

Pengaruh Pemanasan Media Plate Count Agar (PCA) Berulang Terhadap Uji Total Plate Count (TPC) di Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Hasil Pertanian Unand

Risa Yudi Wati

Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Andalas
Limau Manis Padang. No HP 085263465675,

Email : risa_yudiwati@yahoo.co.id

ABSTRAK

Media Plate Count Agar (PCA) digunakan sebagai media tumbuh mikroba pada uji TPC (Total Plate Count). Media ini mengandung agar sehingga setelah dingin media tersebut akan menjadi padat. Untuk alasan kepraktisan, media untuk penyimpanan dibuat dalam satu kali sterilisasi dan kemudian dipanaskan kembali ketika dibutuhkan. Pemanasan berulang diduga akan menyebabkan kandungan nutrisi pada media menjadi rusak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemanasan media PCA berulang pada uji TPC produk dan untuk mengetahui efektifitas media yang digunakan bila di panaskan berulang kali. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemanasan media sampai 2-3 kali pemanasan masih bisa digunakan untuk uji TPC. Pemanasan media ke 3-4 dan seterusnya tidak direkomendasikan untuk dipakai kembali karena mikroba yang tumbuh tidak optimal. dan jumlah koloni mikroba menurun, serta terjadi perubahan warna media dan penurunan pH.

Kata kunci : media PCA, pemanasan berulang, uji TPC

ABSTRACT

Media Plate Count Agar (PCA) was used as a microbial growth medium in the TPC (Total Plate Count) test. This media contains so that after the cold the media will become solid. For practical reasons, the storage media was made in one sterilization and then reheated when needed. Repeated heating was thought to cause the nutritional content of the media to become damaged. This study aims to determine the effect of repeated PCA media heating on the product TPC test and to determine the effectiveness of the media used when repeatedly heated. Research shows that heating the media up to 2-3 times the heating can still be used for the TPC test. 3-4 media heating and so on are not recommended for reuse because microbes that grow were not optimal. and the number of microbial colonies decreases, and changes in media color and pH decrease.

Keywords: PCA media, repeated heating, TPC test

I. PENDAHULUAN

Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian adalah laboratorium untuk menguji hasil produk pertanian dari segi mikrobiologi. Sejumlah pengujian telah dilakukan untuk menguji produk hasil pertanian. Salah satu metode pengujian yang sering dilakukan adalah metode Total Plate Count (TPC).

Metode TPC merupakan metode untuk menghitung jumlah mikroba yang terdapat pada sampel makanan dan produk hasil pertanian. Jumlah mikroba harus dibatasi pada produk makanan dan hasil pertanian harus mengikuti standar-standar yang sudah ditetapkan.

Metode TPC dibedakan atas dua cara, yakni metode tuang (pour plate), dan metode permukaan (surface / spread plate). Pada metode tuang, sejumlah sampel (1ml atau 0,1ml) dari pengenceran

yang dikehendaki dimasukkan ke cawan petri, kemudian ditambah agar-agar cair steril yang didinginkan (47-50°C) sebanyak 15-20 ml dan digoyangkan supaya sampelnya menyebar. Pada penanaman dengan metode permukaan, terlebih dahulu dibuat agar cawan kemudian sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan dipipet pada permukaan agar-agar tersebut. Kemudian diratakan dengan batang gelas melengkung yang steril (Dwidjoseputro, 2005).

Pada umumnya penelitian mengenai TPC diikuti dengan daya simpan produk. Uji daya simpan produk berguna untuk melihat perkembangan jumlah mikroba didalam produk selama perlakuan penyimpanan. Sampel akan diuji per jam, per hari atau per minggu, tergantung jenis produk yang dibuat oleh peneliti.

Media Plate Count Agar (PCA) merupakan media padat, yaitu media yang mengandung agar sehingga setelah dingin media tersebut akan menjadi

padat. Media PCA terdiri dari casein enzymic hydrolysis, yeast extract, dextrose, agar. Media PCA dilarutkan dengan aqua destilata dengan membentuk suspensi 22,5 g/L kemudian disterilisasi pada autoklaf 15 menit pada suhu 121°C.

