

**PENUNTUN PRAKTIKUM
HIGIENE DAN SANITASI**



**PROGRAM STUDI
TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

Uji Kontaminasi Udara Ruang Pengolahan

1. Bahan :

- Nutrient Agar (NA) Steril
- Potato Dextrose Agar (PDA) Steril

2. Alat :

- Cawan petri steril
- incubator

3. Langkah Kerja

- Setiap kelompok menyiapkan 2 cawan NA yang diberi tanda nama ruangan dengan waktu kontak 10 menit dan 20 menit ; dan 2 cawan PDA yang diberi tanda nama ruangan dengan waktu kontak 10 menit dan 20 menit .
- Secara bersamaan bukalah tutup cawan- cawan tersebut didalam ruangan yang telah ditetapkan , sehingga “ agar “ didalam cawan mengalami kontak dengan udara didalam ruangan tersebut. Tutuplah cawan petri satu persatu setelah 10 menit dan 20 menit
- Inkubasikan semua cawan pada suhu 30°C selama 2- 3 hari .
- Amati adanya pertumbuhan dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh .Jika pertumbuhan koloni menyebar dan sulit untuk dihitung, nyatakan secara relatif dengan tanda - sampai +++++.
- Sebutkan kelompok mikroba yang dominan tumbuh pada cawan NA (bakteri) atau PDA (kapang dan khamir)
- Laporkan hasil pengamatan dalam bentuk tabel sebagai berikut.

Ruangan	Waktu Kontak	Jumlah Mikroorganisme	Keterangan

- Lakukan Pembahasan dari hasil pengamatan diatas

Uji Kontaminasi Wadah dan Alat Pengolahan

a. Metode Rodac

1. Bahan

- PCA steril
- Larutan pengencer (larutan buffer fosfat)

2. Alat :

- cawan petri steril ukuran 5 - 6 cm tanpa tutup
- cawan petri steril ukuran 8 - 10 cm (lengkap dengan tutupnya)
- Inkubator
- Talenan
- Panci / wajan

3. Langkah Kerja

- Cawan kecil yang telah diisi penuh dengan agar PCA, dinginkan sampai (450C).
- Dengan posisi terbalik, tekankan cawan kecil yang berisi agar pada permukaan alat yang akan diuji selama 4 detik.
- Cawan kecil kemudian diletakkan di dalam cawan yang lebih besar pada posisi normal, kemudian ditutup dan beri tanda nama alat
- Inkubasikan pada suhu $\pm 300C$ selama 2 - 3 hari.
- Hitung koloni yang tumbuh dan luas cawan petri dan nyatakan dalam jumlah koloni per 100 cm² luas permukaan alat
- $\text{Jumlah koloni} / 100 \text{ cm}^2 = 100 \times \text{Jumlah koloni per cawan} / \text{Luas cawan (cm}^2)$
- Jika perhitungan jumlah koloni tidak mungkin dilakukan karena pertumbuhan yang menyebar, nyatakan dengan tanda - (tidak ada pertumbuhan) sampai + + +
- Laporkan hasil pengamatan dalam bentuk tabel sebagai berikut :

Alat	Jumlah Mikroba	Satuan

- Berikan Pembahasan sesuai dengan hasil pengamatan diatas

b. Metode Bilas

1. Bahan :

- 50 ml agar PCA cair steril
- 120 ml larutan pengencer

2. Alat :

- cawan petri ukuran sedang ($\pm 10 \text{ cm}$)
- Inkubator
- Botol kecap
- Botol selai

3. Langkah Kerja

- Siapkan cawan petri steril yang diberi tanda botol dan jumlah contoh.
- Masukkan 20 ml larutan pengencer kedalam botol selai dan 100 ml kedalam botol kecap.

