

**PANDUAN PROJEK UTS DAN PRAKTIKUM  
MIKROBIOLOGI DASAR**



**OLEH :  
TIM DOSEN MIKROBIOLOGI DASAR**

**PRODI PENDIDIKAN BIOLOGI  
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH KUPANG  
KUPANG  
2024**

## **KATA PENGANTAR**

Alhamdulillah, wasyukurillah kita panjatkan kehadiran Allah SWT, atas rahmatNya, sehingga Panduan Praktikum, UTS dan UAS Mikrobiologi Dasar ini dapat diselesaikan dalam waktu yang sangat singkat.

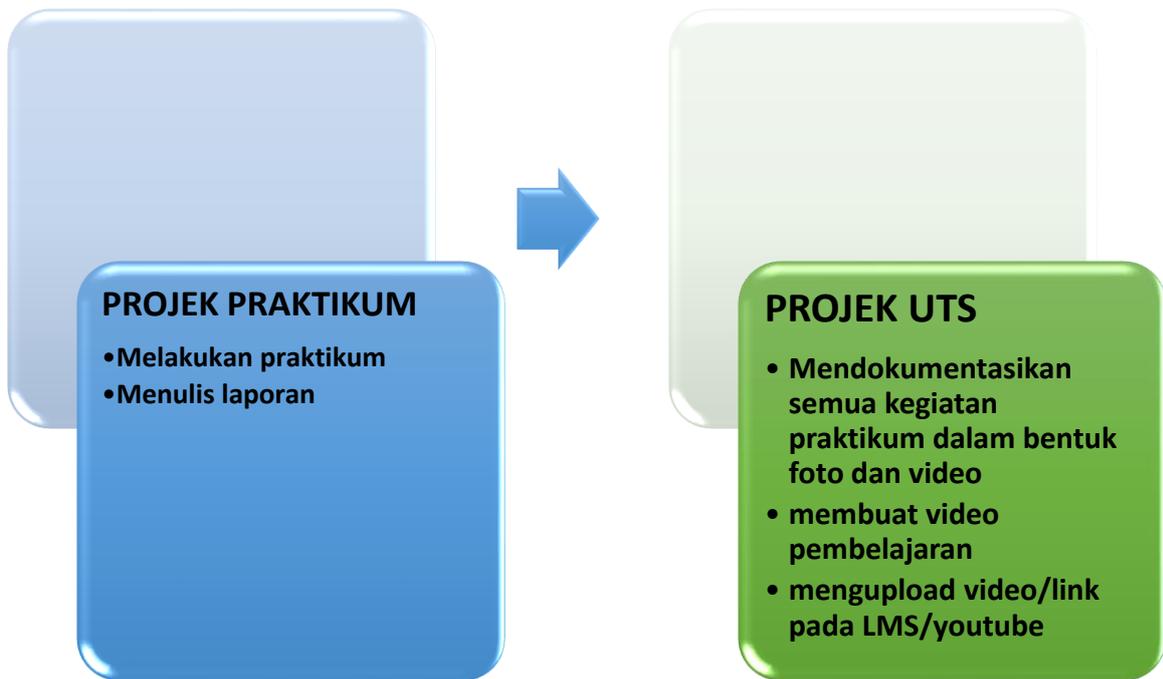
Buku panduan ini bertujuan memperkenalkan konsep-konsep dasar mikrobiologi beserta prosedur laboratorium di bidang mikrobiologi. Pada pelaksanaan kegiatan praktikum mikrobiologi, hendaknya para mahasiswa/i membaca terlebih dahulu buku panduan ini, terutama dasar teori dan langkah-langkah kerja, sehingga diharapkan pada saat praktikum tidak mengalami kesulitan yang berarti.

Kami menyadari bahwa buku pandaun ini masih banyak kelemahan dan mungkin terdapat kesalahan yang tidak disadari oleh penulis. Untuk itu, kritikan dan saran yang positif sebagai masukan terhadap isi buku ini sangat kami harapkan demi perbaikan buku ini. Mudah-mudahan pada penerbitan selanjutnya dapat dilakukan perbaikan dan pembaharuan, terutama terhadap penggunaan beberapa istilah yang mungkin kurang tepat.

