



JURNAL TEKNOLOGI DAN MANAJEMEN PENGELOLAAN LABORATORIUM



Published by
UNIVERSITAS ANDALAS

PERBANDINGAN PERFORMA *AUTOCLAVE* MANUAL SEBAGAI ALAT *KILLING* MIKROBA DI LABORATORIUM MIKROBIOLOGI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN UNAND

Risa Yudi Wati^{1*)}

¹ Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Andalas Limau Manis Padang.

*) Email: risa_yudiwati@yahoo.co.id

Abstrak

Uji angka lempeng total (ALT) menghasilkan limbah media agar yang ditumbuhi oleh mikroba. Sebelum dibuang, harus dipastikan limbah tersebut bebas dari bakteri dan mikroba sehingga tidak akan mencemari lingkungan. Proses untuk membunuh mikroba yang telah ditumbuhkan ini dinamakan *killing* dengan menggunakan autoclave manual. Umur pakai autoclave manual ini diperkirakan sudah 25 tahun. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektifitas autoclave manual dalam membunuh mikroba dengan 3 perlakuan waktu yaitu selama 15, 30, 45 menit.. Hasil penelitian menunjukan bahwa pada proses *killing* mikroba selama 15 menit masih terdapat 1-8 koloni mikroba yang tumbuh setelah proses inkubasi 48 jam pada suhu 37°C. Adapun pada perlakuan 30 menit dan 45 menit tidak ada satupun diamati koloni mikroba yang tumbuh (nol koloni). Hal tersebut menunjukan bahwa *killing* media agar yang telah ditumbuhi mikroba selama 30 menit pada suhu 121°C dapat membunuh semua mikroba terbukti dengan tidak tumbuhnya mikroba didalam media tersebut setelah diinkubasi selama 48 jam, sehingga limbah media tersebut aman untuk dibuang, tidak akan mencemari lingkungan serta menjaga keselamatan dan kesehatan kerja di Laboratorium

Kata Kunci : limbah mikroba, autoclave manual, *killing*, waktu *killing*

Abstract

*The total plate number test produces agar media waste which contains microbes. Before being disposed to environment, it must be ensured that the waste is free from bacteria and microbes so that it will not pollute the environment. The process for killing the microbes that have been grown is well known as killing which is using manual autoclave. The used manual autoclave in this experiments has been established for 25 years. This study aims to test the performance of manual autoclaves in killing microbes with 3 different time treatments, namely were 15, 30, 45 minutes. The results showed that the process of killing microbes for 15 minutes contained 1-8 Microbial colonies that were still growing after incubation for 48 hours at 37°C. As for the 30 minutes and 45 minutes treatment, none of the microbial colonies was observed (zero microbial colonies). It can be concluded that the effective killing time of media waste with the autoclave in this experieient was 30 minutes. It was shown that *killing* media that had been overgrown with microbes for 30 minutes at 121°C can kill the microbes, proven by no microbes was observed in the media after being incubated for 48 hours Hence, the media waste is safe to dispose of, will not pollute the environment and protect the environment as well as the occupational safety and health aspect in the Laboratory.*

Keywords: microbial waste, manual autoclave, *killing*, time *killing*

I. Pendahuluan

Sebagian prosedur laboratorium mikrobiologi harus menggunakan atau menghasilkan mikroba hidup, oleh karena itu limbah mikroba merupakan bagian yang tak terpisahkan dari serangkaian kegiatan di laboratorium mikrobiologi. Salah satu (sumber) limbah mikroba yang hampir setiap hari dibuang adalah limbah mikroba dari hasil uji Angka Lempeng Total (ALT). Uji ALT didasarkan (pada prinsip) bahwa setiap sel yang dapat hidup

akan berkembang menjadi suatu koloni. Jumlah koloni yang muncul pada cawan merupakan suatu indeks jumlah mikroba yang hidup terkandung dalam sampel (Fardiaz, 1992). Setelah dilakukan pengenceran bertingkat dan diinkubasi jumlah koloni mikroba yang tumbuh pada masing-masing cawan diamati. Untuk memenuhi persyaratan statistik, cawan yang dipilih untuk dihitung mengandung 30-300 koloni mikroba. Prinsip dari ALT ini adalah apabila sel mikroba yang masih hidup

ditumbuhkan pada medium agar, maka mikroba itu akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan kemudian dapat dihitung tanpa menggunakan mikroskop (Waluyo 2010)

