

## Efektivitas Sterilisasi Media NA dan PDA Pada Kegiatan Praktikum Mikrobiologi Penyamakan Kulit

Armila Zahra Tawarniate<sup>1</sup> dan Wijayanti<sup>2\*)</sup>

<sup>1</sup> Laboratorium Mikrobiologi dan Rekayasa Enzim, Politeknik ATK Yogyakarta, Bantul,  
Yogyakarta, 55188

<sup>2</sup> Laboratorium Instrumentasi dan Teknik Polimer, Politeknik ATK Yogyakarta, Bantul,  
Yogyakarta 55188

\*)e-mail : wijayanti3231@gmail.com

### Abstract

*Microbiology practicum activities in tannery process are carried out to determine the causes of leather's damage caused by microbial activity. This practicum are carried out using media. Practicum activities can be disrupted due to obstructed observations because of bacterial and fungal contamination from the environment. Bacterial and fungal contamination can occur due to sub-optimal media sterilization or improper media storage. The purpose of this study was to determine the effectiveness of the sterilization technique using autoclaves and UV irradiation on NA and PDA media which are often used.*

*The results showed that the media sterilization technique with an autoclave tended to be more effective than UV light sterilization although it did not provide a significant difference. Media without sterilization gives better results. It can be caused by the heating process up to 100 °C when making the media. This process can kill most of the microbes present in the liquid media.*

*Key words : media, NA, PDA, microbiology, tannery, sterilization*

### Abstrak

Kegiatan praktikum mikrobiologi kulit dilakukan untuk mengetahui penyebab kerusakan kulit yang ditimbulkan oleh aktivitas mikrobia dan dilakukan menggunakan media. Kegiatan praktikum dapat terganggu akibat pengamatan yang terhambat akibat kontaminasi bakteri dan jamur yang berasal dari lingkungan. Kontaminasi bakteri dan jamur dapat terjadi karena sterilisasi media yang kurang optimal atau penyimpanan media yang tidak tepat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas teknik sterilisasi menggunakan autoklaf dan radiasi sinar UV pada media NA dan PDA yang sering digunakan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik sterilisasi media dengan autoklaf cenderung lebih efektif dibandingkan dengan sterilisasi sinar UV meskipun tidak

memberikan perbedaan yang signifikan. Media tanpa sterilisasi memberikan hasil yang lebih baik dikarenakan pada proses pembuatan media terdapat proses pemanasan hingga 100 °C sehingga dapat membunuh sebagian besar mikroba yang terdapat dalam media cair.

Kata kunci : media, NA, PDA, mikrobiologi, penyamakan kulit, sterilisasi

## PENDAHULUAN

Mikrobiologi adalah salah satu parameter yang digunakan dalam evaluasi kondisi kulit dalam proses penyamakan. Kulit yang baik adalah kulit yang tidak memiliki defek akibat proses mikrobiologi. Kulit dapat mengalami kerusakan akibat proses mikrobiologi, di antaranya adalah kulit yang ditumbuhi jamur sehingga tidak dapat diproses lebih lanjut. Salah satu kegiatan praktikum di Laboratorium Mikrobiologi dan Enzim di Program Studi Teknologi Pengolahan Kulit Politeknik ATK Yogyakarta adalah praktikum mikrobiologi kulit. Kegiatan praktikum mikrobiologi kulit dilakukan untuk mengetahui penyebab kerusakan kulit yang ditimbulkan oleh aktivitas mikrobia. Kegiatan ini meliputi pengamatan bakteri dan jamur dengan menggunakan media yang diperlukan untuk mempelajari sifat mikrobia. Media tersebut harus memenuhi beberapa syarat, diantaranya adalah pH yang sesuai, tidak mengandung inhibitor, harus steril, dan mengandung nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme (Aini dan Rahayu, 2015). Media yang digunakan biasanya adalah NA (*Nutrient Agar*) dan PDA (*Potato Dextrose Agar*). Media NA adalah media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri, sedangkan media PDA adalah media yang biasa digunakan untuk pertumbuhan jamur di laboratorium (Cappucino, 2014).

