

FAKULTAS PETERNAKAN

Penuntun Praktikum Mikrobiologi Dasar

Tim Pengampu Mata Kuliah

Dr. Ir. Andi Murlina Tasse, M.Si.

Astriana Napirah, S.Pt., M.Sc.

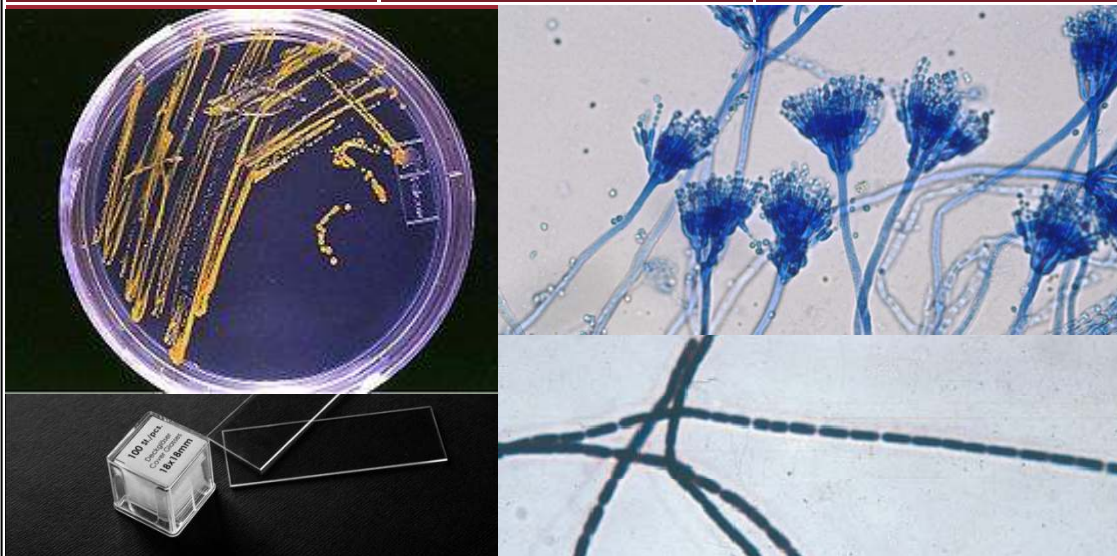
Drh Yamin Yaddi

Drh Putu Nara Kusuma Prasanjaya

Wa Laili Salido, S.Pt., M.Si.

Drh Purnaning Dhian Isnaeni

2017



UNIVERSITAS HALU OLEO

PRAKTIKUM I

PENGENALAN ALAT-ALAT LABORATORIUM

1.1 PENGENALAN MIKROSKOP

A. Latar Belakang

Panca indera manusia memiliki kemampuan daya pisah yang terbatas, karena itu banyak masalah mengenai organisme yang akan diamati hanya dapat diperiksa dengan menggunakan alat-alat bantu. Salah satu alat bantu yang sering digunakan dalam pengamatan preparat mikroskopis adalah mikroskop. Mikroskop (Latin; micro: kecil, scopium: penglihatan), yang berfungsi untuk meningkatkan kemampuan daya pisah seseorang, sehingga memungkinkan untuk dapat mengamati obyek yang sangat halus.

Mikroskop adalah sebuah alat untuk melihat objek yang terlalu kecil untuk dilihat dengan mata telanjang. Kata mikroskopik berarti sangat kecil, tidak mudah sebelumnya sudah ada Robert Hook dan Marcello Malphigi yang mengadakan penelitian melalui Lensa yang sederhana. Lalu Antony Vn Leuwenhoek mengembangkan lensa sederhana itu menjadi lebih kompleks agar dapat mengamati protozoa , bakteri dan berbagai makhluk kecil lainnya. Setelah itu pada sekitar tahun 1600 Hanz dan Z Jansen telah menemukan mikroskop yang dikenal dengan mikroskop ganda yang lebih baik daripada mikroskop yang dibuat oleh Antony Vaan Leuwenhoek.

