****

**LAPORAN MIKROBIOLOGI UMUM**

**PERCOBAAN VI**

**“MORFOLOGI FUNGI (KAPANG DAN KHAMIR)”**

**Disusun oleh :**

**Nama : Ria rizky yanti**

**Stambuk : G 401 13 057**

**Kelompok : V (Lima)**

**Asisten : Teguh Purwanto**

**LABORATORIUM BIOTEKNOLOGI**

**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS TADULAKO**

**PALU**

**2014**

**BAB I**

**PENDAHULUAN**

* 1. **Latar Belakang**

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat makanan (nutrisi) yang diperlukan mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Mikroorganisme memanfaatkan nutrisi media berupa molekul-molekul kecil yang dirakit untuk menyusun komponen sel. Dengan media pertumbuhan dapat dilakukan isolatsi mikroorganisme menjadi kultur murni dan juga memanipulasi komposisi media pertumbuhannya (Indra, 2008).

Mikroorganisme dapat ditumbuhkan dan dikembangkan pada suatu substrat yang disebut medium. Medium yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroorganisme tersebut harus sesuai susunanya dengan kebutuhan jenis-jenis mikroorganisme yang bersangkutan. Beberapa mikroorganisme dapat hidup baik pada medium yang sangat sederhana yang hanya mengandung garam anorganik di tambah sumber karbon organik seperti gula. Sedangkan mikroorganime lainnya memerlukan suatu medium yang sangat kompleks yaitu berupa medium ditambahkan darah atau bahan-bahan kompleks lainnya. Namun sebelum itu perlu dilakukan sterilisasi pada medium tersebut. Sterilisasi dilakukan agar tidak ada mikroba yang mengkontaminasi bakteri yang ingin dibiakkan, karena akan sangat berpengaruh terhadap hasil yang akan dikerjakan (Dwidjoseputro, 1994).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilaksanakannya praktikum ini untuk membuat secara langsung medium yang diinginkan, dan menambah pengetahuan kita tentang pembuatan medium dan sterilisasinya.

**1.2 Tujuan**

Adapun tujuan dari percobaan ini adalah untuk mengetahui cara pembuatan medium dan sterilisasinya.

**BAB II**

**TINJAUAN PUSTAKA**

Ilmu mikrobiologi adalah ilmu yang sangat berperan penting dalam kehidupan sehari-hari. Karena ada keterkaitan antara manusia, tumbuhan, maupun hewan dengan dunia mikroba. Organisme atau mikroba ada yang dapat dilihat dengan mata telanjang, misalnya jamur dan kapang. Selain itu juga ada yang tidak dapat dilihat langsung dengan mata telanjang dan harus menggunakan alat bantu mikroskop. Ilmu mikrobiologi juga merupakan ilmu yang banyak berhubungan dengan organisme. Dalam perkembangan dunia sekarang ini dan semakin berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi akan mempengaruhi para ilmuan-ilmuan sekarang untuk lebih memperdalam ilmu mikrobiologi (Laila, 2006).

Mikroorganisme yang ingin kita tumbuhkan, yang pertama harus dilakukan adalah memahami kebutuhan dasarnya kemudian memformulasikan suatu medium atau bahan yang akan digunakan. Air sangat penting bagi organisme bersel tunggal sebagai komponen utama protoplasmanya serta untuk masuknya nutrien ke dalam sel. Pembuatan medium sebaiknya menggunakan air suling. Air sadah umumnya mengandung ion kalsium dan magnesium yang tinggi. Pada medium yang mengandung pepton dan ektrak daging, air dengan kualitas air sudah dapat menyebabkan terbentuknya endapan fosfat dan magnesium fosfat (Hadioetomo, 1993)

Mikroorganisme dapat ditumbuhkan dan dikembangkan pada suatu substrat yang disebut medium. Medium yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroorganisme tersebut harus sesuai susunanya dengan kebutuhan jenis-jenis mikroorganisme yang bersangkutan. Beberapa mikroorganisme dapat hidup baik pada medium yang sangat sederhana yang hanya mengandung garam anorganik di tambah sumber karbon organik seperti gula. Sedangkan mikroorganime lainnya memerlukan suatu medium yang sangat kompleks yaitu berupa medium ditambahkan darah atau bahan-bahan kompleks lainnya (Volk, dan Wheeler,1993).

