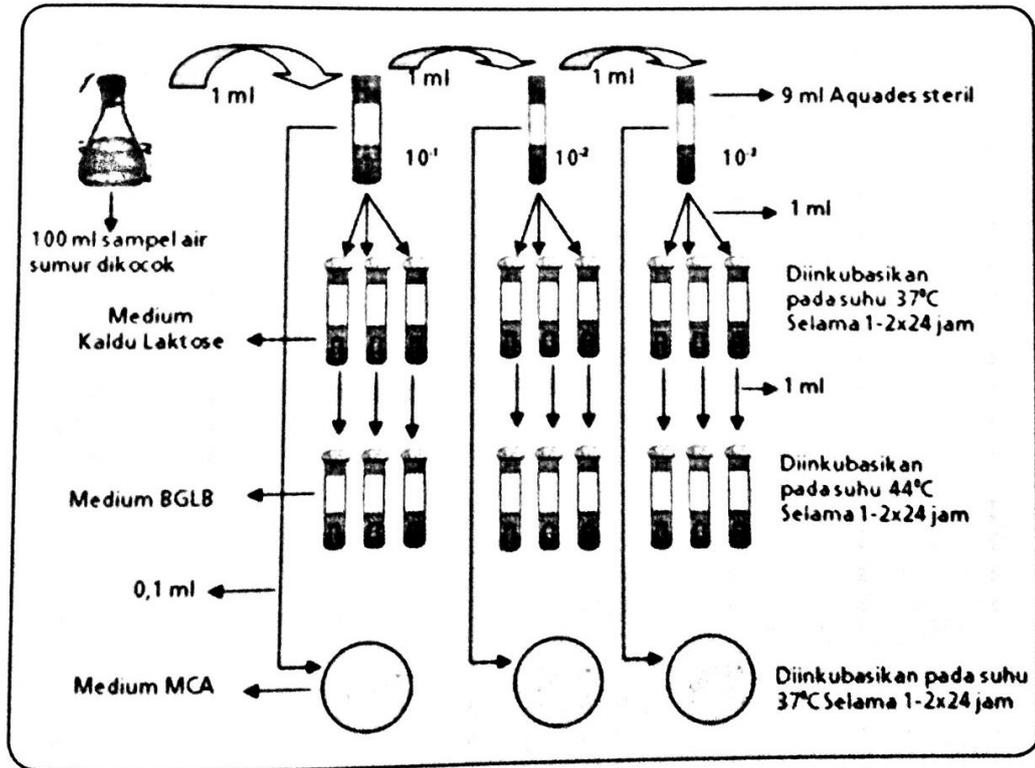
Gambar 50. Tabung-tabung LTB positif

2. Tes Penegasan

- a. Lakukan inokulasi air minum yang menghasilkan gas pada Tes Pendugaan. Perlakuan seperti pada Tes Pendugaan, tetapi medium yang digunakan ialah BGLB (*Brilliant Green Lactose Bile*) sebanyak 9 tabung reaksi @ 3 ml.
- b. Masukkan semua tabung reaksi ini dalam inkubator pada suhu 44 °C selama 1 x 24 jam. Jika terdapat gas pada bagian dasar tabung durham, berarti dalam sampel air minum terdapat bakteri *coliform fekal*.
- c. Tentukan nilai APM *coliform fekal* dengan menghitung tabung positif kemudian cocokkan dengan tabel APM (Tabel) berdasarkan dari perhitungan uji dugaan. Perkiraan konsentrasi yang didapat berdasarkan tabel adalah nilai penegasan adanya *coliform fekal* dan *E.coli*. Untuk mengetahui apakah pada tabung *EC broth* adalah *coliform fekal* atau *E.coli* maka dilanjutkan uji pelengkap untuk *E.coli*.



Gambar 51. Tabung-tabung BGLB positif



Gambar 52. Teknik pengenceran dan inokulasi sampel air minum pada medium kaldu laktose, BGLB dan *Mac Conkey Agar*

Rumus:

$$\text{Nilai APM Coliform} = \text{Nilai APM tabel} \times \frac{1}{\text{tingkat pengenceran tengah}}$$

Rumus tersebut juga dapat digunakan untuk menentukan nilai MPN *Coliform fekal*.

