

## BAB 6

### PERBENIHAN (MEDIA) BUATAN

#### Deskripsi Mata Kuliah :

Mata kuliah ini membahas tentang perbenihan (media) buatan untuk membiakkan bakteri di laboratorium, dimana lingkungan buatan diusahakan mirip dengan suasana alamiah yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri tersebut.

#### Sub Pokok Bahasan :

- 6.1. Pengertian
- 6.2. Klasifikasi perbenihan
- 6.3. Carapembuatanperbenihan(media) buatan

#### Bahan Bacaan :

No	Judul Buku	Pengarang	Penerbit/Edisi/Tahun
1	Basic Microbiology	Soesilo, B., dan Mei, S.	FK Unair Surabaya/2010
2	Biology of Microorganism	Madigan, M.T., & John M. Martinko	USA/eleventh edition/2006
3	Cowan's and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria	Barrow, G.I. and Feltham, R.K.A	UK : Cambridge University Press/Third Edition/1993
4	Dasar-dasar Mikrobiologi	Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan	Djambatan Jakarta/2010
5	Diagnostic	Bailey, W.R, and Scott,	The C.V. Mosby Company/2 <sup>th</sup>

	Microbiology	E.G.	edition/1996
6	Manual of Clinical Microbiology	Blair, J.E., Lenette, E.H., and Truant, J.P.	The Williams & Wilkins, Baltimore/1970
7	Microbiology	Presscott, L.M., John, P.H., Donald, A.K.	Mc Graw-Hill Company New York/ 5 <sup>th</sup> edition/2002
8	Teknik dan Metode Dasar Mikrobiologi	Waluyo Lud	UMM Press. Malang/2010

## 6.1. Pengertian

Perbenihan (media) buatan adalah suatu lingkungan yang dibuat untuk membiakkan bakteri di laboratorium. Perbenihan ini merupakan lingkungan buatan yang diusahakan agar mirip dengan suasana alamiah yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri, antara lain :

- 1) Sumber energi
- 2) Sumber karbon (C)
- 3) Sumber nitrogen (N)
- 4) Garam-garam : sulfat ( $\text{SO}_4$ ), fosfat ( $\text{PO}_4$ ), sodium klorida ( $\text{NaCl}$ ), dan karbonat ( $\text{CO}_3$ )

Mineral-mineral : potassium (K), magnesium (Mg), besi (Fe), kalsium (Ca), serta unsur-unsur yang hanya sedikit diperlukan seperti tembaga (Cu) dan lain-lain

- 5) pH yang cocok (7,2-7,6)
- 6) Potensial redoks yang tepat

7) Faktor pertumbuhan seperti :

- Triptofan untuk *Salmonella typhi*
- Glutathion untuk *Neisseria gonorrhoeae*
- Faktor X dan V untuk *Haemophilus influenza*

Pembuatan perbenihan ini pertama kali dipelopori oleh Pasteur, Koch, dan Cohn.

Sifat khas perbenihan (media) yang ideal adalah :

- 1) Memberi pertumbuhan yang baik bagi bakteri
- 2) Mempercepat pertumbuhan bakteri
- 3) Bakteri mudah tumbuh
- 4) Murah
- 5) Mudah dibuat
- 6) Mampu memperlihatkan semua sifat-sifat khas dari bakteri

## **6.2. Klasifikasi Perbenihan(Media)**

### **1. Berdasar Bentuk**

- 1) Perbenihan cair (*broth*)
- 2) Perbenihan padat (*solid*)
- 3) Perbenihan setengah padat (*semisolid*)

## 2. Berdasar Cara Kerja

- 1) Perbenihan umum (*general*) : dapat ditumbuhi oleh hampir semua bakteri → *enrich medium* dan *enrichment medium*
- 2) Perbenihankhusus:
  - (1) Perbenihan differensial/indikator : perbenihan yang menyebabkan munculnya perbedaan sifat-sifat khas bakteri, sehingga bisa dikenali suatu bakter tertentu dalam biakan campuran
  - (2) Perbenihan selektif : perbenihan yang mengandung zat penghambat sehinggahanya bakteri yang diinginkan yang tumbuh, sedangkan bakteri yang tidak diinginkan akan terhambat (bisaanya berupa perbenihan padat)
  - (3) Perbenihan persemaian / pemupuk: perbenihan yang bisa menghambat bakteri yang tidak diinginkan dalam waktu sementara, sehingga bakteri diinginkan mendapat kesempatan tumbuh lebih baik
  - (4) Perbenihan gula-gula : perbenihan yang mengandung gula-gula tertentu untuk mengetahui sifat peragian bakteri terhadap gula-gula tersebut
  - (5) Perbenihan transport : perbenihan yang digunakan untuk membawa bakteri/bahan pemeriksaan dari satu tempat ke tempat lain,

