

MODUL
PRAKTIKUM SANITASI DAN KEAMANAN PANGAN



Oleh

Intan Nurul Azni
Muhammad Fajri Ramadhan

PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PANGAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS SAHID
2019

DAFTAR ISI

UJI SANITASI UDARA	3
UJI SANITASI MEJA DAN LANTAI	4
UJI SANITASI ALAT PENGOLAHAN PANGAN	6
UJI <i>PERSONAL HYGIENE</i>	8
UJI AIR (TPC)	10
IDENTIFIKASI BAKTERI KOLIFORM	11
UJI LEMAK DAN MINYAK PADA LIMBAH CAIR	16

UJI SANITASI UDARA

Alat-alat (per kelompok)

- 4 cawan petri steril
- Sumber api (lilin atau Bunsen)

Bahan (per kelompok)

- Media PCA (60 ml)
- Media PDA (60 ml)

Resep PCA: 23,5 g/L

Resep PDA: 39 g/ L

Lokasi

Pilih satu spot di dalam rumah masing-masing

Prosedur

1. Sterilisasi media (PCA dan PDA) dan cawan petri
2. Isi setiap cawan petri dengan media yang sesuai dan biarkan hingga membeku, sehingga diperoleh 2 jenis agar cawan yaitu cawan PCA dan PDA
3. Keringkan uap air di dalam oven suhu 50°C atau dikering terbalik (media agar menghadap bawah dengan cawan petri sedikit terbuka) pada suhu ruang selama 10 menit
4. Letakkan masing-masing cawan tersebut secara terpisah pada ruangan yang telah ditentukan, dan biarkan terbuka selama 30 menit
5. Setelah cawan ditutup, inkubasikan cawan tersebut pada suhu ruang (posisi cawan terbalik) selama 2 hari
6. Amati dan tentukan densitas mikroba/jam/m²
7. Densitas mikroba/jam/m² dihitung dengan rumus:

$$\text{Rata-rata koloni dari 2 agar cawan} \times \frac{60 \text{ menit}}{30 \text{ menit}} \times \frac{10000 \text{ cm}^2}{\text{luas cawan}}$$

UJI SANITASI MEJA DAN LANTAI

Alat-alat (per kelompok)

- 8 cawan petri steril
- Spirtus/lilin
- Kapas swab steril
- Tabung reaksi

Bahan (per kelompok)

- Media PCA (120 ml)
- Media PDA (120 ml)
- Buffer fosfat (KH_2PO_4) (20 mL)

Resep PCA: 23,5 g/L

Resep PDA: 39 g/ L

Resep buffer fosfat:

1. Timbang 3.4g KH_2PO_4 dalam 60ml aquades dalam labu takar. Atur pH larutan tersebut dengan NaOH 1N sehingga mencapai pH 7.2, bila sudah, tepatkan dengan menambahkan aquades hingga 100ml.
2. Sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Simpan dalam refrigerator sebagai larutan stok.
3. Untuk membuat larutan pengencer, ambil 1,25ml larutan stok, kemudian encerkan dengan aquades sampai volume 1000ml. → di tabung reaksi (@ 10 ml)

Lokasi

Pilih satu spot di dalam rumah masing-masing

Prosedur

1. Sterilisasi media (PCA dan PDA), buffer fosfat, dan cawan petri

2. Celupkan kapas swab steril ke dalam buffer posfat (10 mL) di dalam tabung reaksi selama 3 detik
3. Gunakan kapas swab steril untuk menyeka permukaan meja/lantai pada luasan 10x10cm² dengan cara zigzag (jangan sampai terkena tangan).
4. Celupkan kapas swab tersebut ke dalam larutan buffer fosfat steril yang ada di dalam tabung reaksi. Homogenkan.
5. Ambil sampel poin 4 sebanyak masing-masing 1 ml dan masukkan ke dalam cawan petri. Tuang media PCA dan PDA ke dalam cawan petri yang sudah berisi sampel. Homogenkan
6. Setelah semua agar dalam cawan petri membeku, inkubasikan cawan-cawan petri tersebut (posisi cawan terbalik) pada suhu 30°C atau suhu ruang selama 48 jam.

