

PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI



Disusun Oleh:

Bungaran Saing, S.Si., Apt., MM

TEKNIK KIMIA

UNIVERSITAS BHAYANGKARA JAKARTA RAYA

TAHUN 2022

TATA TERTIB PRAKTIKUM

Setiap praktikan yang melakukan praktikum di Laboratorium yang ada di program studi Teknik Kimia FT-UBJ 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-UBJ dan harap maklum adanya.

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 dibau.
- 3) Larutan kimia yang tertuang di meja praktikum atau di lantai harus segera dibersihkan. Jika asam pekat maka harus dinetralkan dengan NaCO_3 . Jika basa kuat dinetralkan dengan NH_4Cl . 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:



Beracun



Mudah meledak



Mudah terbakar



Iritasi



Korosif



Radioaktif

1) Beracun/ toksik

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

2) Mudah terbakar

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

3) Korosif

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

4) Mudah meledak

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

5) Iritasi

Bahan-bahan yang dapat menimbulkan hilangnya pigmen atau melepuh bila bersentuhan. Contohnya kloroform.

6) 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 Na_2CO_3 1%. Cuci lagi dengan air, lalu keringkan. Olesi dengan salep levertran dan balut dengan kain perban.

2) 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.

3) Luka bakar karena panas

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

4) Mata terkena percikan bahan kimia

Basuh dengan air sebanyak-banyaknya.

5) Keracunan zat melalui hidung

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

6) 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.

MATERI I
PENGENALAN ALAT

A. TUJUAN PERCOBAAN

Mahasiswa mengenal dan mengetahui fungsi dari tiap-tiap alat

B. 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. <i>Hot plate & stirrer</i> |
| 2. Mikroskop stereo | 6. <i>Colony counter</i> |
| 3. Autoklaf elektrik | 7. <i>Biological Safety Cabinet (BSC)</i> |
| 4. <i>Incubator</i> | 8. Mikropipet |

Alat-alat gelas dan keramik

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

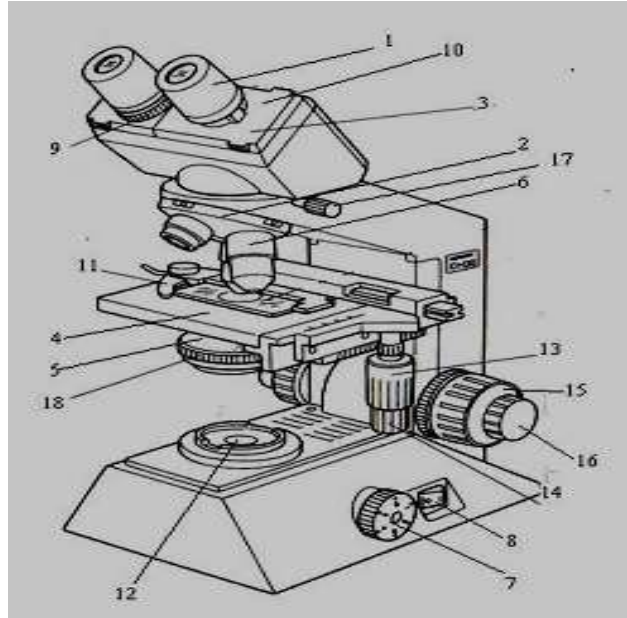
Salah satu alat untuk melihat sel mikroorganisme adalah mikroskop cahaya. Dengan mikroskop kita dapat mengamati sel bakteri yang tidak dapat dilihat dengan

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 menaikkan 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 menunjukkan jarak antara spesimen dengan lensa objektif jika fokus telah didapatkan

Perbesaran objektif	4x	10x	40x	60x
Jarak A (mm)	29	6,3	0,53	0,29

Catatan: Setelah mendapatkan fokus pada perbesaran tertentu, 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

- 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
- Jika perlu *dioptr adjustment knob* (9) dapat diatur untuk memperoleh bayangan focus yang seimbang antara mata kanan dan kiri
- Pengaturan *condenser* (5) akan memperjelas bayangan yang tampak dengan mensetting pada posisi tertinggi (cahaya penuh)

Perbesaran total

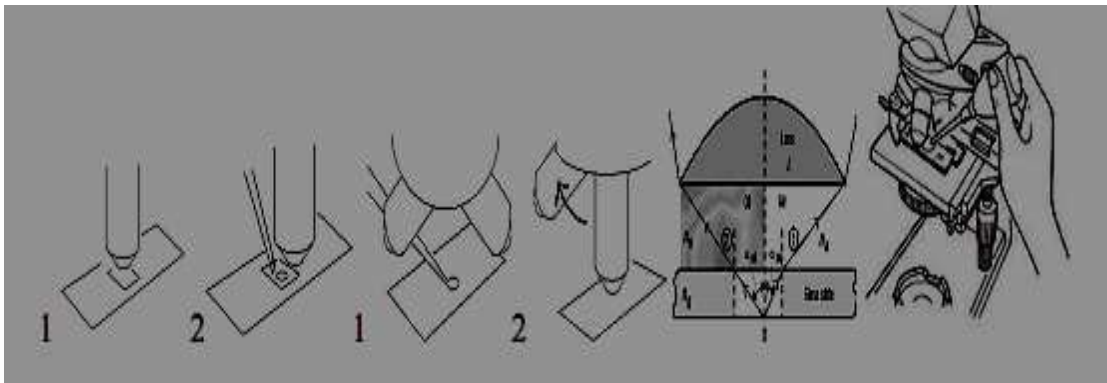
Ukuran specimen yang diamati dapat diperoleh dengan mengalikan perbesaran lensa okuler dengan lensa objektif. Misal = Okuler (10x) x Objektif (40x) = 400x

Penggunaan minyak imersi

Semakin kecil nilai daya pisah, akan semakin kuat kemampuan lensa untuk memisahkan dua titik yang 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

2. Mikroskop stereo (Zoom Stereo Microscope)

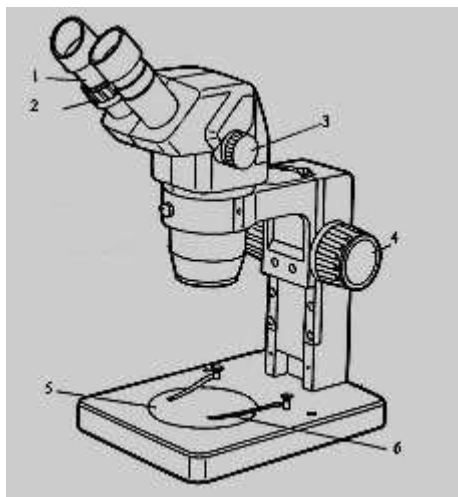
Mikroskop ini berfungsi untuk melihat objek yang membutuhkan perbesaran tidak terlalu besar. Di Laboratorium Mikrobiologi, mikroskop stereo biasanya digunakan untuk mengamati secara detail bentuk koloni dan jamur. Berikut merupakan uraian tentang mikroskop stereo yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi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

Okuler	Objektif	total
10 x	0,67 x	6,7 x
	0,9 x	9 x
	1 x	10 x
	2 x	20 x
	4 x	40 x



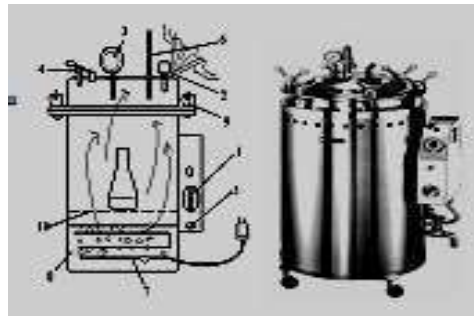
Gambar 3. Mikroskop Stereo

3. 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 121° 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 121°C

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
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 121°C.

5. Tunggu sampai 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.

4. 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 10-70°C..



Gambar 5. Inkubator

5. *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 425°C.