supaya bakteri tidak mati selama dalam perjalanan

### 3. Berdasar komposisi/susunan

- 1) Media sederhana/basal/dasar : perbenihan yang mengandung bahan-bahan sederhana/dasar, bisaanya digunakan sebagai dasar pembuatan perbenihan lain
- 2) Perbenihan kompleks : perbenihan yang mengandung zat-zat yang digunakan untuk tujuan khusus atau untuk menunjukkan sifat-sifat khas bakteri atau mengandung zat-zat gizi khusus untuk pembiakan bakteritertentu
  - (1) Perbenihan kaya (*enrich*) : perbenihan yang mengandungdarah, serum, atautelur
  - (2) Perbenihan diperkaya (*enrichment*) : perbenihan dasar yang diperkaya dengan bahan-bahan tertentu sehingga berfungsi sebagai perbenihan persemaian

### 4. Berdasar Suana Oksigen (O<sub>2</sub>)

- 1) Perbenihanaerob
- 2) Perbenihan anaerob

## 6.3. Cara Pembuatan Perbenihan (Media) Buatan

### 1. Perbenihan(Media) Cair

Mempunyai kerugian, diantaranya :

- Pertumbuhan tidak menunjukkan sifat yang khas
- Bakteri yang bercampur tidak bisa diisolasi

(1) **Air/ekstrak daging = kaldu = *meat extract***

Prosedur pembuatan :

- 1) Daging sapi dibersihkan dari lemak, kemudian diiris kecil-kecil
- 2) Direbus dalam air mendidih selama 30 menit

Komposisi dari kaldu sapi:

- 1) Bahan-bahan dari protein : gelatin, albuminosa, pepton, asam amino
- 2) Senyawa nitrogen : keratin, kreatinin, karnosin, purin, glutation
- 3) Garam mineral : potasium dihidrofosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), sodium klorida ( $\text{NaCl}$ )
- 4) Faktor pertumbuhan : tiamin, asam nikotinat, riboflavin, piridoksin, kolin, asam pantotenat

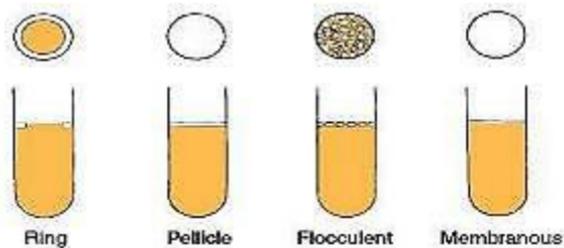
Yang bisa digunakan sebagai pengganti ekstrak daging adalah:

- 1) Ekstrak ragi (*yeast*)
- 2) Kasein hidrolisa

(2) **Nutrient Broth (Bouillon)**

Komposisi :ekstrak daging	3 g
pepton	10g
NaCl	5 g
Aquadest ad	1 L

Prosedur pembuatan : bahan-bahan dilarutkan dalam air panas → disaring dengan kain kasa



Gambar 6.1 Tipe permukaan bakteri ketika tumbuh dalam media Nutrient Broth

(3) **Infusion Broth**

Prosedur Pembuatan :

- 1) 500 g daging sapi dibersihkan dari lemak, kemudian diiris-iris sehalus mungkin
- 2) Direndam dalam 1 L air, kemudian dimasukkan ke dalam almari pendingin selama 24jam

- 3) Disaring dengan kain kasa dan diperas, maka akan didapatkan cairan merah
- 4) Dididihkan selama 15 menit sehingga cairan menjadi coklat keruh karena gumpalan-gumpalan protein
- 5) Disaring lagi, maka akan diperoleh cairan kuning jernih
- 6) Disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit

Bila akan digunakan sebagai perbenihan, maka harus ditambah :

- 1) Pepton 1-2% : untuk mengganti protein yang hilang (menggumpal) akibat pemanasan. Pepton sendiri bersifat tahan panas
- 2) NaCl 0,5%

