

BAB 5

PEWARNAAN BAKTERI

BAB 5

PEWARNAAN BAKTERI

Deskripsi Mata Kuliah :

Mata kuliah ini membahas tentang macam-macam pewarnaan untuk bakteri, serta melihat bentuk, susunan dan sifat pewarnaan terhadap bakteri.

Sub Pokok Bahasan :

- 5.1. Tujuan pewarnaan
- 5.2. Teori pewarnaan
- 5.3. Cara pembuatan preparat/sediaan
- 5.4. Reaksi Pewarnaan
- 5.5. Macam-macam pewarnaan
- 5.6. Teknik pewarnaan

Bahan Bacaan :

No	Judul Buku	Pengarang	Penerbit/Edisi/Tahun
1	Basic Microbiology	Soesilo, B., dan Mei, S.	FK Unair Surabaya/2010
2	Brock : Biology of Microorganism	Madigan, M.T., & John M. Martinko	USA/eleventh edition/2006
3	Biologi Jilid 2	Campbell, N.A., Jane, B. Reece., dan Lawrence G. Mitchell.	Erlangga Jakarta/Edisi 5/2003
4	Dasar-dasar	Pelczar, M.J dan E.C.S.	Djambatan Jakarta/2010

	Mikrobiologi	Chan	
5	Mikrobiologi Dasar dalam Praktek	Hadioetomo, R.S.	Gramedia Jakarta/1990
6	Microbiology	Presscott, L.M., John, P.H., Donald, A.K.	Mc Graw-Hill Company New York/ 5 th edition/2002
7	Teknik dan Metode Dasar Mikrobiologi	Waluyo Lud	UMM Press. Malang/2010
8	Pengecatan Gram	Wahyuningsih	Fak. Pertanian/Univ. Jendral Sudirman/Purwokerto/2008

5.1. Tujuan Pewarnaan

Tujuan dari pewarnaan bakteri secara umum bertujuan untuk mempermudah pengamatan morfologi bakteri dengan menggunakan bantuan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas dari bakteri dengan zat warna, serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya. Secara umum bakteri tidak berwarna dan hampir tidak nampak. Pewarnaan sangat diperlukan untuk dapat melihat bakteri dengan jelas, baik untuk melihat struktur internal ataupun eksternalnya secara keseluruhan. Secara garis besarnya, tujuan dari pewarnaan diantaranya sebagai berikut :

- (1) melihat bentuk, susunan, sifat pewarnaan
- (2) mengarahkan pemeriksaan/pembiakan

- (3) membantu klasifikasi bakteri
- (4) mendapatkan bentuk khas

5.2. Teori Pewarnaan

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 bakteri akan memberikan warna berbeda. Perbedaan inilah yang digunakan sebagai dasar pewarnaan bakteri. Sel-sel warna dapat dibagi menjadi 2 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. 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 beberapa faktor, seperti fiksasi pelunturan warna, substrat, intensifikasi pewarnaan dan penggunaan zat warna penutup. Suatu preparat yang sudah meresap suatu zat warna, kemudian dicuci dengan alkohol, maka semua zat warna terhapus. Sebaliknya, terdapat juga preparat yang tahan terhadap alkohol.

Pewarnaan terhadap bakteri, secara garis besar dibedakan menjadi dua, yaitu :

1. Pewarnaan bakteri hidup

Pewarnaan bakteri hidup dilakukan dengan menggunakan bahan yang tidak toksik, tetapi jarang dikerjakan karena bakteri yang masih hidup sulit menyerap warna. Pewarnaan bakteri hidup dilakukan untuk melihat motilitas (pergerakan) bakteri dan pemeriksaannya dilakukan dengan menggunakan tetes bergantung

2. Pewarnaan bakteri mati

Pewarnaan pada bakteri yang telah dimatikan bertujuan untuk melihat struktur luar dan dalam dari bakteri, memperjelas ukuran bakteri dan melihat reaksi bakteri terhadap pewarnaan yang diberikan sehingga dapat diketahui sifat fisik dan kimia dari bakteri tersebut.

Bakteri hidup sulit untuk dilihat dengan mikroskop cahaya biasa, karena bakteri tampak tidak berwarna pada sediaan hidup. Bakteri lebih sering diamati dalam olesan terwarnai dari pada dalam keadaan hidup. Untuk menyiapkan bakteri agar dapat diwarnai, biakan disebarakan dalam setes air pada obyek glass/gelas preparat yang disebut sebagai **sediaan**. Sediaan dikeringkan pada suhu kamar dan bakteri dilekatkan erat (difiksasi) dengan jalan melewati obyek glass preparat (olesan permukaan di atas) sebanyak 2 atau 3 kali dengan cepat pada nyala api bunsen. Jika sudah dingin preparat siap untuk diwarnai.