Mikroskop berfungsi untuk meningkatkan daya pisah seseorang, sehingga memungkinkan untuk dapat mengamati obyek yang sangat halus. Mikroskop mempunyai resolusi power (RP) yaitu kemampuan untuk memisahkan dua partikel pada jarak tertentu sehingga dapat dibedakan satu sama lain, misal dua partikel akan terlihat berbeda bila mereka terpisah dengan jarak sebesar 0,3 um dan mikroskop mempunyai RP sebesar 0,3 um, maka titik akan terlihat jelas. Tipe mikroskop dibedakan berdasarkan sumber cahaya yang dipakai dan RP, jenis mikroskop elektron dapat melihat bagian yang lebih kecil didasarkan pada akselerasi aliran elektron yang memiliki gelombang sekitar 0,005 nanometer dan dapat melihat 100.000 kali dari pada cahaya biasa. Pemilihan jenis mikroskop ini tergantung pada kebutuhan, jika hanya ingin melihat sel maka cukup dengan

menggunakan mikroskop cahaya yang dapat memperbesar gambar maksimal sekitar 1.250 kali (dengan minyak emersi).

Keterampilan menggunakan mikroskop dapat membantu kita mengamati dan membandingkan struktur sel hewan dengan sel tumbuhan. Kemahiran dan ketelitian sipemakai dalam menggunakan mikroskop sangat diperlukan. Hal dapat di dapat dicapai dengan mengenali baik-baik bagian-bagiannya, fungsinya, serta cara penggunaan dan pemulihannya.

Semakin ahli kita dalam menggunakan mikroskop maka akan semakin baik pula hasil pengamatan mikroskopis yang kita lakukan dengan menggunakan mikroskop. Mikroskop sederhana yang biasa kita gunakan umumnya menggunakan cahaya dari alam atau juga dapat menggunakan cahaya lampu sebagai sumber cahaya pengganti matahari.

Berdasarkan hal diatas, maka perlu dilakukan praktikum mengenai pengenalan mikroskop secara umum guna menunjang proses praktikum selanjutnya di laboratorium.

B. Tujuan :

Tujuan dalam praktikum pengenalan mikroskop adalah sebagai berikut:

1. Memperkenalkan komponen-komponen mikroskop dan cara penggunaannya.
2. Menentukan luas bidang pandang mikroskop
3. Mempelajari cara menyiapkan bahan bahan yang akan diamati dibawah mikroskop
4. Memahami sejarah, pengertian, dan jenis-jenis mikroskop

C. Luaran

Diharapkan setelah proses praktikum dilaksanakan, mahasiswa dapat mengetahui :

1. Dapat mengetahui komponen-komponen mikroskop dan cara penggunaannya.
2. Dapat Menentukan luas bidang pandang mikroskop
3. Dapat Memahami sejarah, pengertian, dan jenis-jenis mikroskop

D. Materi Praktikum

Adapun Materi praktikum yang akan digunakan di laboratorium adalah sebagai berikut :

1. Alat : 1 Unit Mikroskop

2. Bahan :
 - a. Minyak emersi
 - b. Tisu
 - c. Preparat slide

E. Langkah Kerja dan Jadwal Praktikum

1. Sebelum menyalakan mikroskop, pastikan kabel telah terpasang ke stop kontak (1). Nyalakan mikroskop dengan menekan tombol (2) kemudian tingkatkan pencahayaannya menggunakan panel (3).



2. Letakkan sampel pada tempat spesimen dan pilih pembesaran lensa objektif 10X (4).



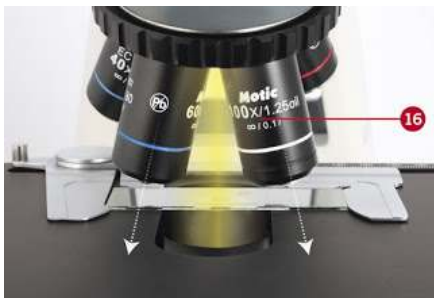
3. Fokuskan sampel dengan cara memutar tuas fokus kasar pada bagian kiri mikroskop (5).