Gambar 5. *Hot Plate Stirrer dan Stirrer Bar*

6. Colony counter

Alat ini berguna untuk mempermudah perhitungan koloni yang tumbuh setelah diinkubasi di dalam cawan karena 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*

7. 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 aplikasinya sinar UV beberapa jam sebelum digunakan. Prosedur penggunaan BSC seri 36212, Purifier™ Biological Safety Cabinet dari LABCONCO yang dimiliki laboratorium mikrobiologi adalah sebagai berikut:

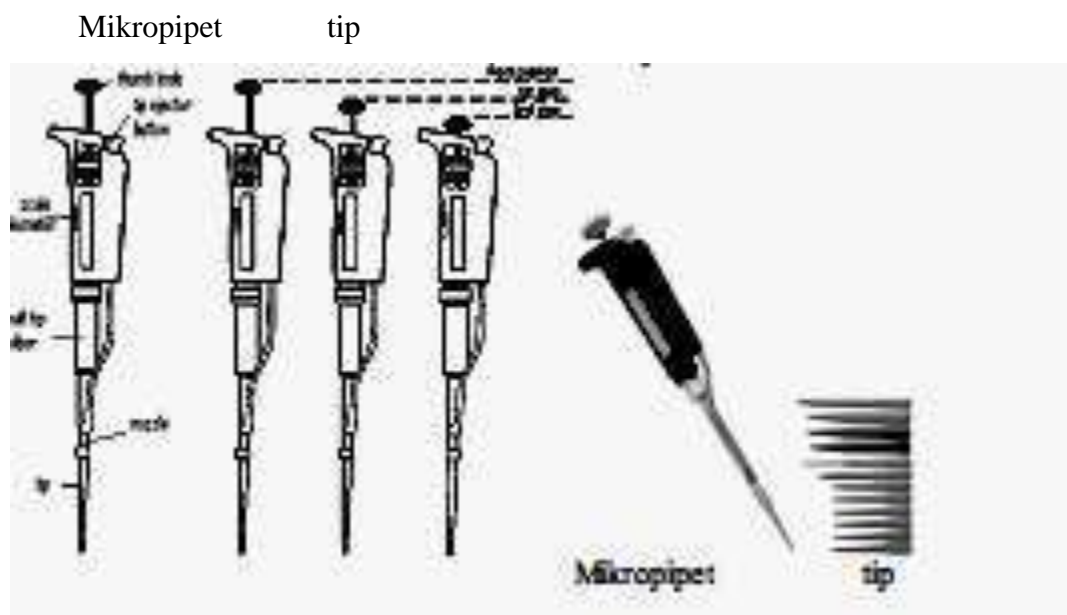
1. Hidupkan lampu UV selama 2 jam, selanjutnya matikan segera sebelum mulai bekerja
2. Pastikan kaca penutup terkunci dan pada posisi terendah
3. Nyalakan lampu neon dan blower
4. Biarkan selama 5 menit
5. Cuci tangan dan lengan dengan sabun gemisidal / alkohol 70 %
6. Usap permukaan interior BSC dengan 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 dimasukkan ke bsc sedemikian rupa sehingga efektif dalam bekerja dan tercipta areal yang benar-benar steril
9. Jangan menggunakan pembakar bUBJen 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

8. Mikropipet (*Micropipete*) 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 1 μl 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.



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 Pipette*)

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 penggunaannya adalah cairan disedot dengan pipet ukur dengan bantuan *filler* sampai dengan volume yang diinginkan. Volume yang dipindahkan dikeluarkan mengikuti skala yang tersedia (dilihat bahwa skala harus tepat sejajar dengan meniskus 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 alasan 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

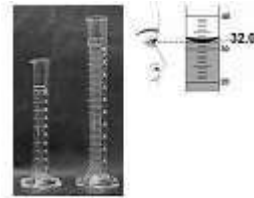
komposisi media, menampung akuades, kultivasi mikroba dalam kultur cair, dll. Terdapat beberapa pilihan berdasarkan volume cairan yang dapat ditampungnya yaitu 25 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml, 300 ml, 500 ml, 1000 ml, dsb.



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 (*paste*) 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 BUBJen (BUBJen Burner)

Salah satu alat yang berfungsi untuk menciptakan kondisi yang steril adalah pembakar bUBJen. 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 bUBJen dapat menggunakan bahan bakar gas atau metanol.



Gambar 18. Pembakar BUBJen

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

2. Pinset

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



Gambar 20. Pinset

3. pH Indikator Universal

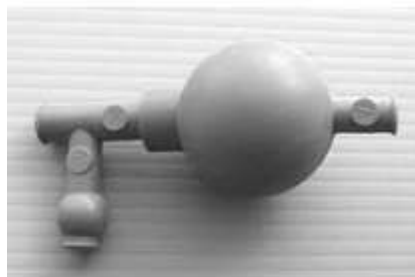
Alat ini berguna untuk mengukur/mengetahui pH suatu larutan. Hal ini sangat penting dalam pembuatan media karena pH pada media berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba. Kertas pH indikator dicelupkan sampai tidak ada perubahan warna kemudian strip warna dicocokkan dengan skala warna acuan.



Gambar 21. pH Indikator Universal

4. 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

A. 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 molekul-molekul 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 pematat media. Agar sulitdidegradasi oleh mikroorganisme pada umumnya dan mencair pada suhu 45°C.
- Gelatin juga memiliki fungsi yang sama seperti agar. Gelatin adalah polimer asam amino yang diproduksi dari kolagen. Kekurangannya adalah lebih banyak jenis mikroba yang mampu menguraikannya dibanding agar.
- *Silica gel*, yaitu bahan yang mengandung natrium silikat. Fungsinya juga sebagai pematat media. Silica gel khusus digunakan untuk memadatkan media bagi mikroorganisme autotrof obligat.

2. Nutrisi atau zat makanan

Media harus mengandung UBJur-UBJur yang diperlukan untuk metabolisme sel yaitu berupa UBJur makro seperti C, H, O, N, P; UBJur mikro seperti Fe, Mg dan UBJur pelikan/*trace element*.

- Sumber karbon dan energi yang dapat diperoleh berupa senyawa organik atau anorganik sesuai dengan sifat mikroba. 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 pematid (*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 pematid 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 alkohol. *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 digunakan 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 pencampuran 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 antibiotik dan menghambat kontaminan yang peka, *Ampiciline*. *Salt broth* yang ditambah NaCl 4% untuk membunuh *Streptococcus agalactiae* yang toleran terhadap garam.

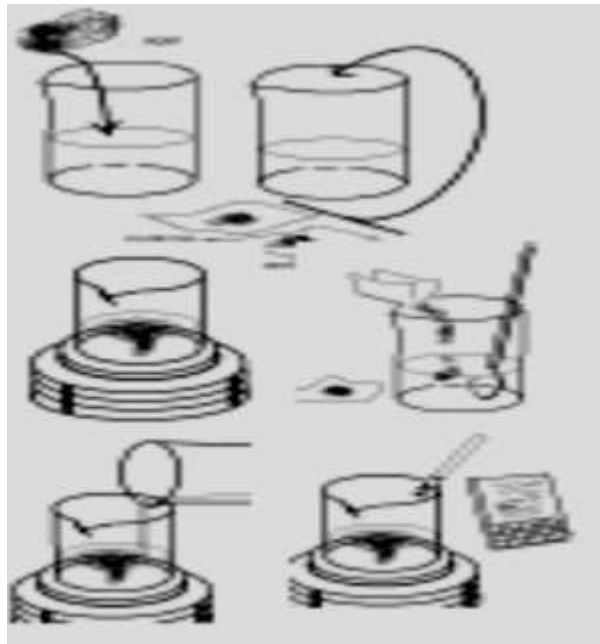
- Media diperkaya (*enrichment*) Media diperkaya adalah media yang mengandung komponen dasar untuk pertumbuhan mikroba dan ditambah komponen kompleks seperti darah, serum, kuning telur. Media diperkaya juga bersifat selektif untuk mikroba tertentu. Bakteri yang ditumbuhkan dalam media ini tidak hanya 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 untuk mendiagnosis atau menganalisis metabolisme 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

2. Pembuatan *Nutrient Broth*

Komposisi untuk media NB sama dengan NA tetapi tidak memakai agar sebagai pematat. 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 reaksi kemudian siap untuk disterilisasi.

