# PETUNJUK PRAKTIKUM

# BIOPROSES



**disusun oleh :**

**Ir. Endah Retno, MT**

**Ari Diana Susanti, ST, MT**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III TEKNIK KIMIA**

**FAKULTAS TEKNIK**

**UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

**2014**

**KATA PENGANTAR**

Buku Petunjuk Praktikum Bioproses ini disusun dengan harapan dapat memperlancar jalannya praktikum yang ada di Program Studi Diploma Teknik Kimia FT-UNS.

Edisi kali ini merupakan evaluasi dan penambahan dari materi tahun-tahun sebelumnya dengan mempertimbangkan masukan dari dosen, alumni maupun *stakeholder*. Pertimbangan tersebut dirumuskan oleh tim evaluasi kurikulum D3 dan berkaitan dengan peninjauan kurikulum yang diadakan setiap 5 tahun sekali. Hasil peninjauan ini mulai diberlakukan pada tahun ajaran 2014/2015.

Kami menyadari bahwa masih banyak terdapat kekurangan pada buku pertunjuk praktikum ini, sehingga kritik dan saran membangun tetap kami harapkan untuk perbaikan berikutnya.

Semoga bermanfaat.

Surakarta, Juni 2014

Penyusun

**DAFTAR ISI**

|  |  |
| --- | --- |
| Halaman Sampul  Kata Pengantar  Daftar Isi  Tata Tertib Praktikum  Prosedur Keselamatan Kerja di Laboratorium  Materi I Pengenalan Alat  Materi II Sterilisasi dan Pembuatan Medium  Materi III Pembiakan dan Menghitung Jumlah Koloni  Materi IV Pembuatan Minyak Kelapa  Materi V Pembuatan Nata  Materi VI Pembuatan Ethanol  Materi VII Pembuatan Asam Sitrat  Materi VIII Pembuatan Glukosa dari Tepung Aci  Materi IX Pembuatan Singkong Menjadi Tape  Materi X Fermentasi Kedelai Menjadi Tempe  Lampiran  Format Laporan Praktikum | i  ii  iii  iv  v  1  19  32  39  45  49  58  64  67  72 |

**TATA TERTIB PRAKTIKUM**

Setiap praktikan yang melakukan praktikum di Laboratorium yang ada di program studi Teknik Kimia FT-UNS harus mentaati semua peraturan yang berlaku di laboratorium sebagai berikut:

1. Setiap masuk laboratorium praktikan harus mengenakan jas laboratorium.
2. Harus berpakaian yang rapi dan sopan (dilarang mengenakan kaos oblong dan sandal).
3. Dilarang makan, minum dan merokok di laboratorium.
4. Dilarang membawa peralatan yang bisa membahayakan praktikan lain dan semua orang atau peralatan yang ada di laboratorium (misal pisau, gunting dll).
5. Dilarang menggunakan semua peralatan laboratorium tanpa sepengetahuan pembimbing.
6. Selama melaksanakan praktikum dilarang melakukan tindakan-tindakan yang bisa mengganggu jalannya praktikum, seperti bersenda gurau, ceroboh, dll.
7. Dilarang melakukan tindakan diluar prosedur percobaan.
8. Setiap sebelum dan sesudah percobaan praktikum diharuskan mengecek alat-alat percobaan yang akan digunakan. Kerusakan, kehilangan dan segala sesuatu yang menyebabkan peralatan tidak berfungsi sebagaimana mestinya menjadi tanggung jawab praktikan.
9. Setiap selesai praktikum wajib membuat laporan sementara yang diketahui pembimbing praktikum.
10. Penggantian alat-alat praktikum yang rusak atau hilang dilakukan sebelum test uji kemampuan dan ketrampilan.
11. Hal-hal yang belum tertulis di atas yang menyangkut lancarnya jalannya pelaksanaan praktikum akan diumumkan pada saat pelaksanaan praktikum.

Demikian tata tertib yang berlaku di laboratorium yang ada di program studi Teknik Kimia FT-UNS dan harap maklum adanya.

Program Studi Diploma III Teknik Kimia

**PROSEDUR KESELAMATAN KERJA DI LABORATORIUM**

**Penggunaan Bahan-Bahan Kimia di Laboratorium**

Hal-hal yang harus diperhatikan saat penggunaan bahan kimia antara lain sebagai berikut:

1. Tabung reaksi yang berisi zat kimia tidak boleh diarahkan ke wajah sendiri atau orang lain.
2. Senyawa kimia tidak boleh dibaui.
3. Larutan kimia yang tertuang di meja praktikum atau di lantai harus segera dibersihkan. Jika asam pekat maka harus dinetralkan dengan NaCO₃. Jika basa kuat dinetralkan dengan NH₄Cl. Kemudian, ditambah air secukupnya.
4. Larutan pekat yang tidak terpakai harus segera dibuang setelah diencerkan terlebih dahulu.
5. Senyawa/ zat kimia tertentu tidak boleh dicampur karena akan terjadi reaksi yang dahsyat, kecuali sudah diketahui pasti tidak akan menimbulkan bahaya.
6. Senyawa/ zat yang sudah tertuang ke dalam botol jangan dikembalikan ke tempatnya semula.

**Penyimpanan Bahan Kimia**

Hal-hal yang harus diperhatikan pada penyimpanan bahan kimia antara lain sebagai berikut:

1. Botol-botol yang berisi bahan kimia disimpan pada rak atau lemari yang telah disediakan khusus.
2. Jangan mengisi botol-botol sampai penuh.
3. Jangan menggunakan tutup dari kaca untuk botol yang berisi basa karena lama kelamaan tutup itu akan melekat pada botol dan susah dibuka.
4. Semua peralatan/ gelas kimia yang berisi bahan kimia harus diberi label yang menyatakan nama bahan itu.
5. Bahan kimia yang dapat bereaksi hebat hendaknya jangan disimpan berdekatan.

**Simbol Keselamatan Kerja**

Simbol-simbol bahaya pada bahan kimia antara lain sebagai berikut:



1. Beracun/ toksik

Beracun artinya suatu zat dapat menimbulkan kecelakaan ataupun kematian apabila tertelan, terhirup, atau terserap melalui kulit. Contohnya merkuri dan sianida.

1. Mudah terbakar

Bahan-bahan yang sangat mudah menyala atau terbakar pada keadaan normal. Contohnya alkohol dan kerosin.

1. Korosif  
   Korosif artinya bahan-bahan yang dapat merusak jaringan hidup bila bersentuhan. Contohnya asam dan basa kuat.
2. Mudah meledak

Bahan-bahan yang mudah meledak bila terkena gesekan, benturan, panas, atau kontak dengan api. Contohnya campuran hidrogen dan oksigen.

1. Iritasi  
   Bahan-bahan yang dapat menimbulkan hilangnya pigmen atau melepuh bila bersentuhan. Contohnya kloroform.
2. Radioaktif  
   Bahan-bahan yang dapat memancarkan sinar radioaktif yang dapat mengakibatkan efek racun dalam waktu singkat ataupun lama. Contohnya uranium.

**Pertolongan Pertama pada Kecelakaan (P3K)**

Jika terjadi kecelakaan di laboratorium, pertolongan pertama yang dapat kita lakukan antara lain sebagai berikut.

1. Luka bakar akibat zat asam

Bersihkan zat asam dengan kain halus atau kapas, lalu cuci dengan air mengalir. Selanjutnya cuci dengan larutan Na₂CO₃ 1%. Cuci lagi dengan air, lalu keringkan. Olesi dengan salep levertran dan balut dengan kain perban.

1. Luka bakar akibat zat basa

Cuci dengan air mengalir, bilas dengan asam asetat 1%. Lalu cuci kembali dengan air, keringkan. Olesi dengan salep boor dan balut dengan kain perban.

1. Luka bakar karena panas

Kompres dengan air es secepatnya. Tutup luka dengan perban dan segera bawa ke dokter.

1. Mata terkena percikan bahan kimia

Basuh dengan air sebanyak-banyaknya.

1. Keracunan zat melalui hidung

Bawa korban ke tempat yang udaranya segar. Bila korban tidak dapat bernapas, berikan napas bantuan.

1. Keracunan melalui mulut

Segera muntahkan. Bila tidak bisa muntah, pancing dengan segelas air yang dicampur dengan dua sendok garam dapur atau pancing dengan jari yang dimasukkan ke pangkal tenggorokan. Jika korban pingsan, segera bawa ke dokter.

Program Studi Diploma III Teknik Kimia

**MATERI I**

**PENGENALAN ALAT**

1. **TUJUAN PERCOBAAN**

Mahasiswa mengenal dan mengetahui fungsi dari tiap-tiap alat

1. **ALAT**

Alat- alat mikrobiologi yang perlu dikenal dikelompokkan menjadi alat-alat elektrik, alat-alat gelas dan keramik, serta alat-alat non gelas

**Alat-alat elektrik**

1. Mikroskop cahaya 5. *Hot plate & stirrer*
2. Mikroskop stereo 6. *Colony counter*
3. Autoklaf elektrik 7. *Biological Safety Cabinet (BSC)*
4. *Incubator* 8. Mikropipet

**Alat-alat gelas dan keramik**

1. Cawan Petri 7. *Mortar & pestle*
2. Pipet ukur 8. *Beaker glass*
3. Pipet tetes 9. *Buncen burner*
4. Tabung reaksi 10. Gelas ukur
5. Labu Erlenmeyer 11. Batang L / *Drugalsky*
6. *Glass beads* 12. Tabung durham

**Alat-alat non gelas**

1. Jarum inokulum / ose 3. Rubber bulb
2. Pinset 4. pH meter universal

**B.1 ALAT ELEKTRIK**

1. **Mikroskop Cahaya (*Brightfield Microscope*)**

Salah satu alat untuk melihat sel mikroorganisme adalah mikroskop cahaya. Dengan mikroskop kita dapat mengamati sel bakteri yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Pada umumnya mata tidak mampu membedakan benda dengan diameter lebih kecil dari 0,1 mm. berikut merupakan uraian tentang cara penggunaan bagian-bagiandan spesifikasi mikroskop cahaya merk Olympus CH20 yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi.

**Bagian-bagian Mikroskop:**

1. *Eyepiece / oculars* (lensa okuler) Untuk memperbesar bayangan yang dibentuk lensa objektif

2. *Revolving nosepiece* (pemutar lensa objektif)Untuk memutar objektif sehingga mengubah perbesaran

3. *Observation tube* (tabung pengamatan / tabung okuler)

4. *Stage* (meja benda)Spesimen diletakkan di sini

5. *Condenser* (condenser)Untuk mengumpulkan cahaya supaya tertuju ke lensa objektif

6. *Objective lense* (lensa objektif) Memperbesar spesimen

7. *Brightness adjustment knob* (pengatur kekuatan lampu) Untuk memperbesar dan memperkecil cahaya lampu

8. *Main switch* (tombol *on-off*)

9. *Diopter adjustmet ring* (cincin pengatur diopter) Untuk menyamakan focus antara mata kanan dan kiri

10. *Interpupillar distance adjustment knob* (pengatur jarak interpupillar)

11. *Specimen holder* (penjepit spesimen)

12. *Illuminator* (sumber cahaya)

13.*Vertical feed knob* (sekrup pengatur vertikal) Untuk menaikkan atau menurunkan *object* *glass*

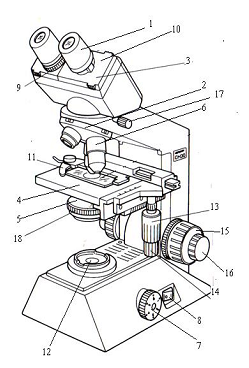
14. *Horizontal feed knob* (sekrup pengatur horizontal) Untuk menggeser ke kanan / kiri objek glas

15. *Coarse focus knob* (sekrup fokus kasar) Menaik turunkan meja benda (untuk mencari fokus) secara kasar dan cepat

16. *Fine focus knob* (sekrup fokus halus) Menaik turunkan meja benda secara halus dan lambat

17. *Observation tube securing knob* (sekrup pengencang tabung okuler)

18. *Condenser adjustment knob* (sekrup pengatur kondenser) Untuk menaik-turunkan condenser



**Gambar 1.** Mikroskop Cahaya

**Prosedur Operasi**

1. Menyalakan lampu

a. tekan tombol on (8)

b. atur kekuatan lampu dengan memutar bagian (7)

2. Menempatkan spesimen pada meja benda

a. Letakan objek glas diatas meja benda (4) kemudian jepit dengan (11). Jika meja benda belum turun, diturunkan dengan sekrup kasar (15)

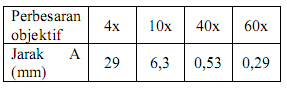
b. Cari bagian dari objek glas yang terdapat preparat ulas (dicari dan diperkirakan memiliki gambar yang jelas) dengan memutar sekrup vertikal dan horizontal (13) dan (14)

3. Memfokuskan

a. Putar *Revolving nosepiece* (2) pada perbesaran objektif 4x lalu putar sekrup kasar (15) sehingga meja benda bergerak ke atas untuk mencari fokus

b. Setelah fokus perbesaran 4 x 10 didapatkan, maka putar (2) pada perbesaran selanjutnya yaitu perbesaran objektif 10x. kemudian putar sekrup halus (16) untuk mendapatkan fokusnya

c. Lakukan hal yang sama jika menggunakan perbesaran yang lebih tinggi Berikut adalah tabel yang menunjukan jarak antara spesimen dengan lensa objektif jika fokus telah didapatkan



Catatan: Setelah mendapatkkan fokus pada perbesaran tetentu, misal 40x, dan ingin memutar objektif ke perbesaran 100x, maka meja benda tidak perlu diturunkan dan tidak perlu khawatir bahwa lensa objektif akan menggesek *cover glass* karena terdapat sisa jarak A yang lebih kecil antara *cover glass* dengan lensa objektif (lihat tabel diatas).

