

# **PETUNJUK PRAKTIKUM BIOMEDIK 1 (MIKROBIOLOGI DAN PARASITOLOGI)**



**Disusun oleh :**

**Dr. Henny Saraswati, M.Biomed  
Seprianto, S.Pi, M.Si  
Inherni Marti Abna, S.Si, M.Si**

**PROGRAM STUDI KESEHATAN MASYARAKAT**

**FAKULTAS ILMU-ILMU KESEHATAN**

**UNIVERSITAS ESA UNGGUL**

**2019**



## TATA TERTIB PRAKTIKUM

1. Setiap kali praktikum, harus membawa buku petunjuk praktikum
2. Peserta praktikum diharapkan hadir 10 menit sebelum acara praktikum dimulai.
3. Meletakkan tas pada tempat yang telah disediakan.
4. Menggunakan jas laboratorium dan alat pelindung diri (APD) seperti Masker, Gloves, hairnet dan lainnya yang diperlukan.
5. Masing – masing kelompok wajib membawa serbet dan tisu
6. Tidak gaduh selama praktikum dilaksanakan dan tertib mengikuti arahan dari Laboran praktikum.
7. Praktikan harus mengikuti manual penggunaan alat laboratorium yang digunakan.
8. Hasil praktikum sementara ditulis dalam lembaran “Hasil Pengamatan” pada buku petunjuk ini.
9. Setelah selesai pelaksanaan praktikum, peserta WAJIB merapikan meja dan mengembalikan alat-alat dan bahan yang digunakan ke tempat semula
10. Laporan praktikum dibuat dilembar terpisah dan dikumpulkan satu minggu (pertemuan selanjutnya) setelah pelaksanaan praktikum kepada dosen pengampu.

## **Praktikum 1**

### **Pengenalan Alat –Alat Praktikum**

#### **Tujuan:**

1. Mengenalkan kepada mahasiswa alat-alat yang digunakan dalam praktikum mikrobiologi
2. Menjelaskan prinsip kerja alat-alat yang digunakan dalam praktikum

#### **Prinsip :**

Laboratorium Mikrobiologi harus mempunyai sejumlah alat yang dapat menunjang proses praktikum dan penelitian di dalamnya. Di antara alat-alat tersebut, ada alat-alat yang khusus digunakan di dalam Laboratorium Mikrobiologi dan ada juga yang tidak. Alat-alat tersebut antara lain autoklaf, oven, inkubator statis, shaker incubator atau inkubator kocok, waterbath shaker, vorteks, desikator, transfer box, anaerobic jar, sentrifugator, dan spektrofotometer. Beberapa alat yang digunakan dalam proses praktikum mikrobiologi. Mahasiswa diwajibkan untuk mengetahui jenis-jenis alat dan prinsip kerjanya yang digunakan dalam praktikum mikrobiologi.

#### **Alat-alat :**

Beberapa alat-alat yang digunakan selama praktikum Biomedik 1

#### **Metode Kerja:**

1. Penjelasan mengenai beberapa alat dan prinsip kerjanya

No.	Nama Alat	Kegunaan
1	Jarum ose/sengkelit/loop	
2	Jarum enten	
3	Objek glass dan cover glass	
4	Spreader/batang bengkok/batang Drigalsky	
5	Bunsen	
6	Cawan petri	
7	Tabung reaksi	
8	Tabung Erlenmeyer	
9	Mikropipet	
10	Shaker incubator	

11	Inkubator	
12	Mikroskop	
13	Autoklaf	
14	Timbangan	
15	Pemanas atau microwave	
16	Waterbath	
17	Laminar Air Flow (LAF)	
18	Oven	
19	Spektrofotometer	
20	Vortexs	
21	Sentrifugator	
22	Serological pipet	
23	Buld	
24	Timbangan analitik	

2. Demo penggunaan alat  
Beberapa alat dapat di demokan cara pemakaiannya seperti, Mikropipet, Pipet Serologi, teknik inokulasi bakteri dan menuang media
3. Praktek penggunaan alat oleh mahasiswa





**Hasil Pengamatan**

gggul

Universitas  
**Esa Unggul**

Universitas  
**Esa Ui**

gggul

Universitas  
**Esa Unggul**

Universitas  
**Esa Ui**



## Praktikum 2

### Sterilisasi dan Pembuatan Medium Pertumbuhan Bakteri

#### Tujuan:

Mahasiswa dapat memahami dan mengerjakan cara-cara mempersiapkan alat, membuat media dan larutan pengencer yang akan digunakan dalam pengerjaan mikrobiologi, serta dapat melakukan sterilisasi terhadap alat, media dan larutan pengencer tersebut.

**Kompetensi Dasar:** Melakukan secara langsung proses pembuatan media biakan mikroba, baik berbentuk padat maupun cair (broth) dan mengetahui cara-cara sterilisasi baik cara Fisik maupun cara Kimia.

#### Teori Umum:

##### Pembuatan Media

Media pertumbuhan merupakan komponen utama yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam pertumbuhannya. Di dalam media pertumbuhan terkandung berbagai komponen nutrisi seperti gula, amilum, protein, mineral dll. Komponen tersebut ada yang makro elemen dan mikroelemen. Makro elemen adalah komponen yang banyak dibutuhkan mikroorganisme sedang mikro elemen adalah komponen yang sedikit dibutuhkan mikroorganisme tapi mempunyai peran penting dalam pertumbuhan mikroba. Media pertumbuhan bisa berbentuk padat karena dicampur dengan serbuk Agar disebut Nutrien Agar (NA), dan ada yang berbentuk cair disebut Nutrient Broth (NB). Media pertumbuhan dan larutan pengencer dapat dibuat dengan cara menimbang sesuai dengan prosedur kemudian memanaskannya sambil diaduk hingga larut atau larutan hampir mendidih.

