

LAPORAN PRAKTIKUM KULTUR SEL

Kamis 17 Nopember 2011

**Oleh: Martina Hutahaean
Roy Wilson**

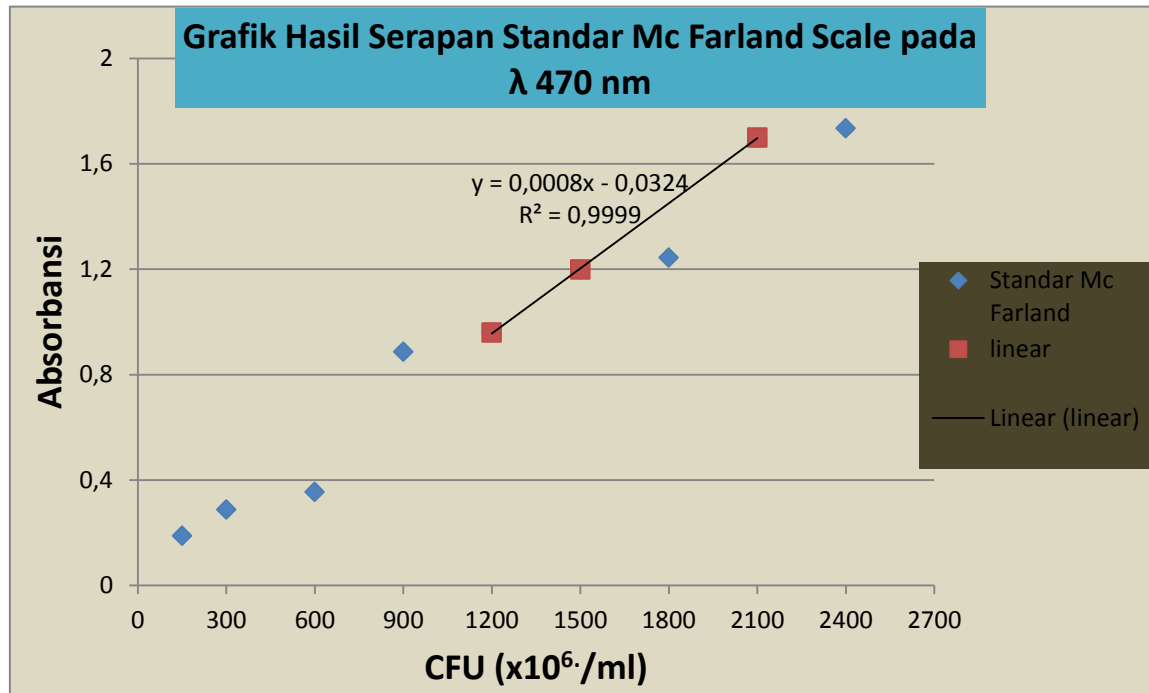
Tujuan:

1. Setelah mengikuti praktikum, mahasiswa mengenal proses fermentasi dari ragi yang dipercepat dengan sukrosa dan suhu yang cukup tinggi.
2. Setelah mengikuti praktikum, mahasiswa dapat mengukur absorbance bromophenol blue dengan menggunakan skala McFarland (spektrofotometri) .
3. Setelah mengikuti praktikum, mahasiswa dapat mengukur CFU (colony forming unit) melalui kekeruhannya/absorbance nya
4. Setelah mengikuti praktikum, mahasiswa, dapat mengukur absorbance spectrum bromophenol blue dalam pH 3; pH 4,5, pH 5,5 dan pH 6
5. Setelah mengikuti praktikum, mahasiswa dapat melakukan kultur bakteri dalam nutrien agar.
6. Setelah mengikuti praktikum, mahasiswa dapat menggunakan mikroskop cahaya dengan benar mulai dari menyiapkan preparat pada objek gelas, mewarnai sampai melihat sediaan dibawah mikroskop dalam berbagai pembesaran
7. Setelah mengikuti praktikum, mahasiswa dapat melihat bentuk bakteri yang telah diwarnai dan ragi dibawah mikroskop

Memperkirakan Konsentrasi Sel (CFU~Colony Forming Units)

Tabel 2. Hasil Serapan Standar-standar McFarlan Scale pada λ 470 nm

Scale	blanko	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8
CFU ($\times 10^6$ /ml)	0	<300	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400
A	0	0,188	0,288	0,354	0,887	0,959	1,199	1,244	1,699	1,734



Tabel 3. Hasil Serapan *Doubling Dilution* Preparat Ragi diukur pada $\lambda = 470$ nm

Faktor	Asli	2	4	8	16	32	64	128	256	512
A					3,039	2,30	1,533	0,900	0,475	0,217

Pada detail preparat ragi: jumlah ragi = 5 gr Temperatur = 40°C

Waktu sejak fermentasi dimulai = 09.48

Dari grafik diatas dapat diukur konsentrasi (CFU) faktor 128 pada preparat ragi (*doubling dilution*) dengan absorbansi 0,900.

