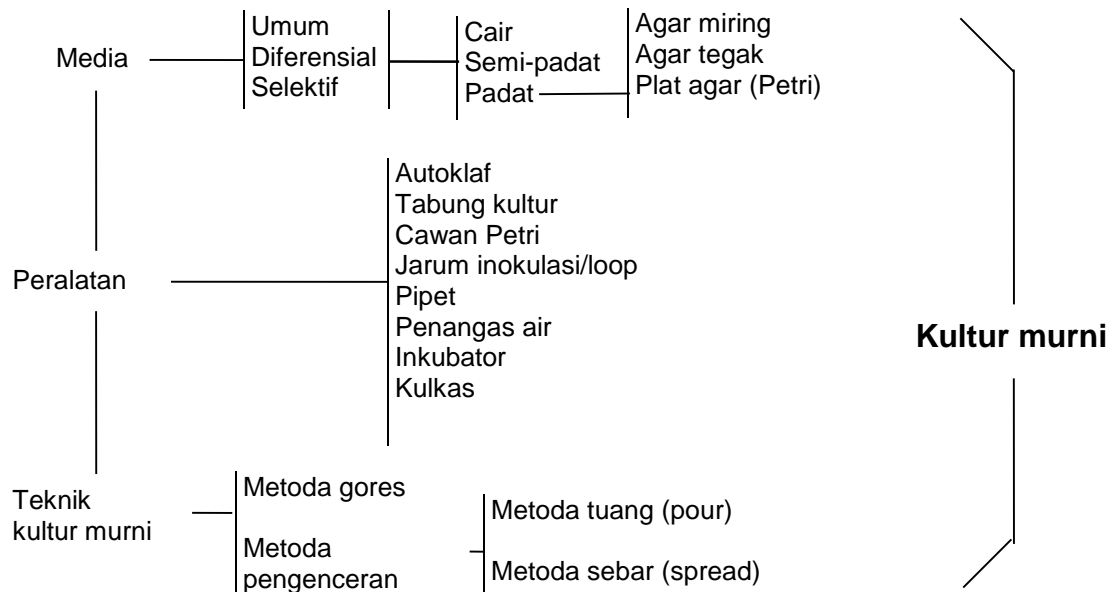


IV. KULTIVASI MIKROBA

PENDAHULUAN

Untuk memperoleh kultur murni hasil isolasi dari berbagai tempat maka dibutuhkan alat, bahan dan metode seperti ilustrasi di bawah ini :



4.1 TEKNIK ASEPTIK

TUJUAN

Mempelajari konsep dan teknik aseptik

PRINSIP DASAR

Di sekitar kehidupan kita nyaris tidak ada tempat atau obyek alamiah, termasuk permukaan tubuh kita maupun pakaian yang kita kenakan yang bebas dari mikroba. Dengan demikian, kegiatan kultivasi mikroba membutuhkan keadaan yang terbebas dari mikroba yang tidak diinginkan. Keadaan dimana kondisi aktivitas pekerjaan yang kita lakukan terbebas dari kehadiran mikroba yang tidak diinginkan, merupakan keadaan aseptik. Untuk memperoleh keadaan aseptik memerlukan pemahaman dan skill yang memadai.

BAHAN DAN PERALATAN

Alat-alat :

- pembakar Bunsen atau spirtus

- jarum inokulasi
- cawan petri steril

Bahan :

- agar nutrisi (NA) tegak 2 tabung

PROSEDUR KERJA

1. Cairkan 2 tabung media NA dalam air panas
2. Cuci tangan dengan sabun antiseptik
3. Keringkan dengan diangin-angin
4. Seka permukaan meja tempat kerja dg alkohol 70%
5. Siapkan alat dan bahan
6. Gunakan masker
7. Semprotkan tangan dengan alkohol 70% secukupnya
8. Nyalakan pembakar bunsen (spiritus)
9. Tuangkan media NA ke dalam 2 cawan Petri steril secara aseptik
10. Sentuhkan permukaan 1 media dengan jari tangan dan 1 lagi biarkan terbuka di udara selama 5 m
11. Tutup cawan Petri lalu inkubasikan pada suhu 35oC
12. Amati pertumbuhan bakteri pada permukaan media setelah 24-48 jam

4.2 ISOLASI MIKROBA

TUJUAN

Mempelajari cara-cara pengisolasian mikroba dari alam ataupun dari substrat organik tertentu sampai mendapatkan kultur murni

PRINSIP DASAR

Di alam populasi mikroorganismenya tidak terpisah menjadi spesies-spesies tersendiri, melainkan hidup secara bersama-sama dalam beraneka jenis. Dalam laboratorium populasi campuran tersebut dapat dipisahkan menjadi kultur murni yang mengandung hanya satu jenis mikroorganismenya saja. Teknik pemisahan tersebut dikenal sebagai teknik isolasi yang disertai dengan teknik pemurnian. Pemisahan satu jenis ini gunanya untuk mempermudah pengamatan terhadap sifat-sifat setiap jenis mikroorganismenya yang diinginkan.