##### Sterilisasi

Alat, media, serta larutan pengencer yang akan dipergunakan dalam pengerjaan mikrobiologi harus disterilisasi terlebih dahulu. Alat yang akan disterilisasi harus dicuci bersih dahulu dan alat yang mempunyai mulut (seperti: pipet, tabung reaksi, dan erlenmeyer) harus ditutup dengan kapas berlemak sebelum dibungkus dengan aluminium foil. Suatu alat dan bahan disebut steril apabila bahan tersebut bebas dari mikroorganisme. Sterilisasi dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu: cara kimia, mekanik atau fisik.

- **Sterilisasi cara kimia.** Bahan atau senyawa kimia yang memiliki sifat membunuh mikroorganisme dapat digunakan untuk sterilisasi atau desinfektan, misalnya di bidang kedokteran. Contohnya alkohol 70%, detergen, karbol, lisol, merkuriokrom dan lain-lain

- **Sterilisasi cara mekanik.** Sterilisasi ini dilakukan dengan menggunakan alat penyaring yang sangat halus c. Sterilisasi cara fisik. Umumnya dilakukan dengan 2 cara yaitu: sterilisasi basah dan sterilisasi kering. Sterilisasi basah dilakukan dengan menggunakan alat autoklaf, disterilkan pada suhu 1210 C dengan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup> (15 lbs/2 atm) dalam jangka waktu tertentu bergantung pada apa yang disterilkan. Cara ini digunakan untuk sterilisasi media, larutan pengencer, serta alat-alat yang presisi, seperti pipet dan labu takar. Sedangkan sterilisasi kering dengan menggunakan oven pada suhu 1700C selama 1 jam. Sterilisasi kering ini untuk alat-alat yang tidak presisi, seperti mengeringkan cawan petri dan tabung reaksi.

### **Alat dan Bahan:**

#### Pembuatan Media

#### Alat:

- a. Erlenmeyer 100 ml, 250 ml.
- b. Gelas ukur 100 ml
- c. Timbangan dan kertas timbang
- d. Hotplate dan Stirrer Bar
- e. Spatula
- f. Kaca Arloji
- g. Tabung Reaksi
- h. Cawan Petri
- i. Labu ukur
- j. Aluminium foil, kapas berlemak, tali kasur, kertas label dan gunting
- k. Kaki tiga, kassa asbes, lampu spiritus, lap tangan.

#### l. Timbangan listrik.

#### Bahan:

1. Media biakan padat (NA = Nutrient Agar, PDA=Potato Dextro Agar, NaCl atau lainnya)
2. Media biakan broth (Sukrosa broth atau lainnya)
3. Akuades
4. Aluminium Foil
5. Kapas
6. Kain Kassa

### **Tahapan /Cara kerja:**

#### **1. Membuat medium umum untuk bakteri (Nutrient Agar/NA dan Nutrien Broth/NB)**



**a. NB manual**

Beef extract.....3 gram  
Peptone .....5 gram  
Aquades .....1000 ml

**b. NB instant**

NB .....20 gram  
Aquades .....1000 ml

**c. NA manual**

Beef extract.....3 gram  
Peptone .....5 gram  
Agar-agar.....15 gram  
Aquades .....1000 ml

**d. NA instan**

NA .....20 gram  
Aquades .....1000 ml

Langkah kerja:

1. Masukkan beef extract, peptone, agar-agar dan aquades ke dalam beaker glass 1000 ml
2. Panaskan di atas kompor pemanas, aduk hingga homogen atau hampir mendidih
3. Masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10 ml untuk media tegak dan 5-7 ml
4. untuk media miring, dan tabung Erlenmeyer masing-masing 50 ml.
5. Semua tabung medium ditutup dengan kapas yang telah dibungkus dengan kain kassa dan
6. aluminium foil.
7. Sterilkan dengan autoklaf.
8. Setelah disterilkan untuk media tegak biarkan tabung dalam keadaan berdiri dan untuk
9. media miring tabung dimiringkan dengan catatan media tidak sampai menyentuh tutup
10. tabung. Media kemudian di simpan di dalam lemari pendingin dan nantinya akan
11. dipergunakan pada praktikum.

2. Membuat medium untuk jamur (Potato Dextrose Agar)

**a. Manual**

Kentang .....200 gram





Dextrose .....	10 gram
Agar-agar.....	15 gram
Aquades .....	1000 ml

#### **b. Instan (d disesuaikan dengan kemasan PDA instan)**

PDA.....	39 gram
Aquades .....	1000 ml

1. Kupaslah kentang lalu bersihkan, iris dadu sepanjang 1 cm kemudian dimasak dalam 500 ml aquades dan biarkan mendidih, jaga agar volume tetap.
2. Saring ekstrak kentang dan ambil filtratnya.
3. Tambahkan dekstrose dan agar-agar serta aquades panaskan pada api sedang sambil diaduk hingga homogen atau mendidih
4. Masukkan pada tabung reaksi masing-masing 10 ml untuk media tegak dan 5-7 ml untuk media miring, dan tabung Erlenmeyer masing-masing 50 ml.
5. Semua tabung medium ditutup dengan kapas yang telah dibungkus dengan kain kassa dan aluminium foil.
6. Sterilkan dengan autoklaf.
7. Setelah disterilkan untuk media tegak biarkan tabung dalam keadaan berdiri dan untuk media miring tabung miringkan dengan catatan media tidak sampai menyentuh tutup tabung.
8. Selanjutnya media disimpan di dalam lemari pendingin untuk digunakan pada saat praktikum.
9. Selanjutnya amati apakah media dan larutan pengencer tersebut tetap steril (tetap jernih) atau telah terkontaminasi (menjadi keruh) selama penyimpanan.