Cara lain :

Dengan menambahkan beberapa tetes methanol pada permukaan preparat yang telah dikeringkan di udara (tanpa

memakai nyala api Bunsen). Cara alternatif ini banyak dilakukan oleh laboratorium, karena merekatkan bakteri dengan panas mungkin dapat menyebabkan **distorsi** pada penampilan bakteri yang terwarnai.

Prinsip :

- Fisik : zat warna diadopsi bakteri → ikatan
- Kimia : bakteri bermuatan (-) berikatan dengan zat warna bermuatan (+)
 - zat warna basa (*basic dyes*) : kation (+) → berwarna, sedangkan anion (-) → tak berwarna
 - zat warna asam (*acidic dyes*) : kation (+) → tak berwarna, sedangkan anion (-) → berwarna

Cara Umum Pewarnaan Bakteri :

Preparat/sediaan dituangi zat warna → zat warna dibuang → dicuci dengan air → dikeringkan

Berbagai macam tipe morfologi bakteri (kokus, basil, spirillum dan sebagainya) dapat dibedakan dengan menggunakan pewarnaan sederhana. Istilah pewarnaan sederhana dapat diartikan dalam mewarnai sel-sel bakteri hanya digunakan satu macam zat warna saja. Kebanyakan bakteri mudah bereaksi dengan pewarna-pewarna sederhana, karena sitoplasmanya bersifat basofilik (suka akan basa) sedangkan zat-zat warna yang digunakan untuk pewarnaan sederhana umumnya bersifat alkalin (komponen kromoforiknya bermuatan positif).

5.3. Cara Pembuatan Preparat / Sediaan

Tujuan dilakukan pembuatan preparat adalah agar nantinya diharapkan para pranata laboratorium umumnya dan analis kesehatan pada khususnya dapat membuat preparat dari kultur cair dan kultur padat dan tahu teknik pewarnaan yang benar. Adapun cara pembuatan preparat sederhana adalah sebagai berikut :

1. gelas objek dibersihkan
2. bakteri diambil → dibuat hapusan/sediaan
3. dikeringkan
4. direkatkan (fiksasi) → tujuan :
 - bakteri segera mati, struktur bakteri tidak rusak
 - bakteri melekat erat pada gelas objek
 - zat warna mudah masuk ke dalam sel
5. dibiarkan dingin → siap diwarnai

Sebelum membuat preparat bakteri, diusahakan semua alat dan media yang digunakan sudah disteril. Sebelum meindahkan bakteri ke obyek glass/gelas obyek, jarum ose harus dipijarkan terlebih dahulu sampai merah membara, kemudian diambil sedikit saja bakteri dari kultur induk bakteri lalu digesekkan pada obyek glas secara hati-hati. Jika bakteri terlalu tebal, tetesi dengan air dan sebarkan secara merata.

5.4. Reaksi Pewarnaan

Zat pewarna : garam yang terdiri dari ion positif dan ion negatif

Zat pewarna yang bersifat BASA, warna berada pada ion positif (zat pewarna⁺, Cl⁻), sedang pada zat pewarna ASAM, warna berada pada ion negatif (Na⁺ pewarna⁻)

Hubungan bakteri dengan zat warna BASA sangat menonjol, hal ini disebabkan terutama oleh adanya asam nukleat dalam jumlah besar dalam protoplasma sel (muatan negatif dari asam inti bereaksi dengan ion positif zat pewarna BASA) na basa

Contoh pewarna basa : Kristal violet (Kristal ungu), Safranin, Methylen blue (biru metilen)

Sebaliknya zat warna asam ditolak oleh muatan negatif bakteri.

Jadi mewarnai bakteri dengan pewarna asam menghasilkan pewarnaan pada daerah belakang saja. Proses pewarnaan seperti ini disebut PEWARNAAN NEGATIF, teknik pewarnaan ini sangat berguna untuk mengamati bentuk keseluruhan sel yang sangat kecil.

5.5. Macam-macam Pewarnaan

1. Pewarnaan sederhana (*simple/progressive staining*)

Pewarnaan sederhana adalah pewarnaan yang menggunakan pewarna tunggal. Pewarna yang biasanya

digunakan adalah ungu kristal, biru metilen, safranin, fukhsin karbol, hijau malakit.