Pada percobaan ini siswa akan diajarkan satu teknik untuk menghasilkan koloni yang terpisah-pisah. Koloni merupakan bentuk hasil pertumbuhan mikroorganismenya yang dapat terlihat secara makroskopis pada permukaan medium padat. Masing-masing koloni dapat merupakan hasil multiplikasi dari satu buah mikroorganismenya. Jika telah diperoleh koloni-koloni yang terpisah, maka melalui transfer secara aseptik dapat diisolasi menjadi kultur atau biakan murni satu jenis mikroorganismenya.

BAHAN DAN PERALATAN

Alat-alat :

- pembakar Bunsen atau spirtus
- jarum inokulasi
- batang gelas bengkok siku-siku (batang L)
- cawan petri steril

Bahan :

- agar nutrisi (NA) dan agar kentang dekstroza tegak
- air kolam
- tanah kebun

PROSEDUR KERJA***Metode goresan 4 arah (4 way streak method)***

1. Siapkan medium NA pada cawan secara aseptik
2. Panaskan jarum inokulasi hingga pijar
3. Sentuhkan ujung jarum Ose ke sampel tanah
4. Goreskan jarum Ose tersebut pada 4 tepi permukaan agar nutrisi pada cawan petri secara aseptis.
5. Gesek goresan yang pertama tadi dengan menggunakan jarum inokulasi yang telah dipijarkan ke arah yang tegak lurus dari goresan sebelumnya. Pijarkan kembali jarum inokulasi.
6. Lakukan goresan yang sama dari hasil goresan yang baru tersebut ke arah tegak lurus yang baru. Ujung jarum tidak boleh lagi menyentuh daerah inokulasi pertama.
7. Dengan cara yang sama, buat goresan keempat sehingga terbentuk 16 garis inokulasi yang semakin sedikit jumlah bakterinya, mengelilingi cawan petri.
8. Inkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.
9. Amati pertumbuhan koloni bakteri yang terjadi pada masing-masing daerah inokulasi.

Metode sebar (spread plate method)

1. Teteskan 1-2 tetes air kolam ke tengah cawan petri berisi medium agar nutrisi steril secara aseptis.
2. Celupkan batang L ke dalam alkohol 95 % dan bakar sebentar dengan Bunsen atau lampu spirtus.
3. Dinginkan batang L dengan menempelkannya sebentar ke bagian dalam tutup cawan petri, lalu gesek tetesan suspensi bakteri pada permukaan medium ke atas dan ke bawah sambil memutar-mutar petri.
4. Lakukan hingga diperoleh sebaran suspensi yang merata dan kering di seluruh permukaan petri.
5. Inkubasi pada suhu ruang, 35°C dan dalam kulkas .
6. Amati pertumbuhan koloni bakteri pada permukaan media setelah 48 jam

4.3 INOKULASI KULTUR

TUJUAN

Mempelajari teknik-teknik penginokulasian

PRINSIP DASAR

Inokulasi artinya menumbuhkan mikroba di suatu pada suatu medium. Sumber inokulasi bisa berasal dari biakan murni maupun hasil isolasi kultur campuran dari media padat maupun cair.

Mikroorganisme dapat dipindahkan dari medium satu ke medium lainnya dengan cara inokulasi atau subkultur. Teknik ini merupakan teknik dasar dikerjakan secara rutin untuk memelihara dan mempersiapkan pengaktifan simpanan biakan murni.

Subkultur perlu dikerjakan secara aseptis dan hati-hati, agar biakan murni tidak tercemar oleh mikroba-mikroba kontaminan yang banyak terdapat di lingkungan sekitar laboratorium, terutama yang berasal dari udara.

BAHAN DAN PERALATAN

Alat-alat :

- jarum inokulasi (Ose)
- spatula
- cawan petri steril
- pembakar Bunsen atau spirtus
- inkubator suhu 35oC

Bahan :

- tabung agar nutrisi (NA) dan agar kentang (PDA) miring.
- kultur murni bakteri
- kultur murni jamur
- alkohol 95 %

PROSEDUR KERJA

Metode gesek

1. Siapkan kultur murni bakteri dan media NA
2. Ambil kultur murni bakteri menggunakan jarum inokulasi secara aseptik
3. Gesekkan ujung jarum inokulasi secara zigzag ke permukaan agar nutrisi miring membentuk `zigzag` rapat secara aseptis. Arah menggesek dari dasar tabung ke arah luar.
4. Inkubasi di suhu ruang selama 48 jam lalu amati.

Metode tanam

1. Siapkan kultur murni jamur dan media PDA.

2. Sterilkan ujung spatula dengan mencelupkannya ke dalam alkohol 95% dan membakarnya sebentar untuk membakar sisa alkohol (jangan terlalu lama).
3. Potong sedikit medium bersama miselium yang tumbuh pada permukaannya, menggunakan spatula secara aseptis.
4. Tempatkan potongan miselium itu ke permukaan agar kentang miring pada tabung reaksi.
5. Inkubasi pada suhu ruang selama 3-5 hari lalu amati.