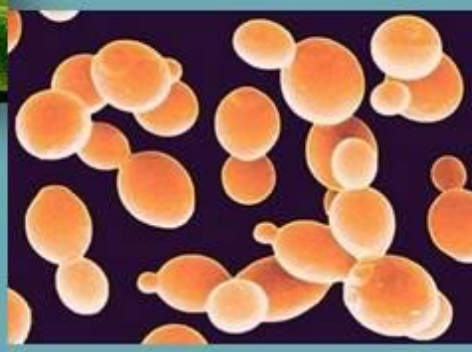
PENUNTUN PRAKTIKUM

MIKROBIOLOGI HEWAN



PENYUSUN
RASBAWATI, S.Pt.,M.Si
FITRIANI, S.Pt.,M.Si

Tim Asisten:
Sity Nurbaya
Kamriati
Nur Asdianti Akib

PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PERTANIAN, PETERNAKAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PAREPARE

2019

KARTU KONTROL PRAKTIKUM

FOTO (3x4)			
	NAMA	:	
	NIM	:	
	KELOMPOK	:	

No	Jenis Kegiatan Praktikum	Hari/ Tanggal	Paraf	Keterangan
1				
2				
3				
4				
5				
6				

Parepare, ... 2020

AsistenKoordinator Praktikum

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahi Rabbil Alamin, Segala puja puji hanya milik Allah SWT dan hanya kepada-Nya segala sesuatu diserahkan. Ungkapan pujian ini dilantunkan oleh Tim Penyusun Penuntun Praktikum Mikrobiologi sebagai manifestasi rasa syukur atas nikmat waktu, kesehatan dan lindungan-Nya sehingga PENUNTUN PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI HEWAN dapat diselesaikan dalam sebentuk diktat yang akan menjadi penuntun dalam membantu pelaksanaan praktikum.Salam dan shalawat ke Junjungan kita Nabiullah Muhammad SAW, uswatun khasanah, suri tauladan bagi kita semua, semoga segala yang dicontohkan Rasulullah juga menjadi pedoman kita dalam menjalani kehidupan sehari-hari, harmoni dalam menjalankan sunnahnya, agar kita termasuk pengikut-pengikutnya yang istiqamah.

Penuntun praktikum ini diterbitkan guna memenuhi kebutuhan mahasiswa Fakultas Pertanian, Peternakan dan Perikanan Universitas Muhammadiyah Parepare akan pendalaman teori Mikrobiologi melalui praktikum di laboratorium. Yang dibicarakan dalam penuntun praktikum memang diarahkan betul ke ”*real direction”* atau petunjuk yang spesifik akan materi-materi objek praktikum.

Disamping itu Tim Penyusun berusaha semaksimal mungkin menyusun penuntun praktikum ini sejelas mungkin dan bersifat “*very assist”* sangat membantu sehingga manifestasinya diharapkan mahasiswa mudah memahami penanganan materi-materi praktek (objek), bahkan familiar dengan suasana kerja laboratorium dan juga terhadap objek.

Masih banyak hal yang perlu ditambahkan dalam penuntun ini, oleh karenanya selalu kami harapkan masukan saran ataupun ide demi evaluasi dan bahan pertimbangan untuk penyusunan penuntun praktikum tahun tahun ke depan.

Akhir kata semoga penuntun praktikum ini dapat bermanfaat sesuai dengan harapan diterbitkannya bahkan bisa menambah wawasan atau memperluas cakrawala pengetahuan di ilmu-ilmu sains termasuk Mikrobiologi, semoga dan hanya pada Allah SWT segala upaya ini kami serahkan dengan harapan ridha dari-Nya. Aamiin.