Persamaan diatas $\rightarrow y = 0,0008x - 0,324$

$$x = \frac{y + 0,324}{0,0008}$$

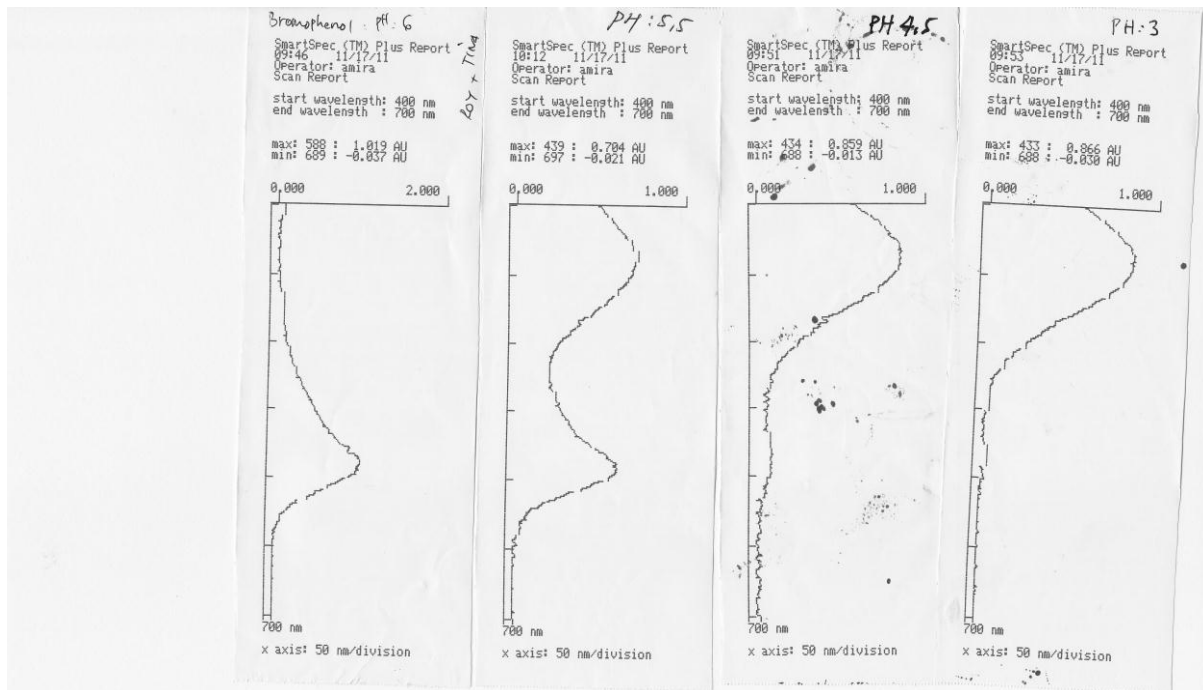
$$x = \frac{0,900 + 0,324}{0,0008} \rightarrow 1530$$

Maka $x = 1530$, ini berarti bahwa pada faktor 128 terkandung 1530×10^6 CFU/ml.

Kesimpulan:

Penggunaan McFarlan scale lebih tepatnya lagi digunakan untuk mengukur jumlah koloni bakteri.coli, dalam hal ini dapat kita gunakan untuk mengukur jumlah koloni ragi dari persamaan yang diperoleh dari grafik diatas. Penggunaan ini sebenarnya kurang tepat karena molekul ragi cukup besar dibandingkan dengan e.coli.

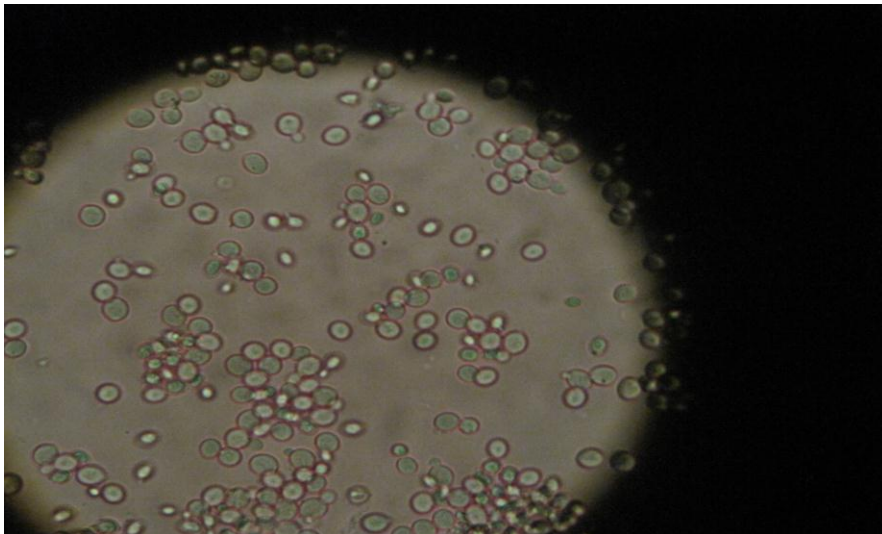
Mengukur Absorbance Spectrum Bromophenol Blue pada berbagai pH



