



PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS PGRI YOGYAKARTA

SURAT TUGAS

Nomor : 004/PS-THP/FP/UPY/IX/2022

Yang bertandatangan di bawah ini Ketua Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas PGRI Yogyakarta memberikan tugas untuk penyusunan bahan ajar dan panduan praktikum semester ganjil tahun ajaran 2022/2023 kepada dosen Teknologi Hasil Pertanian dibawah ini :

No	Nama	NIDN
1	Lana Santika Nadia, S.T.P., M.Sc.	0510128802
2	Dewi Amrih, S.T.P., M.Sc.	0528128401
3	Atika Nur Syarifah, S.T.P., M.Sc.	0514019301
4	Suharman, S.T.P., M.Sc.	0530079401

Demikian surat tugas ini dibuat, atas kerjasamanya yang baik diucapkan terimakasih.

Yogyakarta, 26 September 2022

Ketua Program Studi
Teknologi Hasil Pertanian

Suharman, S.T.P., M.Sc.
19940730 201910 1 004





PANDUAN PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PENGOLAHAN HASIL PERTANIAN



**PROGRAM SARJANA
TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS PGRI YOGYAKARTA
TAHUN 2022/2023**

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga panduan praktikum mikrobiologi pengolahan hasil pertanian dapat diselesaikan. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang terlibat.

Penulis menyadari jika selama proses penyusunan panduan praktikum MPP masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis memohon saran & kritik dari berbagai pihak guna menjadi bahan perbaikan bagi penulis untuk waktu yang akan datang. Semoga panduan ini bermanfaat untuk semua pihak.

Yogyakarta, 1 September 2022

Penulis

Tata tertib aktivitas selama praktikum MPHP

Teknologi Hasil Pertanian

1. Praktikan datang ke laboratorium tepat waktu (10 menit sebelum praktikum dimulai).
2. Praktikan diharuskan telah mempelajari dan memahami prosedur dan cara kerja praktikum yang telah tersusun dalam Buku Petunjuk Praktikum atau telah dijelaskan sebelumnya pada saat Asistensi Praktikum.
3. Praktikan diwajibkan untuk menggunakan Jas Laboratorium dengan ketentuan jas memiliki lengan panjang dari bahan kain yang tidak mudah terbakar.
4. Praktikan diwajibkan menggunakan alat pelindung diri (masker, sarung tangan, kaca mata) jika diinstruksikan oleh Asisten Praktikum sebelum memulai aktivitas praktikum.
5. Tidak diperbolehkan untuk makan/minum, merokok, dan bersenda gurau selama berada dalam laboratorium.
6. Praktikan wajib mengamati dengan seksama percobaan dan penjelasan yang dilakukan, serta mencatat hasil yang diperoleh selama percobaan. Misalnya: berat/volume, data kuantitatif dan kualitatif, bentuk, dan lain-lain.
7. Praktikan diwajibkan membersihkan dan menempatkan kembali beragam alat dan bahan yang digunakan selama praktikum pada tempat yang telah disediakan, tidak terkecuali meja dan lantai laboratorium.
8. Praktikan wajib menyusun laporan sementara yang akan divalidasi oleh Asisten Praktikum untuk kemudian dijadikan sebagai data utama menyusun laporan praktikum.

ACARA 1 . UJI MBRT KUALITAS SUSU

A. Landasan teori

1. Methylene Blue Reductase Test (MBRT)

a. Mekanisme Methylene Blue Dalam Uji Reduktase Susu

Reductase Enzyme => Aktivitas enzim reduktase dapat diketahui dengan cara menambah zat warna metilen biru dalam susu. Apabila terdapat aldehyd hasil aktivitas enzim reduktase, maka metiilen blue akan tereduksi. Enzim ini akan tidak aktif pada suhu 130°C.

b. Uji Reduktase dengan Methylen Blue

Tes ini didasarkan pada prinsip bahwa metil biru (pewarna oksidasi-reduksi atau indikator) yang berwarna biru teroksidasi, direduksi menjadi senyawa tidak berwarna sebagai akibat dari aktivitas metabolisme bakteri dalam susu. Ketika larutan pewarna yang ditambahkan, organisme hadir dalam susu mengkonsumsi oksigen terlarut dan bawah atau potensi ke tingkat di mana indikator metil biru atau serupa dikurangi atau decolorized.

Bertujuan menentukan adanya kuman-kuman di dalam susu dalam waktu cepat. Kualitas susu salah satunya dilihat dari kualitas mikrobiologisnya. Susu merupakan media pertumbuhan yang tepat untuk organisme perusak yang umum. Perubahan yang tidak dikehendaki dalam susu dipengaruhi oleh pertumbuhan mikroba dan metabolismenya. Susu rusak diakibatkan oleh mikroorganisme yang dapat merombak senyawa di dalam susu.

Salah satu pengujian mikrobiologi susu adalah dengan uji biru metilen (methylene blue test). Uji ini dapat memberikan perkiraan jumlah bakteri dalam susu dengan mengamati waktu yang dibutuhkan oleh bakteri untuk melakukan aktivitas yang dapat menyebabkan perubahan zat warna biru metilen. Semakin tinggi jumlah bakteri dalam susu, semakin cepat terjadinya perubahan warna.