LEMBAR KERJA PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI

Kelompok :

Tabel pengamatan dan perhitungan nilai APM *Coliform* sampel air minum

No.	Sumber	Nilai APM <i>Coliform</i>	Nilai APM <i>Coliform fekal</i>
1			
2			
3			

Demikian penyusun modul ini disusun untuk dapat digunakan sebagai salah satu media pembelajaran pada penyelenggaraan pendidikan vokasi di satuan pendidikan kelautan dan perikanan.

Rekomendasi: **Tuntas/Tidak Tuntas**

“Untuk dapat melanjutkan pada kegiatan pembelajaran pada modul berikutnya”

Keterangan:

- *) 1. CORET pada kata **Tuntas** apabila peserta didik belum memenuhi nilai minimal 80
- *) 2. CORET pada kata **Tidak Tuntas** apabila peserta didik telah memenuhi nilai minimal 80

PENUTUP

Melalui pembelajaran berbasis modul, diharapkan akan membantu taruna untuk dapat belajar secara mandiri, mengukur kemampuan diri sendiri, dan menilai dirinya sendiri. Tidak terkecuali dalam memahami konsep dasar mikrobiologi ikan. Semoga modul ini dapat digunakan sebagai referensi tambahan dalam proses pembelajaran pada kegiatan perkuliahan, baik teori maupun praktik. Taruna lebih mendalami materi lain di samping materi yang ada di modul ini melalui berbagai sumber, jurnal, maupun internet. Semoga modul ini bermanfaat bagi taruna khususnya yang mengambil Bidang Keahlian Teknik Pengolahan Produk Perikanan. Tak lupa dalam kesempatan ini, penulis mohon saran dan kritik yang membangun terhadap, demi sempurnanya penyusunan modul ini di masa-masa yang akan datang. Semoga modul ini memberikan manfaat bagi taruna dan pembaca budiman lainnya.

TES SUMATIF

I. Pilihlah satu jawaban yang paling tepat!

1. Konsep mengenai kehidupan yang berasal dari bahan mati, dikenal sebagai *Generatio Spontanea* atau
 - a. *Abiogenesis*
 - b. *Abiogenesis Spontanea*
 - c. *Biogenesis Spontanea*
 - d. *Spontanea*
2. Penggunaan utama dari **Postulat Koch** adalah untuk
 - a. Mengidentifikasi dan mengkarakterisasi mikroorganisme tertentu
 - b. Mengisolasi mikroorganisme dari hewan yang sakit
 - c. Mengembangkan vaksin untuk penyakit tertentu
 - d. Menunjukkan bahwa penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme
3. Mikroskop cahaya memiliki tiga sistem lensa, lensa yang bias berbentuk lensa tunggal (*monokuler*) atau ganda (*binokuler*) adalah ...
 - a. Obyektif
 - b. Okuler
 - c. Kondensor
 - d. *Fluorescence*
4. Obyek yang akan diamati atau diperbesar dengan mikroskop disebut ...
 - a. Preparat
 - b. Iluminasi
 - c. Spesimen
 - d. Filter
5. Besarnya NA (*numerical aperture*) dapat ditingkatkan melalui peningkatan nilai n dan besarnya sudut θ , sehingga resolusi lensa menjadi semakin baik digunakan ...
 - a. Minyak celup
 - b. Iluminasi
 - c. Indeks bias
 - d. Filter
6. Tonjolan yang meluas di luar dinding sel berbagai bakteri, ganggang, cendawan, dan protozoa, yang berfungsi untuk menggerakkan organisme adalah ...
 - a. Dinding sel
 - b. Mitokondria
 - c. Alat golgi
 - d. Flagella dan silia

7. Perbedaan sel prokariotik dan sel eukariotik terutama terletak pada ...
- Membran inti sel
 - DNA
 - Besar sel
 - Tempat hidup sel
8. Bakteri yang berbentuk bulat seperti bola dan variasinya berganda adalah ...
- Monococcus*
 - Diplococcus*
 - Tetracoccus*
 - Sarcina*
9. Berdasarkan asal energi yang digunakan dalam asimilasi, bakteri yang bersifat autotrof bila energi untuk asimilasinya diperoleh dari reaksi-reaksi kimia disebut bersifat ...
- Fotoautotrof*
 - Kemoautotrof*
 - Fotosintesis*
 - Kemosintesis*
10. Usaha menumbuhkan mikroba dalam media buatan laboratorium adalah ...
- Kultivasi*
 - Oksidasi*
 - Reduksi*
 - Aktivasi*
11. Bakteri yang tumbuh baik pada suhu rendah dibawah 20°C dikelompokkan ke dalam ...
- Halofil
 - Psikrofil
 - Mesofil
 - Termofil
12. Mikroorganisme yang tidak dapat menggunakan oksigen bebas sebagai akseptor hydrogen adalah tergolong mikroorganisme?
- Aerob
 - Trofik
 - Heterotrof
 - Anerob
13. Mikroorganisme yang menggunakan cahaya sebagai sumber energi dan CO₂ sebagai sumber karbon untuk pembentukan senyawa organik yang dibutuhkan disebut ...
- Kemotrof
 - Litotrof
 - Fotoorganotrof
 - Fotolitotrof
14. Berikut ini merupakan fase-fase pertumbuhan mikroba secara berurutan yang benar ...