$$\text{Jumlah koloni/cm}^2 = \text{Rata-rata koloni dari 2 agar cawan} \times 10 \times \frac{1}{\text{luas permukaan yang diswab (cm}^2\text{)}}$$

UJI SANITASI ALAT PENGOLAHAN PANGAN

Alat-alat (per kelompok)

- 12 cawan petri steril
- Lampu spirtus
- Kapas swab steril
- Tabung reaksi

Bahan (per kelompok)

- Media PCA
- Media PDA
- Buffer fosphat

Perlakuan	Sampel
I	Pisau, piring, wajan
II	Sendok, mangkok, panci
III	Garpu, gelas, baskom
IV	Centong, talenan, blender

Prosedur

1. Gunakan kapas swab steril untuk menyeka alat pengolahan pangan dengan cara zigzag
2. Celupkan kapas swab tersebut ke dalam larutan buffer fosphat steril yang ada di dalam tabung reaksi. Homogenkan.
3. Ambil sampel poin 2 sebanyak masing-masing 1 ml dan masukkan ke dalam cawan petri. Tuang media PCA dan PDA ke dalam cawan petri yang sudah berisi sampel.
4. Setelah semua agar dalam cawan petri membeku, inkubasikan cawan-cawan petri tersebut (posisi cawan terbalik) pada suhu 30°C selama 48 jam.

$$\text{Jumlah koloni/cm}^2 = \text{Rata-rata koloni dari 2 agar cawan} \times 10 \times \frac{1}{\text{luas permukaan yang diswab (cm}^2\text{)}}$$

UJI *PERSONAL HYGIENE* (RAMBUT, TELAPAK TANGAN, BAJU)

Peralatan (per kelompok)

- 12 cawan petri steril
- Lampu spirtus
- Kapas swab steril
- Tabung reaksi

Bahan (per kelompok)

- Media PCA
- Media PDA
- Buffer fosfat
- Sabun antiseptik
- Alkohol

Perlakuan	Tangan	Rambut
I	Tidak cuci tangan	Berhijab/haircap
II	Cuci tangan dengan air keran	Tidak berhijab
III	Cuci tangan dengan sabun antiseptik 1	Berhijab/haircap
IV	Cuci tangan dengan alkohol	Tidak berhijab
V	Cuci tangan dengan sabun antiseptik 2	Berhijab/haircap
VI	Cuci tangan dengan hand sanitizer	Tidak berhijab

Note: Untuk baju, tidak ada perlakuan

Prosedur

1. Basahkan kapas swab steril dengan buffer fosfat
2. Gunakan kapas swab steril untuk menyeka telapak tangan/rambut/baju pada luasan 10x10cm dengan cara zigzag

3. Celupkan kembali kapas swab tersebut ke dalam larutan buffer phosphat steril yang ada di dalam tabung reaksi. Homogenkan.
4. Ambil sampel poin 3 sebanyak masing-masing 1 ml dan masukkan ke dalam cawan petri. Tuang media PCA dan PDA ke dalam cawan petri yang sudah berisi sampel.
5. Setelah semua agar dalam cawan petri membeku, inkubasikan cawan-cawan petri tersebut (posisi cawan terbalik) pada suhu 30°C selama 48 jam.

$$\text{Jumlah koloni/cm}^2 = \text{Rata-rata koloni dari 2 agar cawan} \times 10 \times \frac{1}{\text{luas permukaan yang diswab (cm}^2\text{)}}$$

UJI AIR

Alat-alat (per kelompok)

- 2 cawan petri steril
- Bunsen
- Tabung reaksi

Bahan (per kelompok)

