



STERILISASI DAN MEDIA

MODUL 1. MIKROBIOLOGI
LINGKUNGAN

TIWI YUNIASTUTI, dkk

TEKNIK STERILISASI SECARA MIKROBIOLOGIS

Sterilisasi atau suci hama yaitu suatu proses membunuh segala bentuk kehidupan mikroorganisme yang ada dalam sample/contog, alat-alat atau lingkungan tertentu. Dalam suatu bidang bakteriologi, kata sterilisasi sering dipakai untuk menggambarkan langkah yang diambil agar mencapai tujuan meniadakan atau membunuh semua bentuk kehidupan mikroorganisme [6].

Sterilisasi di desain untuk membunuh atau untuk menghilangkan suatu mikroorganisme. Target suatu metode inaktivasi tergantung dari metode dan tipe mikroorganismenya, yaitu tergantung dari asam nukleat, protein, atau membran mikroorganisme tersebut. Agen kimia untuk sterilisasi disebut sterilant. Istilah lain yang umum dikenal adalah disinfeksi, yang merupakan proses pembunuhan atau penghilangan mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit. Agen disinfeksi adalah disinfektan, yang biasanya merupakan zat kimiawi dan digunakan untuk objek-objek tak hidup. Disinfeksi tidak menjamin objek menjadi steril karena spora viabel dan beberapa organisme tetap dapat tersisa [1].

Sterilisasi dalam mikrobiologi merupakan suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau di dalam suatu benda. Hal-hal yang dilakukan ketika pertama kalinya melakukan pemindahan biakan bakteri secara aseptik, sesungguhnya hal itu telah menggunakan salah satu cara sterilisasi, yaitu pembakaran. Di lain sisi, ada beberapa peralatan dan media yang umum dipakai di dalam pekerjaan mikrobiologi yang menjadi rusak apabila dibakar. Tiga cara utama yang umum dipakai dalam sterilisasi yaitu penggunaan panas, bahan kimia, dan penyaringan atau filtrasi [7].

Sterilisasi, mutlak dibutuhkan untuk inaktivasi total seluruh bentuk kehidupan mikroba, yang berkaitan dengan kemampuan reproduksi suatu mikroba. Suatu bakterisida merupakan bahan yang merusak bakteri. Disinfektan merupakan salah satu germisida berupa bahan yang mampu membunuh mikroba penyebab infeksi [11]

Pemantauan proses sterilisasi didasarkan dengan tiga cara yaitu secara fisika dengan mengukur temperatur, tekanan, dan waktu; secara kimia dengan *autoclave tape*, *sterilization pouch* yang memperlihatkan perubahan warna bila telah tercapai siklus sterilisasi yang dilakukan; secara biologis dengan Efisiensi Sterilisasi Alat Bedah Mulut melalui Inovasi Oven dengan Ozon dan *Infrared* menggunakan *spore strip* atau suspensi

biakan spora; untuk cara autoklafisasi digunakan *Geobacillus stearothermophilus*, sedangkan pada sterilisasi dengan oven dipakai *Bacillus atrophaeus*.^{1,2,3} [8].

Model sterilisasi dibagi menjadi dua, yaitu metode fisik dan metode kimia. Metode sterilisasi kimia dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia, sedangkan metode sterilisasi fisik dapat dilakukan dengan cara panas baik panas kering maupun panas basah, radiasi, dan filtrasi. Metode sterilisasi panas merupakan metode yang digunakan untuk bahan tahan panas. Metode sterilisasi panas dengan penggunaan uap air disebut metode sterilisasi panas basah. Metode sterilisasi panas tanpa kelembaban (tanpa penggunaan uap air) disebut metode sterilisasi panas kering atau sterilisasi kering. Umumnya untuk bahan yang sensitif terhadap kelembaban digunakan metode sterilisasi panas kering pada temperatur 160-180°C. Proses sterilisasi panas terdiri atas tiga tahap, yaitu tahap pemanasan (peningkatan temperatur bahan yang disterilasi), tahap sterilisasi (waktu yang diperlukan untuk proses sterilisasi), dan tahap pendinginan (waktu yang diperlukan untuk penurunan temperatur bahan yang disterilasi [1].