4. Tambahan

a. Jika perlu *interpupillar distance adjustment knob* (10) dapat digeser, hal ini akan mengubah dua bayangan yang akan diterima oleh 2 mata menjadi gambar yang tunggal sehingga sangat membantu dalam mengatasi kelelahan mata

b. Jika perlu *diopter adjustment knob* (9) dapat diatur untuk memperoleh bayangan focus yang seimbang antara mata kanan dan kiri

c. Pengaturan *condenser* (5) akan memperjelas bayangan yang tampak dengan mensetting pada posisi tertinggi (cahaya penuh)

**Perbesaran total**

Ukuran specimen yang diamati dapat diperoleh dengan mengalikan perbesaran lensa okuler dengan lensa objektif. Misal = Okuler (10x) x Objektif (40x) = 400x

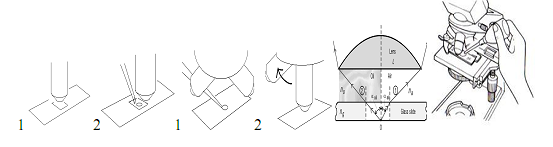
**Penggunaan minyak imersi**

Semakin kecil nilai daya pisah, akan semakin kuat kemampuan lensa untuk memisahkan dua titikyang berdekatan pada preparat sehingga struktur benda terlihat lebih jelas. Daya pisah dapat diperkuat dengan memperbesarkan indeks bias atau menggunakan cahaya yang memiliki panjang gelombang (λ) pendek. Biasanya dapat digunakan minyak imersi untuk meningkatkan indeks bias pada perbesaran 10 x 100

a. Jika fokus pada perbesaran 10 x 40 telah didapatkan maka putar ke perbesaran objektif 100x

b. Tetesi minyak imersi 1 – 2 tetes dari sisi lensa

c. Jika telah selesai menggunakan mikroskop, bersihkan lensa objektif 100x dengan kertas lensa yang dibasahi xylol



**Gambar 2.** Penyiapan Sample

1. **Mikroskop stereo (Zoom Stereo Microscope)**

Mikroskop ini berfungsi untuk melihat objek yang membutuhkan perbesaran tidak terlalu besar. Di Laboratorium Mikrobiologi, mikroskop stereo biasanya digunakan untuk mengamati secara detail bentuk koloni dan jamur. Berikut merupakan uraian tentang mikroskop stereo yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi yaitu *Zoom Stereo Microscope*, Olimpus SZ3060.

1. *Oculars* *eyepiece* (lensa okuler)

2. *Diopter adjustment ring* (cincin pengatur diopter)

3. *Zoom control knob* (sekrup pengatur pembesaran)

4. *Focusing knob* (sekrup pengatur fokus)

5. *Stage plate* (pelat tempat specimen diletakkan)

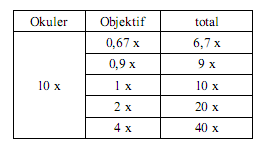
6. *Stage clip* (penjepit spesimen / preparat)

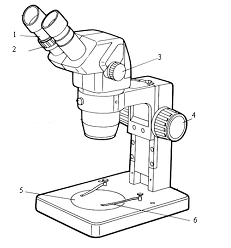
**Prosedur operasi**

1. Letakkan spesimen / preparat di stage plate (5), jepit jika perlu

2. Atur perbesaran pada perbesaran terkecil dengan memutar *Zoom Control Knob* (3) kemudian dicari fokusnya dengan memutar *Focusing Knob* (4)

3. Jika ingin mendapatkan bayangan yang lebih besar, putar *Zoom Control Knob* (3) ke perbesaran yang lebih tinggi kemudian dicari fokusnyaMikroskop ini memiliki pilihan perbesaran:





**Gambar 3.** Mikroskop Stereo

1. **Autoklaf (*Autoclave*)**

*Autoclave* adalah alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang digunakan dalam mikrobiologi menggunakan uap air panas bertekanan. Tekanan yang digunakan pada umumnya 15 Psi atau sekitar 2 atm dan dengan suhu 121o C (250o F). Jadi tekanan yang bekerja ke seluruh permukaan benda adalah 15 pon tiap inchi (15 Psi = 15 *pounds per square inch*). Lama sterilisasi yang dilakukan biasanya 15 menit untuk 121oC

Diagram autoklaf vertical

1. Tombol pengatur waktu mundur (*timer*)

2. Katup pengeluaran uap

3. Pengukur tekanan

4. Kelep pengaman

5. Tombol *on-off*

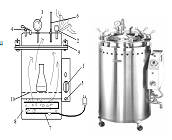
6. Termometer

7. Lempeng sumber panas

8. Aquades (dho)

9. Sekrup pengaman

10. Batas penambahan air



**Gambar 4.** *Autoclave*

**Cara Penggunaan:**

1. Sebelum melakukan sterilisasi cek dahulu banyaknya air dalam autoklaf. Jika air kurang dari batas yang ditentukan, maka dapat ditambah air sampai batas tersebut. Gunakan air hasil destilasi, untuk menghindari terbentuknya kerak dan karat.

2. Masukkan peralatan dan bahan. Jika mensterilisasi botol beretutup ulir, maka tutup harus dikendorkan.

3. Tutup autoklaf dengan rapat lalu kencangkan baut pengaman agar tidak ada uap yang keluar dari bibir autoklaf. Klep pengaman jangan dikencangkan terlebih dahulu.

4. Nyalakan autoklaf, diatur *timer* dengan waktu minimal 15 menit pada suhu 121oC.

5. Tunggu samapai air mendidih sehingga uapnya memenuhi kompartemen autoklaf dan terdesak keluar dari klep pengaman. Kemudian klep pengaman ditutup (dikencangkan) dan tunggu sampai selesai. Penghitungan waktu 15’ dimulai sejak tekanan mencapai 2 atm.

6. Jika alarm tanda selesai berbunyi, maka tunggu tekanan dalam kompartemen turun hingga sama dengan tekanan udara di lingkungan (jarum pada *preisure gauge* menunjuk ke angka nol). Kemudian klep-klep pengaman dibuka dan keluarkan isi autoklaf dengan hati-hati.

1. **Inkubator (Incubator)**

Inkubator adalah alat untuk menginkubasi atau memeram mikroba pada suhu yang terkontrol. Alat ini dilengkapi dengan pengatur suhu dan pengatur waktu. Kisaran suhu untuk inkubator produksi Heraeus B5042 misalnya adalah 10-70oC..



**Gambar 5.** Inkubator

1. ***Hot plate stirrer* dan *Stirrer bar* (*magnetic stirrer*)**

Alat ini berfungsi untuk menghomogenkan suatu larutan dengan pengadukan. Pelat (*plate*) yang terdapat dalam alat ini dapat dipanaskan sehingga mampu mempercepat proses homogenisasi. Pengadukan dengan bantuan batang magnet *Hot plate* dan *magnetic stirrer* seri SBS-100 dari SBS® misalnya mampu menghomogenkan sampai 10 L, dengan kecepatan sangat lambat sampai 1600 rpm dan dapat dipanaskan sampai 425oC.



**Gambar 5.** *Hot Plate Stirrer* dan *Stirrer Bar*

1. ***Colony counter***

Alat ini berguna untuk mempermudah perhitungan koloni yang tumbuh setelah diinkubasi di dalam cawankarena adanya kaca pembesar. Selain itu alat tersebut dilengkapi dengan skala/ kuadran yang sangat berguna untuk pengamatan pertumbuhan koloni sangat banyak. Jumlah koloni pada cawan Petri dapat ditandai dan dihitung otomatis yang dapat di-*reset*.



**Gambar 6.** *Colony Counter*

1. **Biological Safety Cabinet**

*Biological Safety Cabinet* (BSC) atau dapat juga disebut *Laminar Air Flow* (LAF) adalah alat yang berguna untuk bekerja secara aseptis karena BSC mempunyai pola pengaturan dan penyaring aliran udara sehingga menjadi steril dan aplikasisinar UV beberapa jam sebelum digunakan. Prosedur penggunaan BSC seri 36212, Purifier™ Biological Safety Cabinet dari LABCONCO yang dimiliki laboratorium mikrobiologi adalah sebagai berikut:

1. Hidupkan lampu UV selama 2 jam, selanjutnya matikan segera sebelum mulai bekerja

2. Pastikan kaca penutup terkunci dan pada posisi terendah

3. Nyalakan lampu neon dan blower

4. Biarkan selama 5 menit

5. Cuci tangan dan lengan dengan sabun gemisidal / alkohol 70 %

6. Usap permukaan interior BSC dengan alkohol 70 % atau desinfektan yang cocok dan biarkan menguap

7. Masukkan alat dan bahan yang akan dikerjakan, jangan terlalu penuh (*overload*) karena memperbesar resiko kontaminan

8. Atur alat dan bahan yang telah dimasukan ke bsc sedemikian rupa sehingga efektif dalam bekerja dan tercipta areal yang benar-benar steril

9. Jangan menggunakan pembakar bunsen dengan bahan bakar alkohol tapi gunakan yang berbahan bakar gas.

10. Kerja secara aseptis dan jangan sampai pola aliran udara terganggu oleh aktivitas kerja

11. Setelah selesai bekerja, biarkan 2-3 menit supaya kontaminan tidak keluar dari bsc

12. Usap permukaan interior bsc dengan alkohol 70 % dan biarkan menguap lalu tangan dibasuh dengan desinfektan

13. Matikan lampu neon dan blower

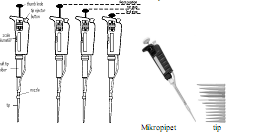


**Gambar 7.** Biological Safety Cabinet

1. **Mikropipet *(Micropippete)* dan Tip**

Mikropipet adalah alat untuk memindahkan cairan yang bervolume cukup kecil, biasanya kurang dari 1000 µl. Banyak pilihan kapasitas dalam mikropipet, misalnya mikropipet yang dapat diatur volume pengambilannya (*adjustable volume pipette*) antara 1µl sampai 20 µl, atau mikropipet yang tidak bisa diatur volumenya, hanya tersedia satu pilihan volume (*fixed volume pipette*) misalnya mikropipet 5 µl. dalam penggunaannya, mikropipet memerlukan tip.

Mikropipet tip



**Gambar 8.** Mikropipet

**Cara Penggunaan :**

1. Sebelum digunakan *Thumb Knob* sebaiknya ditekan berkali-kali untuk memastikan lancarnya mikropipet.

2. Masukkan Tip bersih ke dalam *Nozzle* / ujung mikropipet.

3. Tekan *Thumb Knob* sampai hambatan pertama / *first stop*, jangan ditekan lebih ke dalam lagi.

4. Masukkan tip ke dalam cairan sedalam 3-4 mm.

5. Tahan pipet dalam posisi vertikal kemudian lepaskan tekanan dari *Thumb Knob* maka cairan akan masuk ke tip.

6. Pindahkan ujung tip ke tempat penampung yang diinginkan.

7. Tekan *Thumb Knob* sampai hambatan kedua / *second stop* atau tekan semaksimal mungkin maka semua cairan akan keluar dari ujung tip.

8. Jika ingin melepas tip putar *Thumb Knob* searah jarum jam dan ditekan maka tip akan terdorong keluar dengan sendirinya, atau menggunakan alat tambahan yang berfungsi mendorong tip keluar.

**B.2 ALAT-ALAT GELAS DAN KERAMIK**

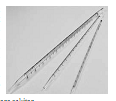
**1. *Cawan Petri (Petri Dish)***

Cawan petri berfungsi untuk membiakkan (kultivasi) mikroorganisme. Medium dapat dituang ke cawan bagian bawah dan cawan bagian atas sebagai penutup. Cawan petri tersedia dalam berbagai macam ukuran, diameter cawan yang biasa berdiameter 15 cm dapat menampung media sebanyak 15-20 ml, sedangkan cawan berdiameter 9 cm kira-kira cukup diisi media sebanyak 10 ml.

**Gambar 9.** Cawan Petri

**2. Pipet Ukur (*Measuring Pippete*)**

Pipet ukur merupakan alat untuk memindahkan larutan dengan volume yang diketahui. Tersedia berbagai macam ukuran kapasitas pipet ukur, diantaranya pipet berukuran 1 ml, 5 ml dan 10 ml. Cara penggunaanya adalah cairan disedot dengan pipet ukur dengan bantuan *filler* sampai dengan volume yang diingini. Volume yang dipindahkan dikeluarkan menikuti skala yang tersedia (dilihat bahwa skala harus tepat sejajar dengan mensikus cekung cairan) dengan cara menyamakan tekanan *filler* dengan udara sekitar.



