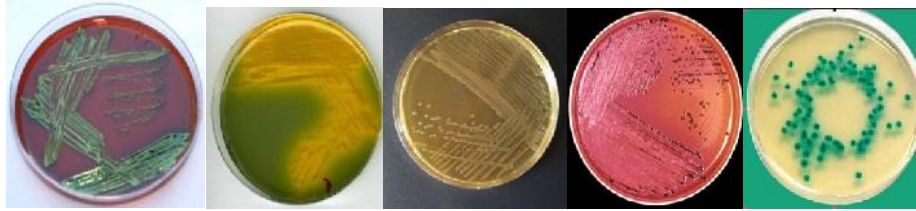


PENUNTUN PRAKTIKUM



MIKROBIOLOGI DAN PARASITOLOGI (KES 203)

Oleh:

Inherni Marti Abna, S.Si, M.Si



Program Studi Kesehatan Masyarakat

Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan

Universitas Esa Unggul

2017

KATA PENGANTAR

Atas berkat rahmat Allah SWT penulis berhasil menyusun buku **Panduan Praktikum Mikrobiologi dan Parasitologi**. Panduan Praktikum Mikrobiologi dan Parasitologi ini disusun untuk digunakan oleh mahasiswa Program Studi Kesehatan Masyarakat Universitas Esa Unggul yang melaksanakan praktikum mikrobiologi dan parasitologi, sebagai bagian dari mata kuliah KES 203 Mikrobiologi dan Parasitologi.

Praktikum mikrobiologi dan parasitologi diharapkan dapat memberikan wawasan dan keterampilan kepada mahasiswa dalam menangani mikroorganisme dan cara-cara analisis mikrobiologi yang dipakai dalam bidang ilmu Kesehatan Masyarakat.

Sebelum praktikum dimulai, para mahasiswa dianjurkan untuk membaca petunjuk/panduan praktikum ini, agar pekerjaan yang dilakukan sesuai dengan aturan dan memenuhi syarat keamanan laboratorium. Kontaminasi mikroorganisme dapat menjadi hal yang serius apabila tidak diantisipasi sebelumnya.

Semoga buku panduan ini dapat bermanfaat bagi mahasiswa maupun pembaca lainnya.

Jakarta, 12 September 2017

Inherni Marti Abna, S.Si, M.Si

PERCOBAAN I
PERSIAPAN DAN STERILISASI ALAT,
PEMBUATAN DAN STERILISASI MEDIA SERTA LARUTAN PENGECER

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.

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.

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 mikro elemen. 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.

a. 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

b. 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/cm² (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

Peptone5 gram

Aquades1000 ml

b. NB instant

NB20 gram

Aquades1000 ml

c. NA manual

Beef extract.....3 gram

Peptone5 gram

Agar-agar.....15 gram

Aquades1000 ml

d. NA instan

NA20 gram

Aquades1000 ml

Langkah kerja:

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

2. Membuat medium untuk jamur (Potato Dextrose Agar)

a. Manual

Kentang200 gram

Dextrose10 gram

Agar-agar.....15 gram

Aquades1000 ml

b. Instan (d disesuaikan dengan kemasan PDA instan)

PDA.....39 gram

Aquades 1000 ml

- a. Kupaslah kentang lalu bersihkan, iris dadu sepanjang 1 cm kemudian dimasak dalam 500 ml aquades dan biarkan mendidih, jaga agar volume tetap.
- b. Saring ekstrak kentang dan ambil filtratnya.
- c. Tambahkan dekstrose dan agar-agar serta aquades panaskan pada api sedang sambil diaduk hingga homogen atau mendidih
- d. 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.
- e. Semua tabung medium ditutup dengan kapas yang telah dibungkus dengan kain kassa dan aluminium foil.
- f. Sterilkan dengan autoklaf.
- g. Setelah disterilkan untuk media tegak biarkan tabung dalam keadaan berdiri dan untuk media miring tabung miringkan dengan catatan media tidak sampai menyentuh tutup tabung. Selanjutnya media disimpan di dalam lemari pendingin untuk digunakan pada saat praktikum.
- h. 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:

Buatlah tabel untuk mencatat data yang kamu peroleh:

Media Biakan	Sebelum Sterilisasi			Sesudah Sterilisasi		
	Bentuk	Warna	Keruh/jernih	Bentuk	Warna	Keruh/jernih
	(padat/cair)			(padat/cair)		
1. Endo agar						
2. NA						
3. PDA						
4. GB						
5. LB						
6. SB						

KESIMPULAN :

.....

