PENGUNAAN METODE CAWAN TUANG TERHADAP UJI MIKROBA PADA TEPUNG KELAPA

(Use of Pour Plate Methods on Microbial Test on Coconut Flour)

Ika Okhtora Angelia^{1*}

¹Politeknik Gorontalo, Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Jl. Muchlis Rahim, Desa Panggulo Barat, Kecamatan Botupingge,
Kabupaten Bone Bolango, Provinsi Gorontalo, Kode Pos 96583

*Email: ikaokhtora@poligon.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mencari metode terbaik dalam menguji kandungan mikroba yang terdapat pada tepung kelapa. Metode Cawan Tuang (Pour Plate) merupakan teknik lain yang dapat digunakan untuk mendapatkan koloni murni mikroorganisme. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan waktu dan bahan yang lama dan banyak, akan tetapi tidak memerlukan keterampilan tinggi. Biarkan campuran diencerkan dengan menggunakan medium agar yang telah dicairkan dan didinginkan. Adapun prinsip pengujian deteksi yaitu: Pembuatan media serta Isolasi dan identifikasi hasil. Dalam metode ini bakteri yang di uji adalah bakteri TPC (Total Plate Count) dengan menggunakan Obat PCA (Plate Count Agar) yang memberikan hasil berwarna kuning jika sudah terbentuk menjadi media agar sedangkan Enterobacteriaceae dan Coliform menggunakan Obat VRBA (Violet Red Bile Agar) dengan hasil akhir berwarna merah jika sudah terbentuk menjadi media agar.

Kata kunci: Tepung kelapa; uji mikroba; metode cawan tuang

ABSTRACT

This study aimed to determine to find the best method for testing the microbial content found in coconut flour. The Pour Plate method is another technique that can use to obtain pure microorganism colonies. The weakness of this method is that it takes a lot of time and material, but does not require high skills. Let the mixture be dilute by using an agar medium that has been thawed and cooled. The principles of detection testing are: Making media and Isolation and identification of results. In this method, the tested bacteria are TPC (Total Plate Count) bacteria using PCA (Plate Count Agar) drug ,which gives yellow results if it has formed into agar media. In contrast, Enterobacteriaceae and Coliform use VRBA (Violet Red Bile Agar) group with the results the end is red if it has formed into an agar medium.

Keyword : Dessicated coconut powder; microbial test; pour plate methods

PENDAHULUAN

Tanaman kelapa (*Cocos mucifera* L) termaksud jenis tanaman palma yang memiliki multi fungsi karena hampir semua bagian dari tanaman tersebut dapat dimanfaatkan. Tanaman ini banyak

dijumpai di Indonesia yang merupakan penghasil kopra tersebut kedua di dunia, sesudah Phillipina. Produksi buah kelapa di Indonesia rata-rata 15,5 milyar buah/tahun atau setara dengan 3,02 juta ton kopra, 3,75 juta ton air, 0,75 juta ton

arang tempurung, 1,8 juta ton serat sabut 3,3 ton debu sabut. Buahnya yang merupakan bagian paling penting dari tanaman kelapa karena mempunyai nilai ekonomis dan gizi yang tinggi. Buah kelapa terdiri empat komponen utama, yaitu 35 persen sabut, 12 persen tempurung, 28 persen daging buah, dan 25 persen air kelapa. Daging buah kelapa selain nikmat dapat diproses lebih lanjut. Hal ini dikarenakan pada umumnya produk pertanian memiliki sifat yang mudah rusak, maka produk pertanian harus segera dipasarkan dalam bentuk segar atau dapat diolah menjadi bahan pangan tahan simpan (Shantybio, 2006).

Usaha budidaya tanaman kelapa melalui perkebunan terutama dilakukan untuk memproduksi minyak atau bisa juga tepung kelapa yang bersal dari daging buahnya dengan hasil samping berupa ampas kelapa. (Miskiyah, 2006). Ampas kelapa hasil samping pembuatan minyak kelapa murni masih memiliki kandungan protein yang cukup tinggi. Hal ini menyebabkan ampas kelapa berpotensi untuk dimanfaatkan dan diolah sebagai bungkil untuk pakan ternak, kualitas bungkil kelapa bervariasi tergantung dengan cara pengolahan dan mutu bahan baku.