- a. Kelahiran – eksponensial – berkembang – kematian
 - b. Lag – eksponensial – stationer – kematian
 - c. Lag – eksponensial – stationer – berkembang
 - d. Eksponensial – stationer – lag – berkembang
15. Pertumbuhan mikroba dalam suatu medium mengalami fase-fase yang berbeda dimana fase jasad renik membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik termasuk pada fase ...
- a. Adaptasi
 - b. Pertumbuhan awal
 - c. Eksponensial
 - d. Statis
16. Mikroorganisme membutuhkan pH tertentu karena ...
- a. Proses hidup bergantung pada proses biokimia
 - b. Reaksi biokimia berlangsung karena ada enzim
 - c. Enzim dipengaruhi oleh pH
 - d. Untuk membuat pH stabil, ke dalam medium ditambahkan buffer
17. Ikan asin yang kadar garamnya tinggi ternyata menjadi agak membusuk dan rusak. Hal ini disebabkan oleh bakteri (*archaeobacteria*). Bakteri yang mampu hidup dalam kadar garam tinggi tergolong ke dalam kelompok ...
- a. *Spirochetes*
 - b. Metanogen
 - c. *Termoasidofil*
 - d. Halofil
18. Golongan bakteri yang hidup pada daerah suhu antara antara 0°– 30°C, dengan suhu optimum 15°C disebut ...
- a. Psikrofil
 - b. Mesofil
 - c. Termofil
 - d. Halofil
19. Proses pernapasan bakteri yang menggunakan oksigen bebas untuk pernapasannya dilakukan oleh ...
- a. Bakteri gram negatif
 - b. Bakteri Autotrof
 - c. Bakteri Aerob
 - d. Bakteri Heterotrof

20. Media yang mempunyai susunan bahan sedemikian rupa sehingga kuman tertentu dapat tumbuh tetapi dengan masing-masing koloni yang sangat khas disebut media ...
- a. Media persemaian
 - b. Media selektif
 - c. Media eksklusif
 - d. Media padat
21. Teknik biakan murni dengan metode penggoresan lempengan agar menggunakan alat tertentu yaitu ...
- a. Cawan petri
 - b. Inkubator
 - c. Jarum ose
 - d. *Colony counter*
22. Mikroba pathogen bekerja dalam tiga mekanisme, dimana masuknya mikroba pathogen ke dalam tubuh akan membentuk koloni dan menembus bagian organ dalam atau jaringan tubuh menggunakan toksin disebut mekanisme ...
- a. Infeksi
 - b. Intoksikasi
 - c. Toksikoinfeksi
 - d. Kontaminasi
23. Berikut ini bakteri yang membentuk spora adalah genus ...
- a. *Streptococcus* dan *Staphylococcus*
 - b. *Bacillus* dan *Clostridium*
 - c. *Pseudomonas* dan *Bacillus*
 - d. *Streptococcus* dan *Bacillus*
24. Bakteri yang sering ditemukan pada makanan kaleng dan memiliki daya keracunan yang sangat kuat dan bersifat termolabil adalah ...
- a. *Salmonella* spp.,
 - b. *Vibrio* sp.
 - c. *S.aureus*
 - d. *Clostridium botulinum*
25. Senyawa beracun yang diproduksi oleh kapang disebut ...
- a. *Asidatif*
 - b. *Fermentatif*
 - c. *Mikotoksin*
 - d. *Aflatoksin*
26. Bakteri yang mempunyai dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tebal dinamakan bakteri ..
- a. *Anaerob*
 - b. *Gram-positif*
 - c. *Heterotrof*
 - d. *Gram-negatif*