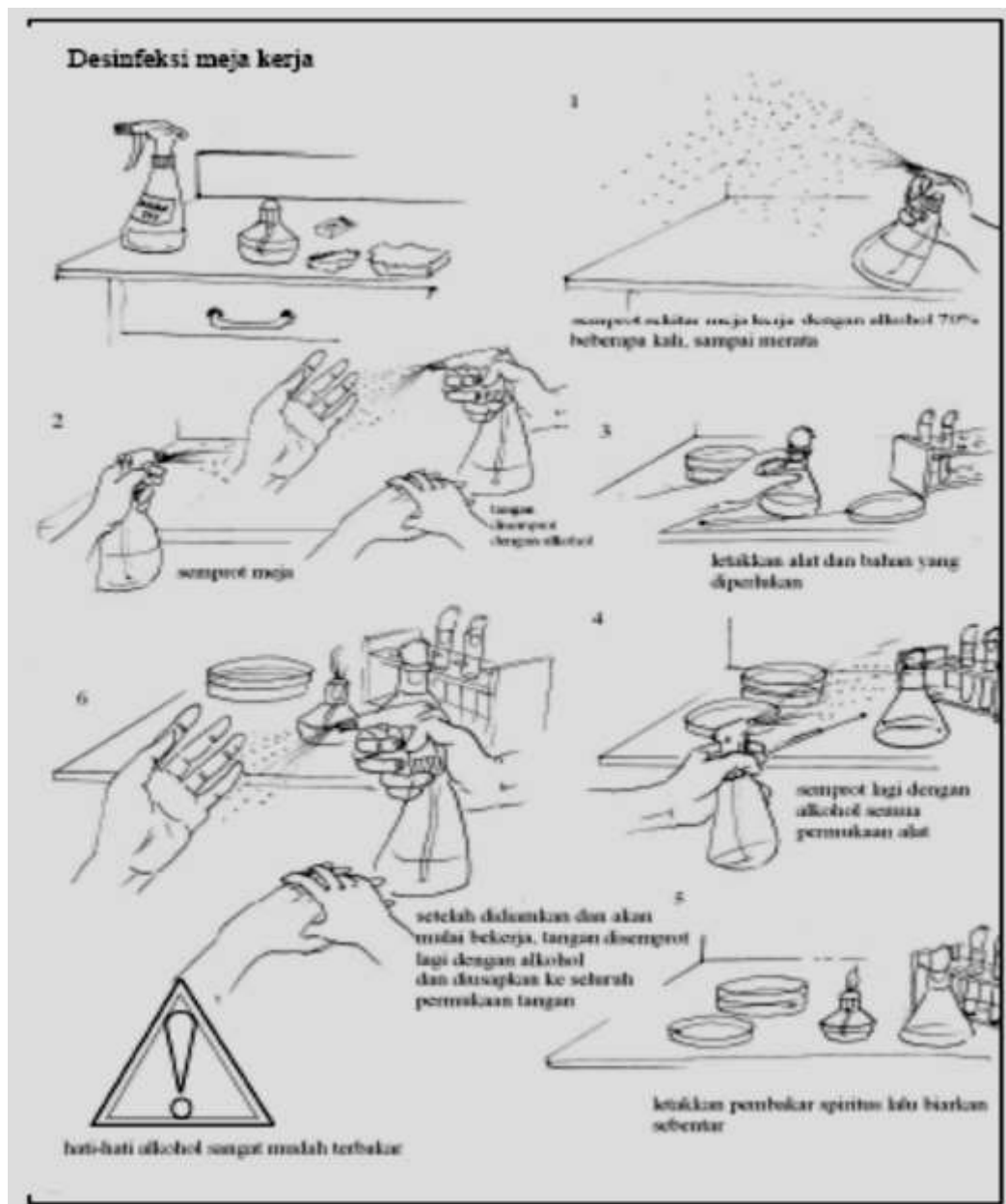


Gambar 2. Proses Pembuatan Potato Dextrose Agar

B. STERILISASI

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

1. Sterilisasi 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, misalnya larutan enzim dan antibiotik.



Gambar 3. Sterilisasi Menggunakan Senyawa Desinfektan

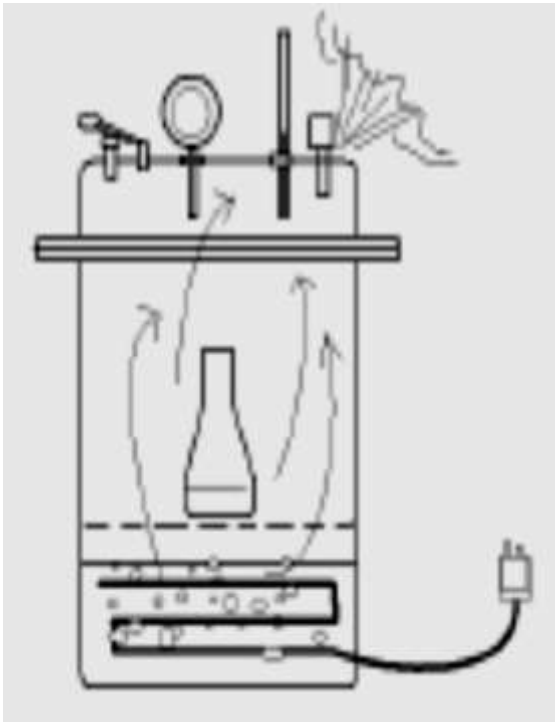
2. Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan & penyinaran.
 - a. Pemanasan
 - Pemijaran (dengan api langsung): membakar alat pada api secara langsung, contoh alat : jarum inokulum, pinset, batang L, dll.
 - Panas kering: sterilisasi dengan oven kira-kira 60-180°C. Sterilisasi panas kering 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 menggunakan metode ini supaya tidak terjadi dehidrasi.
 - Uap air panas bertekanan : menggunakan 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 121°C. 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 memsterilkan media digunakan suhu 121°C dan tekanan 15 lb/in² (SI = 103,4 Kpa) selama 15 menit. Alasan digunakan suhu 121°C atau 249,8°F 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 100°C, sedangkan untuk autoklaf yang diletakkan di ketinggian sama, menggunakan tekanan 15 psi maka air akan mendidih pada suhu 121°C.

Ingat kejadian ini hanya berlaku untuk sea level, jika di laboratorium 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 121°C untuk mendidihkan air.