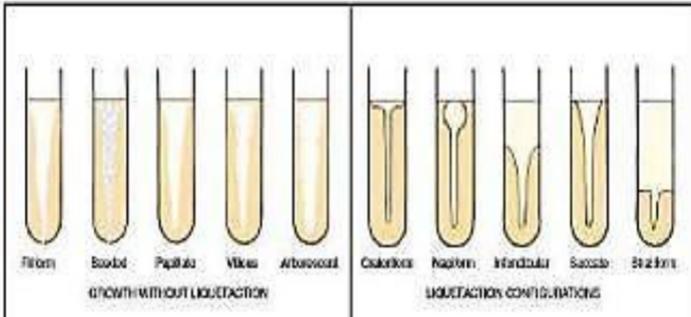
**(4) Air pepton (*pepton water*)**

Komposisi : Pepton	10 g
NaCl	5 g
Aquades	ad 1 L

Prosedur Pembuatan :

- 1) 10 g pepton dan 5 g NaCl dimasukkan kedalam beaker glass

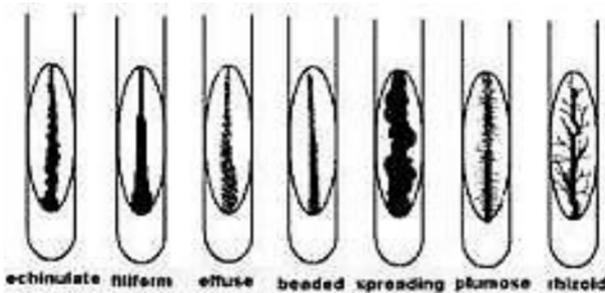




Gambar 6.2 Pertumbuhan bakteri dalam Gelatin Stab

## (2) Nutrient Agar

- Agar adalah polisakarida rantai panjang yang dibuat dengan cara ekstraksi ganggang laut pada air panas
- Sifat-sifat agar:
  - 1) Pada kadar 1,5-2% dalam air akan membentuk gel atau padat, mendidih pada 95°C dan memadat pada 40°C
  - 2) Tidak hancur/mencair oleh kebanyakan bakteri, sehingga lebih sering dipakai daripada gelatin
  - 3) Mengandung : garam-garam anorganik, protein, mineral (terutama Mg dan Ca) dan terkadang asam lemak rantai panjang
- Komposisi : Agar 15-20 g  
                   NB       ad       1 L



Gambar 6.3 Macam-macam tipe pertumbuhan bakteri pada media *Nutrient Agar Slant* (NAS)

### 3. Perbenihan (Media) Setengah Padat = *Semisolid* = *sloopy agar*

Perbenihan ini bisaanya digunakan untuk melihat pergerakan bakteri, sehinggadisebutjuga *motility medium*.

Merupakan perbenihan cair yang dipadatkan dengan agar 0,2-0,5%, tergantung jenis agar yang digunakan (Agar Jepang 0,4%; Agar New Zealand 0,25%)

Komposisi : Agar 2-5 g  
 Nutrient/pepton broth ad 1 L

Prosedur pembuatan :

- 1) Ditimbang 2-5 g Agar → dimasukkan ke dalam beaker glass → ditambah dengan nutrient/pepton broth sampai 1 L
- 2) Dipanaskan sampai larut, tapi jangan sampai mendidih

- 3) Disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15menit
- 4) Setelah disterilisasi → dituangkan ke dalam tabung- tabung → dibiarkan mendingin dalam posisi tegak. Setelah memadat akan didapatkan perbenihan yang transparan

Cara melihat pergerakan bakteri :

- 1) Bakteri diambil dengan menggunakan jarum penusuk (ose jarum)
- 2) Ditusukkan tegak lurus pada tengah-tengah permukaan media, sampai kira-kira separuh atau 2/3 kedalaman perbenihan → diinkubasi 24 jam
- 3) Hasil:
  - bakteri bergerak (*motil*) tampak tumbuh menyebar, sehingga perbenihan tampak berkabut
  - bakteri tidak bergerak (*non motil*) tampak tumbuh disekitar garis/bekas tusukan, mempunyai batas tepi tajam, dan perbenihan sekitar tetap transparan

#### 4. **Perbenihan (Media)Gula-gula**

Yang dimaksud dengan gula-gula adalah bahan yang bisa diragikan (*fermentable*), terutama **karbohidrat**. Guna perbenihan gula-gula adalah untuk mengetahui sifat peragian bakteri terhadap gula tertentu, yang