Media PCA biasanya dibuat dan disterilisasi dalam jumlah yang banyak sesuai dengan kebutuhan sampai akhir penelitian. Sisa media yang belum dipakai disimpan di lemari pendingin pada suhu 10°C. Jika akan dipakai lagi media dipanaskan di atas hot plate. Demikian seterusnya diulang berkali-kali.

Berdasarkan dari uraian di atas untuk mengetahui pengaruh pemanasan media PCA berulang terhadap uji TPC pada Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah koloni mikroba yang tumbuh pada media yang telah dipanaskan berulang kali dan untuk mengetahui pada pemanasan ke berapa media masih efektif digunakan sebagai media pertumbuhan mikroba.

II. METODE PENELITIAN

II.1 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu neraca analitik kern, autoclave hirayama, oven memmert, pipet mikro brand, hot plate, spatula, kertas timbang, erlenmeyer, gelas ukur 100 ml, petridish, batang pengaduk, tabung reaksi.

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu media Plate Count Agar Merck, garam fisiologis 0.85%, produk salalauk sebagai sampel, spiritus, alkohol 70%, aquades pH ± 7 (netral), aluminium foil, kapas, plastik wrap.

II.2. Metode Kerja

Prinsip dari metode hitungan cawan atau Total Plate Count (TPC) adalah menumbuhkan sel mikroba yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroba akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Perlakuan yang digunakan adalah dengan cara membandingkan jumlah koloni mikroba yang tumbuh pada media yang sudah dipanaskan 1x, 2x, 3x, 4x dan 5x dengan 3 ulangan. Pemanasan hingga 5x berdasarkan daya simpan produk hasil pertanian pada umumnya disimpan selama 1 bulan dan diamati setiap 5-7 hari. Contoh sampel yang dipakai adalah

produk sala lauk yang berasal dari pedagang di pasar raya Padang.

Metode kerja yang dipakai adalah metode tuang dengan menimbang 5 gr salalauk dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100ml yang berisi garam fisiologis steril 45 ml, lalu dihomogenkan dengan vortex dan diamkan kurang lebih 10 menit dan dilanjutkan dengan melakukan pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Sebanyak 1 ml sampel pengenceran 10^{-4} dimasukkan ke cawan petri yang telah disterilkan kemudian dituangkan 12-15ml media PCA sesuai perlakuan. Goyang cawan petri dengan hati-hati sehingga sampel dan media tercampur rata dan memadat. Kemudian sampel diinkubasi pada suhu pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Hitung mikroba yang tumbuh dengan colony counter. Ukur perubahan pH setelah pemanasan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan dengan pemanasan media PCA yang berulang sampai lima kali diperlihatkan pada table 1 dan gambar 1

Table 1. Jumlah mikroba pada media yang dipanaskan berulang

Pemanasan	Ulangan			Rataan
	1	2	3	
Blanko	142	117	110	123,00
1x	105	134	125	121,33
2x	110	98	120	109,33
3x	98	101	116	105,00
4x	101	94	98	97,67
5x	65	80	106	83,67

Pada tabel 1 menunjukkan bahwa jumlah mikroba yang tumbuh paling rendah ditemukan pada perlakuan lima kali pemanasan dengan rata-rata 83,67, sedangkan pada pemanasan satu kali belum memperlihatkan perbedaan dengan kontrol (blanko). Pada tabel tersebut menunjukkan kecenderungan makin sering pemanasan dilakukan jumlah bakteri menjadi menurun.

Pemanasan media berulang dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba tidak optimal. Hasil pengamatan menunjukkan jumlah mikroba yang tumbuh pada media pemanasan lima kali lebih sedikit dan kecil (gambar 1). Diameter koloni yang kecil

menunjukkan kurang optimalnya nutrisi pada media tersebut.