Pada perkembangan zaman, tepung sering diproduksi dari umbi yang memiliki kandungan gizi tinggi, hal ini dilakukan

untuk memperbaiki nilai ekonomi umbi itu tersendiri, serta pemanfaatan produk domestik sehingga pengolahan tepung berbasis umbi diharapkan dapat menjadi alternatif penggunaan tepung gandum yang bahan bakunya masih harus didapatkan dari luar negeri. Proses pembuatan tepung umbi-umbian sendiri dapat dilakukan dengan berbagai cara tergantung dari jenis umbi-umbian itu sendiri. Tepung dibuat dengan kadar air sangat rendah sekitar 2-10%. Hal ini menunjukkan bahwa tepung memiliki daya simpan yang lebih lama (Subagio, 2006).

Total Plate Count (TPC)

Total Plate Count atau TPC adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Metode ini merupakan metode yang paling sensitif untuk menentukan jumlah mikroorganisme. Dengan metode ini kita dapat menghitung sel yang masih hidup, menentukan jenis mikroba yang tumbuh dalam media tersebut serta dapat mengisolasi dan mengidentifikasi jenis mikroba tersebut. Dengan metode ini kita dapat menghitung sel yang masih hidup, menentukan jenis mikroba yang tumbuh dalam media tersebut serta dapat

mengisolasi dan mengidentifikasi jenis koloni mikroba tersebut.

Pada metode ini, teknik pengenceran merupakan hal yang harus dikuasai. Sebelum mikroorganisme ditumbuhkan dalam media, terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel menggunakan larutan fisiologis.

Enterobacteriaceae

Enterobacteriaceae termaksud dalam famili bakteri, sebagian besar lebih dikenal bersifat patogen, seperti *Salmonella* dan *Escherichia coli*. Ilmu genetika menempatkan *Enterobacteriaceae* diantara *Proteobacteria*, meskipun hal ini kadang-kadang diambil untuk memasukkan beberapa sampel lingkungan terkait. Enterobacteriaceae adalah kuman yang hidup diusus besar manusia dan hewan, tanah, air dan dapat pula ditemukan pada komposisi material. Banyak diantara kuman ini mampu menimbulkan penyakit pada tiap jaringan tubuh manusia. Organisme-organisme di dalam famili ini pada kenyataannya mempunyai peranan penting didalam infeksi nosokomial misalnya sebagai penyebab infeksi saluran kemih, infeksi pada luka, dan infeksi lainnya.

Berikut adalah klasifikasi dari bakteri

Enterobacteriaceae :

Kingdom : Bakteri

Filum : *Proteobacteria*

Kelas : *Gammaproteobacteria*

Ordo : *Enterobacteriales*

Famili : *Enterobacteriaceae*

Apabila Enterobacteriaceae diuji dengan tes katalase maka hasilnya positif, hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri Enterobacteriaceae mengandung enzim katalase. Namun apabila di uji dengan tes oksidase , maka hasilnya negatif.

Coliform Test

Merupakan golongan mikroorganisme yang lazim digunakan sebagai indikator, dimana bakteri ini dapat menjadi sinyal untuk menentukan suatu sumber air telah terkontaminasi oleh patogen atau tidak. Berdasarkan penelitian bakteri koliform ini menghasilkan zat etionin yang dapat menyebabkan kanker.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sd April 2019 di bertempat di PT Royal Coconut Gorontalo yang beralamat di jalan Amal Modjo Desa Ombulo Kec. Limboto Barat Kab. Gorontalo Prov. Gorontalo.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Erlenmeyer steril
2. Cawan petri steril
3. Oven dengan suhu 105°C

4. Inkubator
5. Autoklafe
6. Hotplate
7. Gunting
8. Kapas
9. Timbangan digital
10. Aluminium Voil
11. Benang wol
12. Pipet/jarum ose

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tepung kelapa, air steril, *Plate Count Agar* (PCA), *Violet Red Bile Agar* (VRBA) dan alkohol 95%

Prosedur Kerja

Pembuatan media

1. *Plate Count Agar* (PCA)

