

POKOK BAHASAN :

1. Perhitungan Koloni Bakteri pada Kultur Padat dengan Teknik *Total Plate Count* (TPC)
2. Perhitungan Densitas Bakteri pada Kultur Cair dengan Teknik Spektrofotometri

TUJUAN PRAKTIKUM :

1. Memahami persiapan dan pelaksanaan perhitungan Koloni Bakteri pada Medium Kultur Padat dengan Teknik *Total Plate Count* (TPC)
2. Memahami persiapan dan pelaksanaan perhitungan Koloni Bakteri pada Medium Kultur Cair dengan Teknik Spektrofotometri

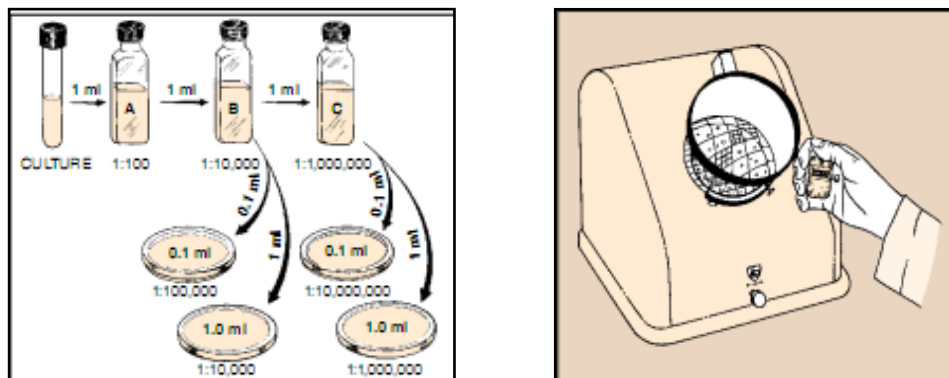
TINJAUAN PUSTAKA :**1. *Total Plate Count* (TPC)**

Kuantifikasi populasi mikroorganisme sering dilakukan untuk mendapatkan jumlah kuantitatif mikroorganisme target. Kuantifikasi tersebut dapat berupa penentuan jumlah sel dan penentuan massa sel. Penentuan jumlah sel dapat dilakukan pada mikroorganisme bersel tunggal. Penentuan massa sel dilakukan bagi mikroorganisme bersel tunggal dan mikroorganisme berfilamen.

Penghitungan jumlah sel dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya metode hitungan cawan (*Total Plate Count*), hitungan mikroskopis langsung (*Direct Count*) dan penghitung *Coulter*. Cara lain penentuan jumlah sel adalah dengan menyaring sampel dengan saringan membran kemudian daringan tersebut diinkubasi pada permukaan media yang sesuai. Koloni-koloni yang terbentuk berasal dari satu sel tunggal yang dapat hidup.

Metode hitungan cawan menggunakan anggapan bahwa setiap sel akan hidup berkembang menjadi satu koloni. Jumlah koloni yang muncul menjadi indeks bagi jumlah organisme yang terkandung di dalam sampel. Teknik penghitungan ini membutuhkan kemampuan melakukan pengenceran dan mencawakan hasil pengenceran. Cawan-cawan tersebut kemudian diinkubasi dan kemudian dihitung jumlah koloni yang terbentuk. Cawan yang dipilih untuk penghitungan koloni, sesuai dengan kaidah statistik adalah

cawan yang berisi 30-300 koloni. Jumlah organisme yang terdapat dalam sampel asal dihitung dengan cara mengalikan jumlah koloni yang terbentuk dengan faktor pengenceran pada cawan bersangkutan.

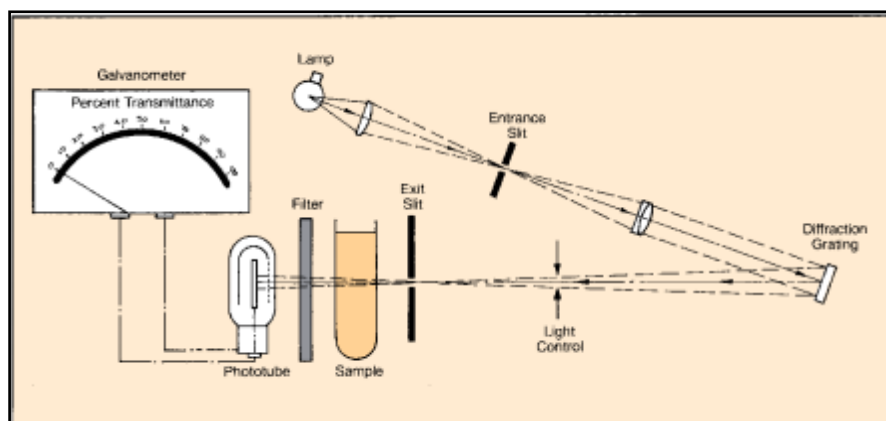


Gambar : Pengerjaan Perhitungan Koloni dengan *Total Plate Count* (TPC)

2. *Spectrofotometry*

Cara perhitungan kuantitas/densitas sel bakteri pada kultur cair yang paling umum adalah dengan menggunakan nilai kekeruhan suspensi sel yang didapatkan dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer.

Sel bakteri dihitung dengan panjang gelombang 600 nm dan nilai absorbansi yang muncul kemudian dikonversi untuk mendapatkan nilai densitas sel bakteri dalam kultur.



Gambar : Skema kerja Spektrofotometer

PROSEDUR PELAKSANAAN PRAKTIKUM :

1. *TOTAL PLATE COUNT (TPC)*

Alat :

- Colony Counter
- Hand-counter
- Bunsen

Bahan :

- Biakan Agar Plate
- Spiritus

Prosedur :

1. Ambil biakan Agar Plate dari Inkubator;
2. Dengan menggunakan Colony Counter dan Hand-Counter amati dan hitung koloni yang tumbuh. Sebagai catatan, jumlah koloni yang dapat dihitung berkisar antara 30 - 300 koloni;
3. Kalkulasikan jumlah koloni terhitung dengan cara mengalikan koloni yang terhitung dengan faktor pengencernya.

2. *TOTAL PLATE COUNT (TPC)*

Alat :

- Spektrofotometer
- Kuvet
- Pipet Volumetrik

Bahan :

- Biakan Kultur Cair

Prosedur :

1. Ambil biakan Kultur Cair dari Inkubator Shaking;
2. Persiapkan Spektrofotometer dengan setting panjang gelombang 600 nm;
3. Persiapkan Blanko (medium) dan Sampel kultur (biakan cair) masing-masing sebanyak 2 mL ke dalam kuvet steril;
4. Run spektrofotometer;
5. Catat hasil Absorbansi;
6. Konversikan untuk mendapatkan Densitas Sel.

PARAMATER YANG DIAMATI :

1. Total Plate Count (TPC)

No	Sumber Isolat	Inkubasi		Jumlah Koloni Terhitung (cfu)
		Suhu (°C)	Lama Waktu	

2. Kultur Cair

No	Sumber Isolat	Inkubasi			Absorbansi pada λ 600	Densitas
		Suhu (°C)	Lama Waktu	Agitasi (rpm)		