Pewarna sederhana bertujuan untuk memberikan kontras antara bakteri dan latar belakangnya. Pewarnaan sederhana dilakukan saat kita ingin mengamati bentuk dan ukuran sel bakteri.

2. Pewarnaan differential (*regressive staining*)

Pewarnaan ini dilakukan untuk mengamati perbedaan antara sel-sel dari tiap-tiap mikroba. Pewarnaan differential menggunakan lebih dari 1 zat warna, pewarnaan menampilkan perbedaan diantara sel-sel mikroorganisme/bagian-bagian sel mikroorganisme

Macam zat warna yang digunakan :

- 1) Pewarna Gram
 - 2) Pewarna Ziehl-Neelsen / Acid Fast Stain (pewarnaan tahan asam)
 - 3) Pewarna Giemsa
 - 4) Pewarna untuk spora bakteri
 - 5) Pewarna kapsul bakteri
 - 6) Pewarna flagella bakteri
 - 7) Pewarna granula bakteri
- warna kontras → membedakan kelompok bakteri :
ikatan antara sel bakteri dengan zat pewarna
- Pewarnaan Gram : Gram (+), Gram (-)

- Pewarnaan tahan asam : tahan / tidak tahan asam
- prinsip :
 - bakteri + warna utama (I) → ikatan
 - pelunturan : ikatan tetap atau lepas
 - bakteri + warna pembanding (II) :
 - ikatan tetap : warna II tidak bisa masuk → tetap mengikat kuat warna I
 - ikatan lepas : warna II masuk

3. Pewarnaan khusus (*special staining*)

- flagela : Gray, Novel, Zettnow,
Fontana-Tribondeau, Mordan
- kapsul : Muir, Hiss, Gins – Burri
- spora : Klein, Schaeffer – Fulton
- inti : Feulgen
- granula : Neisser, Loeffler, Albert
- spirokhaeta : Becker – Krantz, Fontana –
Tribondeau

4. Pewarnaan negatif

Pewarna negative merupakan pewarna yang menggunakan pewarna asam, seperti migrosin, eosin atau tinta india sebagai pewarna utama. Pewarna negatif bertujuan untuk memberi warna gelap pada latar belakang dan tidak memberi warna pada sel bakteri. Hal

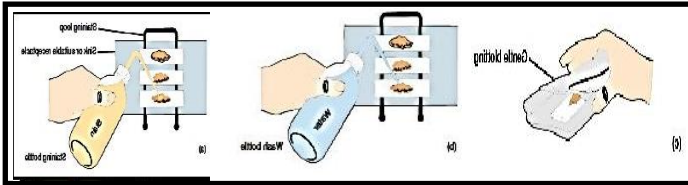
tersebut dapat terjadi karena pada pewarnaan negatif, pewarna yang digunakan adalah pewarna asam dan mempunyai komponen kromoforik yang bermuatan negatif, yang juga dimiliki oleh sitoplasma bakteri. Hal tersebut menyebabkan pewarna tidak dapat menembus ke inti sel bakteri. Pada pewarnaan negatif, sel bakteri nampak transparan (tembus pandang).

5.6. Teknik Pewarnaan

1. Pewarnaan sederhana (*simple/progressive staining*)

caranya : hanyalah menambahkan 1 zat warna saja pada preparat → setelah 30-60 detik, objek glass dibilas dengan air mengalir → sediaan dibiarkan kering di udara → diamati di bawah mikroskop.

- hasil : sesuai zat warna
- variasi :
 - sama rata
 - *beaded form* : tidak sama rata (belang)
 - bipolar stain : jelas di ujung-ujung



Gambar 5.1 Prosedur pewarnaan sederhana

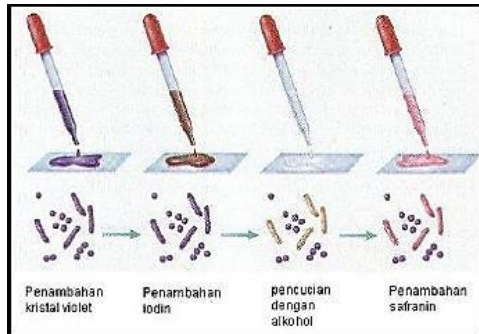
2. Pewarnaan differential (*regressive staining*)

(1) Pewarnaan Gram

Pewarnaan ini merupakan teknik pewarnaan differential yang paling penting dan paling luas digunakan dan membagi bakteri sejati menjadi 2 kelompok, yaitu Gram positif dan Gram negatif.