Akan tetapi, yang terpenting medium harus mengandung nutrien yang merupakan substansi dengan berat molekul rendah dan mudah larut dalam air. Nutrien ini adalah degradasi dari nutrien dengan molekul yang kompleks. Nutrien dalam medium harus memenuhi kebutuhan dasar makhluk hidup, yang meliputi air, karbon, energi, mineral dan faktor tumbuh (Label, 2008).

Memformulasikan suatu medium atau bahan yang akan digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di dalamnya harus memperhatikan berbagi macam ketentuan seperti jika yang ingin kita membuat medium untuk organisme bersel tunggal, biasanya air sangat penting sebagai komponen utama protoplasmanya serta untuk masuknya nutrien ke dalam sel. Pembuatan medium agar padat, digunakan agar-agar, gelatin atau gel silika. Bahan agar yang utama adalah galaktan (komplek karbohidrat yang diekstrak dari alga genus Gelidium). Agar akan larut atau cair pada suhu hampir 100o C dan akan cair apabila kurang lebih 43oC (Hadioetomo, 1993).

Agar merupakan media tumbuh yang ideal yang diperkenalkan melalui metode bacteriaological. Organisme hidup memerlukan nutrisi untuk pertumbuhannya. Subtansi kimia organik dan inorganik diperoleh dari lingkungan dalam berbagai macam bentuk. Nutrien diambil dari likungan kemudian ditransformasikan melalui membran plasma menuju sel. Di sel beberapa nutrisi diolah menghasilkan energi yang digunakan dalam proses seluler (Schlegel, 1993).

Bakteri dalam medium juga memerlukan makanan untuk pertumbuhannya. Bakteri yang tidak punya akar harus berada pada permukaan larutan makanan yang cair. Pertumbuhan bakteri berarti meningkatnya jumlah sel yang konstituen (yang menyusun). Apabila disusun 10 bakteri dalam 1 ml medium yang cocok dan 24 jam kemudian ditemukan 10 juta bakteri tiap milimeternya, maka terjadilah pertumbuhan bakteri. Meningkatnya jumlah bakteri terjadi dengan proses yang disebut dengan pembelahan biner, dimana setiap bakteri membentuk dinding sel baru (Lim, 1998).

Menurut Volk dan Wheeler (1993) ada beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, diantaranya, Nutrisi Mikroorganisme tidak hanya amat bervariasi dalam persyaratan nutrisinya, tetapi juga menunjukkan tanggapan yang berbeda-beda terhadap kondisi fisik di dalam lingkungannya. Untuk keberhasilan pertumbuhan berbagai tipe bakteri, dibutuhkan satu kombinasi nutrien serta lingkungan fisik yang sesuai. Semakin banyak nutrien yang terdapat dalam media, maka semakin banyak bakteri yang akan tumbuh. pH, ada range pH tertentu yang dibutuhkan oleh bakteri agar bisa bertahan hidup. Range pH yang dibutuhkan bakteri untuk hidup adalah pH dengan kadar asam yang mencukupi. Bakteri akan tumbuh dengan baik pada range pH yang di miliki, apabila berlebih ataupun kurang, maka pertumbuhan bakteri akan terhambat. Temperatur, suhu sangat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Bakteri tidak akan hidup pada suhu ruang. Untuk itu pada langkah kerja penanaman, bakteri yang ditanam diletakkan di dalam clean bench. Di dalam clean bench suhu telah diatur, yaitu sekitar 45o C.

Konsentrasi semakin tinggi konsentrasi suatu media yang digunakan, maka akan semakin banyak dan semakin cepat bakteri itu tumbuh. Tingkat kesterilan semua media dan alat yang digunakan harus steril. Apabila tidak steril maka akan menghambat pertumbuhan bakteri. Steril tidaknya suatu media tergantung kepada sempurna atau tidaknya proses pensterilan.

Tekanan osmosis, suatu tekanan osmose akan sangat mempengaruhi bakteri jika tekanan osmosis lingkungan lebih besar (hipertonis) sel akan mengalami plasmolisis. Sebaliknya tekanan osmose lingkungan yang hipotonis akan menyebabkan sel membengkak dan juga dapat mengakibatkan rusaknya sel. Olah karena itu, dalam mempertahankan hidupnya, sel bakteri harus berada pada tingkat tekanan osmose yang sesuai, walaupun sel bakteri memiliki daya adaptasi, perbedaan tekanan osmose dengan lingkugannya tidak boleh terlalu besar.