**Gambar 10.** Pipet Ukur

**3. Pipet tetes (*Pasteur Pippete*)**

Fungsinya sama dengan pipet ukur, namun volume yang dipindahkan tidak diketahui. Salah satu penerapannya adalah dalam menambahkan HCl / NaOH saat mengatur pH media, penambahan reagen ada uji biokimia, dll.



**Gambar 11.** Pipet Tetes

**4. Tabung reaksi (*Reaction Tube / Test Tube*)**

Di dalam mikrobiologi, tabung reaksi digunakan untuk uji-uji biokimiawi dan menumbuhkan mikroba.Tabung reaksi dapat diisi media padat maupun cair. Tutup tabung reaksi dapat berupa kapas, tutup metal, tutup plastik atau aluminium foil. Media padat yang dimasukkan ke tabung reaksi dapat diatur menjadi 2 bentuk menurut fungsinya, yaitu media agar tegak (*deep tube agar*) dan agar miring (*slants agar*). Untuk membuat agar miring, perlu diperhatikan tentang kemiringan media yaitu luas permukaan yang kontak dengan udara tidak terlalu sempit atau tidak terlalu lebar dan hindari jarak media yang terlalu dekat dengan mulut tabung karena memperbesar resiko kontaminasi. Untuk alas an efisiensi, media yang ditambahkan berkisar 10-12 ml tiap tabung.



**Gambar 12.** Tabung Reaksi

**5. Labu Erlenmeyer *(Erlenmeyer Flask)***

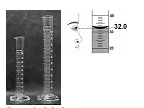
Berfungsi untuk menampung larutan, bahan atau cairan yang. Labu Erlenmeyer dapat digunakan untuk meracik dan menghomogenkan bahan-bahan komposisi media, menampung akuades, kultivasi mikroba dalam kultur cair, dll. Terdapat beberapa pilihan berdasarkan volume cairan yang dapat ditampungnya yaitu 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 300 ml, 500 ml, 1000 ml, dsb.



**Gambar 13.** Labu Erlenmeyer

**6. Gelas ukur (*Graduated* *Cylinder*)**

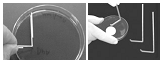
Berguna untuk mengukur volume suatu cairan, seperti labu erlenmeyer, gelas ukur memiliki beberapa pilihan berdasarkan skala volumenya. Pada saat mengukur volume larutan, sebaiknya volume tersebut ditentukan berdasarkan meniskus cekung larutan.



**Gambar 14.** Gelas Ukur

**7. Batang L (*L Rod*)**

Batang L bermanfaat untuk menyebarkan cairan di permukaan agar supaya bakteri yang tersuspensi dalam cairan tersebut tersebar merata. Alat ini juga disebut *spreader.*



**Gambar 15.** Batang L

**8. *Beaker Glass***

*Beaker glass* merupakan alat yang memiliki banyak fungsi. Di dalam mikrobiologi, dapat digunakan untuk preparasi media media, menampung akuades dll.



**Gambar 16.** Beaker Glass

**9. Mortar dan Pestle**

Mortar dan penumbuk (*pastle*) digunakan untuk menumbuk atau menghancurkan materi cuplikan, misal daging, roti atau tanah sebelum diproses lebih lanjut. *Beaker glass* merupakan alat yang memiliki banyak fungsi. Di dalam mikrobiologi, dapat digunakan untuk preparasi media media, menampung akuades dll..



**Gambar 17.** Mortar dan Pestle

**10. Pembakar Bunsen (Bunsen Burner)**

Salah satu alat yang berfungsi untuk menciptakan kondisi yang steril adalah pembakar bunsen. Api yang menyala dapat membuat aliran udara karena oksigen dikonsumsi dari bawah dan diharapkan kontaminan ikut terbakar dalam pola aliran udara tersebut. Untuk sterilisasi jarum ose atau yang lain, bagian api yang paling cocok untuk memijarkannya adalah bagian api yang berwarna biru (paling panas). Perubahan bunsen dapat menggunakan bahan bakar gas atau metanol.



**Gambar 18.** Pembakar Bunsen

**11. *Glass Beads***

*Glass* *Beads* adalah manik-manik gelas kecil yang digunakan untuk meratakan suspensi biakan dengan menyebarkan beberapa butir di atas permukaan agar dan digoyang merata. *Glass beads* digunakan pada teknik *spread plate* yang fungsinya sama dengan batang L atau *Spreader*.

**12. Tabung Durham**

Tabung Durham berbentuk mirip dengan tabung reaksi namun ukurannya lebih kecil dan berfungsi untuk menampung/menjebak gas yang terbentuk akibat metabolisme pada bakteri yang diujikan. Penempatannya terbalik dalam tabung reaksi dan harus terendam sempurna dalam media (jangan sampai ada sisa udara).

**B.2 ALAT-ALAT NON GELAS**

1. **Jarum Inokulum**

Jarum inokulum berfungsi untuk memindahkan biakan untuk ditanam/ditumbuhkan ke media baru. Jarum inokulum biasanya terbuat dari kawat nichrome atau platinum sehingga dapat berpijar jika terkena panas. Bentuk ujung jarum dapat berbentuk lingkaran (*loop*) dan disebut ose atau *inoculating loop/transfer loop*, dan yang berbentuk lurus disebut *inoculating needle/Transfer needle*. *Inoculating loop* cocok untuk melakukan *streak* di permukaan agar, sedangkan *inoculating needle* cocok digunakan untuk inokulasi secara tusukan pada agar tegak (*stab inoculating*). Jarum inokulum ini akan sangat bermanfaat saat membelah agar untuk preprasi *Heinrich’s Slide Culture*.

****

**Gambar 19.** Jarum Inokulum

1. **Pinset**

Pinset memiliki banyak fungsi diantaranya adalah untuk mengambil benda dengan menjepit misalnya saat memindahkan cakram antibiotik.



**Gambar 20.** Pinset

1. **pH Indikator Universal**

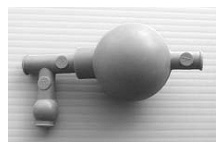
Alat ini berguna untuk mengukur/mengetahui pH suatu larutan. Hal ini sangat penting dalam pembuatan media karena pH pada media berpengaruh terhadap petumbuhan mikroba. Kertas pH indikator dicelupkan sampai tidak ada perubahan warna kemudian strip warna dicocokkan dengan skala warna acuan.



**Gambar 21.** pH Indikator Universal

1. **Pipet Filler / Rubber Bulb**

*Filler* adalah alat untuk menyedot larutan yang dapat dipasang pada pangkal pipet ukur. Karet sebagai bahan *filler* merupakan karet yang resisten bahan kimia. *Filler* memiliki 3 saluran yang masing-masing saluran memiliki katup. Katup yang bersimbol A (*aspirate*) berguna untuk mengeluarkan udara dari gelembung. S (*suction*) merupakan katup yang jika ditekan maka cairan dari ujung pipet akan tersedot ke atas. Kemudian katup E (*exhaust*) berfungsi untuk mengeluarkan cairan dari pipet ukur.



**Gambar 22.** Rubber Bulb

**MATERI II**

**STERILISASI DAN PEMBUATAN MEDIUM**

1. **TUJUAN PERCOBAAN**

Percobaan ini bertujuan agar mahasiswa dapat:

-. Membuat media pertumbuhan berupa media padat dan media cair

-. Mengetahui cara sterilisasi dengan menggunakan autoklaf

**B. MEDIA PERTUMBUHAN**

1. Pengertian dan fungsi

2. Bahan-bahan media pertumbuhan

* Bahan dasar
* Nutrisi atau zat makanan
* Bahan tambahan
* Bahan yang sering digunakan dalam pembuatan media

3. Macam-macam media pertumbuhan

* Berdasarkan sifat fisik
* Berdasarkan komposisi
* Berdasarkan tujuan

4. Pembuatan *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth*

5. Pembuatan *Potato Dextrose Agar*

**Pengertian dan Fungsi**

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi media berupa molekulmoleku kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Dengan media pertumbuhan dapat dilakukan isolat mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga memanipulasi komposisi media pertumbuhannya.

**Bahan-bahan media pertumbuhan**

1. Bahan dasar

* Air (H2O) sebagai pelarut
* Agar (dari rumput laut) yang berfungsi untuk pemadat media. Agar sulitdidegradasi oleh mikroorganisme pada umumnya dan mencair pada suhu 45oc.
* Gelatin juga memiliki fungsi yang sama seperti agar. Gelatin adalah polimer asam amino yang diproduksi dari kolagen. Kekurangannnya adalah lebih banyak jenis mikroba yang mampu menguraikannya dibanding agar.
* *Silica gel*, yaitu bahan yang mengandung natrium silikat. Fungsinya juga sebagai pemadat media. Silica gel khusus digunakan untuk memadatkan media bagi mikroorganisme autotrof obligat.

2. Nutrisi atau zat makanan

Media harus mengandung unsur-unsur yang diperlukan untuk metabolisme sel yaitu berupa unsur makro seperti C, H, O, N, P; unsur mikro seperti Fe, Mg dan

unsur pelikan/*trace element.*

* Sumber karbon dan energi yang dapat diperoleh berupa senyawa organic atau anorganik esuai dengan sifat mikrobanya. Jasad heterotrof memerlukan sumber karbon organik antara lain dari karbohidrat, lemak, protein dan asam organik.
* Sumber nitrogen mencakup asam amino, protein atau senyawa bernitrogen lain. Sejumlah mikroba dapat menggunakan sumber N anorganik seperti urea.
* Vitamin-vitamin.

3. Bahan tambahan

Bahan-bahan tambahan yaitu bahan yang ditambahkan ke medium dengan tujuan tertentu, misalnya *phenol red* (indikator asam basa) ditambahkan untuk indikator perubahan pH akibat produksi asam organik hasil metabolisme. Antibiotik ditambahkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba nontarget/kontaminan.

4. Bahan yang sering digunakan dalam pembuatan media

* Agar, agar dapat diperoleh dalam bentuk batangan, granula atau bubuk dan terbuat dari beberapa jenis rumput laut. Kegunaannya adalah sebagai pemadat (*gelling*) yang pertama kali digunakan oleh Fraw & Walther Hesse untuk membuat media. Jika dicampur dengan air dingin, agar tidak akan larut. Untuk melarutkannya harus diasuk dan dipanasi, pencairan dan pemadatan berkali-kali atau sterilisasi yang terlalu lama dapat menurunkan kekuatan agar, terutama pada pH yang asam
* *Peptone*, *peptone* adalah produk hidrolisis protein hewani atau nabati seperti otot, liver, darah, susu, casein, lactalbumin, gelatin dan kedelai. Komposisinya tergantung pada bahan asalnya dan bagaimana cara memperolehnya.
* *Meat extract*. *Meat extract* mengandung basa organik terbuat dari otak, limpa, plasenta dan daging sapi.
* *Yeast extract*. *Yeast extract* terbuat dari ragi pengembang roti atau pembuat alcohol. Yeast extract mengandung asam amino yang lengkap & vitamin (B *complex*).
* Karbohidrat. Karbohidrat ditambahkan untuk memperkaya pembentukan asam amino dan gas dari karbohidrat. Jenis karbohidrat yang umumnya digunkan dalam amilum, glukosa, fruktosa, galaktosa, sukrosa, manitol, dll. Konsentrasi yang ditambahkan untuk analisis fermentasi adalah 0,5-1%.

**Macam-Macam Media Pertumbuhan**

1. Medium berdasarkan sifat fisik

* Medium padat yaitu media yang mengandung agar 15% sehingga setelah dingin media menjadi padat..
* Medium setengah padat yaitu media yang mengandung agar 0,3-0,4% sehingga menjadi sedikit kenyal, tidak padat, tidak begitu cair. Media semi solid dibuat dengan tujuan supaya pertumbuhan mikroba dapat menyebar ke seluruh media tetapi tidak mengalami percampuran sempurna jika tergoyang. Misalnya bakteri yang tumbuh pada media NfB (*Nitrogen free Bromthymol Blue*) semisolid akan membentuk cincin hijau kebiruan di bawah permukaan media, jika media ini cair maka cincin ini dapat dengan mudah hancur. Semisolid juga bertujuan untuk mencegah/menekan difusi oksigen, misalnya pada media *Nitrate Broth*, kondisi anaerob atau sedikit oksigen meningkatkan metabolisme nitrat tetapi bakteri ini juga diharuskan tumbuh merata diseluruh media.
* Medium cair yaitu media yang tidak mengandung agar, contohnya adalah NB (*Nutrient Broth*), LB (*Lactose Broth*).

2. Medium berdasarkan komposisi

* Medium sintesis yaitu media yang komposisi zat kimianya diketahui jenis dan takarannya secara pasti, misalnya *Glucose Agar, Mac Conkey Agar*.
* Medium semi sintesis yaitu media yang sebagian komposisinya diketahui secara pasti, misanya PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang mengandung agar, dekstrosa dan ekstrak kentang. Untuk bahan ekstrak kentang, kita tidak dapat mengetahui secara detail tentang komposisi senyawa penyusunnya.
* Medium non sintesis yaitu media yang dibuat dengan komposisi yang tidak dapat diketahui secara pasti dan biasanya langsung diekstrak dari bahan dasarnya, misalnya *Tomato Juice Agar,* Brain Heart Infusion Agar, *Pancreatic Extract*.