Parepare, 2020

Tim Penyusun

TATA TERTIB PRAKTIKUM

Dalam pelaksanaan praktikum ada beberapa hal yang harus di perhatikan oleh para mahasiswa peserta praktikum (praktikan), agar proses praktikum dapat berjalan dengan baik . Adapun tata tertib yang harus dipathui tersebut adalah sebagai berikut:

1. Praktikan (mahasiswa peserta praktikum) wajib hadir 10 menit sebelum kegiatan praktikum berlangsung. Keterlambatan lebih dari dari 10 menit tidak diperkenankan mengikuti *pretest*. Praktikan tidak diperkenankan mengikuti praktikum apabila keterlambatan lebih dari 15 menit.
2. Semua tas dan benda lain yang tidak ada hubungannya denganpraktikum diletakkan pada tempat yang telah disediakan.
3. Selama mengikut praktikum praktikan di wajibkan mengenakan jas lab. Hal ini dikarenakan dengan memakai jas lab tidak saja dapat melindungi diri para praktikan dari kontaminasi akan tetapi juga agar saudara dapat terhindar dari kotoran ataupun zat warna yang mungkin dipakai.
4. Setiap praktikan diwajibkan menjaga kebersihan meja dan alat-alatlab yang digunakan.
5. Setiap praktikan harus mencuci tangan sebelum ataupunsesudah praktikum di laksanakan.
6. Setiap kelompok mahasiswa praktikum bertanggung jawab ataskebersihan alat-alat yang digunakan masing-masing kelompok.
7. Pada saat praktikum selesai, setiap kelompok mhs peserta praktikum waib membersihkan meja ataupun alat-alat yang mereka gunakan serta sampah atau kotoran sisa praktikum, sehingga saat meninggalkan laboratorium ruangan tersebut dalam keadaan bersih.
8. Kerusakan alat-alat seperti cawan petri, tabung reaksi dan lain-lainnya maka peserta praktikum wajib mengganti alat-alat yang dirusak atau dipecahkan tersebut.
9. Setiap mahasiswa wajib membuat laporan praktikum sertawajib mengikuti ujian praktikum.
10. Setelah selesai pelaksanaan dan pengamatan praktikum, praktikan wajib membuat Data sementara dalam laporan sementara yang akan dikoreksi oleh asisten pendamping kelompok yang bersangkutan. Data sementara yang sudah disetujui

asisten bisa langsung dibawa pulang untuk dibuat Laporan Resmi mata acara praktikum pada hari itu. Pengamatandilakukan sesuai kebutuhan dan waktu yang telah ditentukan.

11. Untuk mengikuti praktikum minggu berikutnya diharuskan sudah menyerahkan Laporan Resmi dari acara praktikum minggu sebelumnya. Bila pada saat itu tidak menyerahkan laporan, nilai laporan sama dengan **NOL**.
12. Bagi mahasiswa yang persentase kehadiran praktikum kurang dari 80 persen maka mahasiswa bersangkutan tidak diperbolehkan mengikuti ujian ahkir praktikum mikrobiologi.

PRAKTIKUM I
PENGENALAN ALAT DAN BAHAN

A. Dasar Teori

Pengenalan alat dan bahan laboratorium penting dilakukan untuk keselamatan kerja saat melakukan praktikum atau penelitian. Alat dan bahan laboratorium biasanya dapat rusak atau bahkan berbahaya jika penggunaannya tidak sesuai dengan prosedur. Sebab pentingnya dilakukan pengenalan alat dan bahan laboratorium agar dapat diketahui cara-cara penggunaan alat tersebut dengan baik dan benar. Sehingga kesalahan prosedur pemakaian alat dapat diminimalisir sedikit mungkin.

B. Tujuan Praktikum

Tujuan praktikum pengenalan alat dan bahan praktikum adalah untuk mengetahui alat dan bahan apa saja yang digunakan pada praktikum Mikrobiologi, cara penggunaan yang benar serta fungsi dan spesifikasi masing-masing alat dan bahan tersebut.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

- Mikroskop,
- *Autoklaf,*
- *Laminar AirFlow*,
- Jarum ose,
- Pipet tetes,
- Tabung reaksi,
- Labu semprot,
- Kaca preparat dan deglass,
- Oven
- petri dish/cawan.

2. Bahan

- Biakan *Bacilllus subtilis,*
- Biakan bakteri *E. coli,*
- Zat warna negrosin (tinta cina),

- *Methilen blue,*
- Safranin,
- Kristal violet,
- Melachit green,
- Iodin,
- Lactophenol Cotton Blue (LCB)
  Aquades,
- Tissue,
- Kertas label,
- Alkohol 96% dan 70% dan
- Air.