Semua bentuk kehidupan akan mati jika dididihkan pada suhu 121°C 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 stearothermophilus*, lazimnya mikroba ini tersedia secara komersial dalam bentuk *spore strip*. Kertas *spore strip* ini dimasukkan dalam autoklaf dan disterilkan. Setelah proses sterilisasi 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
- Pelarut 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 $\frac{3}{4}$ dari total volumenya, sisa ruang dibiarkan 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*

a. 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

b. Media Cair

Berat Pepton	:	gram
Berat <i>yeast extract</i>	:	gram
Berat glukosa (teknis)	:	gram
Volume akuades	:	ml
Vol. media tabung reaksi	:	ml

2. Pembuatan media *Aspergillus niger*

a. Media padat

Berat PDA	:	gram
Berat agar	:	gram
Volume akuades	:	ml
Vol. media dalam tabung reaksi	:	ml
Vol. media dalam cawan petri	:	ml

b. Media Cair

Berat PDA	:	gram
Volume akuades	:	ml
Vol. media dalam tabung reaksi	:	ml

3. Pembuatan media *Acetobacter xylinum*

a. Media padat

Berat $MgSO_4$:	gram
Berat KH_2PO_4	:	gram
Berat <i>yeast extract</i>	:	gram
Berat sukrosa	:	gram
Berat agar	:	gram
Volume air kelapa	:	ml
Vol. media dalam tabung reaksi	:	ml
Vol. media dalam cawan petri	:	ml

b. Media Cair

Berat MgSO_4 : gram

Berat KH_2PO_4 : 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

A. TUJUAN PERCOBAAN

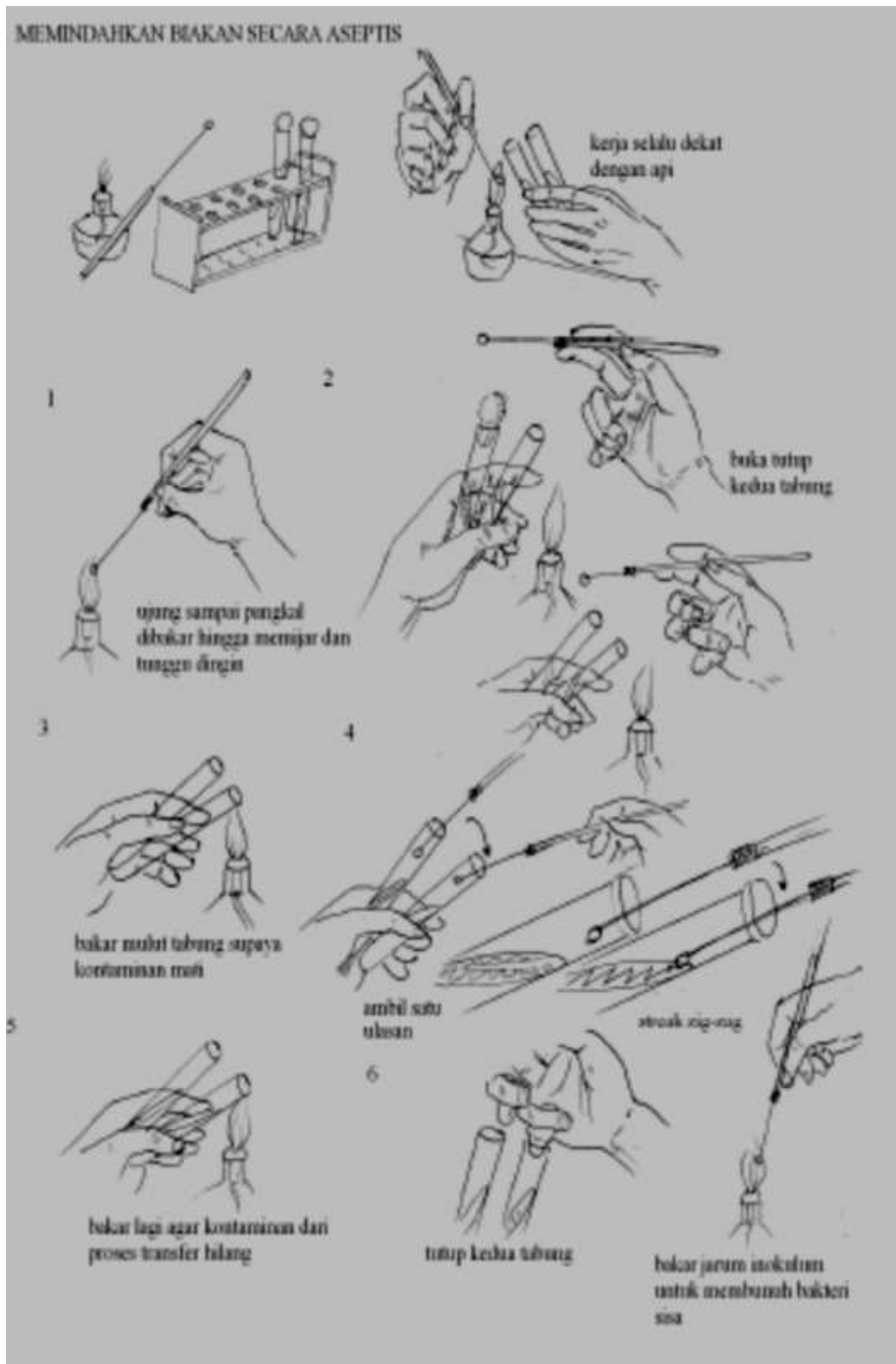
- Mahasiswa dapat melakukan kerja aseptis dalam pembiakan mikroorganisme
- Mahasiswa dapat mengetahui jumlah koloni mikroorganisme

B. PEMBIAKAN

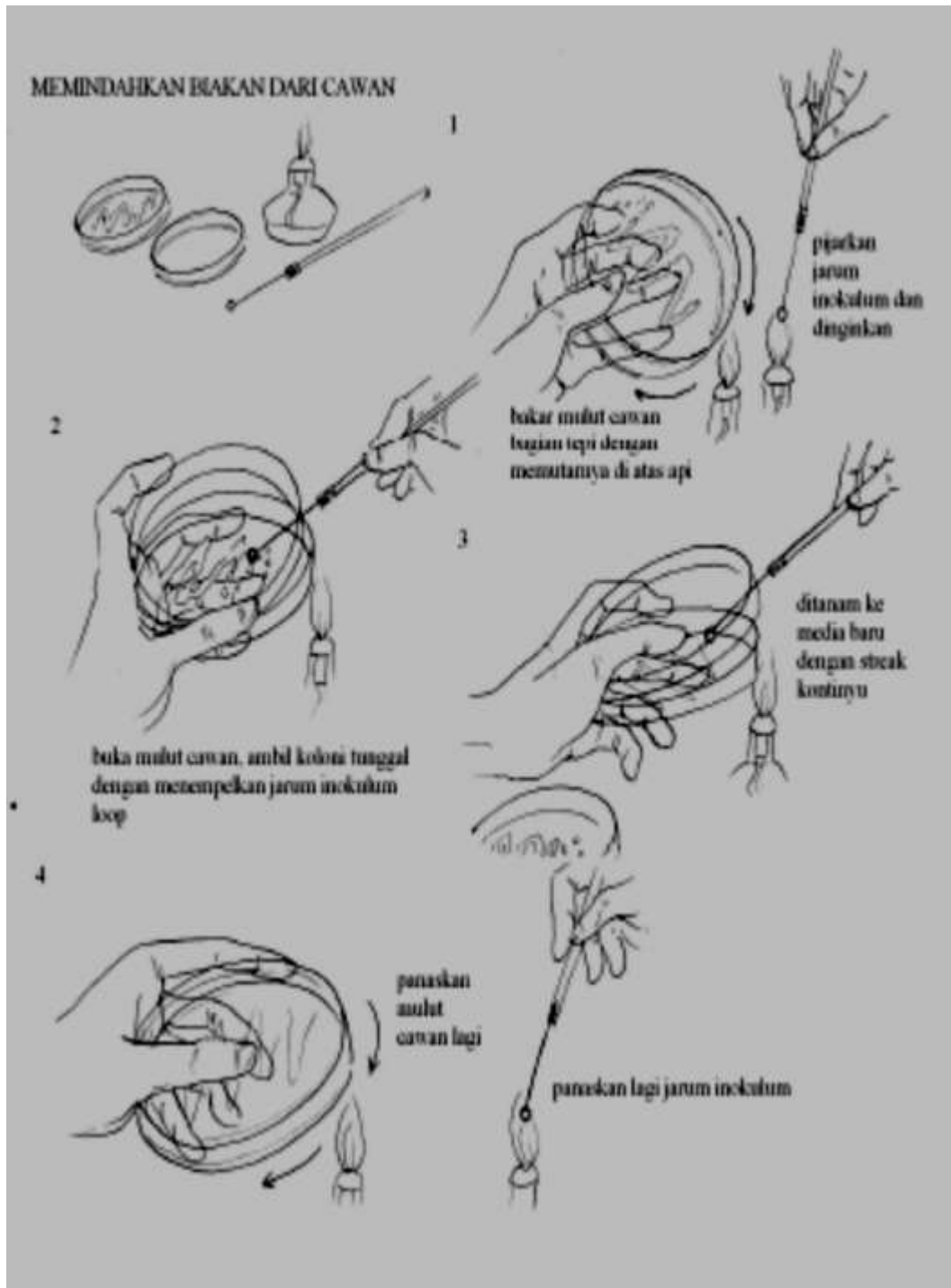
Mikroorganisme terdapat dimana-mana, baik didalam tanah, air, udara maupun pada makhluk hidup termasuk pada jaringan pada tubuh kita sendiri (kulit dan selaput lendir). Mikroorganisme mampu tumbuh dengan baik apabila tersedia media atau makanan sebagai substratnya. Untuk mempelajari morfologi mikroba 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.