#### **2. Sterilisasi cara kimia**

- a. Semprotkan alkohol 70 % pada tangan dan meja yang akan digunakan untuk pengamatan.
- b. Bersihkan meja dengan lap bersih.

#### **3. Sterilisasi cara fisika**

1. Cawan Petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, pipet ukur, gelas ukur.
2. Kertas HVS
3. Plastik tahan panas
4. Karet
5. Autoklaf, Oven
6. Aluminium foil, kapas berlemak, tali kasur, kertas label dan gunting



- a. Bungkus masing-masing cawan Petri dengan kertas HVS kemudian masukkan ke dalam plastik tahan panas.
- b. Isilah autoklaf dengan aquades setinggi batas sarangan.
- c. Aturlah suhu sebesar 121 °C, dengan tekanan 2 atm dan aturlah waktu yang akan digunakan sampai pada angka 15-20 menit.
- d. Pastikan lubang uap dalam keadaan tertutup (CLOSE)
- e. Tarik tuas power sampai ketitik ON lalu tekan tombol ON, apabila lampu hijau menyala maka dapat dipastikan autoklaf dalam keadaan bekerja.
- f. Setelah alarm berbunyi maka tarik tuas power hingga ke titik OFF kemudian bukalah lubang uap dengan cara memutarnya kearah OPEN.
- g. Diamkan autoklaf selama 15 menit untuk memastikan bahwa uap keluar dan autoklaf dalam keadaan tidak panas.
- h. Bukalah tutup autoklaf dan keluarkan alat-alat yang telah steril. Cawan petri dan tabung reaksi dimasukkan ke dalam oven untuk dikeringkan.



**Hasil Pengamatan**

gggul

Universitas  
**Esa Unggul**

Universitas  
**Esa Ui**

gggul

Universitas  
**Esa Unggul**

Universitas  
**Esa Ui**



### Praktikum 3

## Penanaman Bakteri Pada Medium Padat dan Cair

#### Tujuan :

Mahasiswa dapat melakukan teknik kerja secara aseptik dan dapat melakukan inokulasi dengan baik, secara goresan maupun tusukan, pada media padat.

#### Prinsip :

Dalam kehidupan sehari-hari kita selalu berhubungan dengan mikroorganisme, baik kapang, khamir maupun bakteri. Mikroorganisme itu ada yang patogen (penyebab penyakit) maupun tidak patogen. Untuk memudahkan mempelajari maupun mendiagnosa mikroorganisme tersebut, kita harus melakukan isolasi mikroorganisme dari habitatnya. Isolasi adalah suatu cara untuk memisahkan mikroorganisme tersebut dari lingkungannya, sehingga diperoleh biakan yang tidak tercampur dengan jenis lainnya. Untuk mengisolasi mikroorganisme, maka ada dua hal yang harus dilakukan, yaitu : 1) menuang media padat (agar) pada cawan petri, dan 2) inokulasi sampel/bahan pada media padat/agar.

Baru kemudian mikroorganisme dapat diisolasi. Inokulasi adalah menanam inokula secara aseptik ke dalam media steril. Inokula adalah bahan yang mengandung mikroba atau biakan mikroba, baik dalam keadaan cair maupun padat. Inokulasi pada media padat dapat dilakukan dengan cara penggoresan (streak plate) atau tusukan dan secara penuangan (pour plate). Semua pengerjaan mikrobiologi (seperti: pengambilan sampel, inokulasi, isolasi, pengenceran dll), harus dilakukan secara aseptik, untuk menghindari segala kemungkinan kontaminasi. Udara ruangan tempat bekerja, tangan, rambut, dan pakaian dari praktikan, merupakan sumber kontaminasi. Sehingga dianjurkan untuk mencuci tangan dengan cairan desinfektan sebelum bekerja dan tidak berbicara selama melakukan inokulasi. Bekerjalah di sekitar nyala api biru dari pembakar Bunsen yang memberikan daerah “steril” dalam radius 20 cm. Bila suatu pengerjaan aseptik telah selesai, perkecil api bunsen dan matikan. Sebelum meninggalkan laboratorium, cucilah tangan memakai cairan desinfektan dan sabun, lalu bilas dengan air ledeng.

#### Bahan-bahan:

1. Biakan murni *Escherichia coli*
2. Medium LB agar tegak, miring dan pada cawan petri
3. Medium LB cair
4. Sampel Air, Tanah, Pelapukan kayu

#### Alat-alat:

1. Jarum ose/sengkelit/loop





2. Jarum inokulasi
3. Bunsen
4. Cawan Petri
5. *Shaker incubator*
6. Inkubator

#### Metode Kerja :

#### Inokulasi Bakteri dari Alam dengan pengenceran bertingkat

1. Siapkan 5 gr bahan sampel, tumbuk menggunakan mortar sampai halus, masukkan ke dalam larutan pengencer aquades 5 ml yang sebelumnya telah disiapkan, godok/kocok sampai merata selanjutnya disebut sebagai pengenceran pertama  $10^{-1}$
2. Pipet 1 ml dari  $10^{-1}$  kemudian dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan pengencer, selanjutnya disebut pengencer ke dua  $10^{-2}$  lakukan sampai pengenceran terakhir yaitu  $10^{-5}$
3. Ambil 0,1 ml pada pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  dan  $10^{-3}$  teteskan ke dalam cawan petri yang telah berisi media padat, sebarkan dengan menggunakan Batang L yang telah disterilkan atau dengan cara mengoyangkan ke seluruh permukaan media, dan diinkubasi selama 2 hari (Metode tuang / spread).
4. Lakukan pengamatan dan perhitungan jumlah koloni

