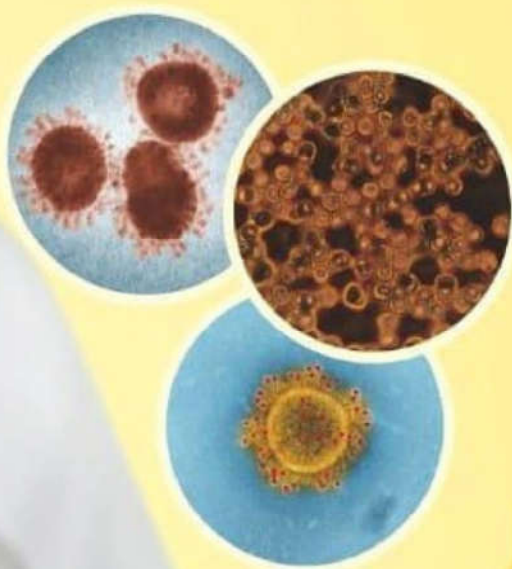
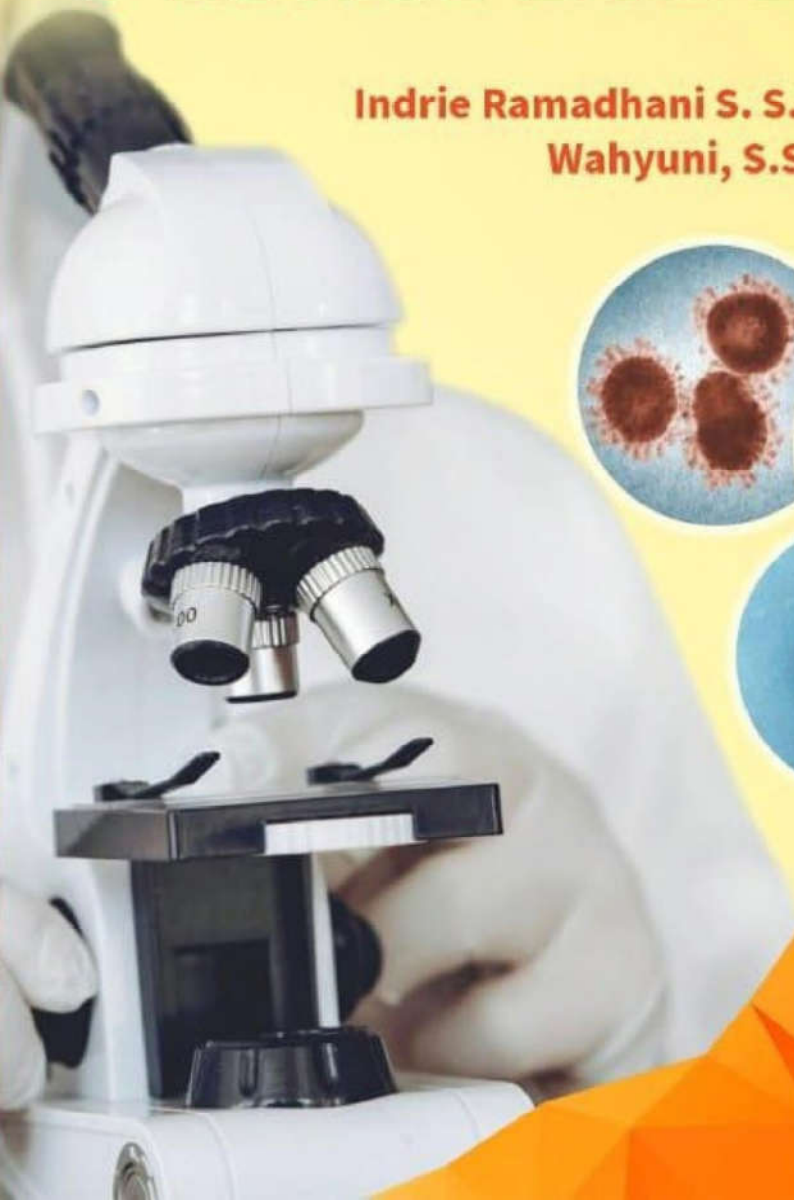


DASAR-DASAR **PRAKTIKUM** **MIKROBIOLOGI**

Indrie Ramadhani S. S.Si M.Biomed
Wahyuni, S.ST, M.Biomed



DASAR-DASAR PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI

**INDRIE RAMADHANI S. S.Si M.Biomed
WAHYUNI, S.ST, M.Biomed**



pena persada
CV. PENA PESRSADA

DASAR DASAR PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI

Penulis :

Indrie Ramadhani S. S.Si M.Biomed
Wahyuni, S.ST, M.Biomed

Editor :

Dr. dr. Netti Suharti, M.Kes

ISBN : 978-623-6688-48-9

Design Cover :

Retnani Nur Brilliant

Layout :

Hasnah Aulia

Penerbit CV. Pena Persada

Redaksi :

Jl. Gerilya No. 292 Purwokerto Selatan, Kab. Banyumas Jawa
Tengah

Email : penerbit.penapersada@gmail.com

Website : penapersada.com

Phone : (0281) 7771388

Anggota IKAPI

All right reserved

Cetakan pertama : 2020

Hak cipta dilindungi oleh undang-undang.
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan cara
apapun tanpa ijin penerbit

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah atas rahmat Allah SWT sehingga penyusunan Buku Praktikum Mikrobiologi dan Parasitologi ini dapat diselesaikan dengan baik. Buku ini dibuat sebagai acuan dalam proses pembelajaran yang membahas materi mengenai pengenalan, penggunaan dan perawatan mikroskop, pengendalian mikroorganisme, pemeriksaan mikroskopis bakteri, pemeriksaan morfologi koloni bakteri dan jamur, pemeriksaan feses dan pemeriksaan darah.

Saran dan kritikan positif sangat kami harapkan demi kesempurnaan buku praktikum ini. Terimakasih yang tidak terhingga kepada semua pihak yang telah membantu dalam pembuatan buku ini dan semoga dapat bermanfaat bagi semua.

Bukit tinggi, Agustus 2020

Penyusun

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
BAB I PENGENALAN ALAT LABORATORIUM MIKROBIOLOGI	
A. Tujuan Praktikum.....	1
B. Prosedur Kerja	1
C. Alat dan Fungsinya	1
D. Perbesaran Total	5
E. Penggunaan Minyak Imersi.....	5
BAB II TEKNIK LABORATORIUM MIKROBIOLOGI	
A. Tujuan.....	7
B. Dasar Teori dan Prosedur Kerja	7
C. Macam macam cara isolasi mikrobial	8
D. Teknik penanaman	11
E. Teknik penanaman dengan goresan	13
BAB III TEKNIK PEWARNAAN BAKTERI	
A. Pendahuluan	26
B. Berbagai macam metode pewarnaan	26
BAB IV PEMERIKSAAN MORFOLOGI BAKTERI DAN JAMUR	
A. Pendahuluan.....	37
BAB V PEMERIKSAAN FESES DAN DARAH	
A. Pemeriksaan darah	44
BAB VI UJI KUALITAS MIKROBIOLOGI PANGAN	
A. Dasar teori	47
B. Alat dan bahan.....	49
C. Prosedur kerja	49
D. Analisis data.....	50
E. Diskusi	51
BAB VII UJI KUALITAS MIKROBIOLOGI AIR	
A. Tujuan	53
B. Landasan teori	53
C. Prosedur kerja	63
D. Uji penetapan (confirmed test)	64

E. Uji kelengkapan (completed test)	64
BAB VIII PEMBIAKAN JAMUR	
A. Tujuan	66
B. Dasar teori	66
C. Prosedur kerja	66
BAB IX IDENTIFIKASI JAMUR	
A. Tujuan praktikum	68
B. Teori dasar	68
C. Alat dan bahan	74
D. Cara kerja	74
DAFTAR PUSTAKA	75

DASAR-DASAR PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI

BAB I

PENGENALAN ALAT

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI

A. Tujuan Praktikum

Mengenal bermacam-macam alat dalam laboratorium Mikrobiologi beserta cara penggunaan yang benar.

B. Prosedur Kerja

Penjelasan mengenai cara kerja dan fungsi alat dalam laboraotirum Mikrobiologi serta Simulasi/demo seluruh alat tersebut.

C. Alat Dan Fungsinya

Beberapa alat yang perlu diketahui fungsinya adalah sebagai berikut :

1. **Kawat ose**, digunakan untuk menanam mikroba dengan cara goresan/streak, sebelum digunakan kawat ose harus dipastikan steril dengan cara dipijar terlebih dahulu hingga kawat memerah agar terhindar dari kontaminasi mikroorganisme.
2. **Microbiological Safety Cabinet (MSC) / Lemari Aseptis**, ruang/lemari steril yang digunakan sebagai ruang ketika akan menanam mikroba. Ruang ini dilengkapi lampu UV untuk meminimalisir kontaminasi bakteri agar dapat bekerja secara aseptis.
3. **Autoklaf**, digunakan untuk sterilisasi alat/bahan/media tertentu dengan menggunakan uap panas bertekanan (moist heat). Alat yang dapat disterilkan dengan autoklaf adalah alat yang terbuat dari kaca. Alat ini menggunakan suhu 121° C dengan tekanan 1 ATM.
4. **Colony counter**, untuk menghitung jumlah koloni mikroba dalam suatu wadah yang berisi media pertumbuhan mikroba tersebut. alat ini dilengkap dengan kaca pembesar guna memudahkan saat perhitungan.

5. **Inkubator dan *Waterbath incubator***, digunakan untuk inkubasi media yang telah ditanami mikroba yang dilengkapi pengatur suhu guna menyesuaikan suhu tumbuh untuk mikroba.
6. **Lemari pendingin/refrigerator**, digunakan untuk menyimpan media steril yang siap pakai agar isi dan mutu media tersebut tidak berubah, menyimpan untuk sementara waktu bahan/spesimen yang belum sempat diperiksa agar tidak mengalami perubahan dan menyimpan cakram antibiotik/antibiotic disk yang belum dipakai agar tidak mengalami perubahan. Alat ini juga digunakan untuk menyimpan mikroba agar tidak terjadi pertumbuhan sel atau bahkan tidak ada sel yang mati karena didalamnya sel mikroba akan bersifat inaktif.
7. **Mikroskop**, digunakan untuk pemeriksaan suatu sediaan secara mikroskopis.

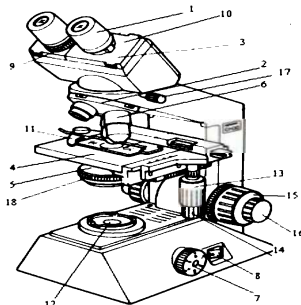
Mikroskop Cahaya Salah satu alat untuk melihat sel mikroba adalah mikroskop cahaya. Dengan mikroskop dapat diamati sel bakteri yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Pada umumnya, mata tidak mampu membedakan benda dengan diameter lebih kecil 0,1 mm.

Berikut merupakan uraian tentang cara penggunaan, bagian-bagian, dan spesifikasi mikroskop cahaya merek Olympus CH20, sebagai contoh model mikroskop pada praktikum ini (Gambar 1.1).

Bagian-Bagian Mikroskop

1. *Eyepiece/oculars* (lensa okuler), untuk memper-besar 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), untuk menempatkan spesimen.
5. *Condenser* (condenser), untuk mengumpulkan cahaya supaya tertuju ke lensa objektif.

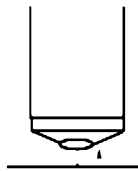
6. *Objective lense* (lensa objektif), untuk memperbesar spesimen.
7. *Brightness adjustment knob* (pengatur kekuatan lampu), untuk memperbesar dan memperkecil cahaya lampu.
8. *Main switch* (tombol on-off).
9. *Diopter adjustmet ring* (cincin pengatur diopter), untuk menyamakan fokus antara mata kanan dan kiri.
10. *Interpupillar distance adjustment knob* (pengatur jarak interpupillar).
11. *Spesimen holder* (penjepit spesimen), untuk menjepit spesimen agar tidak bergerak/berubah tempat.
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 glass.
15. *Coarse focus knob* (sekrup fokus kasar), untuk menaikturunkan meja benda (untuk mencari fokus) secara kasar dan cepat.
16. *Fine focus knob* (sekrup fokus halus), untuk menaikturunkan meja benda secara halus dan lambat.
17. *Observation tube securing knob* (sekrup pengencang tabung okuler).
18. *Condenser adjustment knob* (sekrup pengatur kondenser), untuk menaikturunkan kondenser. (Gambar 1.1)



Gambar 1.1.
Bagian-bagian Mikroskop

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. Letakkan object glass di atas meja benda (4) kemudian dijepit (11). Jika meja benda belum turun, diturunkan dengan sekrup kasar (15)
 - b. Cari bagian dari object glass 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 focus
 - b. Setelah fokus perbesaran 4x10 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 (Gambar 1.2).



Gambar 1.2.
Jarak antar Spesimen dengan Lensa Objektif

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 λ BIOL4445/MODUL 1 1.5 menggesek cover glass karena terdapat sisa jarak A yang lebih kecil antara cover glass dengan lensa objektif (lihat tabel di atas).

4. Tambahan

- a. 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
- b. Jika perlu diopter adjustment knob (9) dapat diatur untuk memperoleh bayangan fokus yang seimbang antara mata kanan dan kiri
- c. Pengaturan condenser (5) akan memperjelas bayangan yang tampak dengan mensetting pada posisi tertinggi (cahaya penuh)

D. Perbesaran Total

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

E. 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 memperbesar indeks bias atau menggunakan cahaya yang memiliki panjang gelombang (λ) pendek. Biasanya dapat digunakan minyak imersi untuk meningkatkan indeks bias pada perbesaran 10 \times 100 (Gambar 1.3).

1. Jika fokus pada perbesaran 10 \times 40 telah didapatkan maka putar ke perbesaran objektif 100x

2. Tetesi minyak imersi 1-2 tetes dari sisi lensa
3. Jika telah selesai menggunakan mikroskop, lensa objektif 100x dibersihkan dengan kertas lensa yang dibasahi xylol (lihat Gambar berikut)



Gambar 1.3.
Prosedur Penggunaan Minyak Imersi

8. **Alat-alat umum lain yang perlu diketahui di laboratorium mikrobiologi** : mikropipet, cawan petri, lampu spritus, kaca obyek, kaca penutup, pinset, tabung Durham, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, becker glass, batang pengaduk, corong.

BAB II

TEKNIK LABORATORIUM MIKROBIOLOGI

A. Tujuan

1. Mempelajari cara pembuatan media dan syarat-syarat yang dibutuhkan oleh suatu media untuk pertumbuhan mikroba.
2. Mempelajari macam-macam teknik sterilisasi.
3. Mempelajari cara-cara pemindahan mikroba secara aseptis.
4. Mempelajari teknik-teknik isolasi dan penanaman mikroba.
5. Mempelajari teknik pembuatan pulasan bakteri untuk pengecatan/pewarnaan bakteri.
6. Mempelajari teknik-teknik lain dalam pengendalian mikroorganisme

B. Dasar Teori Dan Prosedur Kerja

1. Media dan Cara Pembuatan Media

Media adalah suatu bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroba yang terdiri atas campuran nutrisi atau zat-zat makanan. Selain untuk menumbuhkan mikroba, media dapat juga digunakan untuk isolasi, memperbanyak, pengujian sifat-sifat fisiologis dan perhitungan jumlah mikroba.

Syarat media yang baik untuk pertumbuhan mikroba adalah lingkungan kehidupannya harus sesuai dengan lingkungan pertumbuhan mikroba tersebut, yaitu : susunan makanannya (media harus mengandung air untuk menjaga kelembaban dan untuk pertukaran zat/metabolisme, juga mengandung sumber karbon, mineral, vitamin dan gas), tekanan osmose yaitu harus isotonik, derajat keasaman/pH umumnya netral tapi ada juga yang alkali, temperatur harus sesuai dan steril. Media harus mengandung semua kebutuhan untuk pertumbuhan mikroba, yaitu: sumber energi (contoh: gula), sumber nitrogen, juga ion inorganik essensial dan kebutuhan yang khusus, seperti vitamin (Jawetz dkk, 1996).

2. Alat dan bahan :
 - a. Macam-macam media sintetik, contoh : Media Nutrien Agar (NA), Media Nutrien Broth (NB)
 - b. Aquades
 - c. Cawan petri
 - d. Tabung reaksi
 - e. Batang pengaduk, pipet volume, erlenmeyer
 - f. penangas/elemen pemanas
3. Cara kerja
 - a. Media ditimbang sesuai kebutuhan dan sesuai komposisi dari masing-masing media yang digunakan
 - b. ditambahkan aquadest ke media yang telah ditimbang dan dipanaskan hingga homogeny (menggunakan batang pengaduk)
 - c. media disterilkan agar terbebas dari mikroba yang mengkontaminasi pada saat penimbangan, penambahan aquadest ataupun pemanasan, dengan menggunakan autoklaf
 - d. Media cair dipindahkan ke wadah seperti tabung reaksi dan biarkan dingin hingga siap untuk ditanami mikroba.
 - e. Media padat dipindahkan ke wadah tabung reaksi ataupun cawan petri dan biarkan memadat hingga siap untuk ditanami mikroba.
 - f. Pemindahan mikroba dilakukan secara aseptik didalam MSC.