PERCOBAAN II
CARA INOKULASI DAN MEMBUAT PEREMAJAAN BIAKAN
DALAM MEDIA PADAT

Kompetensi Dasar: Melakukan secara langsung proses inokulasi mikroorganisme pada media padat .

Teori Umum:

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.

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

BAHAN DAN ALAT :

1. Bahan :

- media Endo agar
- media NA
- media PDA
- urin pasien
- kotoran gigi
- sputum (dahak) dll
- alkohol 70 %

2. Alat :

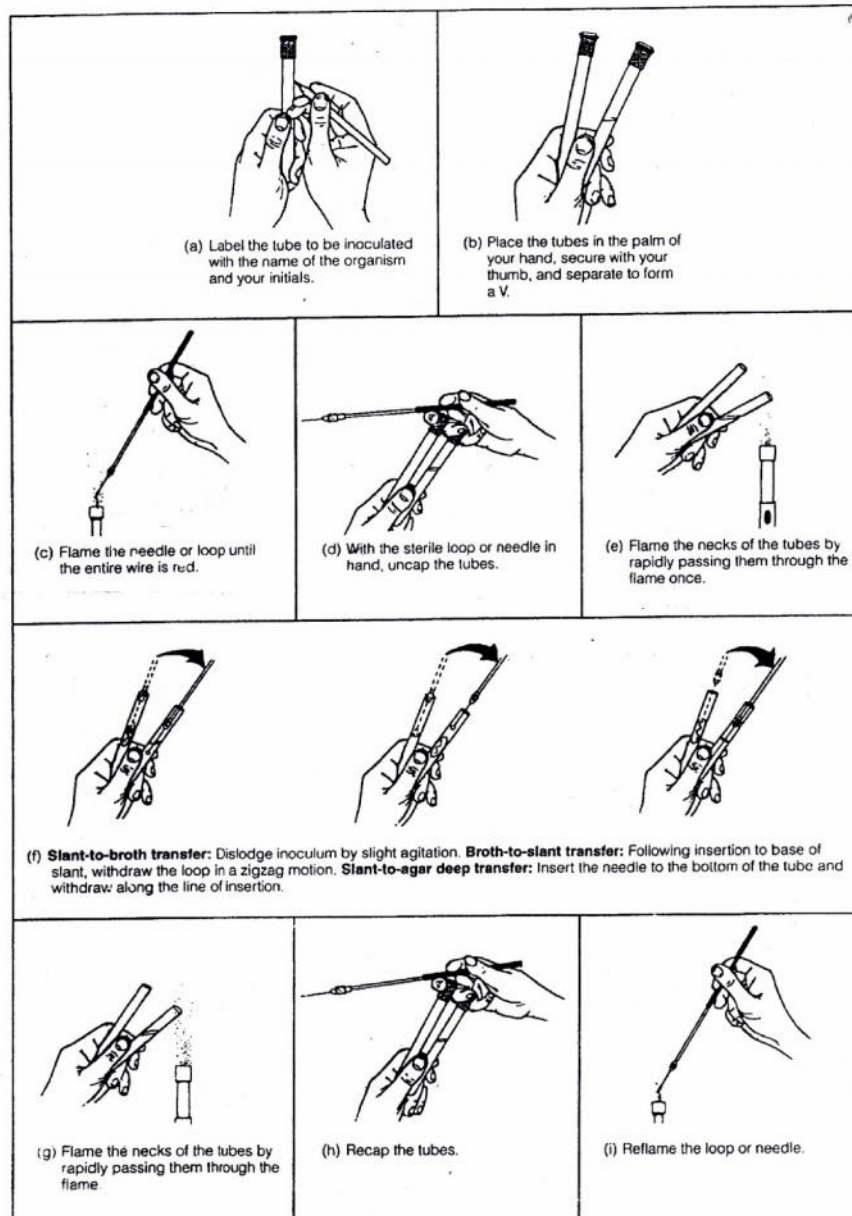
- cawan petri
- lampu spiritus
- inkubator
- spatula
- jarum inokulasi (jarum ose)
- kapas
- laminar air flow cabinet (LAFC)
- penangas air