3. Medium berdasarkan tujuan

* Media untuk isolasi Media ini mengandung semua senyawa esensial untuk pertumbuhan mikroba, misalnya *Nutrient Broth, Blood Agar*.
* Media selektif/penghambat Media yang selain mengandung nutrisi juga ditambah suatu zat tertentu sehingga media tersebut dapat menekan pertumbuhan mikroba lain dan merangsang pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Contohnya adalah Luria Bertani medium yang ditambah Amphisilin untuk merangsang E*.coli* resisten antibotik dan menghambat kontaminan yang peka, *Ampiciline*. *Salt broth* yang ditambah NaCl 4% untuk membunuh *Streptococcus agalactiae* yang toleran terhadap garam.
* Media diperkaya (*enrichment*) Media diperkaya adalah media yang mengandung komponen dasar untuk pertumbuhan mikroba dan ditambah komponen kompleks seperti darah, serum, kuning telur. Media diperkaya juga bersifat selektif untuk mikroba tertentu. Bakteri yang ditumbuhkan dalam media ini tidak hanya membutuhkan nutrisi sederhana untuk berkembang biak, tetapi membutuhkan komponen kompleks, misalnya *Blood Tellurite Agar, Bile Agar, Serum Agar*, dll.
* Media untuk peremajaan kultur Media umum atau spesifik yang digunakan untuk peremajaan kultur
* Media untuk menentukan kebutuhan nutrisi spesifik. Media ini digunakan unutk mendiagnosis atau menganalisis metabolism suatu mikroba. Contohnya adalah *Koser’s Citrate medium,* yang digunakan untuk menguji kemampuan menggunakan asam sitrat sebagai sumber karbon.
* Media untuk karakterisasi bakteri Media yang digunakan untuk mengetahui kemampuan spesifik suatu mikroba. Kadang-kadang indikator ditambahkan untuk menunjukkan adanya perubahan kimia. Contohnya adalah *Nitrate Broth, Lactose Broth, Arginine Agar*.
* Media diferensial Media ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroba dari campurannya berdasar karakter spesifik yang ditunjukkan pada media diferensial, misalnya TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) yang mampu memilih Enterobacteria berdasarkan bentuk, warna, ukuran koloni dan perubahan warna media di sekeliling koloni.

**Pembuatan *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth***

1. Pembuatan *Nutrient Agar*

* Timbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan sesuai dengan komposisi berikut:

*Beef extract* 3 g, *Peptone* 5 g, Agar 15 g, Akuades s.d 1000 ml

* Akuades sebanyak 100 ml dibagi menjadi dua satu bagian untuk melarutkan *Beef extract* dan *peptone* dan sebagian lagi untuk melarutkan agar. Sebaiknya air untuk melarutkan agar lebih banyak
* Larutkan agar pada sebagian air tersebut dengan mengaduk secara konstan dan diberi panas. Dapat menggunakan kompor gas atau *hot plate stirrer* (jangan sampai *overheat*, karena akan terbentuk busa dan memuai sehingga tumpah).
* Sementara itu sebagian akuades digunakan untuk melarutkan *peptone* dan *beef extract*, cukup dengan pengadukan.
* Setelah keduanya larut, larutan dituangkan ke larutan agar dan diaduk sampai homogen. Kemudian pH media diukur dengan mencelupkan kertas pH indikator. Jika pH tidak netral maka dapat ditambahkan HCl/NaOH.
* Setelah itu media dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer dan disterilisasi dengan autoklaf.
* Tuang media steril ke cawan petri steril secara aseptis. Jika diinginkan media tegak atau miring pada point ke 5, media langsung dituang ke tabung kemudian disterilisasi.

****

**Gambar 1.** Proses Pembuatan Nutrient Agar

1. Pembuatan *Nutrient Broth*

Komposisi untuk media NB sama dengan NA tetapi tidak memakai agar sebagai pemadat. Proses pembuatannyapun lebih sederhana, tinggal melarutkan *peptone* dan *beef extract* kemudian ditampung dalam labu Erlenmeyer atau tabung reaksi dan siap disterilisasi. Proses pembuatan ini tidak memerlukan panas, *peptone* dan *beef extract* akan mudah larut sempurna pada air suhu kamar jika diaduk.

**Pembuatan Potato Dextrose Agar (PDA)**

* Timbang komponen media dengan menggunakan timbangan analitis untuk volume yang diinginkan sesuai dengan komposisi berikut:

Potato/kentang 3 g, *Peptone* 5 g, Agar 15 g, Akuades s.d 1000 ml (sebelum ditimbang, sebaiknya kentang dikupas dan diiris kecil-kecil)

* Rebus kentang dalam sebagian akuades tadi selama 1-3 jam sampai lunak, kemudian diambil ekstraknya dengan menyaring dan memerasnya menggunakan kertas saring lalu ditampung di *Beaker glass* baru.
* Agar dilarutkan dengan *Hot Plate Stirrer* dalam 50 ml akuades lalu setelah larut dapat ditambahkan dekstrosa dan dihomogenkan lagi.
* Setelah semua larut, ekstrak kentang dan agar-dekstrosa dicampur dan dihomogenkan. Atur pH media menjadi 5-6 dengan meneteskan HCl/NaOH.
* Media dituang ke dalam Erlenmeyer atau ke tabung reaksikemudian siap untuk disterilisasi.



**Gambar 2.** Proses Pembuatan Potato Dextrose Agar

1. **STERILISASI**

Pada prinsipnya sterilisasi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu secara mekanik, fisik dan kimiawi.

1. Sterilisai secara mekanik (filtrasi) menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0.22 mikron atau 0.45 mikron) sehingga mikroba tertahan pada saringan tersebut. Proses ini ditujukan untuk sterilisasi bahan yang peka panas, misal nya larutan enzim dan antibiotik.



**Gambar 3.** Sterilisasi Menggunakan Senyawa Desinfektan

2. Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan & penyinaran.

a. Pemanasan

* + Pemijaran (dengan api langsung): membakar alat pada api secara langsung, contoh alat : jarum inokulum, pinset, batang L, dll.
  + Panas kering: sterilisasi dengan oven kira-kira 60-1800C. Sterilisasi panas kering cocok untuk alat yang terbuat dari kaca misalnya erlenmeyer, tabung reaksi dll.
  + Uap air panas: konsep ini mirip dengan mengukus. Bahan yang mengandung air lebih tepat menggungakan metode ini supaya tidak terjadi dehidrasi.
  + Uap air panas bertekanan : menggunalkan autoklaf

b. Penyinaran dengan UV Sinar Ultra Violet juga dapat digunakan untuk proses sterilisasi, misalnya untuk membunuh mikroba yang menempel pada permukaan interior Safety Cabinet dengan disinari lampu UV

3. Sterilisasi secara kimiawi biasanya menggunakan senyawa desinfektan antara lain alkohol.

**Prinsip Cara Kerja Autoklaf**

Seperti yang telah dijelaskan sebagian pada bab pengenalan alat, autoklaf adalah alat untuk memsterilkan berbagai macam alat & bahan yang menggunakan tekanan 15 psi (2 atm) dan suhu 121oC. Untuk cara kerja penggunaan autoklaf telah disampaikan di depan. Suhu dan tekanan tinggi yang diberikan kepada alat dan media yang disterilisasi memberikan kekuatan yang lebih besar untuk membunuh sel dibanding dengan udara panas. Biasanya untuk mesterilkan media digunakan suhu 121oC dan tekanan 15 lb/in2 (SI = 103,4 Kpa) selama 15 menit. Alasan digunakan suhu 121oC atau 249,8oF adalah karena air mendidih pada suhu tersebut jika digunakan tekanan 15 psi.

Untuk Tekanan 0 psi pada ketinggian di permukaan laut (*sea level*) air mendidih pada suhu 100oC, sedangkan untuk autoklaf yang diletakkan di ketinggian sama, menggunakan tekanan 15 psi maka air akan memdidid pada suhu 121oC. Ingat kejadian ini hanya berlaku untuk sea level, jika dilaboratorium terletak pada ketinggian tertentu, maka pengaturan tekanan perlu disetting ulang. Misalnya autoklaf diletakkan pada ketinggian 2700 kaki dpl, maka tekanan dinaikkan menjadi 20 psi supaya tercapai suhu 121oC untuk mendidihkan air.

Semua bentuk kehidupan akan mati jika dididihkan pada suhu 121oC dan tekanan 15 psi selama 15 menit. Pada saat sumber panas dinyalakan, air dalam autoklaf lama kelamaan akan mendidih dan uap air yang terbentuk mendesak udara yang mengisi autoklaf. Setelah semua udara dalam autoklaf diganti dengan uap air, katup uap/udara ditutup sehingga tekanan udara dalam autoklaf naik. Pada saat tercapai tekanan dan suhu yang sesuai., maka proses sterilisasi dimulai dan *timer* mulai menghitung waktu mundur. Setelah proses sterilisasi selesai, sumber panas dimatikan dan tekanan dibiarkan turun perlahan hingga mencapai 0 psi. Autoklaf tidak boleh dibuka sebelum tekanan mencapai 0 psi.

Untuk mendeteksi bahwa autoklaf bekerja dengan sempurna dapat digunakan mikroba pengguji yang bersifat termofilik dan memiliki endospora yaitu *Bacillus stearothermophillus*, lazimnya mikroba ini tersedia secara komersial dalam bentuk *spore strip*. Kertas *spore strip* ini dimasukkan dalam autoklaf dan disterilkan. Setelah proses sterilisai lalu ditumbuhkan pada media. Jika media tetap bening maka menunjukkan autoklaf telah bekerja dengan baik.

Beberapa media atau bahan yang tidak disterilkan dengan autoklaf adalah:

* Bahan tidak tahan panas seperti serum, vitamin, antibiotik, dan enzim
* Paelarut organik, seperti fenol
* Buffer engan kandungan detergen, seperti SDS

Untuk mencegah terjadinya presipitasi, pencoklatan (media menjadi coklat) dan hancurnya substrat dapat dilakukan pencegahan sebagai berikut:

* Glukosa disterilkan terpisah dengan asam amino (*peptone*) atau senyawa fosfat
* Senyawa fosfat disterilkan terpisah dengan asam amino (*peptone*) atau senyawa garam mineral lain.
* Senyawa garam mineral disterilkan terpisah dengan agar.
* Media yang memiliki pH > 7,5 jangan disterilkan dengan autoklaf
* Jangan mensterilisasi larutan agar dengan pH < 6,0

Erlenmeyer hanya boleh diisi media maksimum ¾ dari total volumenya, sisa ruang dibirkan kosong. Jika mensterilkan media 1L yang ditampung pada Erlenmeyer 2L maka sterilisasi diatur dengan waktu 30 menit lagi ke meja kerja sebagai udara bersih.

**D. LEMBAR PENGAMATAN**

**LAPORAN SEMENTARA**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Percobaan : STERILISASI DAN PEMBUATAN MEDIUM

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.

2.

Hari/tgl :

Asisten :

**DATA PERCOBAAN :**

1. Pembuatan Media *Saccaromices cereviceae*
   1. Media padat

Berat Pepton : gram

Berat *yeast extract* : gram

Berat glukosa (teknis) : gram

Berat agar : gram

Volume akuades : ml

Vol. media dalam tabung reaksi : ml

Vol. media dalam cawan petri : ml

* 1. Media Cair

Berat Pepton : gram

Berat *yeast extract* : gram

Berat glukosa (teknis) : gram

Volume akuades : ml

Vol. media tabung reaksi : ml

1. Pembuatan media *Aspergillus niger*
   1. Media padat

Berat PDA : gram

Berat agar : gram

Volume akuades : ml

Vol. media dalam tabung reaksi : ml

Vol. media dalam cawan petri : ml

* 1. Media Cair

Berat PDA : gram

Volume akuades : ml

Vol. media dalamtabung reaksi : ml

1. Pembuatan media *Acetobacter xylinium*
   1. Media padat

Berat MgSO4 : gram

Berat KH2PO4 : gram

Berat *yeast extract* : gram

Berat sukrosa : gram

Berat agar : gram

Volume air kelapa : ml

Vol. media dalam tabung reaksi : ml

Vol. media dalam cawan petri : ml

* 1. Media Cair

Berat MgSO4 : gram

Berat KH2PO4 : gram

Berat *yeast extract* : gram

Berat sukrosa : gram

Volume air kelapa : ml

Vol. media dalam tabung reaksi : ml

Asisten Praktikan 1, Tanda tangan

ttd

(nama terang) Praktikan 2, Tanda tangan

Dosen,

ttd

(nama terang)

**MATERI III**

**PEMBIAKAN DAN MENGHITUNG JUMLAH KOLONI**

1. **TUJUAN PERCOBAAN**

-. Mahasiswa dapat melakukan kerja aseptis dalam pembiakan mikroorganisme

-. Mahasiswa dapat mengetahui jumlah koloni mikroorganisme

1. **PEMBIAKAN**

Mikroorganisme terdapat dimana-mana, baik didalam tanah, air,udara maupun pada makhluk hidup termasuk pada jaringan pada tubuh kita sendiri (kulit dan selaput lendir). Mikroorganisme mampu tumbuh dengan baik apabila tersedia media atau makanan sebagai substratnya.Untuk mempelajari morfologi mikroba kita perlu menangkap dan membiakkannya pada media agar nutrisi (padat) terlebih dahulu. Biasanya mikroba akan tumbuh pada media ini setelah diinkubasi selama 1 x 24 atau 2 x 24 jam.