C. Macam-Macam Cara Isolasi Mikrobia

1. Isolasi Dengan Cara Pengenceran (*Dilution*)

a. Teknik Preparasi Suspensi

Sampel yang telah diambil kemudian disuspensikan dalam aquades steril. Tujuan dari teknik ini pada prinsipnya adalah melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air sehingga lebih mudah penanganannya. Macam-macam preparasi bergantung kepada bentuk sampel :

1) Teknik Pengulasan (Swab),

Dilakukan menggunakan *cotton bud* steril pada sampel yang memiliki permukaan luas dan pada umumnya sulit dipindahkan atau sesuatu pada benda tersebut. Contohnya adalah meja, batu, batang kayu dll. Caranya dengan mengusapkan *cotton bud* memutar sehingga seluruh permukaan kapas dari *cotton bud* kontak dengan permukaan sampel. Ulas akan lebih baik jika *cotton bud* dicelupkan terlebih dahulu ke dalam larutan attraktan (contoh *pepton water*).

2) Pencucian

Ditujukan untuk melarutkan sel-sel mikroba yang menempel pada permukaan substrat yang luas tapi relatif berukuran kecil, misalnya daun bunga dll. Pencucian merupakan prosedur kerja dengan mencelupkan sampel ke dalam aquadest dengan perbandingan 1 : 9 (w/v). Contohnya sampel daun diambil dan ditimbang 5 g kemudian dibilas dengan aquades 45 ml. Selanjutnya air cucian diinokulasikan pada media yang telah disiapkan. Amati pertumbuhan mikroba yang terjadi pada media setelah diinokulasikan selama 3 sampai 7 hari di ruang dengan suhu kamar.

3) Penghancuran (Maserasi),

Sampel yang berbentuk padat dapat ditumbuk dengan mortar dan pestle sehingga mikroba yang ada dipermukaan atau di dalam dapat terlepas kemudian dilarutkan ke dalam air. Contoh sampelnya antar lain biji, buah dll. Perbandingan antar berat sampel dengan pengenceran pertama adalah 1 : 9 (w/v). Untuk sampel dari tanah tidak perlu dimaserasi. Hasil maserasi selanjutnya di inokulasikan pada media yang telah disiapkan. Selanjutnya inkubasikan cawan petri yang telah diinokulasikan tersebut pada

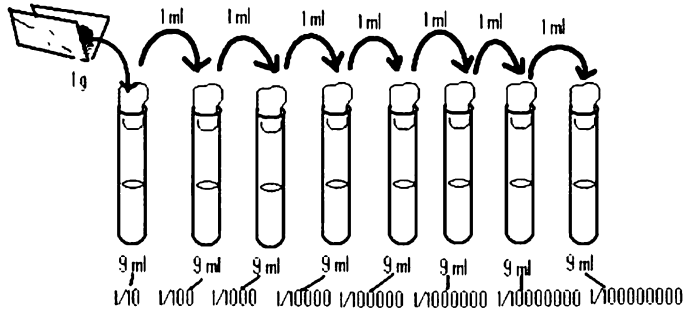
suhu ruang. Setelah 3 sampai 7 hari masa inkubasi, amati mikrobia yang tumbuh pada media tersebut.

4) Teknik Pengenceran Bertingkat

Tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1 : 9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung $1/10$ sel mikroorganisma dari pengenceran sebelumnya.

2. Cara Kerja :

- a. Sampel yang mengandung bakteri dimasukkan ke dalam tabung pengenceran pertama ($1/10$ atau 10^{-1}) secara aseptis (dari preparasi suspensi). Perbandingan berat sampel dengan volume tabung pertama adalah 1 : 9 dan aquades yang digunakan jika memakai teknik pencucian dan pengolesan sudah termasuk pengencer 10^{-1} . Setelah sampel masuk lalu dilarutkan dengan kocoknya sampai homogen.
- b. Ambil 1 ml dari tabung 10^{-1} dengan pipet ukur kemudian dipindahkan ke tabung 10^{-2} secara aseptis kemudian dikocok dengan membenturkan tabung ketelapak tangan sampai homogen. Pemindahan dilanjutkan hingga tabung pengenceran terakhir dengan cara yang sama, hal yang perlu diingat bahwa pipet ukur yang digunakan harus selalu diganti, artinya setiap tingkat pengenceran digunakan pipet ukur steril yang berbeda/baru. Prinsipnya bahwa pipet tidak perlu diganti jika memindahkan cairan dari sumber yang sama.

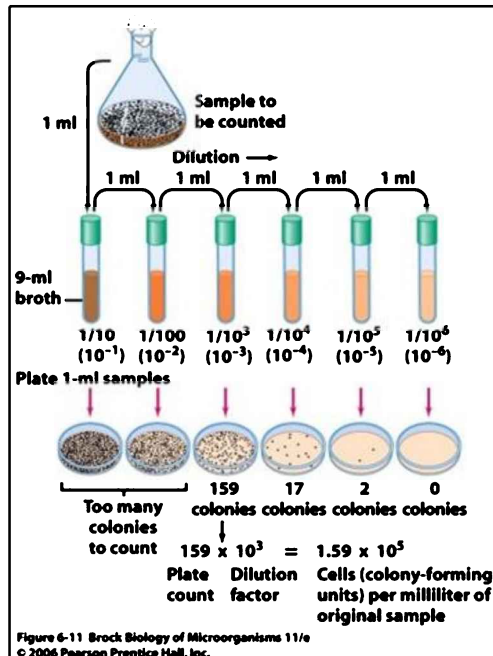


Gambar 6. Teknik pengenceran bertingkat

D. Teknik Penanaman

1. Penanaman dari suspensi

Teknik penanaman ini merupakan lanjutan dari pengenceran bertingkat. Pengambilan suspensi dapat diambil dari pengenceran mana saja tapi biasanya untuk tujuan isolasi (mendapatkan koloni tunggal) diambil beberapa tabung pengenceran terakhir.



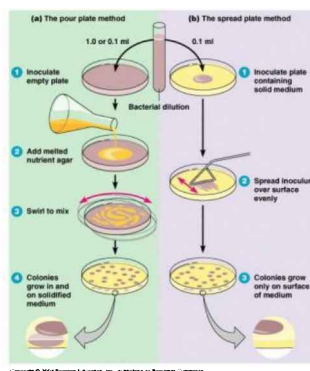
Gambar 7. Pengenceran bertingkat dan penanaman

2. Agar Tuang (*Pour plate*)

Teknik ini memerlukan agar yang belum padat ($>45^{\circ}\text{C}$) untuk dituang bersama suspensi bakteri ke dalam cawan petri lalu kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Cara ini akan menyebarkan sel-sel bakteri tidak hanya pada permukaan agar saja melainkan sel terendam agar (di dalam agar) sehingga terdapat sel yang tumbuh dipermukaan agar yang kaya O_2 dan ada yang tumbuh di dalam agar yang tidak banyak begitu banyak mengandung oksigen. Adapun prosedur kerja yang dilakukan adalah sebagai berikut : Siapkan cawan steril, tabung pengenceran yang akan ditanam dan media padat yang masih cair , teteskan 1 ml secara aseptis. suspensi sel kedalam cawan kosong, tuangkan media yang masih cair ke cawan kemudian putar cawan untuk menghomogenkan suspensi bakteri dan media, kemudian diinkubasi.

3. Agar tabur (*Spread Plate*)

Spread plate adalah teknik menanam dengan menyebarkan suspense bakteri di permukaan agar diperoleh kultur murni. Adapun prosedur kerja yang dapat dilakukan adalah sebagai berikut : ambil suspensi cairan sebanyak 0,1 ml dengan pipet kemudian teteskan diatas permukaan agar yang telah memadat. Kemudian disebarakan dengan menggunakan batang L yang telah disterilkan terlebih dahulu pada permukaan agar supaya tetesan suspensi merata.



Gambar 8. Agar Tuang dan Agar Tabur

E. Teknik Penanaman dengan Goresan (*Streak*)

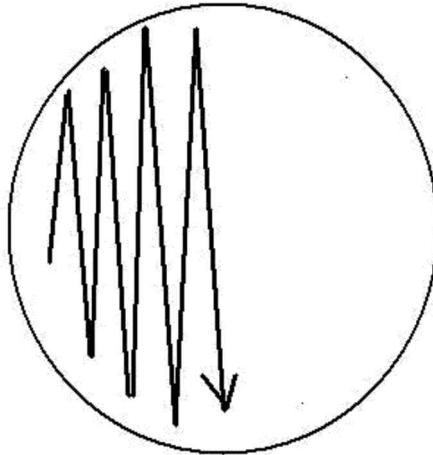
Bertujuan untuk mengisolasi mikroorganisme dari campurannya atau meremajakan kultur ke dalam medium baru.

1. Goresan Sinambung

Goresan sinambung umumnya digunakan bukan untuk mendapatkan koloni tunggal, melainkan untuk peremajaan ke cawan atau medium baru

Cara kerja :

Sentuhkan inokulum loop pada koloni dan gores secara kontinyu sampai setengah permukaan agar. Putar cawan 180° lanjutkan goresan sampai habis.

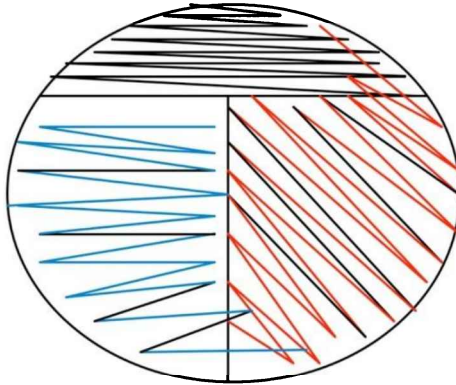


Gambar 8. Inokulasi secara goresan sinambung

2. Goresan T

Cara kerja :

Bagi cawan menjadi 3 bagian menggunakan spidol marker, inokulasi daerah 1 dengan streak zig-zag. Panaskan jarum inokulan dan tunggu dingin, kemudian lanjutkan streak zig-zag pada daerah 2 (*streak* pada gambar). Cawan diputar untuk memperoleh goresan yang sempurna. Lakukan hal yang sama pada daerah 3.

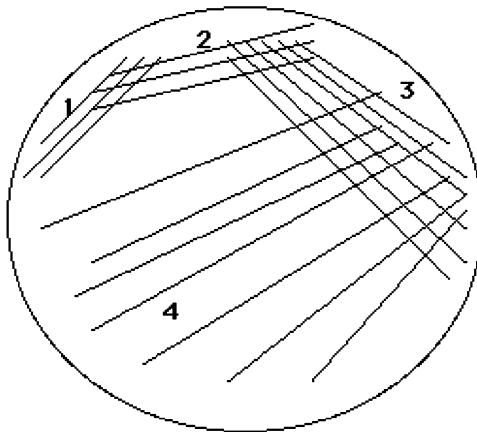


Gambar 9. Inokulasi secara goresan T

3. Goresan Kuadran (Streak quadrant)

Cara kerja :

Hampir sama dengan goresan T, namun berpola goresan yang berbeda yaitu dibagi empat. Daerah 1 merupakan goresan awal sehingga masih mengandung banyak sel mikroorganisma. Goresan selanjutnya dipotongkan atau disilangkan dari goresan pertama sehingga jumlah semakin sedikit dan akhirnya terpisah-pisah menjadi koloni tunggal.



Gambar 10. Inokulasi secara goresan kuadran

Alasan utama pengendalian mikroorganisme adalah :

1. Mencegah penyebaran penyakit dan infeksi
2. Membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi
3. Mencegah pembusukan dan perusakan bahan oleh mikroorganisme.

Mikroorganisme dapat dikendalikan dengan beberapa cara, dapat dengan diminimalisir, dihambat dan dibunuh dengan sarana atau proses fisika atau bahan kimia.

Beberapa cara untuk mengendalikan jumlah populasi mikroorganisme

1. Cleaning (kebersihan) dan Sanitasi
2. Desinfeksi
3. Antiseptis
4. Sterilisasi
5. Pengendalian Mikroba dengan Suhu Panas lainnya
6. Pengendalian Mikroba dengan Radiasi
7. Pengendalian Mikroba dengan Filtrasi
8. Pengendalian Mikroba dengan Bahan Kimia

Penjelasan

1. Cleaning (kebersihan) dan Sanitasi

Cleaning dan Sanitasi sangat penting di dalam mengurangi jumlah populasi mikroorganisme pd suatu ruang/tempat. Prinsip cleaning dan sanitasi adalah menciptakan lingkungan yang tidak dapat menyediakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroba sekaligus membunuh sebagian besar populasi mikroba.

2. Desinfeksi

Adalah proses pengaplikasian bahan kimia (desinfektans) terhadap per-alatan, lantai, dinding atau lainnya untuk membunuh sel vegetatif mikrobial. Desinfeksi diaplikasikan pada benda dan hanya berguna untuk membunuh sel vegetatif saja, tidak mampu membunuh spora.

3. Antiseptis

Merupakan aplikasi senyawa kimia yang bersifat antiseptis terhadap tubuh untuk melawan infeksi atau mencegah pertumbuhan mikro-organisme dengan cara menghancurkan atau menghambat aktivitas mikroba.

4. Sterilisasi atau suci hama proses menghancurkan semua jenis kehidupan mikroorganisme sehingga menjadi steril. Sterilisasi seringkali dilakukan dengan peng-aplikasian udara panas.

Ada dua metode yang sering digunakan, yaitu :

1. Panas kering, biasanya digunakan untuk mensterilisasi alat-alat laboratorium. Suhu efektifnya adalah 160°C selama 2 jam. Alat yang digunakan pada umumnya adalah oven.
2. Panas lembab dengan uap jenuh bertekanan. Sangat efektif untuk sterilisasi karena menyediakan suhu jauh di atas titik didih, proses cepat, daya tembus kuat dan kelembaban sangat tinggi sehingga mempermudah koagulasi protein sel-sel mikroba yang menyebabkan sel hancur. Suhu efektifnya adalah 121°C pada tekanan 5 kg/cm² dengan waktu standar 15 menit.

Alat yang digunakan : *pressure cooker*, autoklaf (*autoclave*) dan retort.

1. Pengendalian Mikroba dengan Suhu Panas lainnya

a. Tyndalisasi

Pemanasan yang dilakukan biasanya pada makanan dan minuman kaleng. Tyndalisasi dapat membunuh sel vegetatif sekaligus spora mikroba tanpa merusak zat-zat yang terkandung di dalam makanan dan minuman yang diproses. Suhu pemanasan adalah 65°C selama 30 menit dalam waktu tiga hari berturut-turut.

b. Pasteurisasi

Proses pembunuhan mikroba patogen dengan suhu terkontrol berdasar waktu kematian termal

bagi tipe patogen yang paling resisten untuk dibasmi. Dalam proses pasteurisasi yang terbunuh hanyalah bakteri patogen dan bakteri penyebab kebusukan namun tidak pada bakteri lainnya. Pasteurisasi biasanya dilakukan untuk susu, rum, anggur dan makanan asam lainnya. Suhu pemanasan adalah 65°C selama 30 menit.

c. Boiling

Pemanasan dengan cara merebus bahan yang akan disterilkan pada suhu 100°C selama 10-15 menit. Boiling dapat membunuh sel vegetatif bakteri yang patogen maupun non patogen. Namun spora dan beberapa virus masih dapat hidup. Biasanya dilakukan pada alat-alat kedokteran gigi, alat suntik, pipet, dll.

d. Red heating

Pemanasan langsung di atas api bunsen *burner* (pembakar spiritus) sampai berpijar merah. Biasanya digunakan untuk mensterilkan alat yang sederhana seperti jarum ose.

e. Flaming

Pembakaran langsung alat-alat laboratorium di atas pembakar bunsen dengan alkohol atau spiritus tanpa terjadinya pemijaran

2. Pengendalian Mikroba dengan Radiasi

Bakteri terutama bentuk sel vegetatifnya dapat terbunuh dengan penyinaran sinar ultraviolet (UV) dan sinar-sinar ionisasi.

a. Sinar UV

Bakteri yang berada di udara atau yang berada di lapisan permukaan suatu benda yang terpapar sinar UV akan mati.

b. Sinar Ionisasi

Yang termasuk sinar ionisasi adalah sinar X, sinar alfa, sinar beta dan sinar gamma. Sterilisasi dengan sinar ionisasi memerlukan biaya yang besar

dan biasanya hanya digunakan pada industri farmasi maupun industri kedokteran.

- 1) Sinar X : Daya penetrasi baik namun perlu energi besar
- 2) Sinar alfa : Memiliki sifat bakterisidal tetapi tidak memiliki daya penetrasi
- 3) Sinar beta : Daya penetrasinya sedikit lebih besar daripada sinar X
- 4) Sinar gamma : Kekuatan radiasinya besar dan efektif untuk sterilisasi bahan makanan

3. Pengendalian Mikroba dengan Filtrasi

Ada dua filter, yaitu :

- a. Filter udara berefisiensi tinggi untuk menyaring udara berisikan partikel (*High Efficiency Particulate Air Filter* atau HEPA) memungkinkan dialirkannya udara bersih ke dalam ruang tertutup dengan sistem aliran udara laminar (*Laminar Air Flow*)
- b. Filter bakteriologis biasanya digunakan untuk mensterilkan bahan-bahan yg tidak tahan terhadap pemanasan, misal: larutan gula, serum, antibiotika, antitoksin, dll.