Sterilisasi panas kering berfungsi untuk mematikan organisme dengan cara mengoksidasi komponen sel ataupun mendenaturasi enzim. Metode ini tidak dapat digunakan untuk bahan yang terbuat dari karet atau plastik, waktu sterilisasinya sekitar 2-3 jam, dan berdaya penetrasi rendah. Metode sterilisasi kering ini tidak memerlukan air sehingga tidak ada uap air yang membasahi alat atau bahan yang disterilkan. Ada dua metode sterilisasi panas kering yaitu dengan insinerasi, yaitu pembakaran dengan menggunakan api dari Bunsen dengan temperatur sekitar 350°C, dan dengan udara panas oven yang lebih sederhana dan murah dengan temperatur sekitar 160-170°C. Sterilisasi panas basah dengan perebusan menggunakan air mendidih 100°C selama 10 menit efektif untuk sel-sel vegetatif dan spora eukariot, namun tidak efektif untuk endospora bakteri. Tingkat sterilisasi panas basah pada temperatur kurang dari 100°C tergantung pada temperatur dan waktu sterilisasi. Endospora bakteri umumnya resisten terhadap sterilisasi cara ini. Sterilisasi panas basah digunakan untuk bahan yang sensitif panas, untuk industri makanan berkisar pada temperatur 60-80°C, susu pada temperatur 63°C selama 30 menit, produk plasma manusia dengan pasteurisasi pada temperatur 60°C selama 10 jam, sedangkan peralatan dan cairan disterilkan dengan pemanasan pada temperatur 100°C selama 5-10 menit [1].

Mikroorganisme memiliki sensitivitas yang berbeda-beda terhadap metode sterilisasi tertentu. Endospora bakteri resisten terhadap panas, radiasi, dan detergen; virus tanpa envelope resisten terhadap pelarut organik dan detergen; mycoplasma dan virus tidak dapat dihilangkan dengan filter steril yang memiliki ukuran pori 0,2 um [1].

1. Metode Penelitian

Sterilisasi alat dan bahan secara mikrobiologis menggunakan metode panas yang dilakukan dengan metode panas kering (*Dry Hot Air*) dan metode panas uap/panas basah (*Moist Wet Heat*). Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus menggunakan kertas dan ditutupi dengan kapas terlebih dahulu. Cawan petri dan tip pipet dibungkus menggunakan kertas, sedangkan erlenmeyer dan tabung reaksi ditutupi dengan kapas kemudian dibungkus dengan kertas. Selanjutnya alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam autoklaf atau yang dikenal dengan sterilisasi metode panas basah. Atur suhu sterilisasi pada 121°C selama 12-15 menit. Sedangkan jika menggunakan metode panas kering, maka alat-alat tersebut dimasukkan ke dalam oven dengan kisaran suhu 160-180°C selama 1,5 sampai 3 jam.

Pada penggunaan otoklaf, peralatan akan disterilkan pada tekanan uap 15 pound per inci persegi (kira-kira 1,5 atmosfer). Uap air jenuh memanaskan bahan-bahan tadi sehingga dengan cepat disterilkan dengan melepaskan panas yang laten. Dengan kondensasi sejumlah 1600 ml uap pada 100°C dan tekanan 1 atmosfer, akan terjadi embun sejumlah 1 ml dengan melepaskan 518 kalori. Air yang mengembun tadi akan menyebabkan keadaan lembab yang cukup untuk membunuh mikroorganisme [3].

Autoklaf adalah suatu bejana yang dapat ditutup, yang diisi dengan uap panas dengan tekanan tinggi. suhu didalamnya dapat mencapai 115°C hingga 125°C dan tekanan uapnya mencapai 2 hingga 4 ATM. Alat tersebut merupakan ruang uap berdinding rangkap yang diisi dengan uap jenuh bebas udara dan dipertahankan pada suhu serta tekanan yang ditentukan selama periode waktu yang dikehendaki. Waktu yang diperlukan untuk sterilisasi tergantung pada sifat bahan yang disterilkan, tipe wadah dan volume bahan. Kondisi yang baik digunakan untuk sterilisasi adalah pada 15 psi dan temperatur 121°C selama 15 menit. Agar penggunaan autoklaf efektif, uap air harus dapat menembus setiap alat yang disterilkan. oleh karena itu, autoklaf tidak boleh terlalu penuh, agar uap air benar-benar menembus semua area[10].