Aktivitas enzim reduktase dapat diketahui dengan cara menambah zat warna metilen biru dalam susu. Apabila terdapat aldehyd hasil aktivitas enzim reduktase, maka metilen blue akan tereduksi. Enzim ini akan tidak aktif pada suhu 130°C.

c. Mekanisme Perubahan Warna Biru Metilen Oleh Mikroorganisme

Organisme yang tumbuh dalam susu akan menghasilkan oksigen yang ada. Karena oksigen habis, terjadi reaksi oksidasi-reduksi untuk kelangsungan hidup mikroba. Sitrat yang merupakan metabolit mikroba berfungsi sebagai donor hidrogen, methylene blue sebagai aseptor hidrogen, dan enzim reduktase yang diproduksi mikroba merupakan katalis. Reaksi oksidasi yang terjadi harus dapat menyediakan energi untuk pertumbuhan mikroba. Oleh karena itu, dengan enzim reduktase mikroba menurunkan potensial oksidasi-reduksi, dengan

mereduksi methylene blue. Karena tereduksi maka methylene blue berubah warnanya dari biru menjadi putih metilen/methylene white.

d. Metode Metilen Blue

Uji metilen blue dapat memberikan gambaran perkiraan jumlah bakteri yang terdapat dalam susu. Dalam uji ini ditambahkan sejumlah zat warna ke dalam susu, kemudian di amati waktu yang dibutuhkan oleh bakteri untuk melakukan aktifitas yang dapat menyebabkan perubahan warna zat tsb. Semakin tinggi jumlah bakteri dalam susu, semakin cepat terjadinya perubahan warna. Selain merupakan cara yang lebih cepat dibandingkan metode hitung cawan, metode ini juga lebih tinggi, karena bakteri yang terdapat dalam keadaan kelompok dimana dalam hitung cawan di hitung sebagai satu koloni.

Kelemahan Metoda Metilen Blue, antara lain :

- Cara ini tidak praktis dilakukan terhadap susu yang mengandung bakteri dalam jumlah sedikit
- Metoda ini tidak dapat membedakan jenis bakteri yang terdapat dalam susu

e. Uji Kualitas Susu Sapi Segar dengan Metode Methylene Blue Reductase Test (MBRT)

Susu merupakan bahan makanan yang hampir sempurna dan merupakan makanan alamiah bagi binatang menyusui yang baru lahir, dimana susu merupakan satu-satunya sumber makanan pemberi kehidupan segera sesudah kelahiran. Dalam Undang-Undang Pangan Tahun 1996 dijelaskan bahwa standar mutu pangan adalah spesifikasi atau persyaratan teknis yang dilakukan tentang mutu pangan, misalnya, dari segi bentuk, warna, atau komposisi yang disusun berdasarkan kriteria tertentu yang sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, serta aspek lain yang terkait. Menurunnya mutu atau kerusakan air susu bisa saja disebabkan karena tercemarnya susu oleh mikroorganisme atau benda asing lain seperti penambahan komponen lain yang berlebihan (gula, lemak nabati, pati, dll). sifat fisik susu meliputi warna, bau dan rasa, berat jenis, titik didih, titik beku dan kekentalannya. Warna susu berkisar antara putih kebiruan hingga kuning keemasan akibat penyebaran butiran koloid lemak, kalsium kaseinat serta bahan utama pemberi warna kekuningannya yaitu karoten dan riboflavin (Vit. B2).

B. Tujuan

Melakukan pengujian kualitas susu sapi segar disimpan dingin, susu sapi segar disimpan suhu ruang, susu pasteurisasi, dan susu UHT dengan metode MBRT. Menentukan kualitas susu segar yang diujikan.

C. Metode praktikum

a. Alat

- Pipet ukur
- Pipet ukur
- Propipet
- Bunsen
- Tabung reaksi
- Inkubator waterbath
- Botol kaca
- Botol kaca lapis aluminium foil
- Stopwatch

b. Bahan

- Methylene Blue 1%
- Kertas label
- Disinfektan secukupnya
- Sampel susu :
 - Susu sapi segar disimpan dingin
 - Susu sapi segar disimpan suhu ruang
 - Susu pasteurisasi
 - Susu UHT

c. Prosedur kerja



ACARA II. PENGAWETAN MIKROBIA DENGAN *CRYOPROTECTANT*

A. Landasan Teori

1. Cryoprotectant

Cryoprotectant merupakan bahan yang ditambahkan pada suspensi sel untuk melindungi sel dari kerusakan akibat pembekuan sehingga viabilitas sel selama penyimpanan tetap tinggi. Cryoprotectant mempunyai kemampuan untuk menstabilkan struktur makromolekul sel terhadap pengaruh terbentuknya kristal es dengan memperkuat gaya hidrofobik. Cryoprotectant juga akan menstabilkan sel atau membran melawan pengaruh kondisi lingkungan yang kurang mendukung yang ditimbulkan oleh perlakuan pembekuan.

Cryoprotectant dapat digolongkan menjadi 2 yaitu

- 1) Koligatif → dapat terpenetrasi ke dalam sel yang digunakan dalam konsentrasi tinggi dan akan mempengaruhi titik beku sistem. Cryoprotectant ini cocok untuk pembekuan cepat. Contohnya adalah gliserol.
- 2) Non-koligatif → tidak dapat terpenetrasi ke dalam sel yang digunakan untuk konsentrasi rendah. Cryoprotectant ini cocok untuk pembekuan lambat. Contohnya adalah sukrosa.