Teknik filtrasi prinsipnya menggunakan penyaringan, dimana yang tersaring hanyalah bakteri saja. Diantara jenis filter bakteri yang umum digunakan adalah : Berkefeld (dari fosil diatomeae), Chamberland (dari porselen), Seitz (dari asbes) dan seluosa.

4. Pengendalian Mikroba dengan Bahan Kimia

Agen kimia yang baik adalah yang memiliki kemampuan membunuh mikroba secara cepat dengan dosis yang rendah tanpa merusak bahan atau alat yang di-disinfeksi.

Pada prinsipnya, cara kerja agen kimia ini digolongkan menjadi :

- a. Agen kimia yang merusak membran sel mikroba
 - 1) Golongan Surfactants (*Surface Active Agents*), yaitu golongan anionik, kationik dan nonionik
 - 2) Golongan fenol
- b. Agen kimia yg merusak enzim mikroba
 - 1) Golongan logam berat seperti arsen, perak, merkuri dll
 - 2) Golongan oksidator spt gol. halogen, hidrogen peroksida dan formaldehid.
- c. Agen kimia yang mendenaturasi protein

Agen kimiawi yang menyebabkan terjadinya koagulasi dan presipitasi protoplasma, seperti : alkohol, gliserol dan bahan-bahan asam dan alkalis.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi Efektivitas Agen kimia di dalam mengendalikan mikroba, yaitu :

- 1) Konsentrasi agen kimia yang digunakan semakin tinggi konsentrasinya maka efektivitasnya semakin meningkat
- 2) Waktu kontak
Semakin lama bahan tersebut kontak dengan bahan yang disterilkan maka hasilnya akan semakin baik.

- a. Sifat dan jenis mikroba
Mikroba yang berkapsul dan berspora resisten dibandingkan yang tidak berkapsul dan berspora.
- b. Adanya bahan organik dan ekstra
Adanya bahan-bahan organik dapat menurunkan efektivitas agen kimia.
- c. pH atau derajat keasaman
Efektivitas bahan kimia dapat berubah seiring dengan perubahan pH.

Berikut merupakan penjelasan lebih lanjut salah satu tahapan penting yang harus dilakukan dan merupakan aturan standar selama melaksanakan praktikum atau kerja mikrobiologi adalah sterilisasi. Sterilisasi adalah proses atau kegiatan membebaskan suatu bahan atau benda dari semua bentuk kehidupan. Sterilisasi dapat dilakukan tergantung dari bahan atau alat yang akan disteril. Sterilisasi dapat dilakukan dengan berbagai cara.

1. Macam- Macam Sterilisasi

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

- a. Sterilisasi cara 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 antibiotic
- b. Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan dan penyinarana
 - 1) Pemanasan
 - a) Pemijaran (dengan api langsung): membakar alat pada api secara langsung, contoh alat: jarum inokulum (jarum ose), pinset, batang L
 - b) Panas kering: sterilisasi dengan oven kira-kira 60-180oC. Sterilisasi panas kering cocok untuk alat yang terbuat dari kaca, misalnya erlenmeyer, tabung reaksi, cawan
 - c) Uap air panas: konsep ini mirip dengan mengukus. Bahan yang mengandung air lebih tepat menggunakan metode ini supaya tidak terjadi dehidrasi
 - d) Uap air panas bertekanan: menggunakan autoklaf
 - 2) Penyinaran dengan Ultra Violet (UV) Sinar UV juga dapat digunakan untuk proses sterilisasi, misalnya untuk membunuh mikroba yang menempel pada permukaan interior Safety Cabinet dengan disinari lampu UV.

- a. Sterilisasi secara kimiawi biasanya menggunakan senyawa desinfektan, antara lain : alkohol

2. Teknik Kerja Aseptis

Apabila akan bekerja di atas meja maka persiapan yang harus dilakukan sebelum bekerja secara aseptis adalah menseterilkan tempat bekerja (meja). Caranya dengan menyemprotkan alkohol 70% di permukaan meja dan udara di sekitar meja secara merata. Kemudian bersihkan meja dengan menggunakan kapas/tisu dengan cara digosok satu arah saja. Setelah itu, letakkan alat dan bahan yang diperlukan di atas meja yang telah bersih. Semprot lagi semua permukaan alat dengan alkohol, kemudian semprot kedua tangan hingga merata, diamkan hingga kering, dan siap bekerja secara aseptis.

Perlu diingat bahwa untuk mengurangi terjadinya kontaminasi maka harus selalu bekerja dekat dengan api dari pembakar bunsen. Apabila akan memindahkan biakan dari tabung reaksi atau erlenmeyer dan cawan petri ke tabung reaksi atau cawan petri lain, pastikan untuk membuka tutupnya dekat dengan api. Sebelum menutup kembali, mulut tabung reaksi dan erlenmeyer dibakar terlebih dahulu. Begitu pula setelah menutup cawan petri, bibir cawan dibakar.

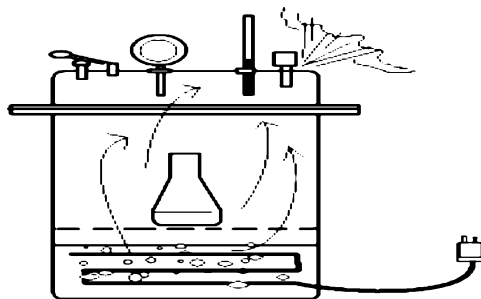
Jarum ose yang digunakan untuk memindahkan biakan, sebelum dan sesudah digunakan juga harus dibakar pada api bunsen. Apabila menggunakan pinset dan batang L maka sebelum dan setelah pemakaian dapat dicelupkan pada alkohol kemudian dibakar pada api bunsen.

3. Prinsip Kerja Sterilisasi Menggunakan Autoklaf

Seperti yang telah dijelaskan pada bahasan pengenalan alat, autoklaf adalah alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang menggunakan tekanan 15 psi (2 atm) dan suhu 121oC. 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 mensterilkan media digunakan suhu 121oC 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.

Pada tekanan 0 psi dengan ketinggian di 1.22 Praktikum Mikrobiologi λ 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 (Gambar 1.24).



Gambar 1.24.
Proses Sterilisasi

Autoklaf bekerja dengan sempurna dapat dideteksi dengan menggunakan mikroba pengujian 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 sebagai berikut:

- a. Bahan tidak tahan panas, seperti serum, vitamin, antibiotik, dan enzim
- b. Pelarut organik, seperti: fenol
- c. Buffer dengan kandungan detergen, seperti SDS

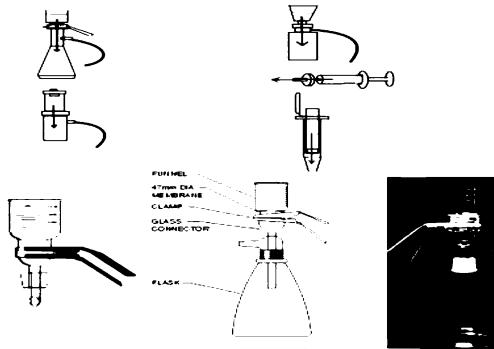
4. Sterilisasi Dengan Penyaringan (Filtrasi)

Sterilisasi dengan penyaringan dilakukan untuk mensterilisasi cairan yang mudah rusak jika terkena panas atau mudah menguap (volatile). Cairan yang disterilisasi dilewatkan ke suatu saringan (ditekan dengan gaya sentrifugasi atau pompa vakum) yang berpori dengan diameter yang cukup kecil untuk menyaring bakteri. Virus tidak akan tersaring dengan metode ini.

- a. Sterilisasi dengan penyaringan dapat dilakukan dengan berbagai cara (Gambar 1.25), yaitu: 1). Non-disposable filtration apparatus
 - 1) Disedot dengan pompa vakum
 - 2) Volume 20-1.000 ml
- b. Disposable filter cup unit
 1. Disedot dengan pompa vakum
 2. Volume 15-1.000 ml
- c. Disposable filtration unit dengan botol penyimpan
 - 1) Disedot dengan pompa vakum
 - 2) Volume 15-1.000 ml
- d. Syringe filters
 - 1) Ditekan seperti jarum suntik
 - 2) Volume 1-20 ml

e. Spin filters

- 1) Ditekan dengan gaya setrifugasi
- 2) Volume kurang dari 1 ml



Gambar 1.25
Berbagai Alat Sterilisasi dengan Penyaringan

5. Tyndalisasi

Konsep kerja metode ini mirip dengan mengukus. Bahan yang mengandung air dan tidak tahan tekanan atau suhu tinggi lebih tepat disterilkan dengan metode ini, misalnya susu yang disterilkan dengan suhu tinggi akan mengalami koagulasi dan bahan yang berpati disterilkan pada suhu bertekanan pada kondisi pH asam akan terhidrolisis.

6. Sterilisasi Dengan Udara Panas

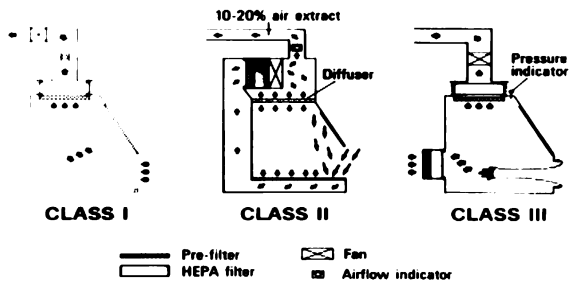
Sterilisasi dengan metode ini biasanya digunakan untuk peralatan gelas, seperti cawan petri, pipet ukur, dan labu erlenmyer. Alat gelas yang disterilisasi dengan udara panas tidak akan timbul kondensasi sehingga tidak ada tetes air (embun) di dalam alat gelas.

7. Prinsip Kerja Biological Safety Cabinet (BSC)

BSC merupakan kabinet kerja yang disterilkan untuk kerja mikrobiologi. BSC memiliki suatu pengatur aliran udara yang menciptakan aliran udara kotor (dimungkinkan ada kontaminan) untuk disaring dan diresirkulasi melalui filter.

BSC juga disebut biosafety hood, dan juga dikenal dengan Laminar flow hood atau Class II vertical flow cabinet yang menyediakan alat filtrasi dan aliran udara yang

bersirkulasi di dalam ruang kerja. Aliran udara diatur untuk menghambat udara luar masuk dan udara di dalam keluar, untuk mencegah kontaminasi dari luar dan pencemaran bakteri dari ruang BSC. Udara yang keluar disaring melewati penyaring sehingga sel-sel yang berbahaya tidak lepas keluar ke ruangan lain. BSC juga dilengkapi dengan lampu UV yang berfungsi sebagai pembunuh mikroba yang berada pada interior BSC (Gambar 1.26).



Gambar 1.26.
Prinsip Kerja BSC

Penutup

Sterilisasi dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu cara mekanik, fisik, dan kimiawi. Sterilisasi cara mekanik, yaitu menggunakan penyaring (filtrasi), sedangkan cara fisik dapat dilakukan penyinaran dan pemanasan pada suhu dan lama waktu tertentu. Sterilisasi cara kimiawi biasanya menggunakan senyawa desinfektan, antara lain menggunakan alkohol.

BAB III

TEKNIK PEWARNAAN BAKTERI

A. Pendahuluan

Pengenalan bentuk mikroba (morfologi), kecuali mikroalgae harus dilakukan pewarnaan terlebih dahulu agar dapat diamati dengan jelas. Tujuan pewarnaan adalah:

1. Mempermudah pengamatan bentuk sel mikroorganisme (khususnya bakteri)
2. Memperjelas ukuran jasad
3. Dapat mengamati struktur luar dan struktur dalam dari sel mikroba
4. Melihat reaksi jasad terhadap pewarna yang diberikan, sehingga sifat fisik, kimia dari jasad dapat diketahui. Dengan demikian, kita dapat menggunakan pewarnaan sebagai salah satu cara untuk klasifikasi bakteri. Berhasil atau tidaknya pewarnaan sangat ditentukan oleh waktu pemberian warna dan umur biakan yang diwarnai (Umur biakan yang baik adalah 24 jam).

B. Berbagai Macam Metoda Pewarnaan

1. Pewarnaan Langsung Dengan Pewarna Basa

Umumnya zat pewarna merupakan garam-garam yang dibangun oleh ion-ion yang bermuatan positif atau negatif, dimana salah satu ion-ion tersebut berwarna. Kalau suatu sel bakteri yang dinding selnya bermuatan relatif negatif bersatu dengan ion yang bermuatan positif dari suatu pewarna, maka menyebabkan sel bakteri tersebut terwarnai.

Zat pewarna dapat dikelompokkan menjadi dua group, yaitu zat pewarna yang bersifat basa dan zat pewarna yang bersifat asam. Kalau ion positif dari zat pewarna yang mengandung warna tersebut, maka pewarna tersebut adalah pewarna basa. Dan bila warna tersebut

berada pada ion yang bermuatan negatif, maka pewarna tersebut adalah pewarna asam.

a. Alat dan bahan

- 1) Kultur bakteri yang diolasi dalam praktikum sebelumnya dan beberapa biakan murni
- 2) Pewarna Metilene blue
- 3) Pewarna kristal violet
- 4) Karbol fuhsin
- 5) Kaca objek bersih dan kaca penutup

b. Cara Kerja

- 1) Letakkan sebuah kaca objek yang bebas lemak diatas meja kerja
- 2) Teteskan setetes air ditengah-tengah kaca objek tersebut
- 3) Dengan menggunakan jarum Ose yang telah dipijarkan, ambil sedikit biakan bakteri yang saudara isolasi pada praktikum sebelumnya atau dari biakan murni bakteri yang disediakan oleh asisten saudara
- 4) Buat apusan bakteri pada air yang diletakkan pada kaca objek dengan cara menggesekgesekan jarum ose yang berisi biakan bakteri, sehingga didapatkan suatu campuran yang tipis dan merata
- 5) Fiksasi diatas api bunsen dengan jarak sekitar 30 Cm. Dari nyala api. Dalam memfiksasi ini jangan terlalu panas karena dapat merusak bentuk sel
- 6) Teteskan salah satu larutan pewarna yang disediakan oleh asisten pada sediaan yang telah difiksasi. Pewarna Metilene blu akan mewarnai sel dalam 30 - 60 detik, Kristak violet dalam 10 detik, dan Karbol fuhsin dalam 5 detik
- 7) Cuci dengan air mengalir
- 8) Keringkan sediaan dengan meletakkannya diantara kertas saring
- 9) Amati dengan mikroskop dengan menggunakan lensa objektive dengan perbesaran 100 kali, dan minyak imersi

- 10) Catat dan gambar bentuk sel dan warna sel mikro-organismenya yang saudara lihat.
2. Pewarnaan Negatif Atau Pewarnaan Tidak Langsung
- Salah satu pewarna asam adalah nigrosin atau tinta cina. Karena daya mewarnai pada zat ini berada pada ion negatif dan tidak bereaksi dengan ion negatif lainnya dari sel bakteri, maka pewarna ini tidak mewarnai sel. Dalam hal ini, yang terwarnai adalah lingkungan sekitar sel. Dengan cara ini saudara sudah dapat mengamati bentuk-bentuk sel bakteri dan juga ukurannya dengan jelas. Alat dan Bahan, Kultur bakteri hasil isolasi atau kultur yang disediakan oleh asisten, Cairan nigrosin atau tinta cina, Kaca objek bebas lemak
- a. Cara Kerja
- 1) Teteskan satu tetes cairan nigrosin atau tinta cina pada pinggir ujung kaca objek
 - 2) Dengan menggunakan jarum ose yang telah dipijarkan, ambil sedikit biakan bakteri dan suspensikan pada tetesan nigrosin pada permukaan kaca objek
 - 3) Ratakan suspensi bakteri dalam nigrosin pada permukaan kaca objek ini dengan menggunakan kaca objek lain
 - 4) Biarkan kering pada suhu kamar, dan amati dengan mikroskop (perbesaran lensa objektif 100 x), dan pakai minyak imersi
 - 5) Gambar bentuk bakteri yang saudara lihat.

Berikut merupakan teknik pewarnaan diferensial, sebagai salah satu cara dalam mengklasifikasi bakteri.

3. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan pewarnaan yang sangat umum dalam bidang bakteriologi. Dengan pewarnaan ini, kelompok bakteri dapat dibedakan menjadi dua, yaitu: kelompok bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Ada banyak modifikasi dari teknik pewarnaan ini, namun

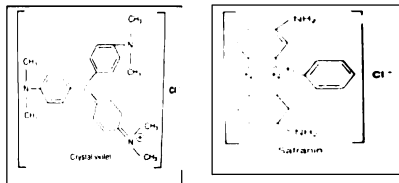
semua teknik tersebut berdasarkan pada prinsip yang sama, yaitu :

- a. Mewarnai mikroorganisme dengan pewarna dasar, yaitu dengan kristal violet atau gentian violet
- b. Fiksasi warna, yaitu untuk menguatkan perlekatan warna dasar, misalnya dilakukan dengan garam iodine (modifikasi larutan lugol)
- c. Pencucian atau penghapusan warna dasar dengan alkohol, aseton, atau campuran alkohol dengan aseton
- d. Pewarnaan kembali dengan pewarna pembanding atau kontras yang berbeda dengan pewarna dasar, yaitu untuk mewarnai sel-sel yang telah hilang warnanya oleh penghapusan warna. Misalnya dalam hal ini dipakai safranin atau karbol fuhsin

Bakteri yang setelah diwarnai dengan pewarna dasar warnanya tidak terhapus oleh alkohol akan berwarna violet karena terwarnai oleh kristal violet, dan tidak lagi menyerap pewarna kontras. Kelompok bakteri yang mempunyai sifat ini dikelompokkan menjadi bakteri Gram positif. Sedangkan, kelompok bakteri yang telah diwarnai dengan pewarna dasar dan warnanya terhapus setelah diperlakukan dengan alkohol, akan menyerap pewarna safranin atau karbol fuhsin yang dipakai sebagai pewarna kontras, sehingga dalam preparat akan terlihat warna merah(warna safranin atau karbol fuhsin). Kelompok bakteri yang demikian disebut dengan bakteri Gram negatif.

- a. Alat dan Bahan
 - 1) Kultur muda bakteri yang diisolasi atau yang disediakan oleh asisten
 - 2) Larutan kristal violet
 - 3) Larutan garam iodine
 - 4) Alkohol 95 %
 - 5) Larutan safranin
 - 6) Kaca objek
- b. Cara Kerja

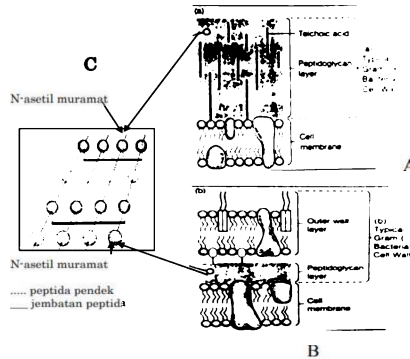
- 1) Buat apusan bakteri pada kaca objek kering dan bersih
- 2) Fiksasi diatas nyala api bunsen atau di udara
- 3) Warnai dengan larutan kristal violet selama 1 - 1,5 menit
- 4) Cuci dengan air suling
- 5) Tetesi dengan larutan garam iodin, dan biarkan kompleks selama 1 menit
- 6) Cuci dengan larutan alkohol 95 % sampai warnanya terhapus, biasanya selama 0,5 menit (30 detik)
- 7) Cuci dengan air
- 8) Warnai dengan safranin atau karbol fuhsin selama 2 menit
- 9) Cuci dengan air, dan buang kelebihan air dengan menggunakan kertas hisap, tanpa menggosok sediaan
- 10) Keringkan diudara atau diatas nyala api Bunsen
- 11) Amati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali (ingat pakai minyak imersi)
- 12) Catat pengamatan saudara



Gambar 6-1. Zat warna umum yang digunakan dalam pewarnaan Gram

Langkah kerja

Langkah	Lama	Keterangan
1. Kristal violet	60 detik	Zat warna utama
2. Cuci dengan air	Cuci sedikit saja	
3. Gram lar. Yod (Lar Mordan)	60 detik	Sebagai Mordant, membantu zat warna membentuk kompleks (terikat kuat) dengan bagian bermuatan dalam dinding sel, plasma membran dan sitoplasma.
4. Cuci dengan air	Cuci dengan saksama	
5. Alkohol 95%	10 detik	Pencuci zat warna, kompleks yod-kristal violet kompleks. Karena bakteri Gram negatif mempunyai dinding sel lebih tipis dari Gram positif maka kompleks yod-kristal violet akan tercuci dengan cepat
6. Cuci dengan air	Cuci dengan saksama	
7. Safranin	60 detik	Zat warna sekunder. Fungsi safranin adalah sebagai zat warna pengkonter dari warna vbakteri Gram, negatif yang tercuci karena penambahan alkohol. Bakteri Gram positif hanya sedikit mengikat safranin karena bagian bermuatan sudah diikat oleh kristal violet.
8. Cuci dengan air	Bilas sebentar saja	
9. Keringkan	Dengan tissue kering	



Gambar 6-A: Komponen dinding sel bakteri Gram positif; (6-B): Gram negatif; 6-C: lapisan peptidoglikan

4. Pewarnaan Tahan Asam

Pewarnaan tahan asam adalah pewarnaan yang dapat mengukur ketahanan sel yang telah diwarnai terhadap pencucian dengan asam. Ketahanan-asaman dari bakteri dan aktinomicetes tertentu berhubungan dengan banyaknya lapisan lemak. Sebagai pewarna dasar adalah karbol fuhsin panas, dan pencucinya adalah alkohol asam. Setelah itu, sediaan diberi warna pembanding. Pewarnaan ini terutama digunakan untuk diagnosa dan studi penyakit-penyakit yang disebabkan oleh species-species tahan asam seperti penyebab TBC dan lepra.

a) Alat dan Bahan

- 1) Biakan Mycobacterium dan E. coli
- 2) Larutan karbol fuhsin
- 3) Larutan alkohol asam (64 ml HCl dalam 1000 ml larutan ethanol 95 %)
- 4) Larutan metilen blue
- 5) Penangas air dengan platform
- 6) Kaca objek

b) Cara Kerja

- 1) Buat apusan dari mycobacterium dan E. coli pada kaca objek dan fiksasi
- 2) Tempatkan sediaan pada plat kawat diatas penangas air

- 3) Letakkan sepotong kertas isap pada apusan dan basahi dengan pewarna karbol fuhsin, dan jaga jangan sampai apusan menjadi kering dengan terus memberi pewarna. Hindari pemberian zat warna berlebih. Lakukan hal ini selama 5 - 10 menit
- 4) Cuci dengan air
- 5) Cuci dengan alkohol asam selama 10 - 30 detik
- 6) Warnai dengan metilen blue selama 30 detik tanpa pemanasan
- 7) Cuci dengan air dan keringkan
- 8) Amati dengan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali (ingat minyak imersi). Bakteri yang tahan asam akan berwarna merah dan yang tidak tahan asam akan berwarna biru

5. Pewarnaan Struktur

Untuk mewarnai bagian-bagian dari sel, maka diperlukan teknik pewarnaan khusus, antara lain : pewarnaan endospora dan pewarnaan kapsula. Pewarnaan endospore Species-species Bacillus dan Clostridium dapat menghasilkan endospora yang bersifat resistan, yang bisa hidup dalam waktu lama meskipun dalam keadaan lingkungan yang kurang baik, seperti panas dan adanya zat kimia yang toksik. Endospora tahan terhadap pewarnaan, dan sekali terwarnai akan tahan cuci. Ada beberapa metoda yang dapat dipakai untuk mewarnai endospora, yaitu metoda Dorner dan metoda Schaefer dan Fulton.

a. Metoda Dorner

1) Alat dan Bahan

- a) Air suling
- b) Bakteri Bacillus cereus dan Clostridium sporogenes
- c) Karbol fuhsin
- d) Nigrosin

2) Cara Kerja

- a) Letakkan 5 tetes air suling dalam masing-masing 1 tabung reaksi dan buat suspensi yang pekat dari *B. cereus* dan *Cl. Sporogenes*
- b) Berikan dalam jumlah yang sama karbol fuhsin dalam suspensi-suspensi tersebut. (c) Letakkan dalam penangas air selama 10 menit
- c) Buat pewarnaan nigrosin
- d) Amati dengan mikroskop dan catat hasilnya

b. Metoda Schaeffer dan Fulton

1) Alat dan Bahan

- a) Biakan *B. cereus* dan *Cl. Sporogenes*
- b) Malakit hijau
- c) Larutan safranin

2) Cara Kerja

- a) Buat apusan bakteri *B. cereus* dan *Cl. sporogenes* dan fiksasi
- b) Warnai dengan malakit hijau diatas ram kawat diatas penangas air selama 5 menit
- c) Cuci dengan air suling
- d) Warnai dengan safranin selama 30 detik
- e) Cuci dengan air dan keringkan
- f) Amati dengan mikroskop, catat dan gambar hasilnya. Endospora akan berwarna hijau dan bagian lain dari sel akan berwarna merah muda.

6. Pewarnaan kapsula

Fungsi pewarnaan ini adalah untuk melihat apakah bakteri yang diamati berkapsul atau tidak.

a. Alat dan Bahan

- 1) Biakan bakteri *Alkaligenes viscosus/ Aerobacter aerogenes* pada susu/ agar
- 2) Asam asetat glacial
- 3) Karbol fuhsin
- 4) CuSO_4 20 %
- 5) Larutan kristal violet 1 %

- 6) Larutan garam fisiologis
 - 7) Gelas tutup
- b. Cara kerja (Metoda Welch)
- 1) Letakkan 5-6 loop biakan dalam susu pada kaca objek
 - 2) Tutup dengan asam asetat glacial, dan biarkan tidak lebih dari 10 detik
 - 3) Cuci dengan menuangkan karbol fuhsin, dan biarkan pewarna mengalir
 - 4) Cuci karbol fuhsin dengan larutan garam fisiologis ; jangan gunakan air
 - 5) Tutup dengan kaca penutup, dan amati dengan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali (ingat memakai minyak imersi). Kapsula akan berwarna merah muda dan sel berwarna merah tua
- c. Cara kerja (Metoda Anthony)
- 1) Buat apusan sebagai berikut : Kalau digunakan kultur susu, sebarkan satu loop pada kaca objek dan biarkan kering. Kalau digunakan kaldu dextrosa, atau kultur agar, letakkan setetes serum pada kaca objek dan suspensikan kultur ke dalamnya, dan sebarkan sehingga membentuk lapisan tipis dan biarkan kering diudara
 - 2) Warnai dengan kristal violet 1 % selama 2 menit
 - 3) Cuci dengan larutan CuSO_4 20 %
 - 4) Keringkan dan amati dengan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dengan minyak imersi.

BAB IV

PEMERIKSAAN MORFOLOGI BAKTERI DAN JAMUR

Walaupun ada ratusan species bakteri yang berbeda, namun suatu bakteri dalam bentuk sel tunggal akan memiliki salah satu dari tiga bentuk yang umum dikenal, yaitu:

1. Bentuk bulat/elips/spherical shape yang lazim disebut dengan coccus
2. Bentuk batang yang umum disebut basil
3. Bentuk spiral

Bakteri berbentuk bulat atau coccus, sering menunjukkan variasi bentuk. Variasi bentuk ini sering dipakai sebagai ciri yang khas dalam proses identifikasi jenis. Beberapa variasi bentuk tersebut antara lain :

1. Diplococcus: Dua buah sel saling bedempetan atau berpasangan
2. Streptococcus: Untaian sel yang lebih dari 4 sel dan membentuk suatu untaian yang menyerupai rantai
3. Tetrad atau tetracoccus: Empat buah sel yang saling berdempetan yang membentuk suatu bentuk yang menyerupai bujur sangkar
4. Staphylococcus: Kumpulan sel yang saling bedempetan, sehingga menyerupai buah anggur
5. Sarcina: Kelompok yang terdiri atas 8 sel (4 sel pada bagian depan dan 4 sel pada bagian belakang) yang membentuk suatu bentuk yang menyerupai kubus.

Berbeda dengan bakteri bentuk bulat, bakteri bentuk batang (basil) jarang sekali berada dalam variasi diatas. Pada bakteri bentuk batang ini, variasi diatas (jarang) bukan merupakan karakteristik dari bakteri ini. Bila dialam dijumpai adanya variasi bentuk dari bakteri basil ini, maka hal tersebut cenderung disebabkan oleh tahap pertumbuhannya atau kondisi-kondisi yang mempengaruhi kultur tersebut.

Bakteri berbentuk spiral pada umumnya dijumpai dalam bentuk soliter atau bersel tunggal dan bukan merupakan kumpulan sel yang berdempetan.

Dalam praktikum ini saudara akan diperkenalkan beberapa species bakteri yang mewakili bentuk-bentuk di atas. Disamping itu juga akan diperkenalkan beberapa struktur luar dan struktur dalam bakteri, seperti flagella, capsula, dan endospora, sebagai pelengkap morfologi bakteri tersebut.

1. Alat dan Bahan

- a. Mikroskop cahaya.
- b. Minyak emersi
- c. Objek glass dan alat fiksasi
- d. Kultur bakteri (sebaiknya yang masih muda)
- e. Jarum ose (loop)
- f. Burner (bunsen)

2. Cara Kerja

- a. Amatilah bentuk-bentuk sel bakteri yang disediakan oleh asisten dan pembimbing praktikum saudara, dengan menggunakan mikroskop cahaya dan mulai dengan perbesaran lemah
- b. Bila pengamatan kurang jelas, lakukan pengamatan dengan lensa objektive yang berkekuatan 100 x. (Ingat : pakailah minyak emersi pada perbesaran 100 x ini)
- c. Gambarlah bentuk-bentuk bakteri beserta variasinya pada buku journal saudara
- d. Bersihkan minyak emersi pada lensa yang saudara pakai dengan menggunakan larutan xylol (Ingat : hati-hati bekerja dengan xylol ini, karena bersifat karsinogenik/penyebab terjadinya kanker)



A. Pendahuluan

Jamur merupakan salah satu kelompok mikroba yang mempunyai perkembangbiakan seksual dan aseksual, mempunyai miselium, mempunyai variasi bentuk spora dan konidia. Morfologi jamur seperti miselium, spora, konidia dapat diamati secara mikroskopis. Morfologi jamur juga menjadi salah satu karakteristik atau ciri yang dapat digunakan untuk identifikasi jamur.

1. Morfologi jamur dan khamir

a. Bahan :

Biakan murni jamur umur 3-5 hari, alkohol 70%, spiritus

b. Alat :

Jarum Ose, lampu Bunsen, gelas benda (obyek glass), gelas penutup (cover glass), mikroskop

c. Cara kerja :

1. Siapkan mikroskop, biakan murni jamur dan khamir umur 3-5 hari, gelas benda, gelas penutup
2. Tetesi gelas benda dengan metilen blue atau lactophenol blue, ambil sedikit koloni dan letakkan pada gelas benda tersebut, tutup menggunakan gelas penutup, dijaga supaya tidak terbentuk gelembung udara
3. Lakukan semua cara kerja secara aseptik
4. Amati menggunakan mikroskop dengan perbesaran kecil bila telah tampak amati dengan perbesaran besar
5. Foto hasil pengamatan dan tempel pada laporan

BAB V

PEMERIKSAAN FESES DAN DARAH

1. Pemeriksaan Feses Kualitatif

a. Pemeriksaan Natif (Langsung)

1) Alat dan Bahan

Alat yang dipergunakan :

lidi, gelas obyek, gelas penutup dan mikroskop. Bahan yang diperlukan adalah tinja dan akuades.

2) Prosedur

- a) Tinja diambil sebesar pentolan korek api, ditaruh diatas gelas obyek
- b) Tetesi dengan 1 - 2 tetes akuades, kemudian dengan batang lidi diaduk hingga homogen dan elemen tinja yang besar (kasar) dibuang
- c) Tutup dengan gelas penutup
- d) Periksa dengan mikroskop pembesaran obyektif 40X

1.2

b. Pemeriksaan Konsentrasi Pengendapan (Sedimentasi)

Prinsip pengendapan menggunakan cairan yang memiliki berat jenis (BJ) yang lebih rendah dibandingkan dengan BJ telur cacing, sehingga telur cacing akan mengendap.

1) Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan adalah tinja dan akuades

2) Alat yang dipergunakan :

gelas beker, saringan teh, tabung sentrifuse dan sentrifugator, gelas obyek, gelas penutup dan mikroskop

3) Prosedur

- a) Tinja sebesar biji kemiri (\pm 3 gram) dimasukkan kedalam gelas beker, tambahkan akuades sampai konsentrasinya kira-kira 10%, kemudian aduk sampai homogen
- b) Saring memakai saringan teh untuk menyingkirkan bagian yang berukuran besar

- c) Masukkan kedalam tabung sentrifuge sampai $\frac{3}{4}$ volume tabung
- d) Sentrifuge dengan kecepatan 1.500 rpm selama 2 - 3 menit
- e) Tabung sentrifuge dikeluarkan dari dalam sentrifugator, supernatannya dibuang dengan cara dituangkan, sedimen yang ada didasar tabung diaduk sampai homogen
- f) Buatlah preparat seperti pemeriksaan langsung
- g) Periksa dengan mikroskop pembesaran obyektif 40X

2. Konsentrasi Pengendapan dengan Sodium Acetic Formaldehyde (SAF) / Metode Ritschi

a. Alat dan bahan

Alat yang diperlukan :

Corong, kain kasa, tabung sentrifuse, sentrifugator, gelas obyek, gelas penutup dan mikroskop

b. Bahan yang dipergunakan :

Larutan SAF, NaCl fisiologia dan ether

c. Prosedur

- 1) Tinja yang akan diperiksa sebelumnya telah disimpan (diawetkan) dalam larutan SAF
- 2) Kocok tinja, saring dengan kain kasa dan cairannya ditampung dalam tabung sentrifuse
- 3) Sentrifuse dengan kecepatan 2.000 rpm selama 3 menit
- 4) Supernatan dibuang, sedimen diencerkan (ditambah dengan 7 ml NaCl fisiologis dan 2 ml ether dan aduk sampai homogen
- 5) Sentrifuse dengan kecepatan 2.000 rpm selama 3 menit
- 6) Supernatannya dibuang, sedimen diperiksa seperti pemeriksaan tinja langsung

Hasil pemeriksaan tinja dengan metode konsentrasi sedimentasi, jika ditemukan telur cacing trematoda; untuk membedakan antara telur Fasciola spp dengan Paramphistomum spp (karena bentuk dan ukurannya sama) maka di-

perlu pemeriksaan Parfitt and Banks dengan metoda seperti berikut :

3. Metode Parfitt Dan Banksmetode

a. Tujuan

Untuk membedakan telur Fasciola sp dengan Paramphistomum sp

b. Prosedur

- 1) Ambil 2 gram tinja, taruh di dalam mortir
- 2) Tuangkan air pada tinja tersebut dan aduk hingga campur
- 3) Gunakan saring teh dan corong plastik untuk menuang cairan tinja ke dalam tabung reaksi sampai $\frac{3}{4}$ tabung
- 4) Tempatkan tabung pada rak, dan biarkan selama 10 menit
- 5) Setelah kelihatan ada endapan, cairan diatas endapan dibuang sehingga hanya tersisa endapannya saja
- 6) Tuangkan air pada endapan dalam tabung sampai $\frac{3}{4}$ tabung dan aduklah hingga campur
- 7) Tempatkan tabung pada rak dan biarkan selama 10 menit
- 8) Setelah kelihatan ada endapan, cairan diatas endapan dibuang sehingga hanya tersisa endapannya saja
- 9) Tetesi endapan dalam tabung dengan NaOH 10% 3 tetes
- 10) Tempatkan tabung pada rak dan tambahkan air sampei $\frac{3}{4}$ tabung kemudian aduklah
- 11) Setelah dibiarkan 10menit, cairan jernih diatas endapan dibuang hingga hanya tersisa endapannya
- 12) Tetesi endapan tinja dalam tabung dengan methylene blue 0,5% sebanyak 2 tetes dan aduklah
- 13) Kemudian endapan paling bawah disedot dengan pipet, taruh diatas objek gelas dan ditutup dengan deckglas
- 14) Periksa menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100X

Telur cacing *fasciola* sp. nampak berwarna kuning keemasan, sedangkan telur *Paramphistomum*.

c. Pemeriksaan Konsentrasi Pengapungan

Prinsip pengapungan, menggunakan cairan dengan berat jenis (BJ) yang lebih tinggi dibandingkan BJ telur, sehingga telur cacing akan mengapung.

Pemeriksaan tinja dengan Konsentrasi pengapungan, bisa menggunakan beberapa zat pengapung. Zat pengapung yang sering dipergunakan pada pemeriksaan tinja di laboratorium adalah : garam jenuh dan Sodium Acetic Formaldehyde (SAF)

4. Konsentrasi Pengapungan dengan Garam Jenuh

a. Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan adalah tinja, akuades dan larutan pengapung.

Alat yang dipergunakan antara lain : gelas beker, saringan teh, tabung sentrifuse dan sentrifugator, pipet pasteur, rak tabung reaksi, gelas obyek, gelas penutup dan mikroskop.

b. Prosedur

- 1) Tinja sebesar biji kemiri (\pm 3 gram) dimasukkan kedalam gelas beker, tambahkan akuades sampai konsentrasinya kira-kira 10%, kemudian aduk sampai homogen
- 2) Saring memakai saringan teh untuk menyingkirkan bagian yang berukuran besar
- 3) Masukkan kedalam tabung sentrifuge sampai $\frac{3}{4}$ volume tabung
- 4) Sentrifuge dengan kecepatan 1.500 rpm selama 2 - 3 menit
- 5) Tabung sentrifuge dikeluarkan dari dalam sentrifugator, supernatannya dibuang dengan cara dituangkan
- 6) Tambahkan larutan pengapung sampai $\frac{3}{4}$ volume tabung, aduk hingga homogen, kemudian dimasukkan lagi kedalam sentrifugator dan disentrifuge dengan kecepatan 1.500 rpm selama 2 - 3 menit

- 7) Tabung sentrifuge secara hati-hati dikeluarkan dari dalam sentrifugator dan selanjutnya ditaruh pada rak tabung reaksi dengan posisi tegak lurus
- 8) Tambahkan cairan pengapung secara perlahan-lahan dengan cara ditetesi menggunakan pipet pasteur sampai permukaan cairan cembung (penambahan cairan pengapung tidak boleh sampai tumpah).
- 9) Tunggu selama 1 – 2 menit dengan tujuan memberikan kesempatan telur cacing untuk mengapung kepermukaan
- 10) Ambil gelas penutup, kemudian disentuhkan pada permukaan cairan pengapung dan setelah itu tempelkan diatas gelas obyek
- 11) Periksa dengan mikroskop pembesaran obyektif 40X

c. Macam Larutan Pengapung

- 1) Larutan (Garam (NaCl) Jenuh, Magnesium sulfat (MgSO₄) dan Gula Jenuh), dapat mengapungkan telur cacing kelas Nematoda (kecuali *Metastrongylus* sp), Kestoda serta Ookista dan Kista dari Protozoa
- 2) Larutan (Potassium Mercuri Iodide, Seng Chlorida , dapat mengapungkan telur cacing kelas Nematoda, Kestoda dan Trematoda

5. Pemeriksaan Feses Kuantitatif

Pemeriksaan secara kuantitatif, bertujuan untuk meramalkan (memprediksi) Intensitas (berat sampai ringannya) infeksi cacing, ada beberapa metoda yang bisa digunakan.

Unud intensitas infeksi cacing diperiksa menggunakan metoda :

a. Stoll

1) Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan tinja, akuades sedangkan alat yang dipergunakan, timbangan, gelas ukur, gelas beker, saringan the, alat pengaduk magnetik, pipet toma, gelas obyek, gelas penutup dan mikroskop.

2) Prosedur

- a) Tinja ditimbang seberat 3 gram, masukkan kedalam gelas ukur
- b) Tambahkan akuades sampai volumenye menjadi 45 cc, diaduk hingga homogen dan kemudian disaring dengan saringan teh dan filtratnya ditampung dengan gelas beker
- c) Aduk dengan alat pengaduk magnetik, kemudian cairannya disedot sebanyak 0,15 cc dan ditetaskan diatas geles obyek dan ditutup dengan gelas penutup (mengingat filtrat yang akan diperiksa tidak cukup-hanya sekali tetes,
 - a. maka filtrat ditetaskan pada beberapa gelas obyek sampai habis, kemudian masing-masing ditutup dengan gelas penutup)
 - d) Periksa dengan mikroskop pembesarkan obyektif 40X

Total Telur Per Gram Tinja (TTPG) atau Total Telur Gram Tinja (TTGT) atau Telur Per Gram Tinja (TPG) atau Egg Per Gram (EPG) tinja didapat dengan melakukan perhitungan : total telur yang ditemukan pada semua gelas obyek X 100.

b. Metode Mc. Master

1) Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan tinja, akuades dan larutan pengapung, sedangkan alat yang dipergunakan, timbangan, gelas ukur, saringan teh, gelas beker, pengaduk magnetik, pipet pasteur, kamar hitung Mc Master dan mikroskop

2) Prosedur

- a) Tinja ditimbang seberat 2 gram, dimasukkan kedalam gelas ukur
- b) Tambahkan akuades sampai volumenya 30 cc, aduk sampai homogen
- c) Tambahkan lagi larutan garan jenuh sebanyak 30 cc (atau sampai volumenya menjadi 60 cc), kemudian

disaring dengan menggunakan saringan teh. Filtratnya ditampung dengan gelas beker

- d) Aduk dengan alat pengaduk magnetik, dengan menggunakan pipet pasteur cairan disedot kemudian dimasukkan kedalam kamar hitung Mc Master (kanan dan kiri) sampai memenuhi kamar hitung secarta hati-hati dan tidak boleh ada gelembung udara
- e) Periksa dengan mikroskop menggunakan pembesaran obyektif 40X
- f) Telur yang dihitung adalah semua telur yang ditemukan didalam area kamar hitung

$$L.L.P.G = \frac{\text{Besi hitung}}{\text{Volume hitung}} \times \frac{\text{Volume kamar hitung}}{\text{Volume kamar hitung}}$$

A. Pemeriksaan Darah

1. Pemeriksaan Langsung

Satu atau dua tetes darah yang masih segar diletakkan di atas gelas obyek, kemudian ditutup dengan cover glas. Diperiksa secara langsung dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x atau 400x. Dengan cara ini protozoa yang hidup dapat diamati.

2. Pemeriksaan dengan pewarnaan

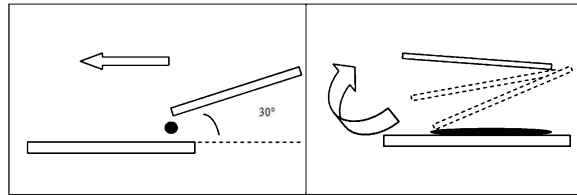
a. Pewarnaan Giemsa

- 1) Buat sediaan apus darah tipis berasal dari hewan hidup. Darah perifer diambil dari telinga atau ekor atau sayap (ayam). Di tempat yang akan diambil darahnya, terlebih dahulu dibersihkan dengan alkohol. Buat tusukan atau sayatan kecil pada pembuluh darah dengan jarum atau pisau silet
- 2) Dengan obyek glas pemalit diambil sebagian dari tetesan darah yang sudah ditampung. Sentuhkan obyek glas pemalit diatas obyek glas sediaan, biarkan darah mengalir lewat ruang diantara ujung obyek glas pemalit dengan obyek glas sediaan. Obyek glas

sediaan dipegang diantara ibujari dengan telunjuk tangan kiri dan obyek glas pemalit dipegang dengan tangan kanan dengan posisi kemiringan membentuk sudut 45°. Geser secara cepat obyek glas pemalit dengan gerakan langsung, hindari tekanan yang berlebihan

- 3) Keringkan apus darah dengan cara dikibas-kibaskan
 - 4) Fiksasi apus darah dalam methanol selama 3 menit (caranya : tuang methanol diatas obyek glas sediaan). Buang methanol lalu keringkan sediaan
 - 5) Warnai dengan giemsa 10% selama 20 - 30 menit. Dengan cara menuangkan zat warna diatas sediaan apus darah
 - 6) Cuci dengan air mengalir dari aliran ledeng yang kecil
 - 7) Keringkan di udara atau di inkubator
 - 8) Periksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x dan menambahkan minyak emersi
3. Pewarnaan Wright
- a. Sediaan apus darah tipis yang telah kering, ditetaskan larutan Wright dan diamkan selama 1 menit
 - b. Tambahkan aquades diatasnya sama banyak dengan larutan Wright, diamkan selama 3 menit (zat warna sekarang berwarna seperti logam berkilauan)
 - c. Cuci pada air mengalir, lalu keringkan. Untuk koleksi, sediaan darah ini dapat ditutup dengan cover glas dengan menambahkan Canada balsem
 - d. Periksa di bawah mikroskop
4. Pewarnaan terhadap sediaan apus darah teba
- a. Teteskan darah yang akan diperiksa di atas obyek glas, keringkan di udara
 - b. Tuangkan di atasnya $MgSO_4$ 0,1%, tunggu 5 - 10 menit
 - c. $MgSO_4$ yang telah kemerah-merahan dibuang. Cuci perlahan dengan air ledeng yang alirannya kecil

- d. Buang cairan yang ada di atas sediaan dan biarkan menetes
- e. Fiksasi dengan methyl alkohol selama 5 - 10 menit
- f. Teteskan larutan Giemsa (atau zat pewarna lainnya), tunggu 20-40 menit
- g. Cuci perlahan-lahan, keringkan. Lihat di bawah mikroskop



Preparat apus

BAB VI

UJI KUALITAS

MIKROBIOLOGI PANGAN

A. Dasar Teori

Mikroba dapat dijumpai pada berbagai jenis bahan makanan, baik makanan yang berbentuk padat maupun makanan yang berbentuk cair. Untuk mengetahui jumlah bakteri yang terkandung 1 gram sampel bahan makanan padat atau 1 ml bahan makanan cair yang diperiksa, maka perlu dilakukan pengenceran sampel tersebut. Hasil pengenceran ini kemudian diinokulasikan pada medium lempeng dan diinkubasikan. Setelah masa inkubasi, jumlah koloni bakteri dihitung dengan memperhatikan faktor pengencerannya.

Metode kuantitatif digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada suatu sampel, umumnya dikenal dengan Angka Lempeng Total (ALT). Uji Angka Lempeng Total (ALT) dan lebih tepatnya ALT aerob mesofil atau anaerob mesofil menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni (cfu) per ml/gram atau koloni/100ml. Cara yang digunakan antara lain dengan cara tuang, cara tetes, dan cara sebar (BPOM, 2008).

Prinsip pengujian Angka Lempeng Total menurut Metode Analisis Mikrobiologi (MA PPOM 61/MIK/06) yaitu pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah cuplikan diinokulasikan pada media lempeng agar dengan cara tuang dan diinkubasi pada suhu yang sesuai. Pada pengujian Angka Lempeng Total digunakan PDF (Pepton Dilution Fluid) sebagai pengencer sampel dan menggunakan PCA (Plate Count Agar) sebagai media padatnya.

Metode yang digunakan untuk menentukan jumlah mikroba dalam bahan pangan antara lain dengan metode permukaan. Agar steril terlebih dahulu dituangkan kedalam cawan petri dan dibiarkan membeku. Setelah membeku dengan

sempurna, kemudian sebanyak 0,1 ml contoh yang telah diencerkan di pipet pada permukaan agar tersebut. Sebuah batang gelas melengkung (hockey stick) dicelupkan kedalam alkohol 70% dan dipijarkan sehingga alkohol habis terbakar. Setelah dingin batang gelas melengkung tersebut digunakan untuk meratakan contoh diatas medium agar dengan cara memutarakan cawan petri diatas meja. Selanjutnya inkubasi dan perhitungan koloni dilakukan seperti pada metode penuangan, tetapi harus diingat bahwa jumlah contoh yang ditumbuhkan adalah 0,1 ml dan harus dimasukkan dalam perhitungan "Total Count" (Thayib dan Amar, 1989).

Metode hitungan cawan didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang dapat hidup akan berkembang menjadi satu koloni. Jadi jumlah koloni yang muncul pada cawan merupakan suatu indeks bagi jumlah organisme yang dapat hidup yang terkandung dalam sampel. Dan mencawakan hasil pengenceran tersebut. Setelah inkubasi, jumlah koloni masing-masing cawan diamati. Untuk memenuhi persyaratan statistik, cawan yang dipilih untuk penghitungan koloni ialah yang mengandung antara 30 sampai 300 koloni. Karena jumlah mikroorganismse dalam sampel tidak diketahui sebelumnya, maka untuk memperoleh sekurang-kurangnya satu cawan yang mengandung koloni dalam jumlah yang memenuhi syarat tersebut maka harus dilakukan sederatan pengenceran dan pencawanan.

Jumlah organisme yang terdapat dalam sampel asal ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni yang terbentuk dengan faktor pengenceran pada cawan yang bersangkutan. Cara ini yang paling umum digunakan untuk perhitungan jumlah mikrobia. Dasarnya ialah membuat suatu seri pengenceran bahan dengan kelipatan 10 dari masing-masing pengenceran diambil 1 cc dan dibuat taburan dalam petridish (pour plate) dengan medium agar yang macam caranya tergantung pada macamnya mikrobia. Setelah diinkubasikan dihitung jumlah koloni tiap petridish dapat ditentukan jumlah bakteri tiap cc atau gram contoh, yaitu dengan mengalikan

jumlah koloni dengan kebalikan pengencerannya, misalnya untuk pengenceran 1:10.000 terdapat 45 koloni bakteri maka tiap cc atau gram bahan mengandung 450.000 bakteri. Untuk membantu menghitung jumlah koloni dalam petridish dapat digunakan colony counter yang biasanya dilengkapi electronic register.

B. Alat Dan Bahan

1. Alat
 - a. Laminar Air Flow (LAF)
 - b. Lampu spiritus
 - c. Inkubator
 - d. Pipet ukuran 10 ml, 1 ml, dan 0.1 ml
 - e. Rak tabung reaksi
 - f. Koloni counter
2. Bahan :
 - a. Sampel bahan makanan padat 10 gram
 - b. Sampel bahan makanan cair 10 ml
 - c. Medium lempeng PCA 6 buah
 - d. Larutan pepton 0.1% sebanyak 90 ml
 - e. Larutan pepton 0.1% @9ml sebanyak 5 tabung
 - f. Alkohol 70%
 - g. Sabun cuci
 - h. Korek api

C. Prosedur Kerja

1. Menyiapkan 1 labu Erlenmeyer berisi 90 ml air pepton 0,1 % dan 5 tabung reaksi berisi air pepton 0,1% @ 9 ml, kemudian memberi kode A, B, C, D, E, F.
2. Menyiapkan 6 buah medium lempeng yang diberi kode A, B, C, D, E, F.
3. Menyediakan 10 ml bahan makanan cair yaitu saus, kemudian memasukkan ke dalam 90 ml air pepton 1,0 % ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian mengocok labu Erlenmeyer.