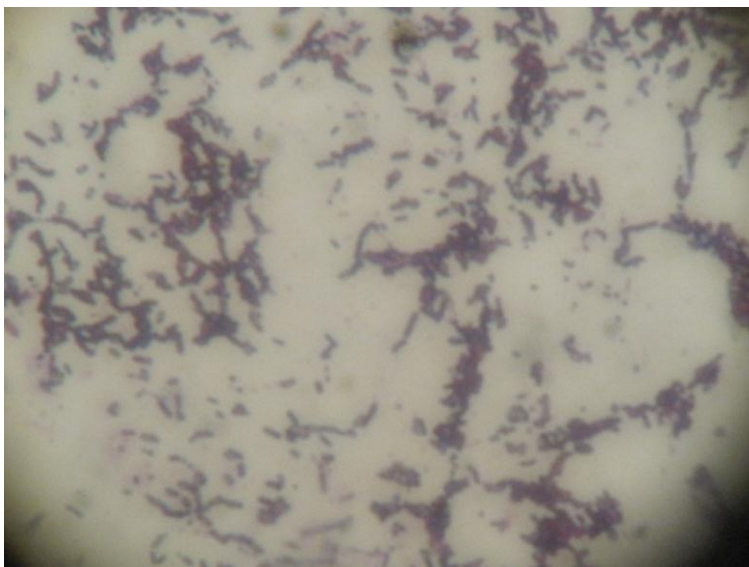
Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil scan diatas diperoleh bahwa pH bromophenol blue memiliki hubungan yang linear dengan absorbansi pada panjang gelombang yang sama dengan $\lambda = 400-700$ nm. Pada pH 3 diperoleh absorbansinya sebesar 433, pada pH 4,5 diperoleh absorbansinya sebesar 434, pH 5,5 diperoleh absorbansinya sebesar 439 dan pH 6 diperoleh absorbansinya sebesar 588.
2. Berarti semakin tinggi kadar pH suatu larutan maka absorbansinya semakin besar (perbandingan hasil scan diatas)

Gambar Ragi



Gambar Sel Bakteri



Pendapat Mengenai Bakteri

1. Untuk melakukan kultur bakteri harus memperhatikan sterilitas yang tinggi karena jika kontaminan ada akan mengganggu pengamatan bakteri yang di akan diperiksa. Untuk itu praktikan perlu menggunakan masker dan sarung tangan dalam melakukan kultur sel pada bakteri
2. Dalam melakukan pewarnaan pada preparat harus memperhatikan waktu pewarnaan dan jumlah zat warna (staining) karena dapat mengaburkan jenis bakteri yang akan diperiksa

Pendapat Mengenai Ragi

1. Kelompok menggunakan 5 gr ragi dan 5 gr sukrosa yang dicampur dengan 100 ml akuades dimasukkan dalam wadah water botol dan yang ditentukan suhunya 40°C pada waterbath.

Ujung tip water botol dihubungkan dengan larutan bromophenol dengan menggunakan selang. Kemudian dilakukan observasi setiap 10 menit selama 1,5 jam. Hasil observasi setiap 10 menit diperoleh semakin lama warna bromophenol blue semakin memudar atau muda dan terjadi gelembung. Ini membuktikan bahwa ragi akan mengalami proses fermentasi jika ditambahkan sukrosa dan di kondisikan dalam suhu yang panas dan akan menghasilkan CO₂. Gelembung yang terjadi merupakan proses fermentasi yang menghasilkan gas CO₂.

2. Berdasarkan hasil praktikum ragi dapat hidup pada suhu yang cukup tinggi (40⁰C) dan suhu ruangan.

Saran

1. Agar menambahkan beberapa unit mikroskop sehingga praktikan dan instruktur tidak saling menunggu dalam menggunakan mikroskop yang menghabiskan banyak waktu.
2. Untuk praktikum yang berkenaan dengan bakteri agar menjaga kesterilan ruangan sehingga tidak timbul kontaminan