Air pepton	secukupnya
Macam indikator	:
- Merah netral	0,02-0,033 %
- Merah fenol	0,018 %
- BromThymol Blue	0,02-0,08 %
- Ungu brom kresol	0,03-0,04 %

Untuk mengetahui produksi asam, bisa dilihat adanya perubahan warna indikator

- Merah netral : tidak berwarna menjadi pink -  
(merah muda)
- Merah fenol : merah menjadi kuning
- Biru brom timol : biru menjadi kuning
- Ungu brom kresol : ungu menjadi kuning

Untuk mengetahui produksi gas digunakan tabung durham yang dimasukkan secara terbalik ke dalam tabung perbenihan, gas akan tampak sebagai ruang kosong pada tabungdurham.

Sterilisasi menggunakan autoclave (udara dalam tabung durham akan keluar pada saat pemanasan, kemudian tempatnya akan diganti oleh cairan perbenihan pada saat pendinginan).

Untuk memberi tanda masing-masing gula, bisaanya dipakai tutup kapas yang telah diwarnai

dengan warna-warna tertentu, misal : hijau untuk glukosa, merah untuk laktosa, dan sebagainya.

(2) **Perbenihan (Media) Gula-gula Padat:**

1) **Triple Sugar Iron Agar(TSIA)**

Komposisi : Pepton	20 g
NaCl	5 g
Laktosa	10 g
Sukrosa	10 g
Glukosa	1 g
Fero ammonium sulfat	0,2g
Sodium tiosulfat	0,2 g
Merah fenol	0,025 g
Agar	13 g
Aquades	ad 1 L

Fungsi : digunakan untuk mengetahui sifat peragian dan produksi H<sub>2</sub>S suatu bakteri

Tanda peragian :

- Asam : ditandai dengan perubahan warnamedia darimerahmenjadikuning
- Gas : adanya gelembung gas pada bagian *butt*

Produksi  $H_2S$  : berasal dari reduksi thiosulfat yang ditandai oleh warna hitam senyawa fero sulfat ( $FeS$ ) pada bagian *butt*

2) **Kliger Iron Agar (KIA)**

Seperti TSIA, tetapi tidak mengandung sukrosa

5. **Perbenihan (Media) Darah dan Serum**

Ada 2 macam, yaitu :

- 1) Perbenihan darah/serum yang dipadatkan dengan cara menggumpalkan dengan pemanasan di atas  $60^{\circ}C$
- 2) Darah/serum ditambahkan saja untuk memperkaya perbenihan cair

Cara penyediaan darah/serum :

- 1) Darah dapat diambil dari kuda, kelinci, domba, lembu, atau manusia

Untuk mencegah pembekuan darah dapat dilakukan/diberi :

- 1) Defibrinasi : menghilangkan fibrin
- 2) Antikoagulan : misalnya potassium oksalat 10%

Bila diperlukan darah steril, maka cara pengambilan dan penampungan darah harus aseptik/steril. Darah steril bisaanya digunakan

untuk perbenihan yang memerlukan sel-sel darah tetap utuh, misalnya agar darah atau agar coklat.

Bila yang diperlukan adalah isi/protein darah, maka dapat digunakan darah/serum yang tidak steril, kemudian dilakukan sterilisasi cara pemanasan bertahap dalam bentuk perbenihan jadi (misalnya : perbenihan Loeffler, perbenihan serum).

Cara mengambil darah hewan (terutama domba) :

- 1) Tempat pengambilan adalah vena jugularis eksterna di leher
- 2) Bulu leher dicukur → leher dicuci dengan sabun, kemudian didesinfeksi dengan jodium 2% dan alkohol 70%
- 3) Vena jugularis eksterna dicari (bila sukar, pangkal leher yang dilalui vena tersebut ditekan, sehingga vena akan tampak membesar)
- 4) Alat penghisap/penyedot darah (jarum/kanula) dihubungkan dengan botol penampung oleh pipa plastik/karet
- 5) Jarum/kanula ditusukkan ke dalam vena jugularis eksterna, darah dihisap, dan selanjutnya darah akan masuk ke botol penampung



mencapai suhu 45-55°C → tambahkan darah defibrinasi 5-10%

- 2) Campur hingga rata → tuang ke dalam cawan petri sebanyak 10-15 ml, dan biarkan mendingin tanpa sterilisasi
- 3) Untuk kontrol sterilisasi, perbenihan dimasukkan ke dalam inkubator (37°C selama 24 jam). Bila ada pertumbuhan bakteri, perbenihan dibuang, bila tidak ada pertumbuhan, perbenihan bisa digunakan.