Menurut Indra (2008) macam-macam media pertumbuhan diantaranya yaitu, medium berdasarkan sifat fisik. Medium padat medium yang mengandung agar 15% sehingga setelah dingin media menjadi padat. Medium setengah padat medium yang mengandung agar 0,3-0,4% sehingga menjadi sedikit kenyal, tidak padat, tidak begitu cair. Media semi solid dibuat dengan tujuan supaya pertumbuhan mikroba dapat menyebar ke seluruh media tetapi tidak mengalami percampuran sempurna jika tergoyang. Misalnya bakteri yang tumbuh pada media NfB (Nitrogen free Bromthymol Blue) semisolid akan membentuk cincin hijau kebiruan dibawah permukaan media, jika media ini cair maka cincin ini dapat dengan mudah hancur. Semisolid juga bertujuan untuk mencegah atau menekan difusi oksigen, misalnya pada media Nitrate Broth, kondisi anaerob atau sedikit oksigen meningkatkan metabolisme nitrat tetapi bakteri ini juga diharuskan tumbuh merata diseluruh media.

Medium cair medium yang tidak mengandung agar, contohnya adalah NB (Nutrient Broth), LB (Lactose Broth). Medium berdasarkan komposisi. Medium sintesis media yang komposisi zat kimianya diketahui jenis dan takarannya secara pasti, misalnya Glucose Agar, Mac Conkey Agar. Medium semi sintesis media yang sebagian komposisinya diketahui secara pasti, misanya PDA (Potato Dextrose Agar) yang mengandung agar, dekstrosa dan ekstrak kentang. Untuk bahan ekstrak kentang, kita tidak dapat mengetahui secara detail tentang komposisi senyawa penyusunnya.

Medium non sintesis media yang dibuat dengan komposisi yang tidak dapat diketahui secara pasti dan biasanya langsung diekstrak dari bahan dasarnya, misalnya Tomato Juice Agar, Brain Heart Infusion Agar, Pancreatic Extract. Medium berdasarkan tujuan media untuk isolasi, media ini mengandung semua senyawa esensial untuk pertumbuhan mikroba, misalnya Nutrient Broth, Blood Agar.

Medias elektif/penghambat media yang selain mengandung nutrisi juga ditambah suatu zat tertentu sehingga media tersebut dapat menekan pertumbuhan mikroba lain dan merangsang pertumbuhan mikroba yang diinginkan. Contohnya adalah Luria Bertani medium yang ditambah Amphisilin untuk merangsang E.coli resisten antibotik dan menghambat kontaminan yang peka, Ampiciline. Salt broth yang ditambah NaCl 4% untuk membunuh Streptococcus agalactiae yang toleran terhadap garam.

Media diperkaya (enrichment) media diperkaya adalah media yang mengandung komponen dasar untuk pertumbuhan mikroba dan ditambah komponen kompleks seperti darah, serum, kuning telur. Media diperkaya juga bersifat selektif untuk mikroba tertentu. Bakteri yang ditumbuhkan dalam media ini tidak hanya membutuhkan nutrisi sederhana untuk berkembang biak, tetapi membutuhkan komponen kompleks, misalnya Blood Tellurite Agar, Bile Agar, Serum Agar, dll.

Media untuk menentukan kebutuhan nutrisi spesifik media ini digunakan unutk mendiagnosis atau menganalisis metabolisme suatu mikroba. Contohnya adalah Koser’s Citrate medium, yang digunakan untuk menguji kemampuan menggunakan asam sitrat sebagai sumber karbon. Media untuk karakterisasi bakteri media yang digunakan untuk mengetahui kemempuan spesifik suatu mikroba. Kadang-kadang indikator ditambahkan untuk menunjukkan adanya perubahan kimia. Contohnya adalah Nitrate Broth, Lactose Broth, Arginine Agar. Media diferensial media ini bertujuan untuk mengidentifikasi mikroba dari campurannya berdasar karakter spesifik yang ditunjukkan pada media diferensial, misalnya TSIA (Triple Sugar Iron Agar) yang mampu memilih Enterobacteria berdasarkan bentuk, warna, ukuran koloni dan perubahan warna yang terjadi pada medium di sekeliling koloni.

**BAB III**

**METODOLOGI**

**3.1 Waktu dan Tempat**

Adapun waktu dan tempat pelaksanaan praktikum mikrobiologi adalah sebagai berikut:

Hari/ Tanggal : Senin/ 24 November 2014

Waktu : 14.00 WITA s/d selesai.