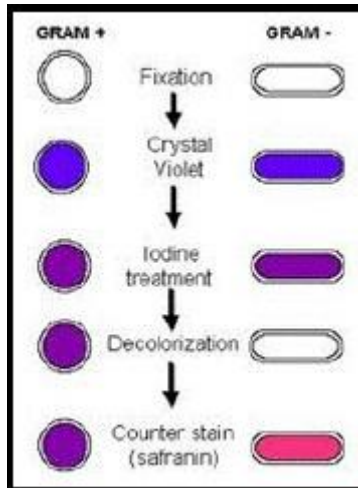
- Penemu : Christian Gram (1884)
- Reagen :
 - warna I : karbol ungu Kristal
 - mordan : lugol (J + KJ), berfungsi memperkuat ikatan bakteri + wana utama
 - peluntur: alkohol asetil 96%
 - warna II: air fukhsin

- Hasil :
 - biru/biru ungu → Gram (+) : Staphylococcus, Streptococcus, Bacillus, Clostridium, Corynebacterium
 - merah → Gram (-) : Neisseria, Salmonella, Shigella, *E.coli*, Proteus, Pseudomonas
- Hasil baik : biakan umur 24 – 48 jam



Gambar 5.2 Prosedur pewarnaan Gram

Bakteri Gram (+) mempertahankan zat warna Kristal violet sehingga sel bakteri tampak **berwarna biru/ungu tua**. Bakteri Gram (-) kehilangan Kristal violet ketika di cuci dengan alkohol dan sewaktu diberi *counter stain safranin* sehingga sel bakteri tampak **berwarna merah**.



Gambar 5.3 Ilustrasi pewarnaan Gram

Banyak teori dikemukakan untuk menjelaskan mengapa suatu mikroorganisme dapat bersifat Gram (+) dan Gram (-). Perbedaan hasil pewarnaan Gram ini disebabkan dinding sel bakteri berbeda. Teori perbedaan hasil pewarnaan Gram :

1. Benius : permeabilitas dinding sel → tebal/tipis lapisan peptidoglikan
 - a. Gram (+) : dinding sel kompak, peptidoglikan 30 lapis → kurang permeable → ungu Kristal – jodium sulit keluar
 - b. Gram (-) : dinding sel tidak kompak, peptidoglikan 1-2 lapis → lebih

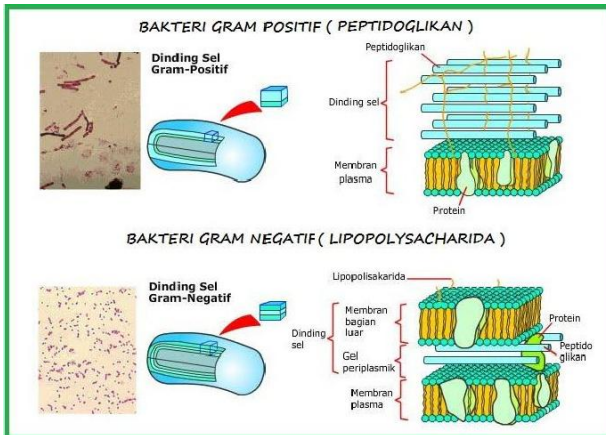
permeable → ungu Kristal – jodium mudah keluar

2. Stearn & Stearn : titik isoelektrik bakteri
 - a. Gram (+) : titik isoelektrik rendah → ungu Kristal-jodium stabil
 - b. Gram (-) : titik isoelektrik tinggi → ungu Kristal-jodium labil
3. Salton : kadar lemak dinding sel
 - a. Gram (+) : pelunturan alkohol → denaturasi protein dinding sel → protein keras dan beku → pori-pori mengecil → ungu Kristal-jodium tak bisa keluar
 - b. Gram (-) : lemak dinding sel banyak → larut (pelunturan) → pori-pori membesar → ungu Kristal- jodium mudah lepas

Modifikasi :

1. modifikasi zat warna
 - warna utama : ungu gentian, ungu metal, biru Victoria
 - warna pembanding :
 - fukhsin karbol
 - merah netral dalam aquades dan asam asetat 1%
 - safranin 0,5 %

- untuk gonokokus & meningokokus : zat warna dari Saudiford → hijau malakit 0,05% dan pironin 0,15% dalam aquades → sel dan inti hijau kebiruan



Gambar 5.4 Perbedaan dinding sel bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif

1. modifikasi pewarnaan Gram

- Jensen : warna I : ungu metil 0,5 %
 mordan : larutan jodium
 peluntur : alkohol
 warna II : merah netral
- Burke : warna : ungu gentian +