Didalam autoklaf, yang mensterilkan adalah panas basah, dan bukan tekanannya. Oleh karena itu, setelah air didalam tangki mendidih dan mulai dibentuk uap air, maka uap air ini akan dialirkan ke ruang pensteril guna mendesak keluar semua udara di dalamnya. Apabila masih ada udara yang tersisa, maka udara ini akan menambah tekanan di dalam ruang pensteril yang akan mengganggu naiknya suhu dalam ruang tersebut[2].

Tabel 1. Metode Sterilisasi Secara Mikrobiologis

No	Nama Sterilisasi	Metode
1.	Metode Panas Kering	Panas
2.	Metode Uap Panas Basah	Panas



Gambar. 1



Gambar. 2

Udara merupakan suatu penghantar panas yang buruk, oleh sebab itu harus dikeluarkan dari ruangan autoklaf. Rongga didalam suatu autoklaf tidak boleh terlalu penuh diisi dengan benda-benda yang akan dilakukan sterilisasi supaya dapat terjadi aliran uap yang cukup baik. Prinsip autoklaf adalah terjadinya koagulasi yang lebih cepat dalam keadaan basah dibandingkan dengan keadaan kering. Proses sterilisasi dengan menggunakan autoklaf ini dapat membunuh mikroorganisme dengan cara mendenaturasi atau mengkoagulasi protein pada enzim dan membran sel mikroorganisme[4].

1. Hasil dan Pembahasan

Hasil percobaan teknik sterilisasi secara mikrobiologis telah menunjukkan bahwa alat-alat yang tersterilisasi dapat digunakan dalam keadaan aseptis dan terjamin keamanannya apabila digunakan. Sterilisasi dalam praktikum mikrobiologi penting dilakukan, karena agar bahan atau peralatan yang digunakan tersebut terhindar dari hadirnya suatu mikroorganisme lain yang tidak diinginkan yang akan mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan

sehingga pelaksanaan praktikum dapat berjalan dengan lancar.

Sterilisasi dengan metode panas dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode panas kering dan metode uap panas basah. Sterilisasi panas kering dapat dilakukan dengan menggunakan peralatan Oven. Oven digunakan untuk mensterilisasi alat yang terbuat dari kaca dan kertas yang tahan terhadap suhu tinggi. Oven terbuat dari kotak logam, udara yang didalamnya mendapat udara yang panas melalui panas daya listrik. Sebelum dimasukkan alat-alat seperti erlenmeyer, cawan petri, labu ukur, batang pengaduk, pipet tetes, gelas ukur, tabung reaksi atau alat yang terbuat dari kaca dibungkus dengan kertas terlebih dahulu untuk mencegah terjadinya keretakan dan kontaminasi pada saat alat dikeluarkan dari dalam oven. Alat-alat yang akan disterilisasi dicuci dan dikeringkan terlebih dahulu, alat yang mempunyai mulut ditutup dengan kapas, kertas atau aluminium foil seperti labu ukur, pipet tetes, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri dan labu ukur kemudian dibungkus kertas dengan rapi. Tujuan dari pembungkusan itu yaitu agar semua alat tidak terkontaminasi dengan bakteri luar dan alat tidak pecah karena pada umumnya alat terbuat dari kaca. Alat-alat yang sudah dibungkus dimasukkan kedalam oven dengan temperatur 160-180°C selama 1,5-3,0 jam. Setelah pemanasan selesai oven dimatikan yang bertujuan untuk menghindari keretakan alat ataupun untuk menghindari masuknya udara yang mengandung partikel debu. Setelah dilakukan sterilisasi alat siap digunakan untuk melakukan percobaan. Karena panas kering kurang efektif untuk membunuh mikroba dibandingkan dengan uap air panas maka metode ini memerlukan temperatur yang lebih tinggi dan waktu yang lebih panjang.

Dalam sterilisasi juga digunakan alat yang dikenal dengan autoklaf adalah autoklaf yang berfungsi untuk sterilisasi dengan uap panas bertekanan. Autoklaf digunakan untuk mensterilisasi alat-alat gelas, kayu, plastik, larutan dan medium yang tidak tahan terhadap suhu tinggi. Autoklaf juga dapat digunakan untuk melisis mikroba. Adapun bagian-bagian dari autoklaf adalah panicle luar, panicle dalam untuk meletakkan alat dan saluran uap, bagian penutup terdiri dari penunjuk tekanan dan saluran uap, terdapat katup dan pengunci. Untuk mematikan spora diperlukan panas basah selama 15 menit pada suhu 121°C.