27. *Diplococcus pneumonia* merupakan bakteri penyebab penyakit pneumonia pada paru-paru. Bentuk bakteri tersebut yaitu ...
- a. Koma
 - b. Bulat
 - c. Basil
 - d. Batang
28. Bakteri pembusuk akan menghasilkan antara lain ...
- a. Asam asetat
 - b. Gas metana
 - c. Gas hidrogen sulfida
 - d. Asam amino
29. Bakteri dapat melakukan reproduksi secara seksual dengan cara ...
- a. Proliferasi
 - b. Membentuk spora
 - c. Pembelahan biner
 - d. Konjugasi
30. Virus memperbanyak diri dengan cara ...
- a. Penetrasi
 - b. Adsorpsi
 - c. Konjugasi
 - d. Replikasi
31. Sebelum dilakukan pewarnaan maka sel-sel bakteri harus terlebih dahulu dimatikan dan sel-sel dibuat melekat pada gelas objek disebut ...
- a. Kultur
 - b. Pencucian
 - c. Fiksasi
 - d. Olesan
32. Fungsi iodine pada pewarnaan gram adalah ...
- a. Sebagai peluntur
 - b. Sebagai pemberi warna merah
 - c. Sebagai mordan (penguat)
 - d. Sebagai pemberi warna ungu
33. Fungsi pewarnaan bakteri pada umumnya ialah ...
- a. Mengawetkan bakteri supaya tidak cepat mati
 - b. Mempermudah dalam pengamatan morfologi bakteri dengan bantuan mikroskop
 - c. Mempermudah dalam pengamatan morfologi bakteri tanpa bantuan mikroskop
 - d. Melihat sebagian morfologi dari bakteri

34. Teknik pewarnaan bakteri dapat dibagi menjadi dua jenis, yaitu ...
- Pewarnaan aktif dan pewarnaan pasif
 - Pewarnaan bakteri langsung dan pewarnaan tidak langsung
 - Pewarnaan bakteri buatan dan pewarnaan asli
 - Pewarnaan bakteri sederhana dan differensial
35. Apabila dalam menghitung jumlah koloni sel mikroba dilakukan dengan cara menanamkan contoh ke dalam cawan petri terlebih dahulu kemudian ditambahkan media pemupukan disebut metode ...
- Most-number*
 - Spread plate*
 - Pour plate*
 - Propable-number*
36. Nilai ALT dari data berikut adalah ...

Pengenceran	10^0	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
Jumlah koloni	350	300	240	135	15

- 35×10^{-1}
- 30×10^{-2}
- 24×10^{-2}
- 24×10^{-3}

II. Jawablah pertanyaan dibawah ini dengan singkat dan tepat !

- Penyakit yang disebabkan dari makanan. Dalam makanan itu terkandung unsur-unsur kimia maupun biologis yang dapat mengakibatkan penyakit apabila dikonsumsi oleh manusia disebut ...
- Sebutkan ciri bakteri secara umum!
- Berdasarkan bentuknya bakteri dibagi menjadi tiga golongan, yaitu ...
- Sebutkan dan jelaskan jenis flagel pada bakteri !
- Pewarnaan bakteri gram positif akan menghasilkan warna ...
- Jika sampel dimulai dari 10^{-1} maka satuan dari ALT adalah...
- Sampel minuman tanpa kemasan yang dijual di pinggir jalan akan ditentukan ALT-nya maka pengenceran yang harus dilakukan...
- Tahapan MPN yang dipergunakan untuk menghitung total *coliform* adalah...
- Lactose Broth digunakan pada metode MPN tahap...
- Media yang digunakan untuk analisa MPN tahap uji penentu adalah...
- Hasil positif dari uji penduga harus....

12. Sebutkan macam-macam bentuk bakteri dan beri contoh (minimal 2)!
13. Sebutkan dan jelaskan mengenai bakteri, yeast dan kapang!
14. Hasil positif pada uji penentu adalah....

KUNCI JAWABAN

Tes Formatif 1.