4. Posisikan kedua lensa okuler sehingga pandangan kanan dan kiri menjadi satu pandangan (6).



5. Jika area pandang sudah jelas, fokuskan kembali hingga benar-benar fokus menggunakan tuas fokus halus di sebelah kanan atau kiri mikroskop.
6. Jika menggunakan pembesaran lensa objektif 100X, maka letakkan minyak emersi terlebih dahulu pada kaca objek sebelum melakukan pengamatan. Pertama-tama, fokuskan sampel dengan pembesaran lensa objektif 40X, posisikan objek pada tengah area pandang, kemudian pindahkan lensa objektif hingga objek berada di antara pembesaran 40X dan 100X (16).

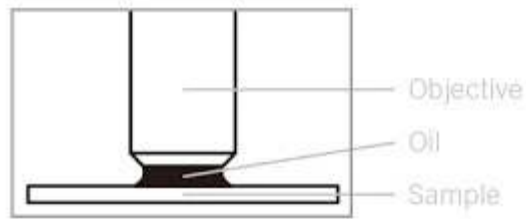


Letakkan satu tetes minyak emersi pada sampel, dan pindahkan lensa objektif 100X si atas sampel (17).



Minyak emersi akan membentuk area tertutup antara sampel dan lensa objektif (18).





Gunakan tuas fokus halus untuk memperjelas area pandang (19)



1.2 PENGENALAN AUTOKLAV

A. Latar Belakang

Dalam mempelajari mikroorganisme dalam kultur murni, para mikrobiolog memerlukan alat-alat yang menunjang dalam usaha mendapatkan kultur murni. Dalam mikrobiologi, peralatan laboratorium merupakan unsur penting yang harus ada. Peralatan yang ada dalam laboratorium pun haruslah steril agar dapat menunjang pekerjaan yang berhubungan dengan mikroorganisme dan hal tersebut merupakan syarat mutlak. Artinya, pada bahan atau peralatan yang akan digunakan harus bebas dari mikroorganisme yang tidak diinginkan yang dapat merusak media atau koloni suatu mikroorganisme yang diinginkan. Adapun peralatan yang umumnya digunakan di dalam laboratorium mikrobiologi antara lain : Media yaitu; cair, semi solid, solid (agak miring (siant), agak tegak (deep), agak cawan(plate)) dan peralatan yaitu; autoklaf, tabung kultur, cawan petri, jarum inokulasi, pipet, waterbath, inkubator, dan lemari pendingin (Suriawira, 2005).

Sterilisasi dalam mikrobiologi adalah suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau didalam suatu benda. Ketika anda untuk pertama kalinya melakukan pemindahan biakan bakteri secara aseptik, sesungguhnya anda telah menggunakan salah satu sterilisasi, yaitu pembakaran. Namun kebanyakan peralatan dan media yang umum dipakai

dalam pekerjaan mikrobiologis akan menjadi rusak bila dibakar. Untungnya tersedia berbagai metode lain yang efektif (Hadioetomo, 1993).

Sterilisasi merupakan suatu usaha untuk membebaskan alat-alat dan bahan-bahan dari segala macam bentuk kehidupan, terutama mikroba, sehingga dalam sterilisasi nanti alat-alat tidak terkontaminasi dengan pihak luar. Oleh karena itu, bagi seorang pemula di bidang mikrobiologi sangat perlu mengenal teknik sterilisasi karena merupakan dasar-dasar kerja dalam laboratorium mikrobiologi. Steril merupakan syarat mutlak keberhasilan kerja dalam lab mikrobiologi. Dalam melakukan sterilisasi, diperlukan teknik-teknik agar sterilisasi dapat dilakukan secara sempurna, dalam arti tidak ada mikroorganisme lain yang mengkontaminasi media.

Ada tiga cara yang umum digunakan dalam sterilisasi yaitu penggunaan panas, penggunaan bahan kimia dan penyaringan (Filtrasi). Bila panas digunakan bersama – sama dengan uap air maka disebut sterilisasi panas lembut atau sterilisasi basah, bila tanpa kelembapan maka disebut sterilisasi panas kering atau sterilisasi kering (Hadioetomo, 1993).