2. Kesimpulan

Sterilisasi merupakan suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau di dalam suatu benda. Sterilisasi peralatan

laboratorium yang dilakukan pada percobaan I menunjukkan alat-alat menjadi steril sehingga dapat digunakan untuk keperluan praktikum. Alat-alat yang telah dilakukan sterilisasi bersifat aseptis dan telah terhindar dari kontaminasi. Mikroorganisme dimusnahkan melalui proses sterilisasi yang dilakukan dengan menggunakan metode panas.

Ucapan Terima Kasih

Penulis berterima kasih kepada dosen koordinator praktikum mikrobiologi dan asisten dosen atas bimbingan dalam praktikum dan penulisan jurnal ini.

Daftar Acuan

- [1] T.P. Sylvia, Mikrobiologi Farmasi, Erlangga, Jakarta, 2008, p.136.
- [2] H.R. Hasdianah, Mikrobiologi untuk Mahasiswa Kebidanan, Keperawatan, dan Kesehatan Masyarakat, Nuha Medika, Yogyakarta, 2012, p.56.
- [3] G. Satish, The Short Textbook of Medical Microbiology, Jaypee Brothers, India, 1990, p.68.
- [4] S. J. Sjudi, Mikrobiologi Kedokteran, Binarupa Aksara, Jakarta, 1994, p.48.
- [5] G. Fatish, The Shost Textbook of Medical Microbiology, Jaypee Brothers, India, 1990, p.68.
- [6] J.F. Gabriel, Fisika Kedokteran, Jakarta, 1996.
- [7] R.S. Hadioetomo, Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan prosedur dasar dalam laboratorium, Jakarta, 1985.
- [8] F. Meliawaty, Efisiensi Sterilisasi Alat Bedah Mulut melalui Inovasi Oven dengan Ozon dan Infrared, JKM, 147/167 (2012).
- [9] Sterilisasi dan Pengenalan Peralatan Mikrobiologi, <http://ciptosuriantika.wordpress.com/>
- [10] D. Adji, Zuliyanti, H. Larashanty, Perbandingan Efektifitas Sterilisasi Alkohol 70%, Inframerah, Otoklaf, dan Ozon terhadap Pertumbuhan Bakteri Bacillus Subtilis, 17/24 (2007).
- [11] Petunjuk Praktikum Pertanian, Program Studi Agroteknologi (2014/2015).

METODE STERILISASI DAN PEMBUATAN MEDIA¹⁾ (*STERILIZATION AND MEDIA PREPARATION*)

Disusun:

Husnul Hatimah²⁾, Ayu Hafidzah³⁾

I. PENDAHULUAN

Sterilisasi adalah proses membebaskan suatu bahan atau benda dari semua aktivitas kehidupan mikroorganisme. Tujuan sterilisasi adalah untuk memusnahkan semua bentuk bakteri patogen termasuk spora yang terdapat pada peralatan laboratorium. Pada proses sterilisasi diperlukan metode yang sesuai dengan sifat bahan yang akan disterilisasikan. Terdapat tiga metode sterilisasi, yaitu sterilisasi mekanik, fisik, dan kimiawi.

Adapun proses untuk memperoleh mikroorganisme yang diinginkan, diperlukan medium tumbuh mikroorganisme sesuai dengan kebutuhan nutrisi jenis-jenis mikroorganisme dalam mempertahankan kelangsungan hidupnya. Sehingga perlunya penambahan nutrisi pada media baik bahan organik maupun anorganik.

Mikroba patogen terdapat pada bahan pangan atau media tumbuh sehingga perlunya untuk memusnahkan mikroba tersebut dengan proses sterilisasi. Sterilisasi terdiri atas tiga bentuk, yaitu sterilisasi mekanik, fisik, dan kimiawi yang perlu untuk diketahui masing-masing prinsip kerja. Sedangkan media pertumbuhan mikroba yang terdiri atas media sintetis dan semi-sintetis. Beberapa jenis media sintetis yang umumnya digunakan, yaitu *Potato Dextrose Agar (PDA)*, *Plate Count Agar (PCA)*, *Nutrient Agar (NA)*, *Yeast Extract Agar (YEA)*, *deMan Ragosa and Sharpe Agar (MRS)*. Sedangkan media sintetis yang umumnya digunakan, yaitu *Tauge Extract Agar (TEA)* dan *Potato Dextrose Agar (PDA)*.