CARA KERJA :

1. Media dicairkan di dalam penangas air dan tuang pada cawan petri steril, diamkan sampai memadat.
2. Jarum ose diflambir sampai ujungnya pijar, kemudian pemanasan diteruskan perlahan-lahan ke arah pegangan jarum sampai batas kawat. Pekerjaan ini dilakukan sebanyak dua kali. Kemudian jarum didinginkan sesaat. Dengan tangan kiri diambil tabung reaksi yang berisi inokula. Kapas penutup tabung ditarik dengan cara menjepit di antara jari kelingking dan telapak tangan kanan. Mulut tabung yang telah terbuka diflambir dengan cepat.
3. Jarum ose dimasukkan ke dalam tabung reaksi inokula tanpa menyentuh dinding untuk mengambil inokula . Kemudian jarum ose ditarik keluar dan dipegang tetap pada jarak 10 cm sekitar nyala api Bunsen. Mulut tabung reaksi diflambir, kemudian tutup kapasnya dimasukkan kembali ke dalam mulut tabung. Tabung dikembalikan ke raknya. Ambil cawan petri yang berisi media steril kemudian flambir pinggirannya di nyala api Bunsen kemudian buka penutupnya. Goreskan inokula pada jarum ose ke setiap bagian dari plat agar pada cawan petri dengan goresan yang rapat. Bila media berupa agar tegak dalam tabung reaksi, inokulasi dilakukan dengan cara memasukkan jarum ose lurus yang telah memuat inokula secara tusukan lurus ke dalam media, tepat pada poros tengah tabung sampai mendekati dasar tabung, kemudian ose ditarik kembali perlahan-lahan. Prosedur yang sama juga dilakukan pada biakan media agar miring.
4. Semua pekerjaan dilakukan secara aseptis (bebas kuman) dengan cara dikerjakan di atas nyala api lampu spiritus/Bunsen di dalam Laminar Air Flow Cabinet.
5. Inkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam di dalam inkubator dan amati pertumbuhan yang terjadi

PENGAMATAN :

No.	Sampel	Gambar Morfologi	Warna
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			



Prosedur inokulasi

KESIMPULAN :

.....

.....

.....

PERCOBAAN III

PEWARNAAN BAKTERI

Kompetensi Dasar: Melakukan secara langsung berbagai cara pewarnaan pada bakteri

Teori Umum: 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 alkohol menyebabkan diferensiasi dari 2 macam bakteri, bakteri yang tetap berwarna ungu dan bakteri yang tidak berwarna (sebab zat warna dilarutkan oleh alkohol dan keluar dari sel bakteri). Fukhsin sebagai pewarna kontras akan mewarnai bakteri yang tidak berwarna menjadi merah.

BAHAN DAN ALAT :

1. Bahan :

- sediaan kuman bakteri hasil isolasi
- larutan gram A (Hucker's crystal violet)
- larutan gram B (Mordant lugol's iodine)
- larutan gram C (alcohol acetone)
- larutan gram D (safranin)
- alkohol 70%
- akuades
- minyak imersi

2. Alat :

- jarum inokulasi atau jarum ose
- lampu spiritus
- mikroskop, kaca objek, pinset, kertas lensa, kertas tissue, Bunsen.