D. Prosedur Kerja

1. Menyiapkan alat dan bahan praktikum yang akan diperkenalkan
2. Mengamati alat dan bahan praktikum
3. Menggambar dan menulis fungsi masing-masing alat dan bahan tersebut.

PRAKTIKUM II
PEWARNAAN BAKTERI

A. Dasar Teori

Mikroorganisme yang ada di alam ini mempunyai morfologi, struktur dan sifat-sifat yang khas, begitu pula dengan bakteri. Bakteri yang hidup hampir tidak berwarna dan kontras dengan air, dimana sel-sel bakteri tersebut disuspensikan. Salah satu cara untuk mengamati bentuk sel bakteri sehingga mudah untuk diidentifikasi ialah dengan metode pengecatan atau pewarnaan. Hal tersebut juga berfungsi untuk mengetahui sifat fisiologisnya yaitu mengetahui reaksi dinding sel bakteri melalui serangkaian pengecatan. Mikroorganisme sulit dilihat dengan mikroskop cahaya, karena tidak mengadsorpsi ataupun membiaskan cahaya. Alasan inilah yang menyebabkan zat warna digunakan untuk mewarnai mikroorganisme ataupun latar belakangnya. Zat warna mengadsorpsi dan membiaskan cahaya sehingga kontras mikroorganisme disekelilingnya ditingkatkan.

Zat warna adalah senyawa kimia berupa garam-garam yang salah satu ionnya berwarna. Garam terdiri dari ion bermuatan positif dan ion bermuatan negatif. Senyawa-senyawa kimia ini berguna untuk membedakan bakteri-bakteri karena reaksinya dengan sel bakeri akan memberikan warna berbeda. Perbedaan inilah yang digunakan sebagai dasar pewarnaan bakteri. Sel-sel warna dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu asam dan basa. Jika warna terletak pada muatan positif dari zat warna, maka disebut zat warna basa. Jika warna terdapat pada ion negatif, maka disebut zat warna asam. Contoh zat warna basa adalah methylen blue, safranin, netral red, dan lain-lain. Sedangkan anionnya pada umumnya adalah Cl^-, SO_4^-, CH_3COO^-. Zat warna asam umumnya mempunyai sifat dapat bersenyawa lebih cepat dengan bagian sitoplasma sel sedangkan zat warna basa mudah bereaksi dengan bagian-bagian inti sel. Pewarnaan bakteri dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti : fiksasi, peluntur warna, substrat, intensifikasi pewarnaan dan penggunaan zat warna penutup.

A. 1. Pewarnaan Negatif

Pewarnaan negatif adalah pewarnaan yang tidak langsung mewarnai bakteri, melainkan mewarnai latar belakang preparat bakteri tersebut. Pewarnaan ini dilakukan menggunakan pewarnaan yang bersifat asam seperti negrosin, tinta india atau eursin. Pewarna ini tidak akan menembus atau berikatan dengan dinding sel bakteri karena daya muatan negatif dinding sel

bakteri. Pewarna akan membentuk deposit disekitar bakteri atau menghasilkan latar belakang hitam sehingga bakteri tampak tidak berwarna, sementara latar belakangnya berwarnagelap.

B. Tujuan Praktikum

Tujuan praktikum adalah untuk mempelajari dan mengetahui sel-sel bakteri sehingga sel bakteri dapat dilihat secara jelas.

C. Alat

- Kaca preparat,
- Deglass
- Jarum ose,
- Mikroskop,
- Bunsen dan
- Korek api.
- Tusuk Gigi

Bahan

- Biakan *Bacillus subtilis*
- Biakan,*E. coli,*
- kotoran gigi
- Pewarna negrosin,
- Alkohol 70%.
- Aquades