Oleh karena itu, praktikum ini dilakukan agar dapat memahami prinsip dan metode sterilisasi, jenis-jenis dan pembuatan media yang tidak hanya sekedar teoritis melainkan mampu memahami secara praktis, serta menerapkan dengan prinsip aseptis dalam proses sterilisasi.

II. METODOLOGI PRAKTIKUM

II.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada praktikum ini adalah erlenmeyer, pipet volume, *bulb*, *microwave*, batang pengaduk, timbangan analitik, autoklaf.

Bahan yang digunakan dalam praktikum ini adalah *Potato Dextrose Agar (PDA)*, *Plate Count Agar (PCA)*, *Nutrient Agar (NA)*, *de Man Ragosa Sharp (MRS)*, kapas, aluminium foil, akuades.

II.2 Prosedur Praktikum

II.2.1 Sterilisasi

Sterilisasi secara fisik dilakukan dengan mencuci alat terlebih dahulu, kemudian ditutup dengan menggunakan kertas dan sterilisasi dengan autoklaf. Sedangkan untuk sterilisasi secara kimia yaitu dengan menyemprotkan alat menggunakan alkohol.

II.2.2 Pembuatan Media PCA

Sebanyak 7,5 gr media PCA (*Plate Count Agar*) di timbang, kemudian media dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam aquades 333 ml lalu dihomogenkan menggunakan *microwave* hingga tidak terlihat lagi endapan(jernih). Setelah itu, larutan PCA disterilisasi dengan menggunakan autoclav pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

II.2.3 Pembuatan Media PDA

Sebanyak 13 gr media PDA (*Potato Dextrose Agar*) di timbang, kemudian media dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam aquades 333 ml lalu

dihomogenkan menggunakan microwave hingga tidak terlihat lagi endapan (jernih). Setelah itu, larutan PCA disterilisasi dengan menggunakan autoclav pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

II.2.4 Pembuatan Media NA

Sebanyak 6,67 gr media NA (Nutrient Agar) di timbang, kemudian media dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam aquades 333 ml lalu dihomogenkan menggunakan microwave hingga tidak terlihat lagi endapan (jernih). Setelah itu, larutan PCA disterilisasi dengan menggunakan autoclav pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

II.3.5 Pembuatan Media MRS

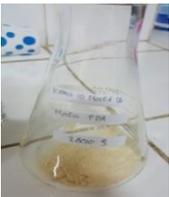
Sebanyak 22,7 gr media MRS di timbang, kemudian media dimasukkan kedalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam aquades 333 ml lalu dihomogenkan menggunakan microwave hingga tidak terlihat lagi endapan (jernih). Setelah itu, larutan PCA disterilisasi dengan menggunakan autoclav pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

III.1 Hasil

Hasil yang di peroleh dari praktikum ini adalah sebagai berikut:

Tabel 01. Hasil Pengamatan Pembuatan Media

Jenis Media	Komposisi	Warna
<p>Merek : BD (<i>Becton, Dickinson and Company</i>) Nama : <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)</p>	<p>– Ekstrak kentang 250 ml – Dextrose 2,5 gr/L – Agar 3,75 gr/L – 200 ml akuades – Takaran : 39 gr/L</p>	 <p>Serbuk media: Halus dan berwarna kuning</p>

		 <p>Setelah dihomogenkan: Berwarna kuning keemasan dan tampak gelap</p>
<p>Merek : Merck Nama : <i>Nutrient Agar</i> (NA)</p>	<p>– Ekstrak daging 250 ml – Pepton 1,25 gr/L – Agar 3,75 gr/L – 200 ml akuades – Takaran : 23 gr/L</p>	 <p>Serbuk media: Berwarna kuning agak gelap</p>  <p>Setelah dihomogenkan: Berwarnakuning keemasan</p>
<p>Merek : Merck Nama : <i>Plate Count Agar</i> (PCA)</p>	<p>– 0,5% pepton – 0,25% ekstrak ragi – 0,1% glukosa – 1,5% agar – 200 ml akuades – Takaran 22,51 gr/L</p>	 <p>Serbuk media: Berwarna kuning</p>