#### Penanaman bakteri pada medium agar miring

1. Nyalakan Bunsen
2. Siapkan biakan murni *E.coli* dan medium agar miring yang baru
3. Ambil jarum ose dengan tangan kanan dan bakar pada Bunsen hingga memijar (*pembakaran dilakukan dari ujung ke pangkal*), dinginkan sejenak (*tetap dipegang dengan tangan kanan*)
4. Ambil tabung biakan bakteri dengan tangan kiri, buka tutup tabung dengan ibu jari dan telunjuk, kemudian bakar mulut tabung dengan Bunsen (*cukup dilewatkan sebentar pada api, jangan terlalu lama karena akan mematikan bakteri*)
5. Ambil bakteri dengan jarum ose
6. Bakar kembali mulut tabung biakan dan tutup dengan penutupnya, letakkan dengan tangan kiri.
7. Ambil medium agar miring baru dengan tangan kiri, buka penutup dengan cara yang sama dengan sebelumnya dan bakar mulut tabung reaksi pada Bunsen.
8. Masukkan jarum ose ke dalam tabung medium, tanam bakteri dengan menggerakkan

jarumose secara zig-zag (*catatan* : saat menanam, jarum ose jangan terlalu dalam masuk ke dalam medium yang dalam menyebabkan medium rusak)

9. Bakar mulut tabung medium dan tutup kembali.
10. Bakar jarum ose hingga memijar untuk mematikan bakteri.

#### **Penanaman bakteri pada medium agar tegak**

1. Nyalakan Bunsen
2. Siapkan biakan murni *E.coli* dan medium agar tegak yang baru
3. Ambil jarum inokulasi dengan tangan kanan dan bakar pada Bunsen hingga memijar (*pembakaran dilakukan dari ujung ke pangkal*), dinginkan sejenak (*tetap dipegang dengan tangan kanan*)
4. Ambil tabung biakan bakteri dengan tangan kiri, buka tutup tabung dengan ibu jari dan telunjuk, kemudian bakar mulut tabung dengan Bunsen (*cukup dilewatkan sebentar pada api, jangan terlalu lama karena akan mematikan bakteri*)
5. Ambil bakteri dengan jarum inokulasi
6. Bakar kembali mulut tabung biakan dan tutup dengan penutupnya, letakkan dengan tangan kiri.
7. Ambil medium agartegak yang baru dengan tangan kiri, buka penutup dengan cara yang sama dengan sebelumnya dan bakar mulut tabung reaksi pada Bunsen.
8. Masukkan jarum inokulasi ke dalam tabung medium, tanam bakteri dengan menusukkan jarum inokulasi ke dalam medium. Bakar mulut tabung medium dan tutup kembali.
9. Bakar jarum inokulasi hingga memijar untuk mematikan bakteri.

#### **Penanaman bakteri pada medium agar dengan cara sebar/*spread***

1. Nyalakan Bunsen
2. Siapkan biakan murni *E.coli* cair dan medium agar cawan petri yang baru
3. Ambil sebanyak 0,1 ml kultur bakteri *E.coli*.
4. Cawan petri diambil dengan tangan kiri, dibuka sedikit tutupnya dengan jari jempol dan telunjuk dan didekatkan dengan api Bunsen.
5. Masukkan bakteri kultur ke medium agar.
6. Celup *spreader* dalam alkohol 70% kemudian bakar dengan Bunsen, biarkan dingin.
7. Ratakan biakan bakteri di medium agar dengan *spreader* hingga merata ke seluruh permukaan medium agar.
8. Simpan biakan dengan posisi terbalik pada inkubator

#### **Penanaman bakteri pada medium agar dengan cara gores/*streak* untuk memisahkan koloni**

1. Nyalakan Bunsen
2. Siapkan biakan murni *E.coli* dan medium agar di cawan petri yang baru

3. Ambil jarum ose dengan tangan kanan dan bakar pada Bunsen hingga memijar (*pembakaran dilakukan dari ujung ke pangkal*), dinginkan sejenak (*tetap dipegang dengan tangan kanan*)
4. Ambil tabung biakan bakteri dengan tangan kiri, buka tutup tabung dengan ibu jari dan telunjuk, kemudian bakar mulut tabung dengan Bunsen (*cukup dilewatkan sebentar pada api, jangan terlalu lama karena akan mematikan bakteri*)
5. Ambil bakteri dengan jarum ose
6. Bakar kembali mulut tabung biakan dan tutup dengan penutupnya, letakkan dengan tangan kiri.
7. Ambil medium agar yang baru dengan tangan kiri, buka penutup cawan petri dengan ibu jari dan telunjuk tangan kiri dan dilakukan dekat dengan Bunsen.
8. Goreskan bakteri pada jarum ose pada medium agar dengan arah zig zag
9. Setelah goresan yang terakhir, bakar ose pada bunsen
10. Buat kuadran goresan bakteri yang kedua, yang berasal dari goresan pertama.
11. Setelah selesai buat lagi kuadran berikutnya, hingga semuanya berjumlah 4 kuadran goresan (lihat gambar).
12. Setiap kali membuat kuadran baru, jarum ose dibakar pada Bunsen.
13. Setelah selesai, bakar jarum ose untuk mematikan bakteri.
14. Simpan kultur bakteri pada inkubator pada posisi terbalik.