D. Prosedur Kerja

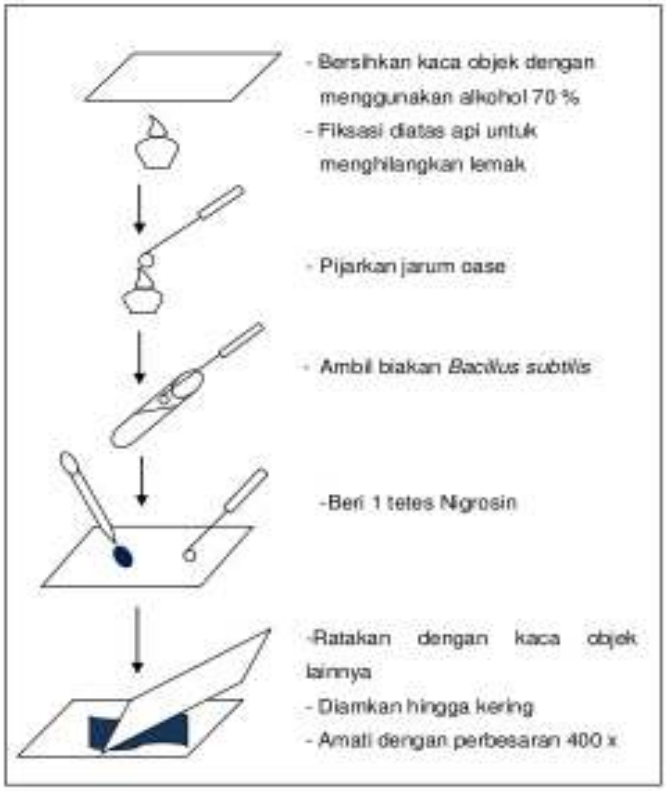
Cara I

1. Sediakan dua buah kaca objek yang bersih dan bebas dari lemak, bersihkan dengan alkohol
2. Teteskan setetes tinta cina pada salah satu ujung kaca objek
3. Letakkan suspensi bakteri di samping tinta cina dengan menggunakan kawat ose steril.
4. Dengan kaca objek yang kedua, kedua tetesan tersebut dicampurkan dan diratakan dengan posisi 45^{o} terhadap kaca objek dibawahnya. Selanjutnya kaca objek tersebut didorong menuju ujung sebelahnya (diapus) sehingga membentuk sebuah lapisan film yang tipis

5. Keringkan kaca objek tersebut, amati dibawah mikroskop.

Cara II

1. Mengambil kotoran gigi dengan menggunakan tusuk gigi, kemudian diratakan diatas kaca sediaan dengan jarum ose.
2. Meneteskan pada kaca sediaan 2 tetes tinta cina atau nigrosin dan diratakan dengan dengan bagian tepi dari kaca sediaan yang lain.
3. Setelah rata langsung diamati dibawah mikroskop
4. Jangan sampai lensa obyektif menyentuh sediaan basah tersebut
5. Amati bentuk mikroba pada perbesaran 10x dan 40x



A. 2. Pewarnaan Sederhana

Pewarnaan sederhana yaitu pewarnaan dengan menggunakan satumacam zat warna dengan tujuan hanya untuk melihat bentuk sel bakteri dan untuk mengetahui morfologi dan susunan selnya . pewarnaan ini dapat menggunakan pewarnaan basa. Pewarnaan sederhana merupakan teknik pewarnaan yang paling banyak digunakan. Disebut sederhana karena hanya menggunakan satu jenis zat warna untuk mewarnai organisme tersebut. Kebanyakan bakteri mudah bereaksi dengan pewarnaan-pewarnaan sederhana karena sitoplasamanya bersifat basofilik (suka dengan basa). Sebelum dilakukan pewarnaan dibuat ulasan bakteri di atas object glass yang kemudian difiksasi. Jangan menggunakansuspensi bakteri yang terllau padat, tapi jika suspense bakteri terlalu encer maka akan diperoleh kesulitan saat mencari bakteri dengan mikroskop. Fiksasi bertujuan untuk mematikan bakteri dan melekatkan sel bakteri pada object glass tanpa merusak struktur selnya.

E. Tujuan Praktikum

Tujuan praktikum adalah untuk mempelajari dan mengetahui morfologi bakteri dan mengetahui susunan sel bakteri.

F. Alat

- Kaca preparat,
- Deglass,
- Misroskop,
- Labu semprot,
- Ose dan
- Bunsen.