Sebelum melakukan pembiakan mikroorganisme, langkah yang perlu dilakukan adalah melakukan pengambilan sampel. Teknik pengambilan sampel merupakan suatu aspek penting yang harus diperhatikan ketika melakukan penelitian mikrobiologi. Lingkungan kerja aseptis perlu di jaga dalam melakukan pembiakan ini agar tidak terkontaminasi dengan mikroorganisme lain. Sampel yang diambil haruslah merupakan representasi dari seluruh bagian yang diteliti. Untuk itu diperlukan teknik yang benar agar terhindar dari kesalahan yang mengakibatkan sampel menjadi bias.

Langkah-langkah pembiakan sebagaimana diilustrasikan didalam gambar berikut ini:



**Gambar 1.** Proses Memindahkan Biakan Secara Aseptik



**Gambar 2.** Proses Memindahkan Biakan Dari Cawan



**Gambar 3.** Proses Memindahkan Biakan Cairan Dengan Pipet



**Gambar 4.** Proses Menuang Media

**Saran-saran kerja aseptis:**

1. Sebelum membuka ruangan atau bagian steril di dalam tabung/cawan/erlenmeyer sebaiknya bagian mulut (bagian yang memungkinkan kontaminan masuk) dibakar/dilewatkan api terlebih dahulu.

2. Pinset, batang L, dll. disemprot dengan alkohol terlebih dahulu lalu dibakar.

3. Ujung jarum inokulum yang sudah dipijarkan harus ditunggu dingin dahulu atau dapat ditempelkan tutup cawan bagian dalam untuk mempercepat transfer panas yang terjadi.

4. Usahakan bagian alat yang diharapkan kondisi steril didekatkan ke bagian api.

5. Jika kerja di *Safety Cabinet* tidak perlu memakai pembakar bunsen tetapi jika di luar Safety Cabinet maka semakin banyak sumber api maka semakin terjamin kondisi aseptisnya.

**C. PENGHITUNGAN JUMLAH KOLONI**

Perhitungan jumlah sel mikroba dapat dilakukan dengan berbagai macam cara, antara lain secara langsung dengan hitung mikroskopik (direct microscopic count) menggunakan hemasitometer, dan secara tidak langsung dengan hitung cawan (plete count).

Hitung mikroskopik merupakan metode yang cepat dan murah,tetapi mempnyai beberapa kelemahan antara lain: sel-sel yang mati tidak dapat dibedakan dari sel hidup, sel-sel yang berukuran sngat kecil sulit dilihat sehingga kadang-kadang tidak terhitung. Hitung cawan merupakan metode yang sensitif untuk menentukan jumlah sel mikroba. Prinsip metode hitung adalah jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada media agar, maka sel mikroba itu akan berbiak membentuk koloni yang dapat dilihat dan dihitung dengan mata telanjang, dan disebut dengan “colony forming unit” = cfu.

Metode hitungan cawan ada dua yeitu metode tuang (pour plate) dan metode permukaan (surface/spread plate). Perhitungan jumlah mikropba dianggap valid jika dalm satu cawan tumbuh koloni sebanyak 30-300cfu. Sehingga jika pertumbuhan mikroba terlalu padat, maka harus dilakukan pengenceran terlebih dahulu.

**D. LEMBAR PENGAMATAN**

**LAPORAN SEMENTARA**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Percobaan : PEMBIAKAN DAN MENGHITUNG JUMLAH KOLONI

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.

2.

Hari/tgl :

Asisten :

**DATA PERCOBAAN :**

1. Haemacytometer

Media Cair

-. Volume Akuades : ml

-. Jumlah Kotak dalam Haemacytometer : kotak

-. Jumlah koloni per kotak 16 : sel/mm3

Media Padat

-. Volume Akuades : ml

-. Jumlah Kotak dalam Haemacytometer : kotak

-. Jumlah koloni per kotak 16 : sel/mm3

1. Colony Counter

-. Jumlah koloni per kotak 4 : sel/mm3

Asisten Praktikan 1, Tanda tangan

ttd

(nama terang) Praktikan 2, Tanda tangan

Dosen,

ttd

(nama terang)

**MATERI IV**

**PEMBUATAN MINYAK KELAPA**

1. **TUJUAN PERCOBAAN**

Menghasilkan minyak kelapa secara fermentasi

1. **TUJUAN PUSTAKA**
2. Pengertian Minyak

Minyak adalah trigliserida yang merupakan ester asam lemak dengan gliserol serta larut dalam pelarut lemak atau minyak. Pembentukan suatu trigliserida:

H2C – OH HOO – C – R1 H2C – O – COR1

HC – OH + HOO – C R2 🡪 HC – O – COR2 + 3H2O

H2C – OH HOO – C –R3 H2C – O – COR3

(gliserida) (asam lemak) (trigliserida)

Trigliserida terdiri dari 90% asam lemak, sehingga sifat fisika dan kimia minyak ditentukan oleh sifat asam lemak yang paling banyak. Minyak kelapa termasuk asam laurat karena mengandung asam laurat dalam jumlah paling banyak (40-50%). Sekitar 90% asam lemak pada minyak kelapa termasuk dalam asam lemak jenuh. Minyak hanya mengandung sedikit zat bukan minyak, seperti Phosphatida (0.06-0.08 %) fitosferol (0.03%). Minyak kelapa termasuk stabil karena asam lemak tak jenuhnya hanya sekitar 8.5-11.8%.

1. Cara Pembuatan minyak kelapa

Cara umum yang dipakai adalah:

1. Pressing

Menghasilkan minyak dengan efisiensi rendah, sehingga hanya bahan dasar dengan kadar minyak tinggi yang dapat dilakukan dengan cara ini.

1. Ekstraksi

Menghasilkan minyak dengan kadar tinggi

1. Rendering
2. Pemanasan dapat dilakukan terhadap semua bahan dasar dan biasa dilakukan bersama pressing atau ekstraksi
3. Teori Fermentasi

Fermentasi adalah suatu reaksi reduksi-oksidasi dalam suatu sistem biologi yang menghasilkan energi, dimana donor dan aseptornya adalah senyawa organik. Jenis dan jumlah fermentasi tergantung dari jenis mikroba dan perlakuannya. Mikroba yang dipakai, khususnya industri makanan, mempunyai ciri-ciri :

1. Tidak mengubah makanan menjadi senyawa karbon
2. Mampu tumbuh dengan cepat dalam substrat organik dan segera melakukan perubahan kimia terhadap subtrat yang diinginkan
3. Mampu melaksanakan transformasi dan dapat bekerja pada kondisi lingkungan yang tidak berubah

Santan adalah emulsi minyak dalam air dengan emultor protein. Untuk memisahkan minyak dan air dalam santan maka emultor perlu dihilangkan. Salah satu cara dengan memanfaatkan jasa campuran biakan murni *Sacharomyces cereviceae*

1. Teori sentrifugal

Mikroorganisme dalam partikel-partikel berukuran kecil lainnya dapat dipindahkan dari sebuah kaldu atau sari dengan menggunakan centrifuge, yaitu suatu metode filtrasi dengan cara yang lebih baik. Meskipun suatu centrifuge mungkin lebih mahal jika dibandingkan dengan sebuah filter, namun ini menjadi penting jika:

1. Filtrasi berjalan lambat dan sulit
2. Sel-selnya atau unsur-unsur tersuspensi harus didapatkan
3. Pemisahan lanjutan untuk mencapai sebuah kebersihan dengan standart yang tinggi

Centrifuge non-continue mempunyai kapasitas yang sangat terbatas, oleh karena itu tidak cocok untuk pemisahan skala besar.

1. Faktor-faktor yang mempengaruhi Fermentasi
2. pH 4-4.5
3. waktu ± 50jam atau tergantung kadar gula
4. Suhu 80oF atau 26.7oC
5. Kadar gula 10-19%
6. Kerusakan minyak kelapa

Kerusakan minyak dapat disebabkan oleh air, cahaya, panas, oksigen, logam, asam basa, dan enzim. Kerusakan minyak terutama terjadi karena pemanasan bahan, pengolahan, dan penyimpanan. Minyak kelapa yang belum dimurnikan biasanya mengandung kotoran-kotoran seperti air, protein, karbohidrat, asam lemak bebas, dan komponen yang tidak tersabunkan. Asam lemak bebas sudah terdapat pada minyak atau lemak sejak bahan itu mulai dipanen dan jumlahnya akan terus bertambah selama proses pengolahan dan penyimpanan. Penurunan mutu minyak karena ketengikan, ditandai dengan timbulnya bau dan rasa tak enak. Walaupun demikian adanya bau dan rasa tak enak tersebut bukan merupakan faktor penentu dalam menilai suatu jenis minyak.

1. Fungsi Reagen
2. Kelapa parut : Bahan dasar pembuat santan
3. Aquadest : Untuk campuran membuat santan
4. Yeast ekstrak : Sumber Nitrogen
5. Dextrose : Sumber Karbon
6. Air Kelapa : Membuat starter
7. Ragi roti dan tape : Untuk proses fermentasi, mengubah protein, karbohidrat, dan zat-zat lain menjadi C, N, O , H , S, P
8. Manfaat minyak
9. Sebagai suplemen dengan nama Capricidin untuk mengurangi virus HIV
10. Lauric acid yang terkandung dalam minyak kelapa dipakai sebagai suplemen (lauricidin dan Monolourin) untuk mengobati berbagai penyakit termasuk infeksi berbahaya pada bayi.
11. MCFA (Medium Chain Fatty Acid) dalam minyak kelapa berguna untuk membantu metabolisme tubuh, menurunkan kolesterol, menetralisir radikal bebas, membersihkan plak penyumbat pembuluh darah, mencegah penggumpalan darah penyebab serangan jantung, super anti mikroba yang sekaligus bisa membunuh bakteri dan virus yang menyerang dinding pembuluh darah
12. Digunakan sebagai biodiesel (bahan bakar berbasis minyak yang berasal dari sumber terbarukan)
13. **METODOLOGI PERCOBAAN**
14. Pembuatan santan

* Kelapa yang sudah diparut dicampur dengan aquadest dengan perbandingan 1:1 (b:v) yaitu 500 gr kelapa dalam 500 ml aquadest, panaskan sampai 60oC
* Dinginkan selama 2 jam pada suhu kamar
* Setelah 2 jam terbentuk 2 lapisan (krim dan skim)

1. Pembuatan Starter

* Campur skim dengan air kelapa dalam erlenmeyer dengan perbandingan tertentu. Kemudian tambah dengan nutrien
* Aduk campuran hingga homogen dan disterilisasi
* Setelah steril, kedalam media tersebut diinokulasikan campuran biak murni dalam Erlenmeyer steril pada ruang aseptis
* Tutup dengan kapas steril, inkubasi dalam incubator goyang pada suhu kamar selama waktu yang ditentukan

1. Fermentasi santan

* Campur krim santan yang telah bebas air sebanyak volume tertentu dengan starter dengan %V sesuai variabel dalam erlenmeyer pada ruang aseptis
* Atur pH menggunakan asam asetat dan ditutup dengan kapas steril
* Inkubasikan dalam incubator selama waktu tertentu

1. Analisa hasil minyak kelapa

* Santan yang telah selesai fermentasi akan terlihat menjadi 3 lapisan (minyak, protein, dan air)
* Masukkan campuran yang telah dibebaskan dari air kedalam cuvet untuk disentrifugasi pada putaran tertentu selama waktu tertentu
* Minyak kelapa dapat diambil dari kuvet dan diukur volumenya. Minyak kelapa selanjutnya dapat dikenakan analisa yang lain.

1. **LEMBAR PENGAMATAN**

**LAPORAN SEMENTARA**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Percobaan : PEMBUATAN MINYAK KELAPA

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.

2.

Hari/tgl :

Asisten :

**DATA PERCOBAAN :**

1. Pengamatan Hasil

Volume santan : ml

Volume krim : ml

Volume skim : ml

|  |  |
| --- | --- |
| Hari ke- | Pengamatan |
| 1 |  |
| 2 |  |
| 3 |  |
| 4 |  |
| 5 |  |

1. Pengambilan Hasil

Volume Minyak : ml

Berat Minyak : gram

Temperatur akuades : oC

Berat piknometer kosong : gram

Berat piknometer+ akuades : gram

Berat piknometer + minyak kelapa : gram

pH minyak kelapa :

Asisten Praktikan 1, Tanda tangan

ttd

(nama terang) Praktikan 2, Tanda tangan

Dosen,

ttd

(nama terang)

**MATERI V**

**PEMBUATAN NATA**

(Nata de Coco, Nata de Phina, Nata de Soyae)

1. **TUJUAN PERCOBAAN**

Membuat nata dengan cara fermentasi

1. **TINJAUAN PUSTAKA**
2. Pengertian Nata

Nata adalah biomasa yang sebagian besar terdiri dari selulosa, berbentuk agar berwarna putih. Massa tersebut berasal dari pertumbuhan acetobacter xilynum pada permukaan media cair yang asam dan mengandung gula

1. Teori Acetobacter Xilynum

Actobacter Xilynum merupakan bakteri pembentuk nata yang biasanya terdapat sebagai sel tunggal atau kadang membentuk ikatan menmenyerupai rantai sel lain. Bakteri ini membentuk asam dari glukosa etil , propanol dan glikol. Serta mengoksidasi asam asetat menjadi CO2 dan H2O.