4. Mengambil 1 ml suspensi kemudian memasukkan ke dalam tabung reaksi.
5. Mengambil 1 ml suspensi kemudian memasukkan dalam tabung reaksi A, kemudian kocok dengan memutar diantara kedua tangan.
6. Mengambil 1 ml dalam tabung A, dan memasukkan ke dalam tabung reaksi B, kemudian kocok dengan memutar diantara kedua tangan.
7. Melakukan pengenceran bertahap tersebut sampai dengan tabung F, sehingga didapat suspensi dengan tingkat pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} .
8. Secara aseptik mengambil 0,1 ml dari masing-masing suspensi, lalu percikkan di atas permukaan medium lempeng dengan kode yang sesuai. Menutup cawan petri berisi medium lempeng tersebut, kemudian memutar-mutar cawan petri tersebut sehingga percikan inokulum tersebar merata pada permukaan medium lempeng.
9. Menginkubasi biakan pada medium lempeng tersebut pada suhu 37°C. Setelah 1*24 jam atau 2*24 jam, mengamati dan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada medium lempeng tersebut. Memilih medium yang ditumbuhi 30-300 koloni bakteri. Menghitung Angka Lempeng Total (ALT) koloni bakteri yang terdapat dalam tiap gram sampel bahan makanan cair dengan berdasarkan tingkat pengencerannya, dengan rumus :

D. Analisa Data

Berdasarkan data pengamatan dapat diketahui bahwa pada makanan yang telah diencerkan dengan pepton kemudian ditunggu hingga 2x24 jam ditemukan sejumlah bakteri, meskipun seharusnya masa inkubasi sampel adalah 1x24 jam. Hal ini dikarenakan setelah ditunggu hingga 1x24 jam sampel tidak menunjukkan adanya koloni bakteri sehingga waktu untuk inkubasi ditambah untuk meyakinkan ada atau tidaknya koloni bakteri pada sampel makanan tersebut.

Pada tingkat pengenceran 10^{-1} , jumlah koloni bakteri yang ditemukan adalah 6 koloni. Pada tingkat pengenceran 10^{-2} , jumlah koloni yang ditemukan adalah 4 koloni. Pada pengenceran 10^{-3} , koloni yang ditemukan adalah 2 koloni. Pada pengenceran 10^{-4} , koloni yang ditemukan adalah 2 koloni. Pada pengenceran 10^{-5} , koloni yang ditemukan adalah 2 koloni dan pada pengenceran terakhir yaitu pada tingkat pengenceran 10^{-6} , koloni yang ditemukan adalah 4 koloni bakteri. Jumlah keseluruhan bakteri yang ditemukan dari tingkat pengenceran terendah (10^{-1}) hingga tingkat pengenceran tertinggi (10^{-6}) berjumlah 20 koloni bakteri.

Jumlah tersebut mempengaruhi perhitungan ALT koloni. Koloni yang ditemukan pada praktikum ini < 30 sehingga ALT koloni yang dihitung adalah dari koloni yang ada pada tingkat pengenceran terendah yaitu 10^{-1} . ALT koloni bakteri dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

E. Diskusi

1. Berapakah Angka Lempeng Total koloni bakteri dalam tiap gram atau mililiter sampel bahan makanan yang diperiksa (cfu/g atau cfu/ml)?

Jawab: Karena jumlah koloni yang ditemukan pada praktikum ini < 30 , sehingga ALT koloni yang dihitung adalah dari koloni yang ada pada tingkat pengenceran terendah yaitu 10^{-1} . ALT koloni bakteri dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

2. Bagaimanakah kualitas bahan makanan yang telah diperiksa berdasarkan Angka Lempeng Total koloni bakteri berdasarkan ketentuan DIRJEN Pengawasan Obat dan Makanan?

Jawab: Berdasarkan data pengamatan dan analisis data diketahui bahwa nilai ALT bakteri dari sampel makanan yang digunakan (kue mari) adalah 6×10^2 cfu/g, sedangkan nilai ALT biskuit sejenis yaitu biskuit untuk anak-anak menurut BPOM (2005) adalah 1×10^4 cfu/g. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai ALT bakteri dari sampel lebih kecil dari nilai standar ALT dari makanan tersebut

yang ditentukan oleh BPOM, sehingga makanan tersebut masih layak atau bisa dikonsumsi karena berdasarkan BPOM (2005), makanan yang mengandung cemaran baik biologis yaitu camaran mikroba ataupun cemaran kimia yang melampaui ambang batas maksimal yang telah ditetapkan adalah pangan tercemar. Sedangkan sampel yang diuji nilai ALT bakterinya kurang dari ambang batas maksimal sehingga dapat dikatakan bahwa makanan yang diuji (kue mari) memiliki kualitas yang baik.

3. Faktor-faktor apa saja yang mempengaruhi terjadinya kontaminasi bakteri dalam bahan makanan?

Jawab: Faktor yang mempengaruhi terjadinya kontaminasi bakteri adalah sbb:

- a. Adanya bakteri tanah yang dapat membentuk spora yang melekat pada bahan segar sehingga tahan saat dilakukan pemanasan.
- b. Bahan lain yang digunakan sebagai campuran, sudah ada bakterinya.
- c. Peralatan yang digunakan saat mengolah makanan tidak steril.
- d. Bakteri bisa saja berasal dari pekerja pabrik, penjual makanan maupun konsumen.
- e. Makanan sudah disimpan dalam waktu yang lama.
- f. Kondisi tempat penyimpanan makanan yang tidak sesuai.
- g. Kelembapan dari makanan tersebut. Makanan yang kering kemungkinan terkontaminasi bakteri lebih kecil daripada yang basah.
- h. Keasaman dari bahan makanan. Kebanyakan bakteri tidak dapat hidup pada medium yang memiliki pH <5

BAB VII

UJI KUALITAS MIKROBIOLOGI AIR

A. Tujuan

Untuk Mengetahui Kualitas Air

B. Landasan Teori

Air merupakan komponen esensial bagi kehidupan jasad hidup. Akan tetapi dapat juga merupakan suatu substansi yang membawa malapetaka, karena air dapat membawa mikroorganisme patogen dan zat-zat kimia yang bersifat racun (Tarigan, 1988). Bakteri coliform sebagai suatu kelompok dicirikan sebagai bakteri berbentuk batang, gram negatif, tidak membentuk spora, aerobik, dan anaerobik fakultatif yang memfermentasi laktose dengan menghasilkan asam dan gas dalam waktu 48 jam pada suhu 35° C (Pelczar.et al.,1988). Istilah “mikroorganisme indikator” sebagaimana digunakan dalam analisis air mengacu pada sejenis mikroorganisme yang kehadirannya di dalam air merupakan bukti bahwa air tersebut terpolusi oleh bahan tinja dari manusia atau hewan berdarah panas, artinya terdapat peluang bagi berbagai macam organisme patogenik,yang secara berkala terdapat dalam saluran pencernaan, untuk masuk ke dalam usus. Beberapa ciri penting suatu organisme indikator ialah :

1. Terdapat dalam air tercemar dan tidak ada dalam air yang tidak tercemar.
2. Terdapat dalam air bila ada bakteri pathogen.
3. Jumlah mikroorganisme indikator berkorelasi dengan kadar polusi.
4. Mempunyai kemampuan bertahan hidup yang lebih besar daripada bakteri patogen.
5. Mempunyai sifat yang seragam dan mantap.
6. Tidak berbahaya bagi manusia dan hewan.
7. Terdapat dalam jumlah yang lebih banyak daripada bakteri patogen.

8. Mudah dideteksi dengan teknik-teknik laboratorium yang sederhana.

Diantara organisme-organisme yang dipelajari, yang hampir memenuhi semua persyaratan suatu organisme indikator yang ideal ialah *Escherichia coli* dan kelompok bakteri coli lainnya. Bakteri-bakteri tersebut dianggap sebagai indikator polusi tinja yang dapat diandalkan (Pelczar.et al.,19-88).

1. Sejumlah bakteri dianggap sebagai bakteri pengganggu dalam air karena menimbulkan bau, warna, dan rasa, di samping juga membentuk endapan persenyawaan tak dapat larut di dalam pipa-pipa sehingga mengurangi atau menyumbat aliran air. Aksi merusak pada beberapa mikroorganisme adalah sebagai berikut : Bakteri pembuat lendir: menghasilkan keadaan berlendir Bakteri besi : mengubah persenyawaan besi yang dapat larut menjadi bentuk yang tak dapat larut yang akan menghambat aliran air dalam pipa. Bakteri sulfur : Membentuk asam sulfat dengan hidrogen sulfide, yang dapat membuat air menjadi sangat asam dan berbau tidak enak. Algae : Menyebabkan kekeruhan, perubahan warna, serta bau dan rasa tidak enak (Pelczar.et al.,1988).

Metode MPN terdiri dari tiga tahap, yaitu uji pendugaan (presumptive test), uji penetapan (confirmed test), dan uji kelengkapan (completed test). Dalam uji tahap pertama, keberadaan coliform masih dalam tingkat probabilitas rendah; masih dalam dugaan. Uji ini mendeteksi sifat fermentatif coliform dalam sampel. Karena beberapa jenis bakteri selain coliform juga memiliki sifat fermentatif, diperlukan uji konfirmasi untuk mengetes kembali kebenaran adanya coliform dengan bantuan medium selektif diferensial. Uji kelengkapan kembali meyakinkan hasil tes uji konfirmasi dengan mendeteksi sifat fermentatif dan pengamatan mikroskop terhadap ciri-ciri coliform: berbentuk batang, Gram negatif, tidak-berspora

(Fardiaz,1989).

Output metode MPN adalah nilai MPN. Nilai MPN adalah perkiraan jumlah unit tumbuh (growth unit) atau unit pembentuk-koloni (colony-forming unit) dalam sampel. Namun, pada umumnya, nilai MPN juga diartikan sebagai perkiraan jumlah individu bakteri. Satuan yang digunakan, umumnya per 100 mL atau per gram. Jadi misalnya terdapat nilai MPN 10/g dalam sebuah sampel air, artinya dalam sampel air tersebut diperkirakan setidaknya mengandung 10 coliform pada setiap gramnya. Makin kecil nilai MPN, maka air tersebut makin tinggi kualitasnya, dan makin layak minum. Metode MPN memiliki limit kepercayaan 95 persen sehingga pada setiap nilai MPN, terdapat jangkauan nilai MPN terendah dan nilai MPN tertinggi (FDA, 1989).

Bakteri coliform adalah bakteri indikator keberadaan bakteri patogenik lain. Lebih tepatnya, sebenarnya, bakteri coliform fekal adalah bakteri indikator adanya pencemaran bakteri patogen. Penentuan coliform fekal menjadi indikator pencemaran dikarenakan jumlah koloninya pasti berkorelasi positif dengan keberadaan bakteri patogen. Selain itu, mendeteksi Coliform jauh lebih murah, cepat, dan sederhana daripada mendeteksi bakteri patogenik lain. Contoh bakteri coliform adalah, *Esherichia coli* dan *Entereobacter aerogenes*. Jadi, coliform adalah indikator kualitas air. Makin sedikit kandungan coliform, artinya, kualitas air semakin baik (Friedheim, 2001).

Banyaknya kontaminan dalam air memerlukan standar tertentu untuk menjamin kebersihannya. Air yang terkontaminasi oleh bakteri patogen saluran cerna sangat berbahaya untuk diminum. Hal ini dapat dipastikan dengan penemuan organisme yang ada dalam tinja manusia atau hewan dan yang tidak pernah terdapat bebas di alam. Ada beberapa organisme yang termasuk kategori ini, yaitu bakteri coliform (*E. coli*), *Enterococcus faecalis*, *Clostridium* sp. Di Indonesia, bakteri indikator air terkontaminasi adalah *E. coli* (Gause, G. F. 1946).

Terdapatnya bakteri coliform dalam air minum dapat menjadi indikasi kemungkinan besar adanya organisme patogen lainnya. Keberadaan *E. coli* dalam air dapat menjadi indikator adanya pencemaran air oleh tinja. *E. coli* digunakan sebagai indikator pemeriksaan kualitas bakteriologis secara universal dalam analisis dengan alasan; a) *E. coli* secara normal hanya ditemukan di saluran pencernaan manusia (sebagai flora normal) atau hewan mamalia, atau bahan yang telah terkontaminasi dengan tinja manusia atau hewan; jarang sekali ditemukan dalam air dengan kualitas kebersihan yang tinggi, b) *E. coli* mudah diperiksa di laboratorium dan sensitivitasnya tinggi jika pemeriksaan dilakukan dengan benar, c) Bila dalam air tersebut ditemukan *E. coli*, maka air tersebut dianggap berbahaya bagi penggunaan domestik, d) Ada kemungkinan bakteri enterik patogen yang lain dapat ditemukan bersama-sama dengan *E. coli* dalam air tersebut (Gause, G. F. 1946).

Bakteri pembusuk ini dimasukkan ke dalam golongan bakteri Coliform, salah satu yang termasuk didalamnya adalah *Escherichia coli*. Bakteri coliform ini menghasilkan zat ethionine yang pada penelitian menyebabkan kanker. Bakteri-bakteri pembusuk ini juga memproduksi bermacam-macam racun seperti Indole, skatole yang dapat menimbulkan penyakit bila berlebih didalam tubuh (Gause, G.F.1946).

Bakteri coliform merupakan parameter mikrobiologis terpenting kualitas air minum. Kelompok bakteri coliform terdiri atas *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, dan bakteri lainnya. Meskipun jenis bakteri ini tidak menimbulkan penyakit tertentu secara langsung, keberadaannya di dalam air minum menunjukkan tingkat sanitasi rendah. Oleh karena itu, air minum harus bebas dari semua jenis coliform. Semakin tinggi tingkat kontaminasi bakteri coliform, semakin tinggi pula risiko kehadiran bakteri-bakteri patogen lain yang biasa hidup dalam kotoran manusia dan hewan. Salah satu contoh

bakteri pathogen yang kemungkinan terdapat dalam air terkontaminasi kotoran manusia atau hewan berdarah panas-adalah Shigella, yaitu mikroba penyebab gejala diare, demam, kram perut, dan muntah-muntah (Official Chemical Method, 1979).

Jenis bakteri coliform tertentu, misalnya E coli O:157:H7, bersifat patogen dan juga dapat menyebabkan diare atau diare berdarah, kram perut, mual, dan rasa tidak enak badan (Dad,2000). Tahapan dalam uji kualitas air menggunakan MPN: Uji Penduga (Presumptive test) Merupakan tes pendahuluan tentang ada tidaknya kehadiran bakteri coliform berdasarkan terbentuknya asam dan gas yang disebabkan oleh fermentasi laktosa oleh bakteri golongan coli. Terbentuknya asam dilihat dari kekeruhan pada media laktosa, dan gas yang dihasilkan dapat dilihat dalam tabung Durham berupa gelembung udara. Tabung dinyatakan positif jika terbentuk gas sebanyak 10% atau lebih dari volume di dalam tabung Durham. Banyaknya kandungan bakteri coliform dapat dilihat dengan menghitung tabung yang menunjukkan reaksi positif terbentuk asam dan gas dan dibandingkan dengan tabel MPN.

2. Uji Penetapan (Confirmed Test)

Hasil uji dugaan dilanjutkan dengan uji ketetapan. Dari tabung yang positif terbentuk asam dan gas terutama pada masa inkubasi 1 x 24 jam, suspensi ditanamkan pada media Eosin Methylen Biru Agar (EMBA) secara aseptik dengan menggunakan jarum inokulasi. Koloni bakteri Escherichia coli tumbuh berwarna merah kehijauan dengan kilat metalik atau koloni berwarna merah muda dengan lendir untuk kelompok coliform lainnya.

3. Uji Pelengkap (Completed Test)

Pengujian selanjutnya dilanjutkan dengan uji kelengkapan untuk menentukan bakteri Escherichia coli. Untuk mengetahui bentuk pada bakteri yang akan diteliti perlu dilakukan pewarnaan bakteri (pewarnaan Gram).

Dalam proses ini, olesan bakteri yang sudah terfiksasi dikenai larutan-larutan seperti zat pewarna kristal violet, larutan iodium, larutan alkohol (bahan pemucat), dan zat pewarna tandingannya berupa zat warna safranin. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan kristal violet karena kristal violet memiliki sifat alkalin yang mampu mengikat sitoplasma bakteri yang bersifat negatif. Bakteri yang terwarnai dengan metode ini dibagi menjadi dua kelompok, yaitu bakteri Gram Positif dan bakteri Gram Negatif. Bakteri Gram positif akan mempertahankan zat pewarna kristal violet dan karenanya akan tampak berwarna ungu tua di bawah mikroskop. Adapun bakteri gram negatif akan kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi zat pewarna tandingannya yaitu dengan zat pewarna safranin akan tampak berwarna merah. Perbedaan warna ini disebabkan oleh perbedaan dalam struktur kimiawi dinding selnya.