Mekanisme gliserol sebagai cryoprotectant

Mekanisme penambahan gliserol yaitu gliserol dapat terpenetrasi ke dalam sel dan mampu mencegah dehidrasi osmotik sel. Gliserol akan melindungi sel dari kerusakan dua arah, yaitu dari dalam dan luar sel. Pada awalnya gliserol akan terpenetrasi ke dalam sel, kemudian mengikat elektrolit dan sebagian air sehingga perubahan konsentrasi elektrolit intrasel maupun ekstra sel tidak terjadi. Selain itu, kristal es yang terbentuk di dalam sel berukuran kecil dan jumlahnya berkurang sehingga ketahanan sel *Lactobacillus bulgaricus* terjaga.

2. Prinsip Cryoprotectan

- *Cryoprotectan* menurunkan suhu *glass transition* mencegah perpindahan air dari luar ke dalam sel.
- Gliserol merupakan salah satu *cryoprotectan* yang dapat mencegah terbentuknya kristal es saat pembekuan
- gliserol dapat memperkecil konsentrasi sel menjaga keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel mengurangi efek terjadinya plasmolisis mencegah dehidrasi sel
- gliserol lebih efektif digunakan untuk pembekuan lambat karena :
- Pembekuan lambat terbentuk kristal internal konsentrasi di luar sel lebih pekat daripada di dalam sel cairan internal sel keluar sel mengalami dehidrasi (mengkerut)
- Peran gliserol : bekerja di luar sel, menyelimuti bagian luar sel menjaga keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel memekatkan air di luar sel sehingga konsentrasi di luar sel lebih tinggi air keluar dari dalam sel mencegah terbentuknya kristal internal

Mekanisme gliserol sebagai *cryoprotectant* gliserol dapat memperkecil konsentrasi sel menjaga keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel mengurangi efek terjadinya plasmolisis mencegah dehidrasi sel gliserol lebih efektif digunakan untuk pembekuan lambat

karena :Pembekuan lambat terbentuk kristal internal konsentrasi di luar sel lebih pekat daripada di dalam sel cairan internal sel keluar sel mengalami dehidrasi (mengkerut)
Peran gliserol : bekerja di luar sel, menyelimuti bagian luar sel menjaga keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel memekatkan air di luar sel sehingga konsentrasi di luar sel lebih tinggi air keluar dari dalam sel mencegah terbentuknya kristal internal

B. Tujuan

- Melakukan penyimpanan bakteri *yoghurt* dengan pembekuan
- mengetahui pengaruh penambahan *cryoprotectant* (gliserol) dan aquades terhadap viabilitas sel selama penyimpanan beku.

C. Metode praktikum

a. Bahan

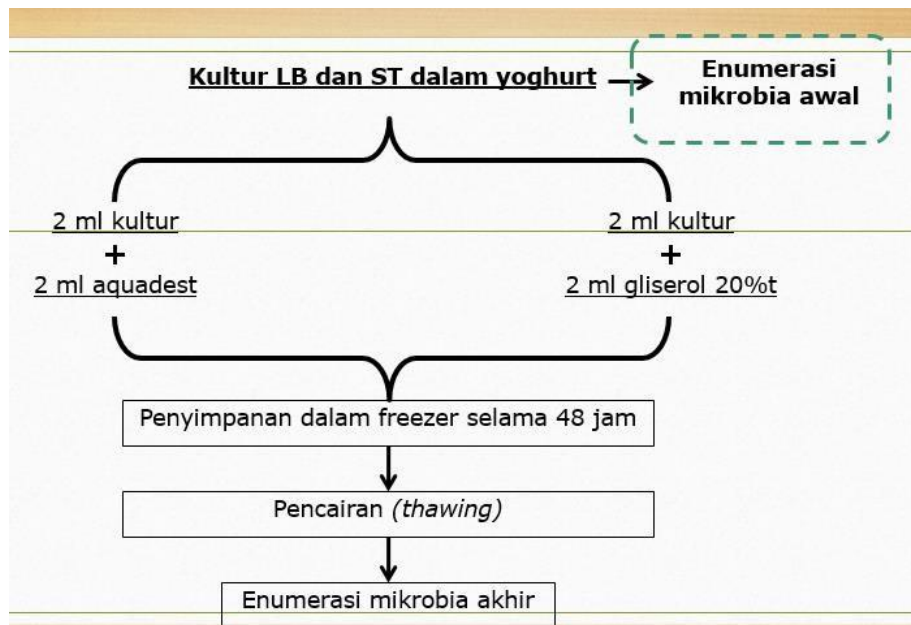
- Kultur bakteri (LB dan ST)
- Cryoprotectant (gliserol 20%)
- Aquadest steril
- Media MRS agar

b. Alat

- Erlenmeyer
- Tabung reaksi
- Ependorf
- Pipet ukur
- Propipet
- Petridisk
- Vorteks
- Lampu Bunsen

c. Prosedur Kerja

1. Masukkan sampel 1 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah diisi dengan 9 ml larutan NaCl 0,85% secara aseptis.
2. Sampel yang sudah dilarutkan divortex hingga tercampur merata
3. Ambil larutan sampel sebanyak 1 ml dan masukkan kembali ke dalam tabung reaksi berikutnya secara aseptis.
4. Prosedur diatas diulangi sampai pada tingkat pengenceran yang diinginkan.
5. Setelah dilakukan pengenceran sampai tingkat yang diinginkan, diambil pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} untuk dilakukan plattig dengan metode spread plate.
6. ambil masing-masing 0,5 ml sampel dari tiap pengenceran dan tanam dalam cawan petri dengan media MRSA yang telah disterilkan, inkubasikan selama 2-3 hari dengan posisi terbalik, pada suhu 30-32°C. Hitung koloni yang tumbuh.