		 <p>Setelah dihomogenkan: Berwarna kuning keemasan dan tampak pucat</p>
Merek: Merck Nama: de Man Ragosa Sharpe (MRS)	- 22,7 gram MRS - 3,33 gr pepton - 1,6 gr ekstrak yeast - 333 ml akuades	 <p>Serbuk media: Halus dan berwarna kemerahan</p>  <p>Setelah dihomogenkan berwarna kemerahan</p>

Sumber: *Data Primer Praktikum Aplikasi Mikrobiologi dan Keamanan Pangan, 2017.*

III.2 Pembahasan

Sterilisasi adalah proses membunuh dan memusnahkan semua mikroorganisme termasuk spora bakteri pada alat-alat atau bahan-bahan yang telah terkontaminasi. Sedangkan steril adalah keadaan yang tidak adanya mikroorganisme atau bentuk kehidupan dari suatu alat dan bahan. Bertujuan untuk memusnahkan semua bentuk bakteri patogen termasuk spora yang terdapat pada peralatan laboratorium. Macam-macam sterilisasi dalam

laboratorium terdiri dari sterilisasi fisik, kimiawi, dan mekanik. Berbagai metode yang dapat dilakukan untuk sterilisasi agar dapat terhindar dari kontaminasi mikroorganisme lain yang tak diinginkan. Adapun macam-macam sterilisasi yang dilakukan pada praktikum ini adalah sterilisasi fisik dan kimiawi. Sterilisasi fisik dilakukan dengan menggunakan uap air panas dan bertekanan tinggi, yaitu penggunaan autoklaf. Adapun alat-alat yang disterilisasikan dengan menggunakan autoklaf, yaitu tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer dan pipet volume. Pada praktikum ini juga dilakukan sterilisasi fisik dengan menggunakan prinsip pemijaran (dengan api langsung), yaitu membakar atau melewati alat pada api secara langsung dengan menggunakan bunsen. Adapun alat-alat yang disterilisasikan menggunakan pemijaran, yaitu ose tusuk dan ose bulat.

Sterilisasi secara kimiawi menggunakan senyawa desinfektan. Desinfektan adalah suatu bahan kimia yang dapat membunuh sel-sel vegetatif dan jasad renik yang bersifat merusak jaringan, prosesnya disebut desinfeksi. Alat-alat yang disterilisasikan dengan menggunakan senyawa desinfektan yaitu gelas kimia, tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer dan pipet volume. Adapun desinfektan yang digunakan adalah alkohol. Hal ini sesuai dengan pernyataan Suriawiria (1995), bahwa proses sterilisasi terdiri dari tiga metode, yaitu sterilisasi fisik (pemijaran dan udara panas), mekanik (penyaringan), dan kimiawi (etilena oksida, asam perasetat, formaldehida dan glutaraldehida alkalin). Keadaan steril berarti pada alat dan bahan kimia tidak diharapkannya kehadiran mikroba yang akan mengganggu dan merusak media ataupun proses yang sedang dilakukan.

Media merupakan suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat untuk menumbuhkan mikroorganisme, isolasi, memperbanyak jumlah, menguji sifat-

sifat fisiologi dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Media biakan ini terdiri dari garam organik, sumber energi (karbon) vitamin, dan zat pengatur lainnya. Pemiakan mikroorganisme dalam laboratorium memerlukan media yang berisi zat hara serta lingkungan pertumbuhan yang sesuai dengan mikroorganisme, yaitu pH dan suhu optimum, Aw optimum, nutrisi yang cukup. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mirsadiq (2013), bahwa proses pembuatan media harus disterilisasikan dan menerapkan metode aseptis untuk menghindari kontaminasi pada media.

Media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroorganisme tersebut harus sesuai susunannya dengan kebutuhan jenis-jenis mikroorganisme yang bersangkutan. Media berdasarkan bentuk terbagi menjadi tiga bagian, yaitu media cair, media semi padat, dan media padat. Perbedaan utama dari ketiga media adalah ada tidaknya bahan pematat. Media cair tidak menggunakan bahan pematat, media semi padat dan media padat menggunakan bahan pematat. Bahan pematat yang paling umum digunakan adalah agar-agar. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi pada media berupa molekul-molekul kecil yang menyusun komponen selnya sehingga dapat digunakan untuk mengisolasi mikroorganisme dan pembuatan kultur murni. Hal ini disesuaikan pernyataan Hadietomo (1993), bahwa medium digunakan untuk melihat gerakan dari suatu gerakan mikroorganisme yang bersifat motil atau non motil, medium ini ditambahkan bahan pematat 50%.