- Media Plate Count Agar (PCA)
- Larutan buffer fosfat

Sampel

Air minum

Prosedur TPC

1. Ambil 1 mL sampel, lalu *plating* pada cawan petri. Tuang media PCA ke dalam cawan petri yang sudah berisi sampel.
2. Setelah semua agar dalam cawan petri membeku, inkubasikan cawan-cawan petri tersebut (posisi cawan terbalik) pada suhu 30°C selama 48 jam.
3. Hitung jumlah koloni dengan rumus berikut:

Jumlah koloni/mL = Rata-rata koloni dari 2 agar cawan x faktor pengenceran

IDENTIFIKASI BAKTERI KOLIFORM

Tujuan

Praktikum ini bertujuan untuk menetapkan nilai duga terdekat (MPN) koliform pada sampel makanan/minuman serta dapat melakukan identifikasi bakteri koliform dengan benar.

Indikator belajar

Setelah melakukan praktikum ini, mahasiswa diharapkan mampu:

1. Melakukan pengenceran dan pemupukan sampel makanan/minuman untuk menghitung mikroba dengan metode MPN
2. Menentukan hasil uji positif dengan ciri-ciri pembentukan gas yang terperangkap dalam tabung Durham
3. Menentukan hasil uji positif dengan ciri-ciri adanya kekeruhan pada media uji
4. Menganalisis nilai MPN dari sampel makanan/minuman
5. Menganalisis keberadaan koliform pada sampel dengan media *Eosine Methylene Blue Agar* (EMBA)

Prinsip

Metode *Most Probable Number* (MPN) atau Angka Paling Mungkin (APM) merupakan salah satu cara untuk menentukan banyaknya mikroba secara tidak langsung. Metode MPN menggunakan medium cair di dalam tabung reaksi, di mana perhitungan berdasarkan jumlah tabung positif, yaitu yang ditumbuhi oleh mikroba setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan, atau terbentuknya gas dalam tabung Durham untuk mikroba pembentuk gas.

Kelompok koliform merupakan bakteri indikator untuk uji kualitas mikrobiologi air dengan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN). Kelompok koliform mencakup bakteri yang bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif, batang Gram negatif dan tidak membentuk spora. Koliform memfermentasikan laktosa dengan pembentukan asam dan gas dalam waktu 48 jam pada suhu 35°C.

Kelompok koliform dibagi menjadi dua, yaitu yang berasal dari tinja dan bukan tinja (contoh: tanah). Koliform asal tinja mampu menghasilkan gas dalam kaldu dalam waktu 24 jam pada suhu 41-44,5°C dan koliform bukan asal tinja pada suhu 37°C.

Koliform dipilih menjadi bakteri indikator terjadinya pencemaran, karena kriteria di bawah ini:

1. Koliform terdapat dalam air tercemar dan tidak terdapat dalam air tidak tercemar
2. Koliform terdapat dalam jumlah besar jika air tercemar
3. Mudah berkembang biak dan mudah dideteksi
4. Berkorelasi dengan bakteri patogen

Pengujian MPN Koliform terdiri dari dua tahap, yaitu tahapan Praduga/*Presumptive* dan tahapan uji Penegas/Konfirmasi. Pada tahapan uji praduga, jika terdapat hasil positif, menunjukkan adanya pertumbuhan mikroorganisme yang mampu memfermentasikan Laktosa menjadi asam dan gas, namun jika hasil negatif, hal ini menunjukkan adanya pertumbuhan mikroorganisme yang tidak mampu memfermentasikan laktosa atau tidak ada mikroorganisme yang tumbuh.

Jika terdapat hasil positif pada tahapan uji Penegas, menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri Koliform. Jika menunjukkan hasil negatif, mengindikasikan tidak adanya pertumbuhan bakteri Koliform sehingga nilai MPN Koliform didapatkan dari jumlah tabung positif tiap pengenceran pada tahapan uji Penegas yang dirujuk ke tabel MPN. Dari tabung yang positif, isolasikan ke dalam media Eosine Methylene Blue Agar (EMBA). Jika hasil positif, maka akan dihasilkan koloni berwarna gelap pada bagian tengah dan berwarna hijau kilap logam (hijau metalik).