1. Teori Thimman

Menurut Thimman (1962), nata terbentuk karena proses pengambilan glukosa larutan gula ataupun gula dalam media fermentasi oleh sel Acetobacter Xilynum, kemudian glukosa tersebut digabungkan dengan asam lemak membentuk precursor pada membrane sel. Prekursor ini selanjutnya dikeluarkan dalam bentuk ekstraksi yang bersama enzim mempolimerisasikan glukosa menjadi selulosa material luar sel

1. Hal-hal yang berpengaruh pada fermentasi nata
2. Tingkat keasaman (pH)

pH optimum pembuatan nata adalah 4-5.5

1. Temperatur

Temperature optimum pembuatan nata adalah 28-31oC

1. Sumber karbon

Sumber karbon yang paling baik adalah sukrosa dan glukosa dengan konsentrasi optimum 5-10%

1. Sumber nitrogen

Nata yang tebal dan kukuh dapat dihasilkan dari fermentasi yang menggunakan yeast ekstrak sebagai sumber nitrogen. Selain itu dapat digunakan kalium nitrat, natrium nitrat, ammonium nitrat dll

1. Kebutuhan fosfor

Ion PO42- dapat digunakan sebagaii sumber fosfor

1. Kebutuhan Sulfur

(NH4)2SO4 dapat digunakan sebagai sumber Nitrogen dan Sulfur

1. Kebutuhan kalium

Sumber kalium yang sering digunakan biasanya dalam bentuk K2SO4, K2HPO4, KH2PO4

1. Kebutuhan Magnesium
2. Nutrient mikro
3. Growth faktor
4. **BAHAN**
5. Air kelapa d. KH2PO4
6. Sukrosa e. Urea
7. MgSO4 f. Acetobacter xilynum (starter)
8. **CARA PERCOBAAN**

* Fermentasi Nata

1. Saring limbah tahu/airkelapa/air perasan kulit nanas
2. Didihkan, setelah dingin tambahkan nutrient sesuai
3. Atur pH sesuai
4. Masukkan kedalam beaker glass
5. Tambahkan starter
6. Fermentasikan pada 30oC selama t (variasi setiap kelompok dan jenis bahan baku)
7. Panen nata yang terbentuk
8. Cuci nata dan keringkan
9. Timbang nata yang sudah dioven

* Analisa yang dilakukan adalah

1. Analisa kadar glukosa pada bahan baku (air kelapa) dan sisa proses (air kelapa sisa)
2. Yield nata yang dihasilkan / Volume bahan baku
3. Menghitung kadar glukosa air kelapa/air perasan kulit nanas/air limbah tahu

* Ambil 5ml air kelapa/air perasan kulit nanas/air limbah tahu, encerkan hingga 100ml, ambil 5ml netralkan pH nya
* Tambahkan 5ml fehling A dan 5ml fehling B
* Titrasi dengan glukosa strandar sambil dipanaskan ± 70oC sampai warna biru hilang lalu tambahkan 2tetes MB
* Titrasi kembali dengan glukosa standar sambil dipanaskan sampai warna biru menjadi merah bata
* Catat kebutuhan titran (M) :

M = vol titran

Medium fermentasi: air kelapa/air perasan kulit nanas/air limbah tahu

**E. LEMBAR PENGAMATAN**

**LAPORAN SEMENTARA**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Percobaan : PEMBUATAN NATA

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.

2.

Hari/tgl :

Asisten :

**DATA PERCOBAAN :**

Volume air kelapa : ml

Volume asam asetat : ml

Berat gula pasir : gram

Berat ZA : gram

Berat air kelapa : gram

Hasil pengamatan

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No | Hari | Pengamatan | |
| Loyang 1 | Loyang 2 |
| 1 |  |  |  |
| 2 |  |  |  |
| 3 |  |  |  |
| 4 |  |  |  |

Berat Nata : gram

pH Nata : gram

Asisten Praktikan 1, Tanda tangan

ttd

(nama terang) Praktikan 2, Tanda tangan

Dosen,

ttd

(nama terang)

**MATERI VI**

**PEMBUATAN ETHANOL**

1. **TUJUAN PERCOBAAN**

* Untuk membuat alkohol dari glukosa dengan cara fermentasi
* Membandingkan hasil alkohol hasil fermentasi dengan variabel tertentu

1. **TINJAUAN PUSTAKA**
2. Pengertian Umum Alkohol

Alkohol adalah senyawa yang memiliki rumus molekul R-OH gugus alkil tersubtitusi. Gugus ini bias alkohol primer, sekunder, tersier bias juga rantai terbuka, ikatan rangkap ataupun rantai tertutup/siklis yang berkaitan dengan gugus aromatis. (Organik Chemistry 3th hal 429-493) alkohol dapat dibuat dari bahan yang mengandung gula atau dari bahan yang dapt dijadikan gula. Bagi bahan yang brgula pembuatanalkohol lebih sederhana . Untuk bahan yang dapt dijadikan gula diperlukan proses pendahuluan yang disebut saccharifikasi.

Macam-macam proses saccharifikasi :

1. Saccharifikasi secara kimia

Contohnya hidrolisa secara kimia dengan katalisator asam, misalnya hidrolisa pati dengan katalisator HCL maupun H2SO4

1. Saccharifikasi secara biokimia

Yaitu dengan aktifitas enzim misalnya amylase dan sellulosa, misalnya saccharifikasi pati secar biochemist dengan amylase

1. Pembuatan Starter

Tujuan pembuatan starter untuk memperbanyak yeast dan untuk melatih yeast tersebut pada kondisi yang akan di fermentasi. Syarat yeast dapat dipakai dalam proses fermentasi

1. Mempunyai kemampuan tumbuh dan berkembang biak dengan cepat dalam substrat yang sesuai
2. Dapat menghasilkan enzim dengan cepat untuk mengubah glukosa menjadi alkohol
3. Mempunyai daya fermentasi yang tinggi tehadap glukosa, fructose, galaktosa, dan maltose
4. Tahan terhadap mikroba lain
5. Teori Fermentasi

Fermentasi berasal dari kata “fervere” yang berarti mendidih. Hal ini terjadi pada gejala fermentasi yaotu terlihat gelembung udara yang merupakan akibat katabolisme anaerob yang menghasilkan CO2. Mulanya fermentasi digunakan untuk menunjukkan proses perubahan glukosa menjadi alkohol yang berlangsung anaerob. Kemudian berkembang menjadi seluruh perombakkan senyawa organik yang dilakukan mokroorganisme yang melibatkan enzim yang dihasilkan. Produk fermentasi dapat digolongkan menjadi 4 jenis yaitu produk biomasa, produk enzim sintetis, produk metabolit primer dan sekundr serta produk transformasi.

1. Penyiapan Benih

Yeast yang digunakan sebagai starter harus murni, volume untuk pemasukan harus agak besar fdengan Aceptac Perth yang telah steril dimasukkan dalam media pembiakan. Ditulari dengan yeast murni, lalu dimasukkan kedalam tabung yeast. Dalm tabung ini ditambahkan asam sulfat dan ammonium sulfat sehingga pH 4-5 dan suhu diatur 25-80oC

1. Mekanisme Fermentasi Alkohol

Jalur HDP

Glukosa 2 Piruvat

2 NAD, 2NADH

Etanol 2 Asetaldehid

Dihidrogenase

CH3 – CO – KOA + NADH CH3CHO + KOA

Asetaldehid + NAD

Piruvat

CH3 CO COH CH3CHO +CO2

Dekarboksilase

Piruvat

CH3+NADH2 CH3CH2OH + NAD

Dekarboksilase

Fermentasi alkohol dapt menggunakan bakteri jalur peruraian glukosa melalui jalur KDGP, namun demikian dapat dengan bakteri yang melaui jalur HDP seperti Sarcins ventricoli

ATP

Glukosa

ADP Heksokinase

Glukosa 6 phosphat

NAD, NADH

6 phosphat glukonat

Phosphat glukonat dehidrase

H2O

2 keto 3 deoksiglukonat 6 phosphat

(KDOP) NAD

NAD

NAD 2Piruvat

2ADP

2ATP

Gliserildehid 3 phosphat + CO2

Acetaldehid

NADH

NAO

Etanol

1. Langkah Fermentasi Alkohol
2. Persiapan inokulum
3. Persiapan media
4. Fermentasi
5. Analisa etanol
6. Analisa glukosa
7. Komponen Utama Proses Fermentasi
8. Fermentasi media
9. Sterilisasi media, fermentasi, dan peralatan
10. Produk starter yang aktif, murni untuk inokulasi skala tangki industry
11. Pemeliharaan, pertumbuhan mikroorganisme pada aktifitas yang optimum untuk pembentukan produk
12. Pemindahan dan pemurnian
13. Fungsi aerasi Pada Pertumbuhan Yeast
14. Mencegah tejadinya fermentasi dan menaikkan respirasi
15. Memberikan pengadukan terhadap mediaum
16. Mengeluarkan bahan-bahn beracun
17. Merangsang sel-sel vegatif untuk tumbuh
18. Hal-hal yang mempengaruhi Fermentasi
19. Kadar gula : 10-18%
20. pH : 4-4.5
21. Waktu : 7 hari
22. Suhu : 80oF
23. Nutrien : mengandung unsur makro dan mikro nutrien
24. Volume Starter : 5%V
25. Pemilihan yeast : sesuai dengan syarat yang sudah ditemtukan
26. O2 : tidak diperlukan
27. Fungsi Reagen
28. Glukosa : Bahan yang akan difermentasikan
29. KH2PO4 dan MgSO4.7H2O : Sebagai sumber nitrien untuk mempercepat pertumbuhan yeast
30. NaOH : Pengaturan pH (menetralkan pH)
31. H2SO4 : Pengaturan pH
32. Indilator MB : Untuk titrasi saat menganalisa kadar glukosa sebelum dan sesudah fermentasi
33. Aquadest : Untuk pengenceran
34. Ragi : Sebagai sumber mikroorganisme (Saccaromyces cereviceae)
35. Fehling A + B : Untuk titrasi / penentuan TAT
36. Manfaat Alkohol
37. Bahan obat-obatan
38. Industri farmasi
39. Pembuatan minuman
40. Pemberi aroma
41. Zat pembunuh kuman
42. Bahan bakar
43. Pelarut
44. Reagensia
45. Bahan baku sintesa
46. **BAHAN**
47. Glukosa
48. KH2PO4 dan MgSO4
49. NaOH
50. H2SO4
51. Indikator MB
52. Aquadest
53. Ragi Fehling A+B
54. **CARA PERCOBAAN**
55. Pembuatan Starter

* Buat larutan glukosa 1% berat dengan basis 200ml (atau sesuai variabel) dan ditambah (NH4)SO4.KH3PO4.MgSO4, Urea, asam Phospat atau magnesium sulfat sebagi nutrisi
* Larutan tersebut dibuat steril dengan cara dididihkan
* Didinginkan pada suhu kamar. Tambahkan x gr Saccaromyces cereviceae kedalam larutan gula (variasi kelompok)
* Atur pHnya antara 4-5.
* Larutan kemudian diaerasi selama y hari (variasi kelompok)

1. Fermentasi Media
2. Analisa glukosa standard
3. Pembuatan glukosa standard

Larutkan 2.5 gr glukosa anhidris sampai 1000ml

1. Standarisasi kadar glukosa

* Ambil 5ml glukosa standard, encerkan sampai 100 ml, ambil 5 ml netralkan pHnya
* Tambahakan 5ml fehling A dan 5ml fehling B
* Titrasi dengan glukosa standard sambil dipanaskan 70oC hingga warna biru hampir hilang lalu tambahkan 2 tetes MB
* Titrasi lagi dengan glukosa standard sampai warna biru menjadi merah bata
* Catat kebutuhan titran

F = Vtitran + 5ml glukosa standard

1. Mengukur kadar gula sari buah

* Buah diparut dan diperas airnya
* Atur pH 4.5-5 dengan H2SO4
* Sari buah disterilkan dan direbus hingga mendidih
* Dinginkan, ambil, campuran untuk dianalisa kadar glukosanya

Bila SB > 14 % perlu diencerkan =

Bila SB < 14% perlu ditambah sukrosa =

Ukur volume konstan dan densitas sebelum fermentasi

1. Fermentasi media sari buah

* Ambil sari buah sesuai variabel
* Ditambahkan starter sesuai variabel
* Fermentasi anaerab selama z hari (variasi kelompok)

1. Analisa hasil

* Ukur volume total densitas setelah fermentasi
* Analisa kadar glukosa hasil fermentasi

1. Menghitung Volume Alkohol

* Kadar alkohol terfermentasikan (%gF)
* %gF = 14%
* Mol glukosa terfermentasi
* Volume Alkohol

1. Cara Penentuan M ( M= Vtitran)

* Ambil 5ml sari buah encerkan hingga 100 ml, ambil 5ml
* Tambahkan 5 ml fehling A dan 5ml fehling B
* Titrasi dengan glukosa standard sambil dipanaskan sam[pai warna biru hamper hilang, lalu tambahkan 2tetes MB
* Titrasi lagi dengan glukosa standard sambil dipanaskan sampai warna biru menjadi merah bata
* Catat kebutuhan titran

**E. LEMBAR PENGAMATAN**

**LAPORAN SEMENTARA**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Percobaan : PEMBUATAN ETHANOL

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.

