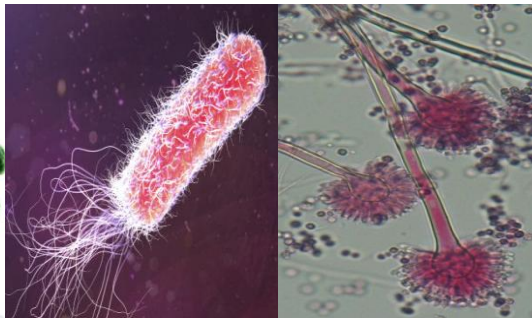
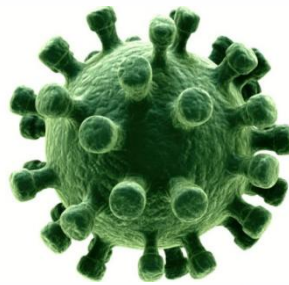


**PETUNJUK PRAKTIKUM
MIKROBIOLOGI**



Disusun oleh :

Dr. Henny Saraswati, M.Biomed

**PROGRAM STUDI BIOTEKNOLOGI
FAKULTAS ILMU-ILMU KESEHATAN**

UNIVERSITAS ESA UNGGUL

2017

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) lainnya yang diperlukan.
5. Peserta praktikum WAJIB mengikuti postes sebelum praktikum dimulai.
6. Tidak gaduh selama praktikum dilaksanakan dan tertib mengikuti arahan dari asisten praktikum.
7. Peserta praktikum 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 di lembar terpisah dan dikumpulkan PALING LAMBAT 1 minggu setelah pelaksanaan praktikum kepada dosen pengampu.

Praktikum 1 Pengenalan Alat

Tujuan:

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

Prinsip :

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 dalam praktikum

Metode Kerja:

1. Penjelasan mengenai beberapa alat dan prinsip kerjanya

No.	Nama Alat	Kegunaan
1	Jarum ose/sengkelit/loop	
2	Jarum enten	
3	Jarum inokulasi	
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	

2. Demo penggunaan alat
3. Praktek penggunaan alat oleh mahasiswa

Hasil Pengamatan



Praktikum 2

Pembuatan Medium Pertumbuhan Bakteri

Tujuan:

1. Mahasiswa dapat membuat mediu pertumbuhan bakteri dalam bentuk agar maupun cair
2. Mengetahui unsur-unsur yang diperlukan dalam pertumbuhan bakteri

Prinsip:

Bakteri memerlukan nutrisi dalam pertumbuhannya. Nutrisi ini antara lain....

Bahan-bahan:

1. Agar
2. Beef extract
3. Peptone

Alat-alat:

1. Tabung Erlenmeyer
2. Tabung reaksi
3. Cawan petri
4. Mikropipet
5. Timbangan
6. Spatula
7. Pemanas atau microwave
8. Kapas atau sumbat gabus untuk menutup tabung reaksi
9. Autoclave untuk sterilisasi media
10. Lemari laminar

Metode kerja:

A. Membuat medium Nutient agar (NA)

1. Timbang beef extract 3 gr, peptone 5 gr dan agar 15 gr
2. Masukkan ke dalam tabung Erlenmeyer
3. Tambahkan akuades sebanyak 500 ml
4. Panaskan medium pada pemanas/ microwave sampai bahan medium terlarut sempurna(catatan : saat memanaskan cukup sampai terlarutnya medium, jangan sampai terbentuk busa pada saat pemanasan)
5. Sterilisasi medium pada *autoclave*, setelah selesai angkat dan masukkan ke dalam lemari laminar

6. Siapkan cawan petri dan tabung reaksi pada laminar, posisi tutup cawan menutup sebagian
7. Tuang medium ke dalam cawan petri dan tabung reaksi, masing-masing sekitar 10 ml dan 4 ml.
8. Tutup cawan petri dengan penutupnya, sedangkan tabung reaksi ditutup dengan kapas.
9. Posisikan sebagian tabung reaksi dalam kondisi miring 45° dan sebagian pada posisi tegak.
10. Biarkan medium mengeras
11. Setelah mengeras, beri label pada cawan petri dan tabung reaksi, kemudian simpan pada lemari pendingin hingga digunakan.