Bahan

- Bakteri *E. coli,*
- Bakteri *Bacillus subtilis*,
- Zat warna methilen blue,
- Tissue,
- Alkohol 70%,
- Aquades
- Air.

G. Prosedur Kerja

1. Mensterilkan kaca preparat dengan alkohol 70%.
2. Mengeringkan (mengelap) dengan tissue.
3. Mengambil inokulum/biakan *Escherichia coli* dengan jarum ose dan meletakkan di atas kaca objek.
4. Memfiksasi diatas lampu bunsen , setelah kering , menetesinya dengan larutan methylen blue, dan membiarkannya selama 1-2 menit.
5. Mencuci objek dengan air yang mengalir hingga zat warnanya hilang.
6. Mengeringkan kaca preparat dengan tissue.
7. Mengamati objek dibawah mikroskop dan mencatat hasil pengamatan.

PRAKTIKUM III
PEWARNAAN SPORA

A. **Dasar Teori**

Spora bakteri adalah bentuk bakteri yang sedang dalam usaha mengamankan diri terhadap pengaruh buruk dari luar. Spora bakteri mempunyai fungsi yang sama seperti kista amoeba, sebab bakteri dalam bentuk spora dan amoeba dalam bentuk kista merupakan suatu fase dimana kedua mikroorganisme itu berubah bentuk untuk melindungi diri terhadap faktor luar yang tidak menguntungkan.

B. Tujuan Praktikum

Tujuan dari praktikum pewarnaan spora adalah untuk mengetahui ada tidaknya spora pada bakteri dan melihat bentuk dan letak spora pada bakteri.

C. Alat

- Kaca preparat,
- Deglass,
- Mikroskop,
- Bunsen,
- Korek api,
- Botol semprot,
- Pipet tetes dan
- Ose.

Bahan

- Kultur bakteri *Bacillus subtilis*,
- Zat warna melachit green,
- Zat warna safranin,
- Tissue,
- Aquades,
- Alkohol 70% dan
- Air.

D. Prosedur Kerja

1. Mensterilkan kaca preparat dengan alkohol 70%.
2. Mensterilkan ose

3. Mengambil inokulum/biakan *Bacillus subtilis* dengan jarum ose dan meletakkan di atas kaca objek.
4. Preparat dikering anginkan
5. Melakukan fiksasi 2-3x di atas Bunsen
6. Menuangkan zat warna *melachit green* selama 5-10 menit
7. Dipanaskan dengan api kecil (Bunsen) (usahakan jangan sampai preparat mengering)
8. Membilas dengan aquades hingga warna hilang
9. Preparat yang berisi biakan bakteri ditetesi zat warna safranin selama 1 menit
10. Membilas dengan aquades dan keringkan dengan kertas serap
11. Mengamati di bawah mikroskop mulai dari perbesaran rendah

PRAKTIKUM IV
PEWARNAAN GRAM

A. Dasar Teori

Pewarnaan ini dikembangkan pertama kali oleh Christian Gram (1884) dan termasuk pengecatan differensial, karena dapat membedakan bakteri yang bersifat gram positif dan gram negatif. Dari segi pewarnaan perbedaan antara bakteri Gram positif dan Gram negative dapat diamati dengan jelas. Bakteri Gram positif mengikat cat utama (crystal violet) dengan kuat sehingga tidak dapat dilunturkan oleh cat peluntur dan tidak diwarnai lagi oleh cat lawan (safranin), hal ini disebabkan karena sifat dinding sel dan sitoplasmanya, yang mempunyai afinitas kuat terhadap kompleks crystal violet dan iodine (jodium). Bakteri Gram negatif tidak mengikat cat utama secara kuat, sehingga dapat dilunturkan oleh peluntur dan dapat diwarnai oleh cat lawan.Dalam pewarnaan gram diperlukan empat reagen yaitu :

Tabel 1. Zat Warna yang digunakan dalam Pewarnaan Gram Positif dan Gram Negatif

No	Zat Warna	Sebagai	Fungsi
1	Kristal violet	Gram A	Zat warna utama
2	Iodin	Gram B	Mengintensifkan warna utama.
3	Alkohol	Gram C	Larutan peluntur
4	Safranin	Gram D	Cat penutup