### **Hasil Pengamatan**

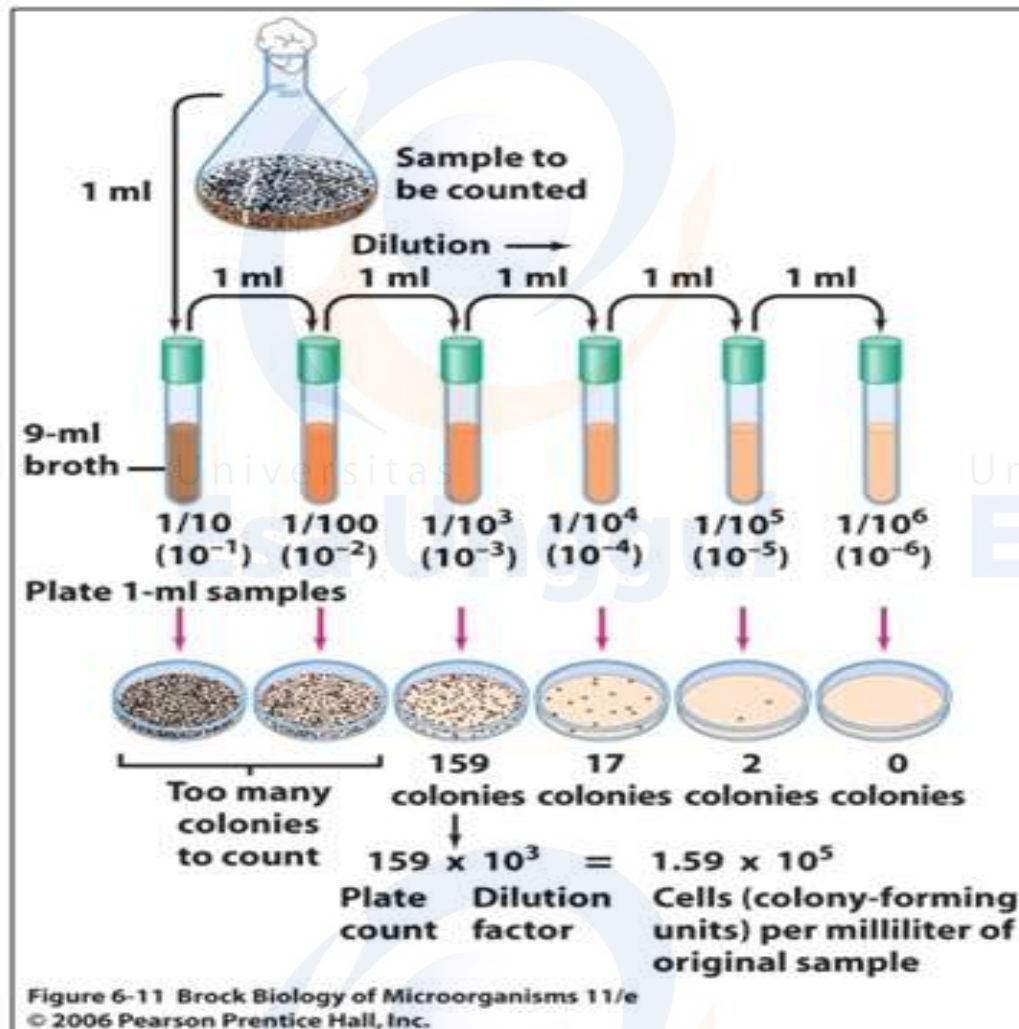
NO	Kode Sampel	Bentuk koloni	Warna Kologi	Jumlah Koloni