1. A, salah, virologi bagian dari mikrobiologi.
B, salah, bakteriologi bagian dari mikrobiologi.
C, benar, mikrobiologi adalah ilmu yang mempelajari semua organisme berukuran kecil.
D, salah, biologi, bakteriologi bagian dari semua organisme hidup.
2. A, benar, generatio spontanea disebut juga abiogenesis.
B, salah, bukan sebutan lain melainkan persamaan.
C, salah, bukan abiogenesis spontanea melainkan abiogenesis.
D, salah.
3. C, cukup jelas jawaban yang benar adalah penciptaan oleh Allah yang maha kuasa.
4. A, benar salah satu nama ragi adalah *Saccharomyces cerevisiae*.
B, salah, *Bacillus sp.* adalah nama bakteri.
C, salah *Candida sp.* adalah nama jamur.
D, salah *Rhizopus oligosporus* adalah nama jamur.
5. A, benar, jawaban cukup jelas John Tyndall adalah orang yang menentang teori biogenesis.
6. A, benar Felix Archimede Pouchet.
7. C, benar Anthony van Leeuwenhoek.
8. D, benar kegunaan Postulat Koch adalah untuk menunjukkan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme.
9. C, (2 dan 3 benar) termostabil dan termoresisten.
10. D, (1, 2 dan 3 benar) biodegradasi, biotransformasi, biokatalis.

Tes Formatif 2.

- | | |
|------|-------|
| 1. B | 6. S |
| 2. S | 7. B |
| 3. B | 8. S |
| 4. B | 9. S |
| 5. B | 10. B |

Tes Formatif 3

- | | |
|------|------|
| 1. D | 4. C |
| 2. C | 5. B |
| 1. A | 6. D |
| 2. B | 7. B |
| 3. A | 8. C |

Tes Formatif 4. 1

- | | |
|------|-------|
| 1. S | 9. B |
| 2. S | 10. S |
| 3. B | 11. B |
| 4. B | 12. S |
| 5. S | 13. S |
| 6. B | 14. S |
| 7. S | 15. B |
| 8. B | |

Tes Formatif 4. 2

- | | |
|------|-------|
| 1. B | 6. B |
| 2. B | 7. S |
| 3. S | 8. B |
| 4. B | 9. S |
| 5. S | 10. S |

Tes Formatif 5.

- | | |
|---------------------------------|---------------------------------|
| 1. Psikrofilik | 6. <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 2. Halofilik | 7. <i>Salmonellosis</i> |
| 3. Patogenitas | 8. Mikotoksin |
| 4. Intoksikasi | |
| 5. <i>Clostridium botulinum</i> | |

Tes Formatif 6.

- | | |
|------|-------|
| 1. S | 6. B |
| 2. S | 7. B |
| 3. B | 8. S |
| 4. B | 9. S |
| 5. S | 10. B |

Tes Formatif 7.

1. B
2. S
3. B
4. S
5. B

Tes Formatif 8.

1. Tes Penentu
2. *Brilliant Green Lactose Bile Broth*
3. Diinokulasikan pada media BGLBB atau EMBA
4. *Fecal coli*
5. Penduga
6. Terdapat gelembung gas pada tabung durham

Tes Sumatif

I. Pilihan Berganda

1. A	7. A	13. D	19. C	25. C	31. C
2. D	8. B	14. B	20. B	26. B	32. C
3. B	9. B	15. C	21. C	27. B	33. B
4. C	10. A	16. A	22. A	28. A	34. D
5. A	11. B	17. D	23. B	29. D	35. C
6. D	12. D	18. A	24. D	30. B	36. B

III. Essai

1. *food-borne disease*
2. Ciri bakteri :
 - a) bersifat multiseluler
 - b) struktur tubuh bakteri secara umum yaitu inti tidak berdinging (prokariot)
 - c) karakteristik bakteri tidak berklorofil
 - d) cara reproduksi bakteri adalah dengan cara membelah diri.
 - e) ukuran dan bentuk bakteri yaitu panjang 1—5 mikron dan lebar 0,5 — 1 mikron
 - f) dipelajari secara khusus dalam Bakteriologi.
 - g) menurut cara hidupnya, ada 2 macam bakteri yaitu autotrof dan heterotrof.
3. *Coccus, Bacillus, Spirillum*
4. Jenis flagel :
 - a. Monotrik, yaitu flagel tunggal dan terdapat di bagian ujung kanan
 - b. Lofotrik, yaitu flagel yang terdiri dari satu buah di salah satu bagian polar kuman
 - c. Amfitrik, yaitu satu atau lebih flagel yang terdapat di kedua polar badan kuman
 - d. Peritrik, yaitu flagel yang tersebar merata di sekeliling badan kuman
5. Violet
6. Koloni/ gram
7. Dimulai dari 10^0 sampai 10^{-6}
8. Tes Penentu
9. Penduga