Natrium

bikarbonat 5%

mordan : larutan jodium

peluntur : aseton – eter (3:1)

warna II : safranin 0,5%

- Hucker : warna I : ammonium oksalat /

Kristal viole

mordan : lugol

peluntur : aseton – alkohol

warna II : safranin 2,5 %

Tabel 5.1 Tahapan Pewarnaan Gram

Larutan dan Urutan penggunaannya	Reaksi Bakteri	
	Gram (+)	Gram (-)
1. Kristal Violet	Sel berwarna ungu	Sel berwarna ungu
2. Larutan Yodium	Komplek KV-Y, terbentuk dalam sel, sel tetap berwarna ungu	Komplek KV-Y, terbentuk dalam sel, sel tetap berwarna ungu
3. Aseton-alkohol	Dinding sel dehidrasi, pori-pori menciut, daya rembes dinding sel dan membrane KV-Y tidak dapat	Lipid terekstraksi dai dinding sel, pori-pori mengembang, komplek KV-Y

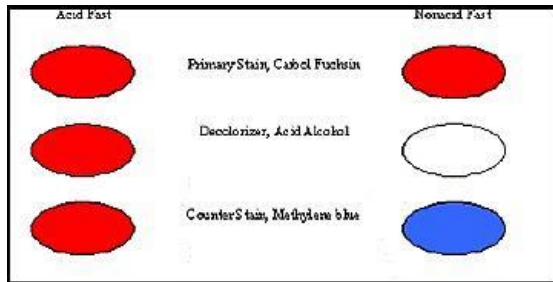
	keluar dari sel → sel tetap ungu	keluar dari sel → sel menjadi tidak berwarna
4. Safranin	Sel tak terpengaruh dan warna tetap ungu	Sel meyerap zat warna safranin dan menjadi merah

(2) Pewarnaan Tahan Asam (*Acid Fast Stain*)

- penemu : Ziehl & Neelsen
- untuk : *Mycobacterium* dan *Nocardia*

Digunakan khusus untuk membantu identifikasi dari genus *Mycobacterium*, dan spesies yang penting dari genus ini adalah : *Mycobacterium tuberculosis* dan *Mycobacterium leprae*.

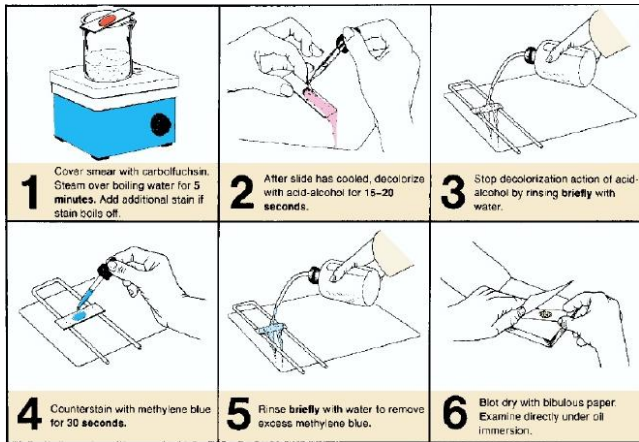
Mycobacteria dikatakan tahan asam karena jika telah diwarnai dengan carbol fuchsin (zat warna merah) tetap mempertahankan bahan warna ini walaupun di cuci dengan alkohol asam (etanol 95% untuk 5-10% HCl).Sifat ini dapat membedakan mikroorganisme lain yang terdapat pada saluran pernafasan dengan bakteri *Mycobacteria* (BTA = Bakteri Tahan Asam).



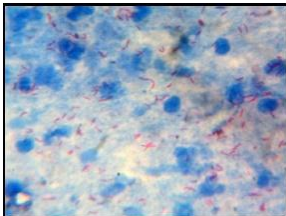
Gambar 5.5 Ilustrasi pewarnaan bakteri tahan asam

Pada bakteri tahan asam memiliki :

- lemak dinding sel seperti lapisan lilin → 40%
banyaknya komponen bakteri → 50% terdiri
dari asam mikolat
- supaya zat warna masuk ke dalam dinding sel
→ lemak dinding sel dirusak → pemanasan
- bila zat warna sudah terserap → sulit
dilunturkan (asam) → bakteri tahan asam
 - Reagen : warna I : karbol fukhsin
Peluntur : alkohol asam
warna II : biru metilen
 - Hasil :
 - Merah : tahan asam
 - Biru : tidak tahan asam →
bakteri lain