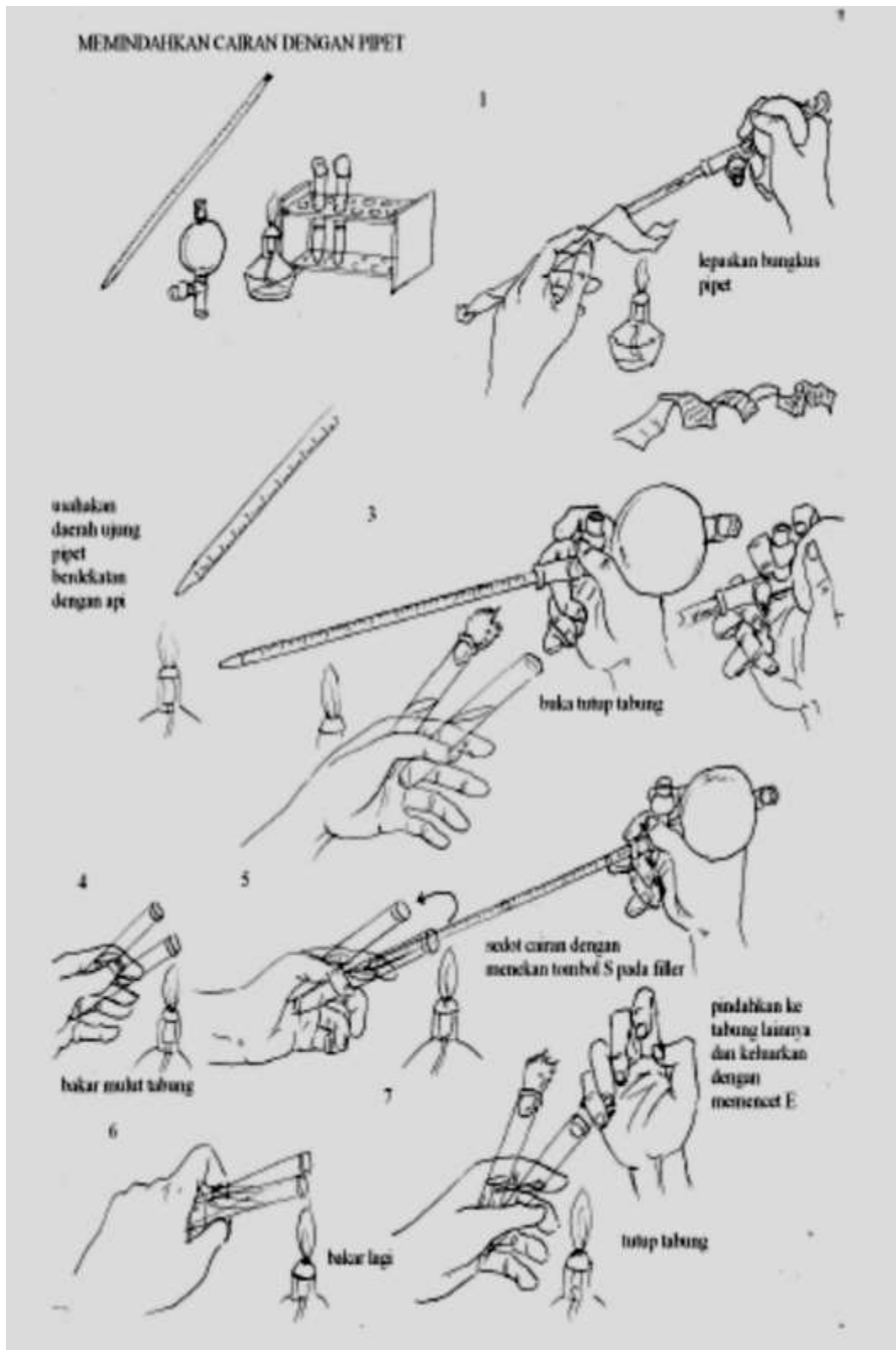
Langkah-langkah pembiakan sebagaimana diilustrasikan didalam gambar berikut ini:



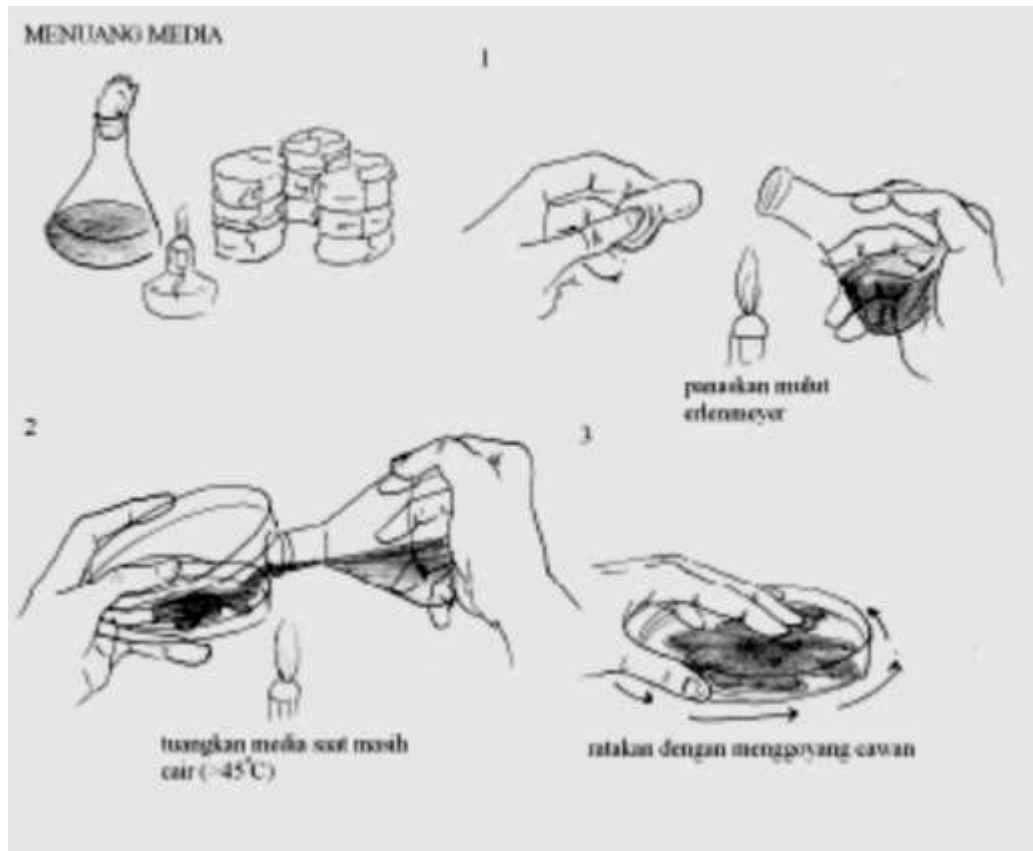
Gambar 1. Proses Memindahkan Biakan Secara Aseptik



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 kontaminasi 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 bUBJen 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 (plate count).