- Pastikan seluruh peralatan yang digunakan telah disterilisasi sebelumnya.
- Siapkan air dengan volume yang tepat dalam gelas erlenmeyer berbeda (untuk sampel dan media agar PCA) sesuai dengan banyaknya sampel yang akan di uji.
- Tutup gelas erlenmeyer menggunakan aluminium foil, dan ikat dengan benang wol.
- Sterilisasi air untuk sampel dan media agar PCA dalam autoklafe pada suhu 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit.
- Timbang masing-masing 10 gram sampel DC dan masukan dalam gelas erlenmeyer. Tutup menggunakan aluminium foil.
- Timbang media agar PCA sesuai dengan banyaknya sampel yang akan di uji.
- Kemudian larutkan media agar PCA tersebut dalam air yang telah disterilisasi tadi. Panaskan dalam air mendidih dan aduk hingga tercampur sepenuhnya. Autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm.
- Setelah itu pertahankan suhu larutan PCA dalam water bath pada temperatur 45°C.
- Encerkan sampel DC menggunakan air yang telah disterilisasi tadi hingga volume 100 ml untuk masing-masing erlenmeyer. Homogenkan dengan cara digoyang-goyang .
- Tuliskan kode sampel diatas cawan petri dish agar memudahkan pada saat pembacaan koloni nanti.
- Pipet 1 ml sampel yang telah dihomogenkan ke dalam masing-masing petri dish.
- Tuang 12-15 ml PCA (bertemperatur 45°C) dan putar cawan untuk pencampuran ke

dalam masing-masing petri dish. Biarkan memadat, paatkan dari persiapan pengenceran samper pertama hingga penuangan atau pelapisan permukaan pelat akhir, tifak lebih dari 15 menit.

- Balikkan cawan petri, inkubasikan selama 48 jam pada suhu 35°C. Jangan menumpuk pelat saat menuangkan agar atau saat agar mengeras.
- Setelah inkubasi, hitung semua koloni. Biasanya cawan memiliki 25-250 koloni. Hitung total koloni percawan.
- Catat total koloni pada lembar Mikrobiological Analysis Report.

2. *Enterobacter Test*

- Pastikan seluruh peralatan yang digunakan telah disterilisasi sebelumnya.
- Uji praduga (*Presumptive Test*) : siapkan air dengan volume yang tepat dalam gelas erlenmeyer berbeda (untuk sampel dan pengenceran media agar VRBGA) sesua dengan banyaknya sampel yang akan di uji.
- Tutup gela serlenmeyer menggunakan aluminium foil, dan ikat dengan benang wol.

- Sterilisasi air untuk sampel dan medai agar VRBGA dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.
- Timbang masing-masing 10 gram sampel DC dan masukan dalam gelas erlenmeyer. Tutup menggunakan aluminium foil.
- Timbang media agar VRBGA seduai dengan banyaknya sampel yang akan di uji.
- Kemudian larutkan media agar VRBGA tersebut dalam air yang telah disterilisasi tadi, panaskan dalam air mendidih dan aduk hingga tercampur sepenuhnya. Jangan panaskan lebih dari 2 menit. Jangan di autoklaf.
- Setelah itu pertahankan suhu larutan VRBGA dalam water bath temperatur 44°C hingga 47°C.
- Encerkan sampel DC menggunakan air yang telah disterilisasi tadi hingga volume 100 ml untung masing-masing erlenmeyer. Homogenkan dengan cara digoyang-goyang.
- Tuliskan kode sampel diatas masing-masing penutup cawan petri dish agar memudahkan pada saat pembacaan koloni nanti.