CARA KERJA :

1. Bersihkan gelas preparat dengan alkohol 70 % sehingga bebas lemak dan kotoran.
2. Tetesi satu tetes akuades steril pada gelas preparat dan olesi dengan satu ose bakteri, ratakan dan biarkan kering.
3. Fiksasi dengan melewati beberapa kali diatas nyala api.
4. Dinginkan dan tetesi dengan larutan gram A sebanyak 2-3 tetes pada apusan bakteri dan biarkan selama 1 menit
5. Cuci dengan air mengalir, keringkan dengan kertas isap.
6. Teteskan larutan B dan biarkan selama 1 menit.

7. Cuci dengan air mengalir, keringkan dengan kertas isap.
8. Tetesi dengan larutan gram C, biarkan selama 30 detik.
9. Cuci dengan air mengalir dan keringkan.
10. Teteskan larutan gram D, biarkan selama 30 detik.
11. Cuci dengan air mengalir dan keringkan;
12. Amati dibawah mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 100x dengan memakai minyak imersi.
13. Catat warna, susunan dan bentuk bakteri yang didapat.

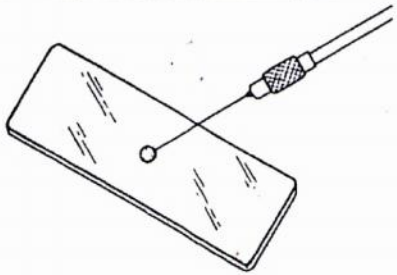
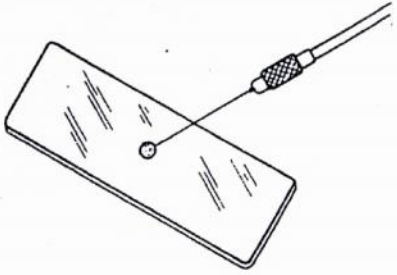
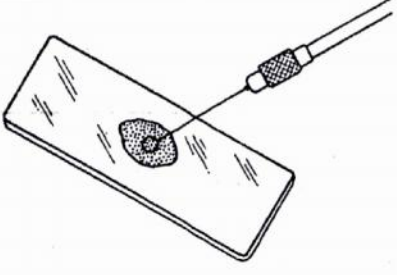
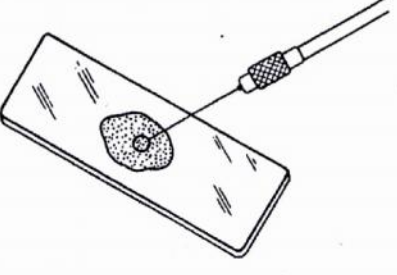
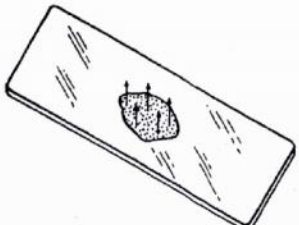
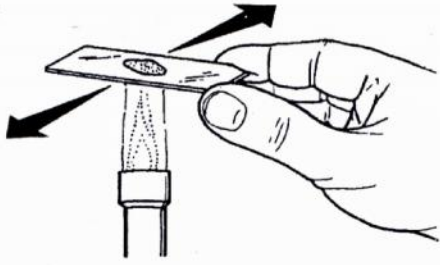
PENGAMATAN :

No.	Sampel	Bentuk sel	Warna sel	Bakteri Gram
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