Hitung mikroskopik merupakan metode yang cepat dan murah, tetapi mempunyai beberapa kelemahan antara lain: sel-sel yang mati tidak dapat dibedakan dari sel hidup, sel-sel yang berukuran sangat 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 yaitu metode tuang (pour plate) dan metode permukaan (surface/spread plate). Perhitungan jumlah mikroba dianggap valid jika dalam 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 MIKROBIOLOGI

Percobaan : PEMBIAKAN DAN MENGHITUNG JUMLAH
KOLONI

Kelompok :

Nama Praktikan/NIM : 1.
2.

Hari/tgl :

Asisten :

DATA PERCOBAAN :

1. Haemac

ytometer

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

2. 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

PEMERIKSAAN MIKROBA PADA MAKANAN

IV.1 TUJUAN

Mengetahui banyaknya koloni mikroba pada minuman.....

IV.2. LANDASAN TEORI

Bahan makanan, selain merupakan sumber gizi bagi manusia, juga merupakan sumber makanan bagi mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan dapat menyebabkan perubahan yang menguntungkan seperti perbaikan bahan pangan secara gizi, daya cerna ataupun daya simpannya. Selain itu pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan juga dapat mengakibatkan perubahan fisik atau kimia yang tidak diinginkan, sehingga bahan pangan tersebut tidak layak dikonsumsi. Kejadian ini biasanya terjadi pada pembusukan bahan pangan.

Bahan pangan dapat bertindak sebagai perantara atau substrat untuk pertumbuhan mikroorganisme patogenik dan organisme lain penyebab penyakit. Penyakit menular yang cukup berbahaya seperti tifus, kolera, disentri, atau tbc, mudah tersebar melalui bahan makanan. Gangguan-gangguan kesehatan, khususnya gangguan perut akibat makanan disebabkan, antara lain oleh kebanyakan makan, alergi, kekurangan zat gizi, keracunan langsung oleh bahan-bahan kimia, tanaman atau hewan beracun; toksintoksin yang dihasilkan bakteri; mengonsumsi pangan yang mengandung parasit-parasit hewan dan mikroorganisme. Gangguan-gangguan ini sering dikelompokkan menjadi satu karena memiliki gejala yang hampir sama atau sering tertukar dalam penentuan penyebabnya.

Secara umum, istilah *keracunan makanan* yang sering digunakan untuk menyebut gangguan yang disebabkan oleh mikroorganisme, mencakup gangguan-gangguan yang diakibatkan termakannya toksin yang dihasilkan organisme-organisme tertentu dan gangguan-gangguan akibat terinfeksi organisme penghasil toksin. Toksin-toksin dapat ditemukan secara alami pada beberapa tumbuhan dan hewan atau suatu produk metabolit toksik yang dihasilkan suatu metabolisme.

Dengan demikian, *intoksikasi pangan* adalah gangguan akibat mengonsumsi toksin dari bakteri yang telah terbentuk dalam makanan, sedangkan *infeksi pangan*

Praktikum Bioproses
disebabkan masuknya bakteri ke dalam tubuh melalui makanan yang telah terkontaminasi dan sebagai akibat reaksi tubuh terhadap bakteri atau hasil-hasil metabolismenya.

IV.3. ALAT DAN BAHAN

IV.3.1. Peralatan :

- IV.3.1.1. Tabung reaksi
- IV.3.1.2. Rak tabung reaksi
- IV.3.1.3. Lampu Bunsen
- IV.3.1.4. Pipet ukur steril
- IV.3.1.5. Pipet filler
- IV.3.1.6. Cawan petri steril
- IV.3.1.7. Lampu spirtus (Bunsen)
- IV.3.1.8. Inkubator
- IV.3.1.9. Colony counter
- IV.3.1.10. Sarung tangan steril
- IV.3.1.11. Spidol

IV.3.2. Bahan :

- IV.3.2.1. Larutan pengencer
- IV.3.2.2. Media PCA (Plate Count Agar)
- IV.3.2.3. Alkohol
- IV.3.2.4. Kapas
- IV.3.2.5. Karet
- IV.3.2.6. Label
- IV. 3.2.7. Aluminium foil
- IV.3.2.8. Korek api
- IV.3.2.9. Sampel (makanan dan minuman)

IV.3.3. Cara Kerja :

Memeriksa sampel

- IV.3.3.1. Mengaseptiskan tangan, meja dan alat kerja.
- IV.3.3.2. Pada sampel cair (tidak terkontaminasi) maka langsung menanam, tetapi pada sampel padat dan cair yang terkontaminasi maka harus dibuat pengenceran

terlebih dahulu. Mengambil sampel 1 gr/ml memasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengencer 9 ml → nilai pengenceran 10^{-1} , memasukkan ke dalam larutan pengencer berikutnya sehingga nilai pengenceran 10^{-2} .

I.3.3.3. Mengambil suspensi sebanyak 1 ml dan 0,1 ml dari sampel atau sampel yang telah diencerkan, masing-masing dimasukkan ke dalam cawan petri steril.

I.3.3.4. Menuangkan media PCA sebanyak ± 15 ml atau $\frac{1}{3}$ tinggi cawan.

I.3.3.5. Menghomogenkan membentuk angka 0 atau 8, menunggu sampai padat / membeku, lalu membungkus dengan kertas pembungkus.

I.3.3.6. Menginkubasi piaraan mikroba dengan suhu 37°C selama 2 x 24 jam.

I.3.3.7. Mengamati koloni mikroba dan menghitung dengan rumus sbb:

I.4. HASIL DAN PEMBAHASAN

- Jumlah koloni sampel 1 ml:
- Jumlah koloni sampel 0,1 ml:
- Perhitungan:

I.5. KESIMPULAN

MATERI V

PENDETEKSIAN COLIFORM

II.1. TUJUAN

Mengetahui adanya Coliform pada sampel susu bubuk.

II.2. LANDASAN TEORI

Bakteri Coliform merupakan golongan bakteri gram negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora dan mampu menfermentasikan kaldu laktosa pada temperature 37°C dalam waktu 48 jam menghasilkan asam dan gas (Pelczar et al., 1997). Menurut Srikandi F. adanya polusi dan kondisi sanitasi yang tidak baik pada air, makanan, susu dan produk susu.

Kehadiran bakteri coliform di dalam makanan atau minuman menunjukkan kemungkinan adanya mikroorganismenya yang bersifat enteropatogenik dan atau toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan. Bakteri pathogen berbahaya bagi kesehatan adalah *Salmonella*, *Shigella*, dll. Jika dalam 100 ml air minum terdapat 500 bakteri coliform, memungkinkan terjadinya penyakit gastroenteritis yang segera diikuti oleh demam tifus (Suriawiria, 1993).

II.3. PROSEDUR KERJA

II.3.1. Alat:

II.3.1.1. Pipet ukur

II.3.1.2. Timbangan (jika diperlukan)

II.3.1.3. Erlenmeyer 100 ml

II.3.1.4. Jarum ose

II.3.1.5. Pembakar Bunsen

II.3.1.6. Tabung durham

II.3.1.7. Tabung reaksi

II.3.1.8. Inkubator

II.3.2. Bahan:

II.3.2.1. Sampel

II.3.2.2. Media Laktosa DS dan SS

II.3.2.3. Media BGLB

II.3.2.4. Larutan pengencer

II.3.2.5. Alkohol

II.3.2.6. Label

II.3.2.7. Alat tulis

II.3.3. **Cara kerja:**

Tahap uji duga

II.3.3.1. Membersihkan tangan dan meja kerja menggunakan alkohol.

II.3.3.2. Menyalakan Bunsen.