Bahan

Buffer phosphat

Lactose Broth (LB)

Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLBB)

Eosine Methylene Blue Agar (EMBA)

Sampel minuman dan makanan dari rumah makan 1

Sampel minuman dan makanan dari rumah makan 2
Sampel minuman dan makanan dari rumah makan 3
Sampel minuman dan makanan dari rumah makan 4
Sampel minuman dan makanan dari rumah makan 5
Sampel minuman dan makanan dari rumah makan 6

Alat

Tabung reaksi
Mikropipet 1mL dan tips
Tabung Durham
Autoklaf
Inkubator
Gelas ukur
Aluminium foil
Vortex
Jarum ose
Neraca analitik
Bunsen

Prosedur Uji MPN

1. Ambil 1mL sampel, masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9mL larutan buffer fosfat (pengenceran 10^{-1}).
2. Siapkan 2 tabung reaksi masing-masing berisi 9mL buffer fosfat. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan sampel, pipet 1mL pengenceran 10^{-1} ke dalam tabung buffer fosfat pertama hingga diperoleh suspensi dengan pengenceran 10^{-2} dan dihomogenkan. Dibuat pengenceran selanjutnya hingga 10^{-3} .

Metode 3 tabung

3. **Uji praduga:** Untuk setiap pengenceran disiapkan 3 tabung reaksi berisi 9mL LB yang dilengkapi tabung Durham. Ke dalam tiap tabung dari masing-masing seri dimasukkan 1mL suspensi pengenceran. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah 24 jam dicatat

dan diamati adanya gas yang terbentuk di dalam tiap tabung. Kemudian inkubasi dilanjutkan hingga 48 jam dan dicatat tabung-tabung yang menunjukkan gas positif.

4. **Uji penegas:** Biakan dari tabung yang menunjukkan uji praduga positif dipindahkan 1 ose ke dalam tabung reaksi berisi 10mL BGLB yang telah dilengkapi tabung Durham. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Dilakukan pengamatan terhadap pembentukan gas.
5. Jumlah tabung yang positif dirujuk pada tabel APM dan dinyatakan sebagai APM koliform.
6. Tabung yang positif diisolasikan ke dalam EMB-agar dan simpan dalam inkubator selama 2x24 jam pada suhu 37°C.
7. Amati koloni yang mencirikan koliform yaitu koloni bersifat gelap pada bagian tengah dan berwarna hijau metalik.

Prosedur Uji TPC

8. **Sampel minuman:** Ambil 1 mL sampel dengan pengenceran 10^{-1} , lalu *plating* ke cawan petri (duplo). Tuang media PCA ke dalam cawan petri yang sudah berisi sampel, kemudian homogenkan.
9. **Sampel makanan:** Ambil 1 mL sampel dengan pengenceran 10^{-2} , lalu *plating* ke cawan petri (duplo). Tuang media PCA ke dalam cawan petri yang sudah berisi sampel, kemudian homogenkan.
10. Setelah semua agar dalam cawan petri membeku, inkubasikan cawan-cawan petri tersebut (posisi cawan terbalik) pada suhu 30°C selama 48 jam.
11. Hitung jumlah koloni dengan rumus berikut:

Jumlah koloni/mL = Rata-rata koloni dari 2 agar cawan x faktor pengenceran

Referensi:

- Kusumaningrum HD, Suliantari, Nurjanah, Haritadi RD, Nurwitri CC. Penuntun praktikum mikrobiologi pangan. Bogor: Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor; 2012.