2.

Hari/tgl :

Asisten :

**DATA PERCOBAAN :**

1. Berat Glukosa : gram
2. Berat Yeast : gram
3. Waktu Fermentasi : hari
4. Menera Piknometer

-. Berat piknometer kosong : gram

-. Berat piknometer+akuades : gram

-. Berat akuades : gram

-. Suhu akuades : oC

-. Densitas akuades referensi : gram/ml

-. Berat piknometer + ethanol : gram

-. Densitas ethanol : gram/ml

1. Volume ethanol yang dihasilkan : ml
2. Kadar Ethanol : %

Asisten Praktikan 1, Tanda tangan

ttd

(nama terang) Praktikan 2, Tanda tangan

Dosen,

ttd

(nama terang)

**MATERI VII**

**PEMBUATAN ASAM SITRAT**

**A.TUJUAN PERCOBAAN**

Untuk membuat asam sitrat dari karbohidrat dengan cara fermentasi

**B. TINJAUAN PUSTAKA**

1. Pengertian asam sitrat

Asam sitrat merupakan senyawa intermediet dari asam organik yang berbentuk Kristal atau serbuk. Pemecahan karbohidrat dengan cara fermentasi dapat menghasilkan berbagai senyawa organik diantaranya adalah asam sitrat. Dengan enzim amylase, glukoamylase, atau amiglukosidase, senyawa karbohidrat akan pecah menjadi glukosa, dan melalui jalur EMP glukosa akan dirubah menjadi asam piruvat. Asam piruvat melalui siklus krebs atau siklus TCA akan diubah menjadi asam sitrat. Kapang (mold) “*Aspergillus Niger*” adalah kapang yang dapat menghasilkan enzim yang dapat mengubah karbohidrat menjadi asam sitrat. Penggunaan asam sitrat untuk industry misalnya pada industri makanan, minuman, dan pharmasi.

1. Reaksi Pembuatan asam sitrat dan pemurniannya
2. Reaksi Pembentukan

(C6H10O5)n + n H2O C12H22O11

Karbohidrat Sukrosa

C12H22O11 + H2O C6H12O6 + C6H12O5

Glukosa  fruktosa

C6H12O6 + 3/2 O2 C6H8O7 + 2H2O

Asam sitrat

1. Reaksi Pemurnian

2C6H8O7 + 3 Ca(OH)2 Ca(C6H5O7)2  + 6 H2O

Ca sitrat

Ca(C6H5O7)2 + 3H2SO4 3 CaSO4 + 2 C6H8O7

Ca sulfat Asam sitrat

C6H8O7 + 3 NaOH Na3(C6H5O7) + 3H2O

Na sitrat

1. Hal-hal yang berpengaruh
2. Waktu 7 hari adalah optimum, bila kurang dari 7 hari belum terfermentasi semua. Bila lebih mungkin asam sitrat berubah.
3. Mikroba

Pada percobaan ini digunakan jamur aspergillus niger. Keuntungan dari penggunaan jamur ini adalah : penanganannya mudah, dapat digunakan bahan baku yang murah, yield tinggi dan konsisten, serta ekonomis.

1. Jangan menaruh petri dalam keadaan terbalik, karena percobaan dalam surface culture
2. Konsentrasi gula awal

Konsentrasi gula awal menentukan yield asam sitrat dan asam organik lain. Untuk aspergillus niger adalah 15-18%, diatas tidak ekonomis dan dibawah terbentuk asam oksalat.

1. pH

Pengaturan pH sangat penting dalam fermentasi. Ini disebabkan pada pH tertentu sterilisasi mudah dilakukan. Sterilisasi mula-mula pada pH 2.2 atau lebih rendah. Sebagai pengatur digunakan asam klorida. Sedang pH yang baik 3.4-4.5. Pada pH tinggi dihasilkan asam oksalat. Untuk kondisi tertentu (misal percobaan) kadang akan menghasilkan enzim yang berfungsi mengubah karbohidrat menjadi asam sitrat. Untuk kondisi lain akan dihasilkan enzim yang lain pula.

1. Pemberian Oksigen

Udara banyak menimbulkan efek merugikan bagi hasil asam sitrat. Sebaiknya, bila pemberian oksigen terlalu sedikit kurang mengguntungkan.

1. Suhu

Suhu yang baik adalah 26-28 0C. jika lebih dari 300C, keasaman naik dan akibatnya aterbentuk asam oksalat.

1. Komponen media fermentasi

|  |  |
| --- | --- |
| **KOMPONEN** | **KWANTITAS (g/l)** |
| Sukrosa | 125-150 |
| Ammonium Nitrat | 2.0-2.5 |
| Potassium Dihidrogen Phosphat | 0.75-1.0 |
| Magnesium Sulfat | 0.20-0.25 |
| HCl | (untuk pengaturan pH) |

1. **BAHAN**
2. Sumber karbohidrat 8. HCl
3. Bakatul 9. Air Steril
4. Sekam padi 10. Ca(OH)2
5. Sukrosa 11. NaOH
6. Ammonium Nitrat 12. H2SO4
7. Potassium Dihidrogen phosphate 13. *Aspergillus niger*
8. Magnesium Sulfat
9. **CARA PERCOBAAN**
10. Pembuatan biakan kapang/starter/suspense spora

* Siapkan media untuk pembiakan kapang (mold)
* Buat biakan aspergilus niger pada media tersebut
* Inokulasikan pada 28 0C atau 30 0C selama 2-4 hari
* Larutkan spora hasil pembiakan diata dengan air steril

Agar selalu dapat dipertahankan percobaan dalam keadaan aseptic. Lakukanlah pembuatan suspensi spora diatas dalam keadaan aseptic.

1. Penyiapan Media

Pada percobaan ini dilakukan pada 2 media:

**Fermentasi pada media semi padat**

* + Sumber karbohidrat dikupas lalu diparut sampai halus dan airnya dibuang/dituang dengan cara diperas sampai sedikit kering
  + Setelah agak kering, timbang 20 gr sumber karbohidrat dan kedalamnya ditambahkan nutrien-nutrien (sukrosa, ammonium nitrat, Potassium Dihidrogen phosphate, magnesium sulfat) sesuai variabel. Aduk sampai homogeny didalam beker glass.
  + Tambahkan lebih kurang 25 cc aquadest hingga media menjadi lembab (konsistensi 50%)
  + Kemudian media tersebut dimasukkan ke dalam petri dan ditutup lalu disterilkan pada 120 0C selama 15 menit (jangan menaruh petri dalam keadaan terbalik)
  + Setelah dingin ditanami media dengan suspense spora sebanyak 5 cc. Aduk yang baik agar suspense spora dapat tersebar merata kedalam media. Lakukan penanaman lapuk didalam lemak aseptic.
  + Inkubasikan selama 7hari pada 28-30 0C (dalam incubator)
  + Setelah selesai inkubasi, pindahkan semua isi petri kedalam beaker glass 20cc dan lumatlah dengan aquadest sampai semua hancur. Tambahkan semua air sedikit demi sedikit dan jumlahnya kurang dari 50cc
  + Saring dengan kertas saring dan filtratnya ditest untuk asam sitrat.

**Fermentasi pada media cair (submerge culture)**

* + Timbang 20 gr sumber karbohidrat (seperti diataS) kedalamnya ditambahkan nutrient-nutrien dan aquadest hingga volumenya menjadi 100 cc dalam Erlenmeyer 200 cc lalu ditutup kapas
  + Sterilisasikan pada 120 0C selama 15 menit lalu didinginkan
  + Tanami dengan suspense spora sebanyak 5 cc secara aseptic
  + Inkubasikan selama 7 hari pada 28-30 0C (dalam incubator)
  + Setelah selesai inokulasi, saring dengan kertas saring dan filtratnya ditest untuk asam sitrat.

1. Analisa Hasil

* Panaskan filtrat yang diperoleh dari percobaan diatas sampai 700C. Tambahkan larutan Ca(OH)2 40% sebanyak 10cc (jaga temperature konstan)
* Endapan yang timbul cepat-cepat disaring (dalm keadaan panas 700C), kemudian dicuci dengan air panas 70 0C. Endapan tersebut adalah calcium citrate.
* KEringkan endapan tersebut kemudian timbang beratnya. Catat berat calcium citrate kering.
* Untuk memperoleh asam sitratnya, endapan calcium citrate tersebut dinetralkan dengan asam sulfat encer, saring dengan kertas saring. (filtrate merupakan asam sitrat dan endapannya adalah calcium sulfat)
* Untuk mengetahui berat asam sitrat yang diperoleh pada percobaan, titrasi filtrate tersebut dengan NaOH 0.1N. Catat kebutuhan titran.

**LAPORAN SEMENTARA**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Percobaan : PEMBUATAN ASAM SITRAT

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.

2.

Hari/tgl :

Asisten :

**DATA PERCOBAAN :**

1. Volume media fermentasi : ml
2. Volume *Aspergillus niger* : ml
3. Waktu Fermentasi : hari
4. pH Sebelum Fermentasi :
5. pH Setelah Fermentasi :
6. Volume Filtrat Total : ml
7. Normalitas NaOH : N

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Vol. Sampel, ml | Volume NaOH 0,1 N | | | Rerata, ml |
| I | II | III |
|  |  |  |  |  |

1. Penentuan kadar total asam organic tertitrasi

Jumlah asam = ml NaOH x Normalitas NaOH x 192

10 ml sampel

=

Total Asam = Jumlah asam x Jumlah filtrat

=

Asisten Praktikan 1, Tanda tangan

ttd

(nama terang) Praktikan 2, Tanda tangan

Dosen,

ttd

(nama terang)

**MATERI VIII**

**PEMBUATAN GLUKOSA DARI TEPUNG ACI**

Glukosa bias dibuat dengan proses hidrolisa dari pati (sellulose) dengan menggunakan asam atau secara enzimatik.

Proses enzimatik menggunakan 2 macam enzim yaiti alpha amylase dan amiloglukosidase

1. **BAHAN**
2. Tepung pati ketela pohon
3. Air
4. Asam Sulfat / Asam Chlorida
5. NaOH
6. Enzym alpha amylase (Liquozyme – by nono) dan enzim amigluksidase ( Dextrozyme – by novo)
7. **ALAT**
8. Timbangan
9. Kertas pH / pH meter
10. Gelas Beaker
11. Pengaduk
12. Pemanas air / Penangas
13. Megnetil Stirer
14. Termometer
15. **CARA PERCOBAAN**

Tahap I. Proses likuifikasi pati

Menimbang tepung aci 200 gram diberi air sumur sehingga menjadi suspense 40%. Atur pH menjadi 6-6.5 diberi enzyme alfa amylase (Liquozyme – by nono) dan dipanaskan 85-950C sambil diaduk selama 60 menit sampai semua pati larut menjadi larutan seperti kanji encer

Tahap II. Proses Sakarifikasi

Larutan pati didinginkan dan pHnya ditirunkan menjadi 4.5 dipanaskan dengan alat magnetic stirrer pada suhu 600C selama 24 jam

Larutan glukosa yang diperoleh akan diketahui dari warna,rasa, aroma

1. **LEMBAR PENGAMATAN**

**LAPORAN SEMENTARA**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Percobaan : PEMBUATAN GLUKOSA DARI TEPUNG ACI

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.

2.

Hari/tgl :

Asisten :

**DATA PERCOBAAN :**

1. Standarisasi Larutan Fehling

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Fehling A, ml | Fehling B, ml | Titran, ml | Rerata, ml |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |

Perubahan warna yang terjadi =

1. Penentuan Gila Reduksi dalam Sampel

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Fehling A, ml | Fehling B, ml | Titran, ml | Rerata, ml | Vol. Pengenceran, ml |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

Perubahan warna yang terjadi =

Asisten Praktikan 1, Tanda tangan

ttd

(nama terang) Praktikan 2, Tanda tangan

Dosen,

ttd

(nama terang)

**MATERI IX**

**FERMENTASI SINGKONG MENJADI TAPE**

**A. TUJUAN PERCOBAAN**

1. Mempelajari cara pembuatan tape ubi kayu/ubi jalar.

2. Mempelajari pengaruh jumlah ragi dan kemasan tape terhadap sifat fisi tape.

**B. DASAR TEORI**

Tape merupakan makanan hasil fermentasi yang dilakukan oleh mikroorganisme, terutama kapang dan khamir. Rasa manis tape sendiri disebabkan oleh kadar gula dari tape itu sendiri. Dalam proses fermentasi, pati akan berubah menjadi gula oleh kapang jenis *Chlamydomucor* dan oleh mikroorganisme ragi *Saccaromyces cereviceae,* gula diubah menjadi alkohol. *Saccaromyces cereviceae* yang biasanya dijual dipasar dalam bentuk ragi bercampur tepung beras. Ragi tape yang sering kita jumpai di pasar merupakan adonan khusus yang dibuat dengan mencampurkan biakan khamir, tepung beras dan berbagai macam bumbu (kayu manis, bawang putih, laos, dan jahe). Bumbu-bumbu ini dapat bersifat senyawa anti mikroba yang mampu mengurangi jumlah mikroba non khamir, sebagai sumber nutrien dan sebagai pembentuk rasa dan aroma pada produk tape. Kualitas tape sangat tergantung pada kondisi lingkungan yaitu suhu dan kondisi anaerob, jenis bahan yang digunakan dan lama fermentasi. Bahan dasar pembuatan tape biasanya digunakan ubi kayu atau beras ketan.