Media yang digunakan dalam praktikum ini adalah media sintesis dan semi-sintesis. Adapun media sintesis terdiri dari Nutrient Agar (NA), Potato Dextrose Agar (PDA), dan Plate Count Agar (PCA) yang berbentuk serbuk padatan. Sedangkan media semi-sintesis terdiri dari Potato Dextrose Agar (PDA)

dan Tauge Extract Agar (TEA) dalam bentuk ekstrak.

Medium Nutrient Agar (NA) berfungsi untuk menumbuhkan mikroba atau bakteri pada permukaan sehingga mudah diisolasi dan diidentifikasi. NA berdasarkan konsistensinya merupakan medium yang berbentuk padat (solid medium) karena dipadatkan menggunakan agar. Berdasarkan susunan kimianya, medium ini merupakan medium sintetik karena disusun dari bahan-bahan kimia dan organik yang terbuat dari ekstrak daging sebagai sumber karbon organik, vitamin, dan garam mineral dalam pertumbuhan mikroba dan pepton sebagai sumber utama nitrogen dan protein bagi mikroba. Mekanisme kerja mikroba pada medium NA adalah Penisilin diproduksi oleh galur *Penicillium notatum* atau *Penicillium chrysogenum* yang diinokulasikan pada medium dengan nutrisi yang sesuai. Fermentasi pada fase inisiasi melibatkan pertumbuhan dari jamur. Ketika pertumbuhan pada fase stationer terjadilah produksi penisilin. Laju produksi antibiotik merupakan hasil dari sintesis selama proses fermentasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wahab (2010), bahwa medium NA umumnya ditambahkan bahan-bahan yang bertujuan menstimulasi pertumbuhan mikroba secara umum untuk menstimulasi pertumbuhan bakteri dan mikroba lainnya. Sesuai pernyataan Farooq dkk (2012) bahwa Penggunaan molase dan air lindi dapat menjadi alternative digunakan sebagai medium untuk pertumbuhan *Penicillium chrysogenum*. Air lindi dapat digunakan sebagai sumber nitrogen dan dan molase dapat digunakan sebagai sumber karbon karena mengandung konsentrasi karbohidrat sebesar 45-60%

Medium Potato Dextrose Agar (PDA) berfungsi untuk menumbuhkan kapang dan jamur. PDA yang digunakan dalam praktikum ini termasuk medium sintetik karena penggunaannya secara instant (tanpa proses ekstraksi). Potato

dextrose agar termasuk medium padat karena dalam pembuatannya menggunakan agar sebagai bahan pemat. Medium PDA terdiri dari kentang yang berfungsi sebagai sumber energi, nitrogen organik, karbon dan vitamin, dekstrosa sebagai sumber karbon, agar sebagai bahan pemat medium dan akuades sebagai pelarut untuk menghomogenkan medium dan sumber O₂. Mekanisme kerja mikroba jika diinokulasikan di dalam medium PDA, bakteri anaerob akan tumbuh mengelompok pada dasar medium, bakteri yang anaerob fakultatif akan tumbuh tersebar di seluruh medium, bakteri mikroaerofil akan tumbuh mengelompok sedikit di bawah permukaan medium, sedangkan bakteri aerob akan tumbuh pada permukaan medium. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wahab (2010) bahwa medium PDA ini termasuk medium umum karena dapat digunakan untuk menumbuhkan satu atau lebih kelompok jamur, juga digunakan untuk isolasi bakteri, hasilnya dinyatakan dalam jumlah koloni yang diperoleh.

Plate Count Agar (PCA) sebagai media untuk menghitung jumlah total dari berbagai jenis bakteri. Medium PCA mengandung nutrisi yang disediakan oleh tripton, vitamin dari ekstrak ragi, dan glukosa yang digunakan sebagai sumber energi bagi mikroorganisme sehingga mendukung pertumbuhan dari bakteri. Plate Count Agar (PCA) bukan merupakan media selektif karena media ini tidak hanya ditumbuhi oleh satu jenis mikroorganisme. Mekanisme kerja mikroba pada media PCA adalah Koliform sebagai suatu kelompok dicirikan sebagai bakteri berbentuk batang, gram negatif, tidak membentuk spora, aerobik dan anaerobik fakultatif yang memfermentasi laktosa dengan menghasilkan asam dan gas dalam waktu 48 jam pada suhu 35°C. Adanya bakteri koliform di dalam makanan/minuman menunjukkan kemungkinan adanya

mikroba yang bersifat enteropatogenik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hafsa (2009), bahwa PCA berdasarkan fungsinya termasuk medium perhitungan jumlah mikroba dalam suatu bahan.