- Bilas seluruh permukaan bagian dalam botol dengan cara memutar botol secara horizontal sebanyak 10 kali.
- Inkubasikan 2 cawan petri masing-masing dengan 1 ml suspensi tersebut, kemudian tuangkan di atasnya PCA cair sebanyak ± 20 ml dan biarkan membeku
- Inkubasikan pada suhu + 30°C selama 2 – 3 hari.
- Hitung koloni yang tumbuh dan nyatakan dalam jumlah koloni per wadah botol dengan perhitungan sebagai berikut :
- Jumlah koloni / botol kecap = Jumlah koloni / ml X 100
- Jumlah koloni / botol selai = Jumlah koloni / ml X 20
- Bila pertumbuhan koloni menyebar, nyatakan dengan + + +
- Laporkan dalam tabel sebagai berikut :

Wadah	Jumlah Koloni	Satuan

- Berikan pembahasan mengenai pengamatan di atas

Uji Kontaminasi Pekerja

1. Bahan:

- cawan PDA steril
- cawan PCA steril

2. Alat:

- 4 cawan petri ukuran sedang
- Pinset
- Inkubator

3. Langkah Kerja

- Siapkan oleh masing-masing kelompok 2 cawan petri yang telah diisi dengan PCA steril dan PDA steril, kemudian beri tanda dengan nama contoh yang akan diuji.
- Cabut satu helai rambut menggunakan pinset dan meletakkan pada agar cawan PDA /PCA, kemudian cawan ditutup.
- Inkubasikan selama 2 - 3 hari pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ (posisi cawan terbalik)
- Amati pertumbuhan kapang dan khamir pada PDA dan total mikroba pada PCA.
- tempelkan kelima jari tangan sebelah tangan pada salah satu cawan PCA/PDA selama 4 detik, kemudian cawan ditutup kembali.
- Cawan diinkubasikan secara terbalik pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 2 - 3 hari
- Amati pertumbuhan mikroba, nyatakan dengan - sampai + + +
- Berikan evaluasi tentang kemungkinan rambut dan kebersihan tangan sebagai salah satu sumber kontaminasi.
- Laporkan dalam tabel sebagai berikut :

Contoh	Media	Pertumbuhan Mo
Rambut	PCA	
	PDA	
Jari Tangan	PCA	
	PDA	

Uji Kontaminasi Bahan Pangan

1. Bahan :
 - 50 ml agar PCA cair steril
 - 20 ml larutan pengencer
 - ikan / daging
 - sayuran daun (sawi, sosin dll)
2. Alat :
 - cawan petri
 - Inkubator
 - Swab (batang oles) atau cotton buds steril
 - tabung reaksi
3. Langkah Kerja
 - Setiap kelompok menyiapkan sebuah tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan pengencer dan batang oles yang telah disterilkan, serta sebuah cawan petri.
 - Peras batang oles dengan cara menekan-nekannya pada dinding tabungreaksi bagian atas.
 - Gunakan batang oles untuk menyeka permukaan bahan pangan yang diuji seluas 2,5 x 2 cm
 - Batang oles dimasukkan kembali kedalam tabung, aduk dan tabung diputar-putar selama 2 menit.
 - Lakukan pemupukan yaitu dengan memasukkan 1 ml suspensi ke dalam cawan petri, kemudian tuangkan agar PCA cair steril, tutup dan biarkan sampai membeku.
 - Inkubasikan pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 2 - 3 hari.
 - Amati perkembangan mikroba dan hitung koloninya atau nyatakan dengan + / ++ / +++.

Jumlah mikroba / cm = jumlah koloni / ml x 5 ml x 5 cm

- Laporkan hasil pengamatan dalam tabel sebagai berikut :

Bahan Uji	Jumlah Mo.	Keterangan

- Berikan pembahasan terhadap hasil pengamatan

Uji Pengaruh Sanitasi Terhadap Kontaminasi Wadah

1. Bahan :

- agar PDA cair steril (untuk pertumbuhan kapang & khamir)
- agar NA cair steril (untuk pertumbuhan bakteri)
- larutan pengencer

2. Alat : 6 cawan petri ukuran sedang

- botol selai

3. Langkah Kerja :

- Bagi botol selai menjadi botol selai yang belum dicuci, botol selai yang sudah dicuci dengan air biasa, botol selai yang sudah dicuci dengan deterjen
- Siapkan 2 cawan petri steril yang diberi tanda nama botol dan jenis agar yang digunakan (PDA dan NA)
- Masukkan 20 ml larutan pengencer masing-masing pada botol yang akan diuji sesuai dengan pembagian kelompoknya.
- Bilas seluruh permukaan bagian dalam botol dengan cara memutar-mutar botol secara horizontal sebanyak 10 kali
- Inokulasikan 2 cawan petri masing-masing dengan 1ml suspensi dari tiap botol tersebut, kemudian tuangkan di atasnya dengan \pm 20 ml PDA cair dan 20 ml NA cair suhu 45^o C, Dan biarkan membeku.
- Inkubasikan pada suhu \pm 30^o C selama 2 - 3 hari.
- Hitung koloni yang tumbuh dan nyatakan jumlah koloni per wadah botol dengan perhitungan sebagai berikut :
Jumlah koloni per botol = jumlah koloni/ml x 20
Bila pertumbuhan koloni menyebar, nyatakan dengan +/ + +/ + + +
- Laporkan dalam Tabel sebagai berikut :