Peneliti dan Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) harus memastikan bahwa mikroba yang dihasilkan dari uji ini tidak akan mencemari lingkungan. Semua mikroba yang telah ditumbuhkan dipastikan telah mati/steril sebelum dibuang ke lingkungan. Salah satu cara untuk mematikan atau mensterilkan media dari koloni mikroba adalah dengan mengkilang. *Killing* adalah istilah yang digunakan untuk membunuh mikroba yang telah ditumbuhkan pada uji ALT. Sehingga media hasil uji ALT tersebut tidak mengandung mikroba hidup (nol koloni mikroba). Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Hasil Pertanian mempunyai dua *autoclave* dengan fungsi yang berbeda. *Autoclave Automatic* (gambar 1) digunakan untuk mensterilasi media atau bahan yang akan diuji. Sedangkan *autoclave manual* (gambar 2) digunakan untuk killing mikroba.



Gambar 1. *Autoclave Automatic*



Gambar 2. *Autoclave Manual*

Prinsip kerja kedua alat ini sama yaitu menggunakan panas basah untuk mensterilkan ,

setelah air didalam tangki mendidh dan mulai terbentuk uap air, maka uap air akan dialirkan kedalam ruang pensteril guna mendesak keluar semua udara didalamnya (Waluyo, 2010) . Perbedaan dari alat ini hanya pada pengaturan suhu dan waktu, satu dilakukan dengan otomatis sedangkan *autoclave manual* pengaturan lama pemanasan dan suhunya harus kita atur secara manual (Bernal-Chávez et al., 2021; Savaris et al., 2016). *Autoclave manual* ini sudah lama dipergunakan di laboratorium, sebelum ada *autoclave automatic*. Alat ini diperkirakan sudah ada di laboratorium lebih dari 25 tahun. Selama jangka waktu tersebut alat ini digunakan untuk mengkilang mikroba sebelum dibuang ke lingkungan.

II. Metode Penelitian

2.1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu *autoclave manual*, oven (memmert), incubator (memmert), gelas piala Pyrex 1000ml, spatula, petridish. Bahan yang digunakan yaitu media hasil penelitian uji ALT (gambar 3), aluminium foil, plastik wrap.



Gambar 3. *Media hasil uji ALT*

2.2. Metode Kerja

Media hasil uji ALT yang telah ditumbuhi mikroba dikumpulkan dan dimasukkan kedalam gelas piala kemudian ditutup dengan aluminium foil (gambar 4). *Autoclave* diisi air hingga elemen pemanas *autoclave* ditutupi air. Kemudian gelas piala yang berisi media yang akan dikilling dimasukkan kedalam *autoclave*. *Autoclave* akan berbunyi ketika suhu mencapai 121°C. metode penelitian ini menggunakan 3 variasi waktu sterilisasi yaitu 15, 30 dan 45 menit. Suhu tetap dijaga stabil pada suhu 121°C dengan cara membuka katup pada bagian tutup *autoclave* apabila suhu telah melebihi 121°C.

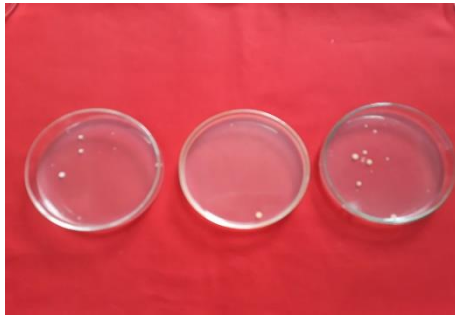
Setelah proses *killing* selesai limbah media dituang kedalam petridish yang sudah steril dan diinkubasi pada inkubator suhu 37°C selama 48 jam. Amati pertumbuhan koloni mikroba pada media yang sudah dikilling tersebut.



Gambar 4. Metode Kerja Killing

III. Hasil dan Pembahasan

Dari hasil pengamatan didapat bahwa meng*killing* limbah mikroba selama 15 menit pada suhu 121°C lalu diinkubasi pada suhu 37°C ternyata masih tumbuh 1-8 koloni mikroba (gambar 5)



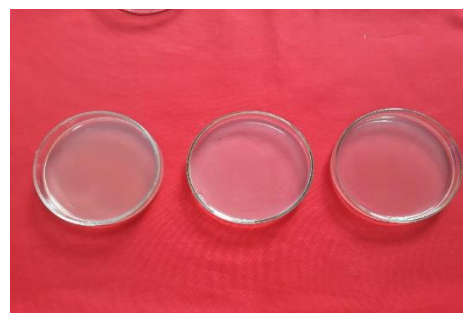
Gambar 5. Hasil proses killing 15 menit.

Adanya mikroba yang tumbuh pada proses killing ini membuktikan bahwa waktu 15 menit tidak bisa membunuh semua mikroba atau nol koloni mikroba. Sementara kita harus menyadari bahwa mikroba yang berasal dari laboratorium harus dianggap sebagai mikroba yang *pathogen*. *Pathogen* merupakan agen biologis yang dapat menyebabkan penyakit pada inangnya. Hal ini akan membahayakan bagi pengguna, orang dan lingkungan sekitar laboratorium. Mikroba yang masih tumbuh setelah di *killing* selama 15 menit diperkirakan adalah mikroba jenis *termophil* yaitu kelompok bakteri *termofilik* secara umum mempunyai struktur sel yang memiliki beberapa kelebihan dibanding kelompok bakteri lainnya. Kelompok ini umumnya memiliki daya adaptasi untuk dapat tumbuh pada suhu tinggi. Bakteri *termofilik* mempunyai enzim-enzim dan protein-protein lain yang lebih resisten terhadap panas bila dibandingkan dengan bakteri *mesofil*, begitu juga protein-protein pada bakteri *mesofil* lebih stabil pada

suhu panas dibandingkan dengan bakteri *psikrofil* (Zubaidah, 2000).

Limbah mikroba yang belum steril jika dibuang pada saluran air bisa mencemari air tersebut, dan apabila air digunakan untuk ekosistem pertanian, air tersebut merupakan media pembawa mikroba berbahaya untuk pengairan pertanian maka bisa berdampak negatif bagi hasil pertanian.

Mikroba yang larut didalam air juga dapat merusak kualitas air minum Penyakit menular yang disebarkan oleh air secara langsung di antara masyarakat seringkali dinyatakan sebagai penyakit bawaan air (*water borne disease*). Penyakit ini hanya dapat menyebar apabila mikroba penyebabnya dapat masuk ke dalam sumber air yang digunakan oleh masyarakat untuk pemenuhan kebutuhan air sehari-hari. Jenis mikroba yang dapat menyebar lewat air sangat banyak, mulai dari virus, bakteri, protozoa dan metazoa (Slamet, 2004). Penyakit yang disebabkan oleh organisme antara lain diare, muntaber dan disentri. Memastikan bahwa limbah dari laboratorium tidak mencemari lingkungan adalah tanggung jawab semua pengguna laboratorium. Adapun pada proses *killing* selama 30 dan 45 menit tidak ada koloni yang tumbuh (nol koloni mikroba). Berarti limbah media agar tersebut telah steril kembali (gambar 6). Sterilisasi menggunakan *autoclave* biasanya hanya membutuhkan waktu 15 menit. Tetapi *Autoclave* killing yang ada di Laboratorium Mikrobiologi membutuhkan waktu sterilisasi diatas 30 menit, hal ini wajar mengingat *autoclave* tersebut sudah dipakai cukup lama sehingga bisa saja efektifitas sterilisasinya mulai berkurang. Hal ini terbukti ketika media agar hasil ALT dikiliing pada suhu 121°C selama 30 menit dan 45 menit tidak ada mikroba yang tumbuh walaupun sudah diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (gambar 6).



Gambar 6. Hasil proses killing selama 30 dan 45 menit.

Prinsip kerja dari *autoclave* adalah mensterilkan alat dan bahan dengan menggunakan tekanan uap yang optimum untuk sterilisasi yaitu pada tekanan 15 Psi dan suhu 121°C. Pada saat sumber panas dinyalakan, air yang berada didalam *autoclave* lama kelamaan akan mendidih dan uap air yang terbentuk akan mendesak udara yang mengisi diseluruh *autoclave*. Setelah semua udara dalam *autoclave* diganti dengan uap air, katup uap atau katup udara ditutup sehingga tekanan udara didalam *autoclave* naik. Pada saat mencapai 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 secara perlahan hingga mencapai tekanan 0 psi. *Autoclave* tidak diperbolehkan untuk dibuka sebelum tekanan mencapai 0 psi (Putriprinandya, 2014).

Killing selama 30 menit atau lebih bisa membuat mikroba mengalami kerusakan subletal. Kerusakan subletal adalah sel yang tidak mampu menyerap nutrisi secara normal dan tidak mampu tumbuh di dalam medium yang mengandung senyawa-senyawa selektif. Kerusakan subletal adalah kerusakan sel yang tidak mematikan, dimana sel mengalami stress atau sakit. Sel yang mengalami kerusakan subletal dapat dideteksi dari ketidakmampuannya untuk tumbuh dan berkembang seperti pada kondisi normal untuk sel sehat. Kehilangan kemampuan untuk tumbuh dan berkembangbiak dapat dilihat atau diukur dengan beberapa cara yaitu: tidak dapat membentuk koloni pada medium padat, tidak menimbulkan kekeruhan pada medium cair (Kurniawati 2012).

Proses pemanasan terhadap mikroba bisa bersifat lethal karena panas akan menyebabkan protein mengalami denaturasi, sedangkan hampir Sebagian besar komponen sel mikroba adalah protein, sehingga menyebabkan aktivitas metabolisme akan terhenti.

Killing pada dasarnya adalah sterilisasi dari bahan yang sudah tercemar, karena prinsip *killing* dan sterilisasi adalah sama yaitu me nol kan pertumbuhan mikroba. Sterilisasi merupakan proses untuk mematikan semua mikroba yang hidup. Adanya pertumbuhan mikroba menunjukkan tidak sempurnanya proses sterilisasi. Jika sterilisasi berlangsung sempurna, maka spora bakteri akan dilemahkan. Sterilisasi adalah suatu proses untuk membunuh semua jasad renik yang ada, sehingga jika ditumbuhkan di

dalam suatu medium tidak ada lagi jasad renik yang dapat berkembangbiak. Sterilisasi harus dapat membunuh jasad renik yang paling tahan panas yaitu spora bakteri (Fardiaz, 1992).

Kesimpulan

Autoclave manual di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Hasil Pertanian walau telah dipakai sekitar 25 tahun ternyata masih efektif digunakan untuk *mengkillng* mikroba hasil uji ALT bila dilakukan selama 30 menit pada suhu 121°C dan *mengkillng* mikroba kurang dari 30 menit tidak disarankan karena terbukti ada beberapa koloni mikroba yang masih bisa tumbuh setelah di inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Direkomendasikan waktu *mengkillng* mikroba diatas 30 menit dan direncanakan untuk membeli *autoclave automatic* yang baru, menginggat *autoclave* yang ada sekarang ini sudah dipergunakan untuk jangka waktu yang lama sehingga untuk *mengkillng* limbah mikroba membutuhkan waktu yang lama.

Daftar Pustaka

- Arum, E. S., Hariani, N., & Hendra, M. (2018). STRUKTUR KOMUNITAS PLANKTON PERMUKAAN PADA DANAU LABUAN CERMIN KEC. BIDUK-BIDUK, KAB. BERAU. *Jurnal Pendidikan Mat Bernal-Chávez, S. A., Del Prado-Audelo, M. L., Caballero-Florán, I. H., Giraldo-Gomez, D. M., Figueroa-Gonzalez, G., Reyes-Hernandez, O. D., González-Del Carmen, M., González-Torres, M., Cortés, H., & Leyva-Gómez, G. (2021). Insights into terminal sterilization processes of nanoparticles for biomedical applications. *Molecules*, 26(7), 1–20.*
- <https://doi.org/10.3390/molecules26072068>
- Dwidjoseputro, D. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta.
- Fardiaz, Srikandi. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
- Putriprinandya Dea. 2014. *Autoklaf*. <http://www.scribd> (diakses 13 Oktober 2020)

- Kurniawati, D.H. 2012. Seleksi, Karakterisasi, Dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi Sebagai Penghasil Enzim Protease. Universitas Negeri Yogyakarta
- Savaris, M., Santos, V. dos, & Brandalise, R. N. (2016). Influence of different sterilization processes on the properties of commercial poly(lactic acid). *Materials Science and Engineering C*, 69, 661–667. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.07.031>
- Slamet, J.S. 2004. Kesehatan Lingkungan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press
- Sutedjo. 1996. *Mikrobiologi Tanah*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Waluyo, Lud. 2010. *Mikrobiologi Umum*. UMM Press Malang.
- Zubaidah, Siti. 2000. *Bakteri: Kajian Tentang Beberapa Aspek Biologis*. Malang: Universitas Negeri Malang. *Tematika Dan IPA*, 9(1), 47–56.
- Koestoer, R. A. (2004). Pengukuran Teknik. *Departemen Teknik Mesin Fakultas Teknik UI*, 147–149.
- Miller, C. B., & Judkins, D. C. (1981). Design of pumping systems for sampling zooplankton, with descriptions of two high-capacity samplers for coastal studies. *Deep Sea Research Part B. Oceanographic Literature Review*, 28(12), 881. [https://doi.org/10.1016/0198-0254\(81\)91545-4](https://doi.org/10.1016/0198-0254(81)91545-4)
- Nayar, S., Goh, B. P. L., & Chou, L. M. (2002). A portable, low-cost, multipurpose, surface–subsurface plankton sampler. *Journal of Plankton Research*, 24(10), 1097–1105. <https://doi.org/10.1093/plankt/24.10.1097>
- Sattley, W. M., Burchell, B. M., Conrad, S. D., & Madigan, M. T. (2017). Design, Construction, and Application of an Inexpensive, High-Resolution Water Sampler. *Water*, 9(8), 578. <https://doi.org/10.3390/w9080578>
- Setälä, O., Magnusson, K., Lehtiniemi, M., & Norén, F. (2016). Distribution and abundance of surface water microlitter in the Baltic Sea: A comparison of two sampling methods. *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.065>
- Setiawati, S., Izmiarti, I., & Nofrita, N. (2018). Komposisi dan Struktur Komunitas Zooplankton di Danau Diatas, Sumatera Barat. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 4(2), 10–15. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v4i2.6880>
- Sluss, T. D., Jack, J. D., & Thorp, J. H. (2011). A comparison of sampling methods for riverine zooplankton. *River Systems*, 315–326. <https://doi.org/10.1127/1868-5749/2011/0048>
- Wati, M., Irawati, N., & Indrayani. (2019). Pola Migrasi Vertikal Harian Zooplankton pada Berbagai Kedalaman Di Perairan Pulau Bungkutoko Kecamatan Abeli. *Jurnal Manajemen Sumber Daya Perairan*, 4(1). <http://ojs.uho.ac.id/index.php/JMSP/article/view/5585>

ISSN 2621-0878