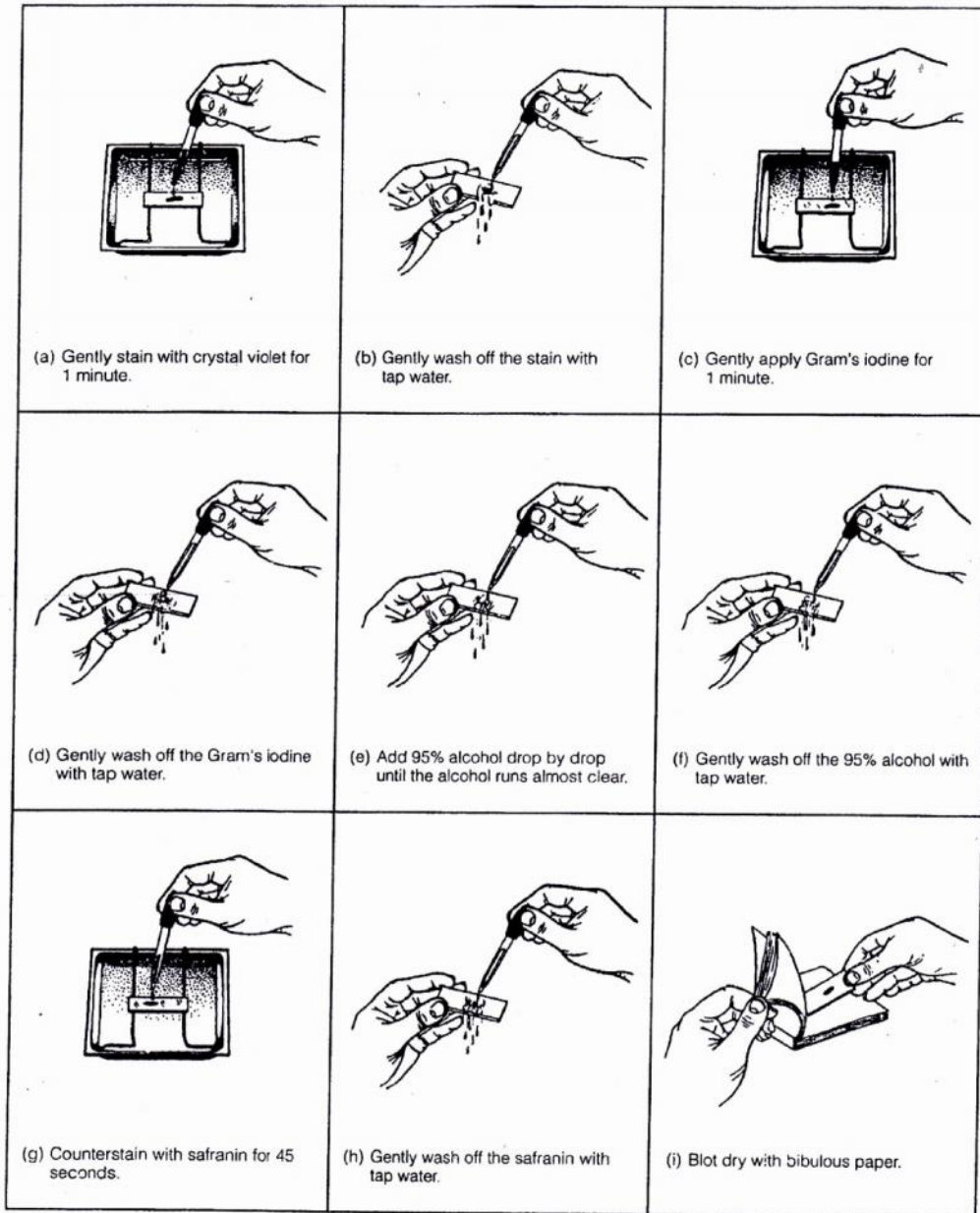
KESIMPULAN :

.....

.....

From liquid media	From solid media
 <p>(a) Place one to two loopfuls of the cell suspension on the clean slide.</p>	 <p>(a) Take one drop of water on the loop and place it on the center of the slide.</p>
 <p>(b) With a circular movement of the loop, spread the suspension into a thin area approximately the size of a dime.</p>	 <p>(b) Transfer a small amount of the bacterial inoculum from the slant culture into the drop of water. Spread both into a thin area approximately the size of a nickel.</p>
 <p>(c) Allow the smear to air-dry.</p>	<p style="text-align: center;">Fixation</p>  <p>(d) While holding the slide at one end, quickly pass the smear over the flame of the Bunsen burner two to three times.</p>

Penyiapan preparat bakteri



Prosedur pewarnaan Gram

PERCOBAAN IV

INOKULASI PADA MEDIA CAIR/FERMENTASI

Kompetensi Dasar: Melakukan secara langsung proses inokulasi bakteri dan jamur pada media cair/fermentasi.