ACARA III. UJI KERUSAKAN BAHAN PANGAN OLEH MIKROBA

A. Landasan Teori

1. Kerusakan Bahan Pangan oleh Mikroorganisme

Kerusakan makanan oleh mikroorganisme tergolong dalam kerusakan biologis. Kerusakan biologis adalah kerusakan bahan pangan yang di sebabkan oleh aktivitas mikroba. Mikroba yang dapat merusak bahan pangan antara lain adalah kapang, khamir dan bakteri. Mikroba-mikroba ini merusak bahan pangan dengan cara hidrolisa atau mendegradasi senyawa penyusun bahan pangan tersebut menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil. Perusakan oleh mikroba biasanya di sertai dengan terbentuknya asam yang menyebabkan penurunan pH dan terbentuknya gas-gas yang dapat mempengaruhi bau dan cita rasa. Mikroba-mikroba yang dapat menyebabkan kerusakan pada bahan pangan tersebut mempunyai daya rusak yang tinggi karena dapat menyebabkan degradasi komponen bahan pangan sehingga bersifat toksin dan berbahaya untuk kesehatan.

Bahan pangan yang telah terkontaminasi mikroba akan menjadi sumber kontaminasi bagi bahan pangan yang masih bagus. Karena itu cara satu-satunya adalah bahan pangan terkontaminasi harus segera di musnahkan agar mikroba-mikroba tersebut tidak berkembang biak dan menulari bahan pangan lainnya. Kerusakan bahan pangan oleh mikroba selain bersifat sangat merugikan juga membahayakan kesehatan manusia. Karena mikroorganisme tersebut biasanya menghasilkan racun. Contohnya adalah mikroba *C. botulinum*, *E.coli*, dll.

B. Tujuan

Mahasiswa dapat mengetahui kerusakan pangan yang disebabkan oleh mikroba.

C. Metode Praktikum

a. Bahan

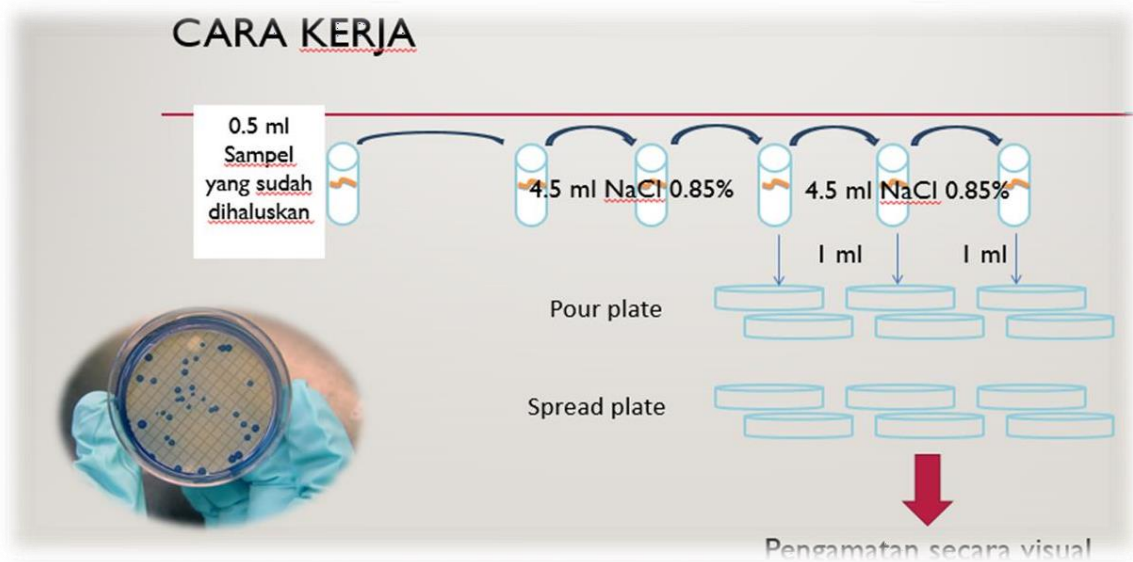
- Alkohol 70%
- Larutan Fisiologis
- Spirtus
- Jus Buah Pepaya
- Aquadest
- Kapas
- Tisu
- Media PCA
- Alkohol Steril

b. Alat

- Blender
- Erlenmeyer
- Pipet ukur/Bluetip
- Propipet/Mikropipet
- Tabung reaksi
- Petridisk
- Dirglaski /Pipam
- Lampu Bunsen
- Vortex

c. Prosedur Kerja

1. Masukkan sampel 1 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah diisi dengan 9 ml larutan NaCl 0,85% secara aseptis.
2. Sampel yang sudah dilarutkan divortex hingga tercampur merata
3. Ambil larutan sampel sebanyak 1 ml dan masukkan kembali ke dalam tabung reaksi berikutnya secara aseptis.
4. Prosedur diatas diulangi sampai pada tingkat pengenceran yang diinginkan.
5. Setelah dilakukan pengenceran sampai tingkat yang diinginkan, diambil pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} untuk dilakukan plating dengan metode spread plate.
6. Ambil masing-masing 0,5 ml sampel dari tiap pengenceran dan tanam dalam cawan petri dengan media PCA yang telah disterilkan, inkubasikan selama 2-3 hari dengan posisi terbalik, pada suhu 30-32°C. Hitung koloni yang tumbuh.