10. *Brilliant Green Lactose Bile Broth*

11. Diinokulasikan pada media BGLBB atau EMBA

12. Macam-macam bentuk bakteri :

- a) Kokus : *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*
- b) Basil : *Bacillus anthracis*, *Shigella dysenteriae*
- c) Spiral : *Trypanosoma palidum*, *Borrelia recurrentis*

13. Perbedaan bakteri, yeast, dan kapang:

Perbedaan	Bakteri	Yeast	Kapang
Media	NA	SDA	PDA
Jumlah sel	Uniseluler	Uniseluler	Multiseluler
Warna koloni	Mengkilap	Kusam	Seperti kapas
Pigmentasi	Punya pigmen	Tidak punya pigmen	Punya 2 pigmen (atas dan bawah)
Reproduksi	Biner	Biner	Aseksual (menghasilkan tunas dengan cara multilateral) dan seksual (menghasilkan askospora dengan cara konjugasi)

14. Terdapat gelembung gas pada tabung durham

DAFTAR PUSTAKA

- Aryulina, Diah.2004.Biologi Umum. Jakarta : Erlangga
- Campbell, Nell.2003. Bilogi Edisi Kelima Jilid 2. Jakarta : Erlangga.
- Dwidjoseputro, D.2005.Dasar - Dasar Mikrobiologi.Malang: Penerbit Djambatan.
- Fardiaz, S. 1989. Mikrobiologi Pangan. Bogor : IPB
- Gandjar, I., I.R. Koentjoro., W. Mangunwardoyo. & L. Soebagya. 1992. Pedoman praktikum mikrobiologi dasar.
- Hariyadi, R.D. 2000. Dasar-dasar mikrobiologi pangan. Pusat Kajian Makanan Tradisional Lembaga Penelitian IPB
- Harley & Prescott. 2002. Laboratory exercises in microbiology, 5th ed.
- Hogg, S. 2005. Essential microbiology.
- Hudler, George W. 1998. Magical Mushrooms, Mischievous Molds: The Remarkable Story of the Fungus Kingdom and Its Impact on Human Affairs. New Jersey: Princeton University Press.
- Irianto, K. 2006. Mikrobiologi Menguak Dunia Organisme. Jilid 1. Cv Yrama Widya. Bandung.
- James, Joyce. 2002. Prinsip - Prinsip Sains Untuk Keperawatan. Jakarta : Erlangga
- Jawetz, M., dan Adelberg. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Salemba Medika. Jakarta
- Jutono, J. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, Suhadi & Susanto. 1980. Pedoman praktikum mikrobiologi umum.
- Karmana, Oman. 2008. Biologi. Jakarta : PT Grafindo Media Pratama.
- Lay, Bibiana.W.1994.Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta : Rajawali.
- Lund, M.B., Parker, T.C., Gould, G.W. 2000. The microbiology safety and quality of food. Vol 1&2
- Madigan, M. T., J. M. Martinko, D. A. Stahl, D. P. Clark. 2011. Brock biology of microorganisms, 13th ed.
- McKane, L. & J. Kandel. 1996. Microbiology: Essential and application.
- Pelczar, M.J.2007. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta : UI Press.
- Sutedjo, M.M., A.G. Kartasapoetra & R.S. Sastroadmojo. 1991. Mikrobiologi tanah.
- Strohl, William A, Rouse,H, Fisher, BD, 2001, *Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology*, Lippincott William & Wilkins, USA

Talaro, K. P. & A. Talaro. 2002. Foundations in microbiology, 4th ed.

Tortora, G. J., B. R. Funke & C. L. Case. 2010. Microbiology: An introduction, 10th ed.

Volk & Wheeler. 1984. Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid I. Jakarta : Erlangga.



AMaFRaD  PRESS

Diterbitkan oleh:
AMAFRAD Press

Badan Riset dan Sumber Daya Manusia Kelautan dan Perikanan
Gedung Mina Bahari III, Lantai. 6,
Jl. Medan Merdeka Timur No. 16, Jakarta Pusat 10110.
Telp. (021) 3513300, Fax. (021) 3513287
No Anggota IKAPI : 501/DKI/2014

ISBN 978 602 5793 57 4



ISBN 978-602-5793-85-7