4. Pewarnaan gram pada uji pelengkap

Pewarnaan Gram atau metode Gram adalah suatu metode untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar, yakni gram-positif dan gram-negatif, berdasarkan sifat kimia dan fisik dinding sel. Metode ini diberi nama berdasarkan penemunya, ilmuwan Denmark Hans Christian Gram (1853–1938) yang mengembangkan teknik ini pada tahun 1884 untuk membedakan antara *Pneumokokus* dan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Dengan metode pewarnaan Gram, bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif berdasarkan reaksi atau sifat bakteri terhadap cat tersebut. Reaksi atau sifat bakteri tersebut ditentukan oleh komposisi dinding selnya. Oleh karena itu, pengecatan Gram tidak bisa dilakukan pada mikroorganisme yang tidak mempunyai dinding sel seperti *Mycoplasma sp.* Contoh bakteri yang tergolong bakteri tahan asam, yaitu dari genus *Mycobacterium* dan beberapa spesies tertentu dari genus

Nocardia. Bakteri-bakteri dari kedua genus ini diketahui memiliki sejumlah besar zat lipodial (berlemak) di dalam dinding selnya sehingga menyebabkan dinding sel tersebut relatif tidak permeabel terhadap zat-zat warna yang umum sehingga sel bakteri tersebut tidak terwarnai oleh metode pewarnaan biasa, seperti pewarnaan sederhana atau Gram. Dalam pewarnaan gram diperlukan empat reagen yaitu: Zat warna utama (Kristal Violet) Mordan (larutan Iodin) yaitu senyawa yang digunakan untuk mengintensifkan warna utama. Pencuci / peluntur zat warna (alkohol / aseton) yaitu solven organik yang digunakan untuk melunturkan zat warna utama. Zat warna kedua / cat penutup (safranin) digunakan untuk mewarnai kembali sel-sel yang telah kehilangan cat utama setelah perlakuan dengan alkohol.

Bakteri Gram-negatif adalah bakteri yang tidak mempertahankan zat warna metil ungu pada metode pewarnaan Gram. Bakteri gram-positif akan mempertahankan zat warna metil ungu gelap setelah dicuci dengan alkohol, sementara bakteri gram-negatif tidak. Pada uji pewarnaan Gram, suatu pewarna penimbal (counterstain) ditambahkan setelah metil ungu, yang membuat semua bakteri gram-negatif menjadi berwarna merah atau merah muda. Pengujian ini berguna untuk mengklasifikasikan kedua tipe bakteri ini berdasarkan perbedaan struktur dinding sel mereka.

5. Pengecatan gram dilakukan dalam 4 tahap yaitu
 - a. Pemberian cat warna utama (cairan kristal violet) berwarna ungu.
 - b. Pengintensifan cat utama dengan penambahan larutan mordan JKJ.
 - c. Pencucian (dekolorisasi) dengan larutan alkohol asam.
 - d. Pemberian cat lawan yaitu cat warna safranin

Perbedaan dasar antara bakteri gram positif dan negatif adalah pada komponen dinding selnya. Kompleks

zat iodine terperangkap antara dinding sel dan membran sitoplasma organisme gram positif, sedangkan penyingkiran zat lipida dari dinding sel organisme gram negatif dengan pencucian alkohol memungkinkan hilang dari sel. Bakteri gram positif memiliki membran tunggal yang dilapisi peptidoglikan yang tebal (25-50nm) sedangkan bakteri negative lapisan peptidoglikogennya tipis (1-3 nm). Sifat bakteri terhadap pewarnaan Gram merupakan sifat penting untuk membantu determinasi suatu bakteri. Beberapa perbedaan sifat yang dapat dijumpai antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif yaitu:

Ciri-ciri bakteri gram negatif yaitu:

1. Struktur dinding selnya tipis, sekitar 10 - 15 nm, berlapis tiga atau multilayer.
2. Dinding selnya mengandung lemak lebih banyak (11-22%), peptidoglikan terdapat didalam
3. lapisan kaku, sebelah dalam dengan jumlah sedikit \pm 10% dari berat kering, tidak mengandung asam tekoat.
4. Kurang rentan terhadap senyawa penisilin.
5. Pertumbuhannya tidak begitu dihambat oleh zat warna dasar misalnya kristal violet.
6. Komposisi nutrisi yang dibutuhkan relatif sederhana.
7. Tidak resisten terhadap gangguan fisik.
8. Resistensi terhadap alkali (1% KOH) lebih pekat
9. Peka terhadap streptomisin
10. Toksin yang dibentuk Endotoksin

Ciri-ciri bakteri gram positif yaitu:

- a. Struktur dinding selnya tebal, sekitar 15-80 nm, berlapis tunggal atau monolayer.
- b. Dinding selnya mengandung lipid yang lebih normal (1-4%), peptidoglikan ada yang sebagai lapisan tunggal. Komponen utama merupakan lebih dari 50% berat ringan. Mengandung asam tekoat.
- c. Bersifat lebih rentan terhadap penisilin.
- d. Pertumbuhan dihambat secara nyata oleh zat-zat warna seperti ungu kristal.

- e. Komposisi nutrisi yang dibutuhkan lebih rumit.
- f. Lebih resisten terhadap gangguan fisik.
- g. Resistensi terhadap alkali (1% KOH) larut
- h. Tidak peka terhadap streptomisin
- i. Toksin yang dibentuk Eksotoksin Endotoksin

Menurut Supardi dan Sukanto (1999), bakteri coliform dapat dibedakan menjadi dua bagian, yaitu.

1. Coliform fekal, misalnya *E. coli*, merupakan bakteri yang berasal dari kotoran hewan atau manusia.
2. Coliform non-fekal, misalnya *E. aeruginosa*, biasanya ditemukan pada hewan atau tanaman yang telah mati. Beberapa macam mikroorganisme patogen yang mengkontaminasi air, antara lain:
 - a. *Salmonella typhi*, adalah bakteri gram negatif berbentuk batang, tidak membentuk spora namun bersifat patogen, baik pada manusia ataupun hewan. Dapat menyebabkan demam typhoid (typhoid fever). Sebenarnya penyakit demam typhoid dapat dipindahkan dengan perantara makanan yang terkontaminasi dan dengan kontak langsung dengan si penderita. Namun yang paling umum sebagai fakta penyebab adalah air. Air dapat terkontaminasi oleh bakteri ini karena kesalahan metode pemurnian air atau kontaminasi silang (Cross contaminant) antara pipa air dengan saluran air limbah (Tarigan, 1988).
 - b. *Clostridium prefringens* adalah bakteri gram positif pembentuk spora yang sering ditemukan dalam usus manusia, tetapi kadang-kadang juga ditemukan di luar usus manusia (tanah, debu, lingkungan dan sebagainya).
 - c. *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang yang tidak membentuk spora dan merupakan flora normal di dalam usus. *E. coli* termasuk bakteri komensal yang umumnya bukan patogen penyebab penyakit namun bilamana

jumlahnya melampaui normal maka dapat pula menyebabkan penyakit. *E. Coli* merupakan salah satu bakteri coliform.

- d. *Leptospira* merupakan bakteri berbentuk spiral dan lentur yang merupakan penyebab penyakit leptosporosis. Penyakit ini merupakan penyakit zoonosis atau penyakit hewan yang bisa berpindah ke manusia. Pada umumnya penyebaran bakteri ini adalah pada saat banjir.
- e. *Shigella dysentriae* adalah basil gram negatif, tidak bergerak. Bakteri ini menyebabkan penyakit disentri (mejan). Spesies lain seperti *S. Sonnei* dan *S. Paradysentriae* juga menyebabkan penyakit disentri (Dwijoseputro, 1976).
- f. *Vibrio comma* adalah bakteri yang berbentuk agak melengkung, gram negatif dan monotrik. Bakteri ini menyebabkan penyakit kolera yang endemis di Indonesia dan sewaktu-waktu berjangkit serta memakan banyak korban (Dwijoseputro, 1976)

Alat dan bahan

Alat

1. Tabung reaksi
2. Bunsen
3. Tabung Durham
4. Mikroskop
5. Gelas beaker
6. Objek glass
7. Pipet tetes
8. Cawan petri
9. Autoklaf
10. Inkubator
11. Petridish
12. Rak tabung reaksi
13. Cover glass
14. Jarum Inokulasi/Ose

Bahan

1. Es batu di warung
2. LB (Laktosa Broth)
3. Safranin
4. EMBA (Eosin Metilen Blue Agar)
5. Aquades
6. Kristal violet
7. Alkohol 70 %
8. Minyak Emersi
9. Kapas
10. Korek api

C. Prosedur Kerja

1. Uji Pendugaan (Presumptive test)
 - a. Menyiapkan 10 buah tabung reaksi , 3 diantara tabung reaksi tersebut berukuran lebih besar
 - b. Membagi 10 tabung tersebut menjadi 3 kelompok. Tiga tabung pertama diberi label C0,1. Tiga tabung ke dua diberi label C1. Dan 3 tabung ke 3 yang memiliki ukuran yang lebih besar diberi label C10. Dan satu tabung yang tersisa digunakan sebagai kontrol.
 - c. Memasukkan laktosa ke dalam tabung reaksi yang telah berisi label tadi masing-masing sebanyak 10 ml laktosa.
 - d. Mengisi tabung durham dengan laktosa yang sudah dimasukkan ke dalam tabung tadi hingga tabung durham penuh.
 - e. Memasukkan tabung durham ke dalam tabung reaksi yang telah terisi laktosa tadi, kemudian langsung ditutup dengan kapas. Apabila timbul gelembung saat tabung durham dimasukkan, ulangi lagi langkah seperti pada nomor 3 dan 4.
 - f. Mengambil 10 tabung tadi kemudian meneteskan satu tetes atau sekitar 0,1 ml es batu yang telah dicairkan ke dalam tabung yang diberi label C0,1 kemudian langsung ditutup kembali dengan kapas. Kemudian 1 ml atau 10 tetes es batu yang telah dicairkan ditetesi ke dalam

tabung yang diberi label C1. Menetesi 10 ml es batu yang telah dicairkan ke dalam tabung yang diberi label C10 . Tabung control didiamkan tanpa diberi perlakuan.

- g. Memasukkan ke sepuluh tabung ke dalam inkubator pada suhu 35°C dan membiarkan selama 24 jam.

D. Uji Penetapan (Confirmed test)

1. Mengambil tabung reaksi yang terdapat gelembung dan keruh paling banyak dari inkubator yang telah diinkubasi selama 24-48 jam.
2. Menuangkan EMBA (Eosin Methylen Blue Agar) ke dalam cawan petri. Kemudian tunggu hingga setengah kering.
3. Mensuspensi tabung reaksi positif mengandung bakteri koliform dengan metode tuang ke dalam cawan petri. Kemudian ratakan dengan membentuk angka delapan.
4. Tunggu hingga kering dan balik cawan petri. Cawan petri kemudian dibungkus dengan kertas dan dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam.

E. Uji Kelengkapan (Completed test)

1. Menyiapkan alat dan bahan yang telah disterilisasi untuk digunakan dalam pewarnaan gram.
2. Menyalakan bunsen, mensterilisasi jarum ose, kemudian menetes objek glass dengan 1 tetes aquades.
3. Mengambil sampel bakteri pada permukaan medium secara hati-hati dengan menggoreskan jarum ose. Kemudian mensuspensikan bakteri yang telah diambil dengan menggunakan ose dan memfiksasinya.
4. Menetesi dengan 1 tetes kristal violet, diamkan selama 2 menit. Kemudian membilas dengan menggunakan aquades dan keringkan.
5. Menetesi kembali dengan 1 tetes iod, diamkan selama ½ menit. Kemudian membilas dengan menggunakan alkohol 70 % dan keringkan.
6. Menetesi dengan 1 tetes safranin, diamkan selama ½ menit. Kemudian bilas dengan menggunakan aquades dan keringkan.

7. Menetesi dengan menggunakan 1 tetes minyak emersi dan mengamati di bawah mikroskop .
8. Memperhatikan bentuk bakteri yang terlihat.

BAB VIII

PEMBIAKAN JAMUR

A. Tujuan

1. Mempelajari sifat-sifat koloni jamur pada media agar
2. Memahami cara mengisolasi suatu bakteri untuk mendapatkan biakan murni
3. Mengidentifikasi jenis jamur yang tumbuh

B. Dasar Teori

Mikroorganisme dilingkungan mana saja pada umumnya terdapat dalam populasi campuran dalam kehidupan berkoloni, sangat jarang suatu mikroorganisme ditemukan sebagai spesies tunggal. Untuk mengidentifikasi suatu mikroorganisme memerlukan suatu populasi yang terdiri dari suatu macam spesies mikroorganisme mana saja sehingga spesies tersebut harus dipisahkan dari organism lain dan ditumbuhkan menjadi biakan murni.

Mikroorganisme ini juga tidak memerlukan tempat yang besar, mudah ditumbuhkan dalam media buatan, dan tingkat pembiakannya relative cepat. Oleh karena aktivitasnya tersebut, maka setiap mikroorganisme memiliki peranan dalam kehidupan, baik yang merugikan maupun yang menguntungkan.

Jamur yang mikroskopis seringkali kita jumpai di udara terbuka dan biasanya hidup sebagai safropit pada makanan-makanan yang yang disimpan dalam waktu yang lama. Jamur hidup berkoloni, setiap koloni jamur dapat diidentifikasi dengan melihat warna koloni dan melihat bentuk jamur di bawah mikroskop.

C. Prosedur Kerja

Alat dan Bahan:

1. jarum inokulasi
2. media TA

3. aquadest
4. pembakaran spirtus
5. pipet tetes
6. incubator
7. cawan petri
8. aotuklaf

D. Prosedur Kerja

Pembiakan jamur menggunakan media TA

1. Untuk jamur dari udara, bukalah cawan petri agar di atas meja selama satu jam kemudia tutup kembali.
2. Untuk jamur dari makanan, haluskan beberapa bahan makanan kemudian taburkan diatas cawan.
3. Semua cawan diinkubasi pada suhu 22-30°C selama 4x 24 jam. Amati setiap hari koloni mikroorganisme tumbuh.
4. Identifikasi setiap koloni mikroorganisme yang tumbuh dengan melihat warna koloni dan bentuk jamur di bawah mikroskop.

BAB IX

IDENTIFIKASI JAMUR

A. Tujuan Praktikum

1. Untuk dapat mengamati ciri-ciri koloni jamur
2. Untuk dapat mengidentifikasi dan menentukan jenis jamur yang diamati

B. Teori Dasar

Jamur banyak terdapat dilingkungan yang bentuknya bermacam-macam, ada yang seperti bola, gada, payung dan sebagainya. Jamur berada pada tempat yang lembab dan mengandung sisa-sisa organik, pada kayu yang lapuk, tempat buangan sampah, terutama banyak tumbuh ketika musim hujan. Bila dibandingkan dengan tumbuhan tingkat tinggi, jamur memiliki ciri sebagai berikut : tubuh buahnya merupakan thallus, sedangkan tumbuhan bagian-bagiannya telah memiliki akar, batang dan daun yang sebenarnya.

Jamur adalah mikroorganisme eukariotik. Jamur tidak hidup secara autotrof karena tidak memiliki klorofil. Jamur hidup secara heterotrof dengan menguraikan bahan-bahan organik yang ada di lingkungannya. Misalnya hidup secara saprofit artinya hidup dari penguraian sampah-sampah organik (seperti bangkai, sisi tumbuhan, makanan, kayu lapuk) menjadi bahan-bahan organik. Jamur dapat pula hidup sebagai parasit dengan mendapatkan bahan organik dari inangnya (kulit manusia, binatang dan tumbuhan). Selain itu ada pula jamur yang hidup secara simbiotik yakni hidup bersama-sama dengan organisme lain agar dapat saling menguntungkan (simbiosis mutualisme) seperti jamur yang hidup bersama ganggang membentuk lumut kerak.

Jamur tidak berklorofil, dinding sel jamur mengandung kitin. Kitin adalah polisakarida yang terdapat pada kulit kepiting dan udang-udangan (jika dipanaskan berubah warna menjadi kemerahan). Jamur multiseluler terbentuk dari rangkaian sel

yang membentuk benang seperti kapas yang disebut hifa. Dilihat dari mikroskop hifa ada yang bersekat-sekat melintang. Tiap-tiap sekat mempunyai satu sel dengan satu inti atau beberapa inti sel. Ada pula hifa yang tidak bersekat melintang dan mengandung banyak inti. Kumpulan hifa membentuk jaringan benang yang disebut miselium.

(<http://kambing.ui.ac.id/bebas/v12/sponsor/Sponsor/Pendamping/Praweda/Biologi/0024%20Bio%201-5a.htm>).

Jamur berkembangbiak dengan dengan spora dan umumnya secara seksual ataupun aseksual. Semula jamur dianggap sebagai tumbuhan. Klasifikasi yang memasuki fungi kedalam dunia karena beralasan karena keasaman dalam hidupnya, habitat hidupnya pada umumnya di tanah. Fungi yang menghasilkan tubuh buah seperti hal pertumbuhan lumut. (Subandi. 2010. *Mikrobiologi*. Bandung: Remaja Rosdakarya). Klasifikasi jamur: Penamaan dalam taksonomi fungi selalu berubah-ubah seiring dengan perkembangan dan hasil penelitian terakhir yang berdasarkan sifat morfologi dan teori-teori biologis. Dengan demikian, dalam dunia fungi belum ada sistem taksonomi yang seragam. Penyebutan pada setiap taksa sering berubah. Spesies fungi dapat memiliki nama ilmiah bergantung dari cara siklus hidup dan reproduksinya. (Subandi. 2010. *Mikrobiologi*. Bandung: Remaja Rosdakarya)

Kingdom jamur dibagi menjadi lima divisi:

1. Divisi Zygomycota.

Jamur ini dinamakan Zygomycetes karena membentuk spora istirahat yang berdinding tebal yang disebut zigospora. Zigospora merupakan hasil peleburan menyeluruh antar gametangium yang sama atau berbeda.