(2) **Agar Coklat (*chocolate agar = heated blood agar*)**

Seperti agar darah, tetapi warnanya coklat karena pemanasan.

Prosedur pembuatan :

- 1) Seperti pembuatan agar darah, tetapi darah defibrinasi dimasukkan ke dalam Nutrient Agar cair pada saat suhu 70- 80°C
- 2) Agar darah dipanaskan dalam penangas air pada suhu 70-80°C yang sedang mendidih selama 1 menit, sampai warnanya menjadi coklat

(3) **Perbenihanserum Loeffler**

Komposisi :

- Serum steril 3 bagian
- Meat infusion/air pepton  
yang berisi glukosa 1% 1 bagian

Cara sterilisasi : dengan inspikator

Fungsi : bisaanya digunakan untuk menumbuhkan *Corynebacterium diphtheriae*

## 6. **Perbenihan (Media)Telur**

Merupakan perbenihan yang mengandung telur, bisaanya untuk menumbuhkan *Mycobacterium tuberculosis*

Cara memecah telur :

- 1) Umur telur (ayam/bebek) paling lama 1 minggu
- 2) Telur dicuci dengan air sabun, dibilas dengan air, kemudian dikeringkan
- 3) Telur dimasukkan ke dalam spiritus selama 5 menit atau alkohol 70% selama 15 menit, kemudian dikeringkan
- 4) Telur dipecah, kemudian ditampung dalam botol steril

(1) **Perbenihan (Media) Dorset**

Komposisi : telur 4 butir

larutan NaCl 95% ad 25 ml

Prosedur pembuatan : telur ditambah larutan NaCl 95% → dicampur sampai merata

Cara sterilisasi : menggunakan inspikator

(2) **Perbenihan (Media) Telur Gliserol**

Seperti DORSET, tetapi ditambah gliserol 5%

(3) **Perbenihan (Media) Lowenstein-Jensen**

Komposisi :

a. Larutangarammineral:

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  2,4 g

$\text{MgSO}_4$  0,24 g

Magnesiumcitrate 0,6 g

Asparagin 3,6 g

Gliserol 12 ml

Aquadest ad 600 ml

b. Tepung kentang 30 g

c. Telur yang sudah dikocok homogen 1 L

d. Larutan hijau malakhit 2% 20 ml

Prosedur pembuatan :

- 1) Tepung kentang dicampur dengan larutan garam mineral, disterilisasi menggunakan autoclave (121°C selama 30 menit) → biarkan mendingin
- 2) Telur dan larutan hijau malakhit 2% ditambahkan → campur dengan baik

Cara sterilisasi : menggunakan inspikator

(4) **Perbenihan (Media) *American Trudeau Society Agar (ATSA)***

Komposisi :

kuning telur		500 ml
tepung kentang		2 g
gliserin		10 ml
aquadest	ad	500 ml
lar. Hijau malakhit dalam alkohol 50%		20 ml

Cara sterilisasi : menggunakan inspikator

(5) **Perbenihan (Media) PAI**

Fungsi : untuk menumbuhkan *Corynebacterium diphtheriae*

Komposisi : telur	3 bagian
Larutan NaCl 0,85%	1 bagian

Cara sterilisasi : menggunakan inspikator

## 7. **Perbenihan Differential**

Media yang digunakan untuk membedakan kelompok bakteri tertentu, misalnya kelompok peragi dan bukan peragi laktosa pada famili Enterobacteriaceae

### (1) **Mac Conkey (MC) Agar**

Komposisi :

pepton	17 g	
proteose pepton	3 g	
laktosa	10 g	
sodium taurokholat (garam empedu)	1,5 g	
NaCl	5 g	
Agar	13,5 g	
Merah netral	0,03 g	
Ungu Kristal	0,001 g	
Aquadest	ad	1000 ml

Untuk mencegah *Proteus*, sebaiknya kadar Agar dinaikkan sampai 5%. Pemberian Sodium taurokholat dan ungu Kristal → menghambat bakteri Gram positif (contohnya: *Staphylococcus*, *Streptococcus*).