ACARA IV. UJI TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT PADA YOGHURT DENGAN METODE TPC

A. Landasan Teori

1. Yoghurt

Yoghurt merupakan salah satu jenis minuman fermentasi susu oleh bakteri asam laktat yang memiliki khasiat bagi kesehatan dan pengobatan tubuh. Khasiat ini diperoleh karena adanya bakteri dalam yoghurt dan tingkat keasaman yoghurt, sehingga bakteri patogen dapat dihambat. Bakteri yang biasa digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Kedua starter tersebut juga dapat dikombinasi dengan *Lactobacillus acidophilus*. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* menguraikan laktosa atau gula susu menjadi asam laktat yang menyebabkan menjadi asam. Proses pengasaman dan penggumpalan protein pada yoghurt membuat yoghurt mudah dicerna oleh tubuh. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* menguraikan laktosa atau gula susu menjadi asam laktat yang menyebabkan menjadi asam. Proses pengasaman dan penggumpalan protein pada yoghurt membuat yoghurt mudah dicerna oleh tubuh. Selain itu, keberadaan asam laktat pada yoghurt juga membuat penyerapan kalsium di dalam tubuh menjadi lebih baik.

Yoghurt adalah produk susu fermentasi berbentuk semi solid yang dihasilkan melalui proses fermentasi susu dengan menggunakan bakteri asam laktat. Melalui perubahan kimiawi yang terjadi selama proses fermentasi. Komposisi gizinya mirip dengan susu, bahkan lebih lengkap dan jumlahnya relatif lebih banyak, diantaranya mengandung vitamin B kompleks, 5 kalsium, dan protein. Selama proses fermentasi yoghurt berlangsung, terjadi sintesis vitamin B kompleks, khususnya thiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2) dan beberapa asam amino penyusun protein (Budiana dan Susanto, 2005). Minuman probiotik adalah jenis minuman fungsional yang memiliki efek kesehatan serta mengandung mikroba hidup atau biasa disebut probiotik. Probiotik sendiri merupakan bakteri hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam usus dan mencegah serta menyeleksi mikroba yang tidak berfungsi (Primurdia dan Kusnadi, 2014). Probiotik yang terkandung di dalam minuman probiotik memiliki beberapa keuntungan yaitu dari segi nutrisi maupun terapeutik. Dari segi nutrisi probiotik dapat meningkatkan jumlah produksi riboflavin, niasin, thiamin, vitamin B6, vitamin B12, asam folat; meningkatkan jumlah ketersediaan kalsium, besi, mangan, tembaga, dan fosfor bagi tubuh; serta meningkatkan daya cerna dari protein serta lemak.

B. Tujuan

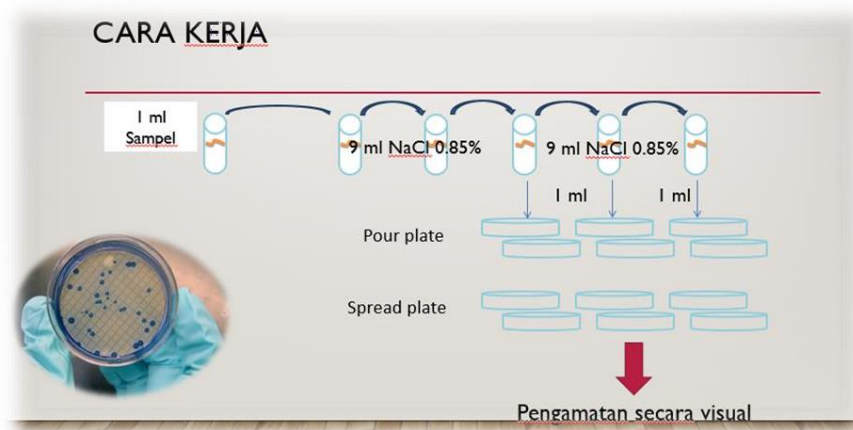
- Mahasiswa dapat melakukan uji total bakteri pada minuman probiotik.
- Mahasiswa dapat menganalisa kualitas mikrobiologi pada sampel Yoghurt.

C. Metode praktikum

a. Bahan	b. Alat
<ul style="list-style-type: none">• Alkohol 70%• Larutan Fisiologis• Spirtus• Yoghurt• Aquadest• Kapas• Tisu• Media MRSA• Alkohol Steril	<ul style="list-style-type: none">• Blender• Erlenmeyer• Pipet ukur/Bluetip• Propipet/Mikropipet• Tabung reaksi• Petridisk• Dirglaski /Pipam• Lampu Bunsen• Vortex

c. Prosedur Kerja

1. Masukkan sampel yoghurt 1 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah diisi dengan 9 ml larutan NaCl 0,85% secara aseptis.
2. Sampel yang sudah dilarutkan divortex hingga tercampur merata
3. Ambil larutan sampel sebanyak 1 ml dan masukkan kembali ke dalam tabung reaksi berikutnya secara aseptis.
4. Prosedur diatas diulangi sampai pada tingkat pengenceran yang diinginkan.
5. Setelah dilakukan pengenceran sampai tingkat yang diinginkan, diambil pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} untuk dilakukan plattig dengan metode spread plate.
6. ambil masing-masing 0,5 ml sampel dari tiap pengenceran dan tanam dalam cawan petri dengan media MRSA yang telah disterilkan, inkubasikan selama 2-3 hari dengan posisi terbalik, pada suhu 30-32°C. Hitung koloni yang tumbuh.