Gambar 1. Pertumbuhan mikroba 1x dan 5x pemanasan

Jumlah mikroba dan koloni pada media yang dipanaskan menjadi sedikit diduga karena pemanasan akan merusak kandungan nutrisi yang ada didalam media, terutama menyebabkan denaturasi protein. Pertumbuhan dan perkembangan mikroba membutuhkan lingkungan yang tepat secara sintesis sebagai pengganti keadaan alam, maka diperlukan persyaratan tertentu agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Persyaratan tersebut yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba, mempunyai tekanan osmosis, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba dan harus dalam keadaan steril. Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara (nutrient) yang berguna untuk membiakkan mikroba. Dengan mempergunakan bermacam-macam media dapat dilakukan isolasi, perbanyakan, pengujian sifat-sifat fisiologis dan perhitungan jumlah mikroba (Sutedjo,1996).

Pemanasan berulang akan merusak komposisi nutrisi seperti susunan protein dan vitamin yang ada didalam media tersebut, yang ditandai dengan perubahan warna media (gambar 2) Pemanasan dapat menyebabkan denaturasi merubah protein, kehilangan aktivitas enzim, perubahan kelarutan dan hidrasi, perubahan warna, derivatisasi residu asam amino, pemutusan ikatan peptide dan pembentuk senyawa lain.



Gambar 2. Perubahan warna media setelah pemanasan berulang

Pemanasan juga menurunkan pH media (tabel 2). Pada tabel tersebut menunjukkan bahwa makin sering media dipanaskan pH menjadi menurun dari 7,06 pada kontrol(blanko) menjadi 6,33 pada lima kali pemanasan. Hasil ini menunjukkan bahwa makin sering dipanaskan media menjadi asam. Hal ini terjadi karena penguapan air sehingga media menjadi lebih kental

Tabel 2. Rata-rata perubahan pH pada pemanasan berulang

Pemanasan	Ulangan			Rataan
	1	2	3	
Blanko	7.2	7.0	7.0	7.06
1x	7.0	7.1	6.9	7.00
2x	6.9	6.8	7.0	6.90
3x	6.5	6.8	6.9	6.67
4x	6.3	6.7	6.4	6.47
5x	6.3	6.5	6.2	6.33

Pertumbuhan mikroba tidak hanya dipengaruhi faktor lingkungan, tetapi juga mempengaruhi keadaan lingkungan. Akibat ukurannya yang sangat mikroskopis, pertumbuhan mikroba sangat tergantung pada keadaan sekelilingnya (Pelczar dan Chan, 2006). Beberapa faktor abiotik yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, antara lain: suhu, kelembaban, cahaya, pH, Aw dan nutrisi. Apabila faktor-faktor abiotik tersebut memenuhi syarat, sehingga optimum untuk pertumbuhan bakteri, maka bakteri dapat tumbuh dan berkembang biak (Haastuti, 2008).

Nilai pH merupakan faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim, dimana aktivitas enzim ini akan maksimum pada kondisi pH optimum. Nilai pH optimum untuk media PCA Merck adalah 7.0 ± 0.2 . Pertumbuhan sel mikroba dipengaruhi oleh

pH lingkungan dimana mikroba tersebut hidup. Bila pH lingkungan tidak sesuai untuk aktivitas enzim secara optimal, maka mikroba tidak dapat melakukan metabolisme dengan baik. Akibatnya mikroba tidak dapat tumbuh dengan optimal.

KESIMPULAN

Pemanasan media berulang sebanyak tiga kali masih dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangan mikroba yang dibuktikan dengan jumlah mikroba yang tumbuh dan pH yang masih netral. Pemanasan diatas tiga kali tidak direkomendasikan untuk dipakai kembali karena kandungan nutrisi pada media sudah rusak sehingga mikroba yang tumbuh tidak optimal. Sebaiknya media dibuat pada wadah-wadah kecil sesuai kebutuhan untuk satu hari saja. Untuk uji selanjutnya digunakan wadah baru agar nutrisi media tetap terjaga dan cemaran mikroba waktu menuang media bisa diminimalisasi.

DAFTAR PUSTAKA

Dwidjoseputro, D. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan. Jakarta.

Haastuti,UtamiSri.2008.Petunjuk Praktikum Mikrobiologi.Malang:Universitas Negeri Malang.

Pelczar, MJ dan ECS. Chan,.2006. Dasar-Dasar Mikrobiologi jilid II.Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI - Press

Sutedjo. 1996. Mikrobiologi Tanah. Rineka Cipta. Jakarta.