

**LAPORAN PRAKTIKUM
TEKNIK DASAR KULTUR JARINGAN**

Hari / Tanggal Praktikum : Kamis / 17 November 2011
Kelompok : 1 (Siang)
Nama Mahasiswa : 1. Taya Elsa Savista
2. Yeni Vera

TUJUAN PRAKTIKUM :

1. Dapat mengisolasi memisahkan pertumbuhan bakteri satu dengan yang lainnya (spesimen).
2. Dapat melakukan teknik menanam dan memperbanyak bakteri (yang di tanam kultur bakteri atau koloni bakteri).
3. Dapat menghitung jumlah kuman (yang ditanam, suspensi sampel).
4. Dapat mengetahui cara-cara perhitungan koloni bakteri sesuai dengan prosedur yang tepat.
5. Mampu melakukan perhitungan koloni bakteri sesuai dengan prosedur yang tepat.

ALAT DAN BAHAN :


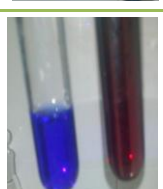

No.	Alat	Bahan
1.	Cawan petri	Aquadest
2.	Tabung reaksi	Sukrosa
3.	Gelas ukur	Ragi
4.	Pipet mohr	Larutan Bromophenol blue
5.	Pipet otomatis	1 % BaCl ₂
6.	Kuvet	1 % H ₂ SO ₄
7.	Rak tabung	HCl 0,01 M
8.	Beaker	
9.	Selang plastik	
10.	Lampu bunsen	
11.	Ose	
12.	Slide	
13.	Spektrofotometer	
14.	Mikroskop	
15.	Neraca analitik	

PROSEDUR PRAKTIKUM : (Terlampir pada bahan kuliah praktikum)

HASIL PRAKTIKUM

- A. Mengukur produksi CO₂ dengan perubahan warna pewarna Bromophenol Blue**
- Ragi yang digunakan sebanyak 5 gr dan 10 gr sukrosa dalam 100 ml aquadest
 - Temperatur yang digunakan : temperatur ruangan 24-25⁰C

Tabel 1 : Produksi CO₂ (yang diukur dengan perubahan warna larutan bromophenol blue)
 Pengamatan dilakukan setiap 10 menit, dimulai pada pukul 12.55 WIB

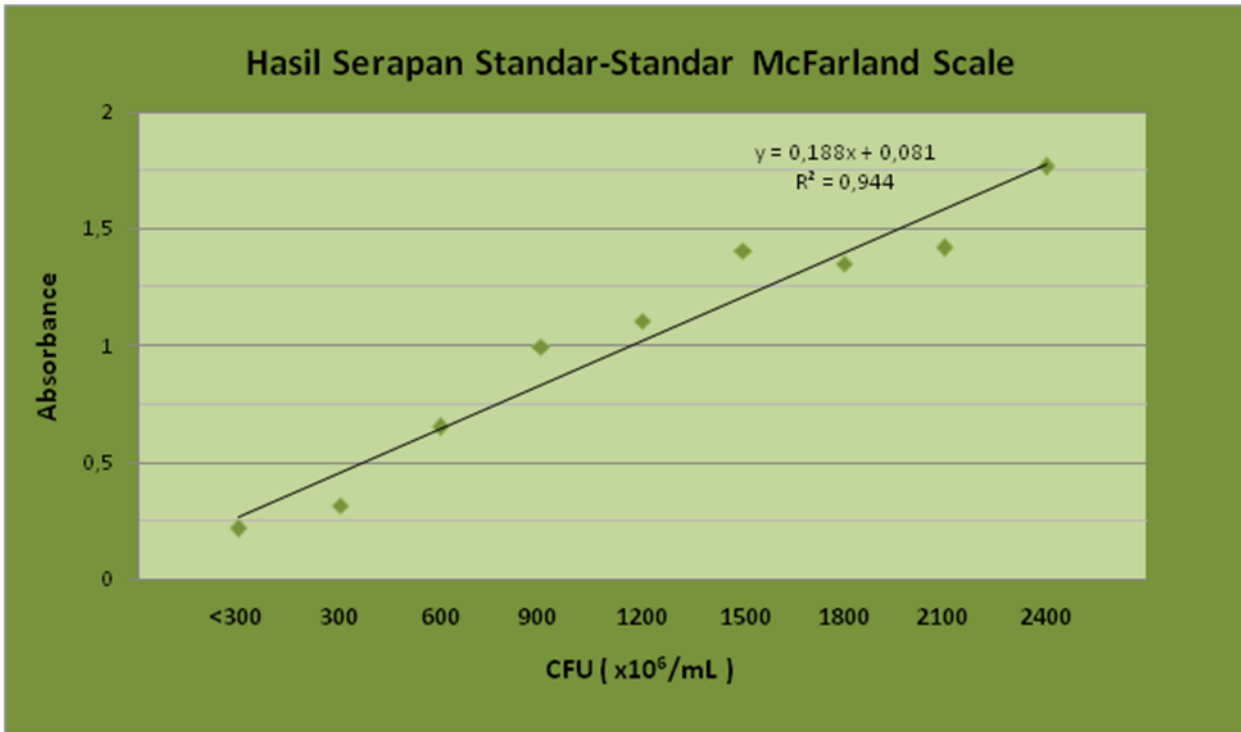
Waktu	Pengamatan	Gambar
13.05	Belum terjadi perubahan pada larutan bromophenol blue	
13.15	Warna larutan bromophenol blue berubah menjadi semakin gelap	
13.25	Warna larutan bromophenol blue berubah menjadi warna merah hati	
13.35	Warna larutan bromophenol blue berubah menjadi warna merah hati	
13.45	Warna larutan bromophenol blue berubah menjadi warna merah hati	
13.55	Warna larutan bromophenol blue berubah menjadi warna merah hati	
14.05	Warna larutan bromophenol blue berubah menjadi warna merah hati	
14.15	Warna larutan bromophenol blue berubah menjadi warna merah hati	
14.45	Warna larutan bromophenol blue berubah menjadi warna merah hati	
14.50	Warna larutan bromophenol blue berubah menjadi warna merah hati	

