

# IDENTIFIKASI BAKTERI, KAPANG, DAN KHAMIR SECARA MIKROSKOPIS

## A. TUJUAN

Siswa mampu mengidentifikasi bakteri, kapang, dan khamir secara mikroskopis dan menuangkan dalam form data pengamatan yang telah tersedia

## B. ALAT DAN BAHAN

### a. Alat

- Mikroskop
- Objek glass dan gelas penutup
- Kertas label
- Pembakar spiritus
- Tissue

### b. Bahan

- Sampel air sungai
- Biakan mikroba
- Aquades
- Metil biru
- Larutan crystal violet
- Larutan mordan Lugol's Iodin
- Larutan safranin
- Aquades
- Alkohol 70%
- Alkohol 96%

## C. PROSEDUR PERCOBAAN

### a. Identifikasi Bakteri

#### 1) Pewarnaan Sederhana (I)

Dengan pewarnaan sederhana ini, kita akan membuktikan bahwa bakteri ada di berbagai habitat. Di antaranya bakteri terdapat di air sungai. Berikut ini merupakan salah satu cara mengamati bakteri di air sungai:

- Ambil air sungai dengan menggunakan beaker gelas 1 liter
- Siapkan gelas objek, pada salah satu bagian ujung dari gelas objek ditempel selotip dan selotip tersebut ditempelkan pada batang pengaduk sehingga gelas objek berada pada posisi tergantung. Batang pengaduk diletakkan pada posisi melintang di bagian atas beaker gelas
- Rendam gelas objek dalam sampel air sungai selama 2 hari
- Angkat gelas objek dari beaker gelas
- Hapus salah satu sisi dai gelas objek dengan kapas yang telah dibasahi alkohol 96%
- Lakukan fiksasi pada gelas objek dengan cara mengeringkan gelas objek di atas udara/memegang gelas objek di atas api
- Setelah kering, gelas objek dilewatkan melalui api dengan lapisannya pada bagian atas sebanyak 2 atau 3 kali.

- Teteskan larutan zat warna metil biru sebanyak 1 atau 2 tetes pada gelas objek
- Keringkan selama 1 menit
- Cuci dengan air mengalir
- Keringkan preparat dengan dianginkan
- Mengamati di bawah mikroskop karakteristik dan bentuk bakteri

2) Pewarnaan sederhana (II)

- Bersihkan gelas objek dengan mencuci menggunakan sabun dan air kemudian keringkan dan panaskan di atas api untuk menghilangkan semua lemak
- Pijarkan jarum ose kemudian tunggu hingga dingin
- Celupkan jarum ose ke aquades kemudian teteskan 1-3 tetes aquades pada gelas objek
- Pijarkan lagi jarum ose kemudian dinginkan
- Ambil bakteri dari media dengan cara aseptis kemudian ratakan/aduk dengan aquades yang ada di atas gelas objek dan sebarkan menjadi lapisan tipis seluas  $\pm 1$  cm<sup>2</sup>
- Pijarkan kembali ose
- Keringkan gelas objek di atas udara/dengan memegang gelas objek di atas api
- Setelah kering, gelas objek dilewatkan melalui api dengan lapisannya pada bagian atas sebanyak 2 atau 3 kali.
- Teteskan larutan zat warna metil biru sebanyak 1 atau 2 tetes pada gelas objek
- Keringkan selama 1 menit
- Cuci dengan air mengalir
- Keringkan preparat dengan dianginkan
- Mengamati di bawah mikroskop karakteristik dan bentuk bakteri

3) Pewarnaan Bertingkat (pewarnaan gram)

- Bersihkan gelas objek dengan alkohol 70% hingga bebas lemak kemudian keringkan di atas nyala api
- Teteskan 3 ose aquades pada gelas objek
- Ambil secara aseptik biakan di media kemudian ratakan di atas aquades hingga menjadi lapisan tipis seluas  $\pm 1$  cm<sup>2</sup>
- Kering-anginkan kemudian lakukan fiksasi di atas api
- Tambahkan zat warna kristal violet sebanyak 2-3 tetes kemudian diamkan selama 30 detik
- Bilas dengan air mengalir kemudian kering-anginkan
- Tutup lapisan dengan larutan Iod dan biarkan selama 30 detik
- Cuci dengan air mengalir kemudian kering-anginkan
- Cuci dengan alkohol 96% kemudian biarkan selama 30 detik
- Cuci dengan air kemudian kering-anginkan
- Beri zat warna lawan, yaitu safranin kemudian diamkan selama 30 detik
- Cuci dengan air mengalir kemudian kering-anginkan
- Amati di bawah mikroskop

b. Identifikasi Kapang

- Bersihkan gelas objek dan gelas penutup dengan alkohol 70%

- Teteskan aquades pada bagian tengah gelas objek dan letakkan kapang yang akan diperiksa
- Tutup gelas objek dengan gelas penutup dengan hati-hati
- Hisap kelebihan air yang keluar dari sisi gelas penutup dengan kertas hisap
- Periksa sifat-sifat karakteristik dari hifa dan sel-sel serta spora di bawah mikroskop dengan lensa objektif pembesaran 10x dan pembesaran 45x
- Gambar setiap macam kapang dan sebutkan bagian-bagiannya

### c. Identifikasi Khamir

- Bersihkan gelas objek dan gelas penutup dengan alkohol hingga bebas dari lemak dan debu
- Ambil 1 tetes larutan metil biru 0,01% dan letakkan di tengah-tengah gelas benda
- Ambil 1 ose suspensi biakan khamir berumur 24 jam secara aseptik dan letakkan di atas gelas objek yang telah diberi metil biru kemudian campurkan
- Tutup gelas objek dengan gelas penutup secara hati-hati hingga tidak terbentuk gelembung udara dalam preparat
- Periksa di bawah mikroskop dengan perbesaran lemah kemudian dengan perbesaran sedang. Sel khamir yang mati berwarna biru dan sel khamir yang hidup berwarna transparan
- Hitung jumlah khamir yang mati dan yang hidup

Presentase khamir yang mati = \_\_\_\_\_ 100%

- Ulangi pekerjaan di atas dengan khamir berumur 48 jam. Bandingkan presentase kematian khamir berumur 24 jam dan 48 jam.

### D. TUGAS SEBELUM PRAKTIKUM

1. Carilah MSDS dari bahan-bahan yang hendak digunakan! Pelajari karakteristik bahan berdasarkan MSDS ( Material Safety Data Sheet ) tersebut!
2. Carilah informasi mengenai berbagai bentuk mikroba yang terlihat di bawah mikroskop!