- Suriawati J, Rachmawati SR, Nugroho PD, Marwandha E, Wahyuti S, Patimah, dkk. Buku pedoman praktikum analisa hayati. Jakarta: Jurusan Analisa Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Jakarta II Departemen Kesehatan RI; 2010.
- Djasmari W, Fuad A. Penuntun praktik analisis mikrobiologi. Bogor: Akademia Kimia Analis; 2013.

UJI MINYAK DAN LEMAK PADA LIMBAH CAIR

1. Metode

Gravimetri

2. Pendahuluan

Metode ini untuk menentukan minyak dan lemak dalam contoh uji air dan air limbah secara gravimetri. Metode ini termasuk penanganan emulsi tertentu, zat yang tidak menguap, zat lain yang terekstraksi oleh pelarut dari contoh uji yang diasamkan seperti senyawa belerang, pewarna organik tertentu, dan klorofil.

3. Cara uji

3.1 Prinsip

Minyak dan lemak dalam contoh uji air diekstraksi dengan pelarut organik dalam corong pisah dan untuk menghilangkan air yang masih tersisa digunakan Na_2SO_4 anhidrat. Ekstrak minyak dan lemak dipisahkan dari pelarut organik secara destilasi. Residu yang tertinggal pada labu destilasi ditimbang sebagai minyak dan lemak.

4. Bahan dan Alat

1.1 Bahan

- N-hexana dengan titik didih 69°C .
- Kristal natrium sulfat, Na_2SO_4 anhidrat

1.2 Alat

- Neraca analitik;
- Corong pisah 2 buah;
- *Beaker Glass* 100 mL
- Kertas saring, diameter 11 cm;
- Gelas ukur 50 mL 2
- Oven;
- Statif.

CATATAN : Semua peralatan gelas yang akan digunakan harus dicuci dengan detergen, lalu dibilas dengan air, dan terakhir bila perlu dibilas dengan pelarut organik yang akan digunakan.

4.2 Prosedur

- a) Dua buah *beaker glass* untuk tempat ekstrak minyak dan lemak dipanaskan 105°C selama 1 jam didalam oven;
- b) *Beaker glass* kemudian ditimbang dalam neraca analitik dan dicatat beratnya;
- c) Blanko dan sampel air diukur volumenya sebanyak 50 mL dan masing-masing dimasukkan ke dalam corong pisah;
- d) Ukur N-hexana sebanyak 30 mL dan dimasukkan masing-masing ke dalam corong pisah yang telah disisi oleh blanko dan sampel air tadi, kemudian dikocok selama dua menit;
- e) Cairan bagian bawah dikeluarkan dari corong sampai batas yang terbentuk dari kocokan tadi;
- f) Cairan bagian atas yang tersisa pada blanko dan sampel air disaring dengan kertas saring menggunakan 10 g Na₂SO₄ ke dalam *beaker glass* yang telah dipanaskan tadi;
- g) Ulangi langkah d-f untuk pencucian
- h) Ekstrak minyak dan lemak pada blanko dan sampel air dimasukkan ke dalam lemari asam dibiarkan hingga seluruh heksan menguap (2 hari) lalu dimasukkan ke oven hingga didapatkan bobot kering.

4.5 Perhitungan

Jumlah minyak dan lemak dalam contoh uji:

$$\text{Kadar minyak-lemak (mg/L)} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{ml contoh uji}}$$

Dengan pengertian:

- A adalah berat beaker glass + ekstrak (mg)
B adalah berat beaker glass (mg)

LEMBAR KERJA PRATIUM
UJI MINYAK DAN LEMAK

$$\text{Kadar Minyak Dan Lemak (mg/mL)} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{ml contoh uji}}$$

A = berat labu + ekstrak (mg)

B = berat labu kosong (mg)

a. Contoh Uji (air limbah)

A =mg

B =mg

volume contoh uji = mL

Kadar minyak dan lemak =

=mg/ml

= ppm

b. Blanko (aquadest)

A =mg

B =mg

Volume contoh uji = mL

Kadar minyak dan lemak =

=mg/mL

= ppm