Tabel 2. Perubahan warna dalam pewarnaan Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

No	Zat Warna	Gram Positif	Gram Negatif
1	Kristal violet	Ungu	Ungu
2	Iodin	Ungu	Ungu
3	Alkohol	Ungu	Ungu
4	Safranin	Ungu	Merah

B. Tujuan Praktikum

Tujuan praktikum pewarnaan gram adalah untuk mengetahui dan memahami prosedur pewarnaan gram dan mengelompokkan bakteri kedalam kelompok gram positif atau bakteri gram negatif dan mengetahui prinsip dari pewarnaan gram serta menentukan morfologinya.

C. Alat

- Kaca preparat,
- Deglass,
- Mikroskop,
- Bunsen,
- Korek api,
- Botol semprot,
- Pipet tetes,
- Penjepit dan
- Ose.

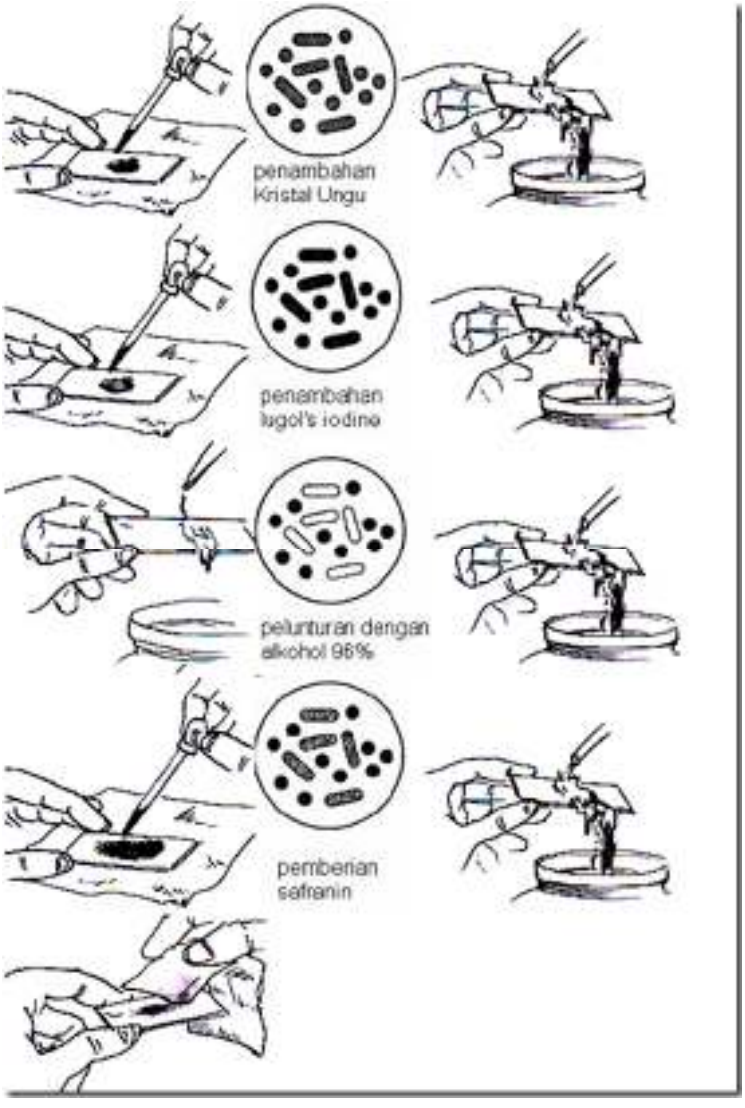
Bahan

- Kultur bakteri *Bacillus subtilis*,
- Bakteri*E. coli,*
- Zat warna gram A (Kristal violet),
- Zat warna gram B (Iodin),
- Zat warna gram C (Alkohol 96%),
- Zat warna gram D (safranin),
- Aquades,
- Tissue,
- Minyak emersi,
- Alkohol 70% dan
- Air.