Laktosa → untuk membedakan bakteri peragi dan bukan peragi laktosa. Apabila laktosa diragi,

akan dihasilkan asam yang menyebabkan pH

perbenihan turun, akibatnya warna media dan koloni bakteri akan berubah menjadi merah muda (pink).

(2) ***Eosin Methylen Blue (EMB) Agar***

Komposisi :

pepton	10 g
laktosa	5 g
sukrosa	5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2 g
agar	13,5 g
eosin Y	0,4 g
biru methilen	0.065 g
aquadest	ad
	1 L

Koloni *E. coli* pada perbenihan ini memberi ciri khas, yaitu *green metallic sheen* (hijau kilap logam).

(3) **Endo Agar**

Komposisi :

pepton	5 g
ekstrak daging	3 g
NaCl	3 g
laktosa	10 g
larutan fuksinlindi 10%	4 ml

Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>		1,5 g
agar		12 g
aquadest	ad	1 L

Apabila warna perbenihan menjadi sangat merah, berarti terjadi oksidasi sulfit, dan perbenihan tidak baik untuk digunakan. Untuk itu bisa ditetaskan beberapa tetes larutan Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 10% yang baru (maksimal 1 ml/L) → kemudian dipanaskan.

**(4) Deoxycholate Agar**

Komposisi :

pepton		10 g
laktosa		10 g
sodium citrate		1 g
feri ammonium sitrat		1 g
NaCl		5 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		2 g
sodium desoksikholat (garam empedu)		1 g
agar		16 g
merah netral		0,033 g
aquades	ad	1 L

## 8. Perbenihan (Media) Selektif

Merupakan perbenihan yang hanya dapat ditumbuhi oleh bakteri tertentu. Pada dasarnya, komposisinya seperti perbenihan diferensial, tapi ditambah dengan warna tertentu yang menyebabkan bakteri lain terhambat

Untuk *Salmonella typhi* dan *Salmonella paratyphi*:

### 1) *Bismuth Sulfit Wilson Blair Agar*

Komposisi :

ekstrak daging sapi	5 g
pepton	10 g
dekstrosa	5 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4 g
FeSO <sub>4</sub>	0,3 g
indikator bismuth sulfit	8 g
agar	20 g
hijau brilliant	0,025 g
aquadest	ad
	1 L

Hijau brilliant dan bismuth menghambat flora normal. Bakteri yang memproduksi H<sub>2</sub>S akan menunjukkan warna hitam, karena pembentukan FeS. Jika bakteri bisa mereduksi ion bismuth, akan terbentuk logam bismuth yang ditunjukkan oleh koloni yang bercahaya logam (*metallic luster*) di sekelilingnya.

*Salmonella typhi* menunjukkan koloni khas pada perbenihan ini, yaitu terdapat warna hitam di tengah koloni, bagian tepi terang, dikelilingi oleh presipitat hitam dan *metallic luster*. Koloni demikian disebut *rabbit's/fish eye* (mata kelinci/ikan).

Untuk *Salmonella* dan *Shigella*

1) ***Deoxycholate Citrate Agar (DCA)***

Komposisi :

<i>meatinfusion</i>	350 g
pepton	10 g
laktosa	10 g
sodium sitrat	20 g
feri ammonium sitrat	1 g
sodiumdesoksikholat (garam empedu)	5 g
agar	17 g
merah netral	0,02 g
aquades	ad
	1 L

2) ***Salmonella – Shigella Agar (SSA)***

Komposisi :

ekstrak daging sapi	5 g
pepton	5 g
laktosa	10 g
campuran garam empedu	8,5 g

sodium sitrat		8,5 g
sodium tiosulfat		8,5 g
feri sitrat		1 g
agar		13,5 g
hijau brillian		0,33 g
merah netral		0,025 g
aquadest	ad	1 L

Tidak disterilisasi di autoclave, cukup dicampur sambil dipanaskan. Juga bersifat diferensial (peragi dan bukan peragi laktosa).

Untuk *Vibrio*:

1) ***Thiosulfat Citrate Bile Salt Sucrosa (TCBS) Agar***

Komposisi :

ekstrak ragi		5 g
pepton		10 g
sodium sitrat		10 g
sodium thiosulfat		10 g
garam empedu		5 g
sodium kholat		3 g
sukrosa		20 g
NaCl		10 g

feri sitrat		1 g
biru brom timol		0,04 g
biru timol		0,04 g
agar		15 g
aquades	ad	1 L

*Vibrio* mampu tumbuh pada suasana alkali. Adanya tiosulfat dan sitrat kadar tinggi serta suasana alkali yang kuat, akan menghambat pertumbuhan Enterobacteriaceae. **Adanya garam empedu dan kholat** adalah untuk menghambat Enterococcus. Juga bersifat differensial (peragi dan bukan peragi laktosa).