ACARA V. EKSTRAK BAWANG PUTIH SEBAGAI ANTIMIKROBIA

A. Landasan teori

Bawang putih merupakan umbi lapis berwarna putih yang berkhasiat sebagai obat, zat antimikroba yang banyak dipergunakan sebagai bahan penambah cita rasa dan pengawet alami makanan. Zat antibakteri sangat banyak jenisnya, dapat berasal dari alam atau bisa dibuat oleh manusia. Yang paling banyak didapatkan adalah yang berasal dari alam. Salah satu tanaman yang mengandung zat anti bakteri adalah bawang putih (*Allium sativum*). Bawang putih merupakan salah satu bahan alami yang bersifat menghambat bakteri. Bawang putih memiliki banyak manfaat antara lain anti bakteri (membunuh bakteri *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. thypii*, *V. cholerae*), antijamur (menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, *Microsporum*, *Cryptococcus neoformans*). Bawang putih mampu membunuh mikroba penyebab tuberkulose, dipteri, typhoid, disentri dan gonorrhoe. Selain itu bawang putih dapat menyembuhkan berbagai penyakit antara lain hipertensi, sakit kepala, flu, disentri, batuk, bisul yang baru tumbuh, luka akibat terkena benda tajam berkarat, cacingan, nyeri haid, migraine, perut kembung, cholera, maag, asma, masuk angin, ambeien, lemah syahwat, digigit serangga beracun dan mempunyai kemampuan menurunkan kadar kolesterol. Bawang putih mengandung minyak atsiri, yang bersifat antibakteri dan antiseptik. Bawang putih menghasilkan bau khas yang tidak sedap. Jenis senyawa yang menentukan bau khas bawang putih yaitu allisin yang mempunyai daya antibakteri yang kuat (Wibowo, 2006). Bawang putih dapat beraksi sebagai antibakteri dan antiviral karena bawang putih mengandung ekstrak sulphur yang memberi nilai lebih dalam kesehatan (Suririnah, 2005).

B. Tujuan

Mengetahui efektifitas ekstrak bawang putih sebagai antibakteri.

C. Metode praktikum

a. Bahan

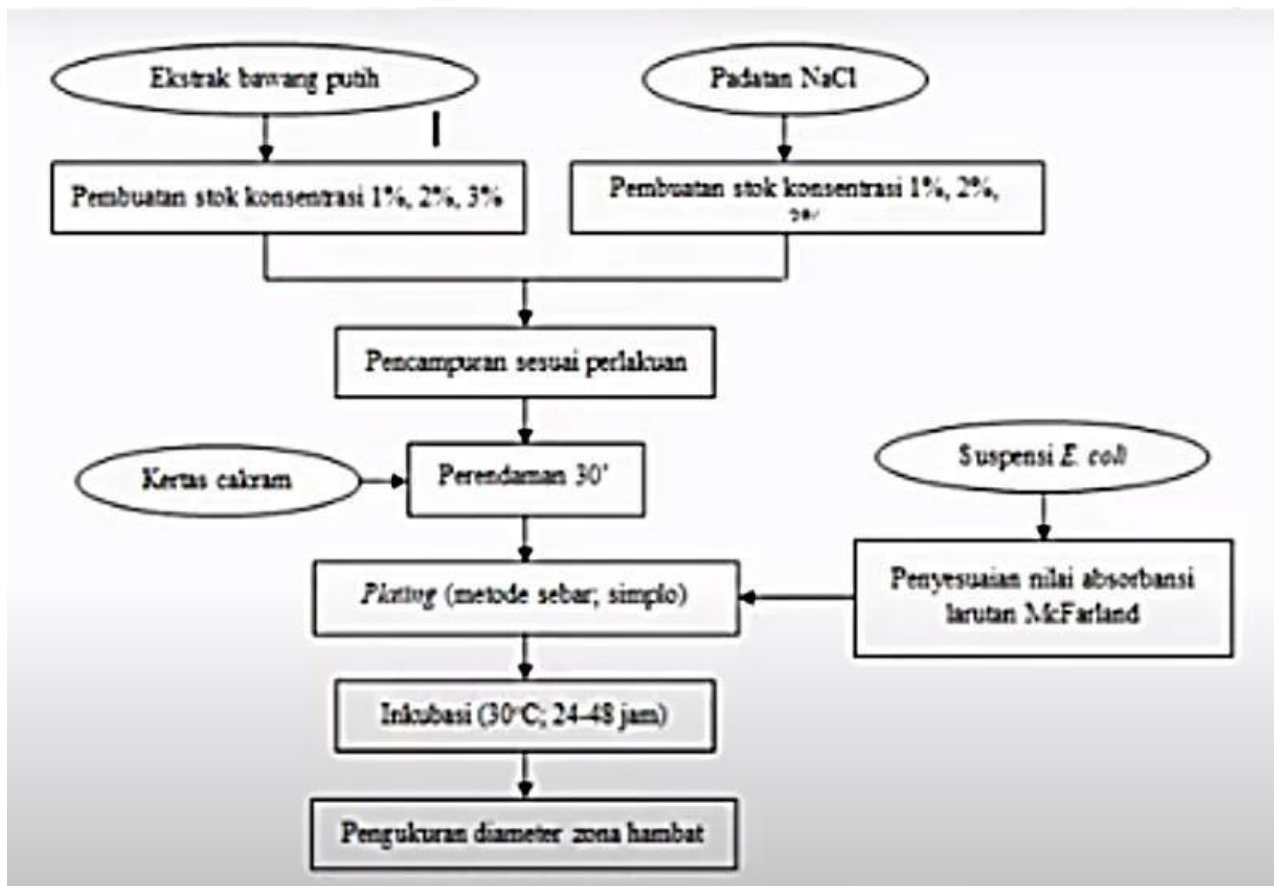
- Bawang Putih
- Nacl
- Aquadest
- Kertas Cakram
- Media PCA
- Kultur Bakteri *E.coli* (Coliform)
- Alkohol 70%
- Tisu
- Aluminium Foil
- Larutan fisiologis 0,85%