Ciri-ciri jamur zygomycota:

Tubuh multiseluler.

- a. Habitat umumnya di darat sebagai saprofit.
- b. Hifa tidak bersekat.
- c. Reproduksi:

- 1) Vegetatif: dengan spora yang dihasilkan oleh spora yang dihasilkan oleh sporangium.
- 2) Generatif: dengan konjugasi hifa (+) dengan hifa (-) akan menghasilkan zigospora yang nantinya akan tumbuh menjadi individu baru. Cabang pada rhizopus yang berjenis positif dan cabang pada rhizopus yang berjenis negatif bertemu pada ujungnya. Setelah bertemu akan membentuk sekat dinding dibawah cabang hifa. Gamet dari ke-dua rhizopus bertemu dan melebur dan membentuk zigot. Zigot mempunyai dinding pelindung yang tebal. Kemudian zigot memasuki periode dormansi (tidak melakukan metabolisme). Dormansi zigot berkecambah. Saat berkecambah inti sel zigot melakukan meiosis, kemudian hifa haploid pendek tumbuh dari zigot. Hifa haploid akan segera membentuk spora yang akan memproduksi spora aseksual. Setelah dibebaskan dari sporangium, spora aseksual akan membentuk miselium baru.
(<http://thesinau.blogspot.com/2008/12/klasifikasi-jamur.html>)
- 3) Contoh spesies:
 - a) *Mucor mucedo* : biasa hidup di kotoran ternak dan roti.
 - b) *Rhizopus oligosporus* : jamur tempe.

2. Divisi Ascomycota

Divisi ini bercirikan talus yang terdiri dari miselium bersepta. Reproduksi seksual membentuk askospora didalam askus. Ada yang hidup sebagai saproba (dalam tanah, kayu lapuk) atau sebagai parasit yang menimbulkan penyakit pada tumbuhan.

Ciri-ciri jamur ascomycota:

- a. Tubuh ada yang uniseluler dan ada yang multi seluler.
- b. Ascomycotina, multiseluler, hifanya bersekat dan berinti banyak.

c. Habitatnya:

- 1) Parasit, banyak dimanfaatkan dalam pembuatan tape, kecap, oncom, roti, ada pula yang diambil produknya karena menghasilkan antibiotika. Contohnya: *Penicillium SP.*
- 2) Saprofit, dapat menibulkan penyakit baik manusia maupun tumbuhan dan hewan. Contohnya: *Saccaromyces* menyebabkan epitel mulut putih, *Aspergillus* menyebabkan paru-paru, tanaman perkebunan diserang oleh jamur.
- 3) Simbiosis, dengan ganggang membentuk *Lichenes* (Lumut kerak). Ciri dari jamur ini dapat menghasilkan spora askus yaitu spora hasil reproduksi seksual yang berjumlah 8 spora yang tersimpan didalam askus.

d. Reproduksi:

- 1) Vegetatif : pada jamur uniseluler membentuk tunas-tunas, pada yang multiseluler membentuk spora dari konidia. Hifa yang bercabang-cabang ada yang terdiferensiasi membentuk alat reproduksi betina yang ukurannya lebih besar, yang disebut arkegonium. Didekatnya dari ujung hifa yang lain terbentuk alat reproduksi jantan yang ukurannya membentuk kecil disebut anteridium. Baik arkegonium maupun anteridium berinti haploid atau kromosom dari arkegonium tumbuh saluran yang akan menghubungkan antara arkegonium dan anteridium yang disebut trikogin.

e. Contoh spesies:

- 1) *Sacharomyces cerevisiae*:
 - a) Jamur ascomycetes yang bersel satu yang hidupnya saprofit dan banyak dimanfaatkan.
 - b) Sehari-hari dikenal sebagai ragi; berguna untuk membuat bir, roti maupun alkohol
 - c) Mampu mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO₂ dengan proses fermentasi.

- d) *Neurospora sitophila*: jamur oncom.
- e) *Penicillium notatum* dan *Penicillium chrysogenum* penghasil antibiotika penisilin.
- f) *Penicillium camemberti* dan *Penicillium roqueforti* berguna untuk mengharumkan keju.
- g) *Aspergillus oryzae* untuk membuat sake dan kecap.
- h) *Aspergillus wentii* untuk membuat kecap

3. Divisi Basidiomycota

Divisi ini sebagian besar mikroskopis dan sering dijumpai di tanah dan di hutan. Ciri utamanya adalah hifa septat dengan sambungan apit (*clamp connection*). spora seksualnya terbentuk pada basidium yang berbentuk gada. Ciri khas lainnya alat reproduksi generatifnya berupa basidium sebagai badan penghasil spora yang dimulai dari pertumbuhan spora basidium atau pertumbuhan konidium. Spora basidium atau spora konidium akan tumbuh menjadi benang hifa yang bersekat dengan satu inti, kemudian hifa membentuk miselium. Hifa yang terdiri dari dua strain yang berbeda (+ dan -) ujungnya bersinggungan dan dinding selnya larut. Inti sel salah satu pindah ke sel yang lain, terjadilah sel dikariotik. Dari sel ini akan tumbuh hifa dan miselium dikariotik, miselium dikariotik akan tumbuh menjadi tubuh buah yang berbentuk tertentu. Misalnya seperti payung,

Contoh spesies:

- a. *Volvariella volvacea* : jamur merang, dapat dimakan dan sudah dibudidayakan
- b. *Auricularia polytricha* : jamur kuping, dapat dimakan dan sudah dibudidayakan
- c. *Exobasidium vexans* : parasit pada pohon teh penyebab penyakit cacar daun teh atau blister blight.
- d. *Amanita muscaria* dan *Amanita phalloides*: jamur beracun, habitat di daerah subtropis
- e. *Ustilago maydis* : jamur api, parasit pada jagung.

f. *Puccinia graminis* : jamur karat, parasit pada gandum.

4. Divisi Deuteromycota

Nama lainnya Fungi Imperfecti (jamur tidak sempurna) dinamakan demikian karena pada jamur ini belum diketahui dengan pasti cara pembiakan secara generatif. Reproduksi jamur ini adalah vegetatif dengan menghasilkan konidia atau hifa khusus yang disebut konidifor. Jamur ini bersifat saprofit di banyak jenis materi organik, sebagai parasit pada tanaman tingkat tinggi dan perusak budidaya dan tumbuhan hias

Contoh spesies:

Jamur Oncom sebelum diketahui pembiakan generatifnya dinamakan *Monilia sitophila* tetapi setelah diketahui pembiakan generatifnya yang berupa askus namanya diganti menjadi *Neurospora sitophila* dimasukkan ke dalam Ascomycotina.

Banyak penyakit kulit karena jamur (dermatomikosis) disebabkan oleh jamur dari golongan ini, misalnya : *Epidermophyton fluocosum* penyebab penyakit kaki atlet, *Microsporum sp.*, *Trichophyton sp.* penyebab penyakit kurap. (Adi, Suroso, Yudianto. 1992 *Pengantar Cryptogamae*. Bandung: Tarsito)

5. Divisi Mycophycophyta

Ciri-ciri:

- a. Myxomycotina merupakan jamur yang paling sederhana.
- b. Hidup di tempat lembab dapat tumbuh menjadi amuba lendir (miksamuba) dan spora kembara yang menghasilkan spora kembara yang masing-masing menjalar beberapa lama mencari makanan.
- c. Persatuan antara dua sel kembara berlangsung dengan perpaduan dengan ujung yang tidak berflagel, kemudian menjadi amuba lendir. Plasmodium yang terjadi dapat berasal dari satu zigot atau beberapa zigot. Zigot tumbuh menjadi masa lendir atau plasmodium yang menjalar kemana-mana. Kemudian plasmodium mengering dan membentuk tubuh-

tubuh buah yang bertangkai untuk menghasilkan spora kembali.

- d. Spora kembara dapat menjadi amuba lendir jika keadaan kurang air, amuba lendir menjadi kista. Dan berubah kembali setelah keadaan membaik.
- e. Mempunyai 2 fase hidup, yaitu:
 - a. Fase vegetatif (fase lendir) yang dapat bergerak seperti amuba, disebut plasmodium
 - b. Fase tubuh buah
- f. Reproduksi : secara vegetatif dengan spora, yaitu spora kembara yang disebut myxoflagelata.
- g. Contoh spesies : *Physarum polycephalum*

C. Alat Dan Bahan

ALAT	BAHAN
Mikroskop	Alkohol 70%
Kaca objek	Biakan murni jamur
Kaca penutup	4 macam jamur
Jarum pentul	

D. Cara Kerja

1. sediakan objek glass dan cover glass
2. ambil 1 ose biakan jamur yang akan dilihat
3. letakkan di atas objek glass
4. tetesi dengan aquadest
5. tutup dengan cover glass
6. serap kelebihan air dengan tisu
7. amati di bawah mikroskop

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2009. *Identifikasi Morfologi Bakteri dan Jamur*.
www.scribd.com (Diakses pada tanggal 12 November 2014).
- Anonim. 2013. *Praktikum Mikrobiologi*. <http://prezy.com.koxd4/unititled-prezy>.(Diakses tanggal 14 November 2014).
- Arifanto 2008. *Menghitung Mikroba Pada Bahan Makanan*. Farmasi FMIPA. ITB. Bandung.
- Ardhy. 2013. *Laporan Pengamatan Morfologi Jamur*. Diunduh di:
<http://www.blogspot.com> (Diakses pada tanggal 12 November)
- Balley. 2007. *Diagnosal Mikrobiologi*. Houston Elsevier. New York.
- Bibiana. 2010. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raya Grafindo Persada. Jakarta.
- Dwidjoseputro. 2010. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djembatan. Jakarta.
- Dzen, Sjoekoer M. 2004. *Bakteriologi Medik*, Malang : Bayumedia Publishing.
- Greenwood, David, et al.. (eds), *Medical Microbiology: A Guide to Microbial Infections*.
- Hadioetomo. 1990. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. PT. Gramedia. Jakarta.
- Hafrah. 2009. *Mikrobiologi Umum*. Program Studi Biologi. UIN Alauddin Makassar. Makassar.
- Handayani, et al.. 2020. *Biologi Umum*. Bandung: Widina Bhakti Persada Bandung.
- Harley. 2007. *Pengertian Pewarnaan Gram*. Gramedia. Jakarta.
- Irianto, K. 2007. *Mikrobiologi Umum*. CV Yrama Widya. Bandung.

- Irianto, K. 2013. *Mikrobiologi Jilid I*. Yrama Widya. Bandung.
- Jay, J. 2006. *Modern Food Microbiology 6th Edition*. Publisher. Maryland.
- Kurniati, Tri Handayani, et all.. 2018. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi*. Prodi Pendidikan Biologi, Universitas Negri Jakarta.
- Label, C. 2008. *Pembuatan Media Agar dan Sterilisasi*. <http://pustakaumy.ac.id> (Diakses pada 20 september 2018).
- Lestari, Lily Arsanti. 2019. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Makanan di Bidang Gizi dan Makanan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Madigan MT, Martinko. SM, Brook T.D. 2009. *Brook Biology Of Microorganisme*. Person Practice Hall. New Jersey.
- Mikrobia. files. wordpress.com diakses pada 2 juni 2018
- Mikrobiologi Kedokteran, 1st ed. Jakarta, Salemba Medika, p 364-369. Baron. 2005. *Medical Microbiology*.
- Misnarliah. 2020. *Bakteriologi I*. Makassar: CV. Cahaya Bintang Cemerlang.
- Muslim. 2011. *Mikrobiologi Dasar 1*. FMIPA UMM.Makassar.
- Natsir. 2003. *Biologi*. Erangga. Jakarta.
- Nazaruddin. 2014. *Buku Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Umum*. Universitas Mataram. Mataram.
- Ngatirah. 2017. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Instiper Press.
- Noorhamdani, et all., 2017. *Bakteriologi Medik*. Malang: CV. IRDH (International Research and Development for Human Beings).

- Padoli, 2016. *Modul Mikrobiologi dan Parasitologi Keperawatan*. Pusdik SDM Kesehatan, Kementerian Kesehatan Indonesia : Jakarta Selatan
- Pelczar., Michael J. dan E. C. S. Chan. 2008. *Dasar-dasar Mikroorganisme*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Razuna, 2010. *Inokulasi Dan Peremajaan Biakan Dalam Media Padat Cair*. <http://www.wordpress.com> (Diakses pada 20 september 2018).
- Sains Prof Online N.p., n.d. 2017. *Morfologi Koloni Bakteri dan Identifikasi Bakteri*.
- Sanfa, 2011. *Mikrobiologi Dasar*. Penerbit Universitas Muhammadiyah. Malang.
- Sari, N. 2009. *Teknik Isolasi Mikroorganisme*. <http://scribd.com> (Diakses pada 20 september 2018).
- Savada. 2008. *Bakteri*. Gramedia. Jakarta. <https://www.muttaqin.id/2017/01/soal-biologi-virus-pilihan-ganda-jawaban.html>
- Soetanto, Hendrawan. 2020. *Buku Praktikum Mikrobiologi*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
- Soni, A. 2010. *Nutrisi Mikroorganisme Dalam Media*. <http://AhmadSoni.web.id/> (Diakses pada 16 Oktober 2014).
- Sridianti. 2014. *Pengertian Bakteri Gram Positif Dan Negatif* <http://sridianti.com> (Diakses pada 13 Desember 2014).
- Suarjana Gusti Ketut, et all.. 2017. *Modul Isolasi dan Identifikassi Bakteri*. Universitas Udayana
- Sumanti. 2008. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan*. Universitas Padjajaran. Jatinangor.
- Sumarsih. 2011. *Mikrobiologi Umum*. UI Press. Jakarta.

<https://www.muttaqin.id/2017/01/soal-pilgan-biologi-sel-struktur-fungsi-kunci-jawaban.html>

Surbakti, T. 2010. *Inokulasi Mikroba*. <http://www.worpress.com> (20 september 2018).

Timbowo, Semuel. 2020. *Mikrobiologi Dasar*. Universitas Sam Ratulangi Press.

Volk, W.A., dan Wheeler, M.F., 1993. *Mikrobiologi Dasar*. Erlangga. Jakarta.

Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. UPT Penerbita UMM. Malang. <http://good-teenagers.blogspot.com/2013/11/kumpulan-soal-metabolisme-beserta.html>

DASAR-DASAR PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI



Indrie Ramadhani S. S.Si M.Biomed lahir di Padang, Sumatera Barat pada tanggal 27 April 1989. Studi S1 (S.Si) diselesaikan di Jurusan Biologi Universitas Andalas Padang tahun 2011 dan melanjutkan Studi Pasca Sarjana (M.Biomed) di Program studi Ilmu Biomedik Universitas Andalas Padang, Peminatan Immunologi.

Saat ini penulis merupakan dosen tetap di Akademi Farmasi Dwi Farma Bukittinggi sejak tahun 2013. Mata kuliah dan Praktikum yang di asuh adalah Biologi Farmasi, Ilmu Komunikasi, Ilmu Kesehatan Masyarakat, Praktikum Mikrobiologi dan Praktikum Farmakognosi. Selain itu penulis juga aktif dalam menulis jurnal penelitian dan melakukan Pengabdian Kepada Masyarakat.



Wahyuni, S.ST, M.Biomed lahir di Bukittinggi, Sumatera Barat pada tanggal 24 Februari 1986. Studi Diploma III (A.Md, Keb) diselesaikan pada Program Studi D.III Kebidanan Bukittinggi Poltekkes Padang bulan April tahun 2018 kemudian melanjutkan Studi Diploma IV (S.ST) pada Program Studi D.IV Bidan Pendidik Poltekkes Kemenkes Padang dan menyelesaikan proses bulan April tahun 2012. Pasca Sarjana(M.Biomed) diselesaikan bulan April tahun 2016 pada Program Studi Ilmu Biomedik Kedokteran Universitas Andalas Peminatan Reproduksi Kedokteran.

Saat ini penulis adalah Dosen tetap pada Universitas Fort De Kock Bukittinggi dan pernah menjadi Tenaga Bidan salah satu rumah sakit yang ada di Kota Bukittinggi tahun 2018-2019, Staff Dosen Kebidanan STIKes Perintis Sumatera Barat tahun 2019-2012 dan Dosen tetap Akademi Kebidanan Pelita Andalas Bukittinggi tahun 2012-2016.

Mata kuliah yang di asuh adalah Praktikum Anatomi dan Fisiologi, Biokimia, Praktikum Mikrobiologi dan Parasitologi, Asuhan Neonatus Bayi Balita dan Anak Pra-Sekolah, Ilmu Kesehatan Anak (IKA) serta Asuhan Kebidanan Kegawat Daruratan Maternal dan Neonatal

Selain itu Penulis juga aktif menulis jurnal penelitian dan melaksanakan kegiatan Pengabdian Kepada Masyarakat termasuk kegiatan Organisasi Ikatan Bidan Indonesia (IBI) dan Dharma Wanita (DW).