De Man Ragosa Sharpe (MRS) adalah medium pertumbuhan yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Lactobacillus*. Media MRS mengandung polisorbit, asetat, magnesium, dan mangan yang diketahui sebagai faktor penumbuh *Lactobacillus* sebagai substrat yang kaya akan nutrisi dasar. Bakteri lain yang dapat tumbuh ialah *Pediococcus* dan *Leuconostoc*. Mekanisme kerja mikroba pada media MRS yakni bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang paling banyak menghasilkan bakteriosin. bakteriosin dari bakteri Gram positif aktif melawan terhadap jenis bakteri Gram positif lain, walaupun pada beberapa jenis (seperti nisin) juga memiliki aktivitas terhadap bakteri Gram negatif ketika membran luarnya telah terpermeabilitas. Hal ini sesuai dengan pernyataan De Man et al (1960) bahwa media MRS merupakan media tumbuh *Lactobacillus* bahkan beberapa bakteri yang tidak dapat hidup pada media lainnya.

Beberapa hal penting harus diperhatikan dalam sterilisasi di laboratorium agar tidak terjadinya kegagalan kerja. Seperti yang diketahui bahwa sterilisasi merupakan proses untuk membebaskan alat dan bahan dari segala macam bentuk kehidupan terutama mikroba. Maka dari itu, proses sterilisasi harus dilakukan dengan berhati-hati, memperhatikan teknik aseptis, dan sesuai dengan prosedur kerja. Hal ini sesuai dengan pernyataan Suhardi (2008), bahwa sistem cara kerja yang berhati-hati dan menjaga sterilitas ketika menangani pengkulturan mikroorganisme akan mencegah terjadinya kontaminasi mikroorganisme yang diinginkan.

IV. PENUTUP

IV.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari praktikum ini adalah prinsip sterilisasi adalah penghancuran dan pemusnahan terhadap semua jenis mikroorganisme dengan berbagai metode berdasarkan sifat alat dan bahan yang akan disterilisasikan. Terdapat tiga metode sterilisasi, yaitu sterilisasi fisik, mekanik, dan kimiawi. Adapun jenis-jenis media tanam mikroba diklasifikasikan berdasarkan komposisi, yaitu media alami, sintesis, dan semi-sintesis. Media sintesis terdiri dari *Nutrient Agar (NA)*, *Potato Dextrose Agar (PDA)*, *Plate Count Agar (PCA)*, dan *deMan Rogosa and Shape Agar (MRS)*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2013. <http://repository.usu.ac.id/pdf>. Sumatera Utara: Universitas Sumatera Utara.
- De Man, JC; Rogosa, M; Sharpe, ME. 1960. *A Medium for the Cultivation of Lactobacilli*. The British Library.
- Farooq, U., Anjum, F.M., Zahoor, T., Rahman, S.U., Randhawa, M.A., Ahmed, A. dan Akram, K. 2012. *Optimization of Lactic Acid Production from Cheap Raw Material: Sugarcane Molasses*. Pakistan Journal of Botany 44(1):333-338.
- Hadietomo, R. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia.
- Hafsah. 2009. *Mikrobiologi Umum*. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin.
- Mirsadiq, L. 2013. *Mikrobiologi Pertanian*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Suhardi, dkk. 2008. *Biosafety: Pedoman Keselamatan Kerja di Laboratorium Mikrobiologi dan Rumah Sakit*. PT. Multazam Mitra Prima.
- Suriawiria, U. 1995. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Jakarta: Angkasa.
- Wahab, A. 2010. *Mikrobiologi Umum*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Yanti. 2013. *Penuntun Mikrobiologi Laut*. Bandung: Universitas Padjajaran.

LAMPIRAN

Lampiran 01. Diagram Alir Pembuatan Media Sintetis