B. Memperkirakan konsentrasi sel (CFU – “Colony Forming Units) melalui kekeruhannya

Tabel 2 : Hasil Serapan Standar-Standar McFarland Scale
Diukur pada $\lambda = 500 \text{ nm}$

Scalae	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CFU (x 10 ⁶ /ml)	<300	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	Blanko
A	0,215	0,314	0,651	0,994	1,103	1,403	1,347	1,416	1,764	0

Grafik : Hasil Serapan Standar-Standar McFarland Scale



Keterangan :

- Standar McFarland dapat digunakan untuk visual perkiraan konsentrasi sel dalam suspensi. Skala McFarland merupakan konsentrasi tertentu CFU/mL dan dirancang untuk digunakan untuk memperkirakan konsentrasi bakteri gram negatif seperti E. coli dalam suspensi.
- Keuntungan dari penggunaan standar ini bahwa tidak ada waktu inkubasi atau peralatan yang diperlukan untuk memperkirakan jumlah bakteri.
- Kerugiannya adalah bahwa ada beberapa subjektivitas terlibat dalam menafsirkan kekeruhan, dan bahwa angka-angka tersebut hanya berlaku bagi mikroorganisme yang mirip dengan E. coli. Selain itu, nilai yang diperoleh tidak berada dalam kisaran yang sesuai untuk AET (Uji efikasi antimikroba compendium) dan pengenceran inokulum sehingga pemeriksaan lebih lanjut mungkin diperlukan.

C. Mengukur CFU Preparat Ragi

Detil preparat ragi : Jumlah Ragi = 5 gr
Konsentrasi gula (%) = 0,1

Temperatur yang ditentukan = 24-25⁰C
Waktu sejak fermentasi mulai = 12.55 WIB

Tabel 3 : Hasil Serapan Doubling Dilution Preparat Ragi
Diukur pada $\lambda = 500 \text{ nm}$

Faktor	asli	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Blanko
A	-	-	-	-	3,350	2,478	1,701	1,048	0,565	0,230	0

Hasil perkiraan konsentrasi preparat ragi pada faktor pengenceran 128 dengan menggunakan grafik McFarland Scale :

Nilai absorbance faktor 128 = 1,048

Rumus linear pada grafik : $y = 0,188x + 0,081$

Perhitungannya :