Gambar 5.6 Prosedur pewarnaan Ziehl-Neelsen



Keterangan :

- Merah : bakteri tahan asam (Fast-acid)
- Biru : bakteri tidak tahan asam (non fast-acid)

Gambar 5.7 Hasil pengamatan preparat bakteri tahan asam

- Modifikasi : pewarnaan Tan Thiam Hok (TTH) → tanpa pemanasan
 - Sebelum TTH : Kinyoun dan Gabbet → digabung

- Reagen :
 - larutan Kinyoun, berisi larutan fuchsin basa
 - larutan Gabbet, berisi larutan biru metilen
- keuntungan : cepat → bisa untuk masal
- kerugian : hasil positif palsu (*fals positif*)

3. Pewarnaan Khusus (*special staining*)

(1) Pewarnaan Spora Bakteri

Pada pewarnaan biasa, spora tampak sebagai struktur yang tidak berwarna dalam sel, karena spora bersifat impermeable sehingga ditembus oleh zat warna. Pada pewarnaan Schaeffer Fulton diterapkan dengan pemanasan untuk bisa masuk ke dalam spora dan sel-sel bakteri terwarnai oleh counter stain safranin. Dimana sel bakteri terwarnai merah sedangkan spora terwarnai hijau. Ada 2 metode pewarnaan spora, yaitu :

1. Klein : modifikasi pewarnaan tahan asam → spora merah, bakteri biru
2. Schaeffer Fulton
 - reagen :
 - warna I : hijau malakit 10% dalam aquades

- warna II : safranin

1) Pewarnaan Spora metode Klein

Prinsip : dengan pemanasan pori-pori dinding spora akan membesar sehingga zat warna dapat masuk

Cara :

- Buat suspensi bakteri dengan cara menambahkan 1,5 mL NaCl 0,9% steril ke dalam tabung agar miring biakan bakteri → homogenkan dengan ose atau di kocok → pindah suspensi tersebut ke tabung kosong steril
- Suspensi bakteri → tambahkan karbol fuchsin (1:1) → panaskan dalam water bath pada suhu 80^o C selama 10 menit
- Buat preparat atau sediaan dari suspensi di atas → teteskan H₂SO₄ 1% selama 2 detik → cuci → keringkan dengan kertas saring → amati di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa obyektif 100X

Interprestasi Hasil : spora merah, badan sel bakteri (vegetatif) biru

2) Pewarnaan Spora Metode Schaeffer-Fulton

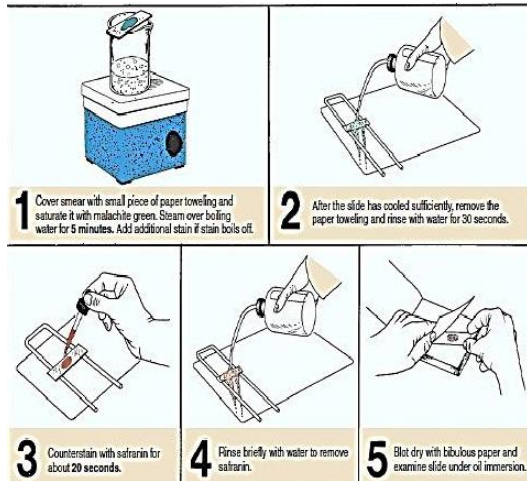
Prinsip : endospora pertama diwarnai pertama dengan malachite green dengan

proses pemanasan, dilakukan pencucian dan ditutup dengan safranin

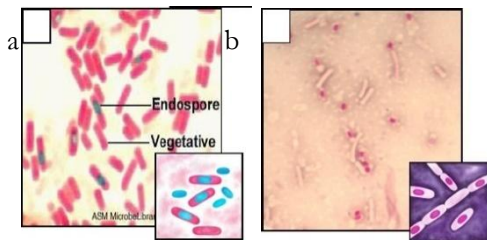
Cara :

- Gunakan teknik aseptis, siapkan biakan bakteri
- Siapkan waterbath yang dipanaskan
- Tutup gelas preparat dengan selembar tissue dan letakkan pada rak di atas waterbath
- Tetesi dengan malachite green
- Panaskan gelas preparat selama 5 menit
- Pindahkan gelas preparat dari waterbath dan ambil kertas tissue dari preparat
- Biarkan gelas preparat dingin lalu cuci dengan air deionisasi
- Keringkan dan tambahkan safranin, diamkan selama 2 menit
- Cuci sisa safranin dengan air deionisasi dan keringkan
- Lakukan pengamatan preparat dengan mikroskop dengan bantuan oil imersi