**PEMBAGIAN KELOMPOK:**

<b>KELOMPOK</b>	<b>JENIS/BAHAN MEDIA</b>	<b>ISOLAT</b>	<b>KETERANGAN</b>
1	KENTANG	BAKTERI	UNIMOF
2	KENTANG	JAMUR	UNIMOF
3	TAUGE	BAKTERI	UNIMOF
4	TAUGE	JAMUR	UNIMOF
5	PDA SITETIS	BAKTERI	UMK
6	PDA SITETIS	JAMUR	UMK
7	NA SINTETIS	BAKTERI	UMK
8	NA SINTETIS	JAMUR	UMK
9	KENTANG	BAKTERI	UMK
10	KENTANG	JAMUR	UMK
11	TAUGE	BAKTERI	UMK
12	TAUGE	JAMUR	UMK

## MAIN MAP PROJEC



## **FORMAT LAPORAN**

Laporan ditulis tangan menggunakan tinta biru dengan format sebagai berikut:

- Cover (berisi judul praktikum, logo kampus, nama kelompok, nama prodi dan kampus, tahun)
- 1. BAB I PENDAHULUAN
  - 1.1 Latar Belakang/ Dasar Teori
  - 1.2 Rumusan Masalah
  - 1.3 Tujuan
  - 1.4 Manfaat
- 2. BAB II TINJAUAN PUSTAKA (minimal 3 sumber jurnal ilmiah/buku)
- 3. BAB III METODE
  - 3.1 Waktu dan Tempat
  - 3.2 Alat dan Bahan
  - 3.3 Prosedur Kerja
- 4. BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN
  - 4.1 Data Hasil Pengamatan
  - 4.2 Pembahasan
- 5. BAB V PENUTUP
  - 5.1 Simpulan
  - 5.2 Saran

DAFTAR PUSTAKA

## **KETENTUAN PEMBUATAN VIDEO PEMBELAJARAN**

### **1. Video berisi:**

- Salam Pembuka/perkenalan: judul kegiatan, nama anggota kelompok dll
- Pendahuluan
- Tujuan
- Alat dan bahan
- Prosedur kerja
- Hasil pengamatan
- Pembahasan
- Kesimpulan
- Daftar Pustaka (kalau ada kutipan yang dirujuk dalam video)

2. Durasi video: 5-10 menit
3. Jika menggunakan musik latar, maka harus disematkan hak ciptanya
4. Suara terdengar jelas, gambar/foto/video terlihat jelas dan sesuai dengan suara penjelasan
5. Tulisan terbaca dengan jelas (perhatikan jenis dan ukuran huruf yang digunakan)
6. Video di upload di youtube pribadi/prodi, link nya diupload ke LMS
7. Ada tambahan nilai untuk video dengan like dan jumlah penonton terbanyak
8. Link video di upload ke LMS paling lambat 3 minggu sejak praktikum dilaksanakan
9. Informasi lebih lanjut silahkan hubungi dosen pengampu matakuliah di masing-masing kampus

## KEGIATAN 1

### MEMBUAT MEDIA PERTUMBUHAN BAKTERI DAN JAMUR

#### A. DASAR TEORI

##### 1. Pendahuluan

Pembiakan mikroorganisme dalam laboratorium Mikrobiologi memerlukan media/media yang berisi nutrisi serta lingkungan yang sesuai bagi mikroorganisme. Nutrien digunakan untuk pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme dan pergerakan. Lazimnya, media biakan mengandung air, sumber energi, zat hara sebagai sumber C, N, S, P, O, H, serta unsur lainnya. Dalam bahan dasar media ini dapat pula ditambahkan faktor pertumbuhan berupa asam amino, vitamin, atau nukleosida. Oleh karena adanya perbedaan sifat mikroba terhadap hospes (parasit, komensalis, saprofitis dan sebagainya), maka media terbagi 2 golongan besar, yakni:

##### a. Media Hidup

Media hidup umumnya dipakai dalam laboratorium virologi untuk pembiakan virus, sedangkan dalam bakteriologi hanya beberapa jenis mikroba tertentu saja dan terutama hewan percobaan. Contoh media hidup antara lain: hewan percobaan (termasuk manusia), telur berembrio, biakan jaringan, dan sel-sel biakan bakteri tertentu untuk bakteriofage.