- Pipet 1 ml sampel yang telah dihomogenkan kedalam masing-masing petri dish.
- Tuang 10 ml VRBGA (bertemperatur 44°C – 47°C) kedalam masing-masing petri dish dan putar cawan untuk mencampurkan. Biarkan memadat.
- Lapi dengan 15 ml VRBGA dan biarkan memadat.
- Inkubasikan cawan secara terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam.
- Jangan menumpuk cawan petri lebih dari enam cawan. Tumpukan cawan petri harus dipisahkan dari suhu sama lain dan dari dinding dan atas inkubator.
- Setelah inkubasi, hitung semua koloni berwarna pink kemerahan atau ungu, berdiameter >0,5 mm, dengan atau tanpa presipitasi halo (dikelilingi oleh lingkaran yang bercahaya).
- Hitung total koloni per cawan.
- Catat total koloni pada lembar Microbiological Analysis Report.
- Pastikan seluruh peralatan yang digunakan telah disterilisasi sebelumnya.
- Uji praduga (*Presumptive Test*) : siapkan air dengan volume yang tepat dalam gelas Erlenmeyer berbeda (untuk sampel dan media agar VRBA) sesuai dengan banyaknya sampel yang akan di uji.
- Tutup kelas Erlenmeyer menggunakan aluminium foil, dan ikat dengan benang wol.
- Sterilisasi air untuk sampel dan media agar VRBA dalam autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 2 atm selama 15 menit.
- Timbang masing-masing 10 gram sampel DC dan masukan dalam gelas Erlenmeyer. Tutup menggunakan aluminium foil.
- Encerkan sampel DC menggunakan air yang telah disterilisasi tadi hingga volume 100 ml untuk masing-masing Erlenmeyer. Homogenkan dengan cara digoyang-goyang.
- Timbang media agar VRBA sesuai dengan banyaknya sampel yang akan di uji.
- emudian larutkan media agar VRBA tersebut dalam air yang telah disterilisasi tadi. Panaskan

3. Coliform Test

dalam air mendidih dan aduk hingga tercampur sepenuhnya, jangan dipanaskan lebih dari 2 menit. Jangan di autoklaf.

- Setelah itu pertahankan suhu larutan VRBA dalam water bath pada temperature 48°C
- Tuliskan kode sampel diatas cawan petri dish agar memudahkan pada saat pembacaan koloni nanti.
- Pipet 1 ml sampel DC yang telah dihomogenkan kedalam masing-masing petri dish.
- Tuang 10 ml VRBA (bertemperatur 48°C) kedalam masing-masing petri dish dan putar cawan untuk mencampurkan. Biarkan memadat.
- Lapisi dengan 5 ml VRBA dan biarkan memadat.
- Inkubasikan cawan secara terbalik pada suhu 35°C selama 18-24 jam.

- Setelah inkubasi, hitung semua koloni berwarna ungu merah, berdiameter 0,5 mm atau lebih yang berada dalam zona endaoan asam . periksa pelat dibawah lensa pembesar dan dengan iluminasi.
- Hitung total koloni per cawan.
- Catat total koloni pada lembar Microbiological Analysis Report.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Microbiologi analysis report

Time of Sampel	Bags Number	Result of Analysis (col/g)				
		TPC	Mould	Yeast	Enterobac teriaceae	Coliform
15 ²⁰ -16 ⁰⁰	161 - 170	30	10	<10	10	10
16 ⁰⁰ -16 ³⁵	171 - 180	80	<10	<10	<10	<10
16 ³⁵ -18 ¹⁵	181 - 190	20	<10	<10	<10	<10
18 ¹⁵ -19 ⁰³	191 - 200	10	<10	<10	<10	<10
19 ⁰³ -19 ³⁰	201 - 210	10	<10	<10	<10	<10
19 ³⁰ -19 ⁵⁵	211 - 220	30	<10	>10	<10	<10
19 ⁵⁵ -20 ²⁰	221 - 230	10	<10	<10	<10	<10
20 ²⁰ -21 ⁰⁰	231 - 240	50	<10	<10	<10	<10
21 ⁰⁰ -22 ²⁵	241 - 250	10	<10	<10	<10	<10
22 ²⁵ -23 ⁰⁰	251 - 260	10	<10	<10	<10	<10
23 ⁰⁰ -23 ²⁵	261 - 270	20	<10	<10	<10	<10
23 ²⁵ -00 ⁵⁵	271 - 280	10	<10	<10	<10	<10
00 ⁵⁵ -02 ⁵⁵	281 - 290	10	<10	<10	<10	<10
02 ⁵⁵ -05 ⁰⁰	291 - 300	10	<10	<10	<10	<10
05 ⁰⁰ -05 ¹⁵	301 - 310	10	<10	<10	<10	<10
05 ¹⁵ -05 ²⁰	311 - 320	10	<10	<10	<10	<10
05 ²⁰ -05 ³⁰	321 - 330	10	<10	<10	<10	<10
05 ³⁰ -06 ⁰⁰	331 - 334	10	<10	<10	<10	<10