Interprestasi Hasil : spora hijau, sel bakteri merah



Gambar 5.8 Pewarnaan spora bakteri metode Schaeffer-Fulton



Gambar 5.9 Pengamatan preparat spora bakteri

Keterangan :

- a. Pewarnaan spora menggunakan metode Schaeffer-Fulton, spora berwarna hijau dan sel vegetative berwarna merah

- b. Pewarnaan spora menggunakan metode Dornen, spora berwarna merah dan sel vegetative tidak berwarna

(2) Pewarnaan Kapsul Bakteri

Prosedur yang dipakai yaitu pewarnaan negatif atau modifikasinya. Kapsul tebal mudah ditembus zat warna tetapi tidak diikat → pewarnaan negatif/khusus. Berikut merupakan beberapa metode pewarnaan kapsul bakteri :

1. Hiss

Cat yang dipakai : basic fuchsin (dengan pencuci alkohol)

Cara :

- Bersihkan gelas preparat dengan alkohol, agar bebas dari lemak
- Buat preparat/sediaan yang ada secara aseptik → keringkan diudara
- Lakukan fiksasi di atas lampu spiritus
- Letakkan preparat pada arak pengecatan → tetesi 2-3 tetes basic fuchsin → panaskan di atas nyala lampu spiritus sampai timbul uap, tapijangan sampai mendidih atau menjadi kering → dinginkan

- Cuci dengan larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 20%
→ preparat dikeringkan di udara
- Amati preparat di bawah mikroskop dengan perbesaran kuat (menggunakan oil imersi)

Interprestasi Hasil : kapsul biru pucat, sel vegetatif ungu-merah tua

2. Betode Burry Gins

Cara :

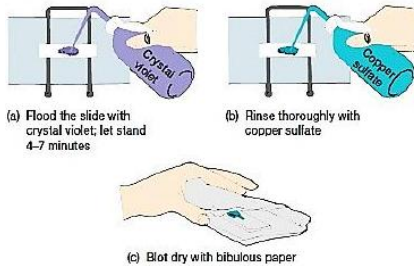
- Bersihkan gelas preparat dengan alkohol agar bebas dari lemak
- Buat pengecatan negative dari biakan yang tersedia
- Tetesi dengan cat methilen blue atau Kristal violet selama 2 menit
- Cuci dengan air mengalir → keringkan di udara
- Amati preparat dengan perbesaran kuat (menggunakan oil imersi)

Interprestasi Hasil : kapsul transparan, sel bakteri biru/ungu

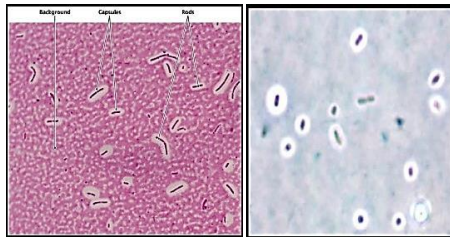
3. Tinta India kering : seperti pewarnaan negatif
→ difiksasi metil alkohol → dikeringkan dengan Bunsen

Hasil : bakteri dan latar belakang gelap, kapsul relatif terang

4. Tinta India basah : bakteri + tinta India + tutup → kapsul : lingkaran jernih



Gambar 5.10 Prosedur salah satu metode pewarnaan kapsul bakteri

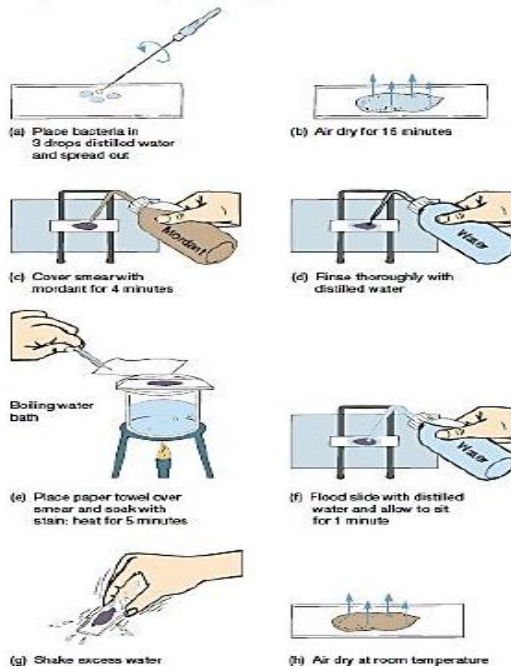


Gambar 5.11 Hasil pengamatan preparat bakteri berkapsul

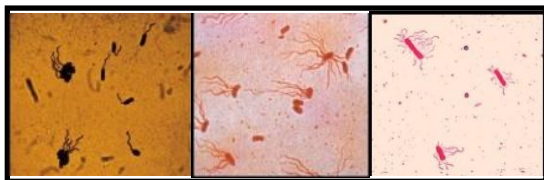
(3) Pewarnaan Flagella Bakteri

Flagella diameternya terlalu kecil untuk dilihat dengan mikroskop cahaya. Sel bakteri dicampur terlebih dahulu dengan suspensi garam dari asam