##### b. Media Mati

a) Berdasarkan konsistensinya, media dibedakan atas tiga macam, yakni:

1) **Media padat**, diperoleh dengan menambahkan agar, gelatin atau silika gel. Gelatin sebagai pematid biasanya diperlukan dengan konsentrasi 12-15% namun jarang digunakan karena akan mencair pada suhu tinggi selain dapat dihidrolisis oleh berbagai jenis bakteri, sedangkan silika gel adalah suatu bahan pematid yang digunakan di dalam media untuk menumbuhkan mikroba yang bersifat autotroph dimana bahan-bahan organik tidak boleh terdapat di dalam media. Yang paling sering dipakai adalah agar. Agar berasal dari ganggang laut dan telah diperdagangkan dalam bentuk murni dan kering, digunakan sebagai bahan pematid karena tidak diuraikan oleh mikroba. Biasanya agar dicampur ke dalam media sebelum sterilisasi. Selama pemanasan, agar akan mencair pada suhu 97-100°C dan setelah disterilisasi dan didinginkan kembali agar akan membeku pada suhu kira-kira 42-45°C. Media padat terbagi menjadi media miring dan *agar deep*,

misalnya agar endo, agar SS, agar NA, agar PCA atau PDA yang dapat digunakan untuk menumbuhkan mikroba pada permukaannya sehingga membentuk koloni yang dapat dilihat, dihitung dan diisolasi. Media yang disimpan dalam keadaan memadat, misalnya di lemari es, dapat dicairkan kembali dengan cara memanaskan wadah yang berisi media di dalam panci yang berisi air mendidih selama beberapa menit, atau menggunakan autoclave. Struktur kimia dari agar adalah galaktan, yaitu polimer dari molekul-molekul galaktosa yang tidak dapat dipecah oleh kebanyakan bakteri. Konsentrasi yang biasa digunakan biasanya 1,5%, tetapi jika akan dilakukan goresan pada permukaan agar dapat digunakan konsentrasi 1,8-2,0% sehingga dapat diperoleh agar yang lebih keras setelah memadat.

- 2) **Media setengah padat (Semi solid)**, yang mempunyai konsistensi diantara media cair dan media padat, contohnya agar bulyon setengah padat (bulyon=kaldu), digunakan untuk melihat gerak/motilitas mikroba secara mikroskopis. Media ini mengandung agar dalam jumlah sedikit daripada media padat. Biasanya sekitar 0,5%.
  - 3) **Media cair**, digunakan berbagai tujuan termasuk menumbuhkan atau membiakkan mikroba, fermentasi dan uji-uji lainnya. Contohnya air pepton, deret gula-gula, nutrient cair (Broth), glukosa Broth dan lain-lain.
- b) **Berdasarkan komposisi bahan penyusunnya**, media dibedakan atas 3 macam, yaitu:
- 1) **Media sintetis**, yakni media yang mempunyai kandungan dan isi bahan yang telah diketahui secara terperinci, dipersiapkan dengan mencampurkan komponen kimia murni dalam jumlah tertentu sehingga komposisinya dapat diketahui dengan pasti. Media sintetis sering digunakan untuk mempelajari sifat faali dan genetika mikroorganisme. Senyawa organik dan anorganik ditambahkan dalam media sintetis harus murni, sehingga harganya mahal. Contoh: cairan Hanks, Locke, Thyrode, Eagle dan sebagainya dalam laboratorium virologi.
  - 2) **Media nonsintetis**, merupakan media yang mengandung beberapa bahan yang tidak tetap/tidak diketahui secara pasti baik kadar maupun susunannya. Contohnya: Nutrien Broth yang mengandung ekstrak daging dan pepton, dimana komposisi kimianya tidak tetap. Selain dua kandungan tersebut, biasanya juga digunakan dalam campuran media nonsintetis, ekstrak ragi, kaldu daging sering ditambahkan darah, serum, vitamin, asam amino, dan nukleosida, namun penambahan setelah sterilisasi. Contohnya pertumbuhan *Basil dipteri* harus dengan penambahan serum.