Kegiatan praktikum pengamatan bakteri dan jamur dapat terganggu akibat kontaminasi bakteri dan jamur yang berasal dari lingkungan. Kontaminasi bakteri dan jamur dapat terjadi karena sterilisasi media yang kurang optimal atau penyimpanan media yang tidak tepat. Ada beberapa metode sterilisasi media yang dapat digunakan, di antaranya adalah metode sterilisasi basah (Wulandari dkk., 2021) dan menggunakan radiasi sinar UV (Sulatri *et. al.*, 2017). Metode sterilisasi basah biasa dilakukan dengan autoklaf. Metode ini dilakukan dengan mengalirkan uap air di bawah tekanan (Misra dan Misra, 2012). Sterilisasi menggunakan autoklaf dapat dilakukan dengan suhu tinggi

dalam periode waktu yang tidak terlalu lama. Suhu autoklaf sebesar 121 °C dengan waktu yang relatif singkat dapat membunuh bakteri dan spora jamur (Ikenganyia *et. al.*, 2017). Metode sterilisasi selanjutnya adalah menggunakan radiasi sinar ultraviolet (UV). Penelitian yang dilakukan Ariyadi dan Sintodewi (2009) menunjukkan bahwa radiasi sinar UV 38 Watt selama 10 dan 15 menit dengan jarak penyinaran 45 cm dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Bacillus sp.*

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti bermaksud mengkaji efektivitas teknik sterilisasi menggunakan autoklaf dan radiasi sinar UV pada media NA dan PDA.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Enzim Politeknik ATK Yogyakarta. Penelitian ini merupakan penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial yang terdiri atas 2 faktor dan 2 ulangan. Faktor pertama adalah jenis teknik sterilisasi yaitu menggunakan autoklaf dan radiasi sinar UV. Faktor 2 adalah variasi waktu yaitu 15 menit dan 20 menit.

### **Alat dan Bahan**

Peralatan yang digunakan diantaranya adalah kompor listrik, Autoklaf elektrik Hirayama, *Glove box* Cole Parmer, inkubator, neraca analitik AND, dan alat gelas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media NA, media PDA, kertas perkamen, dan akuades.

### **Prosedur kerja**

Langkah kerja pertama adalah melakukan sterilisasi cawan petri yang akan digunakan sebagai tempat media. Selanjutnya membuat media NA dan PDA yang dituang ke dalam cawan petri sebanyak 10 mL. Langkah berikutnya adalah melakukan sterilisasi dengan sinar UV dan autoklaf 121°C masing – masing 15 dan 20 menit. Media – media yang disterilkan kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 35° C. Sebagai pembanding, terdapat pula media yang tidak disterilkan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Media yang telah diberi perlakuan kemudian diamati dalam 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam. Hasil pengamatan dalam 1 x 24 jam tersaji dalam Tabel 1 di bawah ini.

**Tabel 1.** Jumlah koloni pada media NA dan PDA waktu pengamatan 1 x 24 jam

Media	Jumlah koloni pada setiap perlakuan (koloni)				
	Tidak sterilisasi	UV 15 menit	Autoklaf 15 menit	UV 20 menit	Autoklaf 20 menit
NA 1	1	5	0	5	0
NA 2	4	7	0	17	1
PDA 1	0	1	0	5	0
PDA 2	3	10	0	7	1

Tabel 1 menunjukkan bahwa dalam pengamatan 1 x 24 jam koloni tidak muncul pada media yang dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit untuk semua media baik NA maupun PDA. Koloni paling banyak muncul pada media NA dan PDA dengan sterilisasi dengan sinar UV selama 20 menit. Hal tersebut dimungkinkan karena sterilisasi dengan sinar UV diharuskan membuka tutup cawan petri sehingga potensi kontaminan dari lingkungan semakin besar.

Sementara itu, hasil pengamatan dalam 2 x 24 jam (Tabel 2) menunjukkan bahwa pada media NA jumlah kontaminan yang muncul dengan teknik sterilisasi Sinar UV dan autoklaf tidak berbeda nyata dengan media tanpa sterilisasi. Hal ini dikarenakan saat pembuatan media NA, dilakukan pemanasan hingga larutan media mendidih sebelum dituang ke dalam petri steril. Oleh karena itu sangat dimungkinkan larutan media NA yang dibuat tanpa proses sterilisasi sudah cukup steril karena pada proses pembuatannya mengalami pemanasan hingga suhu 100 °C. Pemanasan tersebut mampu membunuh sebagian besar mikroba yang ada saat pembuatan media cair.