Tempat : Laboratorium Bioteknologi Jurusan Biologi Fakultas

Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Tadulako.

**3.2 Alat dan Bahan**

Adapun alat yang digunakan dalam prakikum mikrobiologi ini adalah sebagai berikut :

**3.2.1 Alat**

1. Autoclave
2. Bunsen
3. Botol semprot
4. Gelas ukur
5. Erlenmeyer
6. Tabung reaksi
7. Hotplate
8. Cawan petri
9. Spatula
10. Batang pengaduk
11. Termometer

**3.2.2 Bahan**

1. Alkohol
2. Spritus
3. Kertas
4. Aluminium foil
5. NA (Nutrient Agar)
6. PDA (Potato Dextrose Agar)
7. Aquades
8. Tissue

**3.3 Prosedur kerja**

Adapun prosedur kerja pada praktikum ini adalah sebagai berikut :

1. Membuat medium alamiah yaitu PDA sebanyak 39 gr dan medium sintetik yaitu NA sebanyak 20 gr.
2. Menambahkan aquades sebanyak 1000 ml pada masing-masing medium.
3. Mengaduk campuran medium sampai homogen di atas hotplate untuk mempercepat pelarutan dengan menggunakan batang pengaduk sambil mengukur suhunya sampai 45o C.
4. Menutup mulut erlenmeyer dengan menggunakan aluminium foil, dan kertas dan plastik tahan panas pada setiap sisi erlenmeyer. Masukkan ke dalam autoclafe untuk disterilkan.

**BAB IV**

**HASIL PENGAMATAN DAN PEMBAHASAN**

* 1. **Hasil Pengamatan**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Nama medium | Gambar | Keterangan |
| 1. | NA |  | Warna setelah dipanaskan kuning kecoklatan.  Warna setelah disterilkan kuning terang |
| 2. | PDA |  | Warna setelah dipanaskan kuning tua.  Warna setelah disterilkan orange. |

**4.2 Pembahasan**

Pada praktikum kali ini dilakukan pembuatan medium dan sterilisasinya. Medium adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang dipakai untuk menumbuhkan mikroba. Selain untuk menumbuhkan mikroba, medium dapat digunakan pula untuk isolasi, memperbanyak, pengujian sifat-sifat fisiologi, dan perhitungan mikroba. Sedangkan sterilisasi adalah suatu cara untuk membebaskan alat-alat atau bahan dari segala bentuk kehidupan terutama mikroba. Sterilisasi perlu dilakukan sehingga hanya biakan murni saja yang ada tanpa kontaminasi mikroba lain. Medium yang digunakan pada percobaan ini adalah PDA yang merupakan medium semi alamiah, dan NA yang merupakan medium sintetik.

Pembuatan medium percobaan ini dengan menggunakan PDA (Potato Dextrose Agar) dan NA (Nutrien Agar), dimana dalam pembuatannya terlebih dahulu dengan cara menimbang masing-masing medium percobaan yang akan digunakan kedalam neraca analitik sebanyak 39 gr untuk PDA, dan 20 gr untuk NA. Kemudian memasukkan masing-masing medium tersebut kedalam erlenmeyer 1000 ml ditambahkan dengan aquades 1000 ml, dipanaskan di atas hotplate sambil diaduk dengan menggunakan batang pengaduk. Tujuan dari pemanasan dan pengadukan ini adalah untuk menghomogenkan masing-masing medium dengan aquades, dimana dengan pemanasan dapat mempercepat pelarutan. Setelah dipanaskan selama ± 20 menit, larutan yang menggunakan medium PDA mengalami perubahan warna dari keruh menjadi kuning tua, sedangkan larutan yang menggunakan medium NA mengalami perubahan warna dari keruh menjadi kuning kecoklatan. Hal ini menandakan larutan telah homogen. Setelah itu, masing-masing mulut erlenmeyer yang di sumbat dengan aluminium foil dan di bungkus dengan kertas serta plastik secara rapat pada setiap sisi erlenmeyer. Penutupan dengan aluminium foil bertujuan untuk meminimalkan kontaminasi. Pembungkusan dengan kertas bertujuan yaitu mikroba tidak berpindah dari tangan ke cawan petri ketika cawan petri diangkat dari autoclave setelah proses sterilisasi selesai. Sedangkan tujuan pembungkusan dengan plastik tahan panas, yaitu untuk melindungi kertas tersebut agar tidak basah. Selanjutnya, memasukkan medium ke dalam autoclave.