- 3) **Media semisintetis**, misalnya cairan Hanks yang ditambahkan serum (laboratorium virologi).
- c) **Berdasarkan sifat fisiologik dan biologik mikroba dan untuk tujuan isolasi**, media dibedakan atas tiga macam, yaitu:
- 1) **Media Dasar**, yaitu media yang sangat kaya akan zat makanan/nutrien dan mengandung semua senyawa esensial untuk pertumbuhan mikroba, misalnya *Nutrien Agar (NA)*, *Potato Dextrose Agar (PDA)*
  - 2) **Media Selektif/Penghambat**, yaitu media yang dibuat untuk menekan pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan dan meningkatkan pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Media selektif hanya cocok untuk spesies-spesies tertentu dan tidak cocok untuk spesies yang lainnya.
  - 3) **Media Diperkaya/Enrichment**, yaitu media yang mengandung senyawa dasar untuk pertumbuhan mikroba dan ditambahkan komponen kompleks seperti darah, serum, dan kuning telur. Media ini juga bersifat selektif untuk mikroba tertentu.
  - 4) **Media Diferensial**, yaitu media yang dibuat untuk memudahkan mengenali koloni mikroba yang diinginkan. Media ini bertujuan untuk mempermudah mengenali atau mengidentifikasi mikroba dari campurannya berdasarkan karakter spesifik yang ditunjukkan pada media diferensial. Misalnya media *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)* yang mampu membedakan koloni enterobakteria berdasarkan bentuk, warna, ukuran koloni dan perubahan warna media di sekeliling koloni.

## 2. Bentuk dan Jumlah Media

Jumlah media yang akan digunakan di dalam suatu percobaan harus diperhitungkan sedemikian rupa untuk menghindari pembuatan media yang berlebihan karena pada umumnya media untuk pekerjaan mikrobiologi mahal harganya. Jumlah media yang dibutuhkan dapat ditentukan berdasarkan bentuk media yang digunakan dan jumlah pekerjaan/contohnya, sebagai berikut:

Bentuk media	Jumlah media/wadah
Agar cawan	15-20ml/cawan petri (9-10 cm)
Agar tegak	±8-9 mL/tabung reaksi (16 cm)
Agar miring	±6-7 mL/tabung reaksi (16 cm)
Agar cair + tabung	±9-10 mL/tabng reaksi (16 cm)
Fermentasi (durham)	±10 mL/tabung reaksi (16 cm)

### 3. Larutan Pengencer

Seperti halnya media, larutan yang digunakan untuk mengencerkan contoh biasanya menggunakan buffer untuk menjaga keseimbangan dari mikroba. Buffer yang biasa digunakan dalam pembuatan media dan larutan pengencer adalah fosfat, karena merupakan suatu komponen anorganik yang mempunyai sifat buffer pada kisaran pH sekitar normal yaitu kisaran pH yang dapat mempertahankan keseimbangan pH fisiologi terhadap mikroba. Selain itu, fosfat tidak bersifat racun terhadap mikroba. Fosfat yang sering digunakan sebagai buffer adalah kalium monohidrogen fosfat ( $K_2HPO_4$ ) dan atau kalium dihidrogen fosfat ( $KH_2PO_4$ ) sebagai larutan pengencer selain larutan garam fisiologi (0,95%) atau larutan ringer.

Larutan pengencer dapat ditempatkan di dalam tabung-tabung reaksi dalam jumlah 9 mL untuk membuat pengenceran 1:10 (1 mL atau 1 gram sampel di dalam 9 mL), di dalam botol pengenceran dalam jumlah 90 mL untuk membuat pengenceran 1:10 (10 mL atau 10 mg sampel di dalam 90 mL). larutan pengenceran dapat pula ditempatkan di dalam tabung Erlenmeyer dalam jumlah 225 mL atau 450 mL untuk membuat pengenceran 1:10 (25 gr di dalam 225 mL atau 50 gr di dalam 450 mL), untuk sampel yang kurang seragam sehingga dibutuhkan sampel dalam jumlah yang besar. Sterilisasi di dalam tabung atau botol dilakukan seperti pada sterilisasi media.