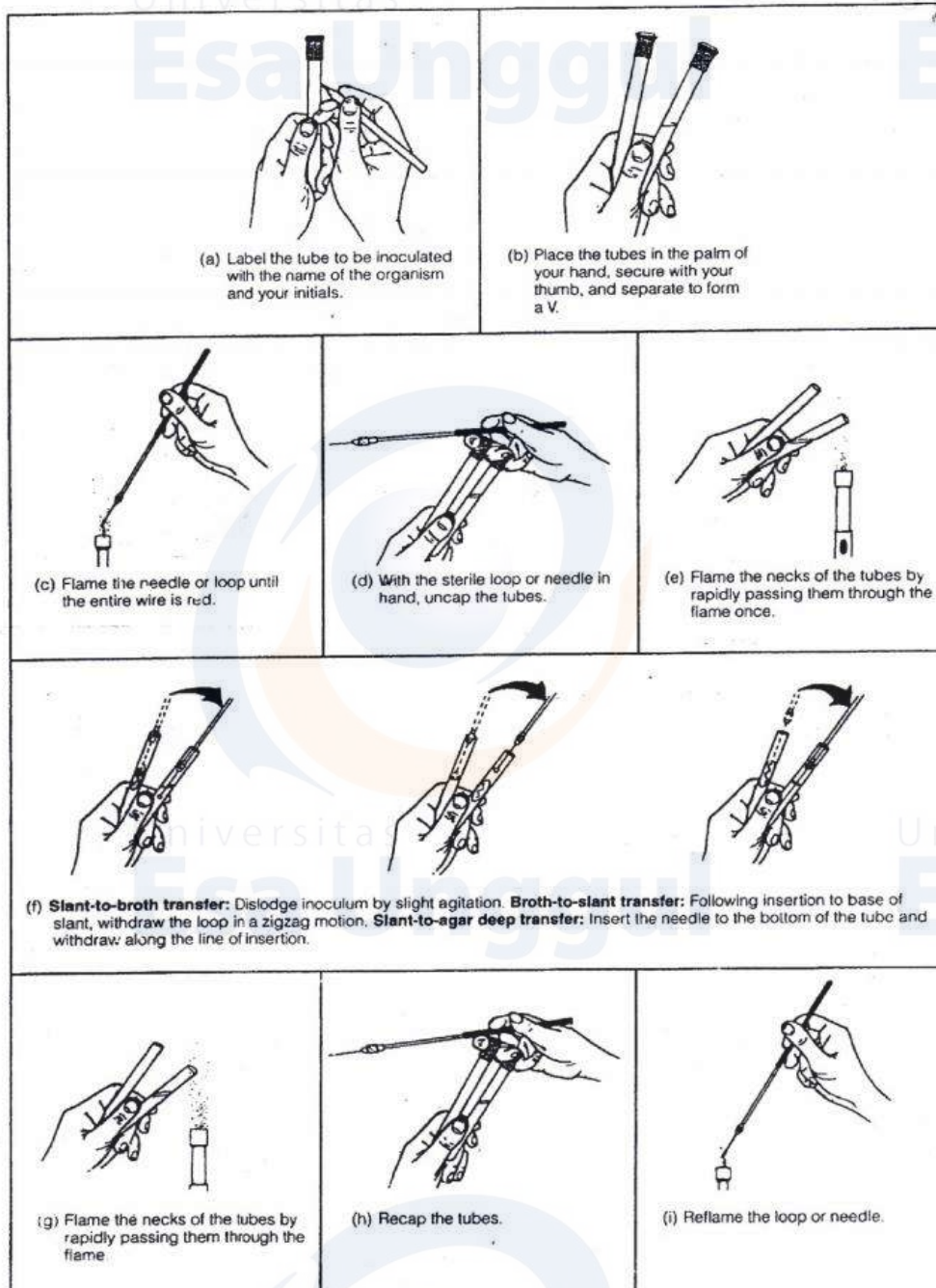
## Menghitung Total Koloni

NO	Pengenceran	Metode Tuang	Metode Spread
1			
2			
3			
4			
5			
6			

### Keterangan:







Prosedur inokulasi



## Praktikum 4 Pewarnaan Gram

### Tujuan:

Mahasiswa dapat melakukan pewarnaan gram pada bakteri untuk memisahkan bakteri gram negatif dan positif.

### Prinsip:

Untuk mengetahui nama jenis atau spesies suatu mikroorganisme perlu dilakukan identifikasi. Salah satu tahap untuk identifikasi adalah pengecatan sel. Sel bakteri tidak berwarna, sehingga sukar untuk diamati secara langsung. Untuk mempermudah pengamatan morfologi, struktur, sifat-sifat bakteri diperlukan pewarnaan atau pengecatan untuk membantu identifikasinya. Pengecatan kuman bakteri ada beberapa macam, yaitu :

#### 1. Pengecatan negatif

Pengecatan dilakukan untuk mewarnai latar belakang preparat dan sel bakteri itu sendiri tidak terwarnai. Pewarnaan ini memakai zat warna negrosin /tinta bak.

#### 2. Pengecatan sederhana

Pengecatan dilakukan dengan memakai satu macam larutan cat ( zat warna biru metilen/Kristal violet) Sel bakteri akan berwarna sesuai dengan jenis cat yang dipakai.

#### 3. Pengecatan diferensial

Pengecatan ini dilakukan memakai beberapa larutan zat warna/cat, dengan pengecatan ini bakteri dapat dikelompokkan dalam suatu kelompok tertentu. Misal pengecatan Gram, pengecatan tahan asam.

#### 4. Pengecatan khusus.

Pewarnaan ini dipakai untuk mewarnai bagian-bagian sel bakteri yang tidak bisa diwarnai dengan pewarnaan biasa. Contoh: pewarnaan spora. Preparat yang diwarnai kristal violet akan menyebabkan semua bakteri menjadi ungu (zat warna akan diserap dinding sel dan protoplasma). Pemberian lugol menyebabkan terbentuknya kompleks ungu-kristal iodium yang berwarna ungu tengguli. Pencucian dengan alcohol menyebabkan diferensiasi dari 2 macam bakteri, bakteri yang tetap berwarna ungu dan bakteri yang tidak berwarna (sebab zat warna dilarutkan oleh alcohol dan keluar dari sel bakteri). Fukhsin sebagai pewarna kontras akan mewarnai bakteri



yang tidak berwarna menjadi merah

**Bahan-bahan :**

1. Biakan bakteri gram positif dan negatif
2. Crystal violet (Gram A)
3. Larutan Iodin (Gram B)
4. Alkohol 96% (Gram C)
5. Safranin (Gram D)
6. Akuades
7. Minyak immersi

**Alat-alat:**

1. Mikroskop cahaya
2. Bunsen
3. Kaca obyek
4. Pipet tetes

**Cara kerja:**

1. Ambil biakan murni bakteri dengan jarum ose secara aseptis
2. Letakkan bakteri pada kaca obyek yang sebelumnya diberi tetesan akuades steril, ratakan .
3. Fiksasi bakteri dengan melewati kaca obyek pada Bunsen beberapa kali.
4. Teteskan crystal violet pada bakteri, diamkan selama 30-60 detik.
5. Buang sisa pewarna dan cuci preparat dengan air mengalir
6. Teteskan larutan iodin, diamkan 1-2 menit.
7. Cuci kembali dengan air mengalir
8. Lakukan decolorisasi dengan menambahkan alkohol pada preparat dan diamkan selama 20 detik.
9. Cuci kembali dengan air mengalir
10. Tambahkan safranin, dan diamkan selama 10-20 detik.
11. Cuci dengan air mengalir.
12. Kering anginkan preparat hingga kering
13. Amati preparat pada mikroskop dengan perbesaran 1.000X. Pengamatan dengan perbesaran ini harus menggunakan minyak immersi.
14. Catat hasil pengamatan.