Untuk bakteri anaerobik :

### 1) Tioglikolat Agar

Komposisi :

ekstrak ragi	5 g
kasiton	15 g
L (+) sistein	0,75 g
dekstroza	5 g
NaCl	2,5 g
asamtioglikolat	0,3 g
agar	0,75 g
sodium resazurin	0,001 g



Untuk *Neisseria* :

1) ***Thayer Martin***

Komposisi :

darah defibrinasi		20 ml
agar dasar Thayer Martin	ad	200 ml
suplemen I		1 vial
suplemen II		1 vial

Suplemen I → menghambat flora normal (Vankomisin 600 µg, Colistin 1500 µg, dan Trimetroprim 1000 µg)

Suplemen II → faktor pertumbuhan untuk mempercepat pertumbuhan bakteri yang dikehendaki.

9. **Perbenihan (Media) Diperkaya (*Enrichment*)**

Bersifat menghambat flora normal secara sementara (12-18 jam), sehingga mempermudah pertumbuhan bakteri yang dicari. Biasanya perbenihan ini digunakan jika diperkirakan jumlah bakteri yang dicari hanya sedikit.

1) **Selenite-F Broth**

Untuk *Salmonella* dan *Shigella*

Komposisi : pepton 5 g

laktosa		4 g
sodium hydrogen selenite		4 g
Na <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		10 g
Aquades	ad	1 L

Perhatian:

- Tidak perlu disterilisasi diautoclave
- Apabila terdapat endapan merah bata dari selenit, maka perbenihan tidak bisa digunakan lebih lama

Selenite → menghambat flora normal usus dalam waktu 6-12 jam pertama, sedangkan *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, dan *Pseudomonas* tidak terhambat.

## 2) Tetrathionat Broth

Untuk *Salmonella*, kecuali *Salmonella typhi*

Komposisi :

a.	proteose pepton		5 g
	garam-garam empedu		1 g
	CaCO <sub>3</sub>		10 g
	Sodium tiosulfat		30 g
	Aquades	ad	1 L
b.	jodium Kristal		6 g
	KJ		5 g

Aquades

ad

20 ml

Cara :

- (1) bahan (a) dan (b) dibuat secara terpisah, bahan (b) baru ditambahkan pada bahan (a) apabila perbenihan akan digunakan
  - (2) penambahan jodium pada tiosulfat akan menghasilkan tetrathionat yang dapat menghambat bakteri coliform. Bakteri yang tidak terhambat bisaanya akan menguraikan tetrathionat sehingga terbentuk asam, kemudian asam akan dinetralsir oleh  $\text{CaCO}_3$  sehingga suasana pH tetap normal.
  - (3) Garam empedu : menghambat semua flora normal usus
- 3) **Air Pepton Lindi (*Alkali Pepton Water* = APW)**

Untuk *Vibrio*

Komposisi :

peton		10 g
NaCl		30 g
$\text{Na}_2\text{CO}_3$		1,5 g
Aquades	ad	1 L

10. **Perbenihan Transpor**

Untuk membawa bahan pemeriksaan dari suatu tempat yang jauh dari laboratorium atau diperkirakan bahan pemeriksaan tidak bisa segera diperiksa

- 1) **Perbenihan PIKE** → untuk *Streptococcus pyogenes*, *Pneumococcus*, *H.influenza*

Kandungan : agar darah, ungu Kristal, sodium azida

Juga merupakan perbenihan diperkaya

- 2) **Perbenihan STUART** → untuk bakteri pathogen, seperti *Neisseria*, *Haemophilus*, *Pneumococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Salmonella*, *Shigella* dan lainnya.

Komposisi :

sodium gliserofosfat	10 g
sodiumtioglikolat	1 g
CaCL <sub>2</sub>	0,1 g
biru metilen	0,002 g
agar	8 g

Tidak tersedianya sumber N pada perbenihan ini akan mencegah bakteri untuk memperbanyak diri, walaupun demikian komposisi perbenihan masih memungkinkan bakteri bisa bertahan hidup dalam waktu lama.