### 4. Cara Membuat Media

Untuk membuat media yang tersusun atas beberapa bahan adalah sebagai berikut:

- 1) **Mencampur bahan-bahan**, garam-garam dan bahan-bahan lain dilarutkan dalam aquades kemudian dipanaskan dalam penangas air supaya larutannya homogen.
- 2) **Menyaring media**, beberapa jenis media kadang-kadang perlu disaring, sebagai penyaring dapat digunakan kertas filter, kapas, atau yang lain. Untuk media agar atau gelatin penyaringnya harus dilakukan sewaktu media masih panas.
- 3) **Menentukan dan mengatur pH**, penambahan pH media cair dapat dilakukan secara kalorimetrik menggunakan kertas indikator universal dan komparator blok atau secara potensio metrik menggunakan pH meter. Pengaturan pH media dapat juga dilakukan dengan penambahan asam atau basa.
- 4) **Memasukkan media dalam wadah tertentu**, sebelum disterilkan media dimasukkan ke dalam tabung steril atau tempat lain yang steril kemudian ditutup kapas dan bagian kapasnya dibungkus kertas sampul supaya tidak basah sewaktu disterilkan.

- 5) **Sterilisasi media**, pada umumnya sterilisasi media dilakukan dengan uap panas di dalam autoclave, pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15-20 menit.

## **B. TUJUAN**

- Untuk mengetahui cara pembuatan dan jenis media.
- Untuk menumbuhkan dan mengisolasi mikroorganisme.

## **C. ALAT**

- Timbangan
- Pisau
- Lampu bunsen
- Gelas ukur
- Labu Erlenmeyer 250 mL
- Kompor
- Panci
- Saringan/kain saring
- Kaca pengaduk
- Alat tulis
- Autoclave
- Cawan petri

## **D. CARA KERJA**

### **I. Pembuatan Media Tauge Agar**

#### ➤ **Bahan yang diperlukan:**

- Tauge 100 gr
- Sukrosa/gula 60 gr
- Agar-agar bubuk 15 gr
- Aquades 1000 mL
- Kertas label
- Kertas pH indikator

#### ➤ **Prosedur Kerja:**

- 1) Rebus tauge dalam akuades
- 2) Didihkan selama  $\pm$  2 jam dengan kondisi api kecil
- 3) Saring air hasil rebusan tauge menggunakan saringan, lalu ukur Kembali menggunakan gelas ukur. Bila air rebusan kurang dari 1000 ml, maka tambahkan akuades hingga mencapai 1000 ml
- 4) Tambahkan sukrosa/gula dan agar-agar bubuk kedalam air rebusan
- 5) Rebus kembali hingga semua sukrosa dan agar-agar larut

- 6) Ukur pH media menggunakan kertas pH indikator
- 7) Sterilkan dalam autoclave pada 121°C selama 15 menit
- 8) Tunggu hingga media hangat, lalu tuang ke dalam cawan petri steril. Jangan lupa dikasi label, lalu biarkan hingga memadat.

## **II. Pembuatan media Kentang Dekstrosa Agar**

### **➤ Bahan yang diperlukan:**

- Kentang dikupas dan dipotong kecil-kecil 200 gr
- Agar -agar bubuk 15 gr
- Dekstrosa/glukosa 20 gr
- Aquades 1000 ml
- Kertas pH indikator

### **➤ Prosedur Kerja:**

- 1) Kentang direbus dengan aquades selama 1 jam
- 2) Saring air hasil rebusan tauge menggunakan saringan/kain saring yang bersih, lalu ukur Kembali menggunakan gelas ukur. Bila air rebusan kurang dari 1000 ml, maka tambahkan akuades hingga mencapai 1000 ml
- 3) Tambahkan sukrosa/gula dan agar-agar bubuk kedalam air rebusan
- 4) Rebus kembali hingga semua sukrosa dan agar-agar larut
- 5) Ukur pH media menggunakan kertas pH indikator
- 6) Sterilkan dalam autoclave pada 121°C selama 15 menit
- 7) Tunggu hingga media hangat, lalu tuang ke dalam cawan petri steril. Jangan lupa dikasi label, lalu biarkan hingga memadat.

## **III. Pembuatan media Natrium Agar sintetis**

### **➤ Bahan yang diperlukan:**

- Media NA sintetis 20 gr
- Aquades 1000 mL
- Kertas pH

### **➤ Prosedur Kerja:**

- 1) Campur media NA dengan akuades dalam erlenmeyer, lalu aduk hingga semua media NA larut.
- 2) Didihkan media hingga homogen, lalu ukur pH media
- 3) Sterilkan dalam autoclave pada 121°C selama 15 menit

- 8) Tunggu hingga media hangat, lalu tuang ke dalam cawan petri steril. Jangan lupa dikasi label, lalu biarkan hingga memadat.