tannat, sehingga diameter flagella lebih besar → kemudian diwarnai dengan basic fuchsin dan dapat dilihat dengan mikroskop cahaya.



Gambar 5.12 Prosedur pewarnaan flagella bakteri



Gambar 5.13 Pengamatan preparat flagella bakteri

(4) Pewarnaan Granula Matakhromatik

1. Neisser

zat warna : Neisser A, B, C

hasil : bakteri bening, granula ungu/coklat tua

2. Loeffler

zat warna : biru metilen dari Loeffler

hasil : bakteri biru muda, granula biru gelap

3. Albert

zat warna : zat warna Albert : biru toluidin dan hijau malakit dan larutan jodium

hasil : bakteri hijau, granula hitam kebiruan



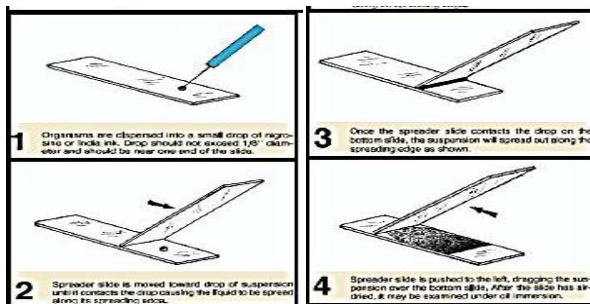
Gambar 5.14 Pengamatan preparat pewarnaan bakteri bergranula

(5) Pewarnaan Inti (DNA) Bakteri

Dengan pewarnaan Feulgen yang spesifik untuk DNA pada sel eukariotik untuk mewarnai inti sel (nukleus).

4. Pewarnaan Negatif

- mewarnai latar belakang/sekeliling bakteri → benda terang dengan latar belakang gelap → untuk bakteri yang sulit diwarnai zat warna basa
- zat warna asam : nigrosin : coklat tua-hitam
sodium eosinat : merah
tinta Cina/India : hitam
- sering : cara tinta India dari Burry



Gambar 5.15 Prosedur pewarnaan negatif

Rangkuman :

Bakteri hidup sulit untuk dilihat dengan mikroskop cahaya biasa, karena bakteri tampak tidak berwarna pada sediaan hidup. Bakteri lebih sering diamati dalam olesan terwarnai dari pada dalam keadaan hidup. Untuk menyiapkan bakteri agar dapat diwarnai, biakan disebarkan dalam setes air pada obyek glass/gelas preparat → **sediaan**. Sediaan dikeringkan pada suhu kamar dan bakteri dilekatkan erat (difiksasi) dengan jalan melewati obyek glass preparat (olesan permukaan di atas) sebanyak 2 atau 3 kali dengan cepat pada nyala api Bunsen. Jika sudah dingin preparat

siap diwarnai. Macam-macam pewarnaan untuk bakteri antara lain pewarnaan sederhana, pewarnaan differential, pewarnaan khusus dan pewarnaan negatif.

Evaluasi :

1. Apa fungsi dari pewarnaan ? jelaskan!
2. Bagaimakah cara pewarnaan Gram? Dan sebutkan interpretasi hasilnya!
3. Apa yang menyebabkan perbedaan sifat bakteri terhadap pewarnaan Gram, sehingga ada bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif? Jelaskan !
4. Pewarnaan apa yang digunakan untuk mewarnai kapsul bakteri?
5. Sebutkan perbedaan antara kapsul dan lender !
6. Jelaskan hubungan antara kapsul dan virulensi bakteri !
7. Bagaimanakah cara pewarnaan granula metakromatik bakteri metode Neisser?
8. Untuk pengamatan DNA bakteri, maka diperlukan bantuan pewarnaan
9. Bagaimanakah cara pewarnaan spora bakteri metode Schaeffer Fulton? Dan bagaimana interpretasi hasilnya?
10. Fungsi dari pewarnaan tahan asam adalah