**Tabel 2.** Jumlah koloni pada media NA dan PDA waktu pengamatan 2x24 jam

Media	Jumlah koloni pada setiap perlakuan (koloni)				
	Tidak sterilisasi	UV 15 menit	Autoklaf 15 menit	UV 20 menit	Autoklaf 20 menit
NA 1	5	9	1	17	0
NA2	17	8	0	5	1

---

PDA 1	0	5	0	21	0
PDA 2	5	18	0	14	1

---

Lama sterilisasi juga tampak tidak berpengaruh nyata pada jumlah kontaminan di media NA dan PDA. Perbedaan lama sterilisasi yang hanya 5 menit bisa menjadi faktor penyebab tidak ada beda yang signifikan terhadap pertumbuhan kontaminan pada media air NA.

Pada media PDA, jumlah kontaminan dengan teknik sterilisasi autoklaf tidak berbeda nyata dengan media tanpa sterilisasi. Sedangkan media PDA dengan teknik sterilisasi sinar UV berbeda nyata dengan media tanpa sterilisasi. Media dengan teknik sterilisasi menggunakan sinar UV memiliki jumlah kontaminan yang lebih banyak daripada media yang tidak disterilisasi. Hal ini dapat terjadi karena sinar UV yang dipancarkan tidak mampu membunuh mikroba yang ada saat media PDA mengalami proses sterilisasi. Selain hal tersebut, kontaminan dapat muncul karena pada saat sterilisasi dengan sinar UV, tutup media PDA yang telah dituang dalam cawan petri steril dibuka dengan tujuan agar permukaan media terkena sinar UV dan bisa lebih tahan terhadap kontaminan bakteri dan jamur. Akan tetapi, hal tersebut justru mempermudah kontaminasi bakteri dan jamur dari lingkungan ruang UV.

## **Kesimpulan**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik sterilisasi media dengan autoklaf cenderung lebih efektif dibandingkan dengan sterilisasi sinar UV meskipun tidak memberikan perbedaan yang signifikan. Media tanpa sterilisasi memberikan hasil yang lebih baik dikarenakan pada proses pembuatan media terdapat proses pemanasan hingga 100 °C sehingga dapat membunuh sebagian besar mikroba yang terdapat dalam media cair.

## **Daftar Pustaka**

- [1] Aini, N., dan Rahayu, T. 2015. Media Alternatif untuk Pertumbuhan Jamur Menggunakan Sumber Karbohidrat yang Berbeda. *Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- [2] Ariyadi, T. dan Sintodewi, S. 2009. Pengaruh Sinar Ultraviolet terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus sp* sebagai Bakteri Kontaminan. *Jurnal Ilmu Kesehatan*. 2(2): 20 – 25.
- [3] Cappuccino, J.G. dan Sherman N. 2014. *Manual Laboratorium Biologi*. Jakarta, Indonesia: EGC.
- [4] Ikenganyia, E. E., Anikwe, M. A. N., Omeje, T. E., dan Adinde, J. O. 2017. Plant tissue culture regeneration and aseptic techniques. *Asian J. Of Biotechnology and Bioresource Tech*. 1(3): 1 – 6.
- [5] Misra, A. N., dan Misra, M. 2012. Sterilization Techniques in Plant Tissue Culture. *Fakir Mohan Uni*.
- [6] Sulatri, N. L., Yogeswara, I. B. A., dan Nursini, N. W. 2017. Efektifitas sinar ultraviolet terhadap cemaran bakteri patogen pada makanan cair sonde untuk pasien *immune-compromised*. *Jurnal Gizi Indonesia*. 5(2): 112 – 118.
- [7] Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, Indarti, S., dan Sayekti, S. 2021. Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrinova: J. Of Agritechnology Innovation*. 4(2): 16 – 19.