Teori Umum:

Untuk mengidentifikasi kuman bakteri dan khamir, disamping melihat ciri-ciri morfologinya, masih harus dilengkapi dengan sifat-sifat fisiologis dan biokimianya. Untuk melihat sifat biokimianya antara lain dengan inokulasi pada media fermentasi. Selain itu media fermentasi juga berguna untuk membuat kurva pertumbuhan bakteri dan medium fermentasi metabolit sekunder (antibiotik).

TUJUAN : Inokulasi pada media fermentasi

BAHAN DAN ALAT

1. Bahan :

- Sampel isolat bakteri pada medium agar miring
- media NB, GB, LB dan SB

2. Alat :

- jarum ose
- lampu spiritus
- tabung durham
- tabung erlenmeyer

CARA KERJA :

1. Ambil satu ose bakteri dan masukkan kedalam media NB, SB, LB dan GB secara aseptis.
2. Inkubasikan pada suhu 37 °C selama 24-48 jam pada orbital shaker inkubator.
3. Lakukan pengamatan dengan mengambil sejumlah media (10ml)
4. Ambil biomasa sel dengan kertas saring dan kering anginkan.
5. Timbang berat biomassa sel.
6. Hasil pengamatan dicatat.

PENGAMATAN :

Pengamatan	Media fermentasi		
	GB	LB	SB/NB
Perubahan warna			
Kekeruhan			
Gas			
Berat Biomassa Sel			

KESIMPULAN

.....

.....

.....

PERCOBAAN V

TEST KEPEKAAN MIKROBA PATOGEN TERHADAP

SENYAWA OBAT (ANTIBIOTIK)

Kompetensi Dasar: mahasiswa dapat melakukan penetapan respon mikroba terhadap zat antimikroba, yang salah satu contoh pengujiannya adalah penetapan potensi antibiotik.

Tujuan : mengetahui kepekaan bakteri terhadap antibiotika dan zat kimia lainnya.

Teori Umum: Pengujian kepekaan terhadap antibiotik ditujukan untuk memprediksi kesuksesan atau kegagalan *in vivo* terapi antibiotik. Pengujian ini dilakukan *in vitro*, dan menentukan respons pertumbuhan dari patogen yang sudah diisolasi terhadap antibiotik tertentu. Bila mikroba peka terhadap antibiotik yang digunakan maka antibiotik tersebut akan membunuh patogen atau menghalangi pertumbuhannya. Sementara, bila mikroba resisten terhadap antibiotik maka antibiotik tersebut tidak akan membunuh mikroba atau menghalangi pertumbuhannya. Hasil pengujian harus digunakan untuk mengarahkan pemilihan antibiotik. Hasil pengujian kepekaan antimikroba harus dikombinasikan dengan informasi klinik dan pengalaman dalam pemilihan antibiotik yang paling sesuai untuk pasien.

BAHAN DAN ALAT :

1. Bahan :

- suspensi bakteri patogen
- antibiotika
- alkohol 96 %
- cakram kertas steril
- media agar dan cair nutrient
- media NA
- akuades
- acetone
- Siprofloksasin HCL, ampicilin, kloramfenikol

2. Alat :

- tabung reaksi
- cawan petri
- jarum ose
- kertas saring
- pipet forme
- label atau spidol

- lampu spirtus – pinset
- inkubator 37°C – Buffer atau pelarut yang cocok

CARA KERJA :

1. Kertas saring dipotong-potong dengan ukuran diameter 1 cm dan disterilkan dalam oven suhu 100 °C selama 15 menit;
2. Buat seri pengenceran obat dengan cara :