b. Alat

- Cawan Petri Steril
- Inkubator
- Tabung reaksi
- Lampu Bunsen
- Penggaris
- Blue Tip
- Mikropipet
- Gelas Ukur

c. Prosedur Kerja

1. Siapkan ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 1% (1 gram BP+ 100ml aquadest steril), 2% (2 gram BP+ 100ml aquadest steril), dan 3% (3 gram BP+ 100ml aquadest steril),
2. Siapkan NaCl konsentrasi 1% (1 gram NaCl+ 100ml aquadest steril), 2% (2 gram NaCl + 100ml aquadest steril), dan 3% (3 gram NaCl + 100ml aquadest steril),
3. Lakukan perendaman selama 30 menit
4. Siapkan kertas cakram dan media PCA, lakukan plating dengan metode sebar menggunakan bakteri coliform
5. Inkubasi 30⁰C selama 24-48 jam
6. Pengukuran Zona Hambat bakteri



ACARA VI. UJI AKTIFITAS STARTER DALAM MAKANAN FERMENTASI

A. Landasan Teori

Pengolahan Pangan merupakan salah satu metode atau cara mengolah bahan mentah menjadi makanan atau bentuk lain untuk konsumsi. Fermentasi dibedakan menjadi 2 yaitu spontan dan tidak spontan hanya di pengaruhi adanya kesengejaan atau tidak pada penambahan starter dalam adonan. Secara umum fermentasi tidak spontan terjadi dengan penambahan ragi roti, tape, yogurt. Fermentasi di pengaruhi oleh factor aktivitas starter. Banyak sedikitnya jumlah starter yang di tambahkan, PH, suhu, mikroba umum pada kisaran PH 6-8, hanya saja seperti khamir dan bakteri baik dan bakteri, asam laktat tumbuh baik pada kisaran PH 3-6.

Bioteknologi konvensional merupakan bioteknologi yang memanfaatkan mikroorganisme untuk memproduksi alcohol, asam asetat, gula bahan makanan. Salah satu contoh penerapan bioteknologi konvensional adalah pembuatan yogurt. Bakteri yang di gunakan sebagai starter khusus merupakan kultur bakteri asam laktat yaitu streptococcus thermophiles dan lactobacillus bulgaricus. Kedua bakteri itu mengurai laktosa (gula susu) menjadi asam laktat dan berbagai komponen aroma dan cita rasa. Laktosa adalah bentuk karbohidrat yang terdapat di dalam air susu.

Bakteri yang terdapat dalam susu fermentasi adalah bakteri probiotik yang dapat memproduksi asam laktat. Asam laktat yang di hasilkan ini mampu melakukan metabolisme kolesterol yang berasal dari maanan menjadi bentuk sterol yang dapat di serap oleh usus. Manfaat lain dari yogurt adalah mencegah hipertensi dan penyakit jantung coroner. Bakteri dari yogurt dapat hidup di dalam usus dan bersimbiosis dengan mikroflora lainnya. Adanya bakteri yang menguntungkan ddalam usus memberikan kondisi yang dapat mencegah pertumbuhan mikroba pathogen. Manfaatnya, berbagai penyakit akibat infeksi atau keracunan mikroba dapat di hindari akibat terhambatnya pertumbuhan mikroba pathogen. Kerja mikroflora dari yogurt akan di hasilkan suatu lapisan protein di sepanjang pencernaan. Ragi roti merupakan zat yang menyebabkan fermentasi. Ragi biasanya mengandung mikro organisme yang melakukan fermentasi dan media biakan bagi mikroorganisme tersebut. Media biakan ini dapat berbentuk butiran butiran kecil atau cairan nutrient. Ragi umumnya di gunakan dalam industry makanan untuk membuat makanan dan minuman hasil fermentasi seperti acar,tempe,tape,roti dan bir.

Fermentasi makanan dapat dibedakan atas 2 kelompok berdasarkan sumber mikroba yang berperan dalam fermentasi yaitu:

1. Fermentasi spontan. Yaitu fermentasi makanan dimana dalam pembuatannya tidak ditambahkan mikroba dalam bentuk starter atau ragi. Tetapi mikroba yang berperan aktif dalam proses fermentasi berkembang biak secara spontan karena lingkungan hidupnya yang dibuat sesuai untuk pertumbuhannya contoh sayur asin, dimana pertumbuhan dan aktifitas bakteri asam laktat dirangsang karena adanya garam yang ditambahkan sebelum proses fermentasi.