Biru metilen : indikator untuk keadaan anaerobik, yaitu apabila terjadi reduksi, maka warna biru metilen akan berubah dari biru menjadi putih.

- 3) **Air Pepton Lindi** → untuk *Vibrio*
- 4) **Gliserol salinbuffer** → untuk Enterobacteriaceae

Komposisi :

NaCl		4,2 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		1 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		3,1 g
merah fenol		0,003 g
aquades	ad	700 ml
gliserol		300 ml

Apabila warna perbenihan menjadi merah, berarti perbenihan terlalu asam, dan tidak bisa digunakan.

**Untuk bakteri anaerob**

1) **Perbenihan Cary and Blair**

Komposisi :

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		1,1 g
NaCl		5 g
sodiumtioglikolat		1,5 g
agar		5 g
CaCl <sub>2</sub> 1%		9 ml
aquades	ad	991 ml

Prosedur pembuatan :

- (1) Bahan-bahan dicampur, kecuali CaCl<sub>2</sub> → kemudian dipanaskan sampai jernih

- (2) Setelah suhu mencapai 50°C, larutan CaCl<sub>2</sub> dimasukkan

2) **Perbenihan Amies**

Komposisi :

I. Agar		4 g
Aquadess	ad	1 L
II. NaCl		3 g
KCl		0,2 g
Sodiumtioglikolat		1 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		1,15 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>		0,2 g
CaCl <sub>2</sub> 1% (baru)		10 ml
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O		10 ml
III. Karbon netral		10 g

Prosedur pembuatan :

- (1) Bahan(I) dicampur, dipanaskan sampai larut
- (2) Dalam kondisi masih panas, ditambahkan bahan (II) → diaduk sampai larut, kemudian ditambah bahan(III)
- (3) Dibagi-bagi dalam tabung tutup ulir atau vial, dengan sering-sering digerak-gerakkan, agar karbon tetap larut. Hindarkan dari pendinginan dan pengentalan

- (4) Sterilisasi dengan autoclave 121<sup>0</sup>C selama 20 menit
- (5) Sebelum membeku, tabung dibalik untuk menyebarkan karbon secara merata → kemudian simpan dalam kulkas
- (6) Ditekankan bahwa harus dihindari pemanasan terlalu lama dalam
- (7) labu yang terbuka, karena bahan reduktor (sodium thioglikolat) mudah menguap.

### Evaluasi

1. Apa yang dimaksud dengan perbenihan / media buatan? Jelaskan!
2. Bagaimanakah sifat khas media yang ideal untuk pertumbuhan bakteri ?
3. Berdasarkan bentuknya, media dibedakan menjadi ..... dan .....
4. Berdasarkan cara kerjanya, perbenihan (media) dibedakan menjadi 2, yaitu *general medium* dan *specific medium*. Sebutkan jenis media apa saja yang termasuk dalam *specific medium* dan jelaskan masing-masing fungsinya !
5. Apa yang dimaksud dengan perbenihan aerob dan anaerob?
6. Bagaimanakah cara membuat media Nutrient Agar untuk 5 cawan petri, jika pada aturan pakai yang tertera pada wadah adalah 60 g/L !
7. a. Apafungsi dari media semi solid?

- b. Sebutkan macam-macam bentuk motilitas bakteri pada media semi solid !
8. a. Apa yang dimaksud dengan perbenihan (media) gula- gula?
  - b. Sebutkan Indikator apa saja yang digunakan untuk media gula-gula!
  - c. Bagaimana cara mengetahui asam yang di hasilkan oleh bakteri pada media gula-gula?
9. Bagaimanakah cara mengambil darah domba untuk keperluan pembuatanperbenihan (media) darah dan serum?
  10. Bagaimana cara defibrinasi dari darah domba yang akan digunakan untuk media pertumbuhan bakteri?
  11. Jabarkan cara pembuatan media BAP !
  12. Media apa yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Corynebacterium diphteri* ?
  13. Jika kita ingin mengisolasi bakteri *Mycobacterium tuberculosis*, maka kita memerlukan media.....
  14. Apa fungsi dari media : (a) MC dan (b) EMB
  15. Untuk mengisolasi bakteri *Salmonella* sp. dan *Shigella* sp. diperlukan media.....
  16. Media TCBS digunakan untuk isolasi bakteri.....
  17. Media Thayer Martin digunakan untuk isolasi bakteri .....