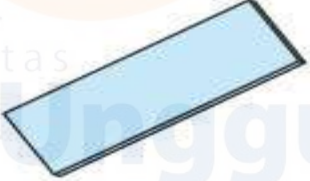
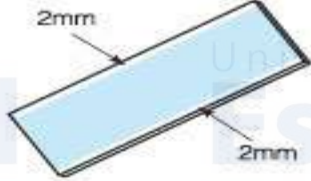
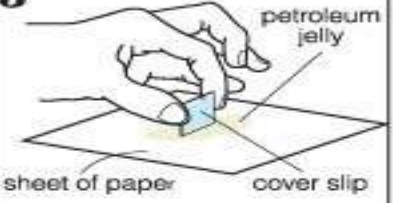
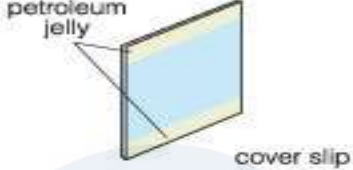
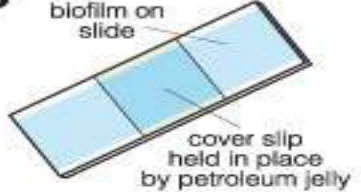
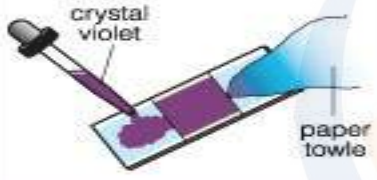
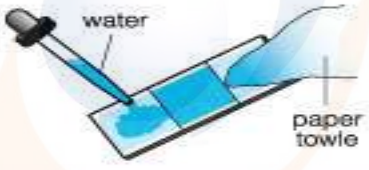
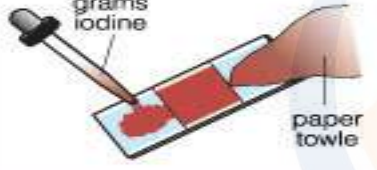
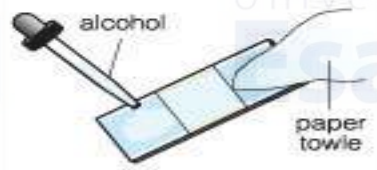
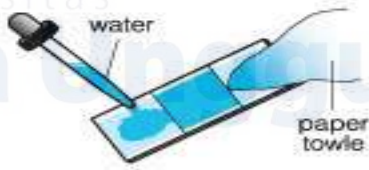

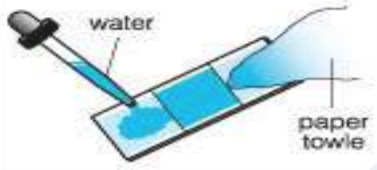
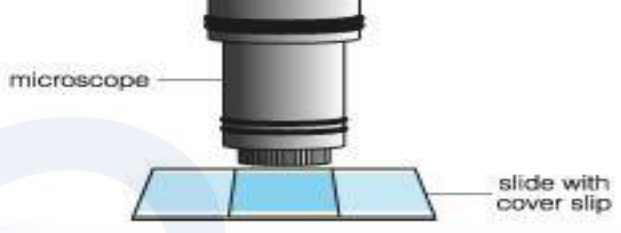


**Hasil Pengamatan**

<b>NO</b>	<b>Kode Sampel</b>	<b>Bentuk Sel</b>	<b>Warna Sel</b>	<b>Gram</b>



Keterangan :

<b>GRAM STAINING</b>		
<b>1</b>		<b>2</b>
Flow Through Procedure		Wipe bottom of biofilm slide clean
Clean top edges of slide about 2mm		
<b>3</b>		<b>4</b>
Build up a ridge of petroleum jelly on the top and bottom of a cover slip		Cover slip with petroleum jelly
Biofilm on slide with cover slip		
<b>5</b>		<b>6</b>
Add crystal violet - wait 30 sec.		Cover slip with petroleum jelly
Biofilm on slide with cover slip		
<b>7</b>		<b>8</b>
Wash with water		Add Grams iodine - wait 1.5 min.
Biofilm on slide with cover slip		
<b>9</b>		<b>10</b>
Decolorize with alcohol		Wash with water
Biofilm on slide with cover slip		
<b>11</b>		<b>12</b>
Stain with Safranin dye - wait 30 sec.		Wash with water
Biofilm on slide with cover slip		
<b>13</b>		
Examine under oil immersion through the cover slip		





4. Ambil cakram bakteri dengan menggunakan pinset dan letakkan pada kultur bakteri
5. Inkubasikan kultur bakteri pada inkubator dengan posisi terbalik
6. Setelah 2 x 24 jam, amati pertumbuhan bakteri, apakah terbentuk *halo* (Zona Bening) di sekitar cakram antibiotik.
7. Ukur diameter *halo* (Zona Bening /Hambat) dengan jangka sorong.
8. Bandingkan dengan diameter cakram control

### **Hasil Pengamatan**

Antibiotik Tetrasiklin dengan kadar -----ppm

1. Kode ..... Zona Hambat .....cm
2. Kode.....Zona Hambat.....cm

Antibiotik Kanamicin dengan kadar .....ppm

1. Sampel.....Zona Hambat .....cm
2. Sampel.....Zona Hambat.....cm





## **Praktikum 6**

### **Pengamatan Struktur Parasit Pada Manusia, Hewan Dan Tumbuhan**

#### **Tujuan Praktikum**

Mengetahui jamur yang menginfeksi manusia khususnya mikosis superfisial dan siklus hidupnya.