B. Membuat medium Nutrient Broth (NB)

1. Timbang beef extract 3 gr dan peptone 5 gr
2. Masukkan ke dalam tabung Erlenmeyer
3. Tambahkan akuades sebanyak 500 ml
4. Panaskan pada pemanas atau microwave hingga semua bahan terlarut (catatan : saat memanaskan cukup sampai terlarutnya medium, jangan sampai terbentuk busa pada saat pemanasan)
5. Pindahkan medium ke dalam tabung reaksi, masing-masing sebanyak 4 ml.
6. Tutup tabung reaksi dengan kapas
7. Sterilisasi medium pada *autoclave*
8. Setelah selesai sterilisasi, simpan medium pada lemari pendingin sampai digunakan

Hasil Pengamatan



ggul



Universitas
Esa Unggul



Universitas
Esa U



ggul



Universitas
Esa Unggul



Universitas
Esa U



ggul



Universitas
Esa Unggul



Universitas
Esa U

Praktikum 3

Penanaman Bakteri Pada Medium Agar dan Cair

Tujuan :

Mahasiswa dapat melakukan praktik penanaman bakteri pada medium agar dan cair dengan alat-alat yang disediakan

Prinsip :

Bahan-bahan:

1. Biakan murni *Escherichia coli*
2. Medium LB agar tegak, miring dan pada cawan petri
3. Medium LB cair

Alat-alat:

1. Jarum ose/sengkelit/loop
2. Jarum inokulasi
3. Bunsen
4. *Shaker incubator*
5. Inkubator

Metode Kerja :

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



Praktikum 4 **Pewarnaan Gram**

Tujuan:

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

Prinsip:

Bakteri dapat dibedakan menjadi gram positif dengan gram negatif berdasarkan penyusunan membran selnya.

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



Praktikum 5

Penghambatan Pertumbuhan Mikroba dengan Cakram Antibiotik

Tujuan :

Untuk mengetahui peran antibiotik dalam menghambat pertumbuhan

Prinsip:

Antibiotik sebagai bahan antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri

Bahan-bahan:

1. Biakan bakteri
2. Cakram antibiotik : penisilin, tetrasiklin
3. Medium agar pertumbuhan bakteri
4. Akuades steril

Alat-alat:

1. Cawan petri
2. Spreader
3. Mikropipet
4. Bunsen
5. Pinset
6. Inkubator
7. Jangka sorong

Metode Kerja :

1. Tanam bakteri pada medium agar secara aseptis dengan metode sebar.
2. Ambil cakram kertas dengan pinset dan celupkan ke dalam akuades steril,
3. Letakkan cakram kertas pada kultur bakteri. Cakram kertas ini digunakan sebagai kontrol
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* (lingkaran) di sekitar cakram antibiotik.
7. Ukur diameter *halo* dengan jangka sorong.
8. Bandingkan dengan diameter cakram control
- 9.

Hasil Pengamatan



ggul



Universitas
Esa Unggul



Universitas
Esa U



ggul



Universitas
Esa Unggul



Universitas
Esa U



ggul



Universitas
Esa Unggul



Universitas
Esa U

Praktikum 6 **Pengamatan Struktur Fungi/Jamur**

Tujuan :

Mengetahui bagian-bagian tubuh fungi/jamur

Prinsip:

Fungi/jamur merupakan eukariotik yang memiliki struktur khas.

Bahan-bahan:

1. Biakan fungi/jamur
2. Medium pertumbuhan fungi
3. Akuades steril

Alat-alat:

1. Jarum enten
2. Mikroskop cahaya
3. Kaca obyek
4. Kaca Penutup
5. Bunsen

Metode kerja:

1. Sterilisasi jarum enten dengan membakarnya pada Bunsen hingga memijar, dinginkan sebentar
2. Ambil akuades steril dengan jarum ose dan ratakan pada kaca obyek
3. Ambil biakan jamur dengan jarum enten secara aseptis
4. Letakkan jamur pada kaca obyek yang sebelumnya telah diberi akuades
5. Lakukan fiksasi dengan melewatkan preparat pada Bunsen beberapa kali
6. Teteskan pewarna bromphenol blue pada preparat, diamkan sebentar \pm 1 menit
7. Tutup preparat dengan kaca penutup. Sisa pewarna diserap dengan tisu
8. Amati preparat pada mikroskop cahaya dan gambar hasilnya.

Hasil Pengamatan