2. Fermentasi tidak spontan. Fermentasi ini terjadi pada makanan yang dalam pembuatannya ditambahkan mikroba dalam bentuk kultur atau starter atau ragi. Dimana mikroba tersebut akan berkembang biak dan aktif mengubah bahan yang difermentasi menjadi

produk yang diinginkan. Seperti yang terjadi dalam pembuatan tempe, oncom, keju, yougurt, sosis, roti, dsb. Banyak keuntungan yang bisa diambil dari produk makanan yang difermentasi baik dari sifat-sifat organoleptik (indrawi), peningkatan nilai gizi ataupun sanitasi.

Keunggulan dari makanan fermentasi antara lain memberikan penampakan, dan cita rasa yang khas, misalnya pada tempe, oncom, tauco, berbeda dari penampakan atau rasanya dengan bahan aslinya kedelai. Lantas memunyai aroma yang lebih menyenangkan dengan terbentuknya asam, alkohol, ester, dan senyawa pembentuk aroma lainnya pada produk bir, yoghurt, keju, kecap, anggur, acar, tape, tauco, brem. Fermentasi oleh organisme yang dikehendaki memberi flavor, bentuk yang bagus (bouquet) dan tekstur bahan pangan yang telah difermentasi. Untuk hidup, semua organisme membutuhkan sumber energi-energi yang diperoleh dari metabolisme bahan pangan di mana organisme berada di dalamnya. Bahan baku energi yang paling banyak digunakan di antara mikroorganisme adalah glukosa. Dengan adanya oksigen, beberapa mikroorganisme mencerna glukosa dan menghasilkan air, karbondioksida, dan sejumlah besar energi (ATP) yang digunakan untuk tumbuh ini merupakan metabolisme tipe aerobik

B. Tujuan

Mengetahui aktivitas starter mikroorganisme dalam fermentasi pangan

C. Metode praktikum

a. Bahan

- Susu Pasteurisasi
- Starter yoghurt LBST
- Indikator pp 1%
- Larutan NaOH 0,1N
- Alkohol 70%
- Tisu
- Aluminium Foil

a. Alat

- Cawan Petri Steril
- Inkubator
- Tabung reaksi
- Lampu Bunsen
- Erlenmeyer 250 dan 50 ml
- Blue Tip
- Beaker glass 50 ml
- Water bath
- Biuret 50 ml
- Pipet ukur 10 ml
- pH meter
- Gelas Ukur

c. Prosedur Kerja

1. 50 ml susu pasteurisasi dimasukan dalam Erlenmeyer kemudian dihangatkan dengan penangas air sampai suhu 37⁰C. Buat sampel untuk masing-masing pengamatan 0 jam, 0,5 jam dan 1 jam.
2. Tambahkan 4% starter yoghurt (LBST) kemudian inkubasi pada suhu 45⁰C selama 1 jam
3. Amati setiap 48 jam selama 3 kali terhadap kekentalan, pH, Kadar asam laktat
 - Kekentalan diamati secara Visual dengan penilaian secara kualitatif dari + sampai +++
 - Pengukuran pH dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 20 ml sampel, tempatkan dalam beaker glass 50 ml, ukur pH nya menggunakan pH meter.
 - Pengukuran kadar asam laktat dilakukan dengan mengambil bahan sebanyak 10 ml menggunakan pipet ukur, masukan dalam Erlenmeyer 50ml, tambah 10 ml aquadest,gojog, tambah 5 tetes indicator pp 1%. Titrasi menggunakan Larutan NaOH 0,1 Nsampai terbentuk warna merah mudayang tidak hilang selama 30 detik.

Kadar asam laktat ditentukan dengan persamaan :

$$\% \text{ Asam laktat} = \frac{(V.N) \text{ NaOH} \times 90 \times fp}{10 \times 1000} \times 100\%$$

DAFTAR PUSTAKA

1. Bapat P, Nandy SK, Wangikar P, Venkatesh KV (2006). Quantification of metabolically active biomass using Methylene Blue dye Reduction test (MBRT): Measurement of CFU in about 200 seconds! J. Microbiol. Methods. 65: 107-116
2. Mazar, Peter. 1969. Physical and Chemical Basic of Injury in Single Cell Microorganism Subjected to Freezing and Thawing in Cryologi. London: Academi Press
3. Joshi, A.J., 2016. A review and Application of Cryoprotectant: The Science of Cryonics. PharmaTutor, 4(1), pp.12-18
4. Halim, C. N. dan Zubaidah, E. 2013. Studi kemampuan probiotik isolat bakteri asam laktat penghasil eksopolisakarida tinggi asal sawi asin (*Brassica juncea*). Jurnal Pangan dan Agroindustri. 1(1): 129-137.
5. Chandan, R. C. dan Kilara, A. 2013 “Manufacturing Yoghurt and Fermented Milks”. . John Wiley & Sons, Ltd., USA.
6. Primurdia, E. G. dan Kusnadi, J. 2014. Aktivitas antioksidan minuman probiotik sari kurma (*Phoenix dactylifera* L.) dengan isolat *L. plantarum* dan *L. casei*. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2(3): 98-109.
7. Retnowati, P. A. dan Kusnadi, J. 2014. Pembuatan minuman probiotik sari buah kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. Jurnal Pangan dan Agroindustri. 2(2): 70-81.
8. El-Mahmood, M. 2009. Efficacy of crude extract of garlic (*Allium sativum* Linn.) against nosocomial *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Plants Res. 4: (179- 185).