            Fermentasi adalah reaksi oksidasi reduksi di dalam sistem biologi yang menghasilkan energi. Sebagai donor dan akseptor elektron yang digunakan adalah karbohidrat dalam bentuk glukosa. Senyawa tersebut akan diubah secara enzimatis menjadi suatu bentuk lain misalnya alkohol. Ada 2 macam hasil utama dari proses fermentasi yang berhubungan dengan proses pengawetan makanan yaitu asam dan alkohol. Sejumlah makanan hasil fermentasi alkohol juga dapat menjadi asam jika selama produksi alkohol kondisinya adalah aerobik, dimungkinkan timbul bakteri yang memproduksi asam asetat/asam cuka.

Tape mempunyai rasa yang spesifik yaitu manis, alkoholis dan kadang-kadang asam. Hal ini karena terjadi perubahan pada bahan dasar menjadi tape. Mula-mula pati yang ada dalam bahan dipecah oleh enzim menjadi dekstrin dan gula-gula sederhana. Gula-gula yang terbentuk selanjutnya dihidrolisis menjadi alkohol, pada fermentasi lebih lanjut alkohol dioksidasi menjadi asan-asam organik antara lain asam asetat, asam suksinat dan asam malat. Asam-asam organik dan alkohol membentuk ester yang merupakan komponen cita rasa.

            Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen). Secara umum, fermentasi adalah salah satu bentuk respirasi anaerobik, akan tetapi, terdapat definisi yang lebih jelas yang mendefinisikan fermentasi sebagai respirasi dalam lingkungan anaerobik dengan tanpa akseptor elektron eksternal. Reaksi dalam fermentasi berbeda-beda tergantung pada jenis gula yang digunakan dan produk yang[di](http://suatufakta.blogspot.com/)hasilkan. Secara singkat, glukosa (C6H12O6) yang merupakan gula paling sederhana, melalui fermentasi akan menghasilkan etanol (2C2H5OH). Reaksi fermentasi ini[di](http://suatufakta.blogspot.com/)lakukan oleh ragi, dan[di](http://suatufakta.blogspot.com/)gunakan pada produksi makanan.

Persamaan reaksi:

C6H12O6→ 2C2H5OH + 2CO2 + 2 ATP (Energi yang dilepaskan: 118 kJ per mol)

Gula (glukosa, fruktosa, atau sukrosa) → Alkohol (etanol) + Karbon[Di](http://suatufakta.blogspot.com/)oksida + Energi (ATP).

Fermentasi yang baik[di](http://suatufakta.blogspot.com/)lakukan pada suhu 28-30˚C dan membutuhkan waktu 45 jam. Fermentasi dapat[di](http://suatufakta.blogspot.com/)perlambat jika[di](http://suatufakta.blogspot.com/)ngin. Fermentasi tape paling baik[di](http://suatufakta.blogspot.com/)lakukan pada kondisi mikro aerob. Pada kondisi ini, kapang tidak mampu tumbuh sehingga tidak dapat menghidrolisis pati. Namun demikian, pada kondisi aerob yang merupakan kondisi paling baik bagi kapang dan khamir, aroma tidak berkembang dengan baik karena tergantung dari fermentasi alkohol dan pada kondisi ini fermentasi alkohol menurun. Fermentasi yang tertutup akan mencegah terjadinya kontaminasi.

Tujuan fermentasi adalah menghasilkan suatu produk (bahan pakan) yang mempunyai kandungan nutrisi, tekstur, biological availability yang lebih baik serta menurunkan zat anti nutrisinya. Kelebihan dari tape adalah:

1. Fermentasi tape dapat meningkatkan kandungan Vitamin B1 (tiamina) hingga tiga kali lipat. Vitamin ini [di](http://suatufakta.blogspot.com/)perlukan oleh sistem saraf, sel otot, dan sistem pencernaan agar dapat berfungsi secara baik.
2. Mengandung berbagai macam bakteri “baik” yang aman di konsumsi tapai dapat di golongkan sebagai sumber Probiotik bagi tubuh.
3. Cairan tape dan tape ketan[di](http://suatufakta.blogspot.com/)ketahui mengandung bakteri asam laktat sebanyak ± satu juta per mililiter atau gramnya, yang dapat memberikan efek menyehatkan tubuh, terutama sistem pencernaan, karena meningkatkan jumlah bakteri dalam tubuh dan mengurangi jumlah bakteri jahat.
4. Tape mampu mengikat dan mengeluarkan aflatoksin dari tubuh. Aflaktosin merupakan zat toksik atau racun yang[Di](http://suatufakta.blogspot.com/)hasilkan oleh kapang, terutama Aspergillus flavus.
5. Konsumsi tape dapat mencegah terjadinya anemia karena mikroorganisme yang berperan dalam fermentasinya mampu menghasilkan vitamin B12.

Kurangan dari tape adalah:

1. Konsumsi tape yang berlebihan dapat menimbulkan infeksi pada darah dan gangguan sistem pencernaan.
2. Selain itu, beberapa jenis bakteri yang [di](http://suatufakta.blogspot.com/)gunakan dalam pembuatan tapai berpotensi menyebabkan penyakit pada orang-orang dengan sistem imun yang terlalu lemah seperti anak-anak balita, kaum lanjut usia, atau penderita HIV.
3. Untuk mengurangi dampak negatif tersebut, konsumsi tapai perlu[di](http://suatufakta.blogspot.com/)lakukan secara terkendali dan pembuatannya serta penyimpanannya pun[di](http://suatufakta.blogspot.com/)lakukan dengan higienis.

**C. BAHAN**

1. Ubi kayu/ubi jalar
2. Ragi tape
3. Plastik
4. Daun pisang

**D. CARA KERJA**

1. Ubi kayu/ubi jalar dikupas, dicuci dan dipotong-potong.
2. Kemudian dikukus selama 30 menit setelah itu ditiriskan dari berat ubi kayu/ubi jalar yang digunakan. Setelah dingin, lakukan peragian. Peragian harus dilakukan secara merata.
3. Tutup rapat dengan plastik atau daun pisang dan diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu kamar.
4. Amati khamir/bakteri yang terbentuk dalam fermentasi tape (secara makroskopis). Variasi: Banyaknya ragi tape: 0,5% dan 2%.
5. **HASIL PENGAMATAN**

**LAPORAN SEMENTARA**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Percobaan : FERMENTASI SINGKONG MENJADI TAPE

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.

2.

Hari/tgl :

Asisten :

**DATA PERCOBAAN :**

1. Tape dibungkus daun pisang

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| % Ragi | Sifat makroskopis | | |
| Rasa | Tekstur | Aroma |
| 0,5 |  |  |  |
| 2 |  |  |  |

1. Tape dibungkus plastik

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| % Ragi | Sifat makroskopis | | |
| Rasa | Tekstur | Aroma |
| 0,5 |  |  |  |
| 2 |  |  |  |

Asisten Praktikan 1, Tanda tangan

ttd

(nama terang) Praktikan 2, Tanda tangan

Dosen,

ttd

(nama terang)

**MATERI X**

**FERMENTASI KEDELAI MENJADI TEMPE**

**A. TUJUAN PRAKTIKUM**

1. Untuk mengetahui cara pembuatan tempe.

2. Untuk mengetahu pengaruh jumlah ragi dan jnis kemasan terhadap sifat fisis tempe.

**B. DASAR TEORI**

Tempe merupakan makanan yang sangat populer di indonesia. Walaupun tempe merupakan makanan yang sederhana, tetapi tempe mempunyai atau mengandung sumber protein nabati yang cukup tinggi. Tempe adalah makanan yang dibuat melalui proses fermentasi dari biji kedelai atau beberapa bahan lain yang mengandung protein tinggi dengan menggunakan beberapa jenis kapang *Rhizopus*, seperti *Rhizopus oligosporus*, *Rh. oryzae, Rh. stolonifer* (kapang roti), atau *Rh. arrhizus*, sehingga membentuk padatan kompak berwarna putih. Sediaan fermentasi ini secara umum dikenal sebagai ragi tempe. Warna putih pada tempe disebabkan adanya miselia jamur yang tumbuh pada permukaan biji kedelai. Tekstur kompak juga disebabkan oleh miselia jamur yang menghubungkan biji-biji kedelai tersebut. Banyak sekali jamur yang aktif selama fermentasi, tetapi umumnya para peneliti menganggap bahwa *Rhizopus sp* merupakan jamur yang paling dominan. Jamur yang tumbuh pada kedelai tersebut menghasilkan enzim-enzim yang mampu merombak senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga senyawa tersebut dengan cepat dapat dipergunakan oleh tubuh.

Pada dasarnya proses pembuatan tempe merupakan proses penanaman mikroba jenis jamur *Rhizopus sp* pada media kedelai, sehingga terjadi proses fermentasi kedelai oleh ragi tersebut. Hasil fermentasi menyebabkan tekstur kedelai menjadi lebih lunak, terurainya protein yang terkandung dalam kedelai menjadi lebih sederhana, sehingga mempunyai daya cerna lebih baik dibandingkan produk pangan dari kedelai yang tidak melalui proses fermentasi. Selama proses fermentasi kedelai menjadi tempe, akan dihasilkan antibiotika yang akan mencegah penyakit perut seperti diare.

**C. ALAT**

1. Panci 5. Daun Pisang
2. Centong 6. Plastik
3. Kompor 7. Wadah Nampan
4. Cendok 8. Koran

**D. BAHAN**

1. Kedelai
2. Ragi
3. Air

**E. CARA PERCOBAAN**

1. Merendam kedelai selama 4 jam.

2. Membilas kedelai kemudian rebus sampai setengah matang.

3. Mengupas kulit ari.

4. Mengukus sampai matang.

5. Setelah matang meniriskan kedelai sampai dingin.

6. Mencampurkan ragi kemudian membunkusnya dengan daun pisang atau plastik.

7. Memeram selama 2 x 24 jam.

1. **HASIL PENGAMATAN**

**LAPORAN SEMENTARA**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Percobaan : FERMENTASI KEDELAI MENJADI TEMPE

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.

2.

Hari/tgl :

Asisten :

**DATA PERCOBAAN :**

* + 1. Tempe dibungkus daun pisang

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| % Ragi | Sifat makroskopis | | |
| Rasa | Tekstur | Aroma |
| 0,5 |  |  |  |
| 2 |  |  |  |

* + 1. Tempe dibungkus plastik

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| % Ragi | Sifat makroskopis | | |
| Rasa | Tekstur | Aroma |
| 0,5 |  |  |  |
| 2 |  |  |  |

Asisten Praktikan 1, Tanda tangan

ttd

(nama terang) Praktikan 2, Tanda tangan

Dosen,

ttd

(nama terang)

**LAMPIRAN**

**FORMAT LAPORAN RESMI**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III TEKNIK KIMIA**

Aturan pembuatan laporan resmi praktikum Program Studi Diploma III Teknik Kimia adalah sebagai berikut :

* + - 1. Laporan ditulis tangan di atas kertas HVS minimal 70 gr ukuran A4
      2. Format kertas untuk penulisan 4-4-3-3, yaitu :

4 cm

4 cm tempat penulisan 3 cm

3 cm

* + - 1. Laporan setiap materi praktikum berisi :
      2. Judul
      3. Tujuan
      4. Data Percobaan
      5. Harus ditanda tangani oleh asisten dan dosen pengampu praktikum. Dibuat 2 copy (1 untuk praktikan; dijadikan satu dalam laporan (tidak perlu di tulis lagi), 1 untuk arsip laboratorium)
      6. Perhitungan
      7. Pembahasan
      8. Kesimpulan
      9. Lampiran :
* Lembar Pre Test

Bahan pre-test meliputi tujuan, dasar teori, gambar alat, bahan dan cara kerja. Dinilai dan ditanda tangani oleh asisten

* Lain-lain ( grafik, tabel, gambar)
  + - 1. Laporan akhir berisi sub bab :

Halaman judul (format di lampiran 5)

Lembar Pengesahan (ditandatangani oleh asisten dan dosen pengampu)

Daftar Isi

Bab I Materi Praktikum 1

Bab II Materi Praktikum 2

Bab III Materi Praktikum 3

Dst

Daftar Pustaka (Tabel/gambar/pustaka yang digunakan pada perhitungan dan pembahasan)

Contoh cover laporan praktikum :

**LAPORAN PRAKTIKUM**

**SATUAN BIOPROSES**





**disusun oleh:**

**NAMA :………………………**

**NIM : I83…………**

### **PROGRAM STUDI DIPLOMA III TEKNIK KIMIA**

**FAKULTAS TEKNIK**

### **UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

### **SURAKARTA**

### **2014**

Contoh lembar pengesahan :

**LEMBAR PENGESAHAN**

**PRAKTIKUM BIOPROSES**

Nama : ………………….............

NIM : I83………………………

Telah diperiksa dan disetujui oleh :

Dosen Pembimbing Asisten Praktikum

............................... ................................

NIP. NIM.