#### **Prinsip**

Karakteristik jamur adalah:

- Merupakan sel Eukariotik
- Berkembang biak dengan spora secara asexual maupun sexual
- Tidak berklorofil
- Tubuh berfilamen
- Dinding sel terdiri dari khitin, glukana, manan dan selulosa
- Bersifat sebagai Saprofit dan Parasit
- Mencerna makanan di luar tubuh lalu menyerap molekul nutrisi ke dalam sel-selnya

Peranan Jamur, Menguntungkan dan Merugikan

1. Yang menguntungkan diantaranya adalah :

- Fermentasi alkohol, pembuatan tempe, menghasilkan antibiotik (*Penicillium notatum*).
- Jamur yang bisa dimakan edible Mushroom (*Volvariella volvacea*, *Pleurotus ostreatus*) dll
- Sebagai sumber obat-obatan
- Sebagai pengurai bahan organik
- Sebagai pengendali penyakit secara hayati

2. Yang merugikan diantaranya :

- Yang bersifat patogen pada manusia, hewan dan Tumbuhan
- Merusak perabot, penyakit tumbuhan





Berdasarkan bentuknya, Jamur terbagi 3 yaitu: Yeast, Mold, Dimorfik

## **BAHAN DAN ALAT**

- Pasien penyakit panu dan piedra
- Jamur pada Hewan dan Tumbuhan yang telah mati
- Kutu (manusia, hewan)
- Cacing Parasit (manusia dan ikan)
- Alat kerok / skapel
- Larutan KOH 10%
- Mikroskop lengkap
- Gelas preparat dan gelas penutup
- Pipet tetes

## **CARA KERJA**

### **Pengamatan Jamur Parasit**

1. Panu di kulit penderita dikerok/kudis dengan alat kerok. Untuk jamur tanaman/hewan dapat diambil secara langsung dengan spatula,
2. Kerokan panu dimasukkan ke larutan KOH 10%
3. Ambil satu tetes dan teteskan pada gelas preparat dan tutup dengan gelas penutup.
4. Amati di bawah mikroskop, maka akan tampak spora berkelompok dan hifa pendek yang juga berkelompok.
5. Untuk pemeriksaan piedra, periksa benjolan pada rambut kepala pasien. Benjolan sangat keras, berwarna coklat kehitaman, sangat sulit dilepaskan dan bila diperiksa maka rambut akan patah, rambut mudah patah bila disisir.
6. Sobekan dilarutkan ke larutan KOH 10%
7. Ambil satu pipet dan teteskan pada gelas preparat dan tutup dengan gelas penutup.
8. Amati di bawah mikroskop, maka akan terlihat anyaman padat dari hifa yang berwarna tengguli, didalam anyaman tampak bagian-bagian yang jernih yaitu askus-askus yang masing-masing mengandung 2-8 askospora.

### **Pengamatan pada serangga parasit**

1. Ambil kutu rambut kemudian amati di bawah mikroskop, kemudian Gambar



**Hasil Pengamatan**

Nama preparat : ..... Gambar :

Perbesaran : .....

**Hasil Pengamatan**

Gambar Serangga Parasit

Gambar Cacing Parasit



## **Praktikum 7 PROTOZOA PARASIT**

### **Tujuan:**

Mengetahui Protozoa parasit pada tubuh manusia dan yang hidup di lingkungan.

### **Prinsip :**

“Protozoa” berarti “first animal”, suatu bentuk sederhana kehidupan hewan. Dapat hidup bebas di laut, air tawar, atau tanah, atau bersimbiosis, atau hidup di dalam organisme lain. Hidup protozoa bergantung pada nutrisi, suhu, pH dan beberapa protozoa bergantung pula kepada cahaya. Sebagian besar protozoa bersifat parasit dan memiliki dua bentuk. Dalam keadaan yang sesuai bentuknya adalah Trophozoit, jika dalam keadaan ekstrim berbentuk Kista (cyst). Beberapa protozoa dikelompokkan sama dengan algae, atau fungi. Misalnya Euglena, slime mold.

### **BAHAN DAN ALAT**

- Darah pasien, air comberan
- Mikroskop lengkap
- Gelas preparat datar dan cekung
- Gelas penutup preparat
- Pipet tetes

### **CARA KERJA**

1. Darah pasien yang terserang infeksi protozoa ditetaskan pada gelas preparat dan pratakan; (air comberan)
2. Gelas preparat ditutup dengan gelas penutup dan dilihat dibawah mikroskop;
3. Untuk sampel air comberan, ambil dengan pipet tetes dan tetaskan pada gelas penutup;
4. Gelas penutup letakkan secara terbalik pada gelas preparat cekung (pemeriksaan tetes gantung); Amati di bawah mikroskop dan gambar.

Sumber :

Nama preparat :

Perbesaran :

Penyebab penyakit :

Gambar :



Sumber :  
Nama preparat :  
Perbesaran :  
Penyebab penyakit :

Gambar :

Universitas  
**Esa Unggul**

Universitas  
**Esa Ui**

Sumber :  
Nama preparat :  
Perbesaran :  
Penyebab penyakit :

Gambar :

Universitas  
**Esa Unggul**

Universitas  
**Esa Ui**

Sumber :  
Nama preparat :  
Perbesaran :  
Penyebab penyakit :

Gambar :





## DAFTAR PUSTAKA

1. Jawetz., et al. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*; Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23, Translation of Jawewtz, Melnick, and Adelberg's *Medical Microbiology*, 25thEd. Alih bahasa oleh dr Aryandhito Widhi Nugroho.,et al. Jakarta: Penerbit EGC
2. Pelczar, M.J and Chan ,E.C.S. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta:Penerbit UI Press
3. Harti, Agnes Sri. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan*. Jakarta: Penerbit Andi
4. Hadioetomo, R.S.1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*.Jakarta: Penerbit Gramedia Pustaka Utama
5. Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Bandung: Penerbit Citra Aditya Bakti
6. Atlas, R.M., 1993, *Handbook of Microbiological Media*, Boca Raton, CRC Press