Siapkan 5 tabung reaksi steril dan diisi masing-masing 1 ml akuades steril;
3. Tabung no.1 diisi 1 ml antibiotika dan kocok sampai homogen;
4. Tabung no.2 diisi 1 ml larutan antibiotika tabung no.1 dan kocok sampai homogen;
5. Tabung no.3 diisi 1ml larutan antibiotika tabung no.2 dan kocok sampai homogen;
6. Tabung no.4 diisi 1ml larutan antibiotika tabung no.3 dan kocok sampai homogen;
7. Tabung no.5 diisi 1ml larutan antibiotika tabung no.4 dan kocok sampai homogen;
8. Kertas saring yang telah disterilkan dimasukkan kedalam tabung-tabung reaksi yang mengandung larutan antibiotika;
9. Buat suspensi kuman bakteri dengan cara 1 ose biakan bakteri dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 5 ml akudes steril dan kocok sampai homogen;
10. Tabur 1 ml suspensi bakteri kedalam cawan Petri yang telah berisi media NA, goyangkan sampai suspensi bakteri merata diatas permukaan media;
11. Letakkan kertas saring yang mengandung antibiotika sesuai dengan konsentrasinya;
12. Inkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam;
13. Ukur diameter penghambatannya (zona bening) di sekitar cakram.
14. Lakukan dengan cara yang sama untuk alkohol 96 % dan acetone.

PENGAMATAN :

1. Antibiotikadengan pengeceran :

 $\frac{1}{2}$ dengan diameter =cm
 $\frac{1}{4}$ =cm
 $\frac{1}{8}$ =cm

1/16 =cm

2. Antibiotikadengan pengeceran :

1/2 dengan diameter =cm

1/4 =cm

1/8 =cm

1/16 =cm

3. Alkohol 96 % dengan pengeceran :

1/2 dengan diameter =.....cm

1/4 =.....cm

1/8 =.....cm

1/16 =cm

4. Aceton dengan konsentrasi/pengeceran :

1/2 dengan diameter =cm

1/4 =.....cm

1/8 =cm

1/16 = ... cm

KESIMPULAN :

.....
.....
.....

PERCOBAAN VI

JAMUR PARASIT PADA MANUSIA

TUJUAN

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

TEORI UMUM

Karakteristik jamur adalah:

- Merupakan sel Eukariotik
- Berkembang biak dengan spora secara asexual maupun sexual
- Tidak berklorofil

- Tubuh berfilamen

- Dinding sel terdiri dari khitin, glukukan, manan dan selulosa
- Bersifat sebagai Saprofit dan Parasit
- Mencerna makanan di luar tubuh lalu menyerap molekul nutrisi ke dalam sel-selnya

Peranan Jamur:

1. Menguntungkan
2. 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 pathogen pada manusia
- merusak perabot, penyakit tumbuhan

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

BAHAN DAN ALAT

- Pasien penyakit panu dan piedra

- Alat kerok / skapel

- Larutan KOH 10%

- Mikroskop lengkap
- Gelas preparat dan gelas penutup
- Pipet tetes

CARA KERJA

1. Panu di kulit penderita dikerok dengan alat kerok.
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.

Nama preparat : Gambar :

Perbesaran :

Nama preparat : Gambar :

Perbesaran :

Nama preparat : Gambar :

Perbesaran :

PERCOBAAN VII

PROTOZOA PARASIT

TUJUAN:

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

TEORI UMUM:

“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 diteteskan pada gelas preparat dan pratakan;
2. Gelas preparat ditutup dengan gelas penutup dan dilihat dibawah mikroskop;
3. Untuk sampel air comberan, ambil dengan pipet tetes dan teteskan pada gelas penutup;
4. Gelas penutup letakkan secara terbalik pada gelas preparat cekung (pemeriksaan tetes gantung);
5. Amati di bawah mikroskop dan gambar.

a. Sumber :

Gambar :

Nama preparat :

Perbesaran :

Penyebab penyakit :

b. Sumber :

Gambar :

Nama preparat :

Perbesaran :

Penyebab penyakit :

c. Sumber :

Gambar :

Nama preparat :

Perbesaran :

Penyebab penyakit :

d. Sumber :

Gambar :

Nama preparat :

Perbesaran :

Penyebab penyakit :

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