II.3.3.3. Mengambil sampel, jika sampel padat maka melakukan pembuatan pengenceran 10^{-1} , jika sampel cair memasukkan / menanamnya ke dalam medium LB.

II.3.3.4. Menyiapkan seri tabung yang akan digunakan misal seri 3 (kombinasi tabungnya 3, 3, 3).

II.3.3.5. Memasukkan sampel secara berurutan sebanyak 10 ml ke dalam masing-masing tabung kelompok I.

II.3.3.6. Memasukkan sampel secara berurutan sebanyak 1 ml ke dalam masing-masing tabung kelompok II.

II.3.3.7. Memasukkan sampel secara berurutan sebanyak 0,1 ml ke dalam masing-masing tabung kelompok III.

II.3.3.8. Menghomogenkan dengan cara digoyang / dikocok sampai merata.

II.3.3.9. Menyimpannya di dalam incubator selama 2 x 24 jam, pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$.

II.3.3.10. Mengamati setiap 1 x 24 jam, dengan melihat adanya gas di dalam tabung Durham sebagai piaraan yang (+), baik yang + 1 atau 2 kali 24 jam semuanya diteruskan ke dalam uji penegasan.

Tahap penegasan

II.3.3.11. Mengambil 1 ml dari suspensi LB pada uji duga, selanjutnya menginokulasikan ke dalam medium BGLB.

II.4. HASIL PENGAMATAN

- Hasil uji duga:
- Hasil uji penegasan:
- Faktor pengenceran: 10^{-1}
- MPN tabel:
- MPN Sebenarnya:

II.5. KESIMPULAN

Pada sampel susu bubuk yang telah dilakukan uji praktikum ditemukan coliform sebanyak

MATERI VI UJI SANITASI ALAT

III.1. TUJUAN

Mengetahui tingkat kebersihan alat-alat kebidanan

III.2. LANDASAN TEORI

Sterilisasi dalam mikrobiologi bertujuan untuk mematikan semua mikroorganisme hingga spora dan sel vegetatifnya yang terdapat dalam suatu bahan atau benda. Sterilisasi dapat dilakukan dengan cara penggunaan panas. Penggunaan bahan kimia, penyaringan, dan penggunaan api langsung. Sterilisasi secara panas terbagi lagi menjadi sterilisasi panas lembab (sterilisasi basah) yaitu bila panas yang digunakan bersamaan dengan uap air dan sterilisasi panas kering, yaitu jika sterilisasi dilakukan dengan udara panas dengan suhu 170 C. Selama 2 jam menggunakan oven. Sterilisasi dengan api langsung dilakukan pada ose atau jarum inokulasi sampai seluruh bagian kawat terpijarkan. Metode sterilisasi yang umum dilakukan di laboratorium biologi ialah menggunakan panas. Sterilisasi basah biasanya dilakukan di autoclave dengan menggunakan uap air jenuh pada suhu 121 C tekanan 15 psi selama 15 menit. Ada 4 hal utama yang harus di perhatikan dalam melakukan sterilisasi basah, antara lain :

1. Sterilisasi bergantung pada uap, karena itu udara harus dikosongkan betul dari ruang sterilisator.
2. Semua bagian bahan yang disterilkan harus kena uap, karena alat itu alat yang kosong harus diletakan pada posisi tidur agar udara tak terperangkap.
3. Bahan yang berpori atau bentuk cair harus permeable terhadap uap.
4. Suhu yang terukur termometer mencapai 121 C dan dipertahankan selama 15 menit.

III.3. ALAT DAN BAHAN

- III.3.1. Media transport
- III.3.2. Kapas lidi steril
- III.3.3. Sarung tangan steril
- III.3.4. Spidol huruf kecil
- III.3.5. Formulir pengambilan untuk pemeriksaan laboratorium
- III.3.6. Gunting
- III.3.7. Kertas cellotape
- III.3.8. Lampu spirtus

III.4. Teknik Pengambilan :

- III.4.1. Memastikan alat dan bahan dalam keadaan steril.
- III.4.2. Membersihkan meja kerja, menyalakan lampu spirtus.
- III.4.3. Mempersiapkan sarung tangan yang steril atau membersihkan tangan untuk mulai mengambil sampel.
- III.4.4. Mempersiapkan lidi kapas steril, kemudian membuka tutup botol dan memasukkan lidi kapas steril ke dalamnya.
- III.4.5. Menekan lidi kapas dalam botol ke dinding botol untuk membuang airnya, baru mengusapkan pada alat yang dijadikan sampel. Permukaan bagian luar dan dalam seluruh alat yang langsung berhubungan dengan pasien / jaringan.
- III.4.6. Mengusap setiap bidang permukaan yang diusap dilakukan 3 kali berturut-turut.
- III.4.7. Setelah mengusap, segera memasukkan ke dalam tabung berisi media transport, mematahkan tangkai lidi kapas yang terpegang, aseptis mulut tabung kemudian ditutup kembali.
- III.4.8. Memberi label dengan kode, missal A.1.a, mencatat di buku catatan.
- III.4.9. Segera mengirim ke laboratorium dengan tas pembawa yang dingin dan menyertakan formulir pengiriman.

III.5. Pemeriksaan ALT (Angka Lempeng Total)

- III.5.1. Mengambil suspensi (hasil pengusapan pada saat pengambilan sampel) sebanyak 1 ml dan 0,1 ml, memasukkan dalam cawan yang steril.
- III.5.2. Menuangkan medium PCA sampai $\frac{1}{3}$ tinggi cawan.
- III.5.3. Menginkubasikan pada suhu $\pm 35^{\circ}\text{C}$ selama 2 x 24 jam.
- III.5.4. Melakukan pengamatan.

III.6. HASIL PENGAMATAN

- Jumlah koloni pada sampel 1 ml = koloni
- Jumlah koloni pada sampel 0,1 ml = koloni

Menghitung jumlah koloni pada gunting dengan menggunakan rumus:

$$\text{Jumlah koloni per cm}^2 \text{ adalah : Jumlah koloni} \times 5 \times P/Q$$

Keterangan:

Jumlah koloni:

P : Luas yang diusap (cm^2)

Q : Luas keseluruhan (cm^2)

PERHITUNGAN

MATERI VII

UJI SANITASI UDARA

IV.1. TUJUAN

Mengetahui tingkat sanitasi pada udara ruangan tertentu (Laboratorium)

IV.2. LANDASAN TEORI

Udara tidak mengandung mikroorganisme secara alami, tetapi kontaminasi dari lingkungan sekitarnya mengakibatkan udara mengandung berbagai mikroorganisme, misalnya dari debu, air, proses aerasi, dari penderita saluran infeksi dan lain-lain. Mikroorganisme yang terdapat diudara biasanya melekat pada bahan padat mikro misalnya debu atau terdapat didalam droplet / tetesan air. Jika didalam suatu ruangan banyak terdapat debu dan cair, maka mikroba yang ditemukan didalamnya juga bermacam- macam termasuk bakteri, kapang ataupun khamir .

Mikroorganisme udara didalam ruang pengolahan, dapat diuji secara kuantitatif menggunakan agar cawan yang dibiarkan terbuka selama beberapa waktu tertentu didalam ruangan tersebut atau dikenal dengan Metoda Cawan Terbuka. Jenis mikroorganisme yang sering terdapat diudara pada umumnya bakteri batang pembentuk spora baik yang bersipat aerobik maupun anaerobik, bakteri koki, bakteri gram negatif, kapang dan khamir.

Walaupun udara bukan medium yang baik untuk mikroba tetapi mikroba selalu terdapat di udara. Adanya mikroba disebabkan karena pengotoran udara oleh manusia, hewan, zat-zat organik dan debu. Jenis-jenis mikroba yang terdapat di udara terutama jenis *Bacillus subtilis* dapat membentuk spora yang tahan dalam keadaan kering (Pelczar, 1986).