#### **IV. Pembuatan media Potato Dextrose Agar Sintetis**

➤ **Bahan yang diperlukan:**

- Media PDA sintetis 28 gr
- Aquades 1000 mL
- Kertas pH

➤ **Prosedur Kerja:**

- 4) Campur media PDA dengan akuades dalam erlenmeyer, lalu aduk hingga semua media PDA larut.
- 5) Didihkan media hingga homogen, lalu ukur pH media
- 6) Sterilkan dalam autoclave pada 121°C selama 15 menit
- 9) Tunggu hingga media hangat, lalu tuang ke dalam cawan petri steril. Jangan lupa dikasi label, lalu biarkan hingga memadat.

## **KEGIATAN II**

### **ISOLASI MIKROORGANISME DI SEKITAR KITA**

#### **A. KAJIAN TEORI**

Mikroorganisme dapat diperoleh hampir disetiap tempat di muka bumi, dari dasar laut sampai ke puncak gunung berselimut es, di mata air, belerang panas, dalam tanah dan debu, di udara, susu, makanan maupun pada permukaan jaringan tubuh kita sendiri. Keadaan lingkungan sangat menentukan jumlah dan jenis mikroorganisme yang dominan di lingkungan itu sendiri.

Untuk mempelajari morfologi koloni dari masing-masing mikroorganisme tersebut, kita perlu mengisolasi dan menumbuhkannya pada media terlebih dahulu. Pada umumnya mikroorganisme yang diisolasi pada media akan tumbuh setelah  $\pm 1 \times 24$  jam.

#### **B. TUJUAN**

- Untuk mengetahui beraneka ragam mikroorganisme yang berada dilingkungan sekitar kita.
- Untuk mempelajari morfologi koloni mikroorganisme.
- Untuk mengetahui jumlah mikroorganisme yang diisolasi.

#### **C. ALAT DAN BAHAN**

- 6 buah cawan petri berisi media agar
- Jarum ose
- Lampu bunsen
- Pipet tetes
- Penggaris
- Inkubator
- Alat tulis

#### **D. CARA KERJA**

- 6 Isolasi Bakteri dan jamur dari Udara
  - Bawalah cawan petri berisi media agar ke tempat yang banyak dilalui orang, lalu bukalah tutup cawan petri itu selama 10-15 menit, kemudian tutuplah Kembali.

## 7 Isolasi Bakteri dan Jamur dari Air

Masukkan 2 tetes air menggunakan pipet tetes ke dalam cawan petri berisi media Agar, lalu ratakan dengan cara menggerakkan cawan petri mengikuti pola angka 8.

## 8 Isolasi Bakteri dan Jamur dari rambut

Masukan sehelai rambut ke dalam cawan petri yang berisi media Agar menggunakan pinset steril. Biarkan rambut menempel pada permukaan media Agar dengan cara ditekan secara perlahan menggunakan ujung pinset.

- Simpan/inkubasi semua media tersebut pada suhu ruang dalam incubator.
- Setelah biakan berumur 1 x 24 jam atau 2 x 24 jam, lakukan pengamatan terhadap koloni mikroorganisme yang tumbuh pada masing-masing media tersebut.
- Hitunglah jumlah koloni bakteri dan koloni jamur yang tumbuh. koloni bakteri ditandai dengan bentuknya yang seperti lendir, tetesan mentega, atau tetesan sari buah, sedangkan koloni jamur ditandai dengan adanya miselium yang berbentuk seperti benang halus.
- Lakukan pengamatan mengenai morfologi koloni bakteri (jumlah, warna, bentuk, tepi, ukuran/diameter, elevasi (kenaikan permukaan koloni), mengkilat atau suram, dan kepekatan)
- Lakukan pengamatan mengenai morfologi koloni jamur (jumlah, warna, bentuk, diameter koloni)
- Dokumentasikan hasil pengamatan

### E. TABEL HASIL PENGAMATAN

No.	Bagian yang diamati	Hasil Pengamatan
1	Nama Media:	
2	Mikroba yang diisolasi: bakteri/Jamur	
3	pH media	
4	Jumlah koloni	
5	Warna koloni	
6	Bentuk koloni	
7	Tepi koloni	

8	Ukuran diameter koloni	
9	Elevasi/kenaikan permukaan koloni	
10	Kepekatanan koloni/mengkilat/buram	