

- No** : 01  
**Judul** : Pembuatan Media Agar dan Sterilisasi.  
**Tujuan** : – membuat media KNA  
– membuat media TA  
– melakukan sterilisasi alat & bahan yang digunakan dalam percobaan

### **Teori Dasar**

Jenis medium sangat bervariasi bergantung kepada apa yang dijadikan dasar penamaan. Berdasarkan kepada bentuknya dikenal tiga macam medium, yaitu medium cair, medium semi solid dan medium padat. Beda utama ketiga macam medium, yaitu ada tidaknya bahan pematat. Medium cair tidak menggunakan bahan pematat. Medium semi solid dan medium padat menggunakan bahan pematat. Bahan pematat dapat berupa amilum, gelatin, selulosa, dan agar-agar. Agar-agar paling umum digunakan. Jumlah bahan pematat pada medium semi solid setengahnya dari medium padat. Pada medium padat jumlah agarnya 1,5% - 1,8%.

Berdasarkan fungsi/sifatnya beberapa macam medium, antara lain medium umum, medium selektif dan medium diferensial. Berdasarkan komposisi kimianya, dikenal medium alami, medium semi sintetik, dan medium sintetik.

Perlu sterilisasi terhadap medium dan alat-alat yang akan digunakan untuk kegiatan praktikum Mikrobiologi. Sterilisasi adalah suatu program untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau di dalam suatu benda. Pemilihan cara sterilisasi didasarkan pada sifat bahan yang akan disterilkan. Cara sterilisasi yang umum digunakan secara rutin di laboratorium Mikrobiologi ialah dengan pemanasan. Bila panas digunakan bersama-sama dengan uap air maka disebut *sterilisasi panas lembab*, bila tanpa kelembaban disebut *sterilisasi panas kering* atau *sterilisasi kering*.

### **Alat dan bahan :**

- |                         |                      |
|-------------------------|----------------------|
| - Beaker glass          | - Daging tanpa lemak |
| - Gelas ukur            | - Akuades            |
| - Batang pengaduk       | - Tauge              |
| - Tabung reaksi         | - bacto pepton       |
| - pH indikator/pH meter | - Agar – agar        |
| - Corong                | - NaCl               |
| - Kertas saring         | - Sukrosa            |
| - Kapas                 | - Cawan petri        |
| - Pembakar              | - Autoklaf           |

### **Cara pembuatan media :**

- Kaldu nutrisi agar
  - Buatlah ekstrak daging (daging 0,5 kg direbus dalam air 1000 ml hingga volume air menjadi setengahnya atau direbus selama 1 – 2 jam).
  - Saring ekstrak daging dengan kertas saring, kemudian tambahkan akuades hingga volume menjadi 1000 ml.
  - Masukkan pepton 10,0 g NaCl 5,0 g dan agar-agar 15,0 g kemudian panaskan suspensi tersebut hingga mendidih selama 15 menit dengan menggunakan magnetic stirrer with hotplate (221.03BLJ063).
  - Ukur pH, usahakan pH menjadi 6,8 – 7,3.
  - Buatlah agar diri dan agar miring dengan menggunakan tabung reaksi. Untuk agar diri ke dalam tiap tabung isikan 12 – 15 ml suspensi agar dan untuk agar miring ke dalam tiap tabung isikan 3 – 5 ml suspensi agar.

- Tutup semua tabung reaksi dengan kapas sebaik mungkin, sterilkan semua tabung dan cawan petri dengan menggunakan otoklaf selama 15 – 20 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C.
- Setelah disterilkan, untuk agar diri biarkan dalam keadaan tegak dan untuk agar miring letakkan tabung dalam keadaan miring, biarkan sampai dingin.

b. Tauge Agar

- Buatlah ekstrak tauge (dari 100,0 g tauge digerus atau dihaluskan dan diambil airnya), saring ekstrak dengan kertas saring kemudian tambahkan akuades hingga volume menjadi 1000 ml.
- Tambahkan sukrosa 60,0 g dan agar –agar 15,0 gram, panaskan suspensi sampai mendidih selama 20 menit.
- Masukkan suspensi ke dalam tabung reaksi masing-masing 12-15 ml untuk agar diri.
- Sterilkan dengan autoklaf selama 15-20 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C.