Pembahasan

Dari bagian atas samping kiri tertuliskan kata "GRADE" yang disebut juga jenis sampel yang di ujikan bakterinya seperti jenis sampel Fine atau Medium, sedangkan untuk kata "DAY/DATE" adalah waktu kapan di ujikannya sampel tersebut. Dibagian samping kanan dari data di atas tertuliskan tanda kode produksi dari tiap sampel Fine dan Medium, seperti kode untuk sampel DC Fine yaitu LC.11 dan kode sampel untuk DC Medium yaitu LC.11^{2x}.

Data diatas ini juga tertuliskan waktu dan nomor bags atau angka yang berjumlah nomor setiap pengambilan sampel dari produksi di bags di nomor tersebut dapat dilihat angka awal dari pengambilan sampai hingga angka akhir dan juga terdapat waktu awal pengambilan sampel sampai waktu sampel masuk ke ruang Laboratorium untuk pengujian selanjutnya.

Dari data diatas bakteri yang diujikan adalah bakteri TPC (*Total Plate Count*), bakteri *Enterobacteriaceae*, dan *Coliform*. Pada bakteri TPC menggunakan obat PCA (*Plate Count Agar*) yang berwarna kuning dan jika terdapat bakteri

di dalam medium agar akan terdapat beragam bentuk yang berbeda, dengan warna putih pudar itulah yang disebut bakteri TPC.

Sedangkan untuk data bakteri *Enterobacteriaceae* dan *Coliform* dituliskan dengan tanda kurang lebih 10 bakteri dengan maksud dan tujuan bahwa bakteri yang terdapat pada uji tes tersebut tidak lebih dari 10 bakteri/mikroba.

KESIMPULAN

Metode Cawan Tuang (Pour Plate) merupakan teknik lain yang dapat digunakan untuk mendapatkan koloni murni mikroorganisme. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan waktu dan bahan yang lama dan banyak, akan tetapi tidak memerlukan keterampilan tinggi. Biarkan campuran diencerkan dengan menggunakan medium agar yang telah dicairkan dan didinginkan. Adapun prinsip pengujian deteksi yaitu :

1. Pembuatan media
2. Isolasi dan identifikasi hasil

Dalam metode ini bakteri yang di uji adalah bakteri TPC (*Total Plate Count*) dengan menggunakan Obat PCA (*Plate Count Agar*) yang memberikan hasil berwarna kuning jika sudah terbentuk menjadi media agar sedangkan *Enterobacteriaceae* dan *Coliform* menggunakan Obat VRBA (*Violet Red Bile Agar*) dengan hasil akhir berwarna

merah jika sudah terbentuk menjadi media agar.

SARAN

Semoga makalah ini bisa memberi pengetahuan yang mendalam kepada para mahasiswa khususnya pengetahuan mengenai metode analisa untuk identifikasi bakteri TPC (*Total Plate Count*) pada media *Plate Count Agar* (PCA) dan VRBA (*Violet Red Bile Agar*) dengan mengamati bakteri *Enterobacteriaceae* dan *Coliform*. Semoga makalah ini bisa dimanfaatkan dan dipergunakan dengan sebaik-baiknya.

DAFTAR PUSTAKA

- Miskiyah. 2006. Pemanfaatan ampas kelapa limbah pengolahan minyak kelapa murni menjadi pakan. Seminar Nasional Teknologi Peternakan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Pratiwi. 2014. Pengaruh pengendalian penyakit bawaan makanan. Skripsi Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Bandung.
- Shantybio. 2006. Nata De Coco yang kaya serat biology mikrobiologi. <http://Transdigit.com>.
- Subagio. 2006. Ubi kayu : Substitusi berbagai tepung-tepungan. Grameida, Jakarta.