Contoh Yang diuji	Media	Jumlah Koloni per botol	Keterangan
botol selai yang belum dicuci	PDA		
	NA		
botol selai yang sudah dicuci dengan air biasa	PDA		
	NA		
botol selai yang sudah dicuci dengan deterjen	PDA		
	NA		

- Berikan pembahasan mengenai pengamatan diatas, mikroorganisme mana yang lebih banyak tumbuh, bakteri atau kapang / khamir.

Uji Pengaruh Sanitasi Terhadap Tingkat Kebersihan Tangan Pekerja

1. Bahan :
 - agar PDA cair steril (untuk pertumbuhan kapang & khamir)
 - agar NA cair steril (untuk pertumbuhan bakteri)
 - larutan pengencer
2. A l a t :
 - cawan petri ukuran sedang dan bertutup
 - Inkubator
3. Langkah Kerja :
 - Siapkan oleh masing- masing kelompok 2 cawan petri yang telah diisi dengan PDA dan NA steril, kemudian beri tanda dengan nama contoh dan media yang digunakan.
 - Seorang mahasiswa yang belum dicuci tangannya menempelkan kelima jari tangannya sebelah kanan pada cawan yang berisi PDA. Seorang mahasiswa lainnya menempelkan jari tangannya pada cawan yang berisi NA, kemudian cawan ditutup kembali.
 - Lakukan hal yang sama untuk tangan yang sudah dicuci pakai tanpa sabun dan pakai sabun
 - Inkubasikan dengan posisi cawan terbalik pada suhu $\pm 300\text{ C}$ selama 2 - 3hari
 - Amati pertumbuhan mikroba dan berikan pembahasan terhadap pengamatan yang telah dilakukan.
 - Nyatakan pertumbuhan dengan - atau + / ++ / +++
 - Laporkan dalam Tabel sebagai berikut :

Contoh Yang diuji	Media	Pertumbuhan Mikroba	Keterangan
Tangan yang belum dicuci	PDA		
	NA		
Tangan yang sudah dicuci tanpa sabun	PDA		
	NA		
Tangan Yang sudah dicuci dengan sabun	PDA		
	NA		

Uji Pengaruh Sanitasi Terhadap Kontaminasi Pada Sayuran

1. Bahan :
 - 50 ml PDA cair steril
 - NA cair steril
 - larutan pengencer / buffer fosfat steril
 - larutan alcohol
2. Alat :
 - 4 buah cawan petri
 - Inkubator
 - labu Erlenmeyer
3. Langkah Kerja :
 - Setiap kelompok menyiapkan 2 cawan petri steril, beri tanda dengan nama contoh dan medium yang digunakan (PDA dan NA).
 - Siapkan Tomat/ketimn yang belum dicuci dan yang telah dicuci dengan air mengalir
 - Pisau disterilkan terlebih dulu dengan cara mencelupkan kedalam alcohol kemudian dipijarkan. Potonglah secara aseptik kulit tomat / ketimun yang akan diuji seluas 2 cm x 2,5 cm, kemudian celupkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 20 ml larutan pengencer.
 - Kocoklah labu erlenmeyer sebanyak 25 kali.
 - Lakukan pemupukan / inokulasi suspensi sebanyak 1 ml masing-masing pada 2 cawan yang telah ditandai
 - Tuangkan medium PDA dan NA cair dengan suhu 450C pada masing-masing cawan yang sesuai, tutup cawan.
 - Inkubasikan pada suhu \pm 300C selama 2 - 3 hari
 - Amati perkembangan mikroba dan hitung jumlah koloni mikroba atau nyatakan dengan - atau + / ++ / +++
 - laporkan hasil pengamatan dengan Tabel sebagai berikut

Contoh	Media	Jumlah Koloni Mo.	Keterangan
Tomat Yang belum dicuci	PDA		
	NA		
Tomat Yang sudah dicuci	PDA		
	NA		