**No : 02**

**Judul : Pemiakan Bakteri dan Jamur.**

**Tujuan : – mengidentifikasi sifat-sifat koloni bakteri pada media kaldu nutrisi agar**  
**– mengidentifikasi koloni jamur yang tumbuh pada media tauge agar**

**Alat dan Bahan :**

- Pembakar spirtus
- Jarum inokulasi
- Medium Kaldu nutrisi agar diri dan touge agar diri
- Cawan Petri Steril

**Cara kerja :**

Percobaan berikut dikerjakan menurut kelompok mahasiswa. Setiap kelompok mendapatkan 1 kaldu nutrisi agar diri cair dan Touge agar diri cair.

**PEMBIAKAN BAKTERI**

1. Kelompok 1-6 , tuangkan KNA cair ke dalam masing-masing cawan Petri, biarkan membeku. Selanjutnya , lakukan pekerjaan sebagai berikut :

Kelompok 1 : untuk mikroorganisme dari udara di dalam ruang lab, bukalah cawan Petri selama 30 menit, segera tutup kembali

Kelompok 2 : Untuk mikroorganisme dari udara di luar ruang lab, bukalah cawan Petri selama 30 menit, segera tutup kembali .

Kelompok 3 : Untuk mikroorganisme dari debu, ambil cotton bud steril, kemudian goreskan pada lempeng agar sedemikian rupa sehingga mendapat goresan yang makin tipis dan tutup kembali cawan dengan segera.

Kelompok 4 dan 5: Untuk mikroorganisme dari telapak tangan. Dasar cawan Petri dibagi 2, oleskan salah satu jari tangan di atas permukaan agar sebelah kiri, cawan ditutup lagi, kemudian sterilkan tangan dengan alkohol 76% (kelompok 4) dan sabun mandi (kelompok 5),

setelah kering, oleskan salah satu jari yang sudah disterilkan tadi pada permukaan cawan berisi agar dan segera tutup kembali.  
Kelompok 6 : Untuk mikroorganismenya dari rambut. Masukkan satu-dua helai rambut ke atas permukaan agar dan segera tutup kembali.

2. Kelompok 7 dan 8 : bakteri dari tanah sekitar tempat sampah dan daerah pertanian, tuangkan 1 ml sampel tanah pada tingkat pengenceran tertentu, masukkan medium KNA cair cawan Petri, homogenkan. Lakukan pekerjaan dekat api.

### PEMBIAKAN JAMUR

- Kelompok 1,4,5, dan 6. Taburkan sedikit makanan dengan menggunakan tangan yang sudah dibilas alkohol di atas permukaan cawan Petri berisi medium toge agar yang sudah memadat. Lakukan secara aseptik
- Kelompok 2,3,7,dan 8, menggunakan sampel yang sama untuk pembiakan bakteri.

Cawan Petri berisi biakan mikroorganismenya, kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 2 x 24 jam, amati setiap hari sifat-sifat koloni mikroorganismenya yang tumbuh.

**Tabel pengamatan Bakteri**

Koloni yang tumbuh	Mikroorganismenya dari ....	
	Hari ke 1	Hari ke 2
1. Jumlah		
2. Macam		
3. Bentuk		
4. Warna		
5. Ukuran (diameter)		
6. Kenaikan permukaan koloni		
7. Penampakan (mengkilat/suram)		
8. Kepekatan		

**Tabel Pengamatan Jamur**

No.	Jamur dari.....	Karakteristik koloni
1		
2		

### Pertanyaan :

- Apakah ada perbedaan jenis mikroorganismenya yang tumbuh untuk setiap perlakuan ?
- Apakah ada pengaruh sterilisasi tangan dengan jumlah koloni yang tumbuh ?
- Apakah ada pengaruh lamanya waktu inkubasi dengan keanekaragaman dan jumlah mikroba yang tumbuh?

## CIRI – CIRI KOLONI BAKTERI