D. Prosedur Kerja

1. Menyiapkan dua gelas preparat dan penutupnya
2. Bersihkan glass preparat menggunakan tissu dan alkohol dan keringkan .
3. Bakteri sampel A dan B diteteskan satu tetes pada masing-masing gelas preparat.

4. Sampel dipanaskan di atas api Bunsen hingga terfiksasi jangan sampai pecah.
5. Tetesi gram A dan tunggu 1 menit
6. Setelah itu cuci dengan air mengalir dan keringkan kembali
7. Setelah kering tetesi dengan gram B dan tunggu 1 menit
8. Cuci dengan air mengalir dan keringkan
9. Tetesi dengan gram C dan tunggu 30 detik
10. Cuci dengan air mengalir dan keringkan
11. Tetesi dengan gram D dan tunggu 2 menit
12. Cuci dengan air mengalir/aquades dan keringkan dengan kertas hisap/kertas saring/tissue
13. Penambakan minyak emersi pada preparat dan pengamatan preparat di bawah mikroskop denga pembesaran lemah kemudian dengan pembesaran kuat.
14. Jika terbentuk warna ungu maka termasuk golongan bakteri gram positif dan jika terbentuk warna merah maka termasuk golongan bakteri gram negatif.



PRAKTIKUM V
PEWARNAAN KAPANG DAN KHAMIR

A. Dasar Teori

Fungi (jamur) merupakan organisme eukariot yang memiliki dinding sel yang tersusun dari kitin dan memiliki nukleat yang banyak. Fungi bersifat kemoorganotrof, karena mendapatkan nutrisi dengan cara mensekresikan enzim ekstraselular yang dapat mencerna senyawa organik kompleks seperti polisakarida dan protein menjadi penyusun monomer, dan kemudian diserap ke dalam sel fungi. Secara umum fungi dapat dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan atas tipe selnya yaitu,fungi bersifat uniselluler yang biasa disebut khamir dan fungi bersifat multiselluler yang biasa disebut kapang.

B. Tujuan Praktikum

1. Memahami dan mengetahui prosedur pembuatan dan pemeriksaan preparat kapang dan khamir secara langsung dari bahan-bahan alami.
2. Mengetahui struktur berbagai macam kapang dan khamir dari berbagai bahan alami.

C. Alat

- Mikroskop,
- Objek glass,
- Cover glass,
- Pipet tetes,
- Bunsen,
- Ose,
- Tusuk gigi dan
- Korek api.

Bahan

- Roti berjamur,
- Tempe berjamur,
- Fermipan,
- Zat warna lactophenol cotton blue (LCB) dan
- Alkohol 70%.
- Aquades

D. Prosedur Kerja

✓ **Pengamatan Kapang**

1. Menyiapkan 2 buah objek glass dan deglass
2. Membersihkan objek glass dengan alkohol 70% agar bebas lemak dan kotoran
3. Meneteskan 1-2 tetes larutan Lactophenol Cotton Blue (LCB) di atas gelas objek.
4. Mengambil secara aseptis 1 ose (dapat menggunakan tusuk gigi yang steril) biakan kapang pada roti dan tempe berjamur dan menempatkan pada masing-masing objek glass yang sudah diteteskan larutan LCB dan menutup secara hati-hati dengan deglass
5. Mengamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x
6. Mencatat dan menggambar hasil pengamatan

✓ **Pengamatan Khamir**

1. Menyiapkan objek glass dan deglass
2. Membersihkan objek glass dengan alkohol 70% agar bebas lemak dan kotoran
3. Meneteskan 1-2 tetes larutan Lactophenol Cotton Blue (LCB) di atas gelas objek.
4. Meneteskan 1-2 tetes fermipan yang telah dicampur dengan air dengan menggunakan pipet tetes.
5. Menutup dengan deglass
6. Mengamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x
7. Mencatat dan menggambar hasil pengamatan

REFERENSI

Dwidjoseputro,D. 1998. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan. Jakarta.

Hadioetomo, S.R. 1993. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. PT. Gramedia. Jakarta.

Pelczar,M,J. 2006. Dasar-Dasar Mikrobiologi. UI Press. Jakarta.