B. Tujuan :

Tujuan dalam praktikum pengenalan autoklav adalah sebagai berikut:

1. Memperkenalkan komponen-komponen autoklav dan cara penggunaannya.
2. Mempelajari cara menyiapkan media dan sterilisasi alat menggunakan metode pemanasan basah

C. Luaran

Diharapkan setelah proses praktikum dilaksanakan, mahasiswa dapat mengetahui :

1. Dapat mengetahui komponen-komponen autoklav dan cara penggunaannya.
2. Dapat menyiapkan media dan melakukan sterilisasi alat menggunakan metode pemanasan basah

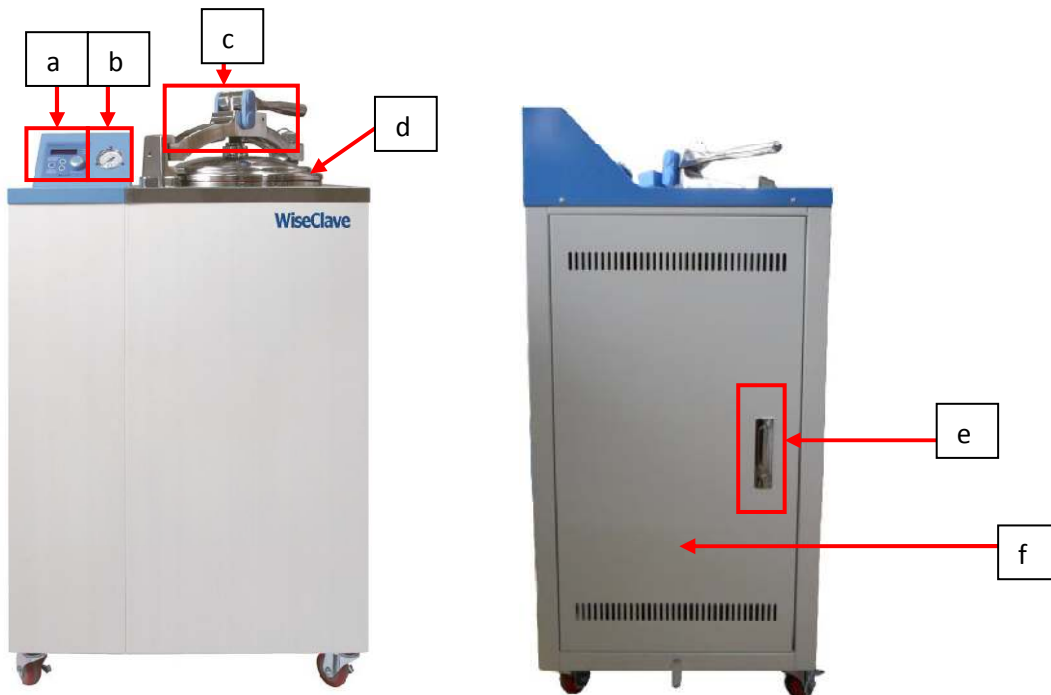
D. Materi Praktikum

Adapun Materi praktikum yang akan digunakan dilaboratorium adalah sebagai berikut :