$$y = A = 1,048$$

$$1,048 = 0,188x + 0,081$$

$$0,188x = 1,048 - 0,081$$

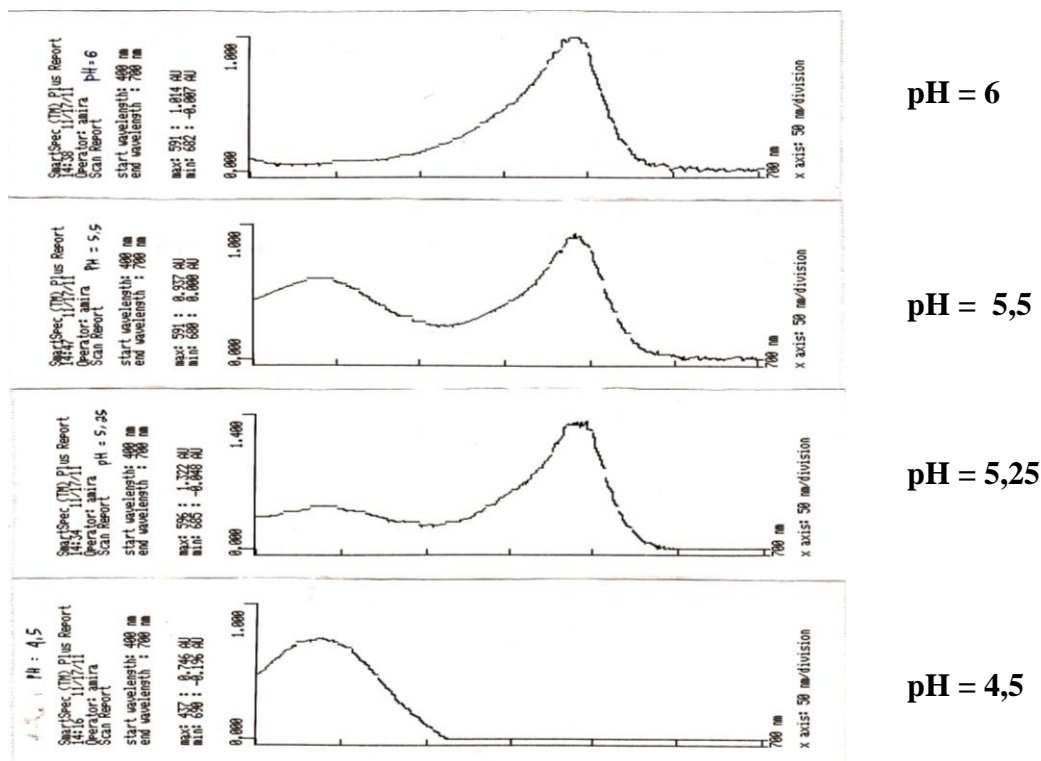
$$x = \frac{1,048 - 0,081}{0,188}$$

$$x = 5,14$$

Konsentrasi preparat ragi pada faktor pengenceran 128 adalah $5,14 \times 10^6$ /mL suspensi.

D. Mengukur Absorben Spectrum Bromophenol Blue

Hasil Scan Absorbance Spectrum masing – masing pH larutan Bromophenol Blue



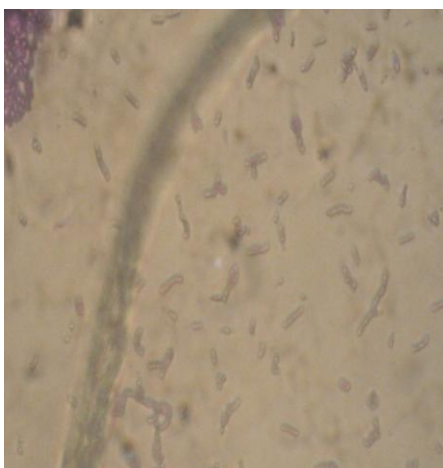
Kesimpulan hasil scan :

1. Larutan bromophenol blue dengan pH = 6, pH = 5,5 dan pH = 5,25 puncak kurva tertinggi berada pada panjang gelombang antara 591 – 596 nm (hampir berdekatan), sedangkan larutan bromophenol blue dengan pH = 4,5 puncak kurva tertinggi berada pada panjang gelombang 437 nm.
2. Larutan bromophenol blue dengan pH = 5,5 dan pH = 5,25 memiliki 2 kurva pada grafik, sedangkan larutan bromophenol blue dengan pH = 4,5 dan pH = 6 hanya memiliki 1 kurva.
3. Puncak kurva larutan bromophenol blue dengan pH = 4,5 adalah yang paling rendah ($A = 0,746$) dibandingkan dengan larutan bromophenol dengan kadar pH lainnya.
4. Hasil scan larutan bromophenol blue dengan pH = 6 sampai dengan pH = 4,5 tidak menunjukkan pola yang teratur sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwasannya pH larutan tidak mempengaruhi nilai absorbansi larutan tersebut.

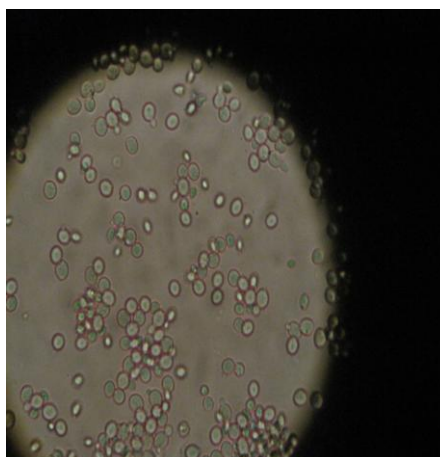
E. Hasil pengamatan kultur sel (bakteri dan ragi) dengan menggunakan mikroskop

Gambar :

1. Sel Bakteri



2. Sel Ragi



Teknik Kultur Bakteri :

- Teknik inokulasi merupakan suatu pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru dengan tingkat ketelitian yang sangat tinggi. Dengan demikian akan diperoleh biakan mikroorganisme yang dapat digunakan untuk melihat bakteri yang tumbuh pada media.
- Berbagai macam bakteri dapat dilihat dengan teknik pewarnaan, gram positif dan gram negatif kemudian dapat dilihat dengan memakai mikroskop.

Teknik Kultur Ragi :

- Pada teknik kultur ragi dimulai dengan mengukur CO₂ yang keluar dari ragi dengan melihat perubahan warna yang terjadi Bromophenol Blue.
- Sel ragi yang dibiakkan dalam media kultur dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop.

Saran :

Agar mikroskop cahaya yang digunakan untuk melihat hasil kultur ditambah jumlahnya untuk menghindari antrian mahasiswa, karena butuh waktu yang lama untuk melihat preparat secara detail.