Autoclave adalah alat untuk mensterilkan berbagai macam alat dan bahan yang digunakan dalam mikrobiologi menggunakan uap air panas basah bertekanan. Tekanan yang digunakan pada umumnya 15 psi atau sekitar 2 atm dan dengan suhu 1210C (250oF). Jadi tekanan yang bekerja ke seluruh permukaan benda adalah 15 pon tiap inchi (15 Psi = 15 pounds per square inch). Lama sterilisasi yang dilakukan biasanya 15 menit untuk 121oC. Alat-alat yang disterilkan berupa alat-alat dari kaca, kain kasa, media pembenihan, cairan injeksi, bahan makanan, dan lain sebagainya.

Pembuatan NA berdasarkan konsistennya termasuk medium padat dan menurut kegunaannya termasuk medium umum. NA (Nutrient agar) termasuk medium semi alamiah karena tersusun atas bahan alami (daging) dan bahan sintesis (pepton dan agar). Fungsi bahan yang digunakan pada medium NA adalah sebagai sumber vitamin B dan mengandung nitrogen organik dan senyawa karbon (daging), sebagai sumber utama nitrogen organic dan sumber nutrisi (pepton), untuk memadatkan medium NA (agar), melarutkan agar, pepton, dan daging (aquades).

Sedangkan PDA (Potato dextrose agar) termasuk medium semi alamiah karena tersusun atas bahan alami (kentang) dan bahan sintesis (dextrose dan agar). PDA digunakan untuk menumbuhkan jamur. Fungsi bahan yang digunakan pada medium PDA adalah sebagai sumber karbon dan karbohidrat, vitamin dan energi (kentang), sebagai sumber gula dan energi (dextrose), untuk memadatkan medium PDA (agar), dan untuk melarutkan agar, dextrose, dan kentang (aquades).

Perubahan warna yang terjadi pada medium NA warna setelah dipanaskan kuning kecoklatan, warna setelah disterilkan kuning terang, Sedangkan perubahan warna yang terjadi pada medium PDA Warna setelah dipanaskan kuning tua, warna setelah disterilkan orange.

**BAB V**

**KESIMPULAN**

* 1. **Kesimpulan**

Adapun kesimpulan yang diperoleh dari praktikum ini yaitu :

1. Sterilisasi adalah usaha untuk membebaskan alat-alat atau bahan dari segala bentuk kehidupan terutama mikroba. Sterilisasi perlu dilakukan sehingga hanya biakan murni saja yang ada tanpa kontaminasi mikroba lain.
2. Medium terdiri atas 2 yaitu medium NA dan PDA. Medium NA yaitu medium untuk menumbuhkan bakeri sedangkan medium PDA yaitu medium unuk menumbuhkan jamur atau fungi
3. Perbedaan perubahan warna yang terjadi pada medium NA warna setelah dipanaskan kuning tua warna setelah disterilkan orange. Warna setelah dipanaskan kuning tua warna setelah disterilkan orange.

**5.2 Saran**

Saran saya dalam praktikum ini adalah sebaiknya asisten selalu mendampingi praktikan agar tidak terjadi kesalahan dalam pengamatan dan pembuatan laporan.

**DAFTAR PUSTAKA**

Dwidjoseputro, D. 1994. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan, Jakarta.

Hadioetomo, R. 1993. *Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium Mikrobiologi*. Gramedia: Jakarta.

Indra. 2008. http//ekmon-saurus/bab-2-Media- pertumbuhan/.htm . Diakses pada tanggal 24 November 2014.

Label, Caray. 2008. http//Caray label makalah –dan – skripsi pembuatan-media- agar dan-sterilisasi/htm. Diakses pada tanggal 24 November 2014.

Laila, Khusucidah. 2006. *Korelasi antara Pengetahuan Alat Praktikum dengan Psikomotorik*. UNS Press : Semarang.

Lim,D. 1998. *Microbiology, 2nd Edition*. McGrow-hill book, New york

Schegel, G.H. 1993. *General Microbiologi seventh edition*. Cambrige University Press, USA.

Volk & Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid 1 Edisi kelima*. Erlangga: Jakarta

**LEMBAR ASISTENSI**

Nama : Ria Rizky Yanti

Stambuk : G 401 13 057

Kelompok : V (Lima)

Asisten : Teguh Purnawanto

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Hari/Tanggal | Koreksi | Paraf |
|  |  |  |  |