IV.3. PROSEDUR KERJA

IV.3.1. Bahan:

- IV.3.1.1. Media PCA steril dalam cawan petri
- IV.3.1.2. Alkohol 70%
- IV.3.1.3. Kapas
- IV.3.1.4. Label

IV.3.2. Alat:

- IV.3.2.1. Pembakar Bunsen
- IV.3.2.2. Inkubator
- IV.3.2.3. Koloni counter

IV.3.3. Cara Kerja:

- IV.3.3.1. Membuka media PCA, meletakkan pada suatu ruangan dan dipaparkan selama 30 menit. Setelah cukup waktu, menutup cawan petri dan membungkusnya kembali.
- IV.3.3.2. Menginkubasi piaraan tersebut pada suhu 37°C selama 2-3 x 24 jam.
- IV.3.3.3. Mengamati koloni yang tumbuh pada lempeng PCA.
- IV.3.3.4. Menghitung jasad renik dalam suatu ruangan dengan rumus sebagai berikut:

Luas agar cawan = Menghitung luas medium cawan dengan diameternya.

IV.4. HASIL PENGAMATAN

Jumlah jasad renik tiap cawan =

Diameter medium cawan = cm \rightarrow r (jari-jari) = cm.

Luas agar cawan =

V. KESIMPULAN

Dalam uji sanitasi udara dilakukan dalam ruang laboratorium kimia dan ditemukan
jasad renik di tiap cawan

MATERI VIII

MORFOLOGI FUNGI

V.1.. TUJUAN

Untuk mengetahui bentuk dan bagian-bagian dari fungi rhizofus.

V.2. LANDASAN TEORI

Fungi merupakan organisme eukariot yang memiliki ciri-ciri antara lain mempunyai spora, memproduksi spora, tidak berklorofil, berkembang biak secara seksual dan aseksual, serta tubuh berfilamen dan dinding sel mengandung kitin, glukukan, selulosa, dan manan. Fungi dibedakan menjadi dua golongan yakni kapang dan khamir.

V.3. PROSEDUR KERJA

V.3.1. Alat dan Bahan:

V.3.1.1. Mikroskop

V.3.1.2. Objek glass

V.3.1.3. Desk glass

V.3.1.4. Jarum Ose

V.3.1.5. Bunsen

V.3.1.6. Fungi (Tempe: *Rhizopus*)

V.3.1.7. Na fisiologis

V.3.1.8. Alkohol

V.3.1.9. Spidol

V.3.2. Cara kerja:

V.3.2.1. Mensterilkan jarum ose, objek glass dan desk glass. Membuat tanda lingkaran pada objek glass sebagai fokus menggunakan spidol.

V.3.2.2. Meneteskan 1 ose Na fisiologis 0,9% pada objek glass.

V.3.2.3. Mengambil fungi yang sudah dikembangbiakkan sebanyak 1 ose, dan meratakan pada objek glass.

V.3.2.4. Menutup objek glass dengan desk glass sedemikian rupa sehingga tidak terdapat gelembung udara.

V.3.2.5. Mengamati morfologinya menggunakan mikroskop kemudian menggambarnya.

V.4. HASIL PENGAMATAN

V.5. KESIMPULAN

MATERI IX
MORFOLOGI PROTOZOA

VI.1. TUJUAN

Untuk mengetahui bentuk dan bagian-bagian dari protozoa.

VI.2. LANDASAN TEORI

VI.3. PROSEDUR KERJA

VI.3.1. Alat dan Bahan:

VI.3.1.1. Mikroskop

VI.3.1.2. Objek glass

VI.3.1.3. Desk glass

VI.3.1.4. Jarum Ose

VI.3.1.5. Bunsen

VI.3.1.6. Air comberan

VI.3.1.7. Na fisiologis

VI.3.1.8. Alkohol

VI.3.1.9. Spidol

VI.3.2. Cara kerja:

VI.3.2.1. Mensterilkan jarum ose, objek glass dan desk glass. Membuat tanda lingkaran pada objek glass sebagai fokus menggunakan spidol.

VI.3.2.2. Mengambil 1 ose air comberan (piaraan, meratakannya pada objek glass).

VI.3.2.3. Menutup objek sedemikian rupa dengan desk glass sehingga tidak terdapat gelembung udara.

VI.3.2.4. Mengamati menggunakan mikroskop kemudian menggambarnya.

VI.4. HASIL PENGAMATAN

VI.5. KESIMPULAN

MATERI X

MORFOLOGI BAKTERI

VII.1. TUJUAN

Mengetahui jenis bakteri dengan pewarnaan.

VII.2. LANDASAN TEORI

Bakteri merupakan organisme prokariot. Pada umumnya ukuran bakteri sangat kecil, umumnya bentuk tubuh bakteri baru dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1.000 X atau lebih (Waluyo, 2004). Sel bakteri amat beragam panjangnya, sel beberapa spesies dapat berukuran 100 kali lebih panjang daripada sel spesies yang lain. Sel sel individu bakteri dapat berbentuk seperti bola/elips, batang (silindris), atau spiral (heliks). Masing- masing ciri ini penting dalam mencirikan morfologi suatu spesies (Pelczar & Chan, 2006). Walaupun ada ratusan spesies bakteri yang berbeda, namun suatu bakteri dalam bentuk sel tunggal akan memiliki salah satu dari tiga bentuk yang umum dikenal yaitu bentuk bulat (coccus), bentuk batang (basil), dan bentuk spiral.

Bakteri berbentuk bulat sering menunjukkan variasi bentuk, variasi ini biasanya dipakai sebagai ciri khas dalam proses identifikasi jenis. Beberapa variasi bentuk tersebut antara lain : diplococcus (terdiri dari 2 buah sel saling berdempetan), streptococcus (untaian sel yang lebih dari 4 sel dan membentuk suatu untaian rantai), tetracoccus (4 sel membentuk seperti bujur sangkar), staphylococcus (kumpulan sel yang saling berdempetan menyerupai buah anggur), dan sarcina (Kawuri, dkk, 2007).

VII.3. PROSEDUR KERJA

❖ Pembuatan Film:

VII.3.1. Alat dan Bahan:

VII.3.1.1. Objek glass

VII.3.1.2. Bunsen

VII.3.1.3. Jarum ose

VII.3.1.4. Alkohol

VII.3.1.5. Spidol

VII.3.1.6. Na fisiologis

VII.3.1.7. Pipet

VII.3.1.8. Penjepit

Praktikum Bioproses

VII.3.2. Cara Kerja:

- VII.3.2.1. Membilas objek glass dengan alkohol.
- VII.3.2.2. Memberi tanda lingkaran pada objek glass menggunakan spidol.
- VII.3.2.3. Memberi 1-2 tetes Na fisiologis pada objek glass.
- VII.3.2.4. Mengambil bakteri 1 ose, menaruhnya pada objek glass, goreskan saja.
- VII.3.2.5. Mengeringkan dengan cara melewatkan di atas api Bunsen dengan penjepit hingga kering (fiksasi).
- VII.3.2.6. Pembuatan film selesai.

❖ Pewarnaan sederhana:

VII.3.3. Alat dan Bahan:

- VII.3.3.1. Film yang sudah siap
- VII.3.3.2. Metilin Blue (MB)
- VII.3.3.3. Minyak imersi
- VII.3.3.4. Mikroskop

VII.3.4. Cara kerja:

- VII.3.4.1. Film yang sudah siap
- VII.3.4.2. Menetesi dengan Metilin Blue (MB) sebanyak 1 tetes, mendiamkannya 3 menit.
- VII.3.4.3. Mencuci dengan air mengalir, kemudian mengeringkan dengan angin (dibiarkan di suhu kamar).
- VII.3.4.4. Menetesi dengan minyak imersi.
- VII.3.4.5. Melihat dengan mikroskop dengan pembesaran 1000x.

VII.4. HASIL PENGAMATAN

VII.5. KESIMPULAN