1. Alat : Autoklav
2. Bahan : Air

E. Langkah Kerja dan Jadwal Praktikum

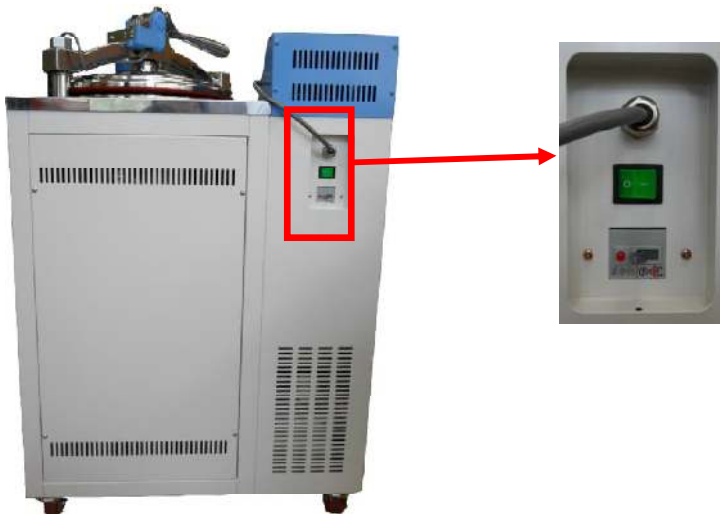
1. Perhatikan setiap bagian eksterior autoklav



Keterangan gambar:

- a. Panel kontrol
- b. Indikator tekanan
- c. Tuas penutup
- d. Tutup autoklav
- e. Pembuka penutup samping
- f. Penutup samping yang berisi ruangan pipa dan kabel listrik

2. Sebelum menyalakan autoklav, pastikan kabel telah tersambung ke stop kontak.
3. Nyalakan autoklav dengan menekan tombol pada bagian belakang.



4. Simpan bahan/peralatan yang akan disterilisasi ke dalam rak autoklav.



5. Tutup autoklav dan rapatkan tutupnya dengan memutar tuas hingga rapat.
6. Atur suhu autoklav dengan menekan tombol mode – temp pada panel kontrol.
7. Atur waktu autoklav dengan menekan tombol mode – time pada panel kontrol.
8. Mulai lakukan proses sterilisasi dengan cara menekan tombol ON pada panel kontrol selama kurang lebih 5 detik sampai lampu indikator menyala.
9. Setelah proses sterilisasi selesai, autoklav akan mati secara otomatis dan suhunya akan turun perlahan-lahan. Tunggu sampai suhu autoklav turun kisaran 30-40°C sebelum membuka penutup untuk menghindari uap panas.
10. Ambil bahan/peralatan yang telah disterilkan dengan cara mengangkat rak autoklav.
11. Matikan autoklav dengan menekan tombol pada bagian belakang kemudian cabut kabel dari stop kontak bila autoklav sudah tidak digunakan lagi.

1.3 PENGENALAN GLASSWARE

A. Latar Belakang

Selama bekerja di dalam laboratorium, ada beberapa peralatan yang hampir selalu digunakan. Salah satunya adalah peralatan yang terbuat dari kaca. Penggunaan peralatan ini penting artinya untuk diketahui karena dalam setiap laboratorium, termasuk pemeriksaan mikrobiologi, peralatan tersebut hampir selalu digunakan. Bahan kaca dipakai karena sifatnya yang cenderung tahan, transparan, tahan panas, serta mudah disesuaikan.

Terdapat beberapa jenis kaca yang digunakan untuk pembuatan peralatan *glassware* dalam laboratorium. Kaca Borosilat yang tahan terhadap tekanan umumnya dipakai dalam pembuatan peralatan kaca yang berfungsi sebagai wadah penyimpanan reagen. Kaca Quartz yang umum dipakai pada pembuatan *cuve*t dapat bertahan pada suhu tinggi serta transparan pada beberapa bagian pada spektrum elektromagnet. kaca berwarna coklat atau kecoklatan

dapat menahan sinar ultra violet sehingga umum digunakan sebagai bahan pembuatan wadah reagen yang peka terhadap sinar matahari.

Peralatan kaca yang terdapat di laboratorium memiliki berbagai fungsi, antara lain mengukur volume cairan, menyimpan sampel atau bahan kimia, tempat mencampur atau menyiapkan larutan, tempat proses analisis laboratorium misalnya reaksi kimia, pemanasan, pendinginan, destilasi, serta pertumbuhan kultur mikroorganisme.

B. Tujuan :

Tujuan dalam praktikum pengenalan *glassware* adalah sebagai berikut:

1. Memperkenalkan jenis-jenis *glassware* dan kegunaannya
2. Mempelajari cara menyiapkan alat dan bahan dalam pemeriksaan mikrobiologi

C. Luaran

Diharapkan setelah proses praktikum dilaksanakan, mahasiswa dapat mengetahui :

1. Dapat mengetahui jenis-jenis *glassware* dan kegunaannya.
2. Dapat menyiapkan alat dan bahan untuk pemeriksaan mikrobiologi dengan baik dan benar.

D. Materi Praktikum

Adapun Materi praktikum yang akan digunakan di laboratorium adalah sebagai berikut :

1. Alat :
 - a. Erlenmeyer
 - b. Gelas ukur
 - c. Gelas beaker
 - d. Cawan petri
 - e. Pipet pasteur
 - f. Pembakar bunsen
 - g. Kaca objek
 - h. Kaca penutup
 - i. Tabung reaksi
2. Bahan :
 - a. Air

E. Langkah Kerja dan Jadwal Praktikum

1. Perhatikan setiap alat dan catat kegunaannya.
2. Dengan menggunakan gelas ukur, ambil air sebanyak 50 ml dengan baik dan benar
3. Tuangkan air tersebut ke dalam erlenmeyer dan gelas beaker secara berturut-turut.
Perhatikan jumlah airnya.
4. Cobalah menuang air ke dalam cawan petri seolah-olah sedang menuangkan media dengan tatacara yang baik dan benar.



PRAKTIKUM II

PEMBUATAN MEDIA AGAR

A. Latar Belakang

Media pertumbuhan atau media kultur merupakan suatu media padat atau cair atau semi-padat yang dirancang khusus sebagai media pertumbuhan mikroorganisme atau sel, maupun tanaman kecil. Dua jenis media kultur adalah media yang digunakan untuk kultur sel dan media kultur mikroorganisme, yang sering digunakan untuk menumbuhkan bakteri atau fungi. Media pertumbuhan mikroorganisme yang paling umum adalah jenis media cair *nutrient broth* dan media agar. Beberapa media khusus kadang dipakai untuk menumbuhkan beberapa jenis bakteri tertentu.

Jenis media pertumbuhan yang paling umum untuk mikroorganisme adalah media cair *nutrient broth*. Beberapa media cair telah dicampurkan dengan agar dan dituangkan ke cawan petri. Media agar padat ini kemudian dapat digunakan sebagai tempat kultur mikroba sehingga koloni yang dihasilkan dapat dilihat jelas. Koloni mikroba yang ditanam pada media cair akan membentuk suspensi koloid.

Perbedaan antara media pertumbuhan yang digunakan untuk kultur sel dan untuk mikroba adalah pada kultur sel, sel yang ditanam tidak dapat tumbuh tanpa penambahan hormon atau faktor pertumbuhan yang biasanya tersedia secara *in vivo*. Pada kultur mikroorganisme tidak diperlukan penambahan hormon atau faktor pertumbuhan karena sel yang ditanam merupakan organisme uniseluler yang dapat mencerna makanan dari bahan anorganik dan berkembang biak.

B. Tujuan :

Tujuan dalam praktikum pembuatan media agar adalah sebagai berikut:

1. Memperkenalkan cara membuat media agar dengan baik dan benar.
2. Memperkenalkan cara sterilisasi dan penyimpanan media agar.
3. Memperkenalkan jenis-jenis media agar dalam pemeriksaan mikrobiologi.

C. Luaran

Diharapkan setelah proses praktikum dilaksanakan, mahasiswa dapat mengetahui :

1. Dapat mengetahui cara membuat media agar untuk pemeriksaan mikrobiologi.
2. Dapat menyiapkan alat dan bahan pembuatan media agar dalam pemeriksaan mikrobiologi.

3. Dapat mengetahui jenis-jenis media agar yang sering digunakan dalam pemeriksaan mikrobiologi.

D. Materi Praktikum

Adapun Materi praktikum yang akan digunakan dilaboratorium adalah sebagai berikut :

1. Alat :

- a. Erlenmeyer
- b. Gelas ukur
- c. Cawan petri
- d. Pembakar bunsen
- e. Tabung reaksi
- f. Timbangan analitik
- g. Hotplate stirrer
- h. Autoklav
- i. Inkubator

2. Bahan :

- a. Akuades
- b. Media agar
- c. Kertas aluminium

E. Langkah Kerja dan Jadwal Praktikum

1. Timbang media agar bubuk sebanyak 6-7 gram dengan menggunakan timbangan analitik.
2. Ambil akuades sebanyak 100 ml menggunakan gelas ukur.
3. Masukkan media bubuk ke dalam elenmeyer, lalu masukkan akuades.
4. Panaskan dengan menggunakan hotplate stirrer.
5. Aduk beberapa kali dengan cara menggoyang-goyangkan erlenmeyer.
6. Jika semua butran media agar telah larut, tutup erlenmeyer dengan kertas aluminium.
7. Simpan media di dalam autoklav untuk dilakukan sterilisasi
8. Jika media telah siap, tuangkan media ke dalam cawan petri dan tabung reaksi.



9. Biarkan beku dalam suhu ruangan.

10. Lakukan inkubasi pada media selama 24 jam untuk melihat adanya cemaran.

PRAKTIKUM III

PEWARNAAN DAN PENGAMATAN FUNGI

A. Latar belakang

Fungi terbagi menjadi dua bentuk utama, yaitu kapang dan jamur. Pertumbuhan pada jamur terjadi melalui pembentukan koloni filamen multiseluler. Koloni-koloni ini terdiri dari hiphae, saluran silinder yang saling berikatan dan membentuk mycelium. Beberapa hiphae terbagi menjadi sel-sel oleh septa yang biasanya terbentuk saat pertumbuhan hiphae.

Kapang merupakan mikroorganisme uniseluler, biasanya berbentuk bulat atau oval dengan diameter 3-15 mikrometer. Pada umumnya kapang bereproduksi dengan tunas. Beberapa spesies memproduksi tunas yang tidak terpisah secara sempurna sehingga menjadi bentuk panjang yang disebut pseudohiphae. Koloni kapang biasanya berbentuk oval, lembut, dengan diameter 1-3 mm dan berwarna krem.

B. Tujuan :

Tujuan dalam praktikum pewarnaan dan pengamatan jamur adalah sebagai berikut:

1. Memperkenalkan cara pewarnaan jamur.
2. Mempelajari cara menyiapkan alat dan bahan dalam pemeriksaan jamur di laboratorium.
3. Mengenalkan bagian-bagian jamur secara mikroskopis.

C. Luaran

Diharapkan setelah proses praktikum dilaksanakan, mahasiswa dapat mengetahui :

1. Dapat mengetahui cara mewarnai preparat jamur.
2. Dapat menyiapkan alat dan bahan untuk pemeriksaan jamur di laboratorium dengan baik dan benar.
3. Dapat mengetahui bagian-bagian jamur yang dilihat di bawah mikroskop.

D. Materi Praktikum

Adapun Materi praktikum yang akan digunakan dilaboratorium adalah sebagai berikut :

1. Alat :
 - a. Mikroskop
 - b. Pipet pasteur
 - c. Kaca objek

- d. Kaca penutup
 - e. Jarum
2. Bahan :
- a. Jamur tempe/jamur roti
 - b. Pewarna lactophenol cotton blue
 - c. Alkohol 70%

E. Langkah Kerja dan Jadwal Praktikum

1. Teteskan satu tetes 70% ethanol di atas kaca objek.
2. Rendam spesimen jamur di tetesan alkohol tersebut dengan menggunakan jarum.
3. Tambahkan 1-2 tetes pewarna lactophenol cotton blue pada alkohol dan jamur.
4. Dengan salah satu sisi kaca penutup, sentuhlah campuran larutan tersebut.
5. Letakkan kaca penutup dengan hati-hati hingga tidak ada rongga udara.
6. Amati di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 10X. Bila sudah menemukan fokus, dapat diganti dengan perbesaran lensa objektif 